

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

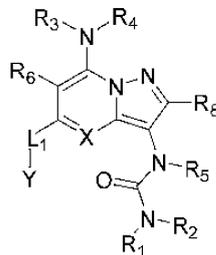
(11) **047570**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

- | | |
|---|--|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.07</p> <p>(21) Номер заявки
202290872</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2020.11.05</p> | <p>(51) Int. Cl. <i>A61K 31/495</i> (2006.01)
<i>A61K 31/505</i> (2006.01)
<i>A61K 31/519</i> (2006.01)
<i>C07D 231/54</i> (2006.01)
<i>C07D 487/04</i> (2006.01)
<i>C07D 519/00</i> (2006.01)</p> |
|---|--|

(54) ЛИГАНДЫ ПСЕВДОКИНАЗЫ ТУК2

- | | |
|---|---|
| <p>(31) 62/933,179; 63/046,514</p> <p>(32) 2019.11.08; 2020.06.30</p> <p>(33) US</p> <p>(43) 2022.10.10</p> <p>(86) PCT/US2020/059210</p> <p>(87) WO 2021/092246 2021.05.14</p> <p>(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ВЕНТИКС БАЙОСАЙЕНСЕС, ИНК.
(US)</p> <p>(72) Изобретатель:
Мохан Раджу, Насс Джон, Харрис
Джэйсон, Юань Шэньдун (US)</p> <p>(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)</p> | <p>(56) US-A1-20100125068
US-A1-20170129899
US-A1-20120114739
US-A1-20200131201</p> |
|---|---|

- (57) В настоящем изобретении описаны лиганды псевдокиназы ТУК2, представляющие собой соединения, имеющие структуру формулы (I), и способы применения лигандов псевдокиназы ТУК2 в лечении заболеваний, расстройств или состояний. Кроме того, в настоящем изобретении описаны фармацевтические композиции, содержащие такие соединения.



Формула (I)

047570
B1

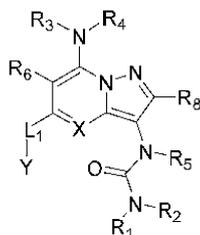
047570
B1

Предшествующий уровень техники настоящего изобретения

Янус-киназа (JAK) представляет собой семейство внутриклеточных нерецепторных тирозинкиназ, которые трансдуцируют цитокин-опосредованные сигналы по пути JAK-STAT (сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции). Четырьмя представителями семейства JAK являются янус-киназа 1 (JAK1), янус-киназа 2 (JAK2), янус-киназа 3 (JAK3) и тирозинкиназа 2 (TYK2), которые оказались основными компонентами цитокин-опосредованных эффектов. В отличие от мышей с дефицитом JAK1, мыши с дефицитом TYK2 являются жизнеспособными, и показано, что дефицит TYK2 выполняет защитную роль в разнообразных моделях аутоиммунитета.

Сущность настоящего изобретения

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены соединения, имеющие структуру формулы (I'):



Формула (I');

в которой:

X представляет собой N;

Y представляет собой C₆-C₁₀-арил или C₂-C₉-гетероарил, содержащий один или несколько кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, где C₆-C₁₀-арил или C₂-C₉-гетероарил необязательно являются замещенными и содержат 1, 2, 3 или 4 радикала R₇;

L₁ представляет собой связь или -N(R₉)-;

R₁ представляет собой замещенный C₃-C₆-циклоалкил, содержащий 1, 2 или 3 радикала R₁₃;

R₂ представляет собой водород;

R₃ и R₄ независимо выбраны из водорода, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-дейтероалкила;

R₅ представляет собой водород;

R₆ представляет собой водорода;

каждый R₇ независимо выбран из галогена, C₁-C₆-алкила, C₁-C₆-дейтероалкила, C₁-C₆-алкокси, C₁-C₆-галогеналкокси, C₂-C₉-гетероциклоалкила, содержащего один или несколько кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, оксо, -OR₁₀, и -CN; или

два R₇ являются объединенными с образованием 5-, 6- или 7-членного гетероциклоалкильного кольца, содержащего по меньшей мере один кольцевой гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы;

R₈ представляет собой водород;

R₉ представляет собой водород или C₁-C₆-алкил;

