

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392008** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.12.27

(51) Int. Cl. *A61K 31/517* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.01.10

(54) **КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ, ВКЛЮЧАЮЩАЯ ИНГИБИТОР ПУТИ JAK И
ИНГИБИТОР ROCK**

(31) 63/135,969; 63/253,384

(72) Изобретатель:

(32) 2021.01.11; 2021.10.07

Пил Майкл, Смит Пол (US)

(33) US

(74) Представитель:

(86) PCT/US2022/011756

Медведев В.Н. (RU)

(87) WO 2022/150676 2022.07.14

(71) Заявитель:

ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

(57) В данном изобретении представлены виды комбинированной терапии, включающие ингибитор JAK и ингибитор ROCK, и способы их применения для лечения нарушений, таких как болезнь "трансплантат против хозяина" (GVHD), синдром рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD) и системный склероз (склеродермия).

A1

202392008

202392008

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579041EA/025

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ, ВКЛЮЧАЮЩАЯ ИНГИБИТОР ПУТИ JAK И ИНГИБИТОР ROCK

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В данном документе раскрыты виды комбинированной терапии, включающие ингибитор пути JAK и ингибитор пути ROCK, и способы их применения для лечения нарушений, таких как болезнь «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдром рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD) и системный склероз (склеродермия).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Протеинкиназы (ПК) представляют собой группу ферментов, которые регулируют различные важные биологические процессы, включая рост, выживание и дифференцировку клеток, формирование и морфогенез органов, неоваскуляризацию, восстановление и регенерацию тканей, помимо прочего. Протеинкиназы осуществляют свои физиологические функции посредством катализа фосфорилирования белков (или субстратов) и тем самым модулируют клеточную активность субстратов в различных биологических контекстах.

Протеинкиназы можно разделить на рецепторные и нерцепторные. Рецепторные тирозинкиназы (RTK) имеют внеклеточную часть, трансмембранный домен и внутриклеточную часть, в то время как нерцепторные тирозинкиназы полностью внутриклеточные. Семейство янус-киназ протеинтирозинкиназ (JAK) относится к нерцепторному типу тирозинкиназ и включает представителей семейства JAK1 (также известная как янус-киназа-1), JAK2 (также известная как янус-киназа-2), JAK3 (также известная как янус-киназа, лейкоцитарная; JAKL; L-JAK и янус-киназа-3) и TYK2 (также известная как протеинтирозинкиназа 2).

Путь, включающий JAK, трансдукторы сигналов и активаторы транскрипции (STAT), участвует в передаче сигналов широкого спектра цитокинов. Цитокины представляют собой низкомолекулярные полипептиды или гликопротеины, стимулирующие биологические реакции практически во всех типах клеток. Как правило, цитокиновые рецепторы не обладают внутренней тирозинкиназной активностью и, таким образом, нуждаются в ассоциированных с рецептором киназах для распространения каскада фосфорилирования. JAK выполняют эту функцию. Цитокины связываются со своими рецепторами, вызывая димеризацию рецепторов, что позволяет JAK фосфорилировать друг друга, а также специфические тирозиновые мотивы в цитокиновых рецепторах. STAT, которые распознают эти фосфотирозиновые мотивы, рекрутируются на рецептор, а затем сами активируются JAK-зависимым событием фосфорилирования тирозина. При активации STAT отделяются от рецепторов, димеризуются и перемещаются в ядро, чтобы связываться со специфическими сайтами ДНК и изменять транскрипцию (Scott, M.J., C.J. Godshall, et al. (2002). "Jaks, STATs, Cytokines, and Sepsis." Clin Diagn Lab

Immunol 9(6): 1153-9).

Семейство JAK играет роль в зависимой от цитокинов регуляции пролиферации и функции клеток, участвующих в иммунном ответе. Путь JAK/STAT и, в частности, все четыре представителя семейства JAK, как полагают, играют роль в патогенезе астматической реакции, хронической обструктивной болезни легких, бронхита и других родственных воспалительных заболеваний нижних дыхательных путей. Более того, множество цитокинов, которые передают сигналы через JAK-киназы, связаны с воспалительными заболеваниями или состояниями верхних дыхательных путей, такими как поражения носа и придаточных пазух (например, ринит, синусит), независимо от того, являются ли они классическими аллергическими реакциями или нет. Также предполагается, что путь JAK/STAT играет роль в воспалительных заболеваниях/состояниях глаза, включая без ограничения ирит, увеит, склерит, конъюнктивит, а также хронические аллергические реакции. Таким образом, ингибирование киназ JAK может играть полезную роль в терапевтическом лечении этих заболеваний.

Блокирование передачи сигнала на уровне киназ JAK открывает перспективы для разработки способов лечения рака человека. Предполагается также, что ингибирование киназ JAK имеет терапевтические преимущества у пациентов, страдающих кожными иммунными нарушениями, такими как псориаз, и кожной сенсibilизацией. Соответственно, ингибиторы янус-киназ или родственных киназ являются широко востребованными, и в нескольких публикациях сообщается об эффективных классах соединений. Например, селективный ингибитор JAK1 итацитиниб, {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, описан в публикациях заявок на патенты США №№ 2011/0224190 и 2015/0065484; и ингибитор JAK1/2 руксолитиниб, также известный как (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрил и INCB018424, который продается в виде фосфатной соли под торговыми названиями JAKAFI® и JAKAVI®, описан в патентах США №№ 7598257, 8415362 и 8722693, описание которых включено в данный документ посредством ссылки.

Представители семейства Rho-ассоциированных суперспиральных киназ, состоящего из Rho-ассоциированной киназы 1 (ROCK1) и Rho-ассоциированной киназы 2 (ROCK2), являются серинтреонинкиназами, которые активируются Rho ГТФазами. Rho-ассоциированные киназы вовлечены в широкий спектр клеточных процессов, включая воспаление (см., например, Flynn, R., *Blood*, 2016, 127(17), 2144-54). Хотя две изоформы ROCK похожи, они по-разному экспрессируются и регулируются в конкретных тканях. Например, ROCK1 экспрессируется повсеместно на относительно высоких уровнях, тогда как ROCK2 преимущественно экспрессируется в сердечной ткани, головном мозге и скелетных мышцах. Изоформы также экспрессируются в некоторых тканях и в зависимости от стадии развития.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данной заявке представлены, *среди прочего*, способы лечения заболевания или

нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD, англ. «graft versus host disease»), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS, англ. «restrictive allograft syndrome»), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD, англ. «chronic lung allograft dysfunction») и системного склероза (склеродермии) у субъекта, включающие введение субъекту

- (i) ингибитора янус-киназы (JAK) и
- (ii) ингибитора Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK).

Другие признаки, объекты и преимущества данного изобретения станут очевидны из описания и из формулы изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1 показана оценка болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD) на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD. Начиная с дня 21, мышам вводили среду-носитель, итацитиниб, белумосудил или итацитиниб+белумосудил.

На фиг. 2 показана общая нагрузка GVHD на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD после введение среды-носителя, итацитиниба, белумосудила или итацитиниба+белумосудила.

На фиг. 3 показана оценка болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD) на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD. Начиная с дня 21, мышам вводили среду-носитель, руксолитиниб, белумосудил или итацитиниб+белумосудил.

На фиг. 4 показана общая нагрузка GVHD на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD после введение среды-носителя, руксолитиниба, белумосудила или руксолитиниба+белумосудила.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS, англ. «bronchiolitis obliterans syndrome»)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) ингибитора янус-киназы (JAK) и
- (ii) ингибитора Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK).

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) ингибитора JAK1/2 и
- (ii) ингибитора ROCK.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина»

(GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) селективного ингибитора JAK1 и
- (ii) ингибитора ROCK.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) ингибитора JAK и
- (ii) ингибитора ROCK2.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) ингибитора JAK1/2 и
- (ii) ингибитора ROCK2.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) селективного ингибитора JAK1 и
- (ii) ингибитора ROCK2.

В способах, описанных в данном документе, используют ингибиторы пути JAK (*например*, ингибиторы JAK1/2, селективные ингибиторы JAK1 и т. п.) и ингибиторы ROCK (*например*, ингибиторы ROCK2), любой из которых может быть в форме фармацевтически приемлемой соли.

Ингибиторы пути JAK

I. Ингибиторы JAK1/2

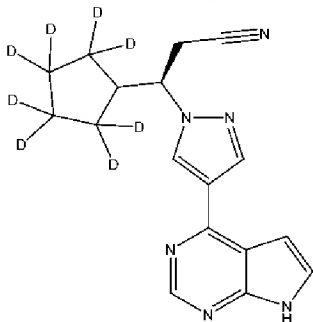
В некоторых вариантах осуществления в способах, представленных в данном документе, используют ингибитор JAK1/2.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой барицитиниб или его фармацевтически приемлемую соль.

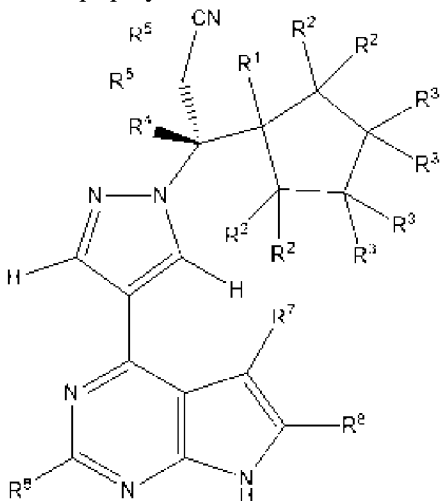
В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль (см., *например*, патент США № 7598257, описание которого включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте). В некоторых вариантах осуществления соль представляет собой

руксолитиниба фосфат (см., *например*, патент США № 8722693, описание которого включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой руксолитиниб или его фармацевтически приемлемую соль, где один или более атомов водорода заменены атомами дейтерия. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой любое из соединений в патенте США № 9249149 (который во всей своей полноте включен в данный документ посредством ссылки) или их фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой СТР-543 (соединение 111, имеющее приведенную ниже структуру) или его фармацевтически приемлемую соль,



В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой соединение формулы I:



или его фармацевтически приемлемую соль, где

R^1 выбран из H и D;

каждый R^2 независимо выбран из H и D, при условии, что каждый R^2 , присоединенный к общему углероду, является одинаковым;

каждый R^3 независимо выбран из H и D, при условии, что каждый R^3 , присоединенный к общему углероду, является одинаковым;

R^4 выбран из H и D;

каждый R^5 является одинаковым и выбран из H и D; и

каждый R^6 , R^7 и R^8 независимо выбран из H и D; при условии, что когда R^1 представляет собой H, каждый R^2 и каждый R^3 представляют собой H, R^4 представляет

собой H и каждый из R⁶, R⁷ и R⁸ представляет собой H, то каждый R⁵ представляет собой D.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой соединение формулы I, выбранное из следующих соединений 100-130 в приведенной ниже таблице (где каждый R⁶, R⁷ и R⁸ представляет собой H), или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соединение формулы I, выбранное из следующих соединений 200-231 в приведенной ниже таблице (где каждый R⁶, R⁷ и R⁸ представляет собой D), или его фармацевтически приемлемой соли.

Соединение	R ¹	Каждый R ²	Каждый R ³	R ⁴	Каждый R ⁵
100	H	H	H	D	H
101	H	H	H	H	D
102	H	H	H	D	D
103	H	H	D	H	H
104	H	H	D	D	H
105	H	H	D	H	D
106	H	H	D	D	D
107	H	D	H	H	H
108	H	D	H	D	H
109	H	D	H	H	D
110	H	D	H	D	D
111	H	D	D	H	H
112	H	D	D	D	H
113	H	D	D	H	D
114	H	D	D	D	D
115	D	H	H	H	H
116	D	H	H	D	H
117	D	H	H	H	D
118	D	H	H	D	D
119	D	H	D	H	H
120	D	H	D	D	H
121	D	H	D	H	D
122	D	H	D	D	D

123	D	D	H	H	H
124	D	D	H	D	H
125	D	D	H	H	D
126	D	D	H	D	D
127	D	D	D	H	H
128	D	D	D	D	H
129	D	D	D	H	D
130	D	D	D	D	D
200	H	H	H	D	H
201	H	H	H	H	D
202	H	H	H	D	D
203	H	H	D	H	H
204	H	H	D	D	H
205	H	H	D	H	D
206	H	H	D	D	D
207	H	D	H	H	H
208	H	D	H	D	H
209	H	D	H	H	D
210	H	D	H	D	D
211	H	D	D	H	H
212	H	D	D	D	H
213	H	D	D	H	D
214	H	D	D	D	D
215	D	H	H	H	H
216	D	H	H	D	H
217	D	H	H	H	D
218	D	H	H	D	D
219	D	H	D	H	H
220	D	H	D	D	H
221	D	H	D	H	D
222	D	H	D	D	D
223	D	D	H	H	H

224	D	D	H	D	H
225	D	D	H	H	D
226	D	D	H	D	D
227	D	D	D	H	H
228	D	D	D	D	H
229	D	D	D	H	D
230	D	D	D	D	D
231	H	H	H	H	H

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 представляет собой барицитиниб, где один или более атомов водорода заменены атомами дейтерия, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой любое из соединений в патенте США № 9540367 (который во всей своей полноте включен в данный документ посредством ссылки) или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1/2 или его фармацевтически приемлемая соль представляет собой оклацитиниб, момелотиниб, или брепоцитиниб или их фармацевтически приемлемую соль.

II. Селективные ингибиторы JAK1

В некоторых вариантах осуществления в способах используют ингибитор JAK1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1 или его фармацевтически приемлемая соль представляет собой упадацитиниб, филготиниб или аброцитиниб или их фармацевтически приемлемую соль.

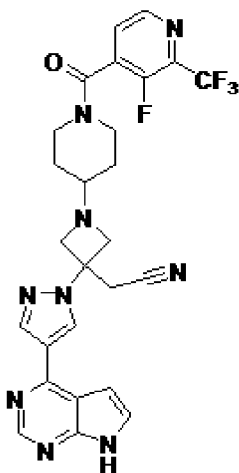
В некоторых вариантах осуществления в способах, представленных в данном документе, используют селективные ингибиторы JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, которое предпочтительно ингибирует активность JAK1 по сравнению с другими янус-киназами. JAK1 играет центральную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, нарушение регуляции которых может приводить к болезненным состояниям или способствовать их возникновению. Например, уровни IL-6 повышаются при ревматоидном артрите - заболевании, при котором, как предполагается, он оказывает пагубное воздействие (Fonesca, et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку IL-6 передает сигнал, по меньшей мере частично, через JAK1, IL-6 может быть опосредованно ингибирован через JAK1, что приводит к потенциальной клинической пользе (Guschin, et al. *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, et al. *Lancet* 371:987, 2008). При других аутоиммунных заболеваниях и раке повышенные системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, также могут способствовать заболеванию и/или ассоциированным с ним симптомам. Следовательно, ингибирование JAK1 может помочь пациентам с такими заболеваниями. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, избегая при этом ненужных и потенциально нежелательных эффектов

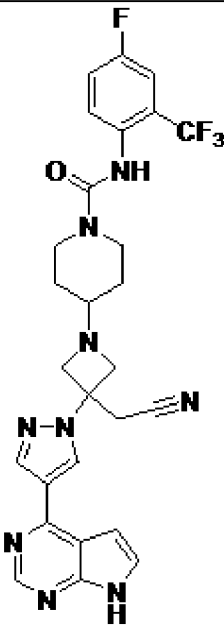
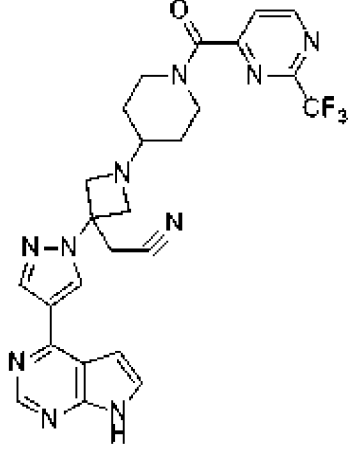
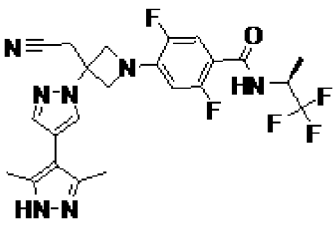
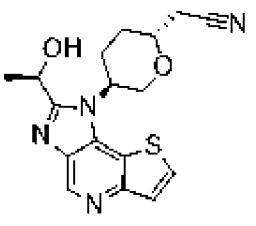
ингибирования других киназ JAK. Кроме того, ингибирование JAK1 также исследуется на предмет участия в индуцированном CAR-T-клетками выбросе цитокинов при цитокиновом шторме (CRS) (NCT04071366).

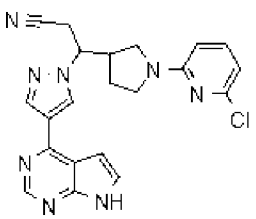
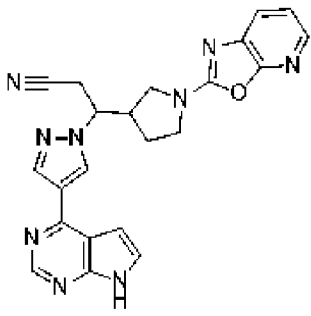
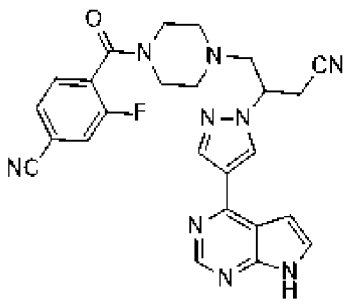
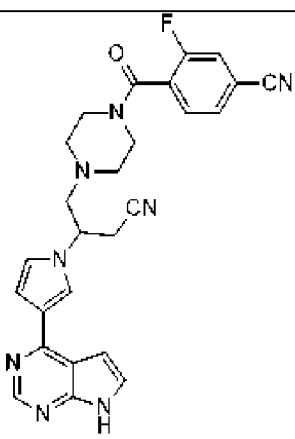
Селективные ингибиторы JAK1, описанные в данном документе, или их фармацевтически приемлемые соли предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с одной или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах осуществления селективные ингибиторы JAK1 ингибируют JAK1 предпочтительно по сравнению с JAK2 (например, имеют соотношение $IC_{50} \text{ JAK2/JAK1} > 1$). В некоторых вариантах осуществления селективные ингибиторы JAK1 или соли в приблизительно 10 раз более селективны в отношении JAK1 по сравнению с JAK2. В некоторых вариантах осуществления селективные ингибиторы JAK1 или соли в приблизительно 3 раза, в приблизительно 5 раз, в приблизительно 10 раз, в приблизительно 15 раз или в приблизительно 20 раз более селективны в отношении JAK1, чем JAK2, как рассчитано путем измерения IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

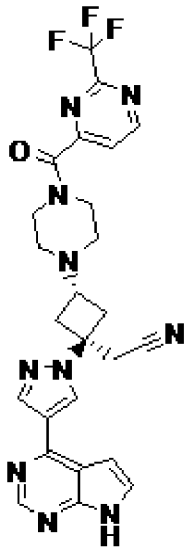
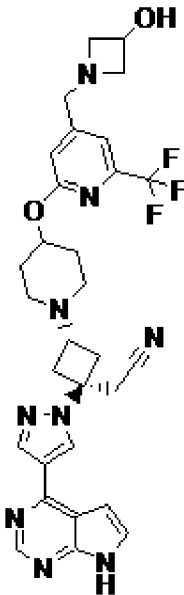
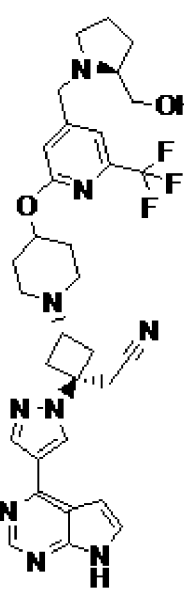
В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение из таблицы 1 или его фармацевтически приемлемую соль. Значения IC_{50} , полученные с помощью способа примера А при 1 мМ АТФ, показаны в таблице 1.

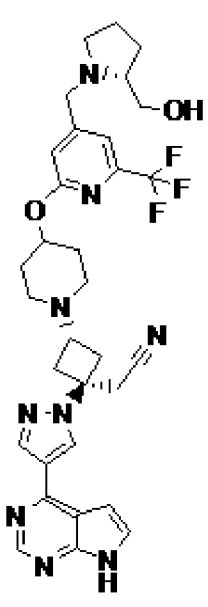
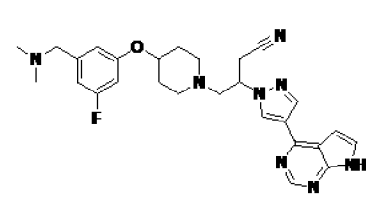
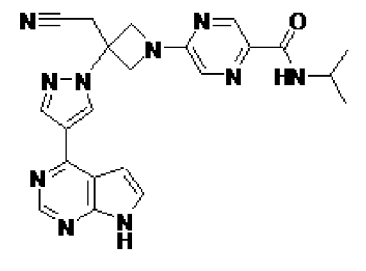
Таблица 1.

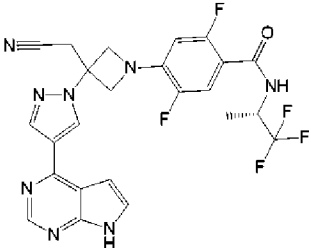
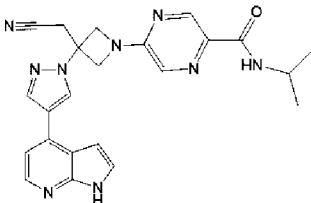
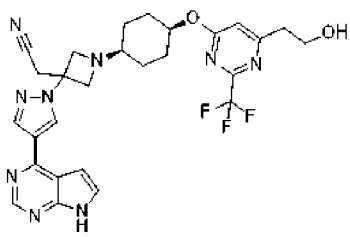
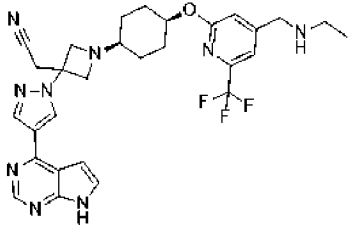
Соединение №	Получение	Название	Структура	JAK1 IC_{50} (нМ)	JAK2/JAK1
1	US 2011/0224190 (Пример 1)	{1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10

2	US 2011/0224190 (Пример 154)	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид		+	>10
3	US 2011/0224190 (Пример 85)	[3-[4-(7H-Пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]-1-(1-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрил		+	>10
4	US 2014/0343030 (Пример 7)	4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид		+++	>10
5	US 2014/0121198 (Пример 20)	((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-Гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-		++	>10

		пиран-2-ил)ацетонитрил			
6	US 2010/0298334 (Пример 2) ^a	3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	>10
7	US 2010/0298334 (Пример 13с)	3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	>10
8	US 2011/0059951 (Пример 12)	4-[(4-{3-Циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	>10
9	US 2011/0059951 (Пример 13)	4-[(4-{3-Циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	>10

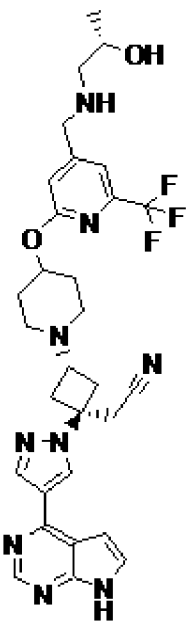
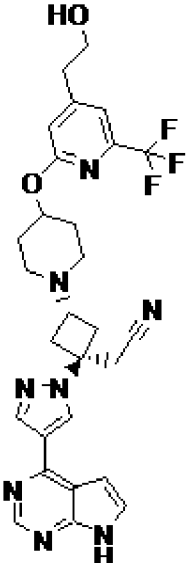
10	US 2012/ 0149681 (Пример 7b)	[Транс-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1-ил]-3- (4-{[2- (трифторметил)пирим идин-4- ил]карбонил}пипераз ин-1- ил)циклобутил]ацето нитрил		+	>10
11	US 2012/ 0149681 (Пример 157)	{Транс-3-(4-{[4-[(3- гидроксиазетидин-1- ил)метил]-6- (трифторметил)пирид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

