

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042956**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.07

(21) Номер заявки
202091949

(22) Дата подачи заявки
2019.02.14

(51) Int. Cl. **A61K 31/4155** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ ПУТИ JAK1, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СВЯЗАННЫХ С ЦИТОКИНАМИ НАРУШЕНИЙ

(31) 62/710,446; 62/631,825

(32) 2018.02.16; 2018.02.18

(33) US

(43) 2021.02.08

(86) PCT/US2019/018066

(87) WO 2019/161098 2019.08.22

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

(72) Изобретатель:
**О'Нил Монтгомери Майкл, Наим
Ахмад, Снодграсс Сьюзен (US)**

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

(56) US-A1-2011224190

US-A1-2014343030

US-A1-2014121198

SOPHIA MASCHALIDI ET AL.:
"Therapeutic effect of JAK1/2 blockade
on the manifestations of hemophagocytic
lymphohistiocytosis in mice", BLOOD, vol. 128,
no. 1, 24 May 2016 (2016-05-24), pages 60-71,
XP055577022, US, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/
blood-2016-02-700013, page 64 - page 66, paragraph
1

RUPALI DAS ET AL.: "Regular
Article Immunobiology Janus kinase inhibition
lessens inflammation and ameliorates disease
in murine models of hemophagocytic
lymphohistiocytosis", IMMUNOBIOLOGY, 29
January 2016 (2016-01-29), pages 1666-1675,
XP055576967, DOI: 10.1182/blood, page 1673 - page
1674

D.W. LEE ET AL.: "Current concepts
in the diagnosis and management of cytokine
release syndrome", BLOOD, vol. 124, no. 2,
29 May 2014 (2014-05-29), pages 188-195,
XP055313556, US, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/
blood-2014-05-552729, page 189, column 2

PETER TAYLOR ET AL.: "ABSTRACT
NUMBER: 2616 The JAK1-Selective Inhibitor
Filgotinib Displays an Anti-In", 28 September
2016 (2016-09-28), XP055577154, DOI: 10.1016/
j.bmc.2018.01.021, Retrieved from the Internet:
URL: <https://acrabstracts.org/abstract/the-jak1-selective-inhibitor-filgotinib-displays-an-anti-inflammatory-biomarker-signature-in-rheumatoid-arthritis-patients/>
/ [retrieved on 2019-04-03], last paragraph

(57) Изобретение относится к ингибиторам пути JAK1 и их применению при лечении связанных с цитокинами заболеваний или нарушений, таких как синдром высвобождения цитокинов (CRS), гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), синдром активации макрофагов (MAS) и связанный с CAR-T-клетками энцефалопатический синдром (CRES).

B1**042956****042956****B1**

Область техники

Настоящее описание относится к ингибиторам пути JAK1 и их применению при лечении связанных с цитокинами заболеваний или нарушений.

Уровень техники

Связанным с цитокинами заболеваниями или нарушениям свойственны чрезмерная иммунная активация, и они включают в себя синдром высвобождения цитокинов (CRS), гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), синдром активации макрофагов (MAS) и связанный с CAR-T-клетками энцефалопатический синдром (CRES).

Синдром высвобождения цитокинов (CRS) представляет собой прямой результат избыточного продуцирования воспалительных цитокинов, вызванного супрафизиологическими уровнями иммунной активации, и он проявляется в виде клинической совокупности симптомов, включающих повышенную температуру, тошноту, усталость, миалгию, недомогание, пониженное артериальное давление, гипоксию, повышенную проницаемость капилляров, приводящих к потенциальной полиорганной токсичности.

CRS является нежелательным побочным эффектом, например, иммунологических методов терапии для таких тяжелых болезненных состояний, как рак. Иммунологические методы терапии, которые могут приводить к возникновению CRS, включают в себя введение моноклональных антител (mAb) и в последнее время адоптивные методы терапии на основе Т-клеток для лечения рака. Lee et al. *Blood*. 2014, 124(2):188-195. Например, в терапии Т-клетками с химерными антигенными рецепторами (CAR) используются измененные Т-клетки для нацеливания на новообразования, и эта терапия уже утверждена Управлением по контролю за продуктами питания и лекарствами США (FDA) для применения при определенных формах рефрактерной неходжкинской лимфомы и рецидивирующего лимфобластного лейкоза (ALL) у детей.

Профили цитокинов, вовлеченные в CRS, охватывают два основных источника клеток: происходящие из Т-лимфоцитов цитокины, включающие интерферон-гамма (IFN γ), IL-2, IL-6, растворимый рецептор IL-6 (IL-6R) и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF); и цитокины, главным образом секретируемые моноцитами и/или макрофагами, такие как IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, и фактор некроза опухолей (TNF α). Xu XJ, Tang Y.M. *Cancer Lett*. 2014; 343:172-8. Zhang et al. *Sci. China Life Sci*. 2016; 59:379-85. Brentjens R., et al. *Mol. Ther*. 2010; 18:666-8.

Модуляция излишнего цитокинового ответа, приводящая к CRS, потенциально может обеспечивать значительную клиническую пользу. Например, препарат тоцилизумаб, антитело против рецептора IL-6 (IL-6R), снижает уровни тяжести CRS и одобрен FDA для использования при CRS. Однако механизм действия тоцилизумаба ограничен только анти-IL-6R эффектом.

Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), еще один синдром чрезмерной или неконтролируемой иммунной активации, встречается в основном у младенцев с рождения до 18 месяцев, но может также встречаться и у взрослых. HLH может быть первичным (семейным) или вторичным, т.е. возникающим при других инфекционных, злокачественных, ревматологических или метаболических состояниях. Симптомы HLH включают цитопению, гепатоспленомегалию и лихорадочные состояния. Schram, A. and Berliner, N. *Blood*. 2005. 125(19), 2908-2914.

Синдром активации макрофагов (MAS) клинически представлен способом, сходным с HLH (и даже считается вторичным или приобретенным по отношению к HLH), и представляет собой эпизод повышенного воспаления, связанного с инфекцией, ревматическим заболеванием или злокачественной опухолью. Borgia, R.E. et al. *Arthritis Rheumatol.*, 2018, doi: 10.1002/art.40417, предварительная публикация. MAS был первоначально описан как связанный с ювенильным идиопатическим артритом, но также все более признается в качестве осложнения других заболеваний, таких как системная красная волчанка в детском возрасте (cSLE). Shimizu M., et al. *Clin. Immunol*. 2013 Feb; 146(2):73-6. Развитие MAS характеризуется значительным увеличением количества провоспалительных цитокинов, т.е. цитокиновым штормом. Borgia, R.E. et al. *Arthritis Rheumatol.*, 2018, doi: 10.1002/art.40417, предварительная публикация. MAS является опасным для жизни состоянием с высоким уровнем смертности: 8-22% при детских аутоиммунных заболеваниях, в целом, и 10-22% при MAS, осложняющих cSLE. Borgia, R.E. et al. *Arthritis Rheumatol.*, 2018, doi: 10.1002/art.40417, предварительная публикация.

Энцефалопатический синдром, связанный с CAR-T-клетками (CRES), является вторым по частоте нежелательным явлением после CRS, ассоциированным с CAR-T-клеточной терапией. CRES, как правило, характеризуется токсичным энцефалопатическим состоянием с симптомами спутанности сознания и бреда, а также эпизодическими припадками и отеком головного мозга. Проявление CRES может быть двухфазным с симптомами, возникающими в течение первых 5 дней и/или 3-4 недель после клеточной иммунотерапии. Считается, что патофизиологический механизм вовлекает пассивную диффузию цитокинов в мозг пациентов, проходящих лечение с помощью терапии CAR-T-клетками. Уменьшение или устранение этого механизма может быть полезным для таких пациентов. Neelapu, et al. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2018, 15(1):47-62.

Соответственно существует необходимость в разработке новых методов терапии для лечения связанных с цитокинами заболеваний или нарушений. Это изобретение учитывает эту и другие потребности.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображено дозозависимое ингибирование концентраций IL-6 после введения соединения 1 в компартмент крови во время индуцированного анти-CD3 антителом синдрома высвобождения цитокинов (см. пример В).

На фиг. 2А-2С изображено дозозависимое ингибирование происходящих из Т-клеток цитокинов (т.е. IL-6, IFN γ и GM-CSF) после введения соединения 1 во время индуцированного конканавалином А синдрома высвобождения цитокинов (см. пример С).

На фиг. 2А показано ингибирование IL-6.

На фиг. 2В показано ингибирование IFN γ .

На фиг. 2С показано ингибирование GM-CSF.

На фиг. 3А-3С изображено дозозависимое ингибирование происходящих из моноцитов и макрофагов цитокинов (т.е. IL-12, IL-1 β и IL-18) после введения соединения 1 во время индуцированного конканавалином А синдрома высвобождения цитокинов (см. пример С).

На фиг. 3А показано ингибирование IL-12.

На фиг. 3В показано ингибирование IL-1 β .

На фиг. 3С показано ингибирование IL-18.

На фиг. 4 показано, что цитокин IL-5 не подвержен влиянию соединения 1 во время индуцированного конканавалином А синдрома высвобождения цитокинов (см. пример С).

Сущность изобретения

В данном документе предложены способы лечения связанного с цитокинами заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В данном документе предложен ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемая соль для лечения связанного с цитокинами заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта.

В данном документе предложено применение ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления лекарственного средства для использования при лечении связанного с цитокинами заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта.

Подробное описание сущности изобретения

В настоящем изобретении предложен, *inter alia*, способ лечения связанного с цитокинами заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В описанных в данном документе способах использованы ингибиторы пути JAK1, в частности селективные ингибиторы JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, которое преимущественно ингибирует активность JAK1 по сравнению с другими киназами Янус (Janus). JAK1 играет центральную роль в ряде механизмов сигнализации цитокинов и факторов роста, которые при нарушении регуляции могут приводить к болезненным состояниям или способствовать их возникновению. Например, уровни IL-6 повышены при ревматоидном артрите - заболевании, при котором, как предполагают, они оказывают вредные воздействия (Fonesca, et al., Autoimmunity Reviews, 8:538-42, 2009). Поскольку сигналы IL-6, по крайней мере частично, проходят через JAK1, IL-6 может косвенно воздействовать через ингибирование JAK1, в результате приводя к потенциальной клинической пользе (Guschin, et al. Embo J. 14:1421, 1995; Smolen, et al. Lancet 371:987, 2008). Более того, при некоторых видах рака JAK1 мутирует, приводя к конститутивному нежелательному росту и выживаемости опухолевых клеток (Mullighan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 106:9414-8, 2009; Flex, J. Exp. Med. 205:751-8, 2008). При других аутоиммунных и раковых заболеваниях повышенные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, также могут способствовать развитию болезни и/или связанных с ней симптомов. Поэтому пациенты с такими заболеваниями могут получить пользу от ингибирования JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными при предотвращении ненужных и потенциально нежелательных эффектов ингибирования других киназ JAK.

Ингибитор пути JAK1, а именно соединение 1 (т.е. {1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]-пиперидил-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, см. табл. 1), обеспечивает высокоэффективную дозозависимую модуляцию CRS-связанных воспалительных цитокинов (см., например, примеры В и С и фиг. 1, 2А-2С и 3А-3С). Удивительно то, что терапевтический профиль охватывает множественные патогенные цитокины и не ограничивается только осью IL-6/IL-6R (в отличие, например, от тоцилизумаба). Эффективность достигается путем ингибирования цитокинов, происходящих из Т-клеток и моноцитов/макрофагов, имеющих высокую клиническую значимость для патогенеза CRS. Дополнительно, представленные в данном документе данные в связи с ингибирующим JAK1 соединением 1 показывают, что польза от лечения достигается без обширной цитокиновой иммуносупрессии (что продемонстрировано неизменными уровнями IL-5) (фиг. 4).

В некоторых вариантах осуществления изобретения связанное с цитокинами заболевание или нарушение представляет собой синдром высвобождения цитокинов (CRS), гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH), синдром активации макрофагов (MAS) или связанный с CAR-T-клетками энцефалопатия.

тический синдром (CRES).

В некоторых вариантах осуществления изобретения связанное с цитокинами заболевание или нарушение представляет собой синдром высвобождения цитокинов (CRS).

В некоторых вариантах осуществления изобретения связанное с цитокинами заболевание или нарушение представляет собой гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (HLH).

В некоторых вариантах осуществления изобретения связанное с цитокинами заболевание или нарушение представляет собой синдром активации макрофагов (MAS). В некоторых вариантах осуществления изобретения синдром активации макрофагов ассоциирован с системным ювенильным идиопатическим артритом. В некоторых вариантах осуществления изобретения синдром активации макрофагов ассоциирован с системной красной волчанкой в детском возрасте.

В некоторых вариантах осуществления изобретения связанное с цитокинами заболевание или нарушение представляет собой связанный с CAR-T-клетками энцефалопатический синдром (CRES).

В некоторых вариантах осуществления изобретения в настоящем изобретении предложен способ лечения синдрома высвобождения цитокинов у субъекта, включающий введение указанному субъекту терапевтического препарата CAR-T-клеток и ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой облегчение или ингибирование. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой предотвращение.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят одновременно с терапевтическим препаратом CAR-T-клеток.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят после введения терапевтического препарата CAR-T-клеток.

В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтический препарат CAR-T-клеток представляет собой аксикабтаген силолейсел.

В некоторых вариантах осуществления изобретения терапевтический препарат CAR-T-клеток представляет собой тисагенлеклейсел.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект болеет В-клеточным злокачественным новообразованием.

В некоторых вариантах осуществления изобретения субъект болеет, страдает диффузной крупноклеточной В-лимфомой (DLBCL), первичной медиастинальной крупноклеточной В-лимфомой, высокозлокачественной В-клеточной лимфомой, трансформированной фолликулярной лимфомой или острым лимфобластным лейкозом.

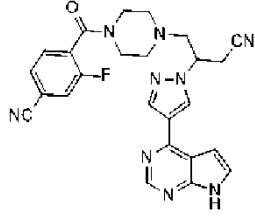
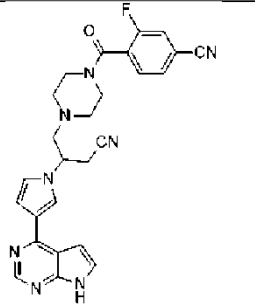
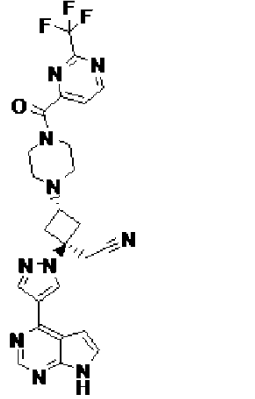
В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемая соль являются селективными по отношению к JAK1 по сравнению с JAK2, JAK3 и TYK2 (т.е. селективный ингибитор JAK1). Например, описанные в данном документе соединения или их фармацевтически приемлемые соли преимущественно ингибируют JAK1 по сравнению с одной или более JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения ингибируют JAK1 преимущественно по сравнению с JAK2 (например, имеют соотношение JAK2/JAK1 $IC_{50} > 1$). В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения или соли являются примерно 10-кратно более селективными для JAK1 по сравнению с JAK2. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения или соли являются примерно 3-кратно, примерно 5-кратно, примерно 10-кратно, примерно 15-кратно или примерно 20-кратно более селективными для JAK1 по сравнению с JAK2, как рассчитано измерением IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

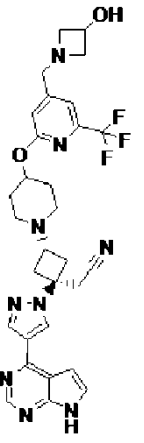
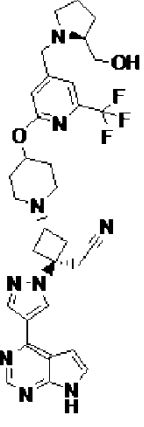
В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соединение из табл. 1 или его фармацевтически приемлемую соль. Соединения в табл. 1 являются селективными ингибиторами JAK1 (селективные по сравнению с JAK2, JAK3 и TYK2). В табл. 1 показаны значения IC_{50} , полученные методом примера А при 1 мМ АТФ.

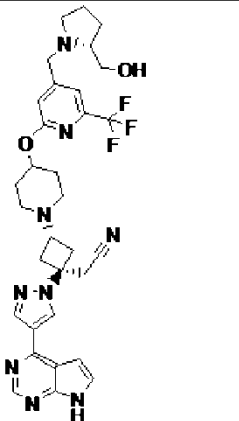
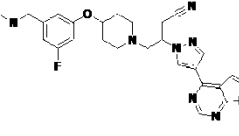
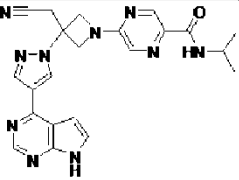
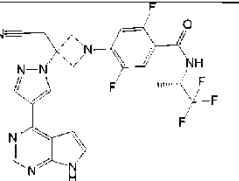
Таблица 1

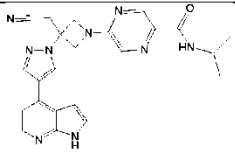
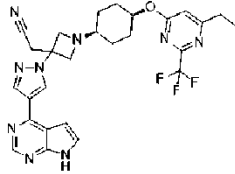
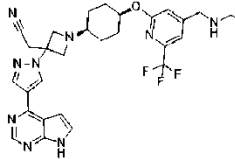
Соед. №	Преп.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2 / JAK1
1	US 2011/ 0224190 (пример 1)	{1-{1-[3-Фтор-2-(трифтометил)изониотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
2	US 2011/ 0224190 (пример 154)	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифтометил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид		+	>10
3	US 2011/ 0224190 (пример 85)	[3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-1-(1-{[2-(трифтометил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперидин-4-ил)азетидин-3-		+	>10

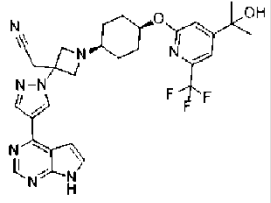
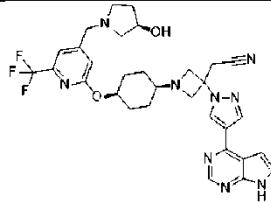
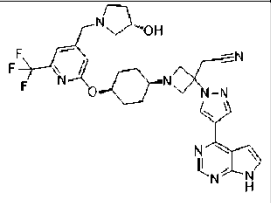
		ил]ацетонитрил			
4	US 2014/03430 30 (пример 7)	4-[3-(цианометил)-3- (3',5'-диметил-1H,1'H- 4,4'-бипиразол-1- ил)азетидин-1-ил]-2,5- дифтор-N-[(1S)-2,2,2- трифтор-1- метилэтил]бензамид		+++	>10
5	US 2014/01211 98 (пример 20)	((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1- гидроксиэтил]-1H- имидазо[4,5- d]тиено[3,2- b]пиридин-1- ил}тетрагидро-2H- пиран-2- ил)ацетонитрил		++	>10
6	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
7	US 2010/ 0298334 (Пример 13с)	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

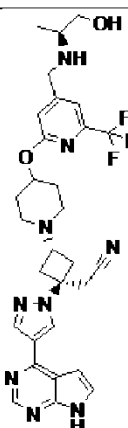
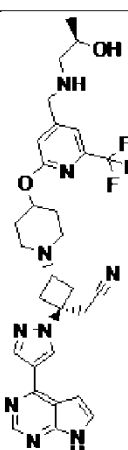
8	US 2011/ 0059951 (Пример 12)	4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]пропил}пиперазин -1-ил)карбонил]-3- фторбензонитрил		+	>10
9	US 2011/ 0059951 (Пример 13)	4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиррол-1- ил]пропил}пиперазин -1-ил)карбонил]-3- фторбензонитрил		+	>10
10	US 2012/ 0149681 (пример 7b)	[<i>транс</i> -1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1-ил]-3-(4-{[2-(трифторметил)пирим идин-4- ил]карбонил}пипераз ин-1- ил)циклобутил]ацетон итрил		+	>10

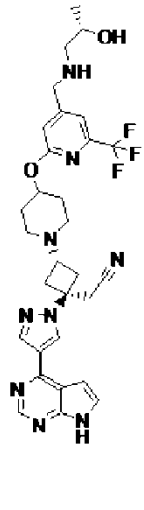
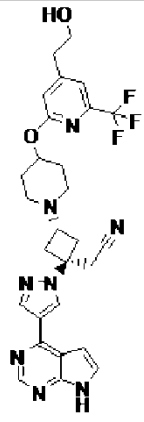
11	US 2012/ 0149681 (пример 157)	{ <i>транс</i> -3-(4-([4-(3- гидроксиазетидин-1- ил)метил]-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси}пиперидин-1- ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10
12	US 2012/ 0149681 (пример 161)	{ <i>транс</i> -3-(4-([4- [(2S)-2- (гидроксиметил)пирр олидин-1-ил]метил]- 6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси}пиперидин-1- ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10

13	US 2012/ 0149681 (пример 162)	{ <i>транс</i> -3-(4-[4- {[(2R)-2- (гидроксиметил)пирро- лидин-1-ил]метил}- 6- (трифторметил)пирид- ин-2- ил]окси}пиперидин-1- ил)-1-[4-(7H- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1H-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето- нитрил		+	>10
14	US 2012/ 0149682 (пример 20) ^b	4-(4-{3- [(диметиламино)мети- л]-5- фторфенокси}пипери- дин-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}-		+	>10

		2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид			
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-изопропилпиазин-2-карбоксамид		+	>10
18	US 2013/0045963 (пример 45)	{1-(<i>trans</i> -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-(<i>trans</i> -4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10

20	US 2013/ 0045963 (пример 69)	{ 1-(<i>транс</i> -4-{[4-(1- гидрокси-1- метилэтил)-6- (трифторметил)пирид ин-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-(<i>транс</i> -4-{[4-{[(3R)- 3- гидроксипирролидин- 1-ил]метил}-6- (трифторметил)пирид ин-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-(<i>транс</i> -4-{[4-{[(3S)-3- гидроксипирролидин- 1-ил]метил}-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси} циклогексил) -3-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]азетидин-3- ил}ацетонитрил		+	>10

		ил}азетидин-3-ил}ацетонитрил			
23	US 2014/0005166 (пример 1)	{ <i>trans</i> -3-(4-{[4-(([(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
24	US 2014/0005166 (пример 14)	{ <i>trans</i> -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)	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4- ({(2 <i>S</i>)-2- гидроксипропил]амин о}метил)-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]оксипиперидин-1- ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10
26	US 2014/ 0005166 (пример 20)	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-(2- гидроксиэтил)-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]оксипиперидин-1- ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10

+ означает <10 нМ (см. пример А в отношении условий анализа).

++ означает ≤100 нМ (см. пример А в отношении условий анализа).

+++ означает ≤300 нМ (см. пример А в отношении условий анализа).

^a Данные для энантиомера 1.

^b Данные для энантиомера 2.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 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 осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соль адипиновой кислоты и {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.

Синтез и получение {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 его соли адипиновой кислоты можно найти, например, в публ. патента США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., публ. патента США № 2013/0060026, поданной 6 сентября 2012 г., и публ. патента США № 2014/0256941, поданной 5 марта 2014 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1*S*)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соль фосфорной кислоты и 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1*S*)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида.

Синтез и получение 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1*S*)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и его соли фосфорной кислоты можно найти, например, в публ. патента США № 2014/0343030, поданной 16 мая 2014 г., которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой ((2*R*,5*S*)-5-{2-[(1*R*)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

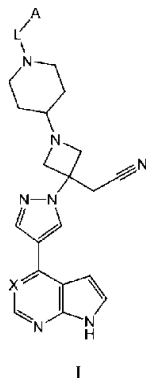
В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила моногидрат.

Синтез ((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 определение свойств его безводной и моногидратной форм описаны в публ. патента США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г., и публ. патента США № 2015/0344497, поданной 29 апреля 2015 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединения из табл. 1 получены процедурами синтеза, описанными в публ. патента США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., публ. патента США № 2014/0343030, поданной 16 мая 2014 г., публ. патента США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г., публ. патента США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., публ. патента США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., публ. патента США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., публ. патента США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., публ. патента США 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., публ. патента США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., публ. патента США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 выбран из соединений или их фармацевтически приемлемых солей из публ. патента США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., публ. патента США № 2014/0343030, поданной 16 мая 2014 г., публ. патента США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г., публ. патента США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., публ. патента США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., публ. патента США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., публ. патента США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., публ. патента США 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., публ. патента США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., публ. патента США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемую соль,

где X представляет собой N или CH;

L представляет собой C(=O) или C(=O)NH;

A представляет собой фенил, пиридинил или пиримидинил, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 независимо выбранными группами R¹; и

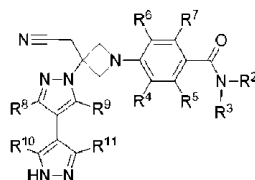
каждый R представляет собой независимо фтор или трифторметил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I 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.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I представляет собой 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 или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы I представляет собой [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 или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соединение формулы II



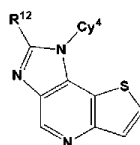
II

или его фармацевтически приемлемую соль,
где R^2 представляет собой C_{1-6} алкил, C_{1-6} галогеналкил, C_{3-6} циклоалкил или C_{3-6} циклоалкил- C_{1-3} алкил, причем указанные C_{1-6} алкил, C_{3-6} циклоалкил и C_{3-6} циклоалкил- C_{1-3} алкил, каждый, необязательно замещены 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из фтора, $-CF_3$ и метила;

- R^3 представляет собой H или метил;
- R^4 представляет собой H, F или Cl;
- R^5 представляет собой H или F;
- R^6 представляет собой H или F;
- R^7 представляет собой H или F;
- R^8 представляет собой H или метил;
- R^9 представляет собой H или метил;
- R^{10} представляет собой H или алкил;
- R^{11} представляет собой H или метил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы II 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 некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 представляет собой соединение формулы III



III,

или его фармацевтически приемлемую соль,
где Cy^4 представляет собой тетрагидро-2H-пиранольное кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 группами, независимо выбранными из CN, OH, F, Cl, C_{1-3} алкила, C_{1-3} галогеналкила, циано- C_{1-3} алкила, HO- C_{1-3} алкила, amino, C_{1-3} алкиламино и ди(C_{1-3} алкил)амино, причем указанные C_{1-3} алкил и ди(C_{1-3} алкил)амино необязательно замещены 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из F, Cl, C_{1-3} алкиламиносульфонила и C_{1-3} алкилсульфонила; и

R^{12} представляет собой $-CH_2-OH$, $-CH(CH_3)-OH$ или $-CH_2-NHSO_2CH_3$.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение формулы III 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 некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве от около 100 до около 600 мг в расчете на свободное основание. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления изобретения селективный ингибитор пути JAK1 вводят в суточном количестве около 100 мг, около 150 мг, около 200 мг, около 250 мг, около 300 мг, около 350 мг, около 400 мг, около 450 мг, около 500 мг, около 550 мг или около 600 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве около 200 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве около 300 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве около 400 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве около 500 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточном количестве около 600 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в количестве около 200 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в количестве около 300 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в количестве около 400 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в количестве около 500 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в количестве около 600 мг в расчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одной или более дозированных форм с замедленным высвобождением, каждая содержит ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль.

В данном документе предложен способ лечения связанного с цитокинами заболевания или нарушения у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту суточной дозы от около 100 до 600 мг, в расчете на свободное основание, ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли, причем ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одной или более дозированных форм с замедленным высвобождением, содержащих ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль.

Варианты осуществления изобретения, описанные в данном документе, предназначены для сочетания в любой подходящей комбинации, как если бы эти варианты осуществления являлись множеством зависимых пунктов формулы изобретения (например, варианты осуществления, относящиеся к селективному ингибитору пути JAK1 и его дозам, варианты осуществления, относящиеся к любым формам солей соединений, описанных в данном документе, варианты осуществления, относящиеся к отдельным типам связанных с цитокинами заболеваний или нарушений, и варианты осуществления, относящиеся к композиции и/или введению, могут сочетаться в любой комбинации).

Например, в данном документе предложен способ лечения у субъекта связанного с цитокинами заболевания или нарушения, выбранного из группы, состоящей из синдрома высвобождения цитокинов (CRS), гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза (HLH), синдрома активации макрофагов (MAS) или связанного с CAR-T-клетками энцефалопатического синдрома (CRES), способ включает введение субъекту однократной суточной дозы около 200 мг, в расчете на свободное основание, {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 или его фармацевтически приемлемой соли, причем доза содержит одну или более дозированных форм с замедленным высвобождением, каждая содержит {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.

Дозированные формы с замедленным высвобождением {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 или его фармацевтически приемлемой соли (табл. 1, соединение 1) могут быть найдены в публ. США № 2015/0065484, поданной 6 августа 2014 г., которая тем самым включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Все возможные комбинации не перечислены в данном документе по отдельности только для целей краткости.

Описанные в данном документе соединения могут быть асимметричными (например, имеют один или более стереоцентров). Подразумеваются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут выделять в оптически активной или рацемической форме. Способы приготовления оптически активных форм из оптически неактивных исходных веществ известны в данной области техники, например, путем разделения рацемических смесей или стереоселективного синтеза. Многие геометрические изомеры олефинов, двойные связи C=N и тому подобное могут также присутствовать в описанных в данном документе соединениях, и все такие стабильные изомеры рассматриваются в настоящем изобретении. Описаны цис- и транс-геометрические изомеры соединений по данному изобретению, и их могут выделять как смесь изомеров или как отдельные изомерные формы.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение имеет (R)-конфигурацию. В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение имеет (S)-конфигурацию.

Разделение рацемических смесей соединений могут осуществлять любым из многочисленных известных в данной области техники методов. Пример метода включает в себя дробную перекристаллизацию с использованием хиральной разделяющей кислоты, которая является оптически активной солеобразующей органической кислотой. Подходящими разделяющими агентами для методов дробной перекристаллизации являются, например, оптически активные кислоты, такие как D- и L-формы винной ки-

слоты, диацетилвинная кислота, дибензоилвинная кислота, миндальная кислота, яблочная кислота, молочная кислота или различные оптически активные камфорсульфоновые кислоты, такие как β -камфорсульфоновая кислота. Другие разделяющие агенты, пригодные для методов фракционной кристаллизации, включают в себя 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 могут также осуществлять элюированием на колонке, заполненной оптически активным разделяющим веществом (например, динитробензоилфенилглицином). Подходящую композицию растворителей для элюирования может определить специалист в данной области техники.

Соединения, описанные в данном документе, также включают таутомерные формы. Таутомерные формы возникают в результате перестановки одиночной связи с соседней двойной связью вместе с сопутствующей миграцией протона. К таутомерным формам относятся прототропные таутомеры, представляющие собой состояния изомерного протонирования, имеющие одну и ту же эмпирическую формулу и суммарный заряд. Примеры прототропных таутомеров включают пары кетона-энола, пары амидной-имидной кислоты, пары лактама-лактима, пары энамина-имина и кольцевые формы, в которых протон может занимать два и более положения гетероциклической системы, например 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н- 1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол, а также 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или стерически фиксироваться в одной форме путем соответствующей замены.

Описанные в данном документе соединения также могут включать изотопно меченые соединения по данному описанию. "Изотопно-" или "радиоизотопно меченное" соединение представляет собой соединение по данному описанию, в котором один или более атомов заменены или замещены атомом, атомная масса или массовое число которого отличается от атомной массы или массового номера, как правило, обнаруженных в природе (т.е. встречающихся в природе). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения по настоящему описанию, включают в себя, но не ограничиваются ^2H (также записывается как D для дейтерия), ^3H (также записывается как T для трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Например, один или более атомов водорода в соединении по настоящему описанию могут замещать атомом дейтерия (например, один или более атомов водорода C_{1-6} алкильной группы формул (I), (II) или (III) или соединения табл. 1 могут быть необязательно замещены атомом дейтерия, например $-\text{CH}_3$ замещен на $-\text{CD}_3$).

Термин "соединение", как используется в данном документе, означает включение всех стереоизомеров, геометрических изомеров, таутомеров и изотопов изображенных структур, если только название не указывает на конкретный стереоизомер. Соединения, идентифицируемые в настоящем документе по названию или структуре как одна конкретная таутомерная форма, предназначены для включения других таутомерных форм, если не указано иное.

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

В некоторых вариантах осуществления изобретения описанные в данном документе соединения или их соли являются по существу выделенными. Под "по существу выделенным" понимается соединение, по меньшей мере частично или по существу, отделенное от окружающей среды, в которой оно образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию, обогащенную описанными в данном документе соединениями. Существенное разделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 97% или по меньшей мере около 99% по массе соединений, описанных в данном документе, или их соль. Методы выделения соединений и их солей являются рутинными в данной области техники.

Фраза "фармацевтически приемлемый" используется в данном документе для обозначения таких соединений, веществ, композиций и/или дозированных форм, которые в рамках рационального медицинского решения являются подходящими для применения при контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соразмерно разумному соотношению пользы/риска.

Выражения "температура окружающей среды" и "комнатная температура" или "кт", как используется в данном документе, понимаются в данной области техники и относятся, в целом, к температуре, например реакционной температуре, которая составляет приблизительно температуру, при которой проходит реакция, например температура от около 20 до около 30°C.

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в данном документе. Как используется в данном документе, термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным раскрытых соединений, причем исходное соединение модифицируется путем превращения его кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются этим, соли минеральных или органических кислот и основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков,

таких как карбоновые кислоты; и т.п. Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению включают традиционные нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими методами. Как правило, такие соли могут быть получены взаимодействием форм этих соединений в виде свободной кислоты или основания со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси; как правило, неводные среды, такие как эфир, этилацетат, этанол, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (ACN), являются предпочтительными.

Перечень подходящих солей представлен в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из публикаций включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Как используется в данном документе, термины "субъект", "индивид" или "пациент" применяемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, коней или приматов и, наиболее предпочтительно, людей. В некоторых вариантах осуществления изобретения "субъект", "индивид" или "пациент" нуждается в указанном лечении.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибиторы вводят в терапевтически эффективном количестве. Как используется в данном документе, фраза "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного соединения или фармацевтического агента, которое вызывает биологическую или медицинскую реакцию в ткани, системе, животном, индивиде или человеке, желаемую для исследователя, ветеринара, врача или другого клинициста. В некоторых вариантах осуществления изобретения дозирование соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимых пациенту или индивиду, 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 некоторых вариантах осуществления изобретения дозирование соединения или его фармацевтически приемлемой соли составляет около 200 мг.

Как используется в настоящем документе, термин "лечить" или "лечение" относится к одному или более из (1) подавления заболевания; например подавления заболевания, состояния или нарушения у человека, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т.е. останавливается дальнейшее развитие патологии и/или симптоматики); (2) облегчения заболевания; например облегчения заболевания, состояния или нарушения у индивида, который испытывает или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (т.е. обращается течение патологии или симптоматики), такого как снижение тяжести заболевания; или (3) предотвращая заболевание, состояние или нарушение у индивида, который может быть предрасположен к этому заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику этого заболевания. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение относится к подавлению или облегчению заболевания. В некоторых вариантах осуществления изобретения лечение представляет собой предотвращение заболевания.

Комбинированные виды терапии.

Описанные в данном документе способы могут дополнительно включать в себя введение одного или более дополнительных терапевтических агентов. Один или более дополнительных терапевтических агентов могут вводить пациенту одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой антагонист IL-6 или антагонист его рецептора. В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонист рецептора IL-6 представляет собой тоцилизумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор MCP-1. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор MIP1B. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор IL-2R. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор IL-1R. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор TNF- α .

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительное лекарственное средство представляет собой анти-CD25 антитело. В некоторых вариантах осуществления изобретения анти-CD25 антитело представляет собой даклизумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой ингибитор IL-1 β .

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой антагонист рецептора IL1 (IL1Ra). В некоторых вариантах осуществления изобретения антагонист рецептора IL1 (IL1Ra) представляет собой анакинру.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительный терапевтический агент представляет собой кортикостероид. В некоторых вариантах осуществления изобретения кортикостероид представляет собой преднизон.

В некоторых вариантах осуществления изобретения любой из предыдущих дополнительных терапевтических агентов применяется в дополнительной комбинации с кортикостероидом (например, преднизолоном).

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительные терапевтические агенты включают в себя тоцилизумаб и кортикостероид. В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительные терапевтические агенты включают в себя тоцилизумаб и преднизон.

Фармацевтические рецептуры и дозированные формы.

При использовании в качестве лекарственных средств ингибиторы пути JAK1 или их фармацевтически приемлемые соли могут вводить в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут готовить способом, хорошо известным в фармацевтической области, и могут применять различными путями, в зависимости от того, желательно местное или системное лечение, а также в зависимости от подлежащего лечению участка. Назначение может быть местным (в том числе трансдермальным, эпидермальным, офтальмологическим и на слизистые оболочки, включая интраназальную, вагинальную и ректальную доставку), легочным (например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе небулайзером; интратрахеально или интраназально), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает в себя внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное или инъекционное или инфузионное введение; или внутричерепное, например интратекальное или интравентрикулярное, введение. Парентеральное введение может выполняться в виде одной болюсной дозы или может выполняться, например, с помощью насоса для непрерывной перфузии. Фармацевтические композиции и рецептуры для местного применения могут включать в себя трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Могут быть необходимы или желательны традиционные фармацевтические носители, водные, порошковые или маслянистые основания, загустители и т.п.

Это изобретение также включает фармацевтические композиции, которые содержат как активный ингредиент, описанный в данном документе ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах осуществления композиция пригодна для местного введения. При изготовлении композиций активный ингредиент обычно смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или заключают в такой носитель в форме, например, капсулы, саше, бумажного пакета или другого контейнера. Когда вспомогательное вещество служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким веществом, которое действует в качестве носителя, несущей среды или среды для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть в виде таблеток, пилюль, порошков, пастилок, саше, каше, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердой или жидкой среды), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиторий, стерильных инъекционных растворов и стерильных порошков в упаковке.

При приготовлении рецептуры активное соединение может быть измельчено для обеспечения соответствующего размера частиц перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение по существу нерастворимо, его можно измельчать до размера частиц менее 200 меш. Если активное соединение по существу водорастворимо, то размер частиц может быть скорректирован путем измельчения, чтобы обеспечить по существу равномерное распределение в рецептуре, например, около 40 меш.

Ингибиторы пути JAK1 могут измельчаться с использованием известных процедур измельчения, таких как влажное измельчение, для получения размера частиц, подходящего для формирования таблеток и для других типов рецептур. Тонкодисперсные (состоящие из наночастиц) препараты селективных ингибиторов JAK1 могут быть приготовлены с помощью известных в данной области техники процессов, например см. международную заявку № WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают в себя лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Рецептуры могут дополнительно включать смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгирующие и суспендирующие агенты; консервирующие агенты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подслащивающие агенты; и ароматизирующие агенты. Композиции по данному изобретению могут быть составлены так, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием процедур, известных в данной области техники.

Композицию могут составлять в единичной дозированной форме, причем каждое дозирование содержит от около 5 до около 1000 мг (1 г), чаще от около 100 до около 500 мг активного ингредиента. Термин "единичные дозированные формы" относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве единичных дозировок для людей и других млекопитающих, причем каждая единица содержит

заранее определенное количество активного вещества, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с подходящим фармацевтическим наполнителем.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по данному изобретению содержат от около 5 до около 50 мг активного ингредиента. Специалист средней квалификации в данной области техники поймет, что в этом изобретении осуществляются 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 осуществления изобретения композиции по данному изобретению содержат от около 50 до около 500 мг активного ингредиента. Специалист средней квалификации в данной области техники поймет, что в этом изобретении осуществляются 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 300 до около 350 до около 400 или от около 450 до около 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции по данному изобретению содержат от около 500 до около 1000 мг активного ингредиента. Специалист средней квалификации в данной области техники поймет, что в этом изобретении осуществляются 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.

В сходных дозировках могут использовать соединения, описанные в данном документе, в способах и применениях по данному изобретению.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне дозировок и обычно вводится в фармацевтически эффективном количестве. Тем не менее понятно, что количество фактически вводимого соединения будет, как правило, определяться врачом с учетом соответствующих обстоятельств, в том числе подлежащего лечению патологического состояния, выбранного пути введения, конкретного вводимого соединения, возраста, массы и реакции конкретного пациента, тяжести симптомов у пациента и т.п.

Для приготовления твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим наполнителем для формирования твердой преформовочной композиции, содержащей гомогенную смесь соединения по настоящему изобретению. При приведении этих преформовочных композиций к однородным активный ингредиент, как правило, равномерно распределяется по всей композиции, так чтобы композицию можно было легко разделять на равным образом эффективные единичные дозированные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Эта твердая преформовочная смесь затем разделяется на единичные дозированные формы описанного выше типа, содержащие, например, от около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента по настоящему изобретению.

Таблетки или пилюли по настоящему изобретению могут покрывать оболочкой или их могут иным образом компоновать для получения дозированной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутреннюю дозировку и внешний компонент дозировки, причем последний может находиться в виде оболочки поверх первой. Два компонента могут быть разделены кишечнорастворимым слоем, который обеспечивает устойчивость распадения в желудке и позволяет внутреннему компоненту проходить неизменным в двенадцатиперстную кишку или задерживаться при высвобождении. Для таких кишечнорастворимых слоев или покрытий могут использовать различные вещества, такие вещества включают в себя ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими веществами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, которые могут включать соединения и композиции для перорального или инъекционного введения, включают в себя водные растворы, подходящие ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как масло семян хлопчатника, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают в себя растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смеси и порошки. Жидкая или твердая композиция может содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления изобретения композиции вводят пероральным или назальным путем через дыхательные пути для получения местного или системного эффекта. Композиции можно распылять с использованием инертных газов. Растворы для распыления могут вдыхать непосредственно из устройства для распыления либо устройство для распыления могут прикреплять к маске для лица, накидке или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Раствор, суспензию или порошкообразные композиции могут вводить перорально или назально из устройств, доставляющих рецептуру соответствующим образом.

Рецептуры для местного применения могут содержать один или более традиционных носителей. В некоторых вариантах осуществления изобретения мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, полиоксиэтилен-алкилового эфира,

пропиленгликоля, белого вазелина и т. п. Композиции носителей для кремов могут базироваться на воде в комбинации с глицерином и одним или более другими компонентами, например глицеринмоностеаратом, ПЭГ-глицеринмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть составлены с использованием изопропилового спирта и воды, соответственно в комбинации с другими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и т.п. В некоторых вариантах осуществления изобретения рецептуры для местного применения содержат по меньшей мере около 0,1; по меньшей мере около 0,25; по меньшей мере около 0,5; по меньшей мере около 1; по меньшей мере около 2 или по меньшей мере около 5 масс. % соединения, описанного в данном документе. Рецептуры для местного применения могут соответственно упаковывать в тубы, например, по 100 г, которые по желанию могут дополняться инструкциями по лечению выбранного показания, например псориаза или другого кожного заболевания.

Количество вводимого пациенту соединения или композиции будет варьироваться в зависимости от того, что вводится, цели введения, такой как профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и тому подобного. В терапевтических применениях композиции могут вводить уже страдающему от заболевания пациенту в количестве, достаточном для излечения или по меньшей мере частично купирования симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы будут зависеть от болезненного состояния, подвергаемого лечению, а также от решения лечащего врача в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса тела и общее состояние пациента и т.п.

Композиции, вводимые субъекту, могут находиться в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы традиционными способами стерилизации или пройти стерильную фильтрацию. Водные растворы могут быть упакованы для использования как есть или лиофилизированы, причем лиофилизированный препарат перед введением объединяют со стерильным водным носителем. Обычно pH препаратов соединения составляет от 3 до 11, предпочтительнее от 5 до 9 и предпочтительнее всего от 7 до 8. Подразумевается, что использование некоторых из вышеперечисленных вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая доза соединения по настоящему изобретению может варьироваться в соответствии, например, с конкретным применением, для которого проводится лечение, способа введения соединения, здоровья и состояния пациента, а также от решения назначающего врача. Пропорция или концентрация описанного в данном документе соединения в фармацевтической композиции может варьировать в зависимости от ряда факторов, включающих дозу, химические свойства (например, гидрофобность) и путь введения. Например, описанные в данном документе соединения могут предоставлять в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от около 0,1 до около 10% мас./об. соединения для парентерального введения. Некоторые обычные диапазоны доз составляют от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления изобретения диапазон доз составляет от около 0,01 до около 100 мг/кг массы тела в сутки. Дозировка, вероятно, будет зависеть от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или нарушения, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав наполнителя и способ введения препарата. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доз-ответ, полученных из экспериментов *in vitro* или на исследовательских системах с модельными животными.

Композиции по данному изобретению могут дополнительно включать один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как химиотерапевтическое, стероидное, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых перечислены в данном документе.

Наборы.

В настоящее изобретение также включены фармацевтические наборы, используемые, например, при лечении и/или предотвращении связанных с цитокинами заболеваний или нарушений, таких как CRS, которые включают в себя один или более контейнеров, вмещающих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество описанного в данном документе соединения. Такие наборы могут также включать, при желании, один или более различных компонентов обычных фармацевтических наборов, таких как, например, контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., что будет очевидно специалистам в данной области техники. В этот набор также могут быть включены инструкции как в виде листовок-вкладышей, так и в виде этикеток с указанием количеств вводимых компонентов, рекомендации по применению и/или рекомендации по смешиванию компонентов.

Примеры

Настоящее изобретение будет более подробно описано с помощью конкретных примеров. Следующие примеры предложены для пояснительных целей и не направлены на ограничение данного изобретения каким-либо образом. Специалисты в данной области техники легко распознают ряд некритических параметров, которые можно изменить или модифицировать с получением по существу идентичных результатов. Соединения из примеров, которые были определены как ингибиторы JAK в соответствии по меньшей мере с одним анализом, описанным в данном документе.

Пример А. Анализ активности киназы JAK *in vitro*.

Ингибиторы пути JAK1, которые могут применять для лечения связанных с цитокинами заболеваний или нарушений, исследуют на ингибирующую активность мишеней JAK в соответствии со следующим анализом *in vitro*, описанным в Park et al., *Analytical Biochemistry*, 1999, 269, 94-104. Экспрессируют каталитический домен JAK1 человека (а.к. 837-1142), JAK2 (а.к. 828-1132) и JAK3 (а.к. 781-1124) с N-концевым маркером His с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищают его. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид выявляли методом гомогенной времяразрешающей флуоресценции (англ. *homogenous time resolved fluorescence*, HTRF). Концентрации IC₅₀ соединений измеряют для каждой киназы в реакционных смесях объемом 40 мкл, которые содержат фермент, АТФ и 500 нМ пептид в 50 мМ Трис (pH 7,8) буфере с 100 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ и 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. В отношении измерений 1 мМ IC₅₀, концентрация АТФ в реакционной смеси составляет 1 мМ. Реакции проводят при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем останавливают с помощью 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Ry20 в аналитическом буфере (Perkin Elmer, г. Бостон, штат Массачусетс, США). Связывание с меченым европием антителом занимает 40 мин и сигнал HTRF измеряли на считывателе для планшетов Fusion (Perkin Elmer, г. Бостон, штат Массачусетс, США). Соединения в табл. 1 исследовали в этом анализе, и показано, что они имеют значения IC₅₀, приведенные в табл. 1.

Пример В. Индуцированный анти-CD3 антителами синдром высвобождения цитокинов у мышей BALB/c.

Ингибиторы пути JAK1 можно тестировать на эффективность против CRS в соответствии с анализом *in vivo*, описанным в Ferran, C. et al. *Clin. Exp. J. Immunol.*, 1991, 86, 537-543. В частности, в данном исследовании можно проверять способность соединения снижать или облегчать синдром высвобождения цитокинов (CRS), индуцированный анти-CD3 антителами, у мышей BALB/c. Антитело, клон 145-2C11, представляет собой иммуноглобулин G (IgG) хомяка MoAb, который является специфическим по отношению к ϵ -цепи мышинной молекулы CD3 (Léo, O. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987, 34, 1374). Обработка 145-2C11 индуцирует высокоаффинные рецепторы IL-2 на поверхности Т-клеток селезенки и приводит к высвобождению некоторых цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (TNF α), IL-2, IL-3, IL-6 и интерферон-гамма (IFN γ) (Ferran, et al. *Eur. J. Immunol.* 1990, 20, 509-515 и Algre, M. et al., *Eur. J. Immunol.*, 1990, 707). Высвобождение этих цитокинов приводит к поведенческим изменениям (например, потеря активности, piloэрекция и т.д.) у животных.

А. Материалы и методы.

Вид/линия:	Мыши: самцы BALB/c
Физиологическое состояние:	Здоровые
Диапазон по возрасту/весу на начало исследования:	6-8 недель
Поставщик животных:	Charles River Laboratories
Количество/пол животных:	Всего 32 самца мышей
Рандомизация:	Перед началом исследования мыши будут рандомизированы в четыре (4) группы по восемь (8) мышей.
Обоснование:	Как показано в литературе, введение анти-CD3 антитела (клон 145-2C11) индуцирует синдром высвобождения цитокинов и служит моделью, с помощью которой можно изучать эффективность потенциальной терапии.
Замена	В ходе данного исследования животных заменять не будут.
Анти-CD3ε	
Идентификация и номер серии:	Антитело против CD3ε, клон 145-2C11
Источник:	BioXCell
Условия хранения:	4 °C
Носитель:	Стерильный солевой раствор
Доза:	10 мкг
Объем/путь введения	В/В, 100 мкл на животное
Соединение:	Соединение 1 (ингибитор Jak1)^A
Условия хранения:	КТ (приготовление при КТ на ротаторе для
Носитель:	0,5% метилцеллюлоза
Доза(-ы):	60 мг/кг и 120 мг/кг
Объем/путь введения	П/О, 0,1 мл/20 г (5 мл/кг)
Частота и длительность дозирования:	Раз в сутки на день 0

Синтез и получение соединения 1 из табл. 1 или {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 его соли адипиновой кислоты можно найти, например, в публ. патента США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., публ. патента США № 2013/0060026, поданной 6 сентября 2012 г., и публ. патента США № 2014/0256941, поданной 5 марта 2014 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

В. Схема эксперимента.

Основной целью данного исследования было проверить способность ингибитора пути JAK1 (например, соединения 1) снижать или облегчать синдром высвобождения цитокинов (CRS), индуцированный анти-CD3 антителами, у мышей BALB/c. Для этого однодневного исследования использовали всего 32 мыши BALB/c. Перед введением дозы исследуемого препарата животных взвешивали и отслеживали в течение хода эксперимента. На день 0 за 1 ч до введения анти-CD3 антитела давали в виде одной дозы носитель (0,5% метилцеллюлоза) или соединение 1 через желудочный зонд (П/О) животным 2-4 групп, как показано в табл. 1А. Группа 1 служила "наивными" контролями и не получала лечение. После 1 ч предварительного лечения носителем или соединением 1 животным в группах 2-4 вводили 10 мкг анти-CD3ε антитела (клон 145-2C11) посредством внутривенной инъекции (В/В) с целью индуцировать CRS. Всех животных подвергали эвтаназии посредством вдыхания CO₂ через 1,5 ч после введения анти-CD3 антитела. Собирали цельную кровь посредством сердечной пункции в пробирки с K₂ЭДТА и хранили на льду до выполнения выделения плазмы. Плазму собирали и хранили при температуре -80°C до выполнения мультиплексного анализа на цитокины.

Таблица 1А

Дизайн исследования

Группа	Колич. животных	Предв. лечение ИП (П/О)	График введения доз	Анти-CD3 (10 мкг, (В/В)	График умерщвл./ сбор плазмы	Конечные точки
1	8/самцы	«Наивные»	60 минут перед анти-CD3	-	1,5 ч после введения	Сбор плазмы для мультиплексного анализа цитокинов
2	8/самцы	Носитель		+	анти-CD3	
3	8/самцы	Соединение 1 (60 мг/кг)		+	Цельная кровь посредством	
4	8/самцы	Соединение 1 (120 мг/кг)		+	сердечной пункции (пробирки с К ₂ ЭДТА)	

С. Экспериментальные процедуры.

I. Предварительное лечение исследуемым препаратом (ИП).

На день 0 животным вводили дозы с носителем или исследуемыми препаратами или соединением 1, как показано в табл. 1А. Группа 2 получала одну дозу носителя (0,5% метилцеллюлоза) посредством П/О по 0,1 мг/20 г. Группа 3 получала одну дозу 60 мг/мл соединения 1 посредством П/О по 0,1 мг/20 г. Группа 4 получала одну дозу 120 мг/мл соединения 1 посредством П/О по 0,1 мг/20 г. Группа 1 служила "наивными" контролями и не получала лечение.

II. Введение анти-CD3ε антителя.

Через 1 ч после введения исследуемого препарата группам 2-4 вводили анти-CD3ε антители (клон 145-2С11) посредством В/В инъекции. Каждое животное в группах 2-4 получало 10 мкг анти-CD3ε антителя в 0,1 мл.

III. Прижизненный мониторинг.

После введения анти-CD3 антителя животные находились под пристальным наблюдением на предмет признаков недомогания, вызванного возникшей системной воспалительной реакцией. Подвергали эвтаназии животных, которые не могли самостоятельно существовать, холодных на ощупь или умирающих. Умирающих животных подвергали эвтаназии путем вдыхания CO₂, собирали кровь посредством сердечной пункции и отделяли плазму.

IV. Умерщвление.

Через 1,5 ч после введения анти-CD3 антителя всех животных подвергали эвтаназии путем вдыхания CO₂.

V. Отбор образцов.

После умерщвления собирали цельную кровь у каждого животного посредством сердечной пункции в пробирки с К₂ЭДТА. Кровь центрифугировали и собирали плазмы в криофлаконы. Плазму замораживали и хранили при -80°C для последующего мультиплексного анализа цитокинов.

VI. Мультиплексный анализ цитокинов.

Образцы плазмы размораживают на льду и используют для мультиплексного анализа цитокинов в соответствии с протоколом производителя (ThermoFisher).

D. Результаты.

Соединение 1 дозозависимым образом ингибировало концентрации IL-6 в компартменте крови (фиг. 1). Это служит подтверждением биологической активности, наблюдаемой в доклинической модели Con A, описанной ниже в примере С. Непарный односторонний дисперсионный анализ (ANOVA), включающий тест множественного сравнения Сидака, выполняли с использованием GraphPad Prism (версия 4.00; GraphPad Software, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США). Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Пример С. Индуцированный конканавалином А синдром высвобождения цитокинов.

Конканавалин А (Con A) представляет собой селективный митоген Т-лимфоцитов, приводящий к обширному высвобождению воспалительных цитокинов и пролиферации CD4 и CD8 Т-клеток. Как показано в литературе, инъекция Con-A индуцирует синдром высвобождения цитокинов и служит моделью, с помощью которой можно исследовать эффективность терапии синдрома высвобождения цитокинов

(Gantner, F. et al. Hepatology, 1995, 21, 190-198). Реакция на митоген зависит от экспрессии Т-клеточного рецептора. У животных наблюдаются поведенческие изменения, такие как лихорадка, недомогание, гипотензия, гипоксия, повышенная проницаемость капилляров и потенциальная полиорганная токсичность.

А. Материалы и методы.

Вид/линия:	Мыши: самки BALB/c
Физиологическое состояние:	Здоровые
Диапазон по возрасту/весу на начало исследования:	6-8 недель
Поставщик животных:	Taconic
Количество/пол животных:	Всего 40 мышей
Рандомизация:	Перед началом исследования мышей рандомизировали в пять (5) групп по восемь (8) мышей.
Обоснование:	Как показано в литературе, введение Con-A индуцирует синдром высвобождения цитокинов и служит моделью, с помощью которой можно изучать эффективность потенциальной терапии.

В. Схема эксперимента.

Конкретно, в данном исследовании исследуют способность селективного ингибитора JAK1 (например, соединения 1, табл. 1) снижать или облегчать у мышей BALB/c синдром высвобождения цитокинов (CRS), индуцированный Con A. Для этого однодневного исследования использовали всего 40 мышей BALB/c. Перед введением дозы исследуемого препарата животных взвешивали и отслеживали в течение хода эксперимента. На день 0 за 60 мин до введения Con A давали в виде одной дозы носитель (0,5% метилцеллюлоза) или соединение 1 (60 и 120 мг/кг) через желудочный зонд (П/О) животным 2-4 групп, как показано в табл. 2А. Группа 1 служила "наивными" контролями и не получала лечение. После 45 мин предварительного лечения носителем или соединением 1 животным в группах 2-4 вводили 20 мг/кг Con A посредством внутривенной инъекции (В/В) с целью индуцирования CRS. Всех животных подвергали эвтаназии посредством вдыхания CO₂ через 2 ч после введения Con A. Собирали цельную кровь посредством сердечной пункции в пробирки с K₂ЭДТА и хранили на льду до выполнения выделения плазмы. Плазму собирали и хранили при температуре -80°C до выполнения мультиплексного анализа на цитокины.

Таблица 2А

Дизайн исследования

Группа	Колич. животных	Предв. лечение (П/О)	График введения доз	Con-A (В/В)	График умерщвл./сбор плазмы	Конечные точки
1	10	«Наивные»	За 60 минут до Con A	-	Через 2 ч после введения	Сбор плазмы для мультиплексного анализа цитокинов
2	10	Носитель		+	Con A	
3	10	Соединение 1 (60 мг/кг)		+	Цельная кровь посредством	
4	10	Соединение 1 (120 мг/кг)		+	сердечной пункции	

С. Экспериментальные процедуры День -1.

Взвешивали животных и рассчитывали дозу Con-A (20 мг/кг).

В соответствующих дозах готовили носитель и соединение 1.

День 0.

I. Предварительное лечение исследуемым препаратом (ИП).

На день 0 животным вводили дозы с носителем или соединением 1, как показано в табл. 2А. Группа 1 служила "наивными" контролями и не получала лечение. Группа 2 получала одну дозу носителя (0,5% метилцеллюлоза) посредством П/О по 0,1 мг/20 г. Группа 3 получала одну дозу 60 мг/мл соединения 1 посредством П/О по 0,1 мг/20 г. Группа 4 получала одну дозу 120 мг/мл соединения 1 посредством П/О по 0,1 мг/20 г.

II. Введение Con-A.

Через 60 мин после введения исследуемого препарата вводили Con-A посредством В/В инъекций группам 2-4. Каждое животное в группах 2-4 получало 20 мг/кг Con-A в 0,2 мл.

III. Прижизненный мониторинг.

После введения Con-A животные находились под пристальным наблюдением на предмет признаков недомогания, вызванного возникшей системной воспалительной реакцией.

IV. Умерщвление.

Через 2 ч после введения Con-A всех животных подвергали эвтаназии путем вдыхания CO₂.

V. Отбор образцов.

После умерщвления собирали цельную кровь у каждого животного посредством сердечной пункции в пробирки с K₂ЭДТА. Кровь центрифугировали и собирали плазмы в криофлаконы. Плазму замораживали и хранили при -80°C для последующего мультиплексного анализа цитокинов.

VI. Мультиплексный анализ цитокинов.

Образцы плазмы размораживают на льду и используют для мультиплексного анализа цитокинов в соответствии с протоколом производителя (ThermoFisher).

D. Результаты.

Соединение 1 дозозависимым образом ингибировало концентрации IL-6 в компартменте крови (фиг. 2А). Этот цитокин является ключевым посредником патофизиологии CRS. Цитокины IFN γ и GM-CSF, происходящие из Т-клеток, были также в значительной степени ингибированы, давая основание предполагать, что соединение 1 имеет терапевтический потенциал, выходящий за пределы ограниченного механизма действия тоцилизумаба (только анти-IL-6R) (фиг. 2В и 2С).

Уровни происходящих из моноцитов и/или макрофагов цитокинов также снижались. Наблюдали статистически значимое дозозависимое снижение IL-12 (фиг. 3А), а также тенденции в отношении лечебного эффекта с IL-1 β (фиг. 3В) и IL-18 (фиг. 3С), давая возможность предполагать, что JAK1 специфическое ингибирование имеет терапевтический потенциал среди типов иммунных клеток, вовлеченных в патологию CRS.

Важно отметить, что на цитокин IL-5 (фиг. 4) не влияло лечение соединением 1, он является независимым от JAK1 и не вовлечен в патологию CRS. Эти данные свидетельствуют о том, что базирующаяся на соединении 1 эффективность не опосредована обширной неспецифической иммунной супрессией.

Непарный односторонний дисперсионный анализ (ANOVA), включающий тест множественного сравнения Сидака, выполняли с использованием GraphPad Prism (версия 4.00; GraphPad Software, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США). Значение $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Пример D. Приготовление рецептур соединения 1 с замедленным высвобождением.

Готовили таблетки с замедленным высвобождением (англ. sustained release, SR), содержащие соединение 1, со вспомогательными веществами в количествах, указанных в нижеследующих таблицах. Протокол А применяли к таблеткам SR1, протокол В применяли к таблеткам SR2, протокол С применяли к таблеткам SR3 и таблеткам SR по 25 мг, а протокол D применяли к таблеткам SR4. Эти процедуры описаны в публ. патента США № 2015/0065484, которая относится к дозированным формам соединения 1 с замедленным высвобождением.

Протокол А:

Стадия 1. По отдельности просеивают соль адипиновой кислоты и соединения 1, микрокристаллическую целлюлозу, гипромеллозы (Methocel K100 LV и Methocel K4M) и лактозы моногидрат.

Стадия 2. Переносят просеянные вещества со стадии 1 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 3. Переносят смесь со стадии 2 в подходящий гранулятор и смешивают.

Стадия 4. Во время смешивания добавляют очищенную воду.

Стадия 5. Переносят гранулы со стадии 4 в подходящую сушилку и высушивают до тех пор, пока потеря при сушке (англ. loss on drying, LOD) не станет менее 3%.

Стадия 6. Просеивают гранулы со стадии 5.

Стадия 7. Смешивают просеянный магния стеарат с гранулами со стадии 6 в подходящем смесителе.

Стадия 8. Прессуют готовую смесь со стадии 7 на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол В:

Стадия 1. По отдельности просеивают соль адипиновой кислоты и соединения 1, микрокристаллическую целлюлозу, гипромеллозу и прежелатинизированный крахмал.

Стадия 2. Переносят просеянные вещества со стадии 1 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 3. Переносят смесь со стадии 2 в подходящий гранулятор и смешивают.

Стадия 4. Во время смешивания добавляют очищенную воду.

Стадия 5. Переносят гранулы со стадии 4 в подходящую сушилку и высушивают до тех пор, пока потеря при сушке (LOD) не станет менее 3%.

Стадия 6. Просеивают гранулы со стадии 5.

Стадия 7. По отдельности просеивают Polyox, бутилированный гидрокситолуол и коллоидный диоксид кремния.

Стадия 8. Переносят гранулы со стадии 6 и вещества со стадии 7 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 9. Добавляют к веществам со стадии 8 магния стеарат и продолжают смешивание.

Стадия 10. Прессуют готовую смесь со стадии 9 на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол C:

Стадия 1. По отдельности через подходящее сито просеивают лактозы моногидрат, соль адипиновой кислоты и соединения 1, микрокристаллическую целлюлозу и гипромеллозу.

Стадия 2. Переносят просеянные вещества со стадии 1 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 3. Переносят смесь со стадии 2 в подходящий гранулятор и смешивают.

Стадия 4. Во время смешивания добавляют очищенную воду.

Стадия 5. Через подходящее сито просеивают влажные гранулы.

Стадия 6. Переносят гранулы со стадии 5 в подходящую сушилку и высушивают до тех пор, пока потеря при сушке (LOD) не станет менее 3%.

Стадия 7. Размельчают гранулы со стадии 6.

Стадия 8. Смешивают просеянный магния стеарат с гранулами со стадии 7 в подходящем смесителе.

Стадия 9. Прессуют готовую смесь со стадии 8 на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол D:

Стадия 1. По отдельности через подходящее сито просеивают прежелатинизированный крахмал, соль адипиновой кислоты и соединения 1, гипромеллозу и часть микрокристаллической целлюлозы.

Стадия 2. Переносят просеянные вещества со стадии 1 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 3. Переносят смесь со стадии 2 в подходящий гранулятор и смешивают.

Стадия 4. Во время смешивания добавляют очищенную воду.

Стадия 5. Через подходящее сито просеивают влажные гранулы.

Стадия 6. Переносят гранулы со стадии 5 в подходящую сушилку и высушивают до тех пор, пока потеря при сушке (LOD) не станет менее 3%.

Стадия 7. Размельчают гранулы со стадии 6.

Стадия 8. Просеивают оставшуюся часть микрокристаллической целлюлозы и половину натрия бикарбоната.

Стадия 9. Переносят гранулы со стадии 7 и просеянные вещества со стадии 8 в подходящий смеситель и смешивают.

Стадия 10. Просеивают оставшуюся часть натрия бикарбоната и смешивают со смесью со стадии 9.

Стадия 11. Просеивают магния стеарат и смешивают со смесью со стадии 10.

Стадия 12. Прессуют готовую смесь со стадии 11 на подходящем роторном таблеточном прессе.

SR1. Композиция таблеток по 100 мг с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Соль адипиновой кислоты и соединения 1 ^a	Активный ингредиент	126,42 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	60,0	10,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	60,0	10,0
Гипромеллоза (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	60,0	10,0
Лактозы моногидрат	Наполнитель	290,58	48,4
Магния стеарат ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Вода очищенная ^c	Жидкость для гранулирования	в достаточ. колич.	--
Всего		600,0	100

^a Коэффициент перерасчета для адипиновой соли в свободное основание составляет 0,7911.

^b Добавляется после грануляции.

^c Удаляется в процессе производства.

SR2. Композиция таблеток по 100 мг с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Соль адипиновой кислоты и соединения ^a	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микrokристаллическая целлюлоза	Наполнитель	180,0	30,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Связующее вещество	6,0	1,0
Полиэтиленоксид (Polyox WRS 1105) ^b	Контроль высвобождения	180,0	30,0
Прежелатинизированный крахмал	Наполнитель	101,6	16,9
Коллоидный диоксид кремния ^b	Способствующее скольжению вещество	3,0	0,5
Бутилированный гидрокситолуол ^b	Антиоксидант	0,012	0,002
Магния стеарат ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Вода очищенная ^c	Жидкость для гранулирования	в достаточ. колич.	--
Всего		600,0	100,0

^a Коэффициент перерасчета для адипиновой соли в свободное основание составляет 0,7911.

^b Добавляется после грануляции.

^c Удаляется в процессе производства.

SR3 (100 мг). Композиция таблеток по 100 мг с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Соль адипиновой кислоты и соединения ^a	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микrokристаллическая целлюлоза	Наполнитель	108,0	18,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	42,0	7,0
Гипромеллоза (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	30,0	5,0
Лактозы моногидрат	Наполнитель	290,6	48,4
Магния стеарат ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Вода очищенная ^c	Жидкость для гранулирования	в достаточ. колич.	--
Всего		600,0	100,0

^a Коэффициент перерасчета для адипиновой соли в свободное основание составляет 0,7911.

^b Добавляется после грануляции.

^c Удаляется в процессе производства.

SR4. Композиция таблеток по 100 мг с замедленным высвобождением.

Вспомогательное вещество	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Соль адипиновой кислоты и соединения ^{1a}	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза ^d	Наполнитель	104,6	17,4
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	210,0	35,0
Прежелатинизированный крахмал	Наполнитель	60,0	10,0
Натрия бикарбонат ^b	Вещество, способствующее прохождению через желудок	96,0	16,0
Магния стеарат ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Вода очищенная ^c	Жидкость для грануляции	в достаточ. колич.	--
Всего		600,0	100,0

^a Коэффициент перерасчета для адипиновой соли в свободное основание составляет 0,7911.

^b Добавляется после грануляции.

^c Удаляется в процессе производства.

^d Часть добавляется до и часть добавляется после грануляции.

SR по 25 мг. Композиция таблеток по 25 мг с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетку)	Состав (масс.%)
Соль адипиновой кислоты и соединения ^{1a}	Активный ингредиент	31,6 ^a	12,6
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	105,0	42,0
Гипромеллоза, (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	25,0	10,0
Гипромеллоза, (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	25,0	10,0
Лактозы моногидрат	Наполнитель	62,15	24,9
Магния стеарат ^b	Смазывающее	1,25	0,5
	вещество		
Вода очищенная ^c	Жидкость для гранулирования	в достаточ. колич.	--
Всего		250	100,0

^a Коэффициент перерасчета для адипиновой соли в свободное основание составляет 0,7911.

^b Добавляется после грануляции.

^c Удаляется в процессе производства.

Различные модификации изобретения, в дополнение к показанным и описанным в данном документе, будут очевидны для специалистов в данной области техники из вышеприведенного описания. Предполагается также, что такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая все патенты, патентные заявки и публикации, цитируемые в настоящем документе, включается в настоящий документ путем ссылки в полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения синдрома высвобождения цитокинов у субъекта, при этом указанный способ включает введение субъекту селективного ингибитора пути JAK1, который 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.

2. Способ по п.1, в котором селективный ингибитор пути JAK1 представляет собой соль адипиновой кислоты {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.

3. Способ по п.1 или 2, где способ дополнительно включает введение указанному субъекту тоцилизумаба.

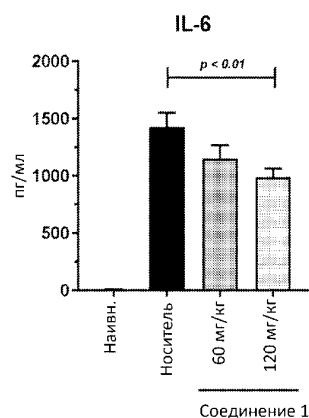
4. Способ по п.1 или 2, где способ дополнительно включает введение указанному пациенту кортикостероида.

5. Способ по п.1 или 2, где способ дополнительно включает введение указанному субъекту преднизона.

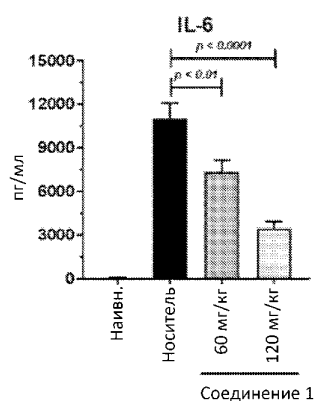
6. Способ по п.1 или 2, где способ дополнительно включает введение указанному пациенту тоцилизумаба и кортикостероида.

7. Способ по п.1, где {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 вводят указанному субъекту в виде монотерапии.

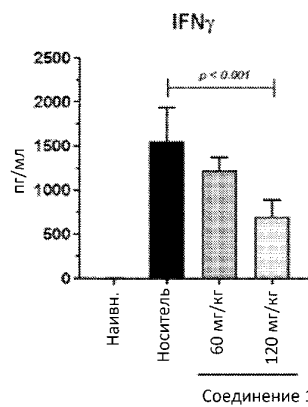
8. Способ по п.2, где соль адипиновой кислоты {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила вводят указанному субъекту в виде монотерапии.



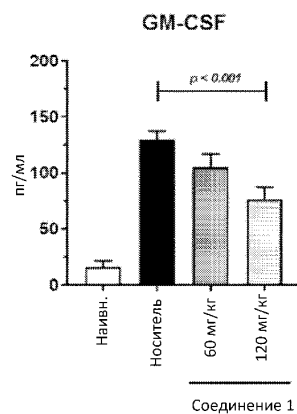
Фиг. 1



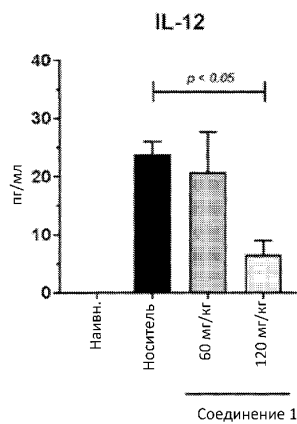
Фиг. 2А



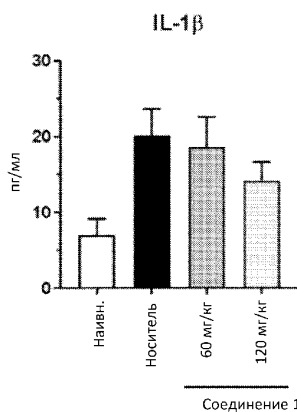
Фиг. 2В



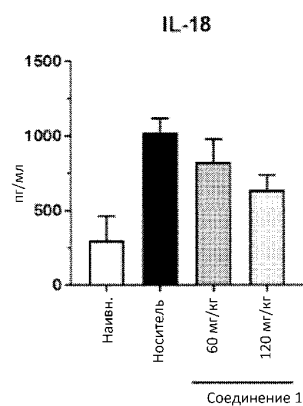
Фиг. 2С



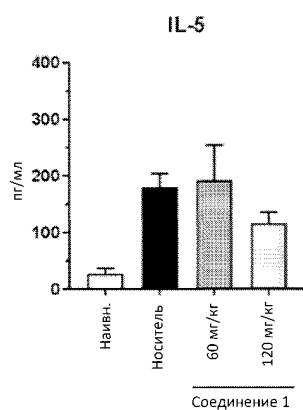
Фиг. 3А



Фиг. 3В



Фиг. 3С



Фиг. 4