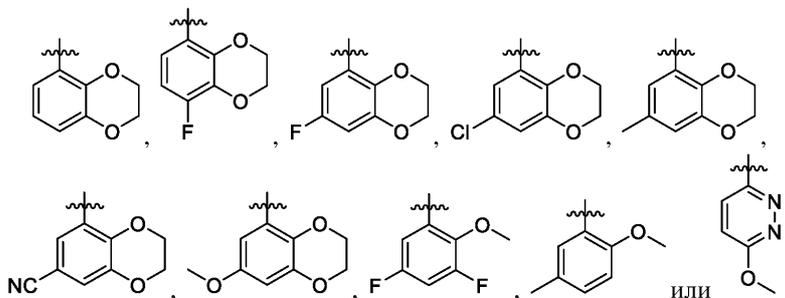
каждый R₁₀ независимо выбран из водорода, C₁-C₆-алкила и C₁-C₆-галогеналкила;

каждый R₁₃ независимо выбран из галогена, C₁-C₆-алкила, оксо, -OR₁₀, и -CN;

или его фармацевтически приемлемая соль.

В предпочтительном варианте осуществления предложенного изобретения Y представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 R₇.

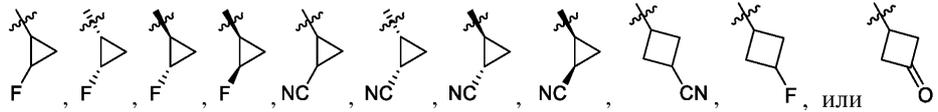
В другом предпочтительном варианте осуществления предложенного изобретения Y представляет собой



Предпочтительно в предложенных соединениях каждый R₁₃ независимо выбран из галогена -OH и -CN.

Предпочтительно в предложенных соединениях R₁ представляет собой циклопропил, замещенный 1 радикалом R₁₃.

В другом предпочтительном варианте осуществления предложенного изобретения R₁ представляет собой