		ил]циклобутил}ацето нитрил			
13	US 2012/ 0149681 (Пример 162)	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4- {[(2R)-2- (гидроксиметил)пирр олидин-1-ил]метил}- 6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси}пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7H- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1H-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10
14	US 2012/ 0149682 (Пример 20) ^b	4-(4-{3- [(Диметиламино)мети л]-5- фторфенокси}пипери дин-1-ил)-3-[4-(7H- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1H-пиразол-1- ил]бутаннитрил		+	>10
15	US 2013/ 0018034 (Пример 18)	5-{3-(Цианометил)-3- [4-(7H-пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1H-пиразол-1- ил]азетидин-1-ил}-N- изопропилпиразин-2- карбоксамид		+	>10

16	US 2013/ 0018034 (Пример 28)	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид		+	>10
17	US 2013/ 0018034 (Пример 34)	5-{3-(Цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид		+	>10
18	US 2013/ 0045963 (Пример 45)	{1-(Цис-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
19	US 2013/ 0045963 (Пример 65)	{1-(Цис-4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-		+	>10

		ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил			
20	US 2013/0045963 (Пример 69)	{1-(Цис-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
21	US 2013/0045963 (Пример 95)	{1-(Цис-4-{[4-{[(3R)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
22	US 2013/0045963 (Пример 95)	{1-(Цис-4-{[4-{[(3S)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-		+	>10

		пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил			
23	US 2014/0005166 (Пример 1)	{ <i>Транс</i> -3-(4-{[4-(([(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино)метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
24	US 2014/0005166 (Пример 14)	{ <i>Транс</i> -3-(4-{[4-(([(2R)-2-гидроксипропил]амино)метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10

25	US 2014/ 0005166 (Пример 15)	{Транс-3-(4-{[4- ({(2S)-2- гидроксипропил]амин о}метил)-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси}пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10
26	US 2014/ 0005166 (Пример 20)	{Транс-3-(4-{[4-(2- гидроксиэтил)-6- (трифторметил)пирид ин-2- ил]окси}пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7Н- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил)- 1Н-пиразол-1- ил]циклобутил}ацето нитрил		+	>10

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

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

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

^a Данные для энантиомера 1.

^b Данные для энантиомера 2.

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

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соль адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-

1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

Синтез и получение {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и его соли адипиновой кислоты можно найти, например, в патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., патентной публикации США № 2013/0060026, поданной 6 сентября 2012 г., и патентной публикации США № 2014/0256941, поданной 5 марта 2014 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

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

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

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

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

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

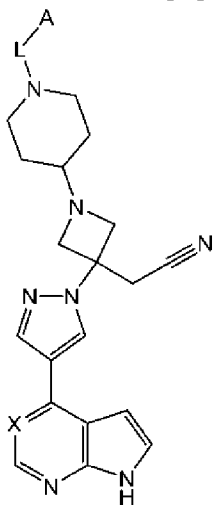
Синтез ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)ацетонитрила и характеристика его безводной и моногидратной форм описаны в патентной публикации США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г. и патентной публикации США № 2015/0344497, поданной 29 апреля 2015 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В некоторых вариантах осуществления соединения из таблицы 1 получают процедурами синтеза, описанными в патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., патентной публикации США № 2014/0343030, поданной 16 мая 2014 г., патентной публикации США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г., патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США 2013/0018034,

поданной 19 июня 2012 г., патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

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

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение формулы II:



I

или его фармацевтически приемлемую соль, где

X представляет собой N или CH;

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

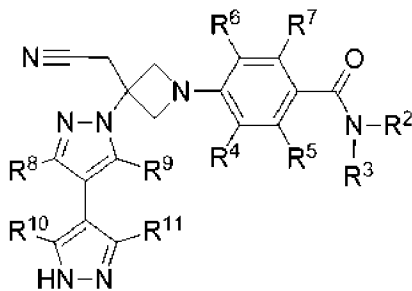
A представляет собой фенил, пиридинил или пиримидинил, каждый из которых необязательно замещен 1 или 2 независимо выбранными группами R¹; и каждый R¹ независимо представляет собой фтор или трифторметил.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы II представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пирразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы II представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы II представляет собой [3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-1-(1-{2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}карбонил)пиперидин-4-ил]азетидин-3-ил]ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение формулы III:



II

или его фармацевтически приемлемую соль, где

R² представляет собой C₁₋₆алкил, C₁₋₆галогеналкил, C₃₋₆циклоалкил или C₃₋₆циклоалкил-C₁₋₃алкил, причем указанный каждый C₁₋₆алкил, C₃₋₆циклоалкил и C₃₋₆циклоалкил-C₁₋₃алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из фтора, -CF₃ и метила;

R³ представляет собой H или метил;

R⁴ представляет собой H, F или Cl;

R⁵ представляет собой H или F;

R⁶ представляет собой H или F;

R⁷ представляет собой H или F;

R⁸ представляет собой H или метил;

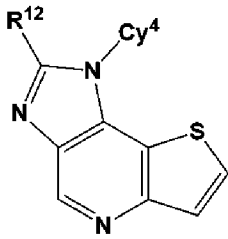
R⁹ представляет собой H или метил;

R¹⁰ представляет собой H или метил; и

R¹¹ представляет собой H или метил.

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

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение формулы IV:



III

или его фармацевтически приемлемую соль, где

Cy⁴ представляет собой тетрагидро-2H-пирановое кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 группами, независимо выбранными из CN, OH, F, Cl, C₁₋₃алкила, C₁₋₃галогеналкила, циано-C₁₋₃алкила, HO-C₁₋₃алкила, амина, C₁₋₃алкиламино и ди(C₁₋₃алкил)амино, причем указанный C₁₋₃алкил и ди(C₁₋₃алкил)амин необязательно замещены 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из F, Cl, C₁₋₃алкиламиносульфонила и C₁₋₃алкилсульфонила; и

R¹² представляет собой -CH₂-OH, -CH(CH₃)-OH или -CH₂-NHSO₂CH₃.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы IV представляет собой ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

Ингибиторы ROCK

Примеры ингибитора Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы включают без ограничения (*R*)-*транс*-N-(пиридин-4-ил)-4-(1-аминоэтил)циклогексанкарбоксамид, (*R*)-(+)-N-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-4-(1-аминоэтил)бензамид или подобные, как описано в WO98/06433 и WO00/09162; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как 1-(5-изохинолинсульфонил)гомопиперазин, 1-(5-изохинолинсульфонил)-2-метилпиперазин или подобные, как описано в WO97/23222; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как (1-бензилпирролидин-3-ил)-(1H-индазол-5-ил)амин или подобные, как описано в WO01/56988; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как (1-бензилпиперидин-4-ил)-(1H-индазол-5-ил)амин или подобные, как описано в WO02/100833; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как N-[2-(4-фторфенил)-6,7-диметокси-4-хиназолинил]-N-(1H-индазол-5-ил)амин или подобные, как описано в WO02/076976; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как N-4-(1H-индазол-5-ил)-6,7-диметокси-N-2-пиридин-4-ил-хиназолин-2,4-диамин или подобные, как описано в WO02/076977; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как 4-метил-5-(2-метил-[1,4]дiazепин-1-сульфонил)изохинолин или подобные, как описано в WO99/64011; ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как (*S*)-(-)-1-(4-фтор-5-изохинолинсульфонил)-2-метил-1,4-гомопиперазин или подобные, как описано в WO2006/068208; и ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такой как 4-(3-амино-1-(изохинолин-6-иламино)-1-оксопропан-2-ил)бензил-2,4-диметилбензоат или подобные, как описано в WO2010/126626. Каждое из

описаний международных патентных публикаций №№ WO98/06433, WO00/09162, WO97/23222, WO01/56988, WO02/100833, WO02/076976, WO02/076977, WO99/64011, WO2006/068208 и WO2010/126626 включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы представляет собой рипасудил или (S)-(-)-1-(4-фтор-5-изохинолинсульфонил)-2-метил-1,4-гомопиперазин или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы представляет собой нетарсудил или [4-[(1S)-1-(аминометил)-2-(изохинолин-6-иламино)-2-оксоэтил]фенил]метил-2,4-диметилбензоат или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы представляет собой фасудил или 5-(1,4-дiazепин-1-сульфонил)изохинолин.

Дополнительные ингибиторы Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы включают без ограничения производные 4-замещенного пиперидона, такие как описанные в патентах США №№ 7572913 и 6140333 (*например*, BA-1049, BA-1041, BA-1042, BA-1043, BA-1044, BA-1050 и BA-1051), Y27632 [(R)-(+)-*транс*-4-(1-аминоэтил)-N-(4-пиридил)циклогексан-карбоксамид в виде дигидрохлоридной соли], который инактивирует и ROCK1, и ROCK2 (см. *например*, Ishizaki et al. *Mol. Pharmacol.* 2000, 57:976; и патент США № 4997834), ингибиторы Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы, такие как описанные в патенте США № 9815820 (*например*, белумосудил или SLx-2119), HA-1077 (см. *например*, Zhao et al. *Neurol. Med. Chir.*, (2011), (Токуо) 51:679-683), и основанные на азаиндоле ингибиторы Rho-киназы, такие как 6-хлор-N4-(3,5-дифтор-4-{{3-метил-1H-пирроло {2,3-b}пиридин-4-ил}окси}-фенил)-пиримидин-2,4-диамин (азаиндолил) (см. *например*, Kast et al. *Brit. J. Pharmacol.* 2007, 152:1070-1080). Каждое из описаний патентов США №№ 4997834, 6140333, 7572913 и 9815820 включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной протеинкиназы представляет собой ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной киназы 2 (ингибитор ROCK2).

В некоторых вариантах осуществления ингибитор Rho-ассоциированной суперспиральной киназы 2 представляет собой белумосудил (*т. е.* 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-пропилацетамид) или его фармацевтически приемлемую соль.

Способы применения

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой болезнь «трансплантат против хозяина». В некоторых вариантах осуществления болезнь «трансплантат против хозяина» представляет собой хроническую болезнь

«трансплантат против хозяина». В некоторых вариантах осуществления болезнь «трансплантат против хозяина» представляет собой склеродермальную хроническую болезнь «трансплантат против хозяина». В некоторых вариантах осуществления болезнь «трансплантат против хозяина» представляет собой острую болезнь «трансплантат против хозяина».

Итацитиниб, селективный ингибитор пути JAK1, в настоящее время проходит клиническое исследование для лечения как острой, так и хронической GVHD после HSCT. Хроническая GVHD (сGVHD) может поражать любой орган в организме, чаще всего - кожу, печень и кишечник. Хроническая GVHD может также поражать легкие и имеет клиническую картину, почти идентичную BOS после трансплантации легкого. Корреляция между сGVHD легкого и BOS после трансплантации легкого была впервые описана в 1995 г., когда были собраны клинические данные и ткань 9 пациентов с сGVHD легкого и BOS после трансплантации легкого. Обе группы имели сходные признаки и симптомы, включая прогрессирующую одышку и паттерн необратимой обструкции, а также сходные результаты и гистологию, в том числе диффузное воспаление, приводящее к эктазии крупных бронхов (Philit et al., *Eur. Respir. J.* 1995, 8:551-558).

сGVHD легкого инициируется в процессе трансплантации при развитии повреждения нормальной ткани, которое приводит к ответной реакции повреждения ткани, характеризующейся высвобождением цитокинов, агонистов toll-подобных рецепторов, нейтрофилов, тромбоцитов и воспалением сосудов (Cooke et al, *Biol. Blood Marrow Transplant* 2017, 23:211-234). CD4 и CD8 клетки, а также Th17 клетки рекрутируются на участок, однако из-за повреждения или дисфункции тимической ткани нарушается негативная селекция этих клеток и сохраняются аутореактивные клоны Т-клеток. Кроме того, необходимые режимы иммуносупрессии, используемые при сGVHD, включая CN1, приводят к истощению T_{reg}. В конечном итоге, первоначальный Т-клеточный ответ приводит к активации множества врожденных и адаптивных иммунных клеток, включая Т-, В- и NK-клетки, а также APC, на участке, что приводит к активации провоспалительных цитокинов TGF β , PDGF α , TNF α и IL17. Это хроническое воспаление и рекрутирование фибробластов заканчивается отложением коллагена в целевых органах, а при продолжающейся дисфункции - фиброзом (Cooke et al, *Biol. Blood Marrow Transplant* 2017, 23:211-234).

Кроме того, на мышинных моделях было продемонстрировано, что профилактическое и терапевтическое введение дозы итацитиниба приводило к улучшению оценки GVHD при 60 мг/кг в день или 120 мг/кг в день, что указывает на клиническую эффективность в аллореактивной мышинной модели. Ингибиторы JAK руксолитиниб (ингибитор JAK1/2) и итацитиниб продемонстрировали клиническую эффективность при острой GVHD (аGVHD); кроме того, руксолитиниб показал клиническую эффективность при хронической GVHD (сGVHD).

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого (CLAD). В некоторых

вариантах осуществления хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD) представляет собой синдром облитерирующего бронхиолита (BOS).

Диагноз BOS после трансплантации легкого может быть поставлен клинически и может определяться стойким снижением функции легкого, измеряемой с помощью FEV₁. Для постановки диагноза BOS после трансплантации легкого другие причины ухудшения состояния после трансплантации, включая острое отторжение, инфекцию, проблемы с нативным легким у реципиентов с одним легким, чрезмерное увеличение массы реципиента, дисфункцию анастомоза, дисфункцию дыхательных мышц, выпот или технические проблемы, такие как ошибочные измерения из-за дисфункции устройства, а также другие, могут быть исключены как причина дисфункции легочного трансплантата. (Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503). Схема классификации BOS, принятая система градации BOS после трансплантации легкого, может быть основана на спирометрическом оценивании стойкого снижения FEV₁ до $\leq 80\%$ от исходного уровня FEV₁ после трансплантации. Исходный уровень можно определить как среднее значение двух лучших значений FEV₁ (или FEF_{25-75%}) через ≥ 3 недели после функционального восстановления и стабилизации после трансплантации легкого. Последнее обновление, представленное ниже, включает новую классификацию, степень Op, которая была добавлена для обеспечения ранней диагностики BOS после трансплантации легкого. (Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503). Table 1 was adapted from Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503, которая тем самым включена посредством ссылки во всей своей полноте. FEV₁: объем форсированного выдоха за 1 секунду; FEF_{25-75%}: скорость форсированного выдоха при 25-75% жизненной емкости легких.

Таблица А. Схема классификации BOS

Степень BOS	Определение
0	FEV ₁ > 90% и FEF _{25-75%} > 75%
Op	FEV ₁ 81-90% и FEF _{25-75%} \leq 75%
1	FEV ₁ 66-80%
2	FEV ₁ 51-65%
3	FEV ₁ \leq 50%

Многие из тех же биологических принципов, связанных с cGVHD, присущи и BOS после трансплантации легкого. Основное различие заключается в том, что при cGVHD иммунный ответ является aberrантным и приводит к тому, что трансплантированные стволовые клетки атакуют ткани хозяина, тогда как при BOS после трансплантации легкого иммунный ответ является физиологически нормальным, хотя он все еще приводит к плохим исходам для пациентов. При BOS после трансплантации легкого провоцирующее событие для развития аллореактивной фазы острого воспаления очевидно, а именно имплантация аллогенного трансплантата легкого; однако следует отметить, что подобно cGVHD, пациенты с событиями, приводящими к повреждению ткани трансплантата, включая эпизод острого отторжения после трансплантации, инфекцию CMV, а также другие явления

повреждения ткани, такие как GERD и время холодовой ишемии, более склонны к развитию BOS после трансплантации легкого (Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503). Дисфункция тимической ткани, наблюдаемая при cGVHD, не имеет отношения к BOS после трансплантации легкого, поскольку аллореактивные Т-клетки не будут подвергаться негативному отбору. Важно, однако, что роли для ранней инфильтрации CD4, CD8 и Th17 клеток, а также последующего рекрутинга В-клеток, NK-клеток и APC, хорошо задокументированы при BOS после трансплантации легкого, даже если они являются физиологически целесообразными (Boehler и Estenne, *Eur. Respir. J.* 2003, 22:1007-1018; Gupta et al., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2017, 56:708-715; Fukami et al., *Am. J. Transplant*, 2012, 12:867-876; Hodge et al, *J. Heart Lung Transplant*, 2012, 31:888-895, Leonard et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000, 161:1349-1354). Подобно cGVHD, в поддерживающих режимах иммуносупрессии применяют CNI, что приводит к истощению и ингибированию T_{рег} (Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503). Наконец, каждый из известных цитокинов, включая TGF β , PDGF α , TNF α и IL-17, а также клеточные медиаторы aberrантного восстановления тканей, имеет документально подтвержденное присутствие при BOS после трансплантации легкого.

Стандарта лечения или консенсусного алгоритма лечения BOS не существует, и проводятся несколько высококачественных рандомизированных испытаний, которые демонстрируют явную пользу для пациентов с BOS (Meyer, K. C., et al. *Eur. Respir. J.* 2014; 44: 1479-1503).

Следует отметить, что у 4 из 5 пациентов в исследовании с cGVHD легкого наблюдались ответы FEV₁, определяемые увеличением FEV₁ на $\geq 10\%$. Кроме того, исследование, в котором изучалось применение руксолитиниба у 5 педиатрических пациентов (4 оцениваемых) с cGVHD легкого, продемонстрировало 2 ответа, при этом у 1 пациента увеличение FEV₁ составило 9%. Четыре из пяти пациентов смогли полностью отказаться от стероидов, а последний пациент смог снизить потребность в стероидах на $> 50\%$ (Schoettler et al, *Bone Marrow Transplantation*, 2019, 54:1158-1160. В дополнение к руксолитинибу итацитиниб продемонстрировал значительную клиническую активность у пациентов с aGVHD. В недавнем исследовании оценивалась безопасность и эффективность 2 доз итацитиниба, 200 мг QD и 300 мг QD, у пациентов с aGVHD, ранее не получавших лечения или рефрактерных в отношении стероидов.

В некоторых вариантах осуществления субъект является реципиентом трансплантата легкого (*например*, реципиентом трансплантата одного легкого или реципиентом трансплантата двух легких).

В некоторых вариантах осуществления субъект является реципиентом трансплантата двух легких.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 0 степени, 0p степени, 1 степени, 2 степени или 3 степени, как определено критериями Международного общества по трансплантации сердца и легких (ISHLT).

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 0р степени, 1 степени, 2 степени или 3 степени, как определено критериями Международного общества по трансплантации сердца и легких (ISHLT).

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 1 степени или 2 степени, как определено критериями Международного общества по трансплантации сердца и легких (ISHLT).

В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается фракционное снижение FEV_1 до менее чем или приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% от исходного уровня FEV_1 после трансплантации. Эти значения могут быть использованы для определения диапазона, такого как от приблизительно 50% до приблизительно 75%.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается значение $FEF_{25-75\%}$ более чем, менее чем или приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%. Эти значения могут быть использованы для определения диапазона, такого как от приблизительно 60% до приблизительно 80%.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 0 степени, где синдром облитерирующего бронхиолита 0 степени определяют как фракционное снижение FEV_1 до менее чем 100%, но более чем 90% исходного уровня FEV_1 после трансплантации и/или исходного уровня $FEF_{25-75\%}$ более чем 75% исходного уровня после трансплантации.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 0р степени, где синдром облитерирующего бронхиолита 0р степени определяют как фракционное снижение FEV_1 до 81-90% исходного уровня FEV_1 после трансплантации и/или исходного уровня $FEF_{25-75\%}$, менее чем или равного 75% исходного уровня после трансплантации.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 1 степени, где синдром облитерирующего бронхиолита 1 степени определяют как фракционное снижение FEV_1 до 66-80% исходного уровня FEV_1 после трансплантации.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 2 степени, где синдром облитерирующего бронхиолита 2 степени определяют как фракционное снижение FEV_1 до 51-65% исходного уровня FEV_1 после трансплантации.

В некоторых вариантах осуществления субъект страдает синдромом облитерирующего бронхиолита 3 степени, где синдром облитерирующего бронхиолита 3 степени определяют как фракционное снижение FEV_1 до менее чем или равного 50% исходного уровня FEV_1 после трансплантации.

В некоторых вариантах осуществления лечение синдрома облитерирующего бронхиолита включает приблизительно или более чем приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%,

25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% увеличение FEV₁ через приблизительно 4 недели, 8 недель, 12 недель, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев или 6 месяцев после первого введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления лечение синдрома облитерирующего бронхиолита включает приблизительно или более чем приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% увеличение FEV₁ через приблизительно 4 недели, 8 недель, 12 недель, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев или 6 месяцев после первого введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления лечение синдрома облитерирующего бронхиолита включает приблизительно или более чем приблизительно 10% увеличение FEV₁ через приблизительно 12 недель после первого введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления лечение синдрома облитерирующего бронхиолита включает приблизительно 10% или большее увеличение FEV₁ через двенадцать недель после первого введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ снижения риска развития синдрома облитерирующего бронхиолита у субъекта, при этом указанный способ включает введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ снижения риска повторной трансплантации легкого у субъекта, при этом указанный способ включает введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ улучшения FEV₁ у субъекта с синдромом облитерирующего бронхиолита, при этом способ включает введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ улучшения качества жизни у субъекта с синдромом облитерирующего бронхиолита, при этом способ включает введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ снижения смертности, снижения прогрессирующей бронхолярной эктазии, снижения органной недостаточности, снижения ухудшения функции легких, усиления восстановления и стабилизации после трансплантации легкого, снижения госпитализации, снижения использования медицинских услуг и/или снижения риска повторной трансплантации, а также обеспечения других потенциальных преимуществ, как представлено в данном документе, у субъекта, при этом способ включает введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ снижения риска госпитализации у субъекта, при этом указанный способ включает введение указанному субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе, где указанный субъект (а) имеет диагноз синдрома облитерирующего бронхиолита; (b) имел трансплантацию легкого в течение 1-5 лет до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK, и (c) не имеет снижения FEV₁, связанного с причиной, отличной от синдрома облитерирующего бронхиолита.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения синдрома облитерирующего бронхиолита, не связанного с трансплантацией, у субъекта, включающий введение субъекту ингибитора JAK и ингибитора ROCK, как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой синдром рестриктивного аллотрансплантата (RAS).

В некоторых вариантах осуществления заболевание или нарушение представляет собой системный склероз (склеродермию).

Доза и введение

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 1 мг до приблизительно 2000 мг, от приблизительно 10 мг до приблизительно 2000 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 2000 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 50 мг до приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве приблизительно 50 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 325 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 425 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 525 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 625 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 725 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 825 мг, приблизительно 850 мг, приблизительно 875 мг, приблизительно 900 мг, приблизительно 925 мг, приблизительно 950 мг, приблизительно 975 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1025 мг, приблизительно 1050 мг, приблизительно 1075 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1125 мг, приблизительно 1150 мг, приблизительно 1175 мг или приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 200 мг до приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в

суточном количестве от приблизительно 200 мг до приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание в дни 1-28 28-дневного цикла лечения. Суточное количество от приблизительно 200 мг до приблизительно 1200 мг может быть введено дважды в сутки, например, отдельными дозами от приблизительно 100 мг до приблизительно 600 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 100 мг до приблизительно 600 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 100 мг до приблизительно 600 мг в пересчете на свободное основание в дни 1-28 28-дневного цикла лечения.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту один раз в сутки.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK вводят субъекту дважды в сутки.

В некоторых вариантах осуществления дозу ингибитора JAK вводят субъекту в виде одной или более лекарственных форм с замедленным высвобождением. Лекарственные формы с замедленным высвобождением ингибитора JAK {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли (таблица 1, соединение 1) можно найти в патентах США №№ 9655854 и 10561616, которые включены в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления дозу ингибитора JAK вводят в виде одной или более лекарственных форм с немедленным высвобождением.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 1 мг до приблизительно 2000 мг, от приблизительно 10 мг до приблизительно 2000 мг или от приблизительно 100 мг до приблизительно 2000 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в суточном количестве от приблизительно 50 мг до приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в суточном количестве приблизительно 50 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 325 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 425 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 525 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 625 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 725 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг, приблизительно 800 мг, приблизительно 825 мг, приблизительно 850 мг, приблизительно 875 мг,

приблизительно 900 мг, приблизительно 925 мг, приблизительно 950 мг, приблизительно 975 мг, приблизительно 1000 мг, приблизительно 1025 мг, приблизительно 1050 мг, приблизительно 1075 мг, приблизительно 1100 мг, приблизительно 1125 мг, приблизительно 1150 мг, приблизительно 1175 мг или приблизительно 1200 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 300 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве приблизительно 100 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве приблизительно 150 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве приблизительно 200 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве приблизительно 250 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту в количестве приблизительно 300 мг/кг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту один раз в сутки.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор ROCK вводят субъекту дважды в сутки.

В некоторых вариантах осуществления дозу ингибитора ROCK вводят субъекту в виде одной или более лекарственных форм замедленного высвобождения.

В некоторых вариантах осуществления дозу ингибитора ROCK вводят в виде одной или более лекарственных форм немедленного высвобождения.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK и ингибитор ROCK вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK и ингибитор ROCK вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления каждый из ингибитора JAK и ингибитора ROCK вводят один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления каждый из ингибитора JAK и ингибитора ROCK вводят перорально один раз в сутки. В некоторых вариантах осуществления каждый из ингибитора JAK и ингибитора ROCK вводят дважды в сутки. В некоторых вариантах осуществления каждый из ингибитора JAK и ингибитора ROCK вводят перорально дважды в сутки.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение одного или более симптомов заболевания или нарушения, представленных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение одного или более симптомов GVHD (*например, по определению с помощью оценки GVHD*) у субъекта по сравнению с одним или более симптомами до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK снижает или останавливает прогрессирование одного или более симптомов заболевания или нарушения, представленных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK снижает или останавливает прогрессирование одного или более симптомов GVHD (*например, по определению с помощью оценки GVHD*) у субъекта по сравнению с одним или более симптомами до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает снижение оценки GVHD субъекта по сравнению с оценкой GVHD субъекта до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, в некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает снижение оценки GVHD субъекта от 4 до 3, от 4 до 2, от 4 до 1, от 4 до 0, от 3 до 2, от 3 до 1, от 3 до 0, от 2 до 1, от 2 до 0 или от 1 до 0. Оценивание с помощью оценки склеродермальной GVHD представлено в данном документе в примере 1, таблице 3.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение одного или более показателей из потери массы субъекта, осанки субъекта, активности субъекта, структуры волос субъекта и целостности кожи субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению с потерей массы субъекта, осанкой субъекта, активностью субъекта, структурой волос субъекта и целостностью кожи субъекта до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK.

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает положительное изменение в отношении потери массы субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению с потерей массы субъекта по определению с помощью оценки GVHD, до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, у субъекта с потерей массы > 15% до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK (4 степень по определению с помощью оценки GVHD), введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK может уменьшить потерю массы субъекта до 10% - 15% (3 степень по определению с помощью оценки GVHD), 5% - 10% (2 степень по определению с помощью оценки GVHD), 0% - 5% (1 степень по определению с помощью оценки GVHD) или обеспечить отсутствие потери массы (0 степень по определению с помощью оценки GVHD).

В некоторых вариантах осуществления введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение осанки субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению с осанкой субъекта по определению с помощью оценки GVHD, до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, у субъекта, демонстрирующего сильную сгорбленную осанку до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK (степень 3

по определению с помощью оценки GVHD), введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK может улучшить осанку субъекта до умеренно сгорбленной осанки (степень 2 по определению с помощью оценки GVHD), слабо сгорбленной осанки (степень 1 по определению с помощью оценки GVHD) или нормальной осанки (степень 0 по определению с помощью оценки GVHD).

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение активности субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению с активностью субъекта по определению с помощью оценки GVHD, до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, у субъекта, демонстрирующего неподвижность до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK (степень 3 по определению с помощью оценки GVHD), введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK может улучшить активность субъекта до замедленной походки с отказом двигаться при прикосновении (степень 2 по определению с помощью оценки GVHD), замедленной походки (степень 1 по определению с помощью оценки GVHD) или нормальной активности (степень 0 по определению с помощью оценки GVHD).

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение структуры волос субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению со структурой волос субъекта по определению с помощью оценки GVHD, до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, у субъекта, демонстрирующего полное выпадение волос или выпадение волос на площади $> 1 \text{ см}^2$ до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK (4 степень по определению с помощью оценки GVHD), введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK может улучшить структуру волос субъекта до выпадения волос на отдельном участке площадью $> 1 \text{ см}^2$ (3 степень по определению с помощью оценки GVHD), выпадения волос на отдельном участке площадью $< 1 \text{ см}^2$ (2 степень по определению с помощью оценки GVHD), взъерошенных волос с небольшим количеством выпавших волос (1 степень по определению с помощью оценки GVHD) или нормальной структуры волос (0 степень как измерено с помощью оценки GVHD).

В некоторых вариантах осуществления введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK обеспечивает улучшение целостности кожи субъекта по определению с помощью оценки GVHD, по сравнению со структурой волос субъекта по определению с помощью оценки GVHD, до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK. Например, у субъекта, демонстрирующего образование струпьев или кровоточивость с множественными поражениями до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK (4 степень по определению с помощью оценки GVHD), введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK может улучшить целостность кожи субъекта до образования струпьев или кровоточивости с одним поражением (3 степень по определению с помощью оценки GVHD), шелушения/отслаивания кожи с одним поражением (2 степень по определению с помощью оценки GVHD), поражения с покраснением/раздражением кожи (1 степень по определению с помощью оценки GVHD) или нормальной целостности кожи (0 степень по определению

с помощью оценки GVHD).

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой

соли и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 150 мг до приблизительно 250 мг {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание; 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 150 мг до приблизительно 250 мг соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 200 мг {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание; 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 200 мг соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта,

включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и приблизительно 150 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 150 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 150 мг до приблизительно 250 мг {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту от приблизительно 150 мг до приблизительно 250 мг соли

адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и от приблизительно 100 мг/кг до приблизительно 200 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 200 мг {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и приблизительно 150 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту приблизительно 200 мг соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и 150 мг/кг 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту (R)-3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту (R)-3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту фосфата (R)-3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила и 2-(3-(4-((1Н-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения

хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту фосфата (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах осуществления в данной заявке представлен способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту фосфата (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или его фармацевтически приемлемой соли.

Варианты осуществления, описанные в данном документе, предназначены для объединения в любую подходящую комбинацию, как если бы варианты осуществления являлись множественно зависимыми пунктами (*например*, варианты осуществления, относящиеся к ингибиторам JAK и их дозам, варианты осуществления, относящиеся к ингибиторам ROCK2 и их дозам, варианты осуществления, относящиеся к любым формам солей соединений, раскрытых в данном документе, и варианты осуществления, относящиеся к композициям и/или введению, могут быть объединены в любой комбинации). Все возможные комбинации в данном документе отдельно не перечислены только с целью краткости изложения.

Описанные в данном документе соединения могут быть асимметричными (*например*, иметь один или более стереоцентров). Предусмотрены все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных материалов известны в данной области техники, такие как разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез. Многие геометрические изомеры олефинов, двойные связи C=N и т.п. также могут присутствовать в соединениях, описанных в данном документе, и все такие стабильные изомеры рассматриваются в

данном изобретении. Описаны *цис* и *транс*-геометрические изомеры соединений по настоящему изобретению, которые могут быть выделены в виде смеси изомеров или в виде отдельных изомерных форм.

В некоторых вариантах осуществления соединения имеет (*R*)-конфигурацию. В некоторых вариантах осуществления соединения имеет (*S*)-конфигурацию.

Разделение рацемических смесей соединений может быть осуществлено любым из многочисленных способов, известных в данной области техники. Пример способа включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделительной кислоты, которая является оптически активной солеобразующей органической кислотой. Подходящими разделяющими средствами для способов фракционной перекристаллизации являются, например, оптически активные кислоты, такие как D и L формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различных оптически активных камфорсульфоновых кислот, таких как β -камфорсульфоновая кислота. Другие разделяющие средства, подходящие для способов фракционной кристаллизации, включают стереоизомерно чистые формы α -метилбензиламина (*например*, формы *S* и *R* или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицин, норэфедрин, эфедрин, N-метилэфедрин, циклогексилэтиламин, 1,2-диаминоциклогексан и т. п.

Разделение рацемических смесей также может быть проведено элюированием на колонке, заполненной оптически активным разделяющим средством (*например*, динитробензоилфенилглицином). Подходящую композицию элюирующего растворителя может определить специалист в данной области техники.

Соединения, описанные в данном документе, также включают таутомерные формы. Таутомерные формы возникают в результате перестановки одинарной связи с соседней двойной связью вместе с сопутствующей миграцией протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры, которые являются состояниями изомерного протонирования, имеющими те же эмпирическую формулу и общий заряд. Примеры прототропных таутомеров включают пары кетон-енол, пары амид-имидная кислота, пары лактам-лактим, пары енамин-имин и кольцевые формы, где протон может занимать два или более положений гетероциклической системы, например, 1H- и 3H-имидазол, 1H-, 2H- и 4H-1,2,4-триазол, 1H- и 2H-изоиндол и 1H- и 2H-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или быть стерически заблокированы в одной форме посредством соответствующего замещения.

Описанные в данном документе соединения могут также включать изотопно меченные соединения по данному изобретению. «Изотопно» или «радиоактивно меченное» соединение представляет собой соединение по данному изобретению, в котором один или более атомов заменены или замещены атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно находящихся в природе (т. е. встречающихся в природе). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения по данному изобретению включают без ограничения ^2H (также

обозначенный как D для дейтерия), ^3H (также обозначенный как T для трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Например, один или более атомов водорода в соединении по данному изобретению могут быть заменены атомами дейтерия (*например*, один или более атомов водорода в C_{1-6} алкильной группе формул (I), (II) или (III) или соединении из таблицы 2 может быть необязательно замещен атомами дейтерия, например, $-\text{CD}_3$ замещает $-\text{CH}_3$).

Термин «соединение», используемый в данном документе, предназначен для включения всех стереоизомеров, геометрических изомеров, таутомеров и изотопов изображенных структур, если в названии не указан конкретный стереоизомер. Подразумевается, что соединения, идентифицированные в данном документе по названию или структуре как одна конкретная таутомерная форма, включают другие таутомерные формы, если не указано иное.

Подразумевается, что соединения, идентифицированные в данном документе по названию или структуре как одна конкретная таутомерная форма, включают другие таутомерные формы, если не указано иное. Под «по существу выделенное» подразумевается, что соединение по меньшей мере частично или в значительной степени отделено от окружения, в котором оно было образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию, обогащенную описанными в данном документе соединениями. Существенное разделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 97% или по меньшей мере приблизительно 99% по массе описанных в данном документе соединений или их солей. Способы выделения соединений и их солей являются рутинными в данной области техники.

Все соединения и их фармацевтически приемлемые соли могут находиться вместе с другими веществами, такими как вода и растворители (*например*, гидраты и сольваты), или могут быть выделенными. В твердом состоянии описанные в данном документе соединения и их соли могут находиться в различных формах и могут, *например*, принимать форму сольватов, включая гидраты. Соединения могут быть в любой твердой форме, такой как полиморф или сольват, поэтому, если явно не указано иное, ссылку в описании на соединения и их соли следует понимать как включающую любую твердую форму соединения.

Фраза «фармацевтически приемлемый» применяется в данном документе для обозначения таких соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках рационального медицинского решения, являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблемы или осложнения, в соответствии с разумным соотношением пользы/риска.

Данное изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли описанных

в данном документе соединений. Термин «фармацевтически приемлемые соли» относится к производным раскрытых соединений, при этом исходное соединение модифицировано путем преобразования существующего кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают без ограничения соли минеральных или органических кислот и основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и т. п. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, *например*, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по данному изобретению можно синтезировать из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены реакцией свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в их смеси; как правило, предпочтительны неводные среды, такие как эфир, этилацетат, спирты (*например*, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (MeCN). Перечни подходящих солей можно найти в *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, *Berge et al., J. Pharm. Sci.*, 1977, 66(1), 1-19, и в *Stahl et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002). В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе соединения включают формы *N*-оксидов.

Термины «индивидуум», «пациент» и «субъект» используются взаимозаменяемо и относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, лошадей или приматов, и наиболее предпочтительно к людям.

Выражение «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский ответ в ткани, системе, организме животного, индивидуума или человека, необходимый исследователю, ветеринару, врачу или другому клиницисту.

Используемый в данном документе термин «лечащий» или «лечение» относится к ингибированию заболевания; например, ингибированию заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (*m. e.* прекращение дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); или облегчению заболевания; например, облегчению заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (*m. e.* обращение патологии и/или симптоматики), например, уменьшение тяжести заболевания.

В некоторых вариантах осуществления соединения, представленные в данном документе, применимы для предотвращения или снижения риска развития любого из заболеваний, упомянутых в данном документе; *например*, предотвращения или снижения риска развития заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который может быть

предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не испытывает или не демонстрирует патологию или симптоматику заболевания.

Для терминов «например» и «такой как» и их грамматических эквивалентов подразумевается выражение «и без ограничения», если явно не указано иное.

Используемые в данном документе формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно следует иное.

Используемый в данном документе термин «приблизительно» означает «около» (например, плюс или минус около 10% от указанного значения).

Фармацевтические составы и лекарственные формы

При использовании соединений по данному изобретению в качестве фармацевтических средств, их можно вводить в форме фармацевтических композиций. Эти композиции можно получить при помощи способов, хорошо известных в области фармации, и можно вводить различными путями в зависимости от того, желательно локальное или системное лечение, и от области, подвергаемой лечению. Введение может быть местным (в том числе трансдермальное, эпидермальное, через глаз и в слизистые оболочки, включая интраназальную, вагинальную и ректальную доставку), пульмональным (*например*, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера; интратрахеальным или интраназальным), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутривентральное внутримышечное введение или инъекцию, или инфузию; или внутричерепное, например, интратекальное или внутрижелудочковое введение. Парентеральное введение может осуществляться в виде единичной болюсной дозы или, например, непрерывно с помощью перфузионного насоса. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, крема, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Необходимыми или желательными могут быть традиционные фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и т. п.

Данное изобретение также включает фармацевтические композиции, которые содержат в качестве активного ингредиента одно или более из соединений по данному изобретению или его фармацевтически приемлемую соль (*например*, один или более ингибиторов пути JAK и/или один или более ингибиторов ROCK в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах осуществления композиция пригодна для местного введения. Для приготовления композиций по данному изобретению активный ингредиент, как правило, смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или включают в такой носитель в форме, например, капсулы, саше, бумажного пакета или другого контейнера. Если вспомогательное вещество служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который служит средой-носителем, носителем или средой для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут находиться в форме таблеток, драже, порошков, пастилок, саше, крахмальных капсул,

настоев, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (твердых или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных инъекционных растворов и стерильных упакованных порошков.

Для получения состава активное соединение можно размалывать, чтобы обеспечить подходящий размер частиц, до объединения с другими ингредиентами. Если активное соединение практически нерастворимо, его можно размалывать до размера частиц менее 200 меш. Если активное соединение по существу растворимо в воде, размер частиц можно регулировать размалыванием, чтобы обеспечить по существу однородное распределение в составе, например, приблизительно 40 меш.

Соединения по данному изобретению можно размалывать с использованием известных процедур помола, таких как мокрый помол, для получения размера частиц, подходящего для формирования таблеток и составов других типов. Мелкоизмельченные (в форме наночастиц) препараты соединений по данному изобретению можно получать с использованием способов, известных в уровне техники, например, см., международную заявку № WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно содержать смазывающие средства, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители и ароматизаторы. Композиции по данному изобретению могут быть составлены так, что будут обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием процедур, известных в уровне техники.

Композиции могут быть составлены в виде единичной лекарственной формы, при этом каждая доза содержит от приблизительно 5 до приблизительно 1000 мг (1 г), чаще от приблизительно 100 до приблизительно 500 мг, активного ингредиента. Термин «единичные лекарственные формы» относится к физически дискретным единицам, пригодным в качестве разовых дозировок для субъектов-людей и других млекопитающих, при этом каждая единица содержит заранее заданное количество активного материала, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в ассоциации с подходящим фармацевтическим вспомогательным веществом.

В некоторых вариантах осуществления композиции по данному изобретению содержат от приблизительно 5 до приблизительно 50 мг активного ингредиента. Рядовому специалисту в данной области техники будет понятно, что предусмотрены композиции, содержащие от приблизительно 5 до приблизительно 10, от приблизительно 10 до приблизительно 15, от приблизительно 15 до приблизительно 20, от приблизительно 20 до

приблизительно 25, от приблизительно 25 до приблизительно 30, от приблизительно 30 до приблизительно 35, от приблизительно 35 до приблизительно 40, от приблизительно 40 до приблизительно 45 или от приблизительно 45 до приблизительно 50 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления композиции по данному изобретению содержат от приблизительно 50 до приблизительно 500 мг активного ингредиента. Рядовому специалисту в данной области техники будет понятно, что предусмотрены композиции, содержащие от приблизительно 50 до приблизительно 100, от приблизительно 100 до приблизительно 150, от приблизительно 150 до приблизительно 200, от приблизительно 200 до приблизительно 250, от приблизительно 250 до приблизительно 300, от приблизительно 350 до приблизительно 400 или от приблизительно 450 до приблизительно 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления композиции по данному изобретению содержат от приблизительно 500 до приблизительно 2000 мг активного ингредиента. Рядовому специалисту в данной области техники будет понятно, что предусмотрены композиции, содержащие от приблизительно 500 до приблизительно 550, от приблизительно 550 до приблизительно 600, от приблизительно 600 до приблизительно 650, от приблизительно 650 до приблизительно 700, от приблизительно 700 до приблизительно 750, от приблизительно 750 до приблизительно 800, от приблизительно 800 до приблизительно 850, от приблизительно 850 до приблизительно 900, от приблизительно 900 до приблизительно 950, от приблизительно 950 до приблизительно 1000 мг, от приблизительно 1000 мг до приблизительно 1100 мг, от приблизительно 1100 мг до приблизительно 1200 мг, от приблизительно 1200 мг до приблизительно 1300 мг, от приблизительно 1300 мг до приблизительно 1400 мг, от приблизительно 1400 мг до приблизительно 1500 мг, от приблизительно 1500 мг до приблизительно 1600 мг, от приблизительно 1600 мг до приблизительно 1700 мг, от приблизительно 1700 мг до приблизительно 1800 мг, от приблизительно 1800 мг до приблизительно 1900 мг или от приблизительно 1900 мг до приблизительно 2000 мг активного(ых) ингредиента(ов).

Подобные дозировки могут быть использованы для соединений, описанных в данном документе, в способах и применениях по данному изобретению.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне дозировок, и его, как правило, вводят в фармацевтически эффективном количестве. Однако понятно, что количество соединения, которое фактически вводят, обычно определяется врачом в соответствии с имеющимися обстоятельствами, в том числе состоянием, подлежащим лечению, выбранным путем введения, конкретным вводимым соединением, возрастом, массой и ответом конкретного пациента, тяжестью симптомов пациента и т. п.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, главный активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом для образования твердой предварительно составленной композиции, содержащей гомогенную смесь соединения по данному изобретению. Если указано, что эти предварительно составленные

композиции гомогенные, то активный ингредиент, как правило, диспергирован равномерно по всей композиции, так что композицию легко можно разделить на равно эффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, драже и капсулы. Этот твердый предварительный состав затем разделяют на единичные лекарственные формы, представленных выше типов, содержащие, например, от приблизительно 0,1 до приблизительно 1000 мг активного ингредиента по данному изобретению.

Таблетки или драже по данному изобретению могут быть покрыты или составлены иным путем для обеспечения лекарственной формы, обладающей преимуществом пролонгированного действия. Например, таблетка или драже может содержать внутренний компонент дозировки и внешний компонент дозировки, при этом последний находится в форме оболочки над первым. Два компонента могут разделяться энтеросолюбильным слоем, который препятствует разложению в желудке и позволяет внутреннему компоненту попадать интактным в двенадцатиперстную кишку или высвободиться отсрочено. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий можно применять различные материалы; такие материалы содержат ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые могут быть включены соединения и композиции по данному изобретению, для перорального введения или путем инъекции включают водные растворы, пригодным образом ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, сезамовое масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также настои и подобные фармацевтические среды-носители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, описанные *выше*. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят в дыхательные пути через рот или нос для локального или системного эффекта. Композиции можно распылять с использованием инертных газов. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из устройства для распыления, или устройство для распыления можно присоединить к маске для лица, палатке или дыхательному аппарату с периодически создаваемым положительным давлением. Растворы, суспензии или порошковые композиции можно вводить перорально или через нос, используя устройства, которые доставляют состав соответствующим образом.

Составы для местного применения могут содержать один или более традиционных носителей. В некоторых вариантах осуществления мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, алкилового эфира полиоксиэтилена, пропиленгликоля, белого вазелина и т. п. Композиции носителей кремов могут быть на основе воды в комбинации с глицерином и одним или более другими компонентами, например, глицерилмоностеаратом, ПЭГ-глицерилмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть составлены с использованием

изопропилового спирта и воды, предпочтительно в комбинации с другими компонентами, такими как глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и т. п. В некоторых вариантах осуществления составы для местного применения содержат по меньшей мере приблизительно 0,1, по меньшей мере приблизительно 0,25, по меньшей мере приблизительно 0,5, по меньшей мере приблизительно 1, по меньшей мере приблизительно 2 или по меньшей мере приблизительно 5 масс. % соединения по данному изобретению. Составы для местного применения могут быть подходящим образом упакованы в тубы, например, вместимостью 100 г, которые необязательно могут содержать инструкцию по лечению выбранного показания, например, псориаза или другого состояния кожи.

Количество соединения или композиции, вводимое пациенту, будет варьировать в зависимости от того, что вводят, цели введения, как, например, профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и т. п. Для терапевтических применений композиции можно вводить пациенту, уже страдающему от заболевания, в количестве, достаточном для лечения или по меньшей мере частичного ослабления симптомов заболевания или его осложнений. Эффективные дозы будут зависеть от состояния заболевания, подлежащего лечению, а также от решения лечащего врача в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса, общее состояние пациента и т. п.

Композиции, вводимые пациенту, могут находиться в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методиками стерилизации или могут быть стерильно отфильтрованы. Водные растворы могут быть упакованы для применения как есть или лиофилизированы, при этом лиофилизированный состав объединяют со стерильным водным носителем перед введением. Значение pH препаратов соединений обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно, от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует учитывать, что применение некоторых из вышеупомянутых вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка соединения по данному изобретению может варьироваться в соответствии, например, с конкретным применением, для которого осуществляется лечение, способом введения соединения, состоянием здоровья и патологическим состоянием пациента и заключением лечащего врача. Доля или концентрация соединения по данному изобретению в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от ряда факторов, в том числе дозировки, химических характеристик (например, гидрофобности) и пути введения. Например, соединения по данному изобретению могут быть обеспечены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от приблизительно 0,1 до приблизительно 10% масс./об. соединения, для парентерального введения. Некоторые типичные дозы находятся в диапазонах от приблизительно 1 мкг/кг до приблизительно 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления доза находится в диапазоне от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг массы тела в сутки. Дозировка, вероятно, будет зависеть от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или нарушения, общее

состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав вспомогательного вещества и путь его введения. Эффективные дозы можно экстраполировать из кривых доза-ответ, полученных из *in vitro* тест-систем или на моделях животных.

Наборы

Настоящая заявка также включает применимые фармацевтические наборы, которые содержат один или более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество соединения или любого из его вариантов осуществления. Такие наборы могут дополнительно включать один или более различных традиционных компонентов фармацевтического набора, таких как, *например*, контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и *т. д.*, как будет очевидно специалистам в данной области техники. Инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количеств вводимых компонентов, рекомендациями по применению и/или рекомендациями по смешиванию компонентов также могут быть включены в набор.

ПРИМЕРЫ

Данное изобретение будет описано более подробно в конкретных примерах. Следующие примеры предлагаются в иллюстративных целях и никоим образом не предназначены для ограничения данного изобретения. Специалисты в данной области техники легко узнают множество некритических параметров, которые могут быть изменены или модифицированы для получения практически тех же результатов.

Пример А. Анализ киназы JAK *in vitro*

Селективные ингибиторы JAK1, которые можно использовать в комбинации с ингибитором ROCK, как описано в данном документе, тестировали на ингибирующую активность JAK-мишеней в соответствии со следующим анализом *in vitro*, описанным в Park *et al.*, *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 человека (а. к. 837-1142), JAK2 (а. к. 828-1132) и JAK3 (а. к. 781-1124) с N-концевой меткой His экспрессировали с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищали. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид выявляли с помощью гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). IC₅₀ соединений измеряли для каждой киназы в реакциях объемом 40 мкл, содержащих фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ Трис (pH 7,8) буфере с 100 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ и 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. Для измерений IC₅₀ в 1 мМ концентрация АТФ в реакциях составляла 1 мМ. Реакции проводили при комнатной температуре в течение 1 часа, а затем останавливали с помощью 20 мкл 45 мМ ЭДТК, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Связывание с антителом, меченным европием, происходило в течение 40 минут, и сигнал HTRF измеряли на устройстве для считывания планшетов Fusion (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). В этом анализе тестировали соединения из таблицы 1 и показали, что они имеют значения IC₅₀, указанные в таблице 1.

Пример В. Клеточные анализы

Ингибиторы JAK, которые могут быть использованы в комбинации с ингибиторами ROCK, как описано в данном документе, тестировали на ингибирующую активность JAK-мишеней по меньшей мере в одном из следующих клеточных анализов.

Для изучения эффекта соединений на активацию Т-клеток спленоциты мыши помещали при 2×10^6 клеток на лунку (формат 24-луночного планшета) в RPMI 1640, 10% ФБС, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 0,05 мм бета-меркаптоэтанола и активировали гранулами с CD3/CD28 (Gibco, Уолтем, Массачусетс). Соединения добавляли к клеткам в ДМСО/среде (конечная концентрация 0,2% ДМСО) и инкубировали в течение 72 часов при 37°C, 5% CO₂. Эффект соединения/соединений оценивали путем количественного определения уровней цитокинов с помощью системы для анализа Multi-spot, панели провоспалительных факторов 1 (для IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, KC/GRO, IL-10, IL-1p70 и TNF α ; Meso Scale Diagnostics [MSD], Роквилл, Мэриленд).

Кроме того, эффект соединения на активацию Т-клеток может быть измерен с помощью анализа реакции смешанных лимфоцитов (MLR). Дендритные клетки создавали путем культивирования выделенных клеток костного мозга из бедренных и берцовых костей мышей BALB/c в RPMI 1640, 10% FBS, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 25 нг/мл гранулоцитарного макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ (3×10^6 клеток на лунку, формат 6-луночного планшета). Спленоциты аллогенных респондеров C57BL/6 метили красителем сложный сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE) и добавляли в культуру через 7 дней вместе с соединениями. Эффект соединений на активацию Т-клеток оценивали путем измерения секреции цитокинов (MSD, Роквилл, Мэриленд), а также пролиферации Т-клеток путем разведения CFSE с помощью проточной цитометрии.

Для изучения эффекта соединений на макрофаги спленоциты мыши помещали при 3×10^6 клеток на лунку (формат 6-луночного планшета) в RPMI 1640, 10% ФБС, 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 50 нг/мл макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) и инкубировали при 37°C, 5% CO₂. В день 6 клетки обрабатывали соединением. В день 7 макрофаги активировали с помощью 5 нг/мл липополисахарида (ЛПС) и через 24 часа оценивали эффект соединения путем измерения цитокинов из супернатантов (MSD, Роквилл, Мэриленд).

Некоторые соединения в данном документе были оценены или могут быть оценены в отношении их активности ингибирования пролиферации Т-клеток. Такой анализ можно рассматривать как второй анализ управляемой цитокинами (*m. e.* JAK) пролиферации, а также как упрощенный анализ иммунной супрессии или ингибирования иммунной активации. Далее приводится краткое описание того, как можно проводить такие эксперименты. Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) получали из образцов цельной крови человека с помощью способа разделения на Ficoll-Нугауе, а Т-клетки (фракция 2000) могут быть получены из МКПК путем элютриации. Свежевыделенные Т-клетки человека можно поддерживать в культуральной среде (RPMI

1	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоциты 1×10 ⁷ клеток костного мозга	среда- носитель	VID, PO Дни 21- 56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь
2	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоциты 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Итацитиниб 120 мг/кг	VID, PO Дни 21- 56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь
3	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоциты 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Белумосудил 150 мг/кг	QD, PO Дни 21- 56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь
4	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоциты 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Итацитиниб + Белумосудил	VID, PO+QD, PO Дни 21- 56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь

Таблица 3.

Критерии	0 степень	1 степень	2 степень	3 степень	4 степень
----------	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

Потеря массы	отсутствии е потери массы	>0% <5%	>5% <10%	>10% < 15%	>15%
Осанка	Нормальная	Слабо сгорбленная осанка	Умеренно сгорбленная осанка	Сильно сгорбленная осанка	--
Активность	Нормальная	Замедленная походка	Замедленная походка; отказ двигаться при прикосновении	Неподвижность при прикосновении	--
Структура меха	Нормальная	Взъерошенная шерсть; небольшое количество выпавшей шерсти	Выпадение шерсти на отдельном участке площадью < 1 см ²	Выпадение шерсти на отдельном участке площадью > 1 см ²	Полное выпадение шерсти или затронутая площадь > 1 см ²
Целостность кожи	Нормальная	Поражение с покраснением/раздражением кожи	Шелушение/отслаивание кожи; одно поражение	Образование струпьев или кровоточивость; одно поражение	Образование струпьев или кровоточивость; множество поражений

Обработка одним средством итацитинибом или белумосудилом обеспечивала снижение оценок GVHD по сравнению с животными, получавшими обработку средой-носителем (см. фиг. 1). Комбинированная терапия с итацитинибом и белумосудилом обеспечивала значительное снижение оценок GVHD по сравнению с животными, получавшими обработку средой-носителем (см. фиг. 1). По результатам анализа AUC животные, получавшие обработку комбинированной терапией, демонстрировали значительно более низкие оценки GVHD, чем животные, получавшие обработку средой-носителем, обработку итацитинибом, и животные, получавшие обработку белумосудилом (см. фиг. 2). Эти результаты показывают, что комбинированное лечение итацитиниб+белумосудилом обладает потенциальной синергетической эффективностью на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD.

Пример 2. Комбинированное лечение с использованием ингибитора JAK1/2 и ингибитора ROCK2 на мышинной модели склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD)

Эффекты терапевтического введения дозы ингибитора JAK1/2 (руксолитиниб), ингибитора ROCK2 (белумосудил) и комбинации ингибитора JAK1/2 и ингибитора ROCK2 (руксолитиниб+белумосудил) тестировали на мышинной модели склеродермальной хронической GVHD.

Склеродермальную хроническую GVHD индуцировали у мышей C57Bl/6 с помощью однократного острого облучения всего тела дозой 8,5 Гр в день -1. В день 0 мышам-реципиентам внутривенно вводили инъекцию комбинации спленоцитов и клеток костного мозга от мышей-доноров LP/J. Начиная с дня 21, животным вводили дозу среды-носителя, руксолитиниба, белумосудила или комбинации руксолитиниба и белумосудила (P.O., B.I.D, см. таблицу 4). Все животные находились под ежесуточным наблюдением для регистрации изменения массы, выживаемости и оценки GVHD (см. таблицу 5). В дни 33, 36, 39, 42 и 45 всех животных фотографировали под изофлурановой анестезией для оценивания тяжести заболевания.

Таблица 4.

Группа	№ животных	ТВИ (День -1)	Перенос клеток (День 0)	Обработка	Схема	Фото	Умерщвление и сборы (День 56)
1	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоцитов 1×10 ⁷ клеток костного мозга	среда-носитель	VID, PO Дни 21-56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь
2	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоцитов 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Руксолитиниб 60 мг/кг	VID, PO Дни 21-56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь
3	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоцитов 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Белумосудил 150 мг/кг	QD, PO Дни 21-56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь

Группа	№ животных	ТВІ (День -1)	Перенос клеток (День 0)	Обработка	Схема	Фото	Умерщвление и сборы (День 56)
4	15	8,5 Гр	4×10 ⁶ спленоцитов 1×10 ⁷ клеток костного мозга	Руксолитиниб + Белумосудил	ВІD, РО+QD, РО Дни 21-56	Дни 33, 36, 39, 42, 45	кожа, легкое, кровь

Таблица 5.

Критерии	0 степень	1 степень	2 степень	3 степень	4 степень
Потеря массы	отсутствии потери массы	>0% <5%	>5% <10%	>10% < 15%	>15%
Осанка	Нормальная	Слабо сгорбленная осанка	Умеренно сгорбленная осанка	Сильно сгорбленная осанка	--
Активность	Нормальная	Замедленная походка	Замедленная походка; отказ двигаться при прикосновении	Неподвижность при прикосновении	--
Структура меха	Нормальная	Взъерошенная шерсть; небольшое количество выпавшей шерсти	Выпадение шерсти на отдельном участке площадью < 1 см ²	Выпадение шерсти на отдельном участке площадью > 1 см ²	Полное выпадение шерсти или затронутая площадь > 1 см ²
Целостность кожи	Нормальная	Поражение с покраснением/раздражением кожи	Шелушение/отслаивание кожи; одно поражение	Образование струпьев или кровоточив	Образование струпьев или кровоточив

				ость; одно поражение	ость; множество поражений
--	--	--	--	----------------------	---------------------------

Обработка одним руксолитинибом обеспечивала численное снижение оценок GVHD по сравнению с животными, получавшими обработку средой-носителем, в то время как обработка одним белумосудилом не принесла пользы (см. фиг. 3). По результатам анализа AUC животные, получавшие обработку комбинированной терапией, демонстрировали значительно более низкие оценки GVHD, чем животные, получавшие обработку средой-носителем, обработку руксолитинибом, и животные, получавшие обработку белумосудилом (см. фиг. 4). Комбинированная терапия приводила к численно более низкой AUC нагрузке заболевания по AUC по сравнению с терапией одним средством - руксолитинибом или белумосудилом.

Различные модификации данного изобретения, в дополнение к описанным в данном документе, станут очевидны для специалистов в данной области техники из вышеприведенного описания. Такие модификации также входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая все патенты, заявки на патенты и публикации, цитируемые в настоящей заявке, полностью включена в данный документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения заболевания или нарушения, выбранного из болезни «трансплантат против хозяина» (GVHD), синдрома рестриктивного аллотрансплантата (RAS), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (CLAD) (*например*, синдрома облитерирующего бронхиолита (BOS)) и системного склероза (склеродермии), у субъекта, включающий введение субъекту

- (i) ингибитора JAK и
- (ii) ингибитора ROCK.

2. Способ по п. 1, в котором ингибитор JAK представляет собой селективный ингибитор JAK1.

3. Способ по п. 1 или п. 2, в котором ингибитор JAK является селективным в отношении JAK1 по сравнению JAK2, JAK3 и TYK2.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором ингибитор JAK выбран из

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

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

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

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

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

3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила;

3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-ил)пирролидин-3-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила;

4-[(4-{3-циано-2-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила;

4-[(4-{3-циано-2-[3-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила;

[*транс*-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]-3-(4-{2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}карбонил)пиперазин-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{4-[(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси)пиперидин-1-ил}-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{4-[(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси)пиперидин-1-ил}-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{4-[(2R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-

(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил} ацетонитрила;

4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси} пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрила;

5-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

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

5-{3-(цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

{1-(*цис*-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил} ацетонитрила;

{1-(*цис*-4-{[4-(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил} ацетонитрила;

{1-(*цис*-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил} ацетонитрила;

{1-(*цис*-4-{[4-{[(3R)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил} ацетонитрила;

{1-(*цис*-4-{[4-{[(3S)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил} ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{[4-({[(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино} метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил} ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{[4-({[(2R)-2-гидроксипропил]амино} метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил} ацетонитрила;

{*транс*-3-(4-{[4-({[(2S)-2-гидроксипропил]амино} метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил} ацетонитрила и

{*транс*-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил} ацетонитрила

или их фармацевтически приемлемой соли.

5. Способ по любому из пп. 1-3, в котором ингибитор JAK представляет собой {1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-

d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

6. Способ по любому из пп. 1-3, в котором ингибитор JAK представляет собой соль адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

7. Способ по п. 1, в котором ингибитор JAK представляет собой ингибитор JAK1/2.

8. Способ по п. 1 или п. 7, в котором ингибитор JAK представляет собой (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

9. Способ по п. 1 или п. 7, в котором ингибитор JAK представляет собой фосфат (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила.

10. Способ по любому из пп. 1-9, в котором ингибитор JAK вводят субъекту в дозе от приблизительно 100 мг до приблизительно 300 мг.

11. Способ по любому из пп. 1-9, в котором ингибитор JAK вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг.

12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором ингибитор ROCK представляет собой ингибитор ROCK2.

13. Способ по п. 12, в котором ингибитор ROCK2 представляет собой 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамид или его фармацевтически приемлемую соль.

14. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту в дозе от приблизительно 200 мг/кг до приблизительно 300 мг/кг.

15. Способ по любому из пп. 1-13, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту в дозе приблизительно 200 мг/кг.

16. Способ по любому из пп. 1-15, в котором ингибитор JAK вводят субъекту один раз в сутки.

17. Способ по любому из пп. 1-15, в котором ингибитор JAK вводят субъекту перорально один раз в сутки.

18. Способ по любому из пп. 1-15, в котором ингибитор JAK вводят субъекту дважды в сутки.

19. Способ по любому из пп. 1-15, в котором ингибитор JAK вводят субъекту перорально дважды в сутки.

20. Способ по любому из пп. 1-19, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту один раз в сутки.

21. Способ по любому из пп. 1-19, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту перорально один раз в сутки.

22. Способ по любому из пп. 1-19, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту дважды в сутки.

23. Способ по любому из пп. 1-19, в котором ингибитор ROCK вводят субъекту

перорально дважды в сутки.

24. Способ по любому из пп. 1-15, в котором каждый из ингибитора JAK и ингибитора ROCK вводят субъекту перорально дважды в сутки.

25. Способ по любому из пп. 1-24, в котором заболевание или нарушение представляет собой болезнь «трансплантат против хозяина».

26. Способ по п. 25, в котором болезнь «трансплантат против хозяина» представляет собой хроническую болезнь «трансплантат против хозяина».

27. Способ по п. 25, в котором болезнь «трансплантат против хозяина» представляет собой склеродермальную хроническую болезнь «трансплантат против хозяина».

28. Способ по любому из пп. 1-27, в котором введение ингибитора JAK и ингибитора ROCK субъекту обеспечивает снижение оценки GVHD у субъекта по сравнению с оценкой GVHD у субъекта до введения ингибитора JAK и ингибитора ROCK.

29. Способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту соли адипиновой кислоты и {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила; и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или их фармацевтически приемлемой соли.

30. Способ лечения склеродермальной хронической болезни «трансплантат против хозяина» у субъекта, включающий введение субъекту фосфата (R)-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-циклопентилпропаннитрила; и 2-(3-(4-((1H-индазол-5-ил)амино)хиназолин-2-ил)фенокси)-N-изопропилацетамида или их фармацевтически приемлемой соли.

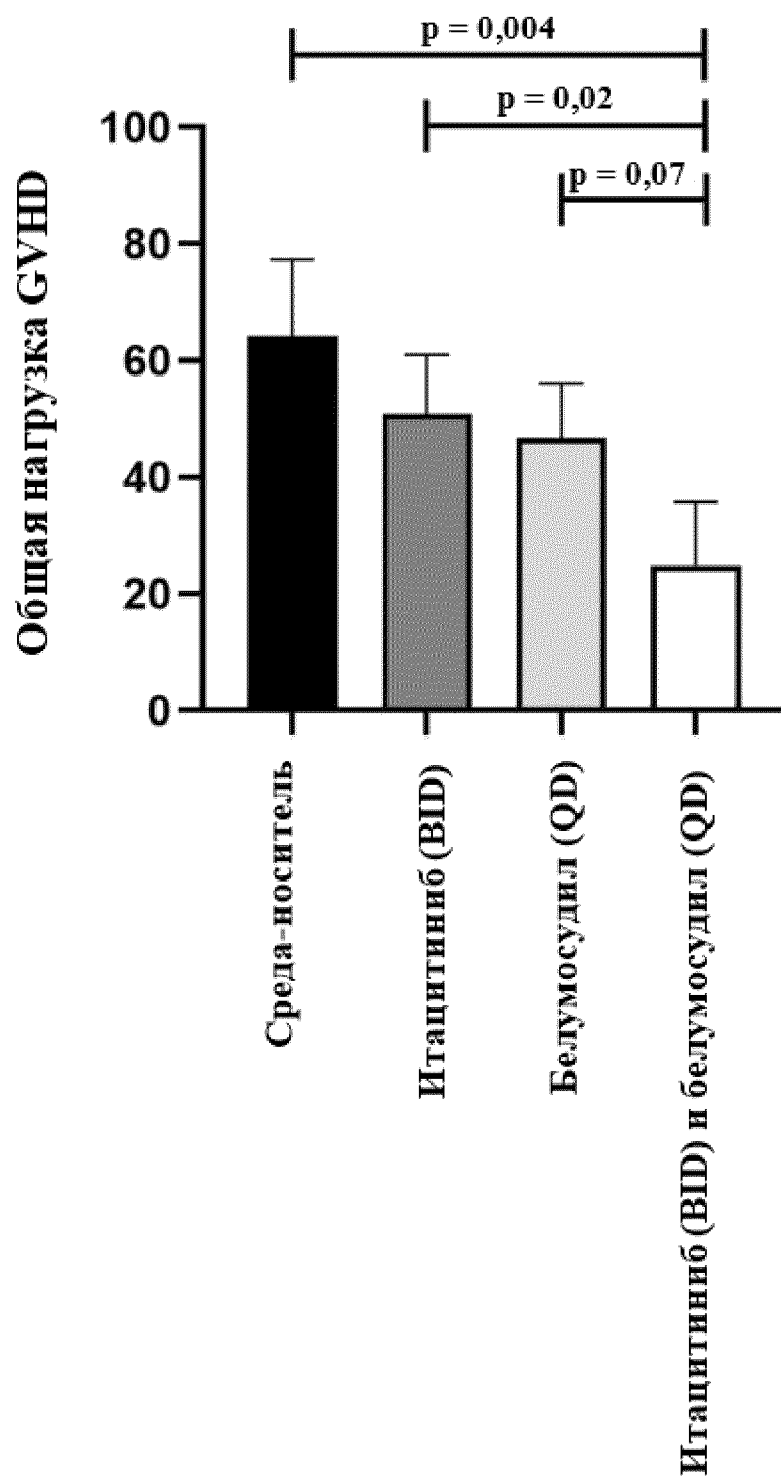
31. Способ по любому из пп. 1-30, в котором ингибитор JAK и ингибитор ROCK вводят одновременно.

32. Способ по любому из пп. 1-30, в котором ингибитор JAK и ингибитор ROCK вводят последовательно.

По доверенности



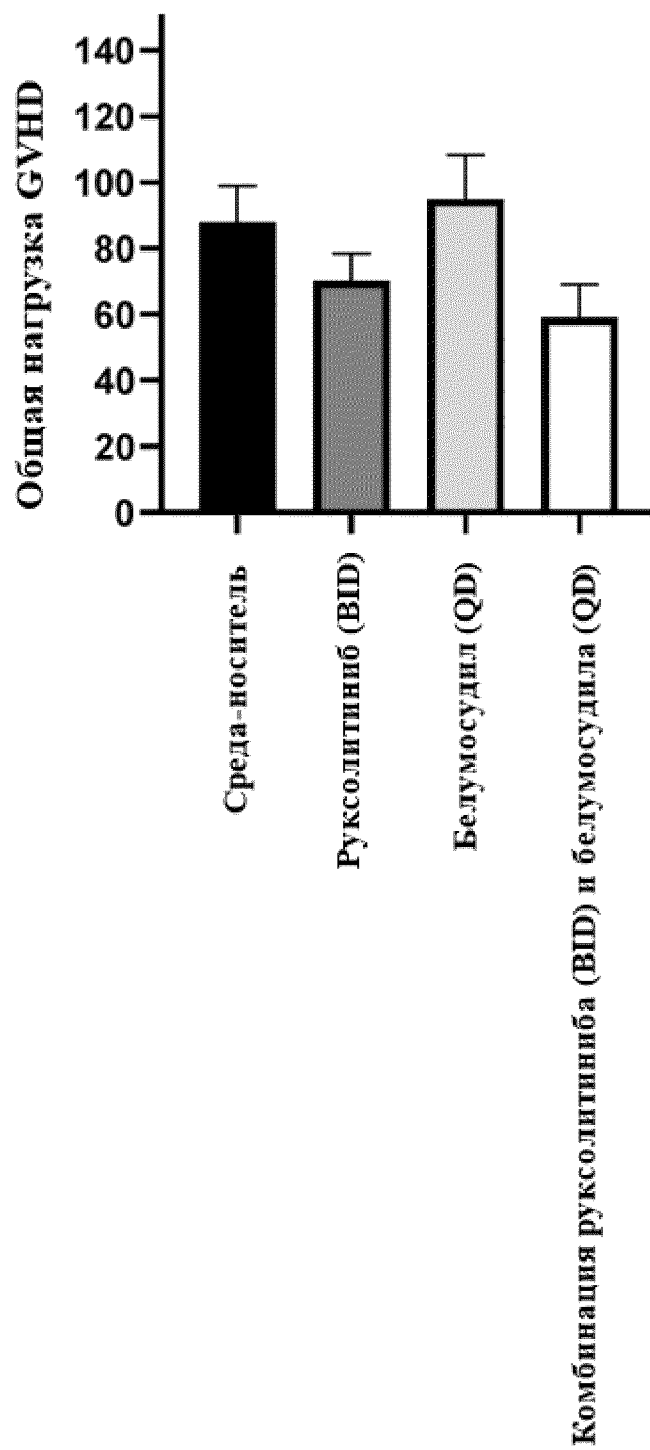
ФИГ. 1



ФИГ. 2



ФИГ. 3



ФИГ. 4