

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392500 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.30(22) Дата подачи заявки
2022.03.09(51) Int. Cl. A61K 31/437 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)(54) ЛОРПУЦИТИНИБ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ JAK-ОПОСРЕДОВАННЫХ
РАССТРОЙСТВ

(31) 63/159,726; 63/167,287; 63/232,356

(32) 2021.03.11; 2021.03.29; 2021.08.12

(33) US

(86) PCT/EP2022/056018

(87) WO 2022/189496 2022.09.15

(71) Заявитель:
ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(72) Изобретатель:

Аттие Эдвард Ф, Бахман Кёртис И,
Чу Джералд К, Кудрякова Татьяна,
Полидори Дэвид К., Борзилло Гэри В.
(US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В настоящем документе описаны ингибиторы JAK, которые имеют низкую системную токсичность. В некоторых аспектах описание включает способы лечения болезненных состояний, расстройств и состояний, опосредованных JAK, таких как рак желудочно-кишечной системы, включая колоректальный рак и семейный аденоматозный полипоз.

A1

202392500

202392500

A1

ЛОРПУЦИТИНИБ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ JAK-ОПОСРЕДОВАННЫХ РАССТРОЙСТВ

5 ПРИТЯЗАНИЕ НА ПРИОРИТЕТ

[001] В настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке на патент США № 63/159,726, поданной 11 марта 2021 г., предварительной заявке на патент США № 63/167,287, поданной 29 марта 2021 г., и предварительной заявке на патент США № 63/232,356, поданной 12 августа 2021 г., каждая из которых полностью
10 включена в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[002] Настоящее изобретение относится к способам применения ингибитора JAK и фармацевтических композиций, содержащих такой ингибитор. Предполагается, что это соединение и фармацевтические композиции используют для профилактики или
15 лечения болезненных состояний, расстройств и состояний, опосредованных JAK.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[003] Как сообщается, примерно одна из трех женщин и примерно один из двух мужчин имеют диагностированный рак, и примерно один из четырех умрет от рака. См. A. Albini, *et al.*, *clin. Cancer Res.* 22(17), 4322-27 (2016) «Cancer prevention and
20 interception: A new era for chemopreventive approaches». Значительное количество видов рака развивается в следующих органах желудочно-кишечного тракта: желудок, тонкая кишка, толстая кишка, прямая кишка и задний проход. Рак желудка, как сообщается, является четвертым по распространенности видом рака и вторым по смертности во всем мире видом рака. G. Bjelakovic, *et al.*, *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (3): CD004183 (2008) «Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers».
25 Как сообщается, рак кишечника поражает 9000 людей в год в США. По имеющимся сведениям, в США диагностируют более 22 000 случаев рака желудка в год. По имеющимся сведениям, в США диагностируют около 145 000 случаев рака толстой кишки в год. По имеющимся сведениям, в США диагностируют более 40 000 случаев

рака прямой кишки в год. Из этих видов рака, те, которые затрагивают толстую кишку или прямую кишку, известные как колоректальный рак (CRC), насчитывают более 180 000 случаев в год в США. По данным Американского онкологического общества, ожидается, что в США в 2018 г. будет диагностировано 140 250 новых случаев

5 колоректального рака и произойдет 50 600 летальных исходов от колоректального рака в 2018 г. В данном случае желудок, тонкий кишечник и толстый кишечник (последний включает толстую кишку, прямую кишку и задний проход) в совокупности называют желудочно-кишечной системой (SIS), а рак в любом из таких органов называется раком желудочно-кишечной системы (SISC). Предотвращение начала SISC, и в частности
10 начала CRC, будь то в отношении его первого проявления или стадии рецидива, представляет собой неудовлетворенную медицинскую потребность. Данное превентивное действие в настоящем документе называется перехватом SISC или перехватом CRC при упоминании перехвата колоректального рака.

[004] FAP представляет собой наиболее распространенный синдром аденоматозного полипоза. Это расстройство, наследуемое по аутосомно-доминантному типу,
15 характеризующееся ранним началом от сотен до тысяч аденоматозных полипов по всей толстой кишке. При отсутствии лечения почти у всех пациентов с этим синдромом развивается рак толстой кишки в возрасте от 35 до 40 лет. Профилактическая колэктомия представляет собой стандартную терапию, но пациенты по-прежнему
20 подвержены риску злокачественной трансформации полипов двенадцатиперстной кишки и прямой кишки. Множество исследований как неселективных, так и селективных ингибиторов циклооксигеназы (таких как сулиндак или целекоксиб) показали, что противовоспалительные агенты могут ингибировать образование колоректальных аденоматозных полипов. (R.K.S. Phillips, *et al.* Gut 50, 857-860 (2002)
25 «A randomized, double blind, placebo controlled study of celecoxib, a selective cyclooxygenase 2 inhibitor, on duodenal polyposis in familial adenomatous polyposis»; P. Rice, *et al.* Cancer Res. 63, 616-620 (2003) «Sulindac sulfide inhibits epidermal growth factor-induced phosphorylation of extracellular-regulated kinase 1/2 and Bad in human colon cancer cells»). Токсичности, связанные с этими агентами, предотвращали их дальнейшее
30 развитие. Существует высокая неудовлетворенная потребность в новых вариантах лечения для уменьшения нагрузки полипами, задержки или устранения потребности в колэктомии и перехвата развития аденокарциномы у субъектов с FAP. Полипы пациентов с FAP, а также полипы, которые приводят к спорадическому CRC,

демонстрируют воспаление, связанное с интерлейкином (IL)-23 / IL-17 / Янус-киназой (JAK) / преобразователями сигналов и активаторами пути транскрипции STAT3. По сравнению с нормальным на вид неаденоматозным эпителием и его иммунным окружением, эпителий аденомы сопровождается заметно повышенным иммунным инфильтратом. Этот инфильтрат характеризуется активацией пути STAT3, продемонстрированной с помощью экспрессии IL-17 и p-STAT3. Сам аденоматозный эпителий может быть дополнительно активирован в очаге. Аденомы с дисплазией высокой степени могут демонстрировать более высокий активированный иммунный инфильтрат IL-17 и p-STAT3 и более широко распределенную экспрессию эпителиального p-STAT3. Эти результаты свидетельствуют о том, что этот воспалительный путь приводит к дополнительному мутагенезу и развитию опухоли. Кроме того, сообщалось, что как иммунная, так и эпителиальная активация STAT3 вносит вклад в онкогенез в мышинных моделях. E.C. Wick, et al., *Inflamm. Bowel Dis.* 20(5), 821-34 (2014) «Stat3 activation in murine colitis induced by enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*». В частности, IL-23 связан с ростом опухоли и прогрессированием в CRC, а аденомы с дисплазией высокой степени демонстрировали повышенные уровни IL-17A и фосфорилированного STAT3. (J.L. Langowski, et al. *Nature* 442(7101), 461-465 (2006) «IL-23 promotes tumour incidence and growth»). Чрезмерный воспалительный ответ в желудочно-кишечном тракте опосредован воспалительными цитокинами, такими как фактор некроза опухоли (ФНО), интерферон-гамма (IFN γ), IL-1, IL-6, IL-12, IL-21 и IL-23, которые оказывают влияние на клетки врожденной и адаптивной иммунной системы, включая Т- и В-лимфоциты, эпителиальные клетки, макрофаги и дендритные клетки (DC) (M. Coskun, et al., *Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013), цитируется выше; S. Danese, et al. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 310, G155-162 (2016) «JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: a hub for multiple inflammatory cytokines»; Neurath M. *Nat. Rev. Immunol.* 14, 329-342 (2014) «Cytokines in inflammatory bowel disease»; S. Vermeire, et al. *Gastroenterology* 150, S1267 (2016) «Filgotinib (GLPG0634), an Oral JAK1 Selective Inhibitor, Induces Clinical Remission in Patients With Moderate-to-Severe Crohn's Disease: Results From the Phase 2 FITZROY Study Interim Analysis [DDW abstract 812c]»). Семейства JAK, JAK1, JAK2, JAK3 и Tyk2 представляют собой нерецепторные тирозинкиназы, которые играют ключевую роль в ответе на многие такие цитокины (J. O'Shea, *N. Engl. J. Med.* 368, 161-170 (2013) «JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer»). После лигирования рецептора ассоциированные гомо- или гетеродимеры JAK

фосфорилируются и активируются, делая возможным последующее рекрутирование, фосфорилирование и активацию семейства транскрипционных факторов STAT. Фосфорилированные STAT транслоцируются в ядро и индуцируют транскрипцию генов нескольких хемокинов, цитокинов и протеаз, участвующих в патогенезе FAP (M. Coskun, *et al.*, Pharmacological Research 76, 1-8 (2013), цитируется выше). Этот путь JAK-STAT представляет собой сигнальный механизм для многих цитокинов, которые играют роль в патогенезе рака ЖКТ. (M. Li, *et al.* PLoS One 10(5), e0127356 (2015) «Prognostic role of phospho-STAT3 in patients with cancers of the digestive system: a systematic review and meta-analysis»). Путь JAK-STAT является общим для множества воспалительных цитокинов, поэтому он предлагает привлекательную терапевтическую мишень для предотвращения избыточного воспалительного ответа, связанного с FAP, и аденом, связанных со sporadическим CRC, и для восстановления гомеостаза слизистой оболочки, чтобы попытаться перехватить развитие аденокарциномы в ЖКТ. Исследуемые и продаваемые перорально вводимые системно-биодоступные ингибиторы пан-JAK имеют различные внецелевые эффекты, по-видимому, ограничивающие высокие (более высокие) дозы, такие как повышенные липиды (липопротеины с низкой и высокой плотностью) и цитопении, включая нейтропению, лимфопению и анемию, а также повышенные ферменты печени. Таким образом, терапевтическое ингибирование JAK с воздействием, ограниченным кишечником, обеспечит возможность достижения эффективности в случае JAK-индуцированных заболеваний, включая FAP, SISC и CRC.

[005] Как показано на Фиг. 1, перорально вводимое лекарственное средство может в целом проходить по желудочно-кишечному тракту от полости рта к пищеводу (1), желудку (2) через двенадцатиперстную кишку (3) к тощей кишке (4), затем к подвздошной кишке (5), а впоследствии к толстой кишке (6). Относительные площади всасывания для таких различных частей составляют приблизительно 60% для тощей кишки (4), приблизительно 26% для подвздошной кишки (5) и приблизительно 13% для толстой кишки (6). Всасывание в этих различных областях желудочно-кишечного тракта может привести к началу системного распределения, что в свою очередь может привести к нежелательным побочным эффектам. Желудочно-кишечный тракт имеет очень большую площадь поверхности. См., например, H.F. Helander, *et al.*, Surface area of the digestive tract - revisited, Scandinavian Journal of Gastroenterology 49(6), 681-89 (2014); и K.J. Filipski, *et al.*, Intestinal Targeting of Drugs: Rational Design Approaches and

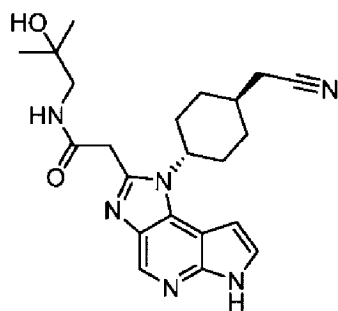
Challenges Current Topics in Medicinal Chemistry 13, 776-802 (2013). Такая обширная площадь поверхности всасывания способствует системному распределению веществ, которые могут проходить через стенки различных частей желудочно-кишечного тракта и в кровяное русло, и, в свою очередь, может приводить к нежелательным побочным эффектам системно-распределенного вещества. Системное распределение для упрощения представлено пунктирными стрелками на Фиг. 1 в виде проникновения через стенки толстой кишки, но такое распределение не ограничивается стенками толстой кишки, поскольку оно также может происходить через стенки других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например стенки тонкого кишечника. Следует также понимать, что пунктирные стрелки на Фиг. 1 представляют собой системное распределение за пределами желудочно-кишечного тракта, поскольку известно, что такое системное распределение происходит в связи с физиологией желудочно-кишечного тракта, и что такие пунктирные стрелки просто схематически иллюстрируют такое системное распределение. Описание ткани кишечника, транспорта в кишечнике и метаболизма см., например, в приведенной выше публикации Current Topics in Medicinal Chemistry 13, 777-80 (2013).

[006] Поскольку некоторые известные ингибиторы JAK имеют нежелательные эффекты, связанные с их системными эффектами, желательно найти новые ингибиторы JAK в качестве активных веществ для лечения и профилактики заболеваний кишечника, включая FAP, SISC и CRC.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[007] В настоящем документе описаны ингибиторы JAK, которые имеют низкую системную токсичность. В некоторых аспектах изобретение включает ингибитор JAK, представленный соединением формулы I:

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид,



(формула I),

или его фармацевтически приемлемой солью, сольватом и полиморфом, и способы применения соединения формулы I при лечении болезненных состояний, расстройств и состояний, опосредованных JAK. Термин «соединение формулы I» предназначен для охвата соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, или полиморфа или сокристалла любого из вышеперечисленных, будь то в форме без растворителя или в любой из гидратированных и/или сольватированных форм, как показано в настоящем документе, далее — «соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф». Соединение формулы I также называют «активным агентом» или «активными агентами».

[008] Аспекты настоящего изобретения относятся к соединениям формулы I, содержащим их фармацевтическим композициям, способам их применения в качестве ингибиторов JAK и способам их применения в лечении болезненных состояний, расстройств и состояний, опосредованных JAK.

[009] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики начала рака желудочно-кишечной системы (SISC), и в частности начала колоректального рака (CRC), включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа.

[010] В некоторых аспектах способы лечения или профилактики субъекта, страдающего от семейного аденоматозного полипоза (FAP), включают введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа.

[011] Аспекты данного изобретения демонстрируют эффекты универсального ингибирования JAK, а также местные эффекты в ЖКТ и слабые или практически

отсутствующие системные эффекты. Более того, аспекты данного изобретения с такими признаками можно вводить перорально.

[012] Дополнительные аспекты, признаки и преимущества изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и практического осуществления изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

[013] Фиг. 1. Принципиальная схема части желудочно-кишечного тракта человека в виде увеличенного изображения без соблюдения масштаба. Двенадцатиперстная кишка (3), тощая кишка (4) и подвздошная кишка (5) (все показаны схематически) образуют тонкий кишечник после желудка (2) и пищевода (1). Толстый кишечник содержит ободочную кишку (6), которая в свою очередь включает слепую кишку (7) и аппендикс (не показан), восходящую ободочную кишку, поперечную ободочную кишку, нисходящую ободочную кишку, сигмовидную ободочную кишку (петля в ней не показана) и прямую кишку (11). Поперечная ободочная кишка представляет собой участок, находящийся между правым (8) и левым (9) изгибами толстой кишки, восходящая ободочная кишка проходит от слепой кишки (7) к правому изгибу (8) толстой кишки, а нисходящая ободочная кишка проходит от левого изгиба (9) толстой кишки к прямой кишке (11). Различные типы распределения для удобства показаны в отношении толстой кишки, но они также могут относиться к другим частям желудочно-кишечного тракта. Системное распределение для упрощения представлено пунктирными стрелками на Фиг. 1 в виде проникновения через стенки толстой кишки, но такое распределение не ограничивается стенками толстой кишки, поскольку оно также может происходить через стенки других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например стенки тонкого кишечника. Распределение с некоторым проникновением в ткань представлено для простоты сплошными стрелками на Фиг. 1, которые проникают в ткань толстой кишки, но такое проникновение не ограничивается тканью толстой кишки, поскольку оно также может происходить в ткани других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например ткани тонкого кишечника. Эффект варианта осуществления ингибитора JAK в соответствии с данным изобретением наглядно показан в виде прерывания сигнального пути JAK/STAT, который в противном случае приведет к расстройству, опосредованному JAK, такому как

воспаление, связанное с воспалительным заболеванием кишечника (ВЗК), или колоректальный рак.

[014] Фиг. 2. Принципиальная схема, демонстрирующая получение / взаимное превращение вариантов осуществления соединения формулы I.

- 5 **[015]** Фиг. 3. Наложение дифрактограмм высокопроизводительной рентгеновской порошковой дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: 1s, 2 (получен посредством уравнивания при комнатной температуре в 1,4-диоксане), 3b (получен посредством термоциклирования в циклогексаноне), 1b + 4 (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси метанол / вода (50/50, об./об.)), 5 (получен посредством термоциклирования в хлороформе), 6 (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в ацетонитриле), 7 (получен из 1s + 7, который в свою очередь получен посредством уравнивания раствора в гептане), 7 (получен посредством десольватации 1s + 7, который в свою очередь получен посредством уравнивания раствора в гептане), 8 (получен посредством десольватации варианта осуществления 5 посредством циклирующей дифференциальной сканирующей калориметрии)) и 9 (получен посредством десольватации варианта осуществления 2 посредством циклирующей дифференциальной сканирующей калориметрии).
- 20 **[016]** Фиг. 4. Наложение дифрактограмм высокопроизводительной рентгеновской порошковой дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: 1s (исходный материал), 1a (получен после того, как несколько форм проб варианта осуществления 1s были подвергнуты воздействию условий ускоренного старения (AAC) (40 °C и относительная влажность 70%)), 1b (получен посредством уравнивания раствора при комнатной температуре в толуоле), 1c (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50, об./об.)), 1d (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси ацетонитрил / хлороформ (50/50, об./об.)), 1e (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат / 1,4-диоксан (50/50, об./об.)), 1f (получен посредством уравнивания раствора при комнатной температуре в п-ксилоле), 1g (получен посредством уравнивания раствора при 50 °C в анизоле), 1h (получен посредством охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в п-ксилоле).

[017] Фиг. 5. Наложение дифрактограмм высокопроизводительной рентгеновской порошковой дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: 1s, 3b (получен посредством термоциклирования в циклогексаноне), 3с (получен посредством охладительной кристаллизации в микролитровом диапазоне в 1,4-диоксане), 3d (получен посредством охладительной кристаллизации в микролитровом диапазоне в тетрагидрофуране) и 3е (получен посредством термоциклирования в изобутаноле).

[018] Фиг. 6. Дифрактограммы HR-XRPD варианта осуществления 1s в его исходной форме (1s) после четырехдневного воздействия температуры 40 °C и относительной влажности 70% (1s 70 RH) и после четырехдневного воздействия температуры 25 °C и относительной влажности 100% (10).

[019] Фиг. 7А–Д. Дифрактограмма рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 11 (А); варианта осуществления 12 (Б); варианта осуществления 13 (В); варианта осуществления 14 (Г); и варианта осуществления 11b (Д).

[020] Фиг. 8. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 17, вариант осуществления 18, вариант осуществления 15 и вариант осуществления 16.

[021] Фиг. 9. Модулированный профиль DSC (mDSC) для варианта осуществления 19, показывающий точку стеклования (T_g) при 115, 3 °C (метка Rev на оси ординат относится к «обратимому»).

[022] Фиг. 10А–Б. (А) TGA (термогравиметрический анализ) варианта осуществления 18, демонстрирующий потерю 6,5% мас./мас. в диапазоне от 30 °C до 170 °C; (Б) DSC (дифференциальная сканирующая калориметрия) варианта осуществления 18, демонстрирующая эндотермический показатель 52,8 Дж/г от 45 °C до 90 °C, эндотермический показатель 31,0 Дж/г при 140,6 °C, экзотермический показатель 24,3 Дж/г при 168,8 °C и эндотермический показатель 31,3 Дж/г при 200,0 °C.

[023] Фиг. 11. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 20 и вариант осуществления 21.

[024] Фиг. 12А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 17, демонстрирующий потерю 4,2% мас./мас. в диапазоне от 30 °С до 100 °С; (Б) DSC по варианту осуществления 17, демонстрирующая эндотермический показатель 90,3 Дж/г при температуре от 45 °С до 100 °С, эндотермический показатель 35,5 Дж/г при 143,8 °С, эндотермический
 5 показатель 1,6 Дж/г при 168,3 °С, экзотермический показатель 3,8 Дж/г при 178 °С и эндотермический показатель 9,2 Дж/г при 200,0 °С.

[025] Фиг. 13. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 31, вариант осуществления 30, вариант
 10 осуществления 17, вариант осуществления 29, вариант осуществления 16, вариант осуществления 26, вариант осуществления 25, вариант осуществления 18, вариант осуществления 24, вариант осуществления 23, вариант осуществления 27 и вариант осуществления 22.

[026] Фиг. 14. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 32, вариант осуществления 33, вариант
 15 реализации 23, вариант осуществления 34, вариант реализации 35, вариант осуществления 36, вариант осуществления 25, вариант осуществления 38, вариант осуществления 17, вариант осуществления 39 и вариант осуществления 28.

[027] Фиг. 15. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 46, вариант осуществления 45, вариант
 20 осуществления 44, вариант осуществления 43, вариант осуществления 42, вариант осуществления 41, вариант осуществления 40 и вариант осуществления 37.

[028] Фиг. 16. Наложение дифрактограмм рентгеновской порошковой дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения формулы I, снизу вверх: вариант осуществления 53, вариант осуществления 52, вариант
 25 осуществления 51, вариант осуществления 50, вариант осуществления 49, вариант осуществления 48 и вариант осуществления 47.

[029] Фиг. 17А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 11, демонстрирующий потерю 4,7% мас./мас. в диапазоне от 155 °С до 185 °С; (Б) DSC по варианту осуществления 11, демонстрирующая первый эндотермический показатель 57,8 Дж/г при 167,8 °С из-за

потери растворителя и второй эндотермический показатель 90,8 Дж/г при 194,5 °С из-за расплавления образца.

[030] Фиг. 18. График изотермы гравиметрической сорбции паров (GVS) по варианту осуществления 11, демонстрирующий изменение массы 0,66% при RH 0–90%.

5 Изменение массы на оси ординат относится к массе исходного образца.

[031] Фиг. 19А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 6, демонстрирующий потерю массы при температурах выше 260 °С, причем потерю массы интерпретируют как связанную с разложением образца; (Б) DSC по варианту осуществления 6, демонстрирующая эндотерму 95,8 Дж/г при 194,4 °С из-за расплава образца.

10 **[032]** Фиг. 20А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 8, демонстрирующий потерю 1,4% мас./мас. в диапазоне от 40 °С до 240 °С, что соответствует потере 0,07 моль 1,4-диоксана; (Б) DSC по варианту осуществления 8, демонстрирующая эндотерму 58,6 Дж/г при 199,7 °С из-за расплава образца.

15 **[033]** Фиг. 21А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 2, демонстрирующий потерю 7,4 % мас./мас. в диапазоне от 75 °С до 110 °С, потерю 11,9 % мас./мас. в диапазоне от 110 °С до 130 °С, потерю 2,0 % мас./мас. в диапазоне от 130 °С до 165 °С и потерю 2,5 % мас./мас. в диапазоне от 165 °С до 210 °С; (Б) DSC по варианту осуществления 2, демонстрирующая эндотермический показатель 86,2 Дж/г при 92,8 °С, эндотермический показатель 11,1 Дж/г при 111,5 °С, эндотермический показатель 45,5
20 Дж/г при 149,0 °С, экзотермический показатель 20,6 Дж/г при 165,2 °С, эндотермический показатель 3,7 Дж/г при 177,1 °С, эндотермический показатель 43,0 Дж/г при 200,2 °С и эндотермический показатель 29,3 Дж/г при 220,6 °С.

[034] Фиг. 22А–Б. (А) TGA варианта осуществления 9; (Б) DSC по варианту осуществления 9, демонстрирующая эндотермический показатель 104,4 Дж/г при 221,8
25 °С.

[035] Фиг. 23А–Б. (А) TGA по варианту осуществления 16, демонстрирующий потерю 5,2% мас./мас. в диапазоне от 30 °С до 105 °С; (Б) ДСК по варианту осуществления 16, демонстрирующая эндотермический показатель 48,4 Дж/г при температуре от 35 °С до 90 °С, эндотермический показатель 41,8 Дж/г при 147,0 °С, эндотермический
30 показатель 1,0 Дж/г при 166,6 °С, экзотермический показатель 4,4 Дж/г при 180,7 °С и эндотермический показатель 7,7 Дж/г при 201,1 °С.

[036] Фиг. 24. Порошковая рентгеновская дифрактометрия (XRPD) варианта осуществления 11 (обозначена как «11») и рентгеновская порошковая дифрактометрия (XRPD) варианта осуществления 11 после эксперимента с переменной температурой (VT)-XRPD (обозначена как «11 post VT») и порошковая рентгеновская дифрактометрия (XRPD) варианта осуществления 6.

[037] Фиг. 25. Профиль порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для соединения формулы I в форме 1s.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[038] Термины «включающий», «содержащий», «состоящий из» используются в открытом, неограниченном значении.

[039] Любая из приведенных в настоящем документе формул предназначена для представления как соединений со структурами, показанными данной структурной формулой, так и определенных вариаций или форм таких структур. Определенные структуры могут существовать в виде таутомеров. Кроме того, в качестве частей данного изобретения также предусмотрены аморфная форма, гидраты, сольваты, полиморфы и псевдополиморфы таких соединений данного изобретения и их смеси. Аспекты данного изобретения находятся в не содержащей растворителя форме или в любой из гидратированных и/или сольватированных форм, как показано в настоящем документе.

[040] Термин «около», используемый в настоящем документе непосредственно перед числовым значением, означает диапазон плюс или минус 10% от этого значения, например «около 50» означает от 45 до 55, «около 25 000» означает 22 500–27 500 и т. д., если контекст описания не указывает иное, или расходится с такой интерпретацией.

[041] Термин «вводить» или «вводимый» либо «введение» относится к введению соединения формулы I или его фармацевтической композиции субъекту любым способом, известным специалистам в данной области в контексте настоящего описания, например посредством внутримышечного, подкожного, перорального, внутривенного, кожного, интрамукозального (например, в слизистую кишечника), интраназального или внутрибрюшинного пути введения. В конкретных аспектах фармацевтическую композицию изобретения вводят субъекту перорально.

[042] Термин «субъект» означает любое животное, в частности млекопитающее, наиболее конкретно человека, которое будет или было подвергнуто лечению способом в соответствии с вариантом осуществления изобретения. В настоящем документе термин «млекопитающее» охватывает любое млекопитающее. Примеры

5 млекопитающих включают, без ограничений, коров, лошадей, овец, свиней, кошек, собак, мышей, крыс, кроликов, морских свинок, приматов, кроме человека (NHP), таких как низшие и высшие обезьяны, и т. д., в частности человека.

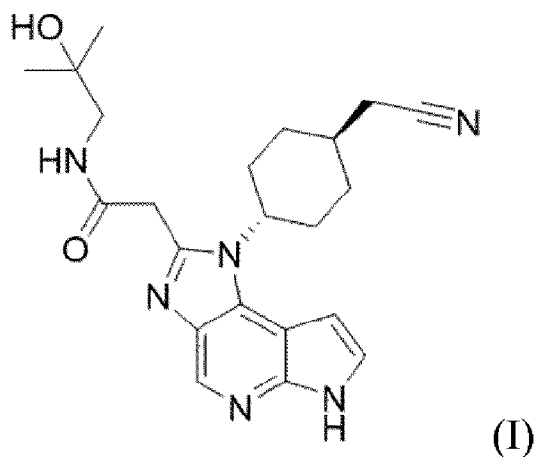
[043] Термин «ингибиторы» или «ингибитор» обозначает соединения, которые снижают, предупреждают, деактивируют экспрессию, десенсибилизируют или
10 выполняют понижающую регуляцию экспрессии или активности JAK.

[044] Термин «терапевтически эффективное количество» обозначает количество активного соединения или фармацевтического агента, включая кристаллическую форму настоящего изобретения, которое вызывает биологическую или медицинскую реакцию в тканевой системе животного или человека, необходимую исследователю,
15 ветеринару, врачу или другому клиническому специалисту, включая снижение или ингибирование активности фермента или белка или ослабление симптомов, облегчение состояний, замедление или отсрочку прогрессирования болезни или предотвращение болезни.

[045] В настоящем документе термин «лечить», «лечение» или «терапия» какого-либо
20 заболевания, состояния, синдрома или расстройства относится в одном варианте осуществления к облегчению заболевания, состояния, синдрома или расстройства (т. е. к замедлению, прекращению или подавлению развития заболевания или по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления термин «лечить», «лечение» или «терапия» относится к ослаблению или облегчению по
25 меньшей мере одного физического параметра, включая те, которые пациент может не распознавать. В дополнительном варианте осуществления термин «лечить», «лечение» или «терапия» относится к модуляции заболевания, состояния, синдрома или расстройства либо физически (например, стабилизации распознаваемого симптома), либо физиологически (например, стабилизации физического параметра), либо обоими
30 вариантами. В другом варианте осуществления термин «лечить», «лечение» или «терапия» относится к предотвращению или отсрочке начала, развития или прогрессирования заболевания, состояния, синдрома или расстройства.

[046] «Фармацевтически приемлемая соль» представляет собой соль соединения, которое является нетоксичным, биологически переносимым или иным образом биологически приемлемым для введения субъекту. См. S.M. Berge, et al., «Pharmaceutical Salts», J. Pharm. Sci. 66, 1-19 (1977), и справочник Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use, Stahl and Wermuth, Eds., Wiley-VCH and VNCA, Zurich, 2002. Соединение формулы I может иметь в достаточной степени кислую группу, в достаточной степени основную группу или оба типа функциональных групп и вступать в соответствующие реакции с рядом неорганических или органических оснований, а также неорганических или органических кислот с образованием фармацевтически приемлемых солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, моногидрогенфосфаты, дигидрогенфосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, йодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себацинаты, фумараты, малеаты, бутин-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксибензоаты, фталаты, сульфонаты, ксилолсульфонаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенилбутираты, цитраты, лактаты, γ -гидроксibuтираты, гликоляты, тартраты, метансульфонаты, пропансульфонаты, нафталин-1-сульфонаты, нафталин-2-сульфонаты и манделаты.

[047] В настоящем документе описаны композиции соединения формулы I и способы их применения при лечении болезненных состояний, расстройств и состояний, опосредованных одним или более семейством тирозинкиназ JAK. В некоторых аспектах способ включает введение субъекту композиции, содержащей эффективное количество соединения 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид, имеющего структуру формулы I:



или его фармацевтически приемлемую соль, сольват и полиморф.

[048] В настоящем документе также описаны способы лечения или профилактики субъекта, страдающего от рака желудочно-кишечной системы или колоректального рака. Способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа. В данном случае желудок, тонкий кишечник и толстый кишечник (последний включает толстую кишку, прямую кишку и задний проход) в совокупности называют желудочно-кишечной системой (SIS), а рак в любом из таких органов называют раком желудочно-кишечной системы (SISC). Рак толстой кишки или прямой кишки называют колоректальным раком (CRC).

[049] В настоящем документе также описаны способы лечения или профилактики предраковых состояний у субъекта, включающие введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа. Предраковые состояния, которые предшествуют SISC, могут присутствовать в любой из множества областей желудочно-кишечного тракта, и в частности толстой кишки и/или прямой кишки. Иногда такие состояния проявляются в форме полипов, которые могут присутствовать в небольших количествах, как и при их спорадическом начале, в большом количестве, как при семейном аденоматозном полипозе (FAP), или не присутствовать вообще, как при определенных формах наследственного неполипозного колоректального рака, также известного как синдром Линча.

[050] В настоящем документе также описаны способы лечения, замедления или профилактики любого проявления заболевания у субъекта, страдающего любым синдромом предрасположенности к раку, связанному с SISC, такого как семейный аденоматозный полипоз (FAP). Способ включает задержку необходимости в хирургическом вмешательстве, таком как колэктомия, при котором профилактически удаляют толстую кишку, чтобы снизить риск будущего развития колоректального рака. Способ включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа. Термин FAP используется в настоящем документе для обозначения того, что иногда называют его подтипами, например ослабленный семейный аденоматозный полипоз (AFAP). Если не указано иное или явно не указано в качестве любого конкретного подтипа, термин FAP включает подтипы, такие как AFAP.

[051] В некоторых аспектах способ уменьшения количества полипов или нагрузки полипами (последняя определяется с учетом как числа, так и индивидуальных размеров полипов) у субъекта включает введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа. В некоторых аспектах снижение количества полипов включает уменьшение количества полипов в толстой кишке, прямой кишке, послеоперационном илеоанальном резервуаре и/или двенадцатиперстной кишке после введения соединения формулы I. В некоторых аспектах количество полипов ≥ 2 мм в диаметре в толстой кишке, прямой кишке, послеоперационном илеоанальном резервуаре и/или двенадцатиперстной кишке сокращается. В некоторых аспектах количество полипов ≥ 5 мм в диаметре в толстой кишке, прямой кишке, послеоперационном илеоанальном резервуаре и/или двенадцатиперстной кишке сокращается. В определенных аспектах снижение количества полипов после введения составляет около 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% или более, или любой (-ые) диапазон (-ы) между этими значениями.

[052] В настоящем документе также описаны способы лечения или профилактики начала SISC на любой стадии развития заболевания, и особенно начала CRC, включающие введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное

количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа.

[053] В настоящем документе также описаны способы лечения или профилактики любого хронического или острого воспалительного расстройства в желудочно-кишечной системе у субъекта, включающие введение субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа.

[054] Дополнительные аспекты данного изобретения относятся к применению соединения формулы I для введения субъекту, который имеет или имел по меньшей мере одно из спорадических образований желудочно-кишечного полипа, FAP (или другие наследственные полипозные синдромы) и синдром Линча (или другие наследственные непалипозные синдромы).

[055] Дополнительные аспекты изобретения представляют собой способы лечения субъекта, страдающего (или у которого диагностировали) по меньшей мере одной формой локализованного или метастатического SISC, включая по меньшей мере один из раков желудка, тонкой кишки, колоректального рака и рака заднего прохода посредством введения композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа.

[056] Дополнительные аспекты изобретения включают способ перехвата SISC у субъекта, включающий введение композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата и полиморфа. Дополнительные аспекты представлены любым из вышеизложенного, причем перехват SISC представляет собой перехват SISC FAP.

Дополнительные аспекты представлены любым из вышеуказанных аспектов, в которых перехват SISC представляет собой перехват SISC синдрома Линча. Дополнительные аспекты представлены любым из вышеуказанных аспектов, в которых перехват SISC представляет собой перехват SISC спорадического полипа. Дополнительные аспекты представлены любым из вышеуказанных аспектов, в которых перехват SISC представляет собой перехват рака желудка. Дополнительные аспекты представлены любым из вышеуказанных аспектов, в которых перехват SISC представляет собой перехват рака кишечника. Дополнительные аспекты представлены любым из

вышеуказанных аспектов, в которых перехват SISC представляет собой перехват рака заднего прохода.

[057] В некоторых сценариях перехвата SISC желательной может быть доставка лекарственного средства по всему желудочно-кишечному тракту или его большей части. В других сценариях может быть желательным повысить местную концентрацию в любой конкретной части желудочно-кишечного тракта. В еще одних вариантах желательной может быть комбинация этих двух форм доставки в различные участки в кишечном тракте.

[058] Терапевтически эффективная доза соединения формулы I включает диапазон доз от около 1 мг до около 1000 мг, от 10 мг до около 1000 мг или любое конкретное количество или диапазон в этих пределах, в частности от около 1 мг до около 100 мг, от 10 мг до около 100 мг или любое конкретное количество или диапазон в этих пределах. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 1 мг до около 5 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 5 мг до около 10 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 10 мг до около 15 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 15 мг до около 20 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 20 мг до около 25 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 25 мг до около 30 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 35 мг до около 40 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 45 мг до около 50 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 55 мг до около 60 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 65 мг до около 70 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 75 мг до около 80 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 85 мг до около 90 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 95 мг до около 100 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 30 мг до около 1620 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 50 мг до около 90 мг. В некоторых аспектах данного изобретения диапазон доз составляет от около 50 мг до около 80 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 50 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 55 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза

составляет около 60 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 65 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 70 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 75 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 80 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 85 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 90 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 95 мг. В некоторых аспектах данного изобретения доза составляет около 100 мг. В некоторых аспектах данного изобретения каждая дозировка представляет собой суточную дозу. В некоторых аспектах данного изобретения дозировка включает множество введений в день, например два раза в день или три раза в день. Например, введение 100 мг осуществляют посредством введения дозы 50 мг два раза в день; введение 130 мг осуществляют посредством введения дозы 65 мг два раза в день; введение 150 мг осуществляют посредством введения дозы 75 мг два раза в день; введение 200 мг осуществляют посредством введения дозы 100 мг два раза в день; введение 300 мг осуществляют посредством введения дозы 150 мг два раза в день; введение 400 мг осуществляют посредством введения дозы 200 мг два раза в день; и введение 600 мг осуществляют посредством введения дозы 300 мг два раза в день.

[059] В некоторых аспектах соединение формулы I имеет кристаллическую форму, выбранную из форм 1s, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h, 2, 3b, 3c, 3d, 3e, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 11b, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53.

[060] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от семейного аденоматозного полипоза (FAP), включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день. В некоторых аспектах лечение FAP включает снижение нагрузки полипами у указанного субъекта. В некоторых аспектах снижение нагрузки полипами включает уменьшение количества полипов и/или уменьшение размера полипов.

[061] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики FAP у субъекта, который получал терапию или в настоящее время получает терапию FAP, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах терапия может представлять собой

хирургическое вмешательство, лучевую терапию, ингибиторы Cox-2, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (НПВП) или химиотерапию.

[062] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от SISC включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день. В некоторых аспектах лечение или профилактика SISC включает снижение нагрузки полипами у указанного субъекта. В некоторых аспектах снижение нагрузки полипами включает уменьшение количества полипов и/или уменьшение размера полипов.

[063] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики SISC у субъекта, который ранее получал терапию или в настоящее время получает терапию, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах терапия может представлять собой хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию. Ингибиторы EGFR, ингибиторы VEGF и ингибиторы контрольных точек.

[064] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики CRC у субъекта, который ранее получал терапию или в настоящее время получает терапию, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах терапия может представлять собой хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию. Ингибиторы EGFR, ингибиторы VEGF и ингибиторы контрольных точек.

[065] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от CRC, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день. В некоторых аспектах лечение или предотвращение CRC включает снижение злокачественной опухоли CRC и/или связанной с ней нагрузки полипами у указанного субъекта. В некоторых аспектах снижение нагрузки полипами включает уменьшение количества полипов и уменьшение размера полипов. В некоторых аспектах снижение параметров полипа включает уменьшение количества полипов или уменьшение размера полипов.

[066] В некоторых аспектах способ предотвращения рецидива CRC у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I.

5 **[067]** В некоторых аспектах способ профилактики рецидива FAP-связанного полипоза у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I.

[068] В некоторых аспектах способ профилактики симптоматического прогрессирования FAP у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I.

10 **[069]** В некоторых аспектах способ замедления симптоматического прогрессирования FAP у субъекта включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до 100 мг соединения формулы I.

15 **[070]** В некоторых аспектах способ профилактики SISC у субъекта, у которого было диагностировано воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах ВЗК может представлять собой язвенный колит или болезнь Крона.

20 **[071]** В некоторых аспектах способ профилактики SISC у субъекта, у которого ранее был диагностирован рак, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах рак может представлять собой рак молочной железы, рак яичника, рак матки или рак брюшной полости.

25 **[072]** В некоторых аспектах соединение формулы I вводят в качестве профилактической меры или в качестве перехвата для лечения субъектов, подверженных высокому риску развития CRC, SISC или FAP. Высокий риск может быть связан с факторами, такими как синдром раздраженного кишечника, присутствие конкретных компонентов микробиома кишечника, семейный анамнез колоректального рака, анамнез колоректального рака, обнаружение полипа или предракового поражения во время колоноскопии или других генетических факторов, таких как мутации в генах
30 KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и/или APC.

[073] В некоторых аспектах способ профилактики FAP или CRC у субъекта, который находится в группе высокого риска, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I.

[074] В некоторых аспектах способ предотвращения трансформации предраковых состояний в раковые включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I. В некоторых аспектах предраковое состояние может представлять собой присутствие аденоматозных полипов. В некоторых аспектах предраковое состояние может представлять собой синдром Линча. В некоторых аспектах предраковое состояние может представлять собой раннюю стадию CRC и аденомы.

[075] В некоторых аспектах способ лечения избыточного воспалительного ответа в кишечнике включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 1 мг до около 100 мг соединения формулы I.

[076] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от колоректального рака, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 50 мг до около 100 мг соединения формулы I (кристаллическая форма 1s). В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день.

[077] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от колоректального рака, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 10 мг до около 50 мг соединения формулы I (кристаллическая форма 1s). В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день.

[078] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от колоректального рака, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 30 мг до около 50 мг соединения формулы I (кристаллическая форма 1s). В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день.

[079] В некоторых аспектах способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от колоректального рака, включает введение субъекту терапевтически эффективной дозы от около 50 мг до около 100 мг соединения формулы I (кристаллическая форма 11). В некоторых аспектах введение осуществляют один раз в день или два раза в день.

[080] В некоторых аспектах способ лечения расстройства или состояния, которое зависит от ингибирования активности тирозинкиназы JAK у субъекта, нуждающегося в лечении, включает введение соединения формулы I или его фармацевтически

приемлемой соли, сольвата или полиморфа в количестве, достаточном для достижения концентрации в ткани толстой кишки от около 20 нг/г до около 20 000 нг/г. В некоторых аспектах при введении достигается концентрация тканей от около 20 нг/г до около 15 000 нг/г, от около 20 нг/г до около 10 000 нг/г, от около 20 нг/г до около 8000 нг/г, от около 20 нг/г до около 6000 нг/г, от около 20 нг/г до около 4000 нг/г или от около 20 нг/г до около 1000 нг/г. В некоторых аспектах расстройство или состояние представляет собой колоректальный рак или FAP.

[081] В некоторых аспектах способ лечения расстройства или состояния, которое зависит от ингибирования JAK у субъекта, нуждающегося в лечении, включает введение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или полиморфа в количестве, достаточном для достижения концентрации в ткани прямой кишки от около 20 нг/г до около 20 000 нг/г. В некоторых аспектах при введении достигается концентрация тканей от около 20 нг/г до около 15 000 нг/г, от около 20 нг/г до около 10 000 нг/г, от около 20 нг/г до около 8000 нг/г, от около 20 нг/г до около 6000 нг/г, от около 20 нг/г до около 4000 нг/г или от около 20 нг/г до около 1000 нг/г. В некоторых аспектах расстройство или состояние представляет собой колоректальный рак или FAP.

[082] В настоящем документе также описаны способы определения или прогнозирования ответа на ингибитор JAK у субъекта, нуждающегося в лечении. В одном аспекте способ прогнозирования ответа на соединение формулы I у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

- (а) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;
- (b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и
- (с) сравнение уровня pSTAT-3 в (а)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) прогнозирует ответ на соединение формулы I у субъекта.

[083] В другом аспекте способ мониторинга эффективности текущей терапии ингибитором JAK у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

- (а) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;

(b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и

(c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) указывает на эффективность соединения формулы I у субъекта.

5 **[084]** В другом аспекте способ разработки схемы приема для лечения семейного аденоматозного полипоза, рака или JAK-опосредованного заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

(a) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;

10 (b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и

(c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b) и

(d) введение более высокой дозы соединения формулы I, если уровень pSTAT-3 выше в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом.

15 **[085]** Способ модификации дозы и/или частоты введения ингибитора JAK субъекту, страдающему FAP, раком или JAK-опосредованным заболеванием, включающий:

(a) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;

20 (b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и

(c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b) и

25 (d) увеличение дозы соединения формулы I, если уровень pSTAT-3 выше, совпадает или незначительно снижен в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом и снижение дозы соединения формулы I, если уровень pSTAT-3 ниже в испытательном образце по сравнению с контрольным образцом.

[086] В некоторых аспектах тестовый образец и контрольный образец принадлежат одному и тому же субъекту. В некоторых аспектах контрольный образец может быть получен от субъекта до введения соединения формулы I. В некоторых аспектах

контрольный образец может быть получен из пула образцов субъектов перед введением соединения формулы I субъектам.

[087] В некоторых аспектах образец субъекта (контрольный или тестовый образец) может представлять собой любую клетку или ткань, включая кровь. В некоторых аспектах образец субъекта может представлять собой нормальную клетку, нормальную ткань, опухолевую клетку, опухолевую ткань или любую злокачественную клетку. В некоторых аспектах образец субъекта может быть тканью из разных участков кишечного тракта, таких как толстая кишка, прямая кишка, послеоперационный илеоанальный резервуар и двенадцатиперстная кишка.

[088] После получения контрольного образца или тестируемого образца субъекта уровень pSTAT-3 в образце субъекта можно измерять с использованием анализов, таких как проточная цитометрия, предпочтительно визуализационная проточная цитометрия (IFC), люминесцентный анализ, хемилюминесцентный анализ, иммуногистохимический метод, флуоресцентная микроскопия и т. п.

[089] В некоторых аспектах сравнение уровня pSTAT-3 в контрольном образце и тестируемом образце может предоставлять информацию об эффективности ингибитора JAK у субъекта. Например, снижение уровня pSTAT-3 тестируемого образца по сравнению с контрольным образцом может указывать на то, что соединение формулы I является эффективным у субъекта. В определенных аспектах снижение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце по сравнению с контрольным образцом составляет около 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,9% или более, или любой (-ые) диапазон (-ы) между этими значениями.

[090] В некоторых аспектах способ лечения CRC или FAP у субъекта включает: (a) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.

[091] В некоторых аспектах способ диагностики того, имеет ли субъект высокий риск развития CRC или FAP у субъекта, включает: (a) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH),

POLD1, POLE и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.

[092] В некоторых аспектах введение соединения формулы I демонстрирует эффекты ингибирования пан-JAK-киназы с местными ЖКТ-эффектами и низкими или

5 пренебрежимыми системными эффектами, как определено изменениями уровней pSTAT-3 в кровотоке. Более того, аспекты данного изобретения с такими признаками можно вводить перорально. В некоторых аспектах соединение формулы I можно использовать для профилактики и/или контроля избыточного воспалительного ответа и в случаях, когда системные эффекты устраняются или снижаются. В некоторых аспектах

10 соединение формулы I проявляет местное действие на ткани желудочно-кишечного тракта для лечения таких состояний, как, без ограничений, ВЗК, не вызывая системных эффектов или с такими системными эффектами, сниженными до приемлемого уровня.

[093] После улучшения состояния пациента, облегчения симптомов заболевания или расстройства можно корректировать дозу для профилактического или

15 поддерживающего лечения. Например, дозировка, или частота введения, или и то и другое могут быть снижены в зависимости от симптомов до уровня, при котором поддерживается требуемый терапевтический или профилактический эффект. Разумеется, если проявления симптомов ослаблены до приемлемого уровня, лечение можно прекратить. Однако при рецидиве симптомов пациенту может потребоваться

20 долговременное периодическое лечение.

[094] Дополнительно соединение формулы I предназначено для применения по отдельности, в комбинации с одним или более из других активных агентов или в комбинации с дополнительными активными ингредиентами для лечения состояний, описанных в настоящем документе. Не имеющие ограничительного характера примеры

25 активных агентов, которые можно комбинировать с соединением формулы I, включают НПВП, ингибиторы Cox-2, агенты антител к EGFR агенты, такие как цетуксимаб и панитумумаб, агенты антител к VEGF/VEGFR, такие как бевацизумаб, зив-афлиберцепт, регорафениб, рамуцирумаб и ингибиторы иммунных контрольных точек, такие как ипилимумаб, ниволумаб и пембролизумаб. Дополнительные активные

30 ингредиенты могут также быть введены отдельно для совместного приема с соединением формулы I или могут быть включены в единую фармацевтическую композицию в соответствии с изобретением. В одном примере осуществления дополнительные активные ингредиенты представляют собой компоненты с известной

или доказанной эффективностью при лечении состояний, расстройств или заболеваний, опосредованных активностью JAK, такие как другой ингибитор JAK или соединение с активностью в отношении другой мишени, связанной с конкретным состоянием, расстройством или заболеванием. Комбинация может служить для повышения эффективности (например, посредством включения в комбинацию соединения, повышающего активность или эффективность активного агента), уменьшения одного или более побочных эффектов или снижения требуемой дозы активного агента.

[095] В некоторых аспектах композиции соединения формулы I содержат фармацевтически приемлемые эксципиенты. Фармацевтически приемлемые эксципиенты, обычно используемые в фармацевтических композициях, представляют собой вещества, которые являются нетоксичными, биологически переносимыми и иным образом биологически приемлемыми для введения субъекту, такие как инертное вещество, добавленное в фармакологическую композицию или иным образом использованное в качестве несущей среды, носителя или разбавителя для облегчения введения агента, а также совместимое с этим агентом. Примеры таких эксципиентов включают карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и типы крахмала, производные целлюлозы, желатин, растительные масла и полиэтиленгликоли.

[096] Формы доставки фармацевтических композиций, содержащих одну или более единиц дозирования соединения формулы I, можно получать с применением фармацевтически приемлемых эксципиентов и методик приготовления, известных в настоящее время или доступных специалистам в данной области в будущем. Композиции можно вводить с применением способов, обладающих признаками изобретения, приемлемым посредством доставки, например, перорально, парентерально, ректально, местно, через глаза или посредством ингаляции.

[097] Препарат может быть представлен в форме таблеток, капсул, саше, драже, порошков, гранул, пастилок, порошков для восстановления, жидких препаратов или суппозиториях. Композиции могут быть получены для любого одного из множества способов введения, таких как внутривенная инфузия, подкожная инъекция, местное нанесение или пероральное введение. Предпочтительно композиции могут быть получены для перорального введения.

[098] Для перорального введения активные агенты могут быть обеспечены в форме таблеток, капсул или гранул или в виде раствора, эмульсии или суспензии. Для получения композиций для перорального применения активные агенты могут быть

смешаны с получением дозы, например для человека с массой тела 70 кг, от около 1 до около 1000 мг/день, предназначенной для приема за один или множество раз, в качестве иллюстративного диапазона.

[099] Таблетки для перорального введения могут включать активный (-ые) компонент (-ы), смешанный (-ые) с совместимыми фармацевтически приемлемыми эксципиентами, такими как разбавители, вещества для улучшения распадаемости таблеток, связывающие вещества, смазывающие вещества, подсластители, вкусовые добавки, красители и консерванты. Приемлемые инертные наполнители включают карбонат натрия и кальция, фосфат натрия и кальция, лактозу, крахмал, сахар, глюкозу, метилцеллюлозу, стеарат магния, маннит, сорбит и т. п. Примеры жидких эксципиентов для перорального применения включают этанол, глицерин, воду и т. п. Примеры веществ для улучшения распадаемости таблеток представляют собой крахмал, поливинилпирролидон (ПВП), натрия крахмал гликолят, микрокристаллическую целлюлозу и альгиновую кислоту. Связывающие агенты могут включать крахмал и желатин. Смазывающий агент, при его наличии, может представлять собой стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. При необходимости таблетки могут быть покрыты таким материалом, как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, для отсрочки всасывания в желудочно-кишечном тракте, или они могут иметь кишечнорастворимое покрытие. Дополнительное покрытие, которое можно использовать, включает покрытия, выполненные с возможностью высвобождения соединения или активного агента в зависимости от времени, pH или бактериального содержимого.

[0100] Капсулы для перорального введения включают твердые и мягкие желатиновые капсулы или капсулы из (гидроксипропил)метилцеллюлозы. Для получения твердых желатиновых капсул активные компоненты могут быть смешаны с твердым, полутвердым или жидким разбавителем. Мягкие желатиновые капсулы могут быть получены посредством смешивания активного ингредиента с маслом, таким как арахисовое или оливковое масло, вазелиновым маслом, смесью моно- и диглицеридов короткоцепочечных жирных кислот, полиэтиленгликолем 400 или пропиленгликолем. Жидкости для перорального введения могут быть представлены в форме суспензий, растворов, эмульсий или сиропов, или они могут быть лиофилизированы или представлены в сухом виде для восстановления водой или другой приемлемой несущей средой перед применением. Такие жидкие композиции могут необязательно содержать

фармацевтически приемлемые эксципиенты, такие как суспендирующие агенты (например, сорбит, метилцеллюлозу, альгинат натрия, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гель алюминия стеарата и т. п.); неводные несущие среды, например масло (например, миндальное масло или фракционированное кокосовое масло), пропиленгликоль, этиловый спирт или воду; консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксибензоат или сорбиновую кислоту); смачивающие агенты, такие как лецитин; и, при необходимости, ароматизирующие или красящие агенты.

[0101] Композиции соединения формулы I можно также вводить непероральными путями. Например, можно составлять композиции для ректального введения в виде суппозитория. Для парентерального применения, включая внутривенное, внутримышечное, внутривенное или подкожное, соединения настоящего изобретения могут быть обеспечены в виде стерильных водных растворов или суспензий, буферизованных до соответствующего pH и изотоничности, или в виде подходящего для парентерального применения масла. Приемлемые водные несущие среды включают раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Такие формы будут представлены в форме стандартной однократной дозы, такой как ампулы или одноразовые устройства для инъекций, в многодозовой форме, такой как флаконы, из которых можно втягивать соответствующую дозу, или в твердой форме, или в форме предконцентрата, который можно использовать для получения составов для инъекций. Иллюстративные дозы для инфузии могут находиться в диапазоне от около 1 до 1000 мкг/кг/мин соединения, перемешанного с фармацевтическим носителем за время от нескольких минут до нескольких суток.

[0102] Все аспекты, описанные в настоящем документе для способов лечения, также подходят для применения в лечении.

[0103] Все аспекты, описанные в настоящем документе для способов лечения расстройства или состояния, также подходят для применения при лечении указанного расстройства или состояния.

[0104] Все аспекты, описанные в настоящем документе для применения при лечении расстройства или состояния, также подходят для способов лечения указанного расстройства или состояния.

[0105] Все аспекты, описанные в настоящем документе для способов лечения расстройства или состояния, также подходят для применения в способе лечения указанного расстройства или состояния.

5 **[0106]** Все аспекты, описанные в настоящем документе для применения в способе лечения расстройства или состояния, также подходят для способов лечения указанного расстройства или состояния.

[0107] Приведенные ниже конкретные примеры дополнительно иллюстрируют изобретение и различные аспекты.

10 **[0108]** Если не указано иное, для получения описанных в приведенных ниже примерах соединений и соответствующих аналитических данных использовали следующие экспериментальные и аналитические протоколы.

15 **[0109]** Если не указано иное, реакционные смеси перемешивали на магнитной мешалке при комнатной температуре (комн. темп.). Если растворы являются «высушенными», их по существу сушили над сушильным агентом, таким как Na_2SO_4 или MgSO_4 . Если смеси, растворы и экстракты были «концентрированными», они, как правило, концентрировались на роторном испарителе при пониженном давлении.

[0110] Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинах с предварительно нанесенным силикагелевым покрытием Merck 60 F254 2,5 x 7,5 см 250 мкм или 5,0 см x 10,0 см 250 мкм.

20 **[0111]** Колоночную флэш-хроматографию с нормальной фазой (КФХ) выполняли на силикагелевых колонках (SiO_2), элюируемых 2 М раствором NH_3 в метаноле/DCM, если не указано иное.

25 **[0112]** Если не указано иное, масс-спектры (МС) получали на анализаторе Agilent серии 1100 MSD с использованием ионизации электрораспылением (ИЭР) в позитивном режиме. Рассчитанная (рассч.) масса соответствует точной массе.

30 **[0113]** Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) были получены на спектрометрах Bruker модели DRX. Ниже приведен формат представления данных ^1H ЯМР: химический сдвиг в м. д. в сторону слабого поля от сигнала, используемого в качестве стандарта тетраметилсилана (мультиплетность, константа спин-спинового взаимодействия J в Гц, интеграл).

[0114] Химические наименования создавали с использованием программного обеспечения ChemDraw (CambridgeSoft, г. Кембридж, штат Массачусетс, США) или AACD/Name версии 9 (Advanced Chemistry Development, г. Торонто, Онтарио, Канада). В качестве примера обозначение (*1r,4r*) относится к транс-ориентации вокруг циклогексилового кольца и создано с помощью функции именования Chemdraw Ultra Pro 14.0.

[0115] При указании выхода в процентах такой выход относится к массе вещества, для которого указывается выход, по отношению к максимально достижимому количеству данного вещества в конкретных стехиометрических условиях. Если не указано иное, все приводимые в процентах концентрации реактивов относятся к массовым соотношениям.

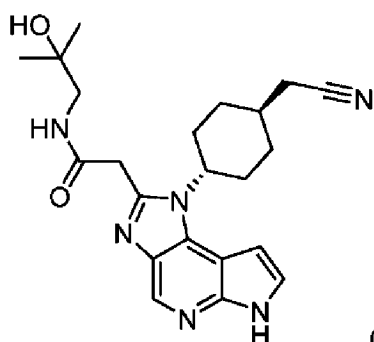
[0116] В настоящем документе используются представленные ниже аббревиатуры и сокращения. Используемые аббревиатуры и сокращения

Сокращение	Термин
AAC	Условия ускоренного старения (40 °C и 70% RH)
ACN	Ацетонитрил
водн.	Водный
уш.	Уширенный
cLogP	Расчетное logP
DCM	Дихлорметан
DIPEA, DIEA, основание Хюнига	Диизопропилэтиламин
DMA	Диметилацетамид
DMF	<i>N,N</i> -Диметилформамид
DMPU	1,3-Диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1 <i>H</i>)-пиримидинон
DMSO	Диметилсульфоксид
EtOAc или EA	Этилацетат
EtOH	Этанол
ИЭР	Ионизация электрораспылением
КФХ	Колоночная флэш-хроматография с нормальной фазой на силикагеле
г	Грамм (-ы)
ч	Час (-ы)
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
HR-XRPD	Рентгеновская порошковая дифрактометрия высокого разрешения
HT-XRPD	Высокопроизводительная рентгеновская порошковая дифрактометрия
IPA	изопропанол
i.c.	внутри ободочной кишки
Гц	Герц

ЖХМС	Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией
М	Молярный
m/z	Отношение массы к заряду
MeOH	Метанол
мг	Миллиграмм (-ы)
мин	Минута (-ы)
мл	Миллилитр (-ы)
мкл	Микролитр (-ы)
ммоль	Миллимоль (-и)
МТВЕ	Метил <i>трет</i> -бутиловый эфир
МС:	Масс-спектрометрия
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
п/о	<i>per os</i> или через рот
ч/млн	Частей на миллион
ПТФЭ	политетрафторэтилен
PyBOP	Бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфония гексафторфосфат
PyBrop	Бромтрипирролидинфосфония гексафторфосфат
RH	Относительная влажность
R _t	Время удерживания
комн. темп.	Комнатная температура
TFA	Трифторуксусная кислота
ТГФ	Тетрагидрофуран
ТСХ	Тонкослойная хроматография
tPSA	Площадь топологической полярной поверхности

Пример 1

[0117] 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид



(формула I),

5

Стадия А. 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид. Для получения сухого исходного материала этил-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-

d]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетат (промежуточное соединение 3) перед реакцией выдерживали в условиях вакуума при 50 °С в течение 18 ч. В колбе объемом 1 л этил 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетат (промежуточное соединение 3, 52,585 г, 104,01 ммоль) суспендировали в DMA (50 мл). Добавляли 1-амино-2-метилпропан-2-ол (50 мл) и реакционную смесь выдерживали при 110 °С в течение 45 минут, а после этого при 125 °С в течение 5 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли EtOAc (800 мл). Органический слой трижды экстрагировали раствором воды / солевого раствора, причем раствор состоял из 1 л воды и 50 мл солевого раствора. Водные слои снова экстрагировали с помощью EtOAc (2 x 600 мл). Объединенные органические слои сушили безводным MgSO₄, концентрировали досуха, а впоследствии сушили в течение 3 дней в условиях вакуума с получением указанного в заголовке соединения (65,9 г, выход 98%) в виде желтой пены. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₈H₃₂N₆O₄S, 548,22; полученное значение *m/z* 549,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,76 (с, 1H), 8,26–8,19 (м, 2H), 7,84 (д, *J* = 4,1 Гц, 1H), 7,60–7,53 (м, 1H), 7,50–7,44 (м, 2H), 6,84 (д, *J* = 4,2 Гц, 1H), 4,76–4,61 (м, 1H), 3,97 (с, 2H), 3,45 (с, 1H), 3,27 (д, *J* = 5,9 Гц, 2H), 2,41 (д, *J* = 6,5 Гц, 2H), 2,38–2,25 (м, 2H), 2,23–2,12 (м, 2H), 2,09–1,94 (м, 4H), 1,48 (кд, *J* = 13,6, 4,0 Гц, 2H), 1,21 (с, 6H).

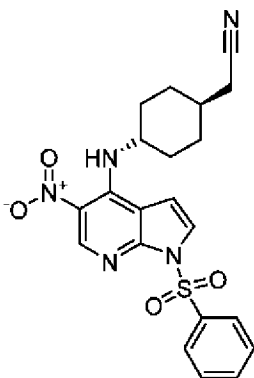
[0118] Стадия В: 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид. 2-(1-((1*r*, 4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-*N*-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид (65,90 г, 102,1 ммоль) добавляли в колбу объемом 1 л, содержащую магнитный якорь. Добавляли 1,4-диоксан (300 мл), а затем водн. KOH (3 М, 150 мл). Реакционную смесь выдерживали при температуре 80 °С в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и объем растворителя уменьшали до около 200 мл на ротационном испарителе. Остаток обрабатывали раствором воды / солевого раствора (100 мл / 100 мл), впоследствии экстрагировали 10% MeOH в CH₂Cl₂ (2 x 1 л). Объединенные слои сушили безводным MgSO₄ и концентрировали досуха с получением желтого твердого вещества. Твердое вещество суспендировали в CH₂Cl₂ (200 мл), интенсивно перемешивали в течение 30 минут, а впоследствии собирали фильтрованием. Твердое вещество промывали CH₂Cl₂ (100 мл), сушили посредством протягивания воздуха

через фильтр, а впоследствии дополнительно сушили в условиях вакуума при комнатной температуре в течение 16 ч с получением указанного в заголовке соединения (41,59 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₂H₂₈N₆O₂, — 408,23; полученное значение m/z 409,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-*d*₆): δ 11,85 (с, 1H), 8,50 (с, 1H), 8,21–8,10 (м, 1H), 7,49–7,43 (м, 1H), 6,74–6,65 (м, 1H), 4,53–4,42 (м, 2H), 4,07 (с, 2H), 3,08 (d, *J* = 6,0 Гц, 2H), 2,58 (d, *J* = 6,1 Гц, 2H), 2,41–2,28 (м, 2H), 2,09–1,92 (м, 5H), 1,42–1,31 (м, 2H), 1,09 (с, 6H). Синтез и определение свойств активного соединения для каждого из аспектов данного изобретения представлены в настоящем документе в виде примеров. Благодаря кристаллической структуре некоторых аспектов данного изобретения можно проводить полиморфный скрининг для определения дополнительных свойств конкретных форм любого такого соединения. Это проиллюстрировано не имеющим ограничительного характера способом для соединения формулы I примером под названием «полиморфный скрининг».

[0119] Следующие соединения были получены со ссылкой на приведенный выше синтез:

Промежуточное соединение 1

[0120] 2-((1*r*, 4*r*)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил



[0121] Стадия А: *трет*-бутил-N-[(1*r*, 4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 20 л, в которой после продувки поддерживали инертную атмосферу азота, помещали (1*r*, 4*r*)-4-[[(*трет*-бутоксикарбонил)амино]циклогексан-1-карбоновую кислоту (1066 г, 4,38 моль, 1,00 экв.) и ТГФ (10 л). Затем по каплям добавляли ВНЗ-Ме₂S (10 М, 660 мл) при -10 °С в

течение 1 ч. Полученный раствор перемешивали в течение 3 ч при 15 °С. Эту реакцию проводили три раза параллельно и реакционные смеси объединяли. Впоследствии реакционную смесь гасили добавлением метанола (2 л). Полученную смесь концентрировали в условиях вакуума. В результате получали *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат (3000 г, 99,6%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₂H₂₃NO₃, 229,32; полученное *m/z*, 215,2 [M-*t*Bu+MeCN+H]⁺; 1H ЯМР: (300 МГц, CDCl₃): δ 4,40 (с, 1H), 3,45 (д, *J* = 6,3 Гц, 2H), 3,38 (с, 1H), 2,05–2,02 (м, 2H), 1,84–1,81 (м, 2H), 1,44 (с, 11H), 1,17–1,01 (м, 4H).

[0122] Стадия В: *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-

[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 20 л, в которой после продувки поддерживали инертную атмосферу азота, помещали *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат (1000 г, 4,36 моль, 1,00 экв.), дихлорметан (10 л), пиридин (1380 г, 17,5 моль, 4,00 экв.). Затем по каплям добавляли MsCl (1000 г, 8,73 моль, 2,00 экв.) при -15 °С. Полученный раствор перемешивали в течение ночи при 25 °С. Эту реакцию проводили параллельно 3 раза и реакционные смеси объединяли. Впоследствии реакцию гасили добавлением 2 л воды. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (1 x 9 л). Органический слой отделяли и промывали 1 М HCl (3 x 10 л), NaHCO₃ (насыщенный водн. раствор) (2 x 10 л), водой (1 x 10 л) и соевым раствором (1 x 10 л). Смесь сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в условиях вакуума. В результате получали *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат (3300 г, 82%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₃H₂₅NO₅S, — 307,15; полученное *m/z*, 292,1 [M-*t*Bu+MeCN+H]⁺; 1H ЯМР: (300 МГц, CDCl₃): δ 4,03 (д, *J* = 6,6 Гц, 2H), 3,38 (с, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,07–2,05 (м, 2H), 1,87–1,84 (м, 2H), 1,72–1,69 (м, 1H), 1,44 (с, 9H), 1,19–1,04 (м, 4H).

[0123] Стадия С: *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 10 л помещали трет-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат (1100 г, 3,58 моль, 1,00 экв.), DMSO (5500 мл) и NaCN (406 г, 8,29 моль, 2,30 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 5 ч при 90 °С. Эту реакцию проводили параллельно 3 раза и реакционные смеси объединяли. Впоследствии реакционную смесь гасили добавлением 15 л воды/льда. Твердые вещества собирали фильтрованием. Твердые вещества промывали водой (3 x 10 л). В результате получали *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-

(цианометил)циклогексил]карбамат (2480 г, 97%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{13}H_{22}N_2O_2$, 238,17; полученное m/z 224 $[M-tBu+MeCN+H]^+$; 1H ЯМР: (300 МГц, $CDCl_3$): δ 4,39 (с, 1H), 3,38 (с, 1H), 2,26 (д, $J = 6,9$ Гц, 2H), 2,08–2,04 (м, 2H), 1,92–1,88 (м, 2H), 1,67–1,61 (м, 1H), 1,44 (с, 9H), 1,26–1,06 (м, 4H).

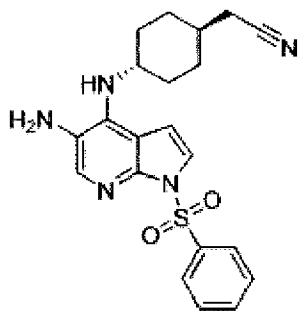
[0124] Стадия D: 2-[(1*r*,4*r*)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид. В круглодонную колбу объемом 10 л помещали *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил]карбамат (620 г, 2,60 моль, 1,00 экв.) и 1,4-диоксан (2 л). Затем по каплям при перемешивании добавляли раствор HCl в 1,4-диоксане (5 л, 4 М) при 10 °С. Полученный раствор перемешивали в течение ночи при 25 °С. Эту реакцию проводили 4 раза и реакционные смеси объединяли. Твердые вещества собирали фильтрованием. Твердые вещества промывали 1,4-диоксаном (3 x 3 л), этилацетатом (3 x 3 л) и гексаном (3 x 3 л). В результате получали 2-[(1*r*,4*r*)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид (1753 г, 96%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_8H_{14}N_2$, 138,12; полученное m/z , 139,25, $[M+H]^+$; 1H ЯМР: (300 МГц, $DMSO-d_6$): δ 8,14 (с, 3H), 2,96–2,84 (м, 1H), 2,46 (д, $J = 6,3$ Гц, 2H), 1,98 (д, $J = 11,1$ Гц, 2H), 1,79 (д, $J = 12,0$ Гц, 2H), 1,64–1,49 (м, 1H), 1,42–1,29 (м, 2H), 1,18–1,04 (м, 2H).

[0125] Стадия E: 2-((1*r*,4*r*)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил. В круглодонную колбу объемом 1000 мл, содержащую 2-[(1*r*,4*r*)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид (29,10 г, 166,6 ммоль), добавляли DMA (400 мл). Полученную суспензию обрабатывали 4-хлор-5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин (51,53 г, 152,6 ммоль), а затем DIPEA (63,0 мл, 366 ммоль). Реакционную смесь помещали в атмосферу N_2 и выдерживали при температуре 80 °С в течение 4 часов. Неочищенную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и медленно вливали в интенсивно перемешиваемую колбу объемом 2 л, содержащую 1,6 л воды. Полученную суспензию перемешивали в течение 15 минут при комнатной температуре, впоследствии фильтровали и сушили в течение 16 ч в вакуумном сушильном шкафу при температуре 70 °С с получением указанного в заголовке соединения (63,37 г, 95%) в виде желтого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{21}H_{21}N_5O_4S$, 439,1; полученное m/z , 440,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$): δ 9,10 (с, 1H), 8,99 (д, $J = 7,8$ Гц, 1H), 8,23–8,15 (м, 2H), 7,66–7,59 (м, 2H), 7,56–7,49 (м, 2H), 6,67 (д, $J = 4,2$ Гц,

1H), 3,95–3,79 (м, 1H), 2,38 (д, $J = 6,2$ Гц, 2H), 2,32–2,21 (м, 2H), 2,08–1,98 (м, 2H), 1,88–1,76 (м, 1H), 1,60–1,32 (м, 4H).

Промежуточное соединение 2

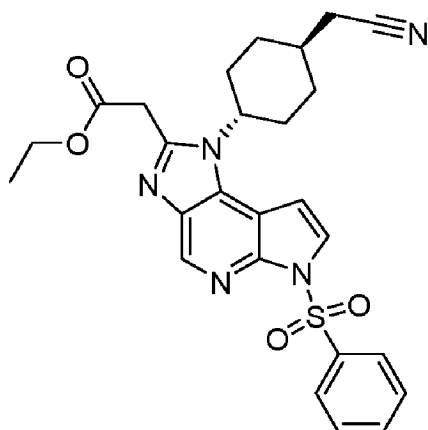
[0126] 2-((*1r,4r*)-4-((5-амино-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил



[0127] 2-((*1r,4r*)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил (промежуточное соединение 1, 58,60 г, 133,3 ммоль) растворяли в ТГФ/МеОН (1 : 1, 4800 мл). Смесь пропускали через реактор для гидрогенизации в непрерывном потоке (10% Pd/C), такой как Thales Nano H-Cube®, со скоростью 10 мл/мин с 100% водорода (атмосферное давление, 80 °C), впоследствии раствор концентрировали с получением продукта в виде пурпурного твердого вещества. Твердое вещество растирали с EtOAc (400 мл), а впоследствии снова растирали с МеОН (200 мл), после этого фильтровали и сушили в условиях вакуума с получением указанного в заголовке соединения (50,2 г, выход 91,9%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₁H₂₃N₅O₂S, 409,2; полученное m/z , 410,2 [M+H]⁺. ¹H NMR (400 МГц, CDCl₃) δ 8,10–8,03 (м, 2H), 7,76 (с, 1H), 7,51–7,43 (м, 1H), 7,43–7,34 (м, 3H), 6,44 (д, $J = 4,2$ Гц, 1H), 4,61 (д, $J = 8,5$ Гц, 1H), 3,65–3,51 (м, 1H), 2,74 (с, 2H), 2,26 (д, $J = 6,4$ Гц, 2H), 2,19–2,05 (м, 2H), 1,97–1,86 (м, 2H), 1,76–1,59 (м, 1H), 1,33–1,12 (м, 4H).

Промежуточное соединение 3

[0128] Этил-2-(1-((*1r,4r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетат



[0129] В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую магнитный якорь и 2-((1*r*,4*r*)-4-((5-амино-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил (промежуточное соединение 2, 58,31 г, 142,4 ммоль) добавляли этил-3-этокси-3-иминопропаноат (60,51 г, 309,3 ммоль) с последующим добавлением EtOH (600 мл, сушили над молекулярным ситом 3 Å в течение 48 ч). К реакционной колбе прикрепляли обратный конденсатор, реакционную смесь продували N₂ и выдерживали при 90 °С в течение 9 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и оставляли на 30 ч, в течение которых продукт кристаллизовался в виде коричневых игл. Твердые частицы разламывали шпателем и реакционную смесь переносили в колбу объемом 2 л. Воду (1,4 л) медленно добавляли через делительную воронку при интенсивном перемешивании. После завершения добавления воды суспензию перемешивали в течение 30 минут. Коричневые иглы выделяли фильтрованием, а впоследствии сушили посредством протягивания воздуха через фильтр в течение 1 ч. Продукт переносили в колбу объемом 500 мл и обрабатывали EtOAc (200 мл). Добавляли небольшое количество затравочных кристаллов, что индуцировало образование белого твердого осадка. Суспензию перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре, фильтровали, промывали EtOAc (25 мл) и сушили в условиях вакуума с получением продукта в виде белого твердого вещества (48,65 г, выход 68%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₆H₂₇N₅O₄S, 505,2; полученное *m/z*, 506,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,85 (с, 1H), 8,28–8,19 (м, 2H), 7,84 (д, *J* = 4,0 Гц, 1H), 7,61–7,53 (м, 1H), 7,52–7,43 (м, 2H), 6,84 (д, *J* = 4,1 Гц, 1H), 4,32 (с, 1H), 4,20 (к, *J* = 7,1 Гц, 2H), 4,09 (с, 2H), 2,44 (д, *J* = 6,2 Гц, 2H), 2,40–2,27 (м, 2H), 2,16 (д, *J* = 13,3 Гц, 2H), 2,12–1,96 (м, 3H), 1,54–1,38 (м, 2H), 1,27 (т, *J* = 7,1 Гц, 3H).

Пример полиморфного скрининга

[0130] Некоторые варианты осуществления соединения формулы I в виде свободных оснований включают множество конфигураций кристаллической структуры, которые имеют сложные твердотельные характеристики, некоторые из которых в свою очередь могут иметь различающиеся между собой признаки из-за различных количеств включенного растворителя. Некоторые варианты осуществления соединения формулы I находятся в форме псевдополимеров, которые представляют собой варианты осуществления того же соединения, которые имеют различия в структуре кристаллической решетки из-за различных количеств растворителя в самой кристаллической решетке. Дополнительно в некоторых вариантах осуществления кристаллической структуры соединения формулы I также может иметь место сольватация каналов, при которой растворитель включен в каналы или пустоты, присутствующие в кристаллической решетке. Например, различные конфигурации кристаллической структуры, приведенные в таблице 2, были обнаружены для соединения формулы I. Из-за этих признаков часто наблюдались нестехиометрические сольваты, как показано в таблице 2. Более того, наличие таких каналов или пустот в кристаллической структуре некоторых вариантов осуществления в соответствии с данным изобретением обеспечивает наличие молекул воды и/или растворителя, которые удерживаются внутри кристаллической структуры с различными степенями прочности связывания. Следовательно, изменения в конкретных условиях окружающей среды могут легко привести к некоторому уменьшению или увеличению числа молекул воды и/или молекул растворителя в некоторых вариантах осуществления в соответствии с данным изобретением. Следует понимать, что «сольватация» (третий столбец в таблице 2) для каждого из вариантов осуществления, перечисленных в таблице 2, является сольватацией по формуле и что фактическое определение ее в виде стехиометрического числа (четвертый столбец в таблице 2) может немного отличаться от сольватации по формуле в зависимости от фактических условий окружающей среды при экспериментальном определении. Например, если приблизительно половина молекул воды в одном варианте осуществления может присутствовать в кристаллической решетке в связанном водородными связями с активным соединением состоянии, а приблизительно другая половина молекул воды может находиться в каналах или пустотах в кристаллической решетке, то изменения в условиях окружающей среды могут изменять количество таких несвязанных молекул воды в

пустотах или каналах и, следовательно, могут приводить к небольшому различию между сольватацией по формуле, которая устанавливается в соответствии, например, с монокристаллической дифракцией, и стехиометрией, которая определяется, например, посредством термогравиметрического анализа, выполняемого совместно с масс-спектроскопией.

5

Таблица 2. Варианты осуществления кристаллических форм соединения формулы I

Вариант осуществления	Растворитель для кристаллизации	Сольватация	Стехиометрия
1s	—	моногидрат	0,8 H ₂ O
1a	Вода	моногидрат	1,3 H ₂ O
1b	Толуол	Сольват толуола	0,4 толуол
1c	Этилацетат/1,4-диоксан	моногидрат	1,1 H ₂ O
1d	Ацетонитрил/хлороформ	1,7 гидрат	1,7 H ₂ O
1e	Этилацетат/1,4-диоксан	моногидрат	1 H ₂ O
1f	п-ксилол	п-ксилол сольват	0,3 п-ксилол
1f	Кумен	Кумен сольват	0,3 кумен
1g	Анизол	Анизол сольват	0,3 анизол
1h	п-ксилол	п-ксилол сольват	0,2 п-ксилол
2	1,4-Диоксан	1,4-Диоксан сольват	1,2 1,4-диоксан
3b	Циклогексанон	Циклогексанон сольват	0,3 циклогексанон
3c	1,4-Диоксан	1,4-Диоксан сольват	0,5 1,4-диоксан
3d	ТГФ	ТГФ сольват	0,4 ТГФ
3e	Изобутанол	Изобутанол сольват	0,7 изобутанол
1b + 4	Вода/метанол	Смесь гидрат/метанол сольват	—
5	Хлороформ	Хлороформ сольват	0,5 хлороформ
6	Ацетонитрил	Безводный	0,2 ацетонитрил
1s + 7	Гептан	Гептан сольват	0,1 гептан
7	—	Не сольватирован	—
8	—	Не сольватирован	—
9	—	Не сольватирован	—
10		дигидрат	1,8 H ₂ O
11	этанол	сольват этанола	0,5 этанол
11b	метанол	сольват метанола	0,5 метанол
12	—	безводный	—
13	метанол/вода	метастабильная форма	
14		метастабильный гидрат	

15	толуол	сольват толуола	0,55 толуол
16	этилацетат	сольват этилацетата	0,09 этилацетат
17	изопропилацетат	сольват изопропилацетата	0,13 изопропилацетат
18	2-бутанон	сольват 2-бутанона	0,2 2-бутанон

[0131] Соединение, полученное, как описано в примере 1, дополнительно кристаллизовали посредством приготовления суспензии в DCM (1 : 3, например 10 г соединения в 30 мл DCM), которую перемешивали при 40 °С в течение 4 часов и
5 дополнительно перемешивали в течение 14 часов при 25 °С, впоследствии медленно добавляли гептан (1 : 2, например 20 мл гептана в смесь соединение / суспензия DCM / раствор) при 25 °С, перемешивали при 40 °С в течение 4 часов, охлаждали до 25 °С и перемешивали в течение еще 14 часов при 25 °С. Последующая фильтрация привела к
10 получению соединения формулы I в форме твердого вещества почти белого цвета, которое было определено как моногидрат, вариант осуществления 1s.

[0132] Варианты осуществления 1–10 в таблице 2 и на Фиг. 2 являются кристаллическими. Варианты осуществления 1s и 1a–1h являются изоструктурными. Вариант осуществления 1s кристаллизуется в центрально симметричную триклинную пространственную группу P-1. Термин «вариант осуществления 1» в совокупности
15 относится к изоструктурным вариантам осуществления 1s и 1a–1h. Любой из таких вариантов осуществления 1s и 1a–1h иногда называется изоструктурным элементом варианта осуществления 1 или просто элементом варианта осуществления 1. Варианты осуществления 3b, 3c, 3d и 3e являются изоструктурными и кристаллизуются в моноклинную систему (пространственная группа C 2/c). Термин «вариант
20 осуществления 3» в совокупности относится к изоструктурным вариантам осуществления 3b, 3c, 3d и 3e. Любой из таких вариантов осуществления 3b, 3c, 3d и 3e иногда называется изоструктурным элементом варианта осуществления 3 или просто элементом варианта осуществления 3. Изоструктурные варианты осуществления таковы, что они обладают сходными свойствами кристаллической структуры (такая же
25 симметрия и аналогичные параметры элементарной ячейки и упаковка кристалла) и при этом имеют различные химические составы (т. е. различное число молекул растворителя и/или воды, встроенных в кристаллическую решетку). Параметры элементарной ячейки в изоструктурных вариантах осуществления могут несколько отличаться в зависимости от состава (растворитель или вода, встроенные в

кристаллическую структуру). Варианты осуществления, упомянутые в таблице 2, были получены и/или взаимно преобразованы, как схематически показано на Фиг. 2 и более подробно описано в следующих методиках скрининга.

[0133] Скрининг включал протоколы кристаллизации, такие как уравнивание растворителя в чистых растворителях, испарительная кристаллизация, охлаждающая кристаллизация с горячей фильтрацией, кристаллизация при резком охлаждении с использованием антирастворителя и кристаллизация посредством термоциклирования. Твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Если применимо, маточные растворы полностью выпаривали, а оставшиеся твердые частицы также анализировали с помощью HT-XRPD. Определенная преобладающая твердая форма представляла собой вариант осуществления исходного материала 1s в виде моногидрата.

Уравнивание растворителя при 25 °C и 50 °C

[0134] Долгосрочные эксперименты с суспензией проводили посредством суспендирования варианта осуществления 1s в двадцати чистых растворителях и перемешивания при комнатной температуре в течение двух недель и при 50 °C в течение одной недели. По окончании времени уравнивания остаточные твердые вещества отделяли от маточных растворов. Твердые вещества сушили в условиях окружающей среды и сушили в условиях вакуума (5 мбар), а затем анализировали посредством HT-XRPD. Затем твердые вещества подвергали воздействию условий ускоренного старения (40 °C / относительная влажность 70%) в течение двух дней и снова анализировали с помощью HT-XRPD.

[0135] Из большинства растворителей для кристаллизации получали исходный материал в виде варианта осуществления 1s. Из нескольких растворителей для кристаллизации были получены кристаллы, HT-XRPD-рентгенограммы которых были сходны с таковыми исходного варианта осуществления 1s. В большинстве данных дифрактограмм были обнаружены смещения пика и/или дополнительные пики. Каждая из этих дифрактограмм соответствовала варианту осуществления, который был обозначен как один из вариантов осуществления 1a–1h, и на основании сходства HT-XRPD-дифрактограмм для таких вариантов осуществления они представлены в виде вариантов осуществления, являющихся изоструктурными элементами варианта осуществления 1. Все изоструктурные элементы варианта осуществления 1 были

преобразованы в вариант осуществления 1a после воздействия 40 °C и 75% RH в течение двух дней.

[0136] Вариант осуществления 1s превращался в гидратированный вариант осуществления 10 после воздействия 100% RH при 25 °C. При этом вариант осуществления 10 был физически нестабилен при условиях окружающей среды. Хотя вариант осуществления 1s кристаллизовался в триклинную систему (пространственная группа P-1), было обнаружено, что вариант осуществления 10 кристаллизуется в моноклинную систему (пространственная группа C 2/c). Вариант осуществления 10 имел ограниченную физическую стабильность в условиях окружающей среды и был преобразован в другой вариант осуществления, такой как 1s или 1a. Это поведение объясняется неравномерно сильным связыванием всех молекул, обеспечивающих гидратацию/сольватацию. В этом случае вариант осуществления 10 будет иметь менее прочно связанную вторую молекулу воды, которая будет потеряна в условиях окружающей среды. Точнее физическая стабильность варианта осуществления 1s была исследована в климатических камерах посредством воздействия на пробу массой 20 мг такого варианта осуществления температуры 40 °C и относительной влажности 70% в течение четырех дней, а на другую пробу массой 20 мг того же варианта осуществления также в течение четырех дней воздействовали температурой 25 °C и относительной влажностью 100%. Через четыре дня различные пробы твердого вещества анализировали с помощью HR-XRPD, определяли параметры кристаллической ячейки и расшифровывали дифрактограммы. Дифрактограммы показаны на Фиг. 6. Снизу вверх: первая дифрактограмма на Фиг. 6 соответствует варианту осуществления 1s в качестве исходного материала, а вторая соответствует той же форме после 4-дневного воздействия температуры 40 °C и относительной влажности 70%, отмечено на этой фигуре как «1s 70 RH». Этот анализ показал, что исходный вариант осуществления 1s был восстановлен, хотя с небольшим количеством второй кристаллической формы, которая, возможно, представляла собой еще один гидратированный вариант осуществления с более высоким содержанием воды. Классификация такой формы оказалась невозможной из-за небольшого количества, в котором она присутствовала. Третья дифрактограмма соответствовала варианту осуществления 1s после 4-дневного воздействия температуры 25 °C и относительной влажности 100% и отмечена на той же фигуре числом 10. Эти условия привели к превращению варианта осуществления 1s в вариант осуществления 10 с небольшим

содержанием исходного варианта осуществления 1s и сольватацией, как показано в таблице 2. После дегидратации оба варианта осуществления 1s и 10 повторно кристаллизовали в безводную форму с температурой плавления 148 °C.

[0137] Уравновешивание растворителя при комнатной температуре приводило к
5 получению варианта осуществления 1b из толуола в качестве растворителя для кристаллизации и варианта осуществления 1f из п-ксилола в качестве растворителя для кристаллизации.

[0138] Определили три дополнительных варианта осуществления твердого вещества, которые обозначили как варианты осуществления 2, 3 и 7. Вариант осуществления 2,
10 чьи TGA и DSC показаны на Фиг. 21А и 21Б соответственно, определили в эксперименте по уравновешиванию растворителя, проводившемся при комнатной температуре в 1,4-диоксане, тогда как вариант осуществления 7 обнаружили в виде смеси с вариантом осуществления 1s в единственном эксперименте по уравновешиванию растворителя при 50 °C из гептана. Обнаружили несколько сходных,
15 но не идентичных дифрактограмм, которые сгруппировали в качестве вариантов осуществления 3b, 3c, 3d и 3e, являющихся изоструктурными элементами варианта осуществления 3. Изоструктурные элементы варианта осуществления 3 обнаружили в смешанном виде с элементами варианта осуществления 1. Смеси, содержащие элементы варианта осуществления 3, в некоторых случаях преобразовывали в вариант
20 осуществления 1a или в смеси вариантов осуществления 1a и 3e. Вариант осуществления 7 оказался физически стабильным, но вариант осуществления 2 превращался в вариант осуществления 3e после воздействия ААС в течение двух дней.

Испарительная кристаллизация

[0139] Маточные растворы, оставшиеся от экспериментов по уравновешиванию
25 растворителя, проводимых при комн. темп., использовали для проведения экспериментов по медленной испарительной кристаллизации. Маточные растворы фильтровали для удаления любых твердых частиц и позволяли им медленно испаряться в условиях окружающей среды. Полученные твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD и повторно после воздействия ААС в течение двух дней.

[0140] Из-за слабой растворимости соединения формулы I в некоторых растворителях
30 никакие твердые вещества не извлекали при использовании таких растворителей. В экспериментах, в которых происходило осаждение твердых веществ, был восстановлен

аморфный остаток или изоструктурные элементы вариантов осуществления 1 или 3. В ходе исследования стабильности различные элементы варианта осуществления 1 преобразовывались в вариант осуществления 1a, в то время как проба варианта осуществления 3 выглядела физически стабильной. Аморфные твердые вещества в некоторых случаях оставались аморфными после исследования стабильности, становились растворимыми или демонстрировали некоторые признаки кристаллизации.

Охладительная кристаллизация

[0141] Маточные растворы из экспериментов по уравниванию растворителя, выполнены при 50 °C, фильтровали при 50 °C для удаления любых твердых частиц. Суспензии при 50 °C фильтровали с использованием ПТФЭ-фильтров с размером пор 0,2 мкм и растворы помещали под воздействие температуры 5 °C и выдерживали в течение 72 часов. После осаждения в результате старения твердых веществ их отделяли от жидкости, сушили в условиях окружающей среды и в условиях вакуума и анализировали с помощью HT-XRPD. Оставшиеся маточные растворы оставляли для медленного выпаривания, а оставшиеся твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Пробы, в которых не происходило осаждения, помещали в вакуум, а высушенные твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Все твердые вещества впоследствии подвергали воздействию AAC (2 дня при 40 °C / 70% RH) и повторно анализировали с помощью HT-XRPD.

[0142] В некоторых растворах твердые вещества не осаждались при охлаждении, и в этом случае растворы выпаривали в условиях окружающей среды. Из-за низкой растворимости соединения формулы I в некоторых растворителях твердые вещества не были получены из некоторых растворов.

[0143] Из четырех растворителей (2-пропанол, 2-бутанон, ацетонитрил и метанол) образовывался осадок. Вариант осуществления 6 обнаруживали после выпаривания раствора из одного эксперимента по охлажденной кристаллизации в миллилитровом диапазоне в 800 мкл ацетонитрила (концентрация 25 мг/мл). Вариант осуществления 6 выглядел как стабильная твердая форма после 2 дней AAC и представлял собой несольватированный вариант осуществления.

Охладительная/испарительная кристаллизация в микролитровом диапазоне

[0144] Эксперименты по охлажденной/испарительной кристаллизации в микролитровом диапазоне выполняли на 96-луночном планшете с использованием 12 чистых растворителей и 12 смесей растворителей и с применением четырех температурных профилей. В каждую лунку дозировали приблизительно 4 мг варианта осуществления 1s в виде твердого вещества. После этого добавляли растворители для кристаллизации (80 мкл) и смеси растворителей до достижения концентрации 50 мг/мл, а планшет с герметизированной индивидуально каждой лункой впоследствии подвергали воздействию одного из четырех температурных профилей. После завершения температурного профиля растворители оставляли для испарения при низком давлении окружающей среды (24 часа), а оставшиеся твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD до и после воздействия ААС в течение 2 дней (40 °C / 70% RH).

[0145] Элементы вариантов осуществления 1 и 3 были обнаружены в большинстве систем растворителей и температурных профилей. При этом наблюдалась определенная зависимость твердой формы от температурного профиля. Вариант осуществления 1b главным образом обнаруживали при воздействии коротких температурных профилей (3 часа старения). При этом при длительном времени старения те же системы растворителей приводили к обнаружению варианта осуществления 1f, элементов варианта осуществления 3 или смесей элементов вариантов осуществления 1 и 3. Вариант осуществления 3с получали с использованием 1,4-диоксана в качестве растворителя для кристаллизации и следующего температурного профиля: начальная температура 50 °C, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °C/ч до конечной температуры 20 °C, которую поддерживали в течение 48 ч; вариант осуществления 3d получали с использованием тетрагидрофурана в качестве растворителя для кристаллизации и того же температурного профиля, что и для варианта осуществления 3с.

[0146] Вариант осуществления 4 определяли в экспериментах, проведенных в смеси метанол/вода (50/50, об./об.), ТГФ и DCM/IPA (50/50, об./об.) при применении условий быстрого старения. Вариант осуществления 4 получали посредством обработки варианта осуществления 1s смесью (50/50) воды и метанола и использования следующего температурного профиля: начальная температура 50 °C, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 20 °C/ч до конечной температуры

5 °С, которую поддерживали в течение 3 ч, что приводило к получению варианта осуществления 4 вместе с вариантом осуществления 1b. Вариант осуществления 4 вместе с вариантом осуществления 1b также получали посредством обработки 1s смесью (50/50) воды и метанола и использования следующего температурного

5 профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 20 °С/ч до конечной температуры 20 °С, которую поддерживали в течение 3 ч. Вариант осуществления 4 не был физически стабильным в условиях окружающей среды. В экспериментах по охладительной кристаллизации получали вариант осуществления 1с из этилацетата/1,4-диоксана (50/50, об./об.) в

10 качестве растворителя для кристаллизации с использованием следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °С/ч до конечной температуры 5 °С, которую поддерживали в течение 48 ч; вариант осуществления 1d из ацетонитрила/хлороформа (50/50, об./об.) в качестве растворителя для кристаллизации

15 с использованием следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °С/ч до конечной температуры 5 °С, которую поддерживали в течение 48 ч; и вариант осуществления 1e из этилацетата/1,4-диоксана (50/50, об./об.) в качестве растворителя для кристаллизации с использованием температурного профиля с начальной

20 температурой 50 °С, поддерживаемой в течение 60 мин, с последующим охлаждением со скоростью от 1 °С/ч до конечной температуры 20 °С, поддерживаемой в течение 48 ч.

[0147] Вариант осуществления 5 определяли в экспериментах, выполненных в хлороформе в качестве растворителя для кристаллизации и со следующим

25 температурным профилем: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °С/ч до конечной температуры 20 °С, которую поддерживали в течение 48 ч.

[0148] Аналогичные преобразования наблюдали в ходе исследования стабильности, как было отмечено ранее при использовании других способов кристаллизации. В

30 большинстве случаев все твердые формы преобразуются в вариант осуществления 1a или в смеси, содержащие вариант осуществления 1a.

Испарительная кристаллизация из твердых смесей

[0149] При испарительной кристаллизации с использованием смесей растворителя/антирастворителя получают прозрачные растворы соединения, из которых сначала испаряется растворитель (высокое давление пара), что приводит к осадждению соединения в некоторой степени в форме кристаллов. Впоследствии эти кристаллы выступают в качестве затравки при испарении антирастворителя (более низкое давление паров).

[0150] Соединение формулы I не полностью растворялось в каждой из систем растворителей. По этой причине все эксперименты включали фильтрацию перед выпариванием.

[0151] Результаты анализа НТ-XRPD продемонстрировали, что соединение формулы I кристаллизовалось главным образом в виде варианта осуществления 1s после выпаривания смесей растворителей. Это наблюдали для следующих систем растворитель/антирастворитель: тетрагидрофуран/вода, ацетонитрил/вода, хлороформ/этанол, метанол/этилацетат, 2-бутанон/изопропанол и гептан/ацетон. Из двух систем (ацетон/кумен и 1,4-диоксан/этилформат) получали изоструктурные варианты осуществления 3e и 3e, которые после воздействия ААС превращались в различные смеси вариантов осуществления 1a и 3d, и 1s и 3e соответственно.

Кристаллизация с использованием антирастворителя

[0152] Насыщенные растворы соединения формулы I получали в чистых растворителях. Добавление антирастворителя проводили путем прямого и обратного добавления. При прямом добавлении к раствору соединения добавляли антирастворитель в трех аликвотах. Обратное добавление выполняли посредством добавления объема раствора соединения к большому избытку антирастворителя (20 мл).

[0153] После осаднения твердые вещества отделяли от жидкости, сушили в условиях окружающей среды и сушили в условиях вакуума (5 мбар), а затем анализировали посредством НТ-XRPD. Растворы из экспериментов, в которых не происходило осаднения после добавления растворителя, хранили при 5 °C в течение 48 часов для индуцирования осаднения. После этого осажженные твердые вещества разделяли и анализировали с помощью НТ-XRPD. При отсутствии твердого вещества растворы выпаривали в мягких условиях, а оставшиеся твердые вещества анализировали с

помощью HT-XRPD. Все твердые вещества подвергали воздействию AAC (2 дня при 40 °C / 70% RH) и повторно анализировали с помощью HT-XRPD.

[0154] Во всех случаях при прямой кристаллизации с использованием антирастворителя наблюдали образование осадка. Все твердые вещества могут быть классифицированы как изоструктурные элементы (1s, 1b, 1j, 1f) варианта осуществления 1 или варианта осуществления 3 (3b, 3d, 3f). После воздействия AAC все пробы твердого вещества преобразовывались в вариант осуществления 1a, за исключением одной, которая преобразовалась в смесь вариантов осуществления 1a и 3e.

[0155] Эксперименты по обратной кристаллизации с использованием антирастворителя, выполненные в DMSO в качестве растворителя, приводили к получению различных твердых форм в зависимости от используемого антирастворителя. При использовании дихлорметана или п-ксилола определили изоструктурные элементы (1s и 1b) варианта осуществления 1, тогда как при использовании МТВЕ получили аморфный остаток. Выпаривание двух растворов с гептаном и водой в качестве антирастворителей, в которых не наблюдали осаждения при добавлении антирастворителя, приводило к получению масла. Преобразования в соответствии с вариантом осуществления 1a наблюдали после воздействия AAC, а аморфные остатки становились растворимыми.

Эксперименты с горячей фильтрацией

[0156] Эксперименты по охладительной кристаллизации с горячей фильтрацией выполняли из перенасыщенных растворов соединения формулы I, полученного при 50 °C в различных смесях растворителей. Профильтрованные в горячем состоянии растворы подвергали 48-часовому охлаждению. Флаконы, в которых твердые вещества осаждались после температурной обработки, центрифугировали и твердые вещества отделяли от жидкости и анализировали с помощью HT-XRPD (после сушки в условиях вакуума). Если твердые вещества не осаждались, растворы выпаривали в условиях вакуума и твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Все твердые вещества подвергали воздействию AAC (2 дня при 40 °C / 70% RH) и повторно анализировали с помощью HT-XRPD. В половине экспериментов с горячей фильтрацией осаждение не происходило и после выпаривания растворителей не обнаруживали достаточного количества твердых веществ из-за слабой растворимости

соединения формулы I в этих системах растворителей. В трех экспериментах восстанавливался аморфный остаток, который после воздействия ААС кристаллизовался в смесь элементов варианта осуществления 1 (1s или 1a) и 3 (3e) или становился растворимым. Вариант осуществления 5 определяли в эксперименте в ацетоне/хлороформе (50/50, об./об.). Этот вариант осуществления оказался физически нестабильным, так как после воздействия ААС происходило преобразование в вариант осуществления 1a.

Эксперименты с термоциклированием

[0157] Суспензии около 6 мг варианта осуществления 1s получали в 10 растворителях при комнатной температуре. Суспензии подвергали циклированию в диапазоне от 5 °C до 50 °C. После завершения термоциклирования твердые вещества отделяли центрифугированием и сушили в условиях окружающей среды и в условиях вакуума (5 мбар), а затем анализировали с помощью HT-XRPD. Впоследствии все твердые вещества подвергали воздействию ААС в течение двух дней и снова анализировали с помощью HT-XRPD. Эксперименты с термоциклированием, как правило, способствуют образованию более стабильной полиморфной формы. За исключением эксперимента, выполненного в циклогексаноне, все флаконы после температурной обработки содержали твердые вещества. Раствор циклогексанона медленно выпаривали в легком вакууме. Элементы вариантов осуществления 1, 3 или их смеси выявляли преимущественно во влажных твердых веществах. После сушки этих твердых веществ происходило преобразование в вариант осуществления 1s. Варианты осуществления 3b и 3e получали путем термоциклирования в 300 мкл циклогексанона в концентрации 51 мг/мл (3b) и в 400 мкл изобутанола в концентрации 37,3 мг/мл (3e). Вариант осуществления 5 получали путем термоциклирования в 800 мкл хлороформа в концентрации 18,6 мг/мл.

[0158] На Фиг. 3, 4 и 5 показано наложение HT-XRPD-рентгенограммы вариантов осуществления, перечисленных в таблице 2, а также упомянутых в описанном выше скрининге.

[0159] Вариант осуществления 1s восстанавливался в большинстве экспериментов по кристаллизации. Он представляет собой канальный гидрат, имеющий переменное число встроенных молекул воды и/или других растворителей в зависимости от условий окружающей среды. Наблюдали преобразование в вариант осуществления 1a. Данная

форма содержала немного больше воды (1,3 молекулы воды). Все изоструктурные элементы варианта осуществления 1 были преобразованы в вариант осуществления 1a после воздействия 40 °C и 75% RH в течение двух дней. Смещение некоторых дифракционных пиков на XRPD-рентгенограммах элементов варианта осуществления 1 может быть связано с тем, что в кристаллическую решетку было включено различное число молекул растворителя или воды. На Фиг. 4 показано наложение HT-XRPD-рентгенограмм элементов варианта осуществления 1. Дифрактограмма 1s соответствует соединению формулы I в качестве исходного материала в форме варианта осуществления 1s. Дифрактограмма 1a соответствует варианту осуществления 1a, полученному после воздействия AAC на несколько проб варианта осуществления 1s. Дифрактограмма 1b соответствует варианту осуществления 1b, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при комн. темп. в толуоле. Дифрактограмма 1c соответствует варианту осуществления 1c, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1d соответствует варианту осуществления 1d, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси ацетонитрил/хлороформ (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1e соответствует варианту осуществления 1e, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1f соответствует варианту осуществления 1f, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при комн. темп. в п-ксилоле. Дифрактограмма 1g соответствует варианту осуществления 1g, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при 50 °C в анизоле. Дифрактограмма 1h соответствует варианту осуществления 1h, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в п-ксилоле.

[0160] Дифрактограммы для элементов варианта осуществления 3 показаны на Фиг. 5. Смещения, наблюдаемые в различных HT-XRPD-рентгенограммах, вероятнее всего связаны с различным числом молекул растворителя, включенных в кристаллическую решетку. Вариант осуществления 3 получали нагреванием варианта осуществления 2 до 40 °C при RH 70% в течение 4 дней. Варианты осуществления 3b–3e представляли собой сольватированные формы, содержащие нестехиометрическое количество растворителя, которое изменялось в зависимости от растворителя, включенного в

кристаллическую структуру (0,3–0,7 молекулы). Смеси, содержащие элементы варианта осуществления 3, были нестабильными при воздействии ААС и, в некоторых случаях, преобразовывались в вариант осуществления 1а или в смеси вариантов осуществления 1а и 3е. Превращение в вариант осуществления 1а обусловлено заменой молекул растворителя молекулами воды при воздействии высокой относительной влажности и повторной кристаллизацией до гидратированного варианта осуществления 1а.

[0161] Вариант осуществления 9 получали нагреванием варианта осуществления 2 до температуры около 200 °С с последующим охлаждением до 25 °С, а также посредством циклической дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) 25–200–25–300 °С.

[0162] Вариант осуществления 9 также получали с помощью дополнительных процедур. Одной из таких процедур является двухстадийная процедура: Вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоксаном (10 объемов) при комнатной температуре. Добавляли затравки по варианту осуществления 2 (5 мг) и образец перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Полученную суспензию фильтровали и образец сушили на воздухе в течение 1,5 часов. Определили, что данный образец представляет собой вариант осуществления 2 по данным XRPD. На второй стадии этой двухстадийной процедуры вариант осуществления 2 нагревали до 210 °С со скоростью 10 °С/мин и выдерживали при 210 °С в течение 30 мин. Впоследствии образцу давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество определили как вариант осуществления 9 по данным XRPD-анализа. Другая из таких процедур также представляла собой двухстадийную процедуру получения варианта осуществления 9. В этой процедуре вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоксаном (10 об.). Добавляли затравки по варианту осуществления 2 (5 мг) и образец перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Полученную суспензию фильтровали и образец сушили на воздухе в течение 1,5 часов. Определили, что данный образец представляет собой вариант осуществления 2 по данным XRPD. На второй стадии этой процедуры вариант осуществления 2 нагревали до 150 °С со скоростью 10 °С/мин с последующим дополнительным нагреванием до 170 °С со скоростью 2 °С/мин. Образцу давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество определили как вариант осуществления 9 по данным XRPD-анализа. TGA и DSC для варианта осуществления 9 показаны на Фиг. 22А и 22Б соответственно.

[0163] Вариант осуществления 1s получали суспендированием варианта осуществления 9 в следующих растворителях в течение 6 дней при 50 °C: 2-бутанон, ацетон/вода (90/10, об./об.) и ацетонитрил/вода (90/10, об./об.). Вариант осуществления 1s также был получен при проведении того же эксперимента при комнатной температуре.

- 5 **[0164]** Вариант осуществления 8 получали нагреванием варианта осуществления 5 до температуры около 175 °C. Вариант осуществления 8 также получали с помощью дополнительных процедур. Одной из таких процедур является двухстадийная процедура: Вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоксаном 10 (об.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Полученную суспензию
- 10 фильтровали и полученное твердое вещество сушили в вакуумном сушильном шкафу при комнатной температуре в течение 16 часов. Твердое вещество, полученное на этой первой стадии, было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 3с. На второй стадии вариант осуществления 3с (100 мг) нагревали до 150 °C со скоростью 10 °C/мин, а впоследствии нагревали с меньшей скоростью 2 °C/мин до 180 °C.
- 15 Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 8. Другая из таких процедур также представляла собой двухстадийную процедуру получения варианта осуществления 8. В этой процедуре вариант осуществления 19 (300 мг) обрабатывали 1,4-диоксаном (3 об.) и встряхивали при 60 °C в течение 24 часов.
- 20 Полученную суспензию фильтровали и твердое вещество, полученное на этой первой стадии, определяли с помощью XRPD, как вариант осуществления 3с. На второй стадии вариант осуществления 3с (300 мг) нагревали до 180 °C со скоростью 10 °C/мин. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 8. TGA и
- 25 DSC для варианта осуществления 8 показаны на Фиг. 20А и 20Б соответственно.

- [0165]** В дополнение к получению варианта осуществления 6, как описано выше, этот вариант осуществления получали нагреванием варианта осуществления 11 (80–100 мг), приготовление которого описано ниже, термогравиметрическим анализом от температуры окружающей среды до 185 °C со скоростью 10 °C/мин и выдерживали в
- 30 изотермическом режиме в течение 3 минут. Образцу давали остыть до комнатной температуры. Вариант осуществления 6 также получали из варианта осуществления 11 посредством проведения эксперимента с суспензией. Эксперимент с суспензией проводили следующим образом: растворитель добавляли к варианту осуществления 11

(50 мг) и смесь перемешивали при заданной температуре в течение 0,5 часов. Добавляли затравочные кристаллы формы 9 (5 мг) и смесь перемешивали в течение ночи при заданной температуре. Твердые вещества выделяли центрифугированием и анализировали XRPD с использованием изопропилацетата (0,5 мл) при температуре как 30 °C, так и 50 °C. Создание варианта осуществления 6 было подтверждено XRPD. TGA и DSC для варианта осуществления 6 показаны на Фиг. 19А и 19Б соответственно.

[0166] Дополнительные варианты осуществления соединения формулы I были получены, как описано ниже.

[0167] Вариант осуществления 5 превращали в вариант осуществления 9 посредством проведения экспериментов с суспензией. Эксперименты с суспензией проводили следующим образом с использованием различных растворителей при указанных температурах: Растворитель добавляли к варианту осуществления 5 (50 мг) и смесь перемешивали при заданной температуре в течение 0,5 часов. Добавляли затравочные кристаллы формы 9 (5 мг) и смесь перемешивали в течение ночи при заданной температуре. Твердые вещества выделяли центрифугированием и анализировали методом XRPD. Эксперименты с суспензией, проведенные при 50 °C, проводили с использованием следующих растворителей: TBME (0,75 мл) и 33 : 67 смесь изопропилацетата и гептана (0,5 мл). Эксперименты с суспензией, проведенные при 75 °C, проводили с использованием следующих растворителей: изопропилацетат (0,5 мл) и метилэтилкетон (0,5 мл).

[0168] Вариант осуществления 11 получали следующим образом: Суспензию по варианту осуществления 1s (45 г) в этаноле (абсолютный, содержание воды < 0,1%, 300 мл) при 50 °C перемешивали в течение 16,5 часа. Впоследствии суспензию охлаждали до 5 °C со скоростью 0,25 °C/мин. Впоследствии раствор перемешивали при 5 °C в течение 3 часов. Впоследствии твердые вещества фильтровали, промывали холодным (5 °C) этанолом (абсолютный, содержание воды < 0,1%, 90 мл) и сушили в условиях вакуума при 40 °C в течение 17 часов с получением приблизительно 39 г варианта осуществления 11. TGA и DSC для варианта осуществления 11 показаны на Фиг. 17А и 17Б соответственно.

[0169] Вариант осуществления 11 также получали следующим образом: В вариант осуществления 1s (19 г) добавляли абсолютный этанол (170 мл) и нагревали приблизительно до температуры кипения растворителя. Небольшое количество твердых веществ (5%) не растворялось и его удаляли горячим фильтрованием. Было

определено, что твердые вещества, которые были отфильтрованы, представляли собой вариант осуществления 1s. Таким образом, твердые вещества добавляли обратно в фильтрат и нагревали эту смесь до полного растворения всех твердых веществ. К этому горячему раствору по каплям через делительную воронку добавляли гептан (535 мл).

5 Во время этого добавления по каплям гептана горячий раствор интенсивно перемешивали. После завершения добавления гептана колбу, содержащую горячую смесь раствор/гептан, погружали на баню с ледяной водой и интенсивно перемешивали в течение одного часа. Впоследствии твердые вещества собирали фильтрованием и
10 белый твердый осадок на фильтре высушивали, пропуская воздух через него в течение 15 минут. Его дополнительно высушивали нагреванием при 70 °C в течение 16 часов в высоком вакууме, а впоследствии нагреванием при 80 °C в течение 18 часов с получением 16,3 г варианта осуществления 11. Дифрактограмма для варианта осуществления 11 представлена на Фиг. 7.

[0170] В исследовании гигроскопичности варианта осуществления 11 было обнаружено,
15 что он является лишь слабо гигроскопичным с изменением массы 0,66% в диапазоне от 0 до 90% RH в анализе GVS, как показано на Фиг. 18. Анализ XRPD после анализа GVS показал, что материал был физически стабильным. Анализ DXRPD с переменной температурой (VT) выполняли для оценки стабильности варианта осуществления 11 при нагревании. Материал оставался неизменным, как показал анализ XRPD, когда его
20 подвергали воздействию температур до около 175 °C, однако при температуре выше 180 °C образец превратился в вариант осуществления 6. Дифрактограммы варианта осуществления 11 до и после эксперимента VT-XRPD вместе с дифрактограммой для варианта осуществления 6 показаны на Фиг. 24. Вариант осуществления 11 также подвергали статическому анализу хранения при 40 °C / 75 % RH в течение периода до 48
25 дней. Образцы анализировали посредством XRPD и методом Карла Фишера (KF) через 2 дня, 5 дней и 48 дней. Вариант осуществления 11 оставался неизменным, как показано с помощью анализа XRPD, с общим поглощением воды 1,2% через 48 дней. ¹H-ЯМР материала после 48 дней статического хранения показал, что материал сохранил 0,36 моль экв. этанола. По данным ¹HЯМР, вариант осуществления 11, который хранили в условиях
30 окружающей среды в течение всего исследования, содержал 0,46 моль экв. этанола.

[0171] Вариант осуществления 11 b получали из варианта осуществления 1s следующим образом: 10 мл высушенного метанола добавляли к 3,3 г варианта осуществления 1s. Эту смесь подвергали следующему циклическому изменению

температуры: Смесь нагревали при 40 °С в течение 1 часа, а впоследствии повышали температуру до 60 °С в течение 2 часов. Впоследствии смесь нагревали до 60 °С в течение 1 часа. Впоследствии температуру снижали до 40 °С в течение 2 часов. Этот режим циклического изменения температуры повторяли в общей сложности около 20 часов. В это время смесь охлаждали до 5 °С в течение 2 часов. Твердые вещества выделили при температуре 5 °С посредством вакуумной фильтрации и впоследствии высушили при температуре окружающей среды в условиях вакуума в течение около 66 часов. В альтернативном варианте осуществления 11 b получали из варианта осуществления 1s с использованием следующей процедуры: 1 мл высушенного метанола добавляли к 330 мг варианта осуществления 1s. Эту смесь подвергали следующему циклическому изменению температуры: Смесь нагревали при 40 °С в течение 1 часа, а впоследствии повышали температуру до 60 °С в течение 2 часов. Впоследствии смесь нагревали до 60 °С в течение 1 часа. Впоследствии температуру снижали до 40 °С в течение 2 часов. Этот режим циклического изменения температуры повторяли в общей сложности около 18 часов. В это время твердые вещества выделили центрифугированием, а впоследствии высушили при температуре окружающей среды в условиях вакуума в течение около 33 часов. Метанол для описанных выше экспериментов высушивали с применением молекулярных сит (3 Å, активированных при 100 °С в условиях вакуума в течение по меньшей мере 24 ч). Дифрактограмма для варианта осуществления 11 b представлена на Фиг. 7Д.

[0172] Вариант осуществления 12 получали из варианта осуществления 1s, который подвергали воздействию влажных условий ниже 10% RH при 25 °С с получением варианта осуществления 12. Дифрактограмма для варианта осуществления 12 представлена на Фиг. 7Б.

[0173] Вариант осуществления 13 получали следующим образом: В четырехгорлую колбу объемом 250 мл при 25 ± 5 °С добавляли образец варианта осуществления 1s. В колбу впоследствии помещали метанол (4,0 об., 40 мл) и очищенную воду (10 мл, 1,0 об.) и перемешивали до полного растворения твердого вещества. Через смесь пропускали N₂ в течение 1 часа, впоследствии смесь охлаждали до 0–5 °С. Объем 0,225 мл охлажденного раствора (0–5 °С) NaBH₄/воды (0,006 экв., 2,5% мас./мас.) получали с добавлением очищенной воды (40 мл) в четырехгорлую колбу объемом 100 мл в атмосфере N₂ при 0 °С с последующим добавлением NaBH₄ (1,0 г); смесь перемешивали при 0 °С до полного растворения NaBH₄. Такой раствор NaBH₄

- добавляли в колбу на 250 мл, охлаждали (от 0 до 5 °С) и перемешивали при температуре от 0 до 5 °С. Цвет реакционной смеси изменился на желтый. Добавляли по каплям очищенную воду (40 мл, 4,0 об., дегазированную N₂ перед использованием) в течение 1 часа при температуре от 0 до 5 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов в атмосфере N₂ при температуре от 0 до 5 °С. Дополнительно добавляли по каплям очищенную воду (30 мл, 3,0 об., дегазированная) в течение 1 часа при температуре от 0 до 5 °С и перемешивали реакционную смесь в течение еще 16 часов в атмосфере N₂ при температуре от 0 до 5 °С. Впоследствии реакционную смесь фильтровали и полученные твердые вещества промывали очищенной водой (20 мл, 2 об., дегазированной N₂ перед использованием) в среде в перчаточном боксе в атмосфере N₂ (содержание O₂ составляло 200 м. д.). Твердые вещества сушили в условиях вакуума увлажненным азотом при 35 ± 5 °С с получением варианта осуществления 13 в виде твердого вещества почти белого цвета. Дифрактограмма для варианта осуществления 13 представлена на Фиг. 7В.
- [0174]** Вариант осуществления 14 получали следующим образом: 2-(1-((1г,4г)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид (48,15 кг, полученного в Пр. 2, Стадия В), этанол (технически чистый, 481 л) и КОН (6613 кг) перемешивали при 10–20 °С в течение 9 часов. Впоследствии реакцию гасили уксусной кислотой (6,74 л), поддерживая температуру 10–20 °С. Добавляли ацетонитрил (240 л) и растворители выпаривали при пониженном давлении до объема около 240 л. Это добавление и выпаривание ацетонитрила повторяли еще два раза. Полученную смесь нагревали до 60–70 °С в течение 5 часов, после чего ее охлаждали до 10–15 °С и перемешивали в течение 2 ч. Твердые вещества в этой смеси впоследствии фильтровали и дважды промывали ацетонитрилом (48 л). Твердые вещества впоследствии добавляли в воду (240 л) и нагревали реакционную смесь до 45–50 °С в течение 3–5 часов, а впоследствии охлаждали до 15–20 °С в течение 4 часов. Оставшиеся твердые вещества отфильтровывали и осадок на фильтре промывали водой (96 л, два раза). Этот осадок на фильтре высушивали при 45 °С с получением варианта осуществления 14 (26,28 кг). Дифрактограмма для варианта осуществления 14 представлена на Фиг. 7Г.
- [0175]** Дополнительные варианты осуществления соединения формулы I были получены, как описано ниже.

Оценка растворимости

[0176] Вариант осуществления 1s (15 мг) обрабатывали увеличивающимся объемом растворителя до полного растворения материала или до добавления максимум 100 мл растворителя. Растворитель добавляли следующими приращениями: 5 мл, 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 70 мл и 100 мл. После каждого добавления растворителя систему выдерживали при 50 °С в течение 5 мин при осторожном перемешивании и визуально оценивали на наличие твердого вещества. Этот процесс продолжали до добавления в общей сложности 100 мл растворителя. Если твердое вещество не оставалось, дополнительный растворитель не добавляли. После завершения оценки раствор выдерживали при 50 °С в течение 1 ч, а впоследствии охлаждали от 50 °С до 5 °С со скоростью 0,1 °С/мин при перемешивании. При наличии твердого вещества смесь фильтровали в условиях вакуума, используя 96-луночный планшет, и анализировали посредством XRPD. При получении прозрачного раствора раствор оставляли испаряться при комнатной температуре. В соответствии с данной процедурой использовали следующие растворители, общее добавленное количество которых указано в скобках сразу после того, как растворитель был использован при температурах 5 °С и 50 °С, причем степень растворения приведена в скобках после каждой температуры, что дало указанный вариант осуществления: Вода (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метанол (10 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этанол (30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-пропанол (30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1-пропанол (30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этилацетат (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетонитрил (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фиг. 3; толуол (100 мл) при температуре 5 °С (частично растворенный) и

температуре 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; изопропилацетат (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метил *трет*-бутиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-бутанон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ТГФ (70 мл) при 5 °С (частично растворенный) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ДМСО (5 мл) при 5 °С (раствор, образец замораживали и оставляли испаряться при комнатной температуре) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; *N*-метилпирролидинон (5 мл) при 5 °С (раствор, оставляли выпариваться при комнатной температуре) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; Диэтиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метилизобутилкетон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; DCM (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; гептан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; 1-4-диоксан (100 мл) при 5 °С (частично растворенный, образец замораживали и оставляли испаряться при комнатной температуре) и при 50 °С (суспензия) с получением в высушенной форме варианта осуществления 3с, дифрактограмма которой показана на Фиг. 5; нитрометан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 1-метокси-2-пропанол (20 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенном виде варианта осуществления 20, дифрактограмма которого показана на Фиг. 11; 2-метил-ТГФ (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8, а TGA и DSC показаны на Фиг. 10А и 10Б соответственно; тетралин (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фиг. 3; 3-метил-1-

бутанол (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8, а TGA и DSC показаны на Фиг. 12А и 12Б соответственно; анизол (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фиг. 3; *трет*-бутанол/вода (1 : 1, 10 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 19, модулированный DSC которого показан на Фиг. 9; 1,2-диметоксиэтан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фиг. 3; кумен (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фиг. 3; диизопропиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; морфолин (5 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 21, дифрактограмма которой показана на Фиг. 11; этанол : вода (95 : 5, 10 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); этанол : вода (9 : 1, 5 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; и ацетонитрил : вода (95 : 5, 30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана).

Инкубация при 5 °С

[0177] Проводили несколько экспериментов по инкубации при 5 °С посредством обработки варианта осуществления 1s (30 мг) каждым растворителем и смесь суспендировали при 5 °С в течение 48 ч. Отбирали аликвоту и немедленно анализировали с помощью XRPD. Каждую аликвоту высушивали в течение 16 ч и повторно анализировали методом XRPD. Высушенные на воздухе образцы впоследствии помещали в вакуумный сушильный шкаф (КТ) на 24 ч перед дополнительным анализом посредством XRPD. Следующие растворители, в которых общее добавленное количество растворителя указано в скобках сразу после того, как растворитель с последующей степенью растворения, использовали в соответствии с данной процедурой, с получением указанного варианта осуществления: Вода (30 мл,

суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метанол (5 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-пропанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1-пропанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этилацетат (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетонитрил (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); толуол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 15, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; изопропилацетат (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; метил *трет*-бутиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; 2-бутанон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ТГФ (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; диэтиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метилизобутилкетон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; DCM (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; гептан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1,4-диоксан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого из этого эксперимента показана на Фиг. 5; нитрометан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления слабокристаллической формы 1s, дифрактограмма которого не показана; пропиленгликоль (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 2-метилтетрагидрофуран (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; тетралин (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; 3-метил-1-бутанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма

которого показана на Фиг. 8; анизол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фиг. 5), за исключением того, что она отображает некоторые дополнительные пики; 1,2-диметоксиэтан (30 мл, суспензия), с получением
 5 варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фиг. 5), за исключением того, что она отображает некоторые дополнительные пики; кумен (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фиг. 5), за исключением того, что она отображает
 10 некоторые дополнительные пики; диизопропиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; этанол : вода (95 : 5, 30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетонитрил : вода (95 : 5, 30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления
 15 (дифрактограмма не показана); и полиэтиленгликоль (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления (дифрактограмма не показана).

Созревание при нагревании/охлаждении

[0178] Суспензию варианта осуществления 1s (30 мг) в каждом растворителе помещали в шейкер с платформой и подвергали серии циклов нагревание-охлаждения от
 20 комнатной температуры до приблизительно 50 °C на 24 ч. Это было достигнуто посредством включения и выключения нагрева каждые 4 часа. В течение всего периода встряхивания поддерживали. Из каждого образца отбирали аликвоту и оставляли сушиться на воздухе в течение 2 ч. Высушенные на воздухе твердые вещества анализировали посредством XRPD, впоследствии сушили в условиях вакуума в
 25 вакуумном сушильном шкафу (КТ, 24 ч) и повторно анализировали посредством XRPD. Каждый образец, полученный в этом эксперименте, высушивали в вакууме, и после сушки в вакууме каждый образец анализировали посредством инкубации в XRPD при повышенной температуре. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в скобках сразу после растворителя, были использованы в
 30 соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (20 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метанол (5 мл), с получением варианта осуществления 22, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; в этаноле (5 мл) с получением варианта осуществления 1s,

дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-пропанол (10 мл) с получением варианта осуществления 27, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 13; 1-пропанол (10 мл), с получением варианта осуществления 23, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; ацетон (20 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этилацетат (20 мл), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; ацетонитрил (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 24, дифрактограмма которого показана на Фиг.13; толуол (20 мл), с получением слабо кристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; изопропилацетат (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; метил *трет*-бутиловый эфир (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; 2-бутанон (20 мл), с получением варианта осуществления 26, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; ТГФ (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; диэтиловый эфир (20 мл), с получением слабо кристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; метилизобутилкетон (20 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; DCM (20 мл), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; гептан (20 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1,4-диоксан (20 мл), с получением варианта осуществления 27, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 13; нитрометан (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; пропиленгликоль (5 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 2-метилтетрагидрофуран (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; тетралин (20 мл) с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 3-метилбутанол (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; анизол (20 мл), с получением варианта осуществления 16, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13, а TGA и DSC показаны на Фиг. 23А и 23Б соответственно; 1,2-диметоксиэтан (20 мл), с получением варианта осуществления 29, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; кумен (20 мл), с получением варианта

осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; диизопропиловый эфир (20 мл), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; этанол : вода (95 : 5, 20 мл), с получением варианта осуществления 30, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; ацетонитрил : вода (95 : 5, 20 мл), с
 5 получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; и полиэтиленгликоль (5 мл), с получением варианта осуществления 31, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13.

Инкубация варианта осуществления 1s при 60 °C

[0179] Вариант осуществления 1s (30 мг) обрабатывали растворителем и встряхивали
 10 при 60 °C в течение 24 ч. Аликвоту отбирали и давали высохнуть на воздухе в течение 16 ч. Впоследствии высушенные образцы анализировали посредством XRPD. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в скобках сразу после растворителя, были использованы в соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (10 мл), с получением варианта
 15 осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг.5; этанол (10 мл), с получением варианта осуществления 32, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 2-пропанол (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 1-пропанол (10 мл), с получением варианта осуществления 23, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; ацетон (10 мл), с
 20 получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этилацетат (10 мл), с получением варианта осуществления 34, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; ацетонитрил (10 мл) с получением варианта осуществления 35, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; толуол (10 мл), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фиг.
 25 14; изопропилацетат (10 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 14; метил *трет*-бутиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 35, дифрактограмма которого показана на Фиг.14; 2-бутанон (10 мл), с получением варианта осуществления 38, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; ТГФ (10 мл), с получением варианта
 30 осуществления 33, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 14; диэтиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метилизобутилкетон (10 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого для этого

эксперимента показана на Фиг. 14; DCM (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; гептан (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1-4-диоксан (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; нитрометан (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; пропиленгликоль (10 мл), с получением варианта осуществления 28, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 14; 2-метилтетрагидрофуран (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; тетралин (10 мл), с получением смеси (дифрактограмма смеси не показана) варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5, и варианта осуществления 19, модулированный профиль DSC которого показан на Фиг. 9; 3-метил-1-бутанол (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; анизол (10 мл), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 1,2-диметоксиэтан (10 мл), с получением варианта осуществления 34, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; кумен (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; диизопропиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фиг. 8; этанол : вода (95 : 5, 10 мл), с получением варианта осуществления 28, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; и полиэтиленгликоль (5 мл), с получением варианта осуществления 39, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фиг. 14.

Высокотемпературное созревание

[0180] Каждый из множества образцов варианта осуществления 19 (25 мг) обрабатывали некоторым количеством растворителя, как указано ниже, с получением множества образцов, каждый из которых перемешивали при 60 °C в течение 24 ч. Твердые вещества из каждого образца выделяли, сушили на воздухе в течение 16 ч и анализировали посредством XRPD. Следующие растворители, в которых общее добавленное количество растворителя указано в скобках сразу после того, как растворитель с последующей степенью растворения, использовали в соответствии с данной процедурой, с получением указанного варианта осуществления: Вода (125 мкл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метанол (125 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления

1s, дифрактограмма которого подобна дифрактограмме для варианта осуществления 1s, показанного на Фиг. 5, за исключением того, что она демонстрирует некоторые дополнительные пики; этанол (125 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-пропанол (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; 1-пропанол (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 40, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; ацетон (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; этилацетат (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ацетонитрил (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; толуол (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; изопропилацетат (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; метил *трет*-бутиловый эфир (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 2-бутанон (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; ТГФ (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; диэтиловый эфир (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метилизобутилкетон (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; DCM (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; гептан (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 41, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; 1,4-диоксан (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; нитрометан (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 42, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; пропиленгликоль (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 43, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; 2-метилтетрагидрофуран (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; тетралин (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 3-метил-1-бутанол (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; анизол (150 μ л, суспензия), с

получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 1,2-диметоксиэтан (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; кумен (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 44, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; 5 диизопропиловый эфир (150 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; этанол : вода (95 : 5, 75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 45, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15; ацетонитрил : вода (95 : 5, 75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показала увеличение ячейки по сравнению с 10 дифрактограммой, показанной на Фиг. 5; и полиэтиленгликоль (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 46, дифрактограмма которого показана на Фиг. 15.

Термоциклирование

[0181] Каждый из множества образцов варианта осуществления 19 (25 мг) 15 обрабатывали некоторым количеством растворителя, как указано ниже, с получением множества образцов, причем каждый образец созревал посредством термоциклирования (от 40 °C до 60 °C, 4 ч циклы) в течение 24 ч. Твердые вещества выделяли, сушили на воздухе в течение 16 ч и анализировали с помощью XRPD. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в 20 скобках сразу после растворителя, за которым следует наблюдаемый внешний вид через 24 часа, были использованы в соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (125 μ л твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; метанол (75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 11, 25 дифрактограмма которого показала пики, которые были сдвинуты под большим углом по сравнению с дифрактограммой на Фиг. 7; этанол (100 μ л, твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; 2-пропанол (75 мкл, твердое вещество с желтым оттенком), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 1-пропанол 30 (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; ацетон (75, твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 47, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; этилацетат (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 33,

дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; ацетонитрил (75 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фиг. 3; толуол (75 $\mu\text{л}$, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; 5 изопропилацетат (75 $\mu\text{л}$, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фиг. 14; метил *трет*-бутиловый эфир (75 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фиг. 3; 2-бутанон (75 $\mu\text{л}$, твердое вещество почти белого цвета), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма 10 которого показана на Фиг. 14; ТГФ (75 $\mu\text{л}$, твердое вещество почти белого цвета), с получением варианта осуществления 48, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; диэтиловый эфир (150 $\mu\text{л}$, твердое вещество почти белого цвета), с получением варианта осуществления 49, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; метилизобутилкетон (150 $\mu\text{л}$, твердое вещество почти белого цвета), с получением 15 варианта осуществления 25, дифрактограмма которого очень похожа на дифрактограмму для варианта осуществления 25, которая показана на Фиг. 13; DCM (125 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; гептан (150 $\mu\text{л}$, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 19, модифицированный профиль DSC которого 20 показан на Фиг. 9; 1,4-диоксан (75 $\mu\text{л}$, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого показана на Фиг. 5; нитрометан (75 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 50, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; пропиленгликоль (75 $\mu\text{л}$, суспензия кремовая), с получением варианта осуществления 10, дифрактограмма которого очень похожа на 25 дифрактограмму для варианта осуществления 10 (как показано на Фиг. 16), за исключением того, что на ней показан аморфный галоген; 2-метилтетрагидрофуран (150 $\mu\text{л}$, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 48, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; тетралин (150 $\mu\text{л}$, твердое вещество белого цвета), с получением слабокристаллического варианта осуществления, 30 дифрактограмма которого не показана; 3-метил-1-бутанол (75 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого показана на Фиг. 13; анизол (150 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 51, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; 1,2-диметоксиэтан (75 $\mu\text{л}$, белая суспензия), с получением варианта осуществления 52, дифрактограмма которого

показана на Фиг. 16; кумен (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением слабокристаллического варианта осуществления, дифрактограмма которого не показана; диизопропиловый эфир (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фиг. 3; этанол : вода (95 : 5, 75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 11, дифрактограмма которого показана на Фиг. 7; ацетонитрил : вода (95 : 5, 75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 53, дифрактограмма которого показана на Фиг. 16; и пропиленгликоль (75 μ л, бледно-розовая суспензия), с получением варианта осуществления 31, дифрактограмма которого очень похожа на дифрактограмму для варианта осуществления 31 (как показано на Фиг. 13), за исключением того, что на ней показан аморфный галоген.

[0182] Любой из вариантов осуществления 11, 11b, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53 соединения формулы I и любая их комбинация представляет собой вариант осуществления соединений согласно данному изобретению. Другие варианты осуществления соединений согласно данному изобретению включают соединение формулы I в качестве негигроскопичного сольвата, такое как вариант осуществления 11 соединения формулы I. Другие варианты осуществления соединений в соответствии с данным изобретением включают соединение формулы I в аморфной форме, такое как вариант осуществления 19 соединения формулы I. Любой из вариантов осуществления 11, 16, 17 и 18 соединения формулы I и любой их комбинации представляет собой вариант осуществления соединений согласно данному изобретению. Дополнительные варианты осуществления данного изобретения включают соединения в соответствии с данным изобретением в форме фармацевтически приемлемых сокристаллов. Дополнительные варианты осуществления данного изобретения включают соединения в соответствии с данным изобретением в форме фармацевтически приемлемых солей.

[0183] Варианты осуществления данного изобретения включают соединение формулы I в по меньшей мере одной из форм 1s, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h, 2, 3b, 3c, 3d, 3e, 5, 6, 7, 8, 9 и 10. Варианты осуществления данного изобретения включают соединение формулы I в форме фармацевтически приемлемых сокристаллов.

[0184] Варианты осуществления данного изобретения включают соединение формулы I в по меньшей мере одной из форм 1s, 1a, 1b, 1c, 1d, 1e, 1f, 1g, 1h, 2, 3b, 3c, 3d, 3e, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33,

34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53. Варианты осуществления данного изобретения включают соединение формулы I в форме фармацевтически приемлемых сокристаллов.

[0185] XPRD соединения формулы I в форме 1s представлен на Фиг. 25. Перечень основных пиков включает те, которые находятся в значениях 2θ $6,13 \pm 0,2$, $9,88 \pm 0,2$, $10,26 \pm 0,2$, $13,39 \pm 0,2$, $14,52 \pm 0,2$, $16,64 \pm 0,2$, $18,24 \pm 0,2$, $19,98 \pm 0,2$, $20,58 \pm 0,2$ и $22,01 \pm 0,2$.

[0186] Соединение формулы I тестировали в ферментативных и клеточных анализах. Результаты ферментативного анализа и их описания представлены в таблице 4 под заголовком «Результаты ферментативных анализов ингибирования» и столбцах 51–54 патента США № 10,294,226, выданного 21 мая 2019 г., который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки. Это соединение было также протестировано в трех клеточных анализах: IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3), IFN α pSTAT-4 (JAK1/TYK2) и GM-CSF pSTAT5 (JAK2/JAK2) с результатами и описанием анализа, представленными в таблице 5 под названием «Данные клеточного анализа» и столбцах 53–55 патента США 10,294,226, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

[0187] Соединение формулы I было протестировано в анализах растворимости и проницаемости. Результаты анализа растворимости представлены в таблице 6 под заголовком «Данные анализа растворимости», а результаты анализа проницаемости представлены в таблице 7 под заголовком «Данные о проницаемости MDCK-MDR1» и в столбцах 55–58 патента США 10,294,226, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

[0188] Соединение формулы I было протестировано в соответствии с протоколами, описанными в столбцах 21–22 и 58–59 и таблице 1a в патенте США 10,294,226, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

[0189] Соединение формулы I дополнительно охарактеризовали физико-химическими свойствами, как описано и приведено в таблице 8, столбце 59 в патенте США 10,294,226, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

[0190] Соединение формулы I дополнительно охарактеризовали описанием вариантов осуществления 11, 11b, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53, как описано и

представлено на Фиг. 7А, 7Б, 7В, 7Г, 7Д и 8–23 и в абзацах [0328]–[0348] в патентной заявке США US2020/0165250, опубликованной 28 мая 2020 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

5 [0191] Количества в мг в примерах ниже относятся к количествам активного агента в форме соединения формулы I. Соответствующую коррекцию следует вносить, если вводят активный агент в другой форме, такой как фармацевтически приемлемая соль.

Пример 2. Исследования в условиях *in vivo*

10 [0192] Соединение формулы I продемонстрировало значительное воздействие толстой кишки и целевое взаимодействие с тканью у мышей с низким системным воздействием после перорального введения в анализе IL-12/IL-18-индуцированного фосфорилирования STAT3 в ткани толстой кишки и в исследовании *ex vivo* цитокин-стимулированного эксплантата толстой кишки. Пероральное введение соединения формулы I у мышей приводило к минимальному системному воздействию и отсутствию стабильных дозозависимых фармакодинамических ответов в крови, как
15 определено *ex vivo* посредством стимуляции цельной крови интерфероном-альфа (IFN α) либо IL-21.

[0193] Соединение формулы I имеет низкие уровни системного воздействия после перорального введения. Чтобы понять взаимосвязь между системным воздействием и целевым взаимодействием в исследованиях с участием человека, измеряли
20 ингибирование цитокин-индуцированного pSTAT-3 в цельной крови человека с помощью такого соединения. В цельной крови человека соединение формулы I в зависимости от концентрации ингибировало гомо- и гетеродимеры JAK1, JAK2, JAK3, and Tyk2 после IFN α (JAK1/Tyk2), тромбопоэтина (TPO) (JAK2/JAK2) и сигнализацию IL-21 (JAK1/JAK3). Средние значения IC₅₀ для IFN α -, TPO- и IL-21-опосредованного
25 фосфорилирования STAT3 с соединением формулы I составляли 105,3 нМ, 490,4 нМ и 579,2 нМ соответственно, как показано в таблице 3, где результаты представлены для соединения формулы I.

Таблица 3. IC₅₀ соединения формулы I для цитокин-индуцированного pSTAT в цельной крови человека и мышей

Соединение формулы I	IC ₅₀ /нМ	ДИ 95% ^(a)	n ^(c)
IFN α человека ^(b) (pSTAT-3)	105,3	84,0–131,9	4
TPO человека ^(e) (pSTAT-3)	490,4	282,1–852,7	2
IL-21 человека (pSTAT-3)	579,2	536,2–625,7	2
IFN α мыши ^(b) (pSTAT-3)	298,6	121,7–733,1	2
IL-21 мыши (pSTAT-3)	415,1	308,1–559,4	3
IL-12 мыши (pSTAT-4)	Н/о ^(d)		

^(a) ДИ — доверительный интервал; ^(b) IFN α — интерферон-альфа; ^(c) n — количество исследований; ^(d) Н/о — не определено, не сходится; ^(e) TPO — тромбопоэтин.

5 **[0194]** Значения IC₅₀ цельной крови мыши также были получены для построения понимания взаимосвязи между системным воздействием и целевым взаимодействием в мышечных моделях. В цельной крови мышей измеряли *in vitro* активность соединения формулы I в ингибировании ответов pSTAT, индуцированных IFN α - (JAK1/Tyk2), IL-21- (JAK1/3) и IL-12- (JAK2/Tyk2), в цельной крови мыши. Результаты, представленные в таблице 3, продемонстрировали, что соединение формулы I ингибировало ответы IFN α и IL 21 со значениями IC₅₀ 298,6 нМ и 415,1 нМ соответственно. Нет надежной IC₅₀, которую можно было бы зарегистрировать для ингибирования IL-12-индуцированного pSTAT-4 в цельной крови мышей.

15 **[0195]** Чтобы понять потенциал местных, селективных для кишечника ингибиторов JAK для ингибирования передачи сигналов STAT в ткани толстой кишки, были разработаны два исследования фармакокинетики/фармакодинамики (ФК/ФД). Первое включало комбинированное внутрибрюшинное введение IL-12 и IL-18 у мышей, что индуцировало системный воспалительный ответ, приводящий к активации пути JAK/STAT в ткани толстой кишки, который можно контролировать посредством надежного фосфорилирования STAT3 через три часа после провокационного введения. Вторая модель ФК/ФД включает стимуляцию *ex vivo* ткани толстой кишки мышей

коктейлем цитокинов (IL-22, IL-6 и IFN α), измеряя ингибирование фосфорилирования STAT3 после перорального введения соединения формулы I.

[0196] Объединенное внутрибрюшинное введение IL-12 и IL-18 индуцирует

воспаление толстой кишки у мышей (Chikano S, et al. Gut 47(6),779–786 (2000) «IL-18 and IL-12 induce intestinal inflammation and fatty liver in mice in an IFN-gamma dependent manner»; Nold-Pery C, et al. Front Immunol. 8, 1531(2017) «Gp96 Antagonist Protects in Murine-Intestinal-Inflammation»). Воспалительный ответ в ткани толстой кишки можно контролировать посредством надежного фосфорилирования STAT3 через три часа после провокационного введения IL 12/IL-18. В этом исследовании не в соответствии с требованиями GLP оценивали влияние перорально вводимого соединения формулы I на ответы STAT3 в мышечной ткани толстой кишки, вызванные системным введением как IL-12, так и IL-18.

[0197] Мышей C57BL/6 (возраст от 6 до 8 недель) рандомизировали по массе и распределяли в различные экспериментальные группы для каждого из двух

исследований. Мышей внутрибрюшинно выполняли провокационное введение комбинации IL-12 (250 нг) и IL-18 (1 мкг). Для изучения влияния соединения формулы I на IL-12/IL-18-индуцированный ответ pSTAT-3, группам мышей перорально вводили соединение формулы I за 1 час до провокационного введения IL-12/IL-18. Через три часа после провокационного введения IL-12/IL-18 мышей умерщвляли путем асфиксии CO₂, собирали кровь посредством пункции сердца для анализа ФК и собирали ткани толстой кишки для измерения ответа pSTAT-3 и концентраций лекарственного средства. В качестве контроля — несущей среды использовали мышей, перорально получавших 20%-й 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин (HP- β -CD). Два независимых исследования (S-1 и S-2) проводили для изучения влияния соединения формулы I на IL-12/IL-18-индуцированный ответ pSTAT-3 в толстой кишке у мышей. В обоих исследованиях наблюдалось значительное увеличение pSTAT-3 в толстой кишке после провокационного введения IL-12/IL-18. В обоих экспериментах соединение формулы I демонстрировало явную тенденцию к дозозависимому ингибированию ответа pSTAT-3: ингибирование 3,9% и 33,1% при 10 мг/кг; 25,8% и 61,2% при 25 мг/кг; и 49,7% и 66,1% при 50 мг/кг (таблица 4). Статистические анализы показали отсутствие значимости ингибирования в S-1, но значимое ингибирование было достигнуто при дозах 25 мг/кг и 50 мг/кг в S-2. Концентрации в сыворотке измеряли через 30 минут и 4 часа (терминальная точка) после введения дозы. Как показано ниже в таблицах 5 и 6,

соединение формулы I проявляло низкое системное воздействие при всех протестированных дозах через 30 минут (нМ, среднее значение $\pm$ станд. ош. среднего; $7,4 \pm 1,4$ и $7,0 \pm 0,7$ при 10 мг/кг; $21,8 \pm 5,5$ мг/кг и $70,5 \pm 60,4$ при 25 мг/кг; $121,7 \pm 87,2$ мг/кг и $38,8 \pm 7,4$ при дозе 50 мг/кг). Наблюдаемая экспозиция соединения формулы I в сыворотке была значительно ниже, чем IC50 цельной крови мышей для IL-21-индуцированного pSTAT-3 и IFN γ -индуцированных pSTAT-3 и pSTAT-4, как показано в таблице 3. Концентрации лекарственного средства в толстой кишке измеряли через 4 часа после введения дозы. По сравнению с сывороткой высокие концентрации лекарственного средства наблюдались в образцах толстой кишки мышей, получивших соединение формулы I (таблицы 5 и 6). Экспозиция соединения формулы I в толстой кишке повышалась дозозависимым образом. При дозе 25 мг/кг экспозиция соединения формулы I в толстой кишке составляла $30\,814,5 \pm 5552,5$ нг/г и $18\,256,5 \pm 4118,8$ нг/г ткани. В совокупности данные об экспозиции сыворотки и толстой кишки позволяют предположить, что фармакологический ответ соединения формулы I, по-видимому, был индуцирован преимущественно воздействием лекарственного средства на ткани. Соединение формулы I демонстрирует in vivo взаимодействие с мишенью посредством ингибирования IL-12/IL-18-индуцированного pSTAT-3 в толстой кишке с высоким воздействием толстой кишки и низким системным воздействием. Как было показано в других исследованиях, пероральное введение соединения формулы I у мышей приводило к минимальной системного воздействия и отсутствию постоянных дозозависимых фармакодинамических ответов в крови.

Таблица 4. Ингибирование pSTAT-3 в толстой кишке соединением формулы I

Обработка	Исследование S-1		Исследование S-2	
	Процент ингибирования	ДИ 95%	Процент ингибирования	ДИ 95%
Соединение формулы I (10 мг/кг)	3,9	от -19,9 до 22,1	33,1	от 20,5 до 43,8
Соединение формулы I (25 мг/кг)	25,8	от -29,4 до 57,5	61,2	от 47,5 до 71,3
Формула I (50 мг/кг)	49,7	от 38,6 до 58,8	66,1	от 49,9 до 74,2

Процент ингибирования pSTAT-3 в толстой кишке с использованием логарифмически преобразованных данных после удаления выбросов.

Таблица 5. IL-12/IL-18 S-1 — концентрации соединения формулы I в сыворотке и толстой кишке

Обработка	Сыворотка (нМ)		Толстая кишка (нг/г)
	30 мин после введения дозы	4 часа после введения дозы	4 часа после введения дозы
Соединение формулы I (10 мг/кг)	$7,4 \pm 1,4$	НПКО	$6596,5 \pm 787,2$
Соединение формулы I (25 мг/кг)	$21,8 \pm 5,5$	$25,0 \pm 20,3$	$30\,814,5 \pm 5552,5$
Соединение формулы I (50 мг/кг)	$121,7 \pm 87,2$	$19,7 \pm 8,0$	$59\,608,5 \pm 11\,250,7$

Данные представлены в виде средних значений $\pm$ станд. ош. среднего; N = 3–7/группа.

5 НПКО — ниже предела количественного определения; мин — минуты; ч — час (-ы).

Таблица 6. IL-12/IL-18 S-2 — концентрации соединения формулы I в сыворотке и толстой кишке

Обработка	Сыворотка (нМ)		Толстая кишка (нг/г)
	30 мин после введения дозы	4 часа после введения дозы	4 часа после введения дозы
Соединение формулы I (10 мг/кг)	$7,0 \pm 0,7$	НПКО	$10\,131,5 \pm 1304,2$
Соединение формулы I (25 мг/кг)	$70,5 \pm 60,4$	$45,1 \pm 24,0$	$18\,256,5 \pm 4118,8$
Соединение формулы I (50 мг/кг)	$38,8 \pm 7,4$	$130,7 \pm 107,7$	$35\,578,8 \pm 5563,6$

Данные представлены в виде средних значений $\pm$ станд. ош. среднего; N = 3–7/группа.

10 НПКО — ниже предела количественного определения; мин — минуты; ч — час (-ы).

[0198] В дополнение к модели IL-12/IL-18, описанной выше, местная эффективность соединения формулы I была дополнительно установлена в мышинной модели эксплантата толстой кишки с цитокиновой смесью (IL-22/IL-6/IFN α). Комбинация IL-22, IL-6 и IFN α индуцировала быстрый и устойчивый ответ pSTAT-3 в эксплантатах толстой кишки мыши ex vivo через 1 час после провокационного введения. Данное исследование направлено на изучение дозозависимого ответа и продолжительности

15

действия соединения формулы I на IL 22/IL 6/IFN α -индуцированный ответ pSTAT-3 в модели эксплантата толстой кишки мыши *ex vivo*.

[0199] Мышей C57BL/6 (возраст от 6 до 8 недель) рандомизировали по массе и распределяли в различные экспериментальные группы для каждого исследования.

- 5 Мышам перорально вводили указанные дозы соединения формулы I. По окончании исследования кровь собирали с помощью пункции сердца, а сыворотку и промытый проксимальный отдел толстой кишки получали для анализа ФК.

- [0200]** Эксплантаты дистального отдела толстой кишки (приблизительно 3 мм²) не обрабатывали, либо обрабатывали цитокинами (IL 6, IL-22, IFN α в дозе 100 нг/мл
10 каждый). После стимуляции в течение 1 часа ткань быстро замораживали для гомогенизации и анализировали на pSTAT-3. В 2 независимых экспериментах, SS-1 и SS-2, соединение формулы I дозозависимо ингибировало pSTAT-3 в толстой кишке. В SS-1 соединение формулы I ингибировало базальный ответ pSTAT-3 на 54,3, 74,4, 78,6 и 89,5% при 0,5, 2,5, 5 и 25 мг/кг соответственно. IL 22/IL-6/IFN α -стимулированный
15 ответ pSTAT-3 аналогичным образом был ингибирован соединением формулы I на 42,7, 74,9, 83,8 и 93,8% при дозах 0,5, 2,5, 5 и 25 мг/кг соответственно. В SS-2 базальный pSTAT-3 был ингибирован на 36,7, 66,2, 71,3 и 83,8% при дозах 0,5, 2,5, 5 и 25 мг/кг соединения формулы I соответственно. IL-22/IL-6/IFN α -стимулированный
20 pSTAT-3 был ингибирован соединением формулы I на 5,5, 62,0, 68,1 и 89,8% при 0,5, 2,5, 5 и 25 мг/кг соответственно. Таким образом, соединение формулы I продемонстрировало надежное целевое взаимодействие в ткани толстой кишки *ex vivo* посредством ингибирования IL 22/IL 6/IFN α -индуцированного ответа pSTAT-3.

- [0201]** Как показано в таблицах 7 и 8, эффекты соединения формулы I сопровождалось низкой системной экспозицией (сыворотка) ($\leq 10,3 \pm 6,9$ нМ) и высокой экспозицией
25 соединения формулы I в толстой кишке ($27\,488,1 \pm 6128,6$ нг/г и $22\,929,6 \pm 4146,6$ нг/г в SS-1 и SS-2 при 25 мг/кг соответственно). Высокое воздействие в толстой кишке и низкое системное воздействие, наблюдаемые для соединения формулы I, подразумевают, что концентрации лекарственного средства в толстой кишке играют роль ключевого фактора в наблюдаемой фармакологии. Соединение формулы I
30 продемонстрировало взаимодействие с мишенью — тканью толстой кишки — через 4 часа после перорального введения.

Таблица 7. Исследование SS-1 — концентрация соединения формулы I в сыворотке и толстой кишке (через 4 часа после перорального введения)

Экспериментальные группы	Сыворотка (нМ)	Толстая кишка (нг/г)
Соединение формулы I (0,25 мг/кг)	НПКО	446,2 ± 51,5
Соединение формулы I (2,5 мг/кг)	НПКО	2842,3 ± 715,9
Соединение формулы I (5 мг/кг)	НПКО	4628,5 ± 705,1
Соединение формулы I (25 мг/кг)	4,9 ± 2,1	27 488,1 ± 6128,6

Данные представлены в виде средних значений ± станд. ош. среднего; N = 5/группа.

5 НПКО — ниже предела количественного определения.

Таблица 8. Исследование SS-2 — концентрация соединения формулы I в сыворотке и толстой кишке (через 4 часа после перорального введения)

Экспериментальные группы	Сыворотка (нМ)	Толстая кишка (нг/г)
Соединение формулы I (0,25 мг/кг)	НПКО	261,5 ± 30,5
Соединение формулы I (2,5 мг/кг)	НПКО	1323,6 ± 270,2
Соединение формулы I (5 мг/кг)	10,3 ± 6,9	4672,4 ± 952,6
Соединение формулы I (25 мг/кг)	6,3 ± 2,9	22 929,6 ± 4146,6

Данные представлены в виде средних значений ± станд. ош. среднего; N = 5/группа.

10 НПКО — ниже предела количественного определения.

[0202] Ограниченные исследования по распределению в тканях (печень, кишечник) проводили с самками мышей C57B1/6 (N = 3/временная точка) через 0,5, 1, 2, 3, 5, 7 и 24 часа после перорального введения соединения формулы I в дозе 10 мг/кг, составленной в виде раствора в 20%-м HP-β-CD. Плазму и следующие ткани собирали для анализа концентрации соединения: печень, цельная подвздошная кишка и цельная толстая кишка. Перед гомогенизацией подвздошную кишку и толстую кишку промывали солевым раствором. Фекалии собирали в течение 24 часов. Все ткани (за исключением плазмы) гомогенизировали в стерильной воде и определяли концентрации соединения формулы I с использованием ЖХ-МС/МС. Результаты этого исследования показали, что самые высокие концентрации в тканях наблюдались в подвздошной кишке □ толстой кишке □ печени □ плазме (см. таблицу 9). Концентрация соединения формулы I в фекалиях составляла 125,6 мкг через 24 часа после введения дозы.

Таблица 9. Концентрации соединения формулы I (среднее значение $\pm$ CO) в плазме (нг/мл) и тканях (нг/г) мышей после перорального введения соединения формулы I при концентрации 10 мг/кг

Время (ч)	Плазма ^a	Печень ^a	Подвздошная кишка ^a	Толстая кишка ^a
0,5	3,5 $\pm$ 1,8	34,8 $\pm$ 16,5	73,8 $\pm$ 11,6	94,2 ^c
1	2,6 $\pm$ 0,9	189,2 $\pm$ 303,8	22 716 $\pm$ 18 206	5107 $\pm$ 2300
2	2,3 $\pm$ 0,2	84,5 $\pm$ 113,9	11 984 $\pm$ 12 650	6621 $\pm$ 2473
3	3,2 $\pm$ 1,7	23,3 $\pm$ 0,8	16 372 $\pm$ 21 999	7763 $\pm$ 5445
5	2,1 $\pm$ 0,9	16,8 $\pm$ 8,8	3440 $\pm$ 2377	8452 $\pm$ 6755
7	6,0 $\pm$ 4,9	24 ^c	2254 $\pm$ 1552	3787 $\pm$ 2560
24	НПКО ^b	НПКО ^b	87,6 $\pm$ 17,8	195,0 $\pm$ 119,5

5 ^a Значения представляют собой среднее $\pm$ CO (N = 3 животных).

^b НПКО (1 нг/мл)

^c N = 2 (CO не рассчитано)

НПКО — ниже предела количественного определения; N — количество животных;

П/в — пероральное введение; CO — стандартное отклонение.

10

[0203] Предварительные исследования распределения в тканях проводили у самцов крыс Спрег-Дули (N = 3/временная точка) через 0,5, 1, 2, 3, 5, 7 и 24 часа после перорального введения соединения формулы I в дозе 25 мг/кг. Следующие ткани собирали для анализа концентрации соединения: печень, почки, мозг, мышцы, жировая

15 ткань придатка семенника, двенадцатиперстная кишка, тощая кишка, подвздошная кишка, толстая кишка (как содержание просвета, так и ткань) и плазма. Концентрации соединения в различных тканях показаны в таблицах 10 и 11. Результаты этого исследования показали низкое системное воздействие и высокие местные концентрации (кишечный тракт).

20 Таблица 10. Средние ($\pm$ CO) концентрации соединения формулы I в плазме (нг/мл) и тканях (нг/г) после п/о введения крысам при 25 мг/кг (N = 3)

Время (ч)	Плазма	Головной мозг	Печень	Почка	Жиры	Мышца
0,5	6,3 $\pm$ 1,1	3,5 $\pm$ 3,1	158,3 $\pm$ 104,5	57,9 $\pm$ 26,2	Н/р ^(b)	16,7 $\pm$ 15,0
1	5,8 $\pm$ Н/п	НПКО ^(a)	70,4 $\pm$ Н/п ^(c)	42,2 $\pm$ Н/п	НПКО ^(a)	Н/р ^(b)
2	3,7 $\pm$ 0,9	НПКО ^(a)	49,9 $\pm$ 17,5	24,3 $\pm$ 6,6	НПКО ^(a)	НПКО ^(a)
3	3,1 $\pm$ 1,1	НПКО ^(a)	29,6 $\pm$ 14,5	30,0 $\pm$ 9,4	Н/р ^(b)	НПКО ^(a)

5	1,5 ± 0,7	НПКО ^(а)	18,7 ± 3,0	12,9 ± 3,6	НПКО ^(а)	НПКО ^(а)
7	2,1 ± 0,5	НПКО ^(а)	20,7 ± 3,0	19,9 ± 7,8	Н/р ^(б)	Н/р ^(б)
24	НПКО ^(а)	НПКО ^(а)	Н/р ^(б)	НПКО ^(а)	НПКО ^(а)	НПКО ^(а)

^(а) НПКО — ниже предела количественного определения (0,5 нг/мл гомогената ткани).

^(б) Н/р = среднее значение, не рассчитанное, если 2 из 3 образцов были НПКО.

Концентрация < НПКО задана равной 0 для расчета среднего значения.

5 ^(с) Н/п — неприменимо/недоступно

Таблица 11. Средние (± СО) концентрации соединения формулы I в тканях кишечника (нг/г) и содержимом просвета (нг/мл) после п/о введения крысам при 25 мг/кг (N = 3)

Время (ч)	Ткань двенадцатиперст.	Содержимое двенадцатиперст.	Ткань тощей кишки	Содержимое тощей кишки	Ткань подвздошной кишки	Содержимое подвздошной кишки	Ткань толстой кишки	Содержимое толстой кишки
0,5	35 218 (20 130)	329 131 (244 942)	47 151 (29 570)	533 362 (110 888)	1344 (1402)	644 (490)	946 (778)	167 (114)
1	16 677 (3118)	45 490 (38 125)	23 515 (11 992)	248 713 (250 506)	252 (327)	496 (580)	383 (433)	135 (135)
2	3166 (771)	20 152 (14 982)	8228 (1335)	90 654 (35 194)	8946 (15 106)	725 330 (850 701)	2186 (3233)	19 142 (32 168)
3	3841 (2070)	15 830 (13 969)	3976 (699)	47 965 (18 323)	50 844 (48 225)	1 402 241 (586 593)	12 419 (4622)	303 661 (163 980)
5	1100 (573)	4470 (2760)	1814 (1725)	26 264 (25 181)	17 958 (17 841)	596 702 (72 699)	33 538 (7182)	830 129 (57 295)
7	366 (184)	2626 (2537)	788 (466)	10 264 (5915)	6487 (5732)	133 499 (117 744)	36 748 (28 645)	833 597 (156 490)
24	17 (16)	60 (52)	27 (28)	228 (236)	NC ^a	893 (962)	353 (54)	7593 (2012)

10 ^(а) Н/р = среднее значение, не рассчитанное, если 2 из 3 образцов были НПКО (0,5 нг/мл гомогената ткани).

НПКО — ниже предела количественного определения; Двенадцатиперст. — двенадцатиперстная кишка; N — количество животных; Н/р — не рассчитанный; П/в — пероральное введение; СО — стандартное отклонение.

15 **Пример 3. Исследование фазы 1b для оценки эффективности и безопасности соединения формулы I, ингибитора Янус-киназы (JAK), у участников с семейным аденоматозным полипозом**

[0204] Соединение формулы I представляет собой пероральный, низкомолекулярный, сильнодействующий ингибитор пан-Янус-киназы (JAK) с благоприятными

20 селективными к кишечной среде свойствами, основанными на проницаемости и растворимости. Ингибирование этой группы цитоплазматических тирозинкиназ препятствует фосфорилированию сигнального преобразователя и активации белков транскрипции (STAT). Фосфорилированные STAT (pSTAT) транслоцируются в ядро и

индуцируют транскрипцию генов нескольких хемокинов, цитокинов и протеаз, участвующих в патогенезе ревматоидного артрита, воспалительного заболевания кишечника, семейного аденоматозного полипоза (FAP) и других воспалительных заболеваний.

5 ЦЕЛИ И КОНЕЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ

[0205] Первичная цель данного исследования заключается в определении влияния соединения формулы I на нагрузку колоректальными полипами (сумма полипозной нагрузки) у участников с FAP. Ключевые вторичные цели заключаются в оценке безопасности, других показателей эффективности, местной и системной фармакокинетики (ФК) и фармакодинамики (ФД) при полипах.

ОБЩИЙ ДИЗАЙН

[0206] Это многоцентровое исследование фазы 1b для оценки эффективности и безопасности соединения формулы I у взрослых участников с FAP. Исследование предназначено для определения, имеет ли соединение формулы I клиническую активность в толстой и прямой кишках и двенадцатиперстной кишке, что оценивается по снижению количества полипов и снижения сигнала JAK в полипах в течение 24 недель. Участники могут быть до либо после колэктомии, однако все участники должны иметь полипы толстой или прямой кишки. Все участники должны иметь генетический диагноз классического FAP, т. е. мутацию зародышевой линии аденоматозного полипоза толстой кишки (APC) или облигатного носителя, с заболеванием толстой и прямой кишки. Участники с ослабленным FAP не соответствуют критериям.

КОЛИЧЕСТВО УЧАСТНИКОВ

[0207] В этом исследовании будет набрано приблизительно 40 участников (приблизительно по 20 участников после колэктомии и до колэктомии).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ГРУППЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ

[0208] Все участники будут получать соединение формулы I в дозе 75 мг два раза в день. Общая продолжительность участия каждого участника в исследовании составляет примерно 32 недели и состоит из скрининга (30 дней), лечения (24 недели) и визита последующего наблюдения (приблизительно 30 дней после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства).
соединение формулы I будет произведено и обеспечено под ответственность спонсора в форме таблеток 75 мг.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ

[0209] Все участники будут подвергаться оценке эффективности на 24-й неделе.

Оценки будут включать более низкую нагрузку полипами на ЖКТ, нагрузку полипами двенадцатиперстной кишки и ответ на заболевание, и будут проводиться

5 исследователем.

ОЦЕНКА ФАРМАКОКИНЕТИКИ

[0210] Для измерения концентраций соединения формулы I в плазме крови и тканях в моменты времени, указанные в графике мероприятий, будут собраны образцы венозной крови и образцы тканей из нижнего отдела ЖКТ (слизистая оболочка кишечника и

10 полипэктомия).

ОЦЕНКИ ФАРМАКОДИНАМИКИ И УРОВНЯ БИОМАРКЕРОВ

[0211] Биомаркеры будут использовать для оценки влияния соединения формулы I на молекулярные и клеточные эффекторы пути JAK/STAT в крови, биоптатах тканей и образцах стула, собранных у пациентов с FAP. Впоследствии будут оценивать

15 взаимосвязь между режимом дозирования, ФК, изменениями биомаркера и эффективностью и проводить оптимизацию дозы при оценке дополнительных доз.

ОЦЕНКИ БЕЗОПАСНОСТИ

[0212] Оценки будут включать оценку нежелательных явлений (НЯ), серьезных нежелательных явлений (СНЯ), явлений, связанных с инфекциями, включая туберкулез

20 (ТВ), клинических лабораторных анализов крови (общий анализ крови и биохимический анализ сыворотки), показателей жизненно важных функций, эндоскопии и сопутствующих лекарственных средств. В дополнение к местным испытаниям будут проведены центральные тесты на холестерин.

СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

[0213] В данном исследовании не будет проводиться формальная проверка статистической гипотезы. Подробные данные о статистических методах будут

25 представлены в плане статистического анализа.

Размер выборки приблизительно 20 для когорты участников после колэктомии рассчитывали, исходя из предположения, что полипозная нагрузка снизится в среднем

30 по меньшей мере на 25% к 24-й неделе по сравнению с исходным уровнем.

Предполагалась частота выбывания 20%. Для процентного изменения полипозной нагрузки на 24-й неделе по сравнению с исходным уровнем принимали стандартное отклонение в 30 процентных пунктов. При этих допущениях доверительный интервал

- 95% для процентного изменения полипозной нагрузки на 24-й неделе по сравнению с исходным уровнем имеет приблизительно 90%-ю или более высокую вероятность того, что верхний предел составляет менее 0% и, таким образом, обеспечивает доказательства того, что лечение соединением формулы I в среднем уменьшает полипозную нагрузку. Аналогичным образом определяли размер выборки приблизительно 20 для когорты пациентов перед колэктомией.

ЦЕЛИ И КОНЕЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ Цели	Конечные показатели
Первичная	
Определить влияние соединения формулы I у участников с FAP на колоректальную полипозную нагрузку (сумма диаметров полипов)	Процентное изменение колоректальной полипозной нагрузки для всех полипов и для полипов ≥ 2 мм на 24-й неделе по сравнению с исходным уровнем
Вторичные	
Определить влияния лечения соединением формулы I у участников с FAP	- Процентное изменение количества полипов толстой кишки, прямой кишки, послеоперационного илеоанального резервуара и двенадцатиперстной кишки - Процентное изменение полипозной нагрузки толстой кишки, прямой кишки, послеоперационного илеоанального резервуара и двенадцатиперстной кишки для всех полипов, полимеров ≥ 2 мм и полипов ≥ 5 мм - Изменение стадии полипоза по классификации Международного общества наследственных опухолей желудочно-кишечного тракта (InSiGHT) - Изменение показателя по шкале Шпигельмана
Оценить безопасность соединения формулы I у участников с FAP	Частота и тяжесть всех нежелательных явлений
Оценка системной и местной фармакокинетики (ФК) соединения формулы I у участников с FAP	Концентрация соединения формулы I в плазме и ткани с течением времени
Оценка активности биомаркеров соединения формулы I и ответа в образцах полипов и ткани.	Уровни сигнальных эффекторных белков JAK/STAT, включая pSTAT-3, по сравнению с исходным уровнем, в колоректальных полипах

Аспекты

[0214] Аспект 1. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват, полиморф для применения в лечении или профилактике семейного

аденоматозного полипоза субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

[0215] Аспект 2. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике рака желудочно-кишечной системы субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

[0216] Аспект 3. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике колоректального рака субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

[0217] Аспект 4. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике семейного аденоматозного полипоза или колоректального рака субъекта, который находится в группе высокого риска, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

[0218] Аспект 5. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике семейного аденоматозного полипоза или колоректального рака субъекта, включающего: (а) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.

[0219] Аспект 6. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в диагностировании, имеет ли субъект высокий риск развития колоректального рака или семейного аденоматозного полипоза, включающего: (а) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.

[0220] Аспект 7. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике расстройства или

состояния, которое зависит от ингибирования JAK субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

5 [0221] Аспект 8. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике рецидива CRC у субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

10 [0222] Аспект 9. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике рецидива FAP у субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

15 [0223] Аспект 10. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в лечении или профилактике SISC у субъекта, у которого было диагностировано воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

[0224] Аспект 11. Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, сольват и полиморф для применения в профилактике предракового патологического состояния, которое становится злокачественным состоянием у субъекта, включающего введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

20 [0225] Аспект 12. Применение или способ по любому из аспектов 1–11, в которых терапевтически эффективное количество соединения формулы I составляет от около 10 мг до около 1000 мг,

25 [0226] Аспект 13. Применение или способ по любому из аспектов 1–12, в которых терапевтически эффективное количество соединения формулы I составляет от около 1 мг до около 100 мг,

[0227] Аспект 14. Применение по любому из аспектов 1–13, в котором соединение формулы I вводят один раз в день.

[0228] Аспект 15. Применение по любому из аспектов 1–14, в котором соединение формулы I вводят два раза в день.

30 [0229] Аспект 16. Применение по любому из аспектов 1–15, в котором субъект ранее получал терапию или в настоящее время получает терапию.

[0230] Аспект 17. Применение по любому из аспектов 1–16, в котором терапия может представлять собой хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию. НПВП, ингибиторы Cox-2, ингибиторы EGFR, ингибиторы VEGF и ингибиторы контрольных точек.

5 **[0231]** Аспект 18. Применение по любому из аспектов 1–17, в котором при лечении FAP включается снижение полипозной нагрузки у субъекта.

[0232] Аспект 19. Применение по любому из аспектов 1–18, в котором снижение полипозной нагрузки включает уменьшение количества полипов и уменьшение размера полипов.

10 **[0233]** Аспект 20. Применение по любому из аспектов 1–19, в котором субъекты в группе высокого риска включают субъектов, имеющих синдром раздраженного кишечника, присутствие микробиома кишечника, семейный анамнез колоректального рака, анамнез колоректального рака, обнаружение полипа или предракового поражения во время колоноскопии или другие генетические факторы, такие как мутации в генах
15 KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и APC.

[0234] Аспект 21. Применение по любому из аспектов 1–20, дополнительно включающее введение второго активного агента в комбинации с соединением формулы I, причем второй активный агент выбран из НПВП, ингибиторов Cox-2, цетуксимаба, панитумумаба, бевацизумаба, зив-афлиберцепта, регорафениба, рамуцирумаба, ипилимумаба, ниволумаба и пембролизумаба.
20

[0235] Аспект 22. Способ прогнозирования ответа на соединение формулы I у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

- 25 (а) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;
- (b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и
- (с) сравнение уровня pSTAT-3 в (а)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) прогнозирует ответ на соединение формулы I у субъекта.

30 **[0236]** Аспект 23. Способ контроля эффективности текущей терапии ингибитором JAK у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

- (a) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;
- (b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы, и
- 5 (c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) указывает на эффективность соединения формулы I у субъекта.

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от семейного аденоматозного полипоза, включающий введение субъекту композиции, содержащей
5 терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа.
2. Способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от рака желудочно-кишечной системы, включающий введение субъекту композиции, содержащей
10 терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа.
3. Способ лечения или профилактики субъекта, страдающего от колоректального рака, включающий введение субъекту композиции, содержащей терапевтически
15 эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа.
4. Способ профилактики семейного аденоматозного полипоза или колоректального рака у субъекта, который находится в группе высокого риска, включает введение
20 субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа.
5. Способ лечения колоректального рака или семейного аденоматозного полипоза у
25 субъекта включает:
(а) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, TP53, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.
- 30
6. Способ диагностирования, имеет ли субъект высокий риск развития колоректального рака или семейного аденоматозного полипоза у субъекта, включает:
(а) определение мутации в одном или более генах, выбранных из KRAS, EGFR, STK11 (LKB1), PTEN, BMPR1A, SMAD4 (MADH/DPC4), MLH1, MSH2, MSH6, PMS2,

ERCAM, MUTYH (MYH), POLD1, POLE TP53 и APC; и (b) введение терапевтически эффективной дозы соединения формулы I.

- 5 7. Способ профилактики расстройства или состояния, которое зависит от ингибирования JAK у субъекта, нуждающегося в лечении, включающий введение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата, полиморфа.
- 10 8. Способ по пп. 1–7, в котором терапевтически эффективное количество соединения формулы I составляет от около 10 мг до около 1000 мг,
9. Способ по пп. 1–8, в котором терапевтически эффективное количество соединения формулы I составляет от около 1 мг до около 100 мг,
- 15 10. Способ по пп. 1–9, в котором соединение формулы I вводят один раз в день.
11. Способ по пп. 1–9, в котором соединение формулы I вводят два раза в день.
- 20 12. Способ по пп. 1–11, в котором субъект ранее получал терапию или в настоящее время получает терапию.
- 25 13. Способ по пп. 1–12, в котором терапия может представлять собой хирургическое вмешательство, лучевую терапию, химиотерапию. НПВП, ингибиторы Cox-2, ингибиторы EGFR, ингибиторы VEGF и ингибиторы контрольных точек.
- 30 14. Способ по пп. 1–13, дополнительно включающий введение второго активного агента в комбинации с соединением формулы I, причем второй активный агент выбран из НПВП, ингибиторов Cox-2, цетуксимаба, панитумумаба, бевацизумаба, зив-афлиберцепта, регорафениба, рамуцирумаба, ипилимумаба, ниволумаба и пембролизумаба.
15. Способ прогнозирования ответа на соединение формулы I у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

(a) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;

(b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы; и

5 (c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) прогнозирует ответ на соединение формулы I у субъекта.

16. Способ контроля эффективности текущей терапии ингибитором JAK у субъекта, нуждающегося в этом, включающий:

10 (a) измерение уровня pSTAT-3 в контрольном образце субъекта, который не подвергался воздействию соединения формулы I;

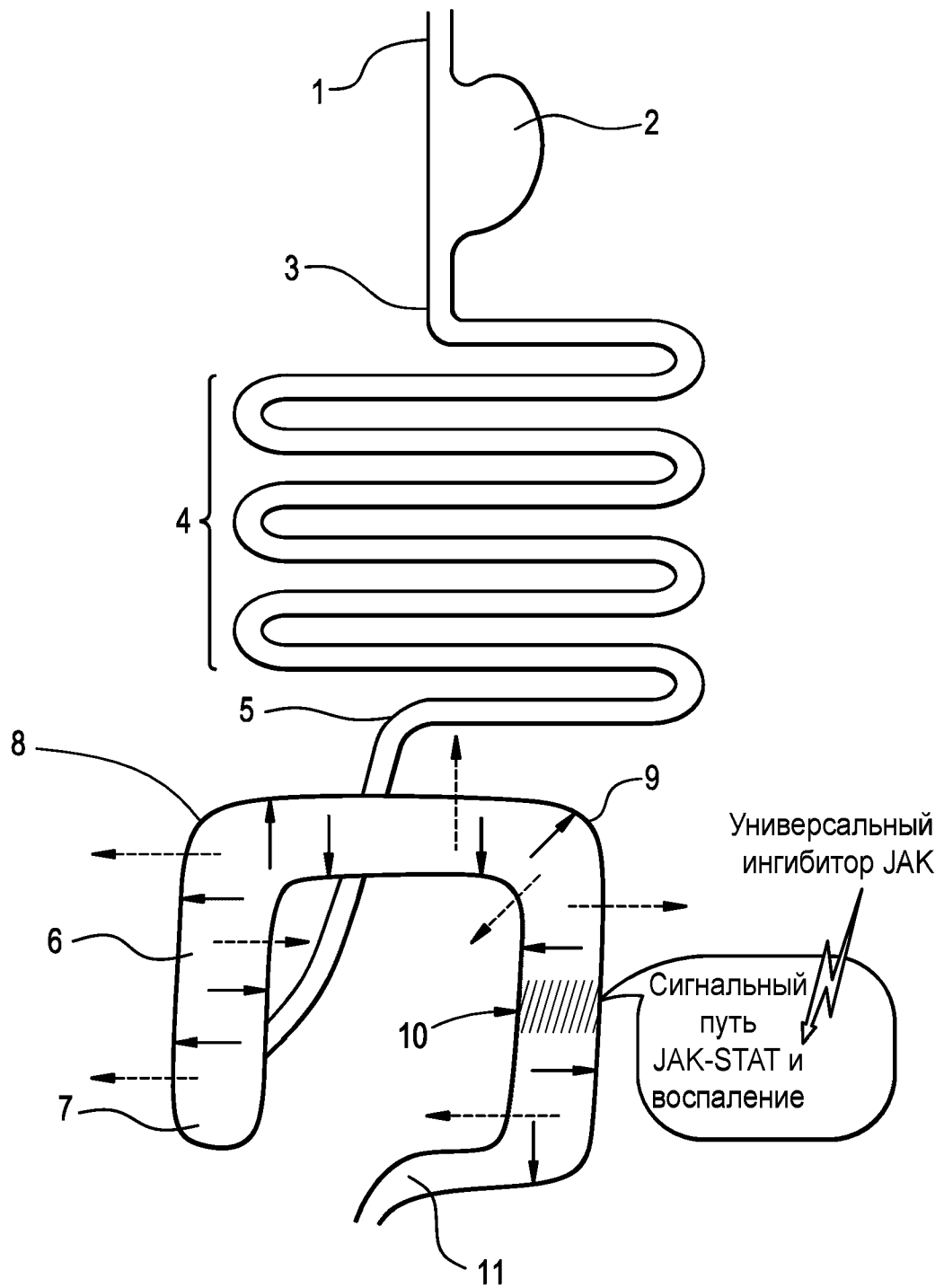
(b) измерение уровня pSTAT-3 в тестируемом образце субъекта, который подвергался воздействию соединения формулы, и

15 (c) сравнение уровня pSTAT-3 в (a)–(b), причем снижение уровня pSTAT-3 в (b) указывает на эффективность соединения формулы I у субъекта.

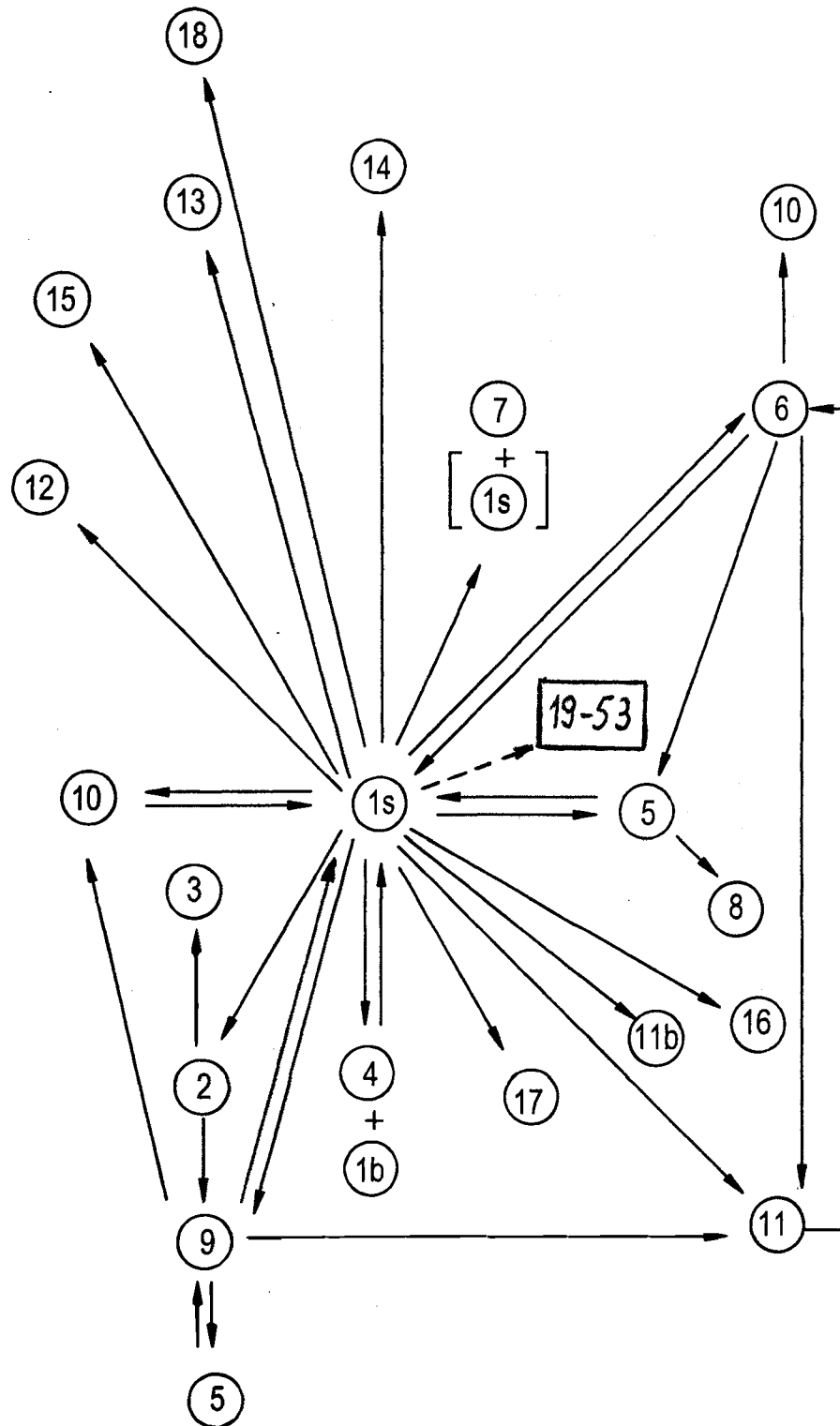
17. Соединение формулы I для применения в способе по любому из пп. 1–16.

20 18. Применение соединения формулы I для получения лекарственного средства для способа по любому из пп. 1–16.

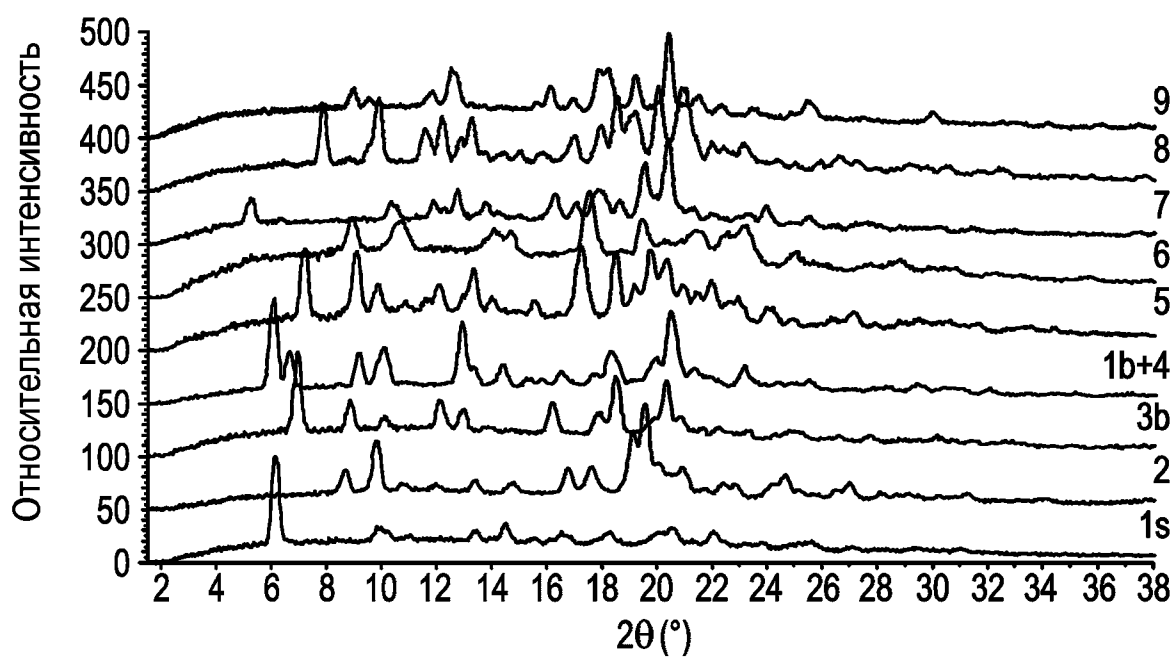
ФИГ. 1



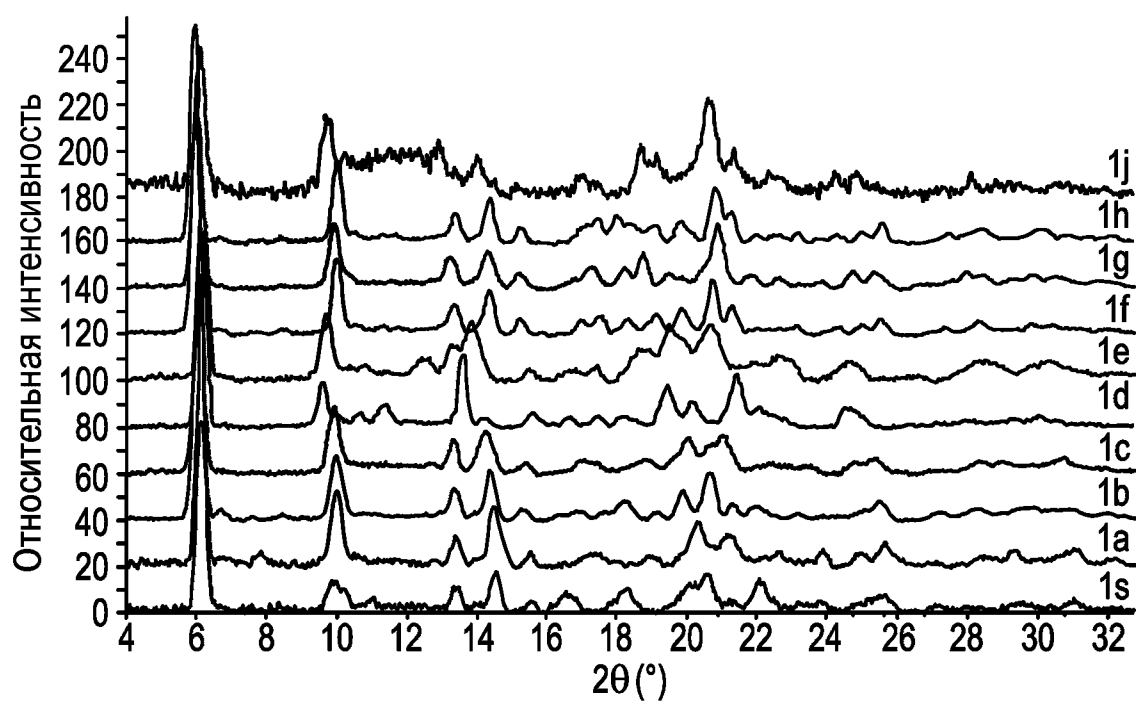
ФИГ. 2



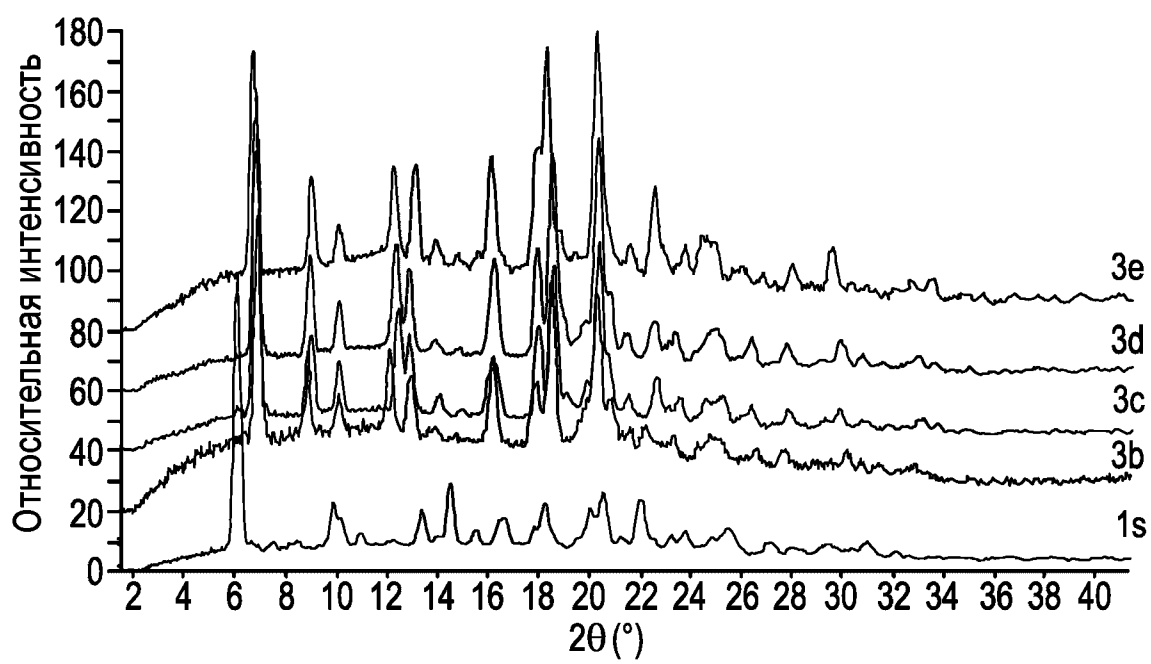
ФИГ. 3

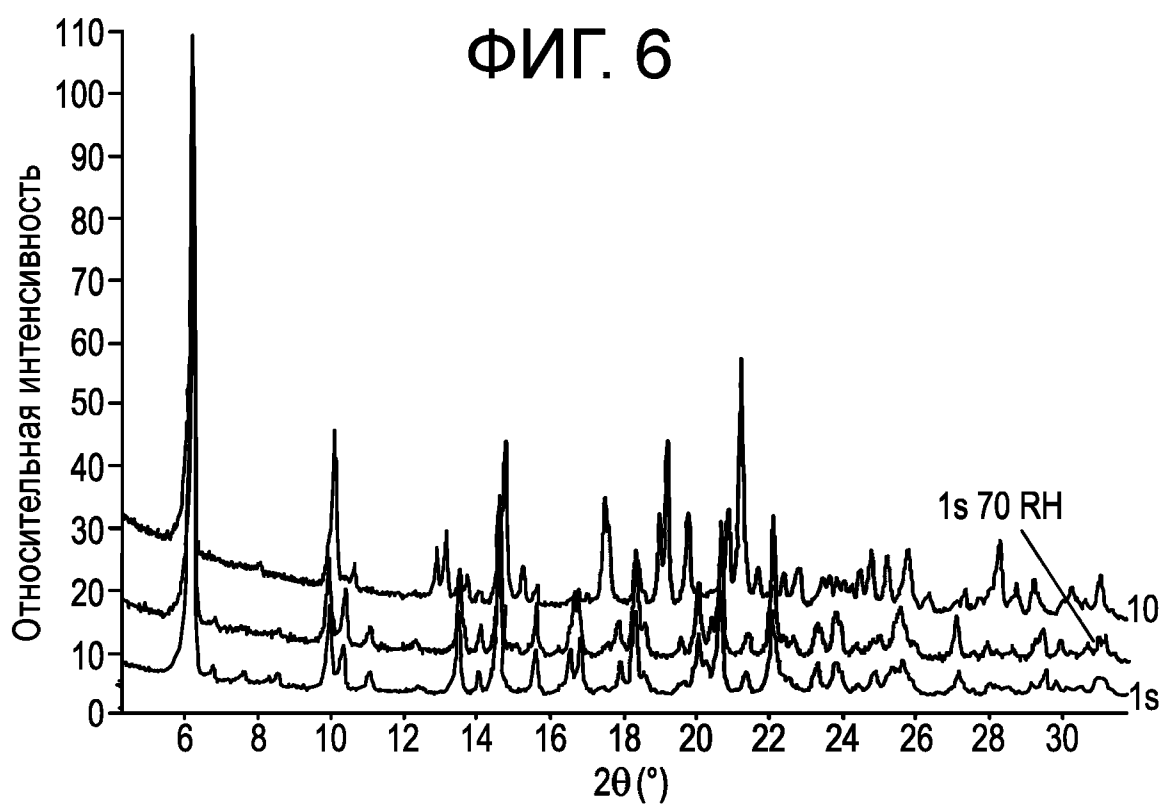


ФИГ. 4

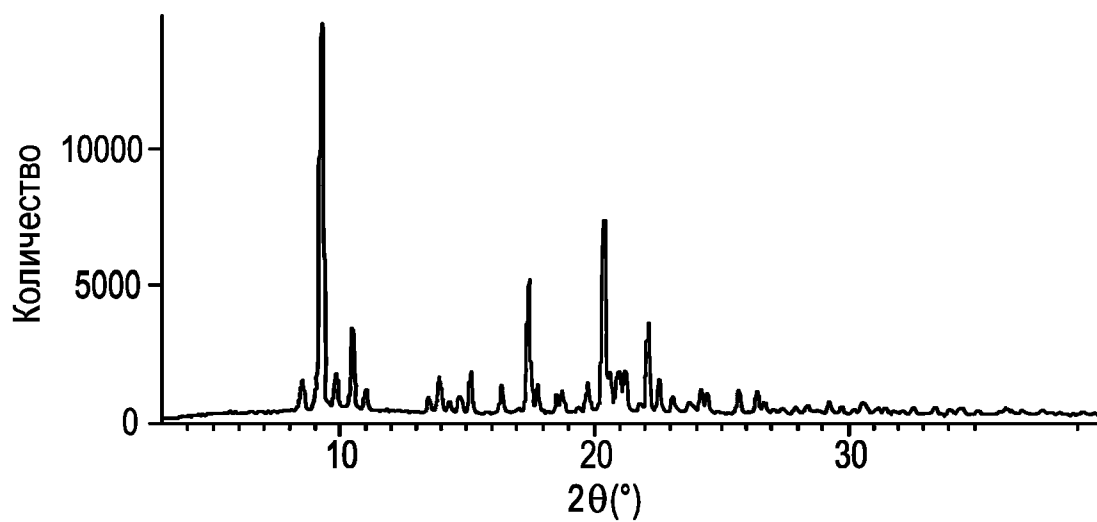


ФИГ. 5

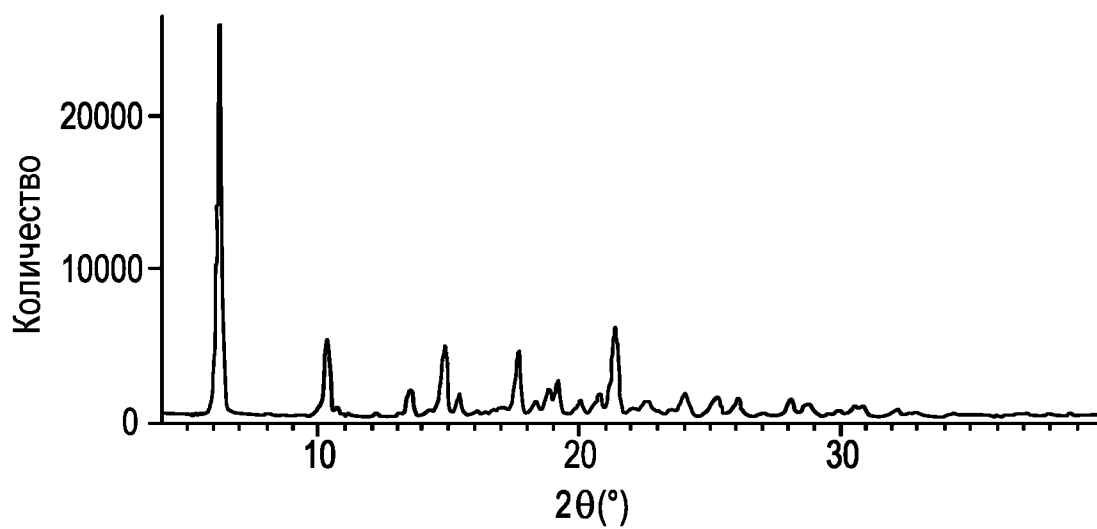




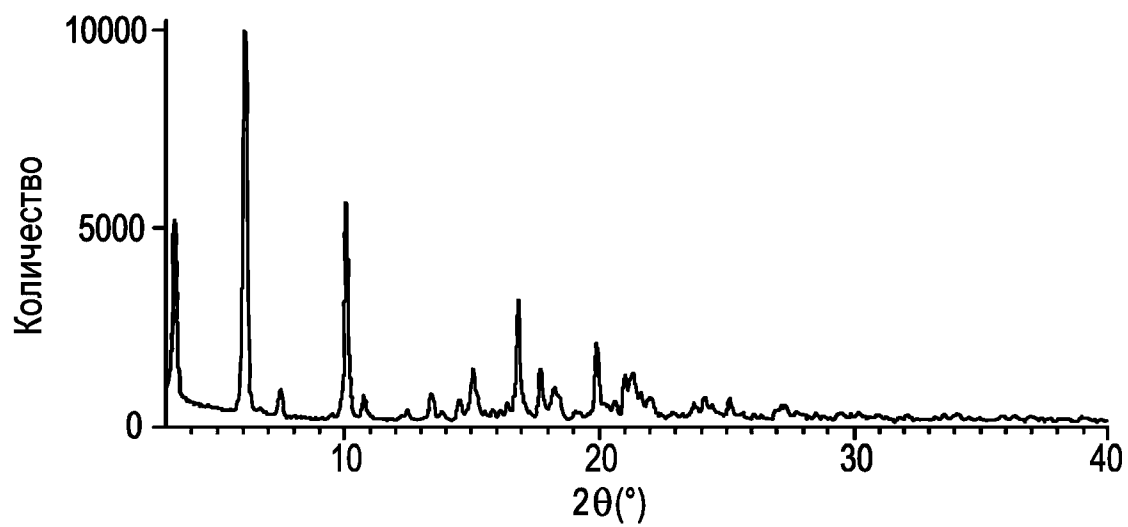
ФИГ. 7А



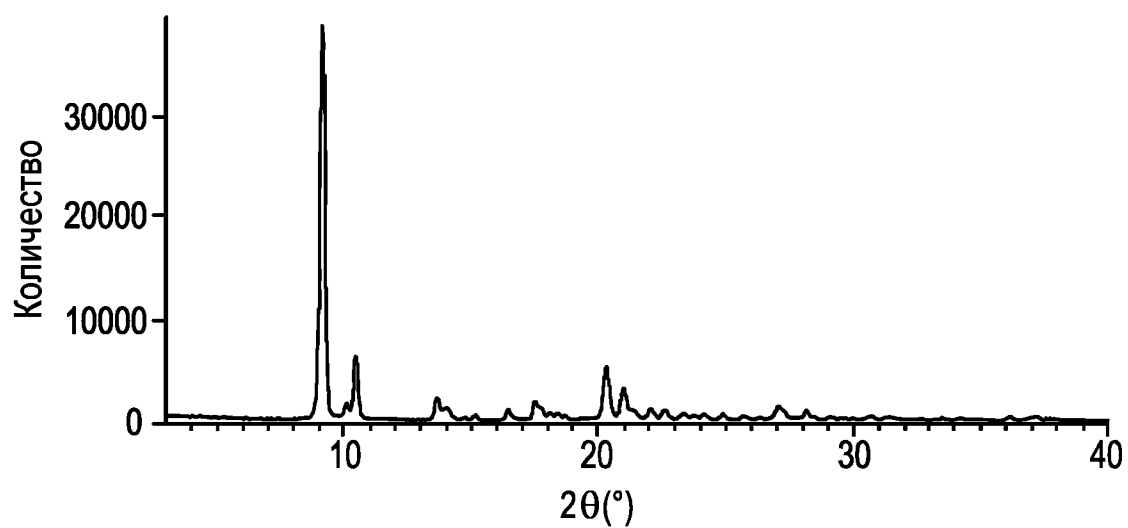
ФИГ. 7Б



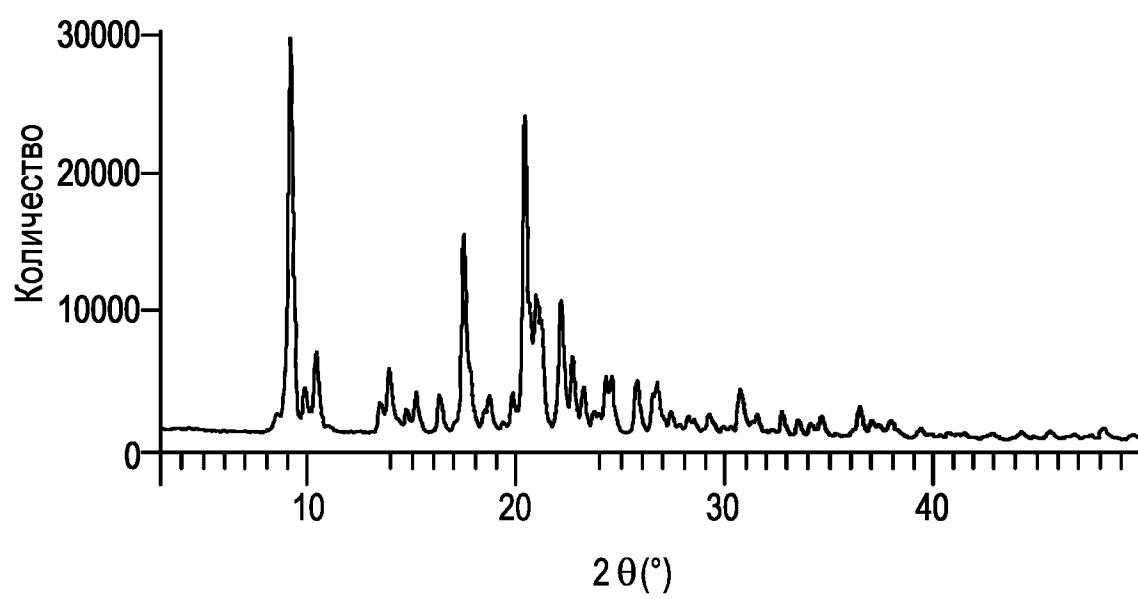
ФИГ. 7В



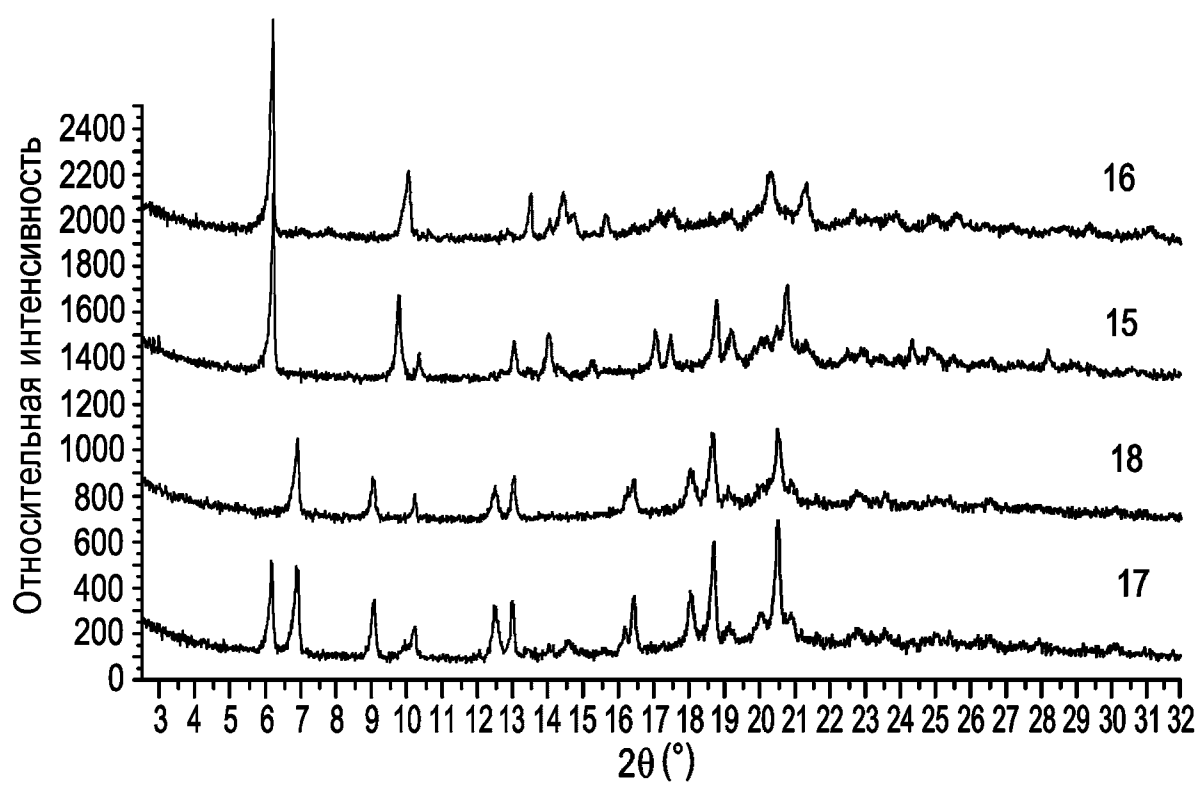
ФИГ. 7Г



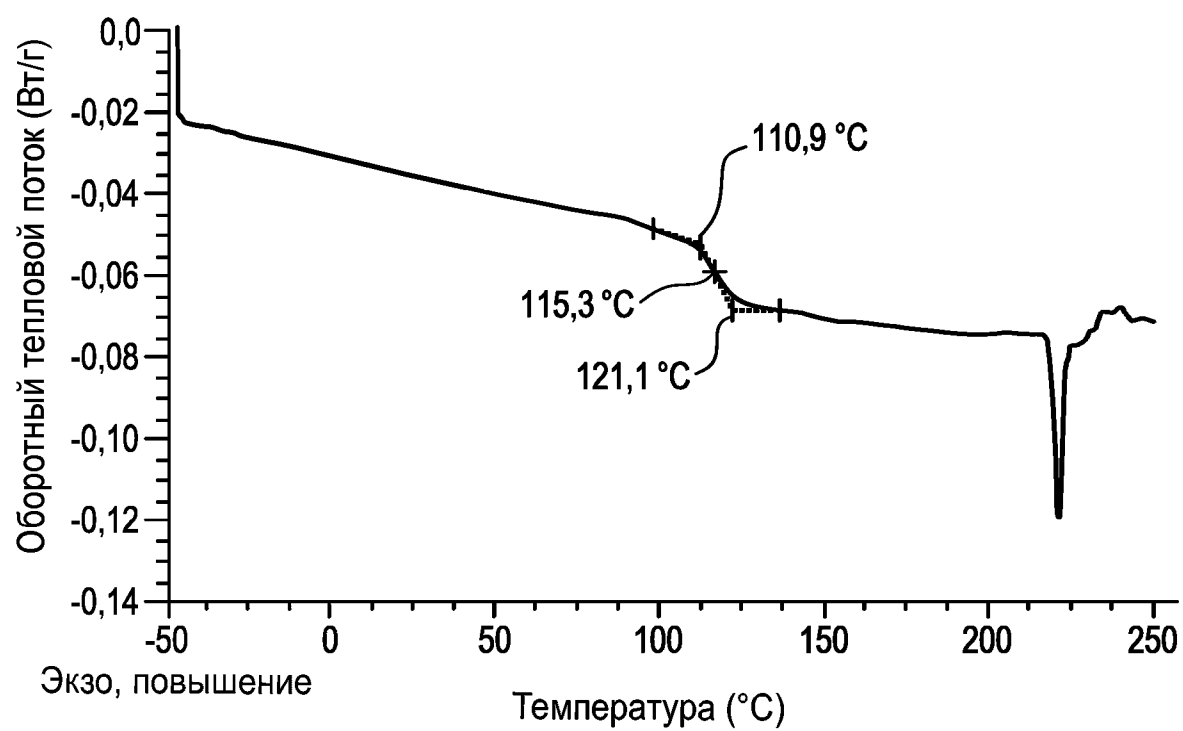
ФИГ. 7Д



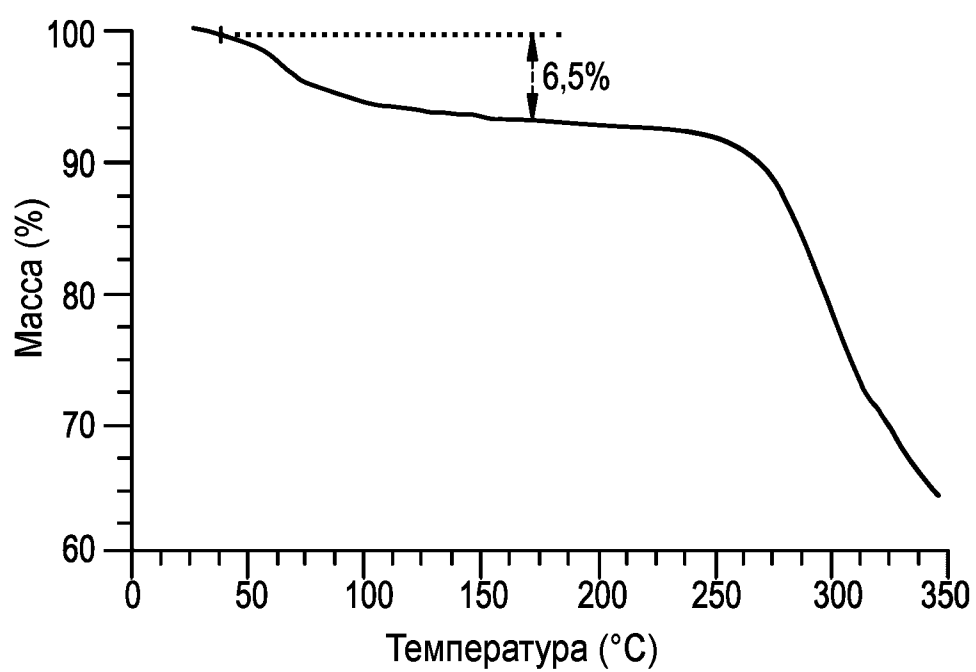
ФИГ. 8



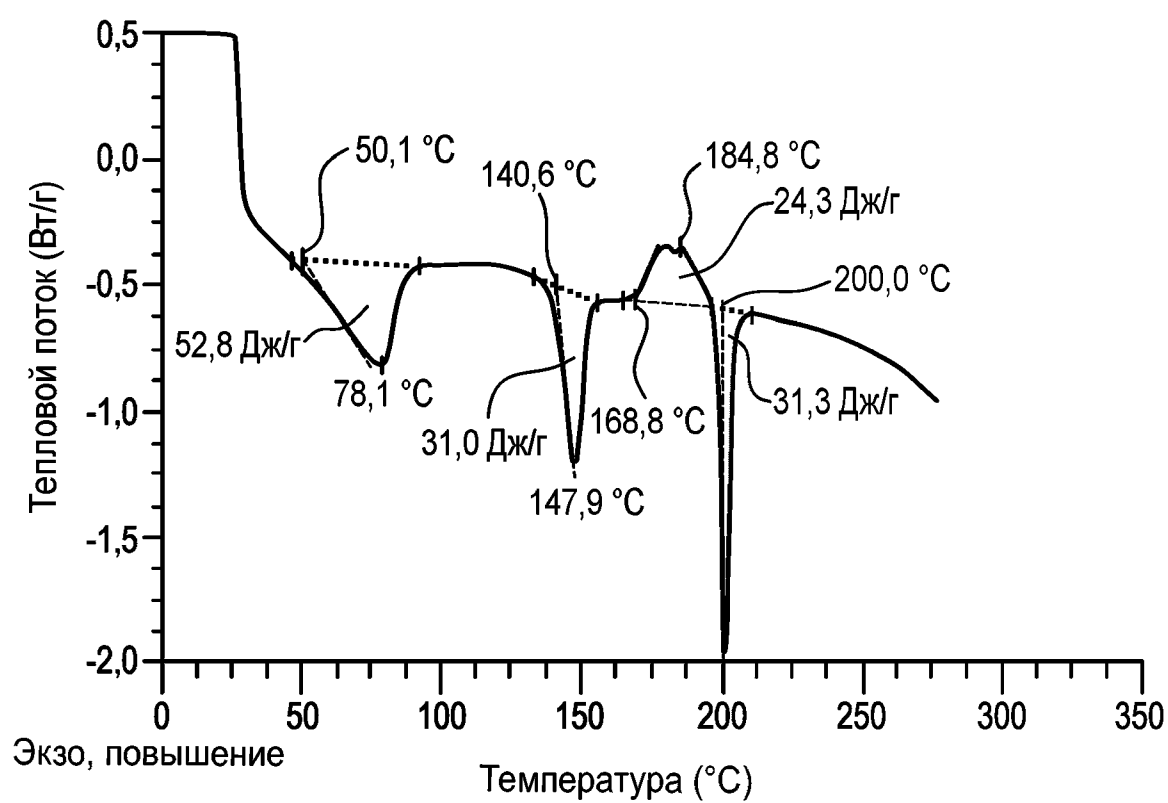
ФИГ. 9



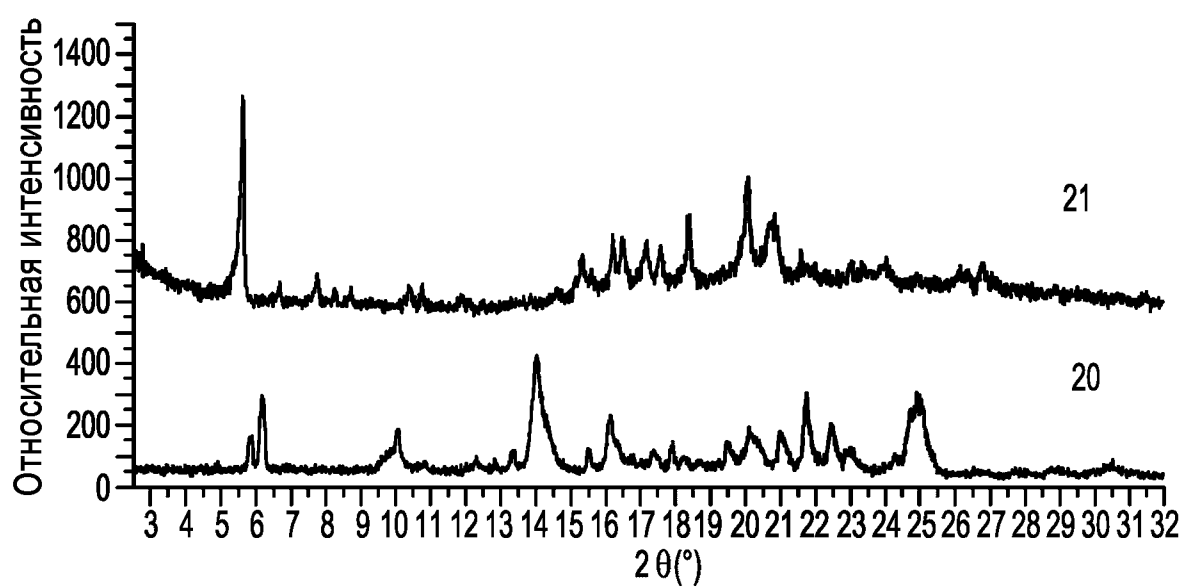
ФИГ. 10А



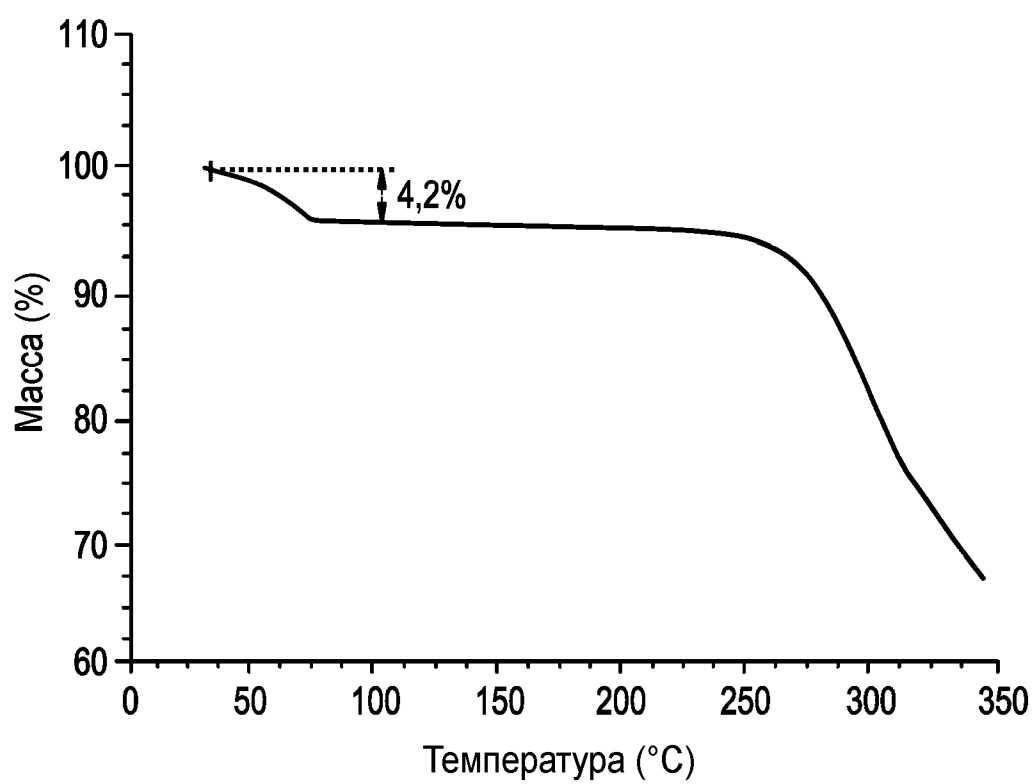
ФИГ. 10Б



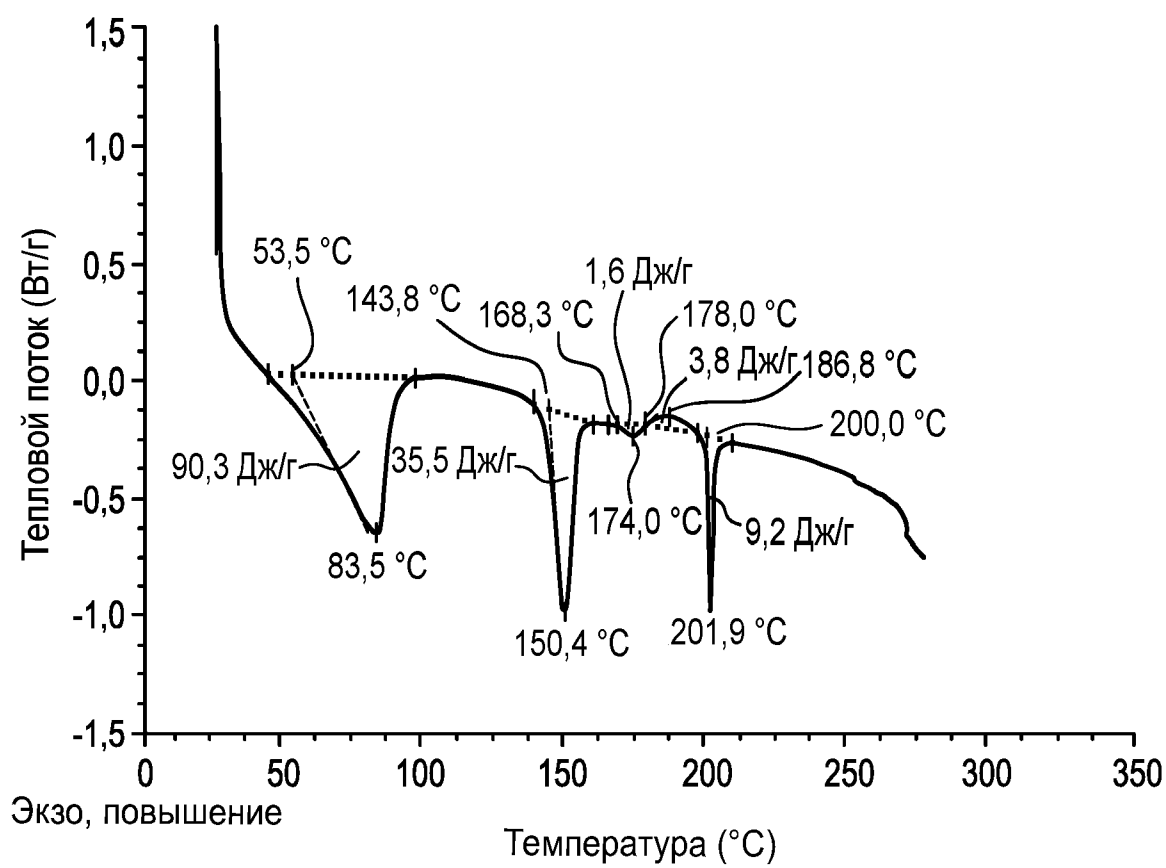
ФИГ. 11



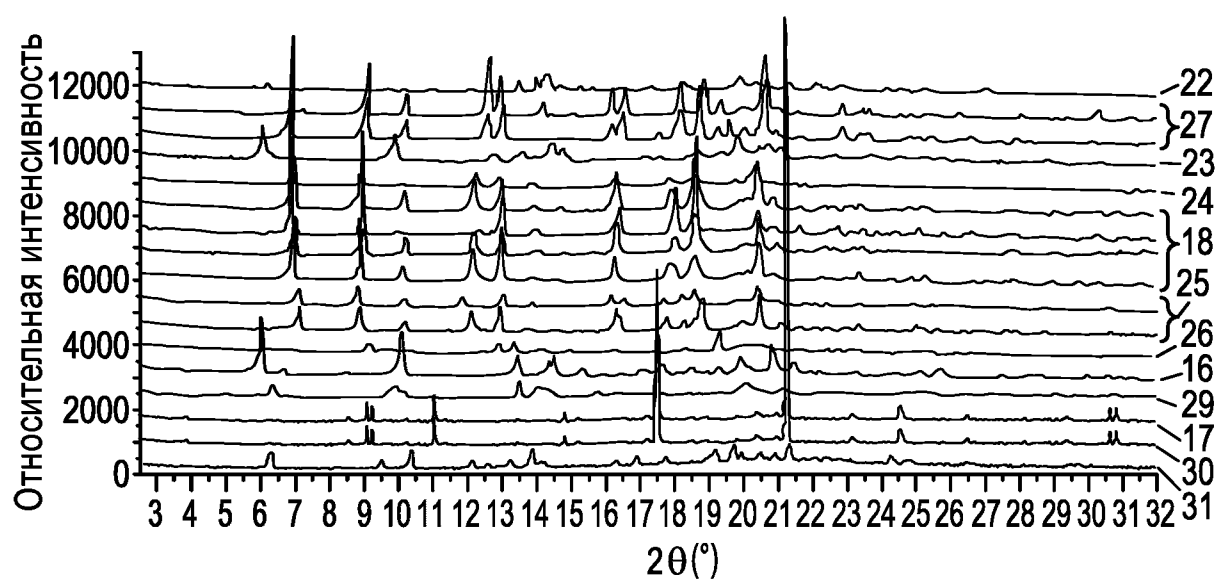
ФИГ. 12А



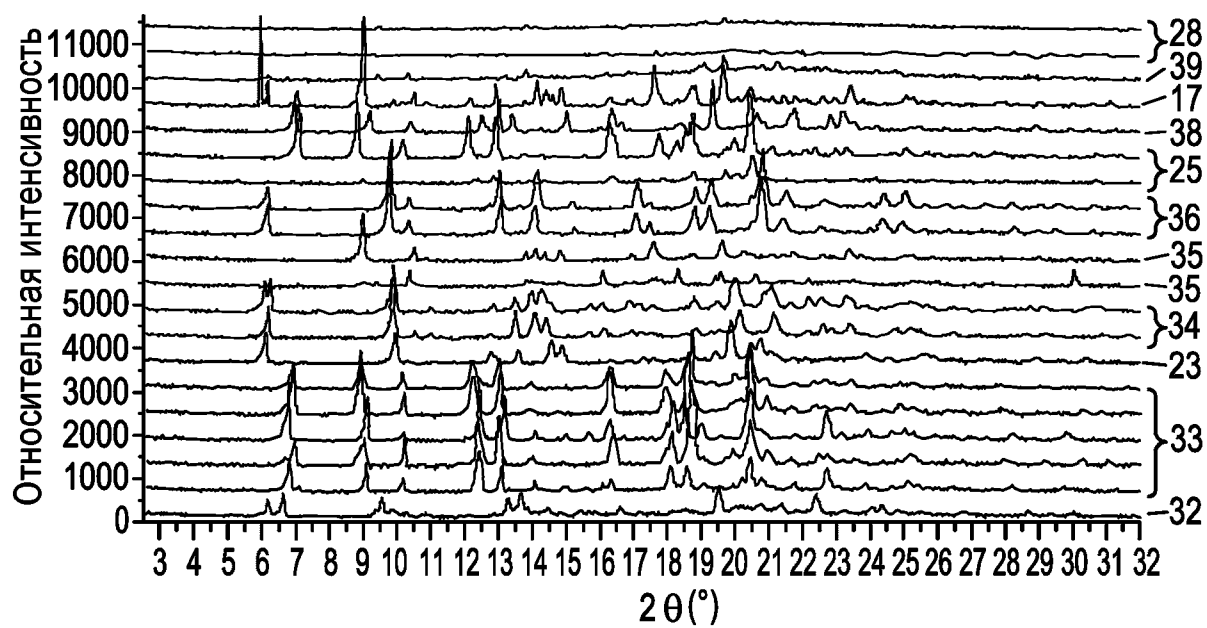
ФИГ. 12Б



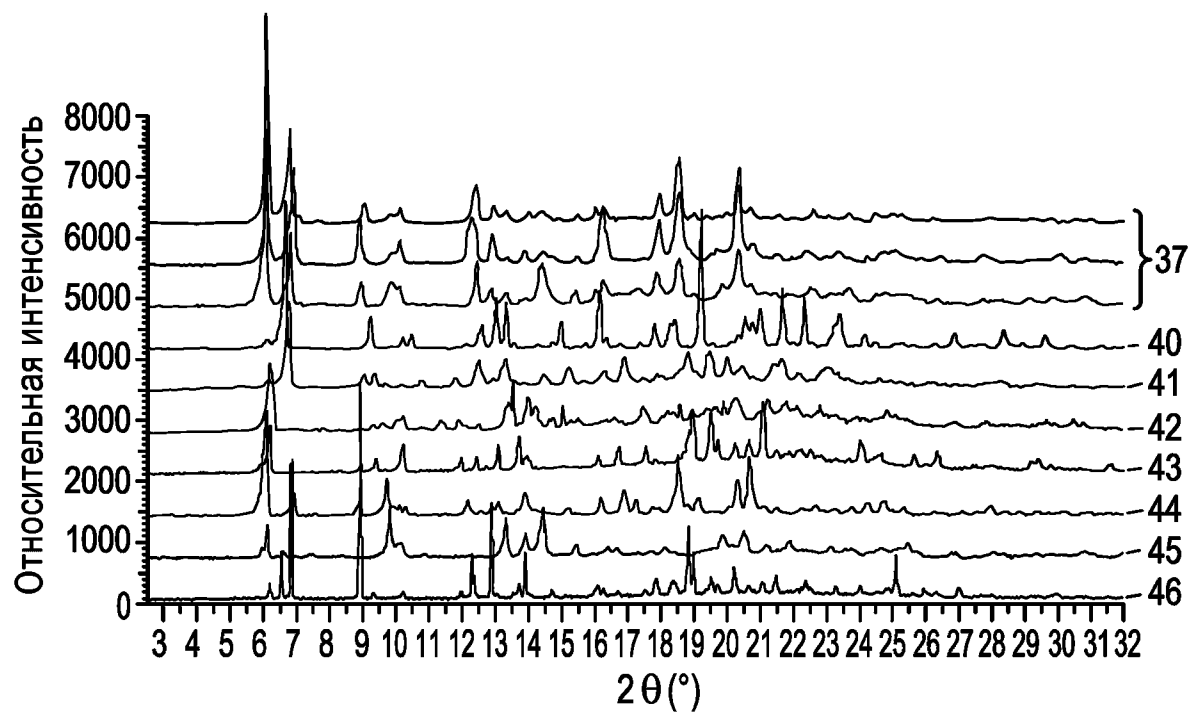
ФИГ. 13



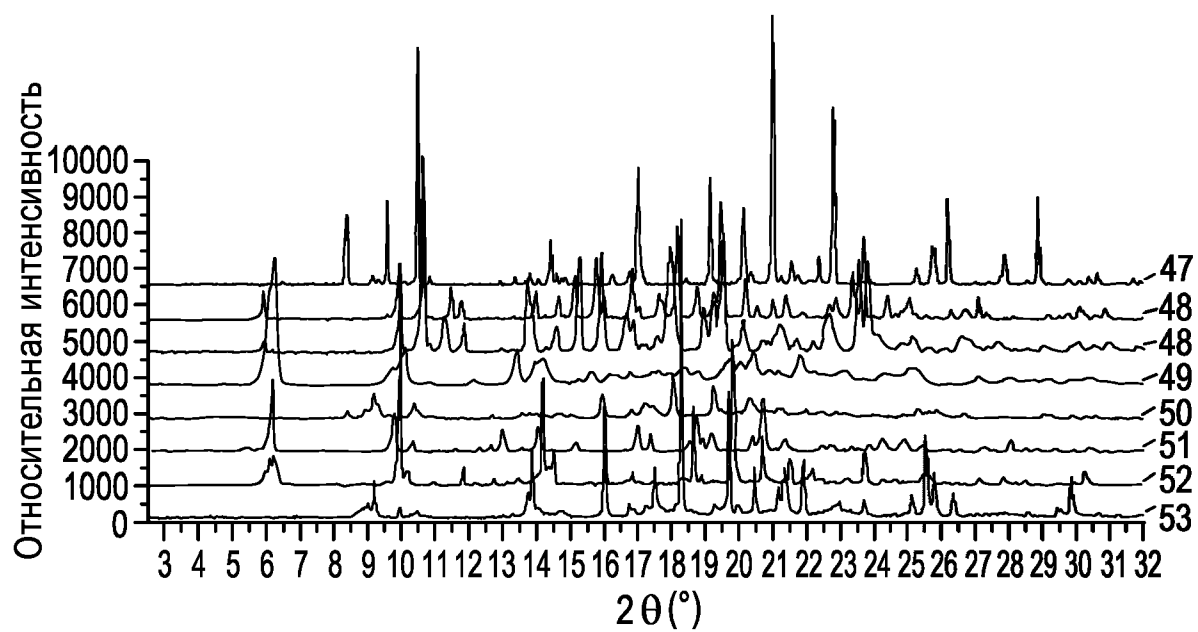
ФИГ. 14



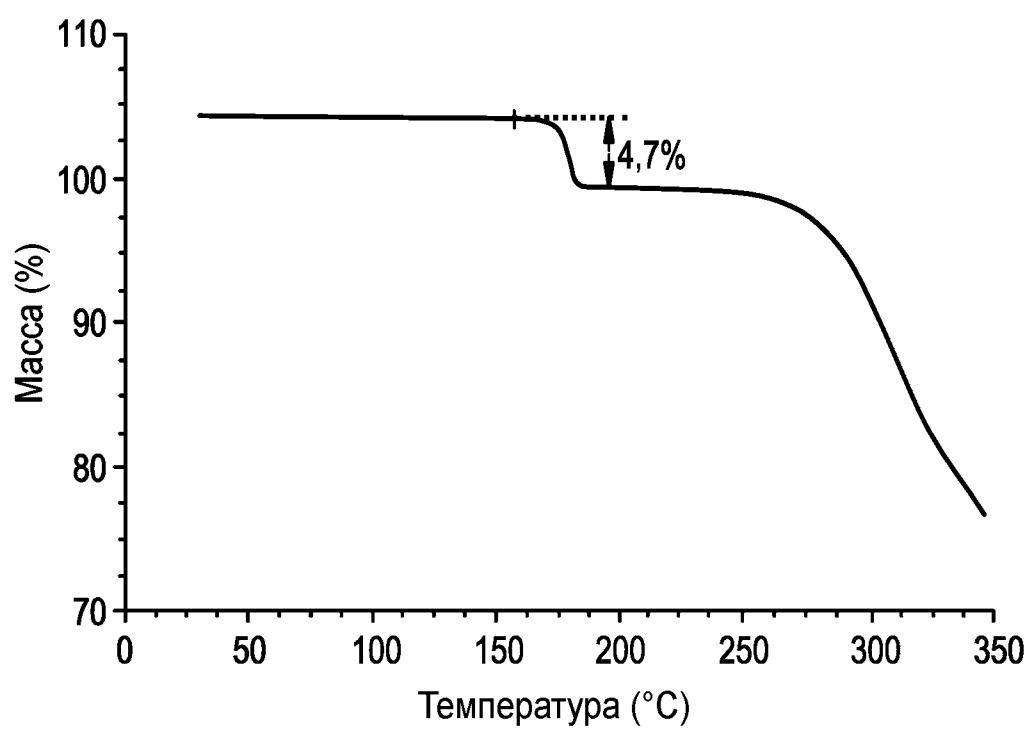
ФИГ.15



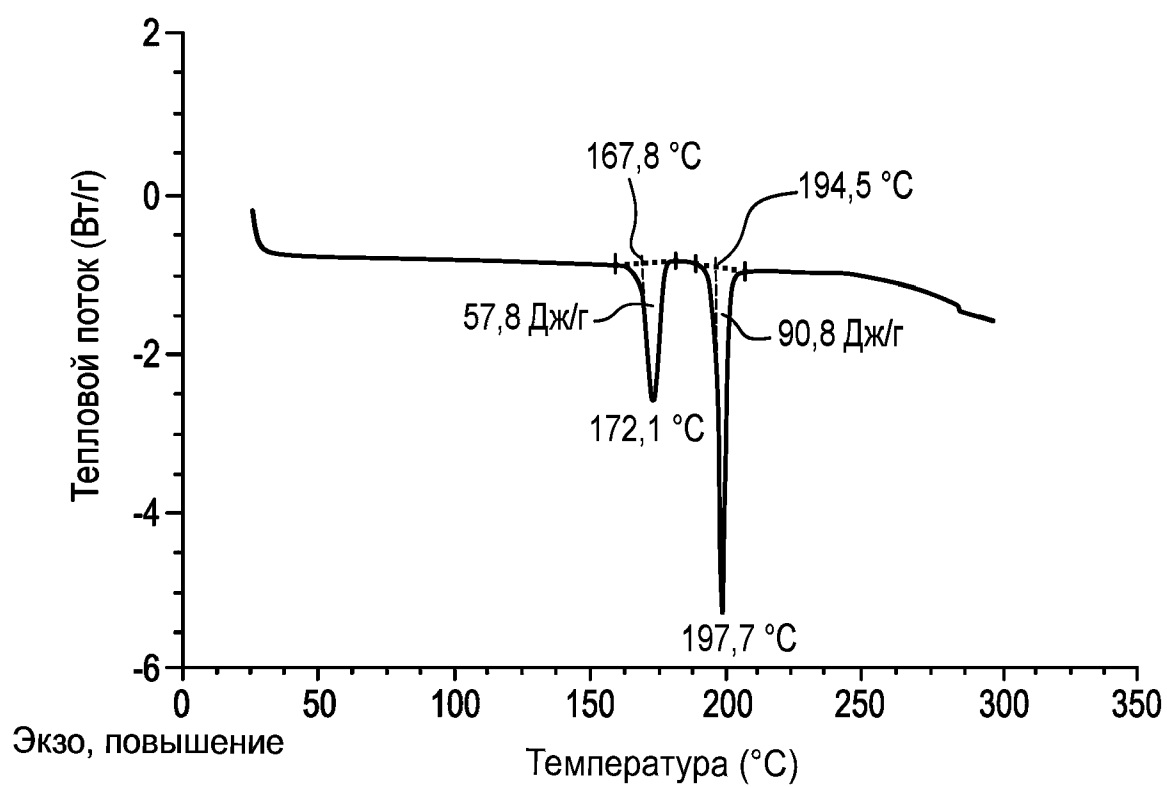
ФИГ. 16



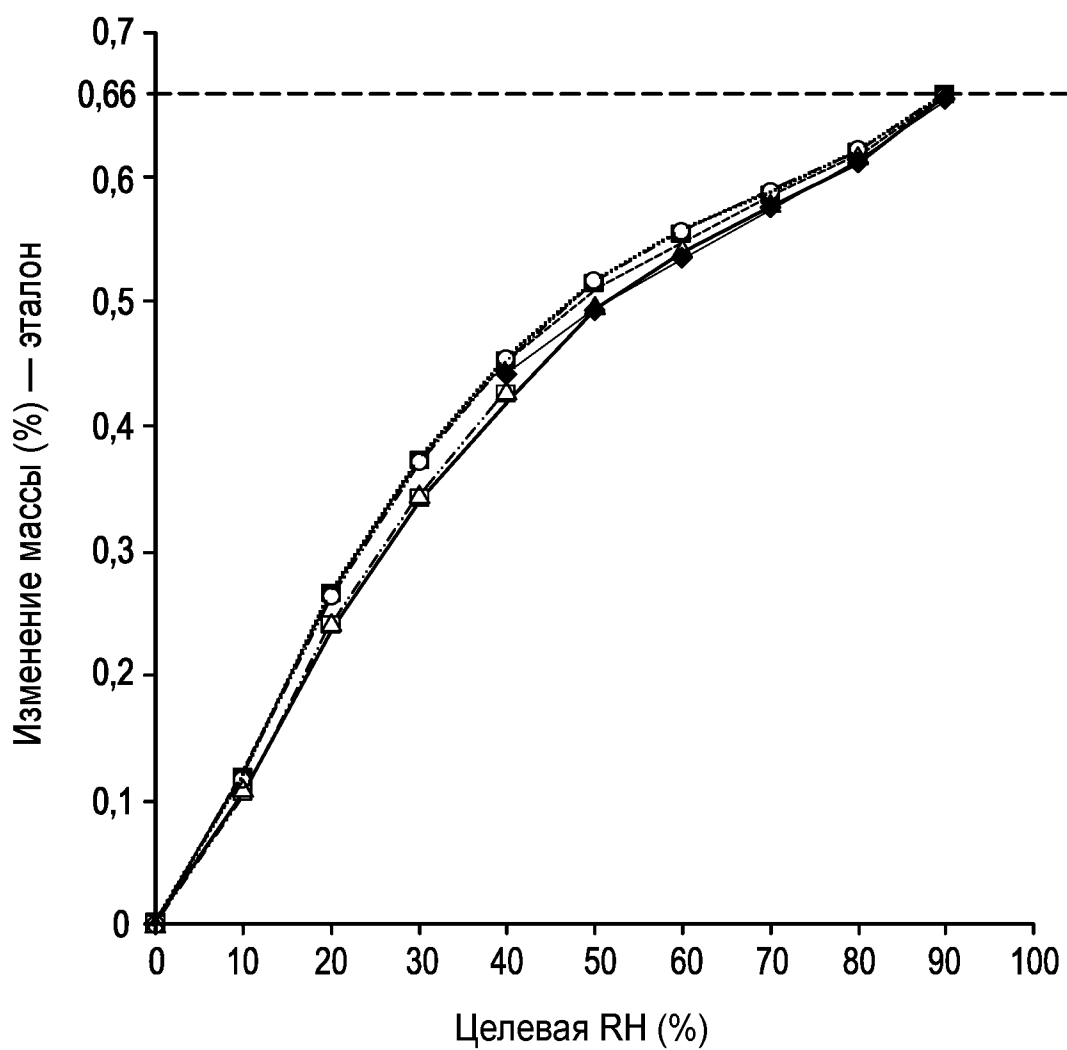
ФИГ. 17А



ФИГ. 17Б

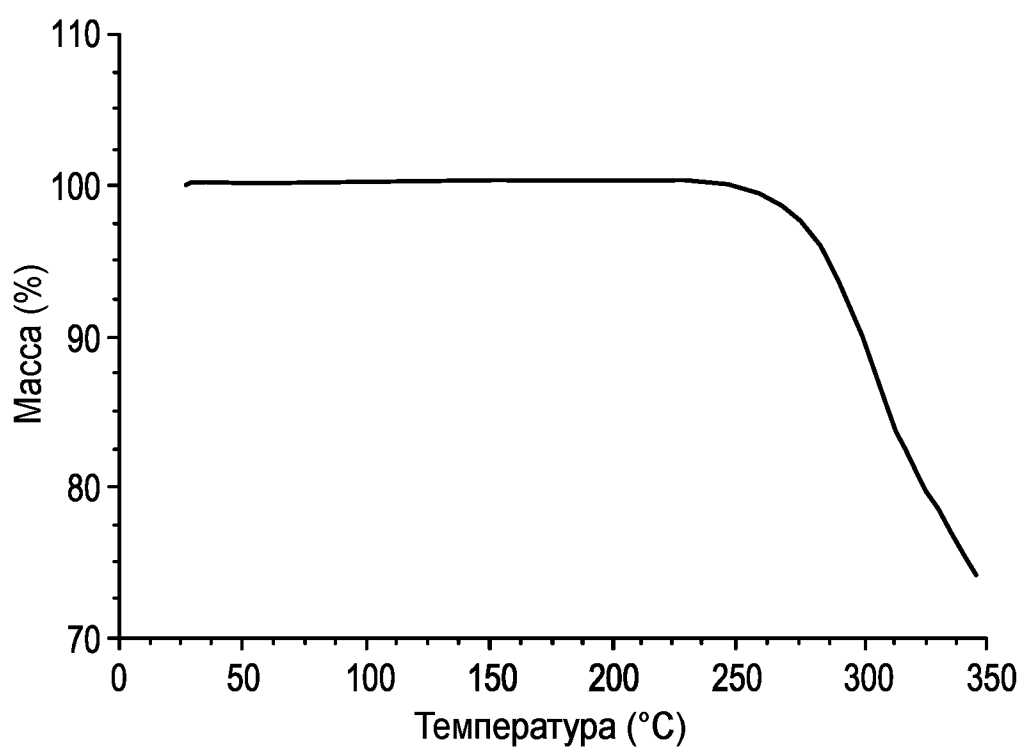


ФИГ. 18

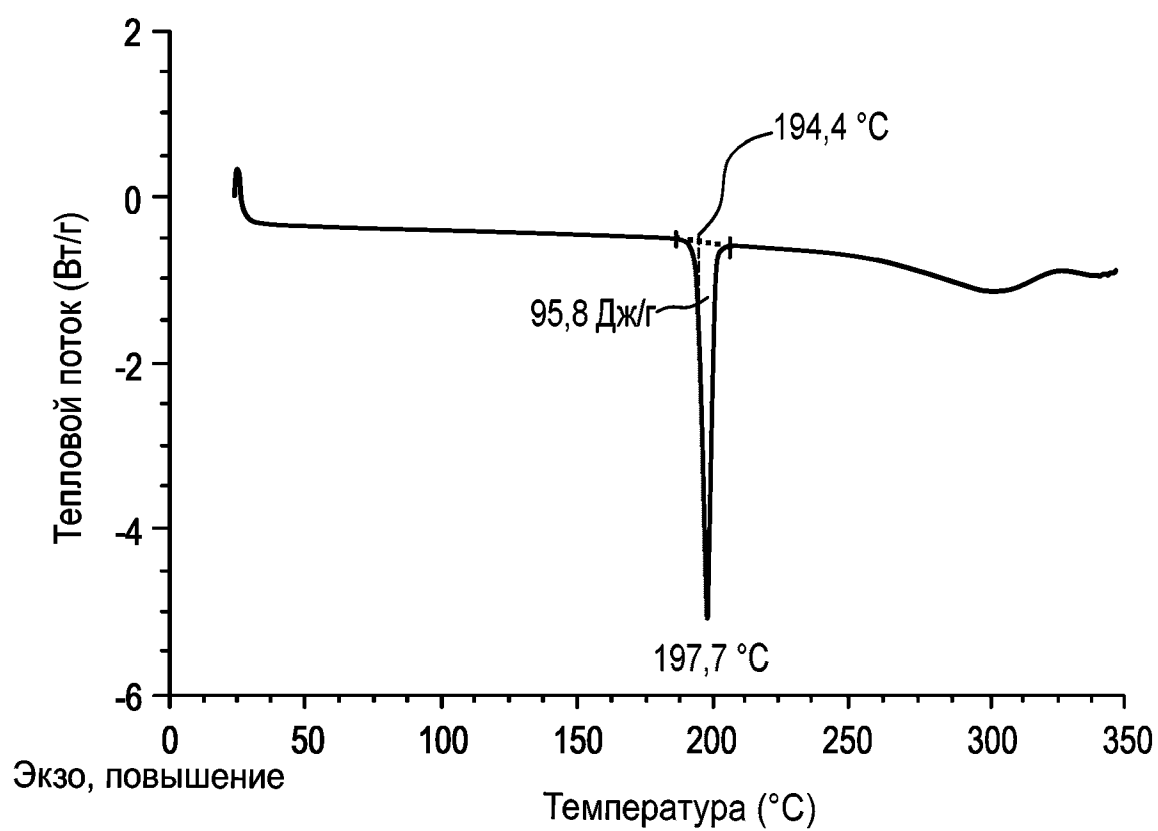


- ◆— Цикл 1: сорбция
- -■- - Цикл 1: десорбция
- △— Цикл 2: сорбция
- -○- - Цикл 2: десорбция
- -□- - Цикл 3: сорбция

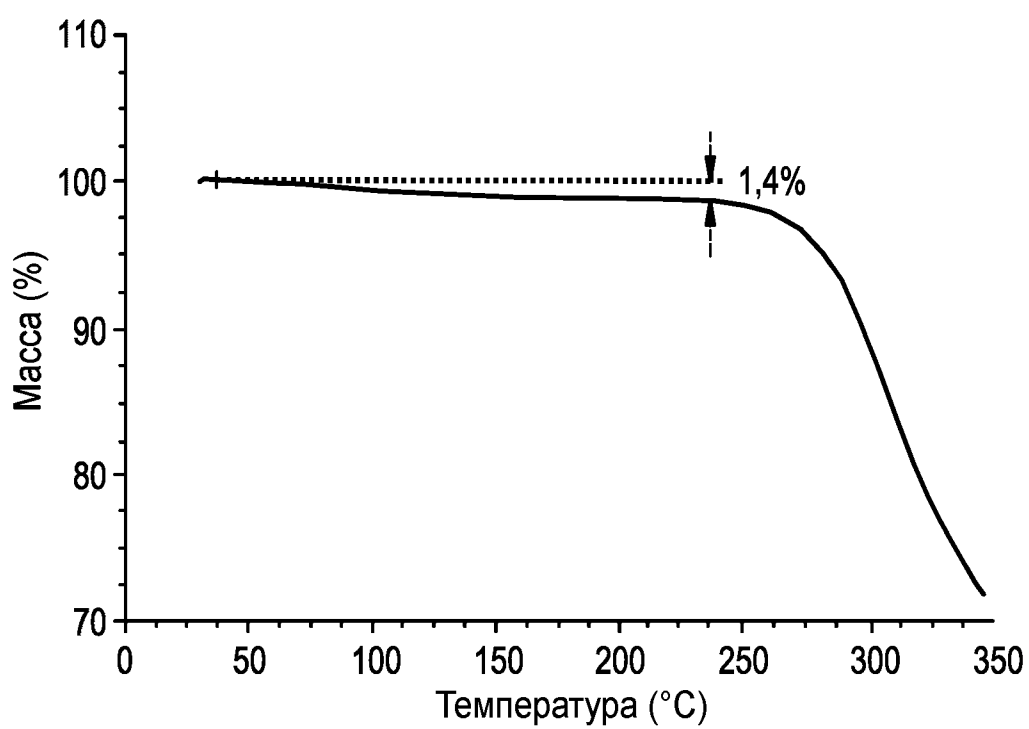
ФИГ. 19А



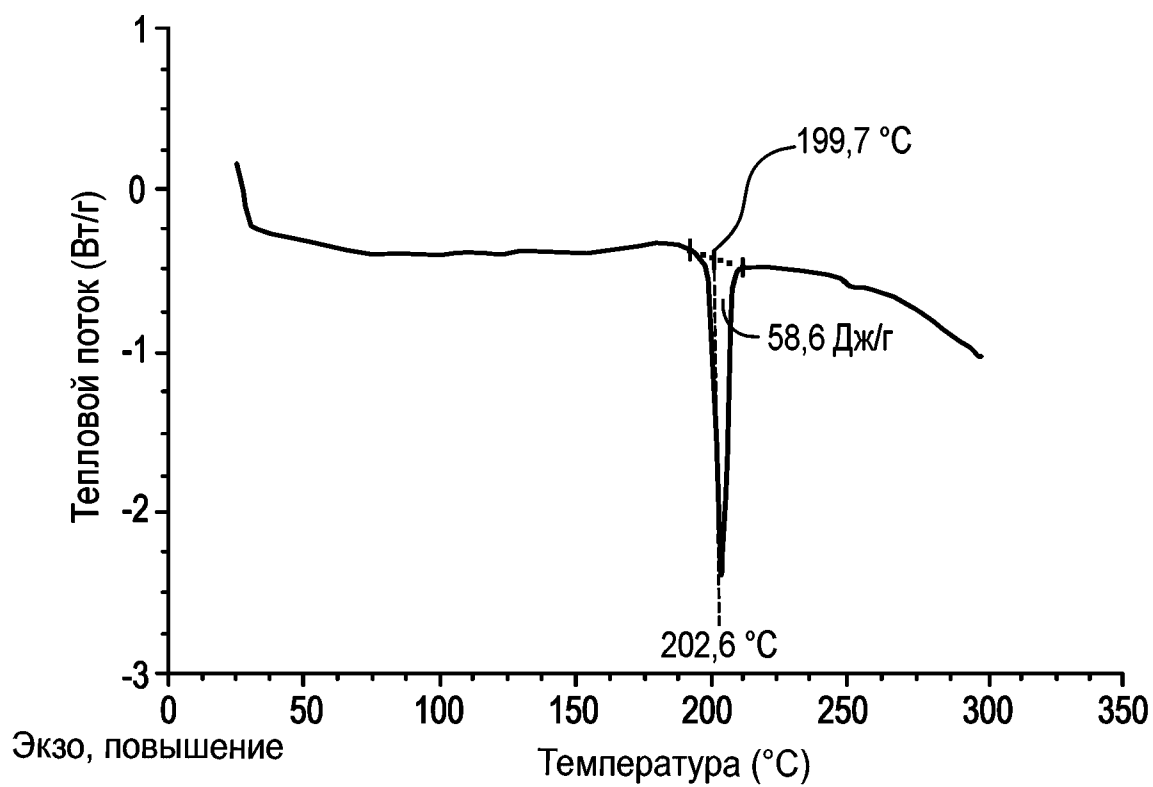
ФИГ. 19Б



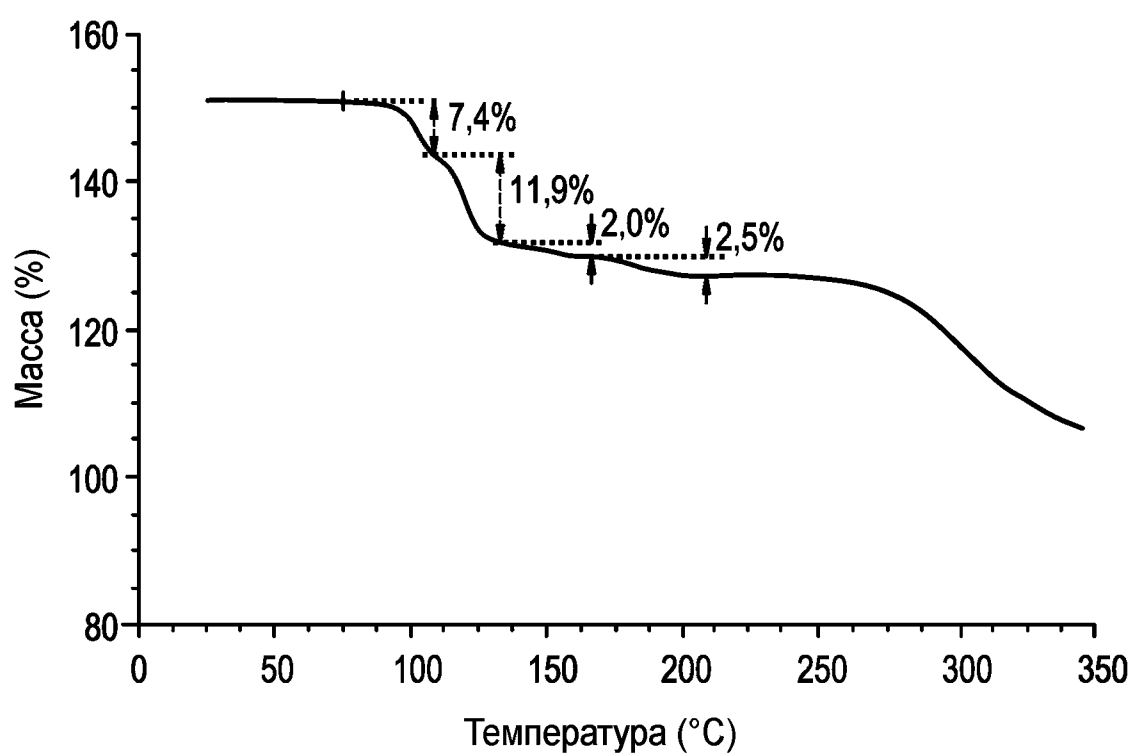
ФИГ. 20А



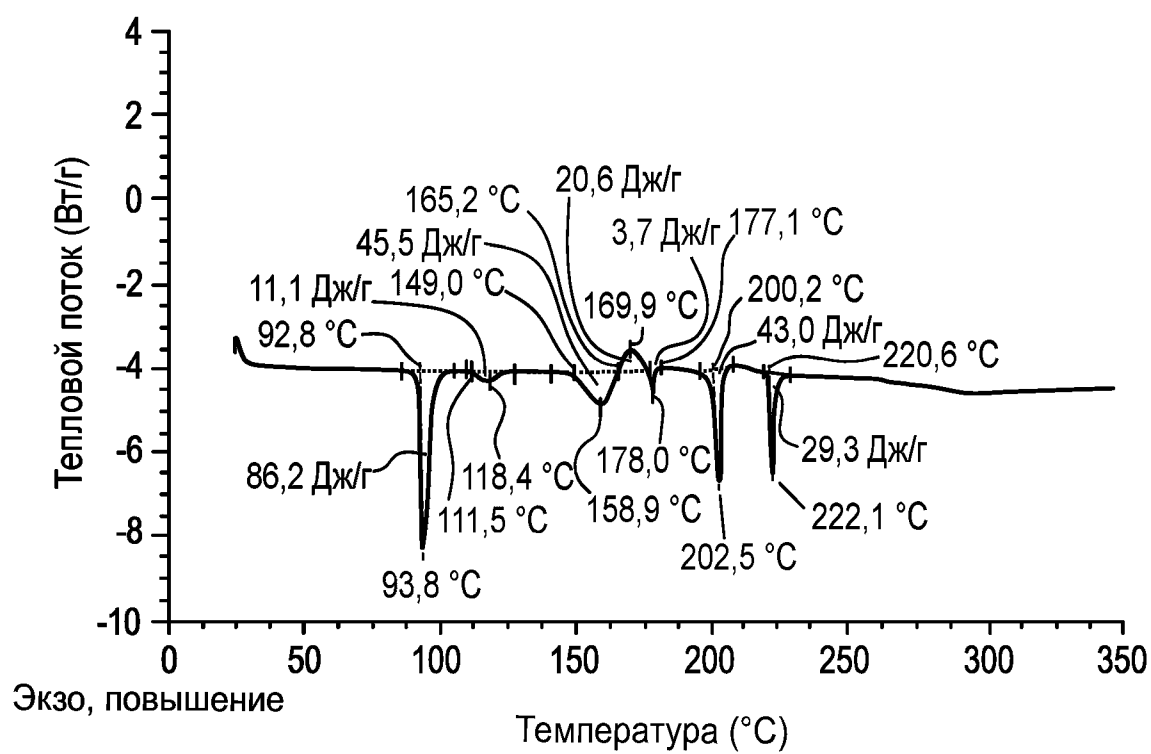
ФИГ. 20Б



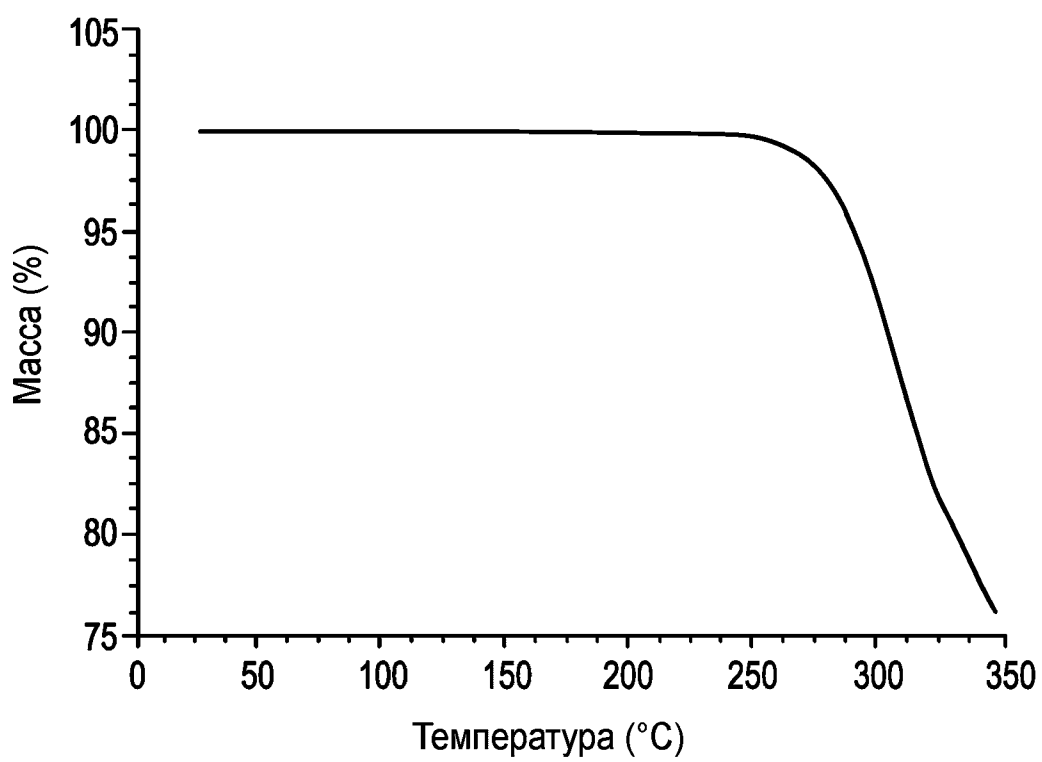
ФИГ. 21А



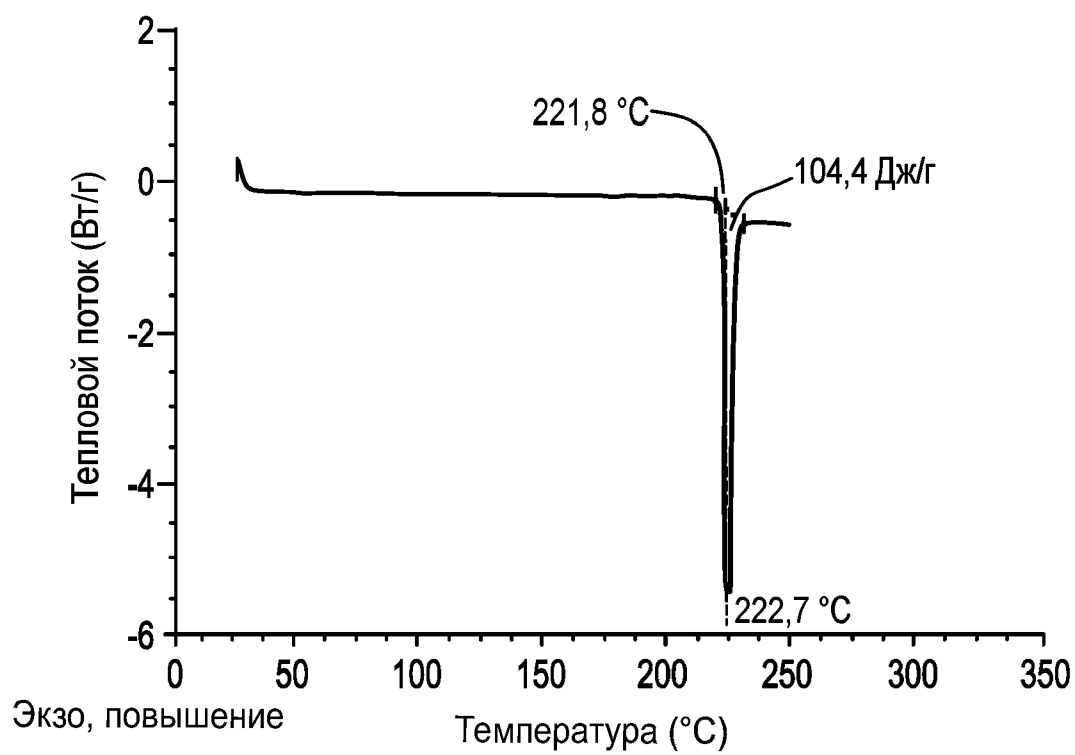
ФИГ. 21Б



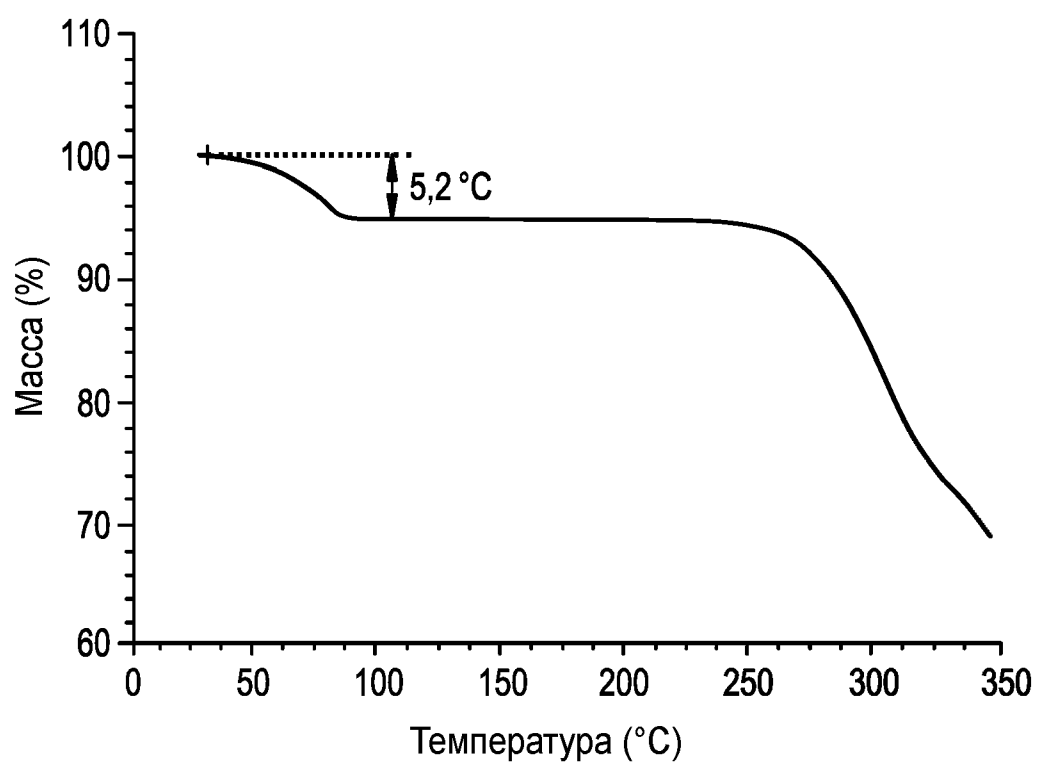
ФИГ. 22А



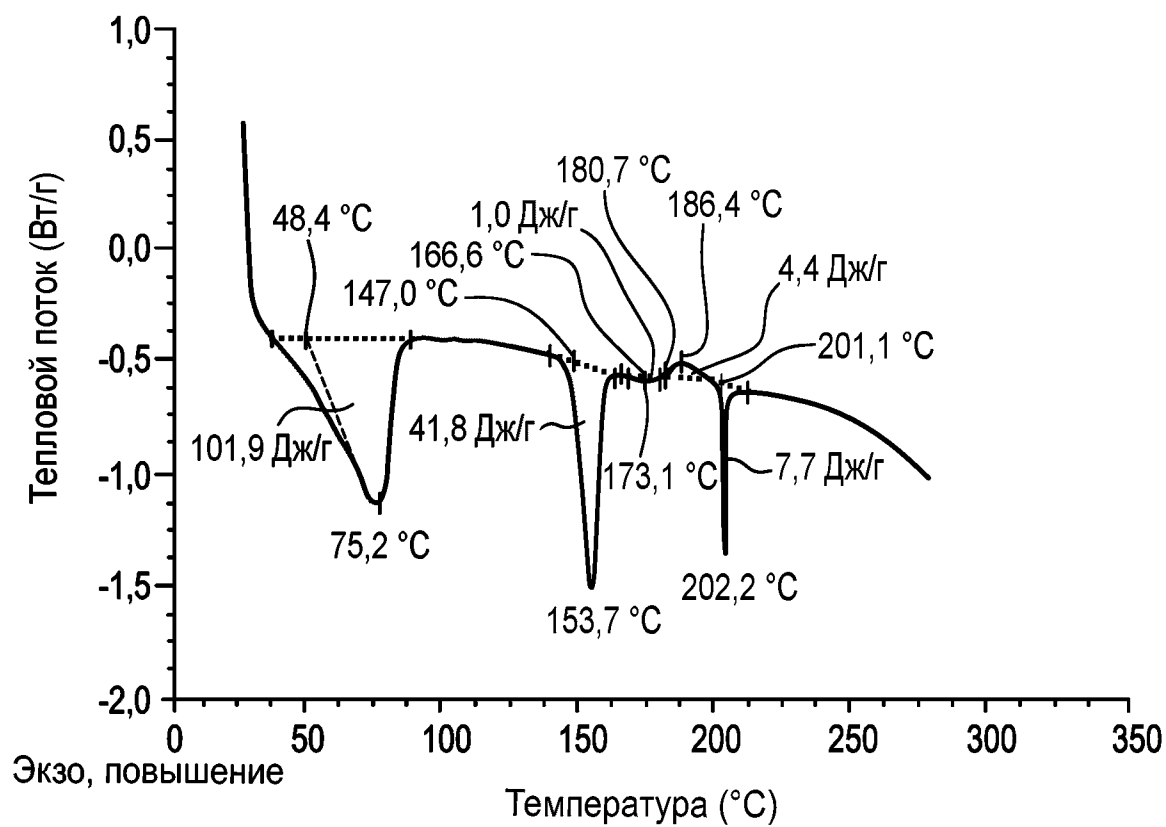
ФИГ. 22Б



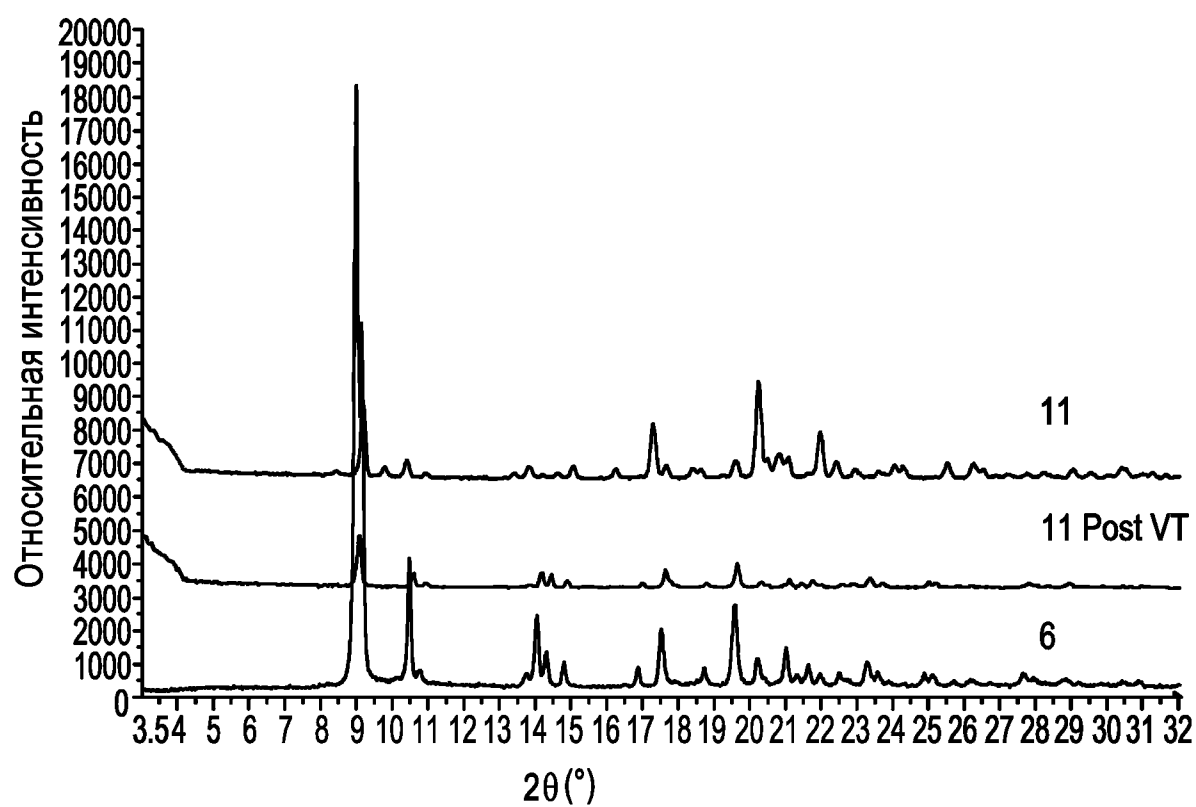
ФИГ. 23А



ФИГ. 23Б



ФИГ. 24



ФИГ. 25