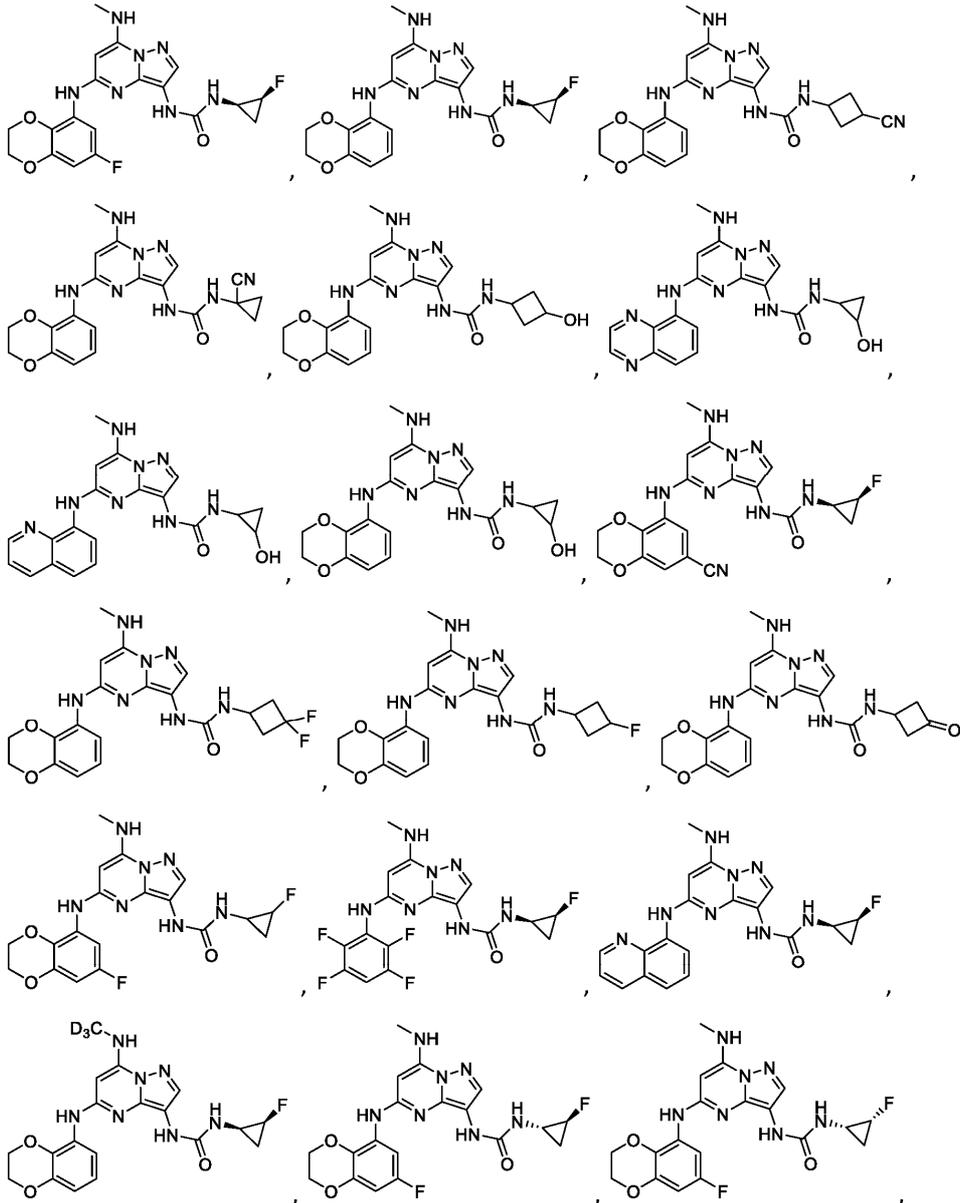


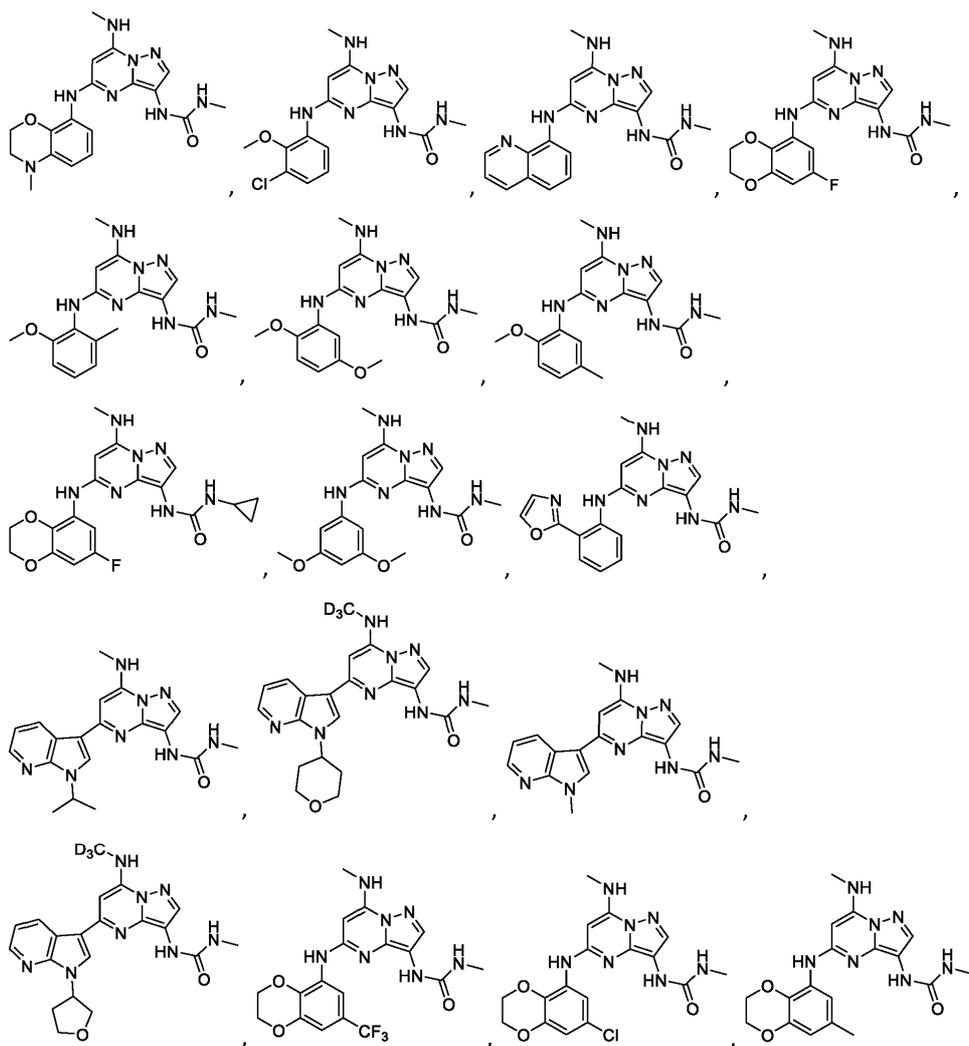
Предпочтительно в предложенных соединениях L_1 представляет собой связь. В другом предпочтительном варианте осуществления предложенного изобретения L_1 представляет собой -N(H)-.

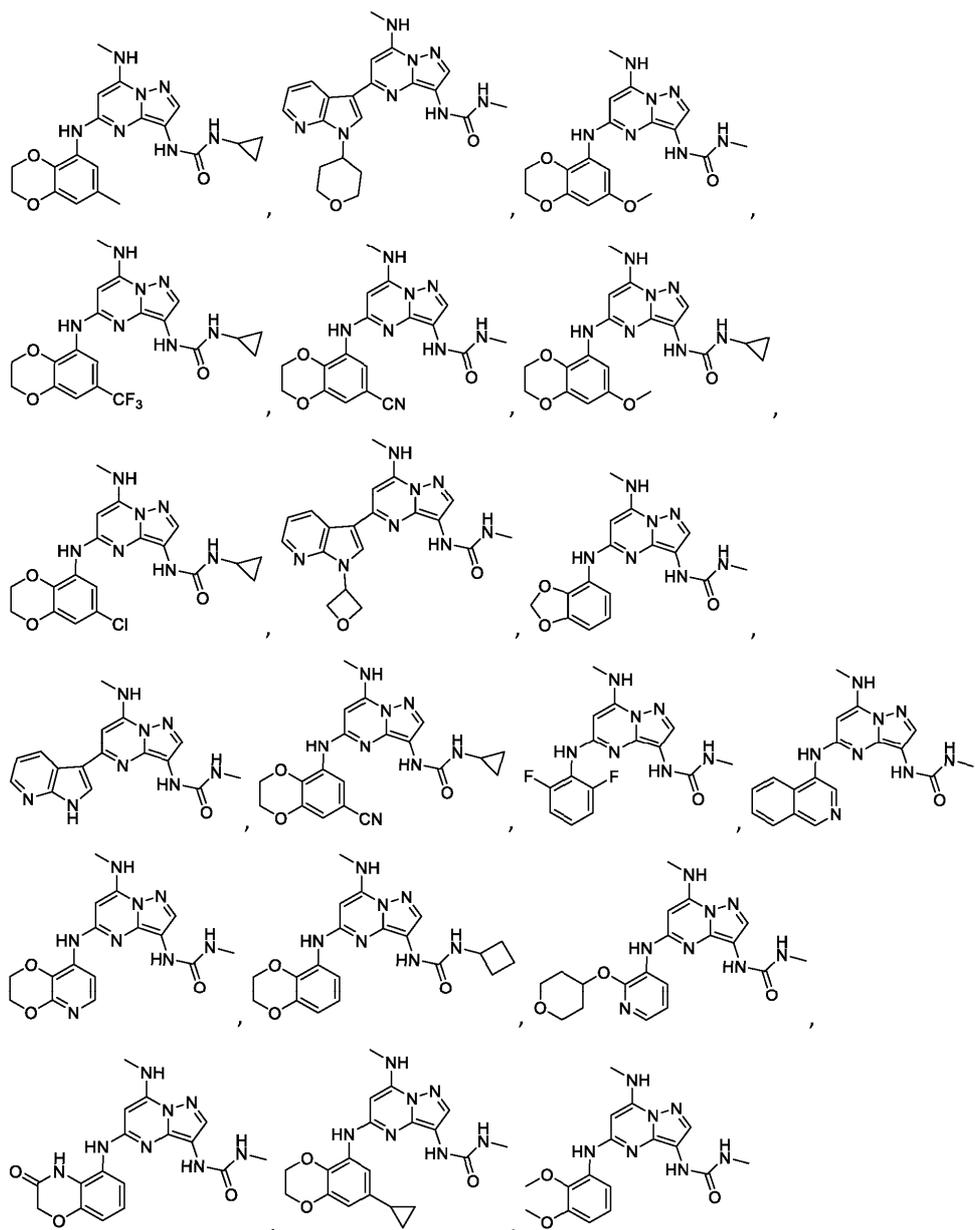
Предпочтительно в предложенных соединениях R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и C_1 - C_6 -алкила.

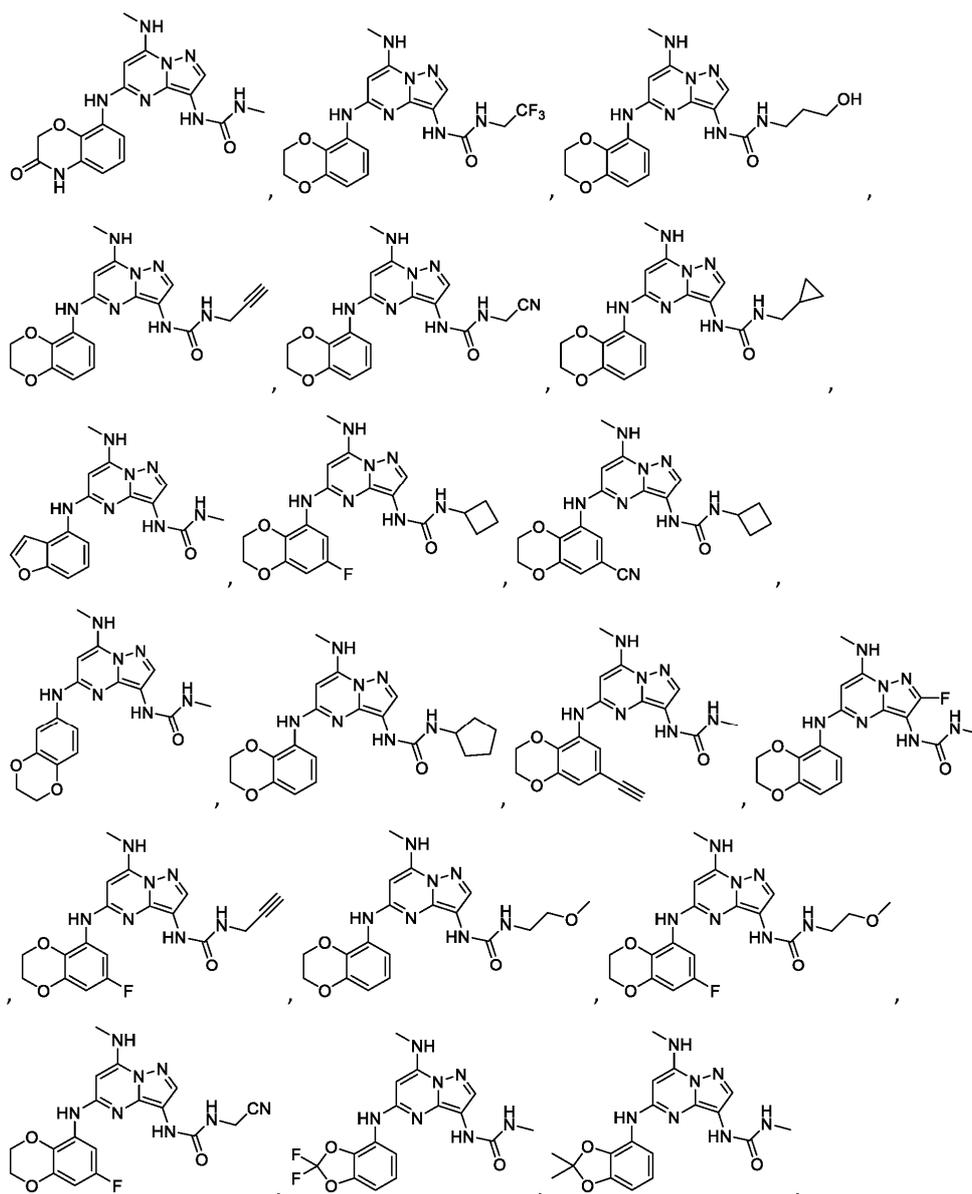
В другом предпочтительном варианте осуществления предложенного изобретения R_3 представляет собой водород, и R_4 представляет собой C_1 - C_6 -алкил.

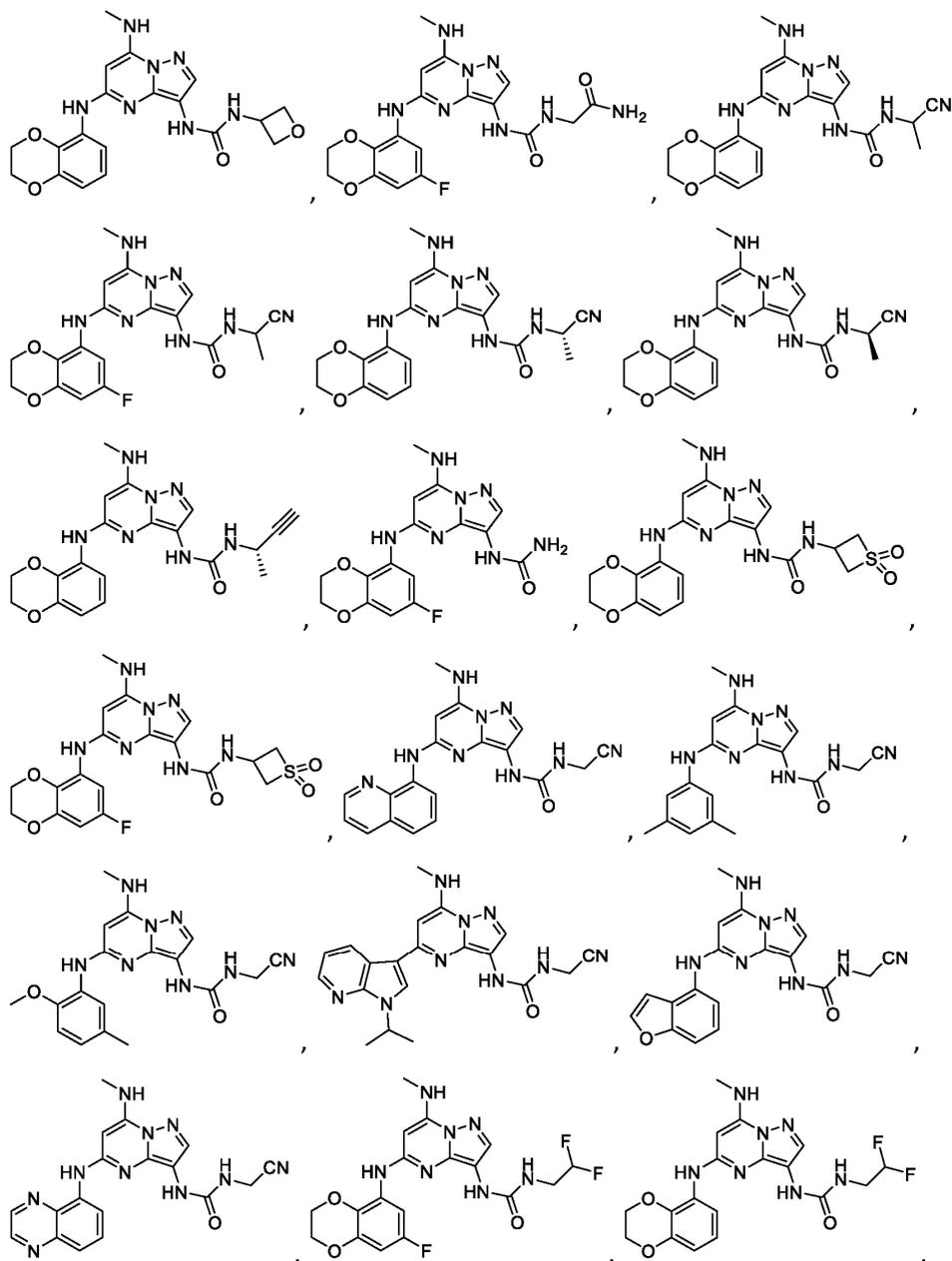
Согласно ещё одному аспекту настоящего изобретения предложено соединение, выбранное из

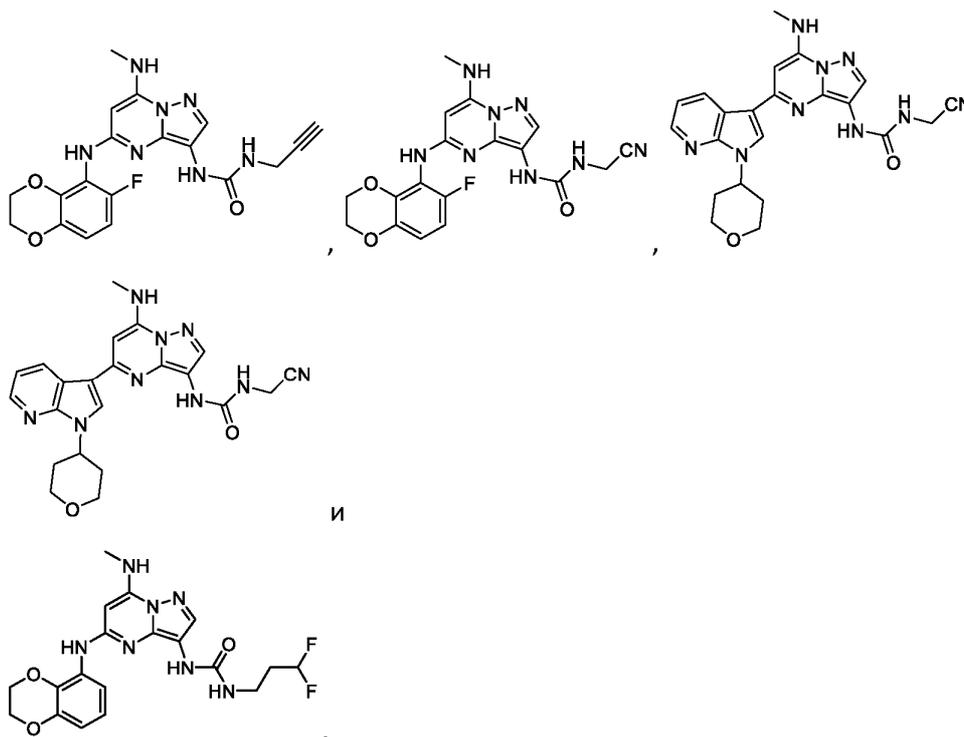












или его фармацевтически приемлемая соль.

Согласно ещё одному аспекту настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания, содержащая любое из указанных выше соединений или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Согласно ещё одному аспекту настоящего изобретения предложено применение любого из указанных выше соединений или его фармацевтически приемлемой соли, для лечения воспалительного заболевания.

Согласно ещё одному аспекту настоящего изобретения предложено применение любого из указанных выше соединений или его фармацевтически приемлемой соли для лечения аутоиммунного заболевания.

Подробное раскрытие настоящего изобретения

Определения.

В контексте настоящего раскрытия будет использован ряд терминов.

Если не определено иное условие, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют такие значения, которые обычно понимает специалист в области техники, к которой принадлежит заявленный объект настоящего изобретения. В том случае, если существует множество определений для терминов в настоящем документе, преобладающую силу имеют определения, приведенные в настоящем разделе. Все патенты, патентные заявки, публикации и опубликованные нуклеотидные и аминокислотные последовательности (например, последовательности, доступные в базе генетических данных GenBank или других базах данных), которые упомянуты в настоящем документе, включены в него посредством ссылки. Когда присутствует ссылка на унифицированный определитель местонахождения ресурса (URL) или другой такой определитель или адрес, следует понимать, что такие определители могут изменяться, и конкретная информация в сети Интернет может приходить и уходить, но эквивалентная информация может быть найдена посредством поиска в сети Интернет. Соответствующая ссылка свидетельствует о доступности и публичном распространении такой информации. Следует понимать, что приведенное выше общее описание и приведенное ниже подробное описание представляют собой лишь примерные и разъяснительные описания и не являются ограничительными в отношении какого-либо заявленного объекта настоящего изобретения. В настоящем изобретении используемые грамматические формы единственного числа означают и множественное число, если определено не указано иное условие. Необходимо отметить, что при использовании в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения грамматические формы единственного числа могут означать и множественное число, если иное условие не продиктовано в соответствии с контекстом. В настоящем изобретении использование союза "или" означает "и/или" если не указано иное условие. Кроме того, не представляет собой ограничение использование термина "включающий", а также других форм, таких как "включают", "включает" и "включенный".

Заголовки разделов, которые использованы в настоящем документе, приведены исключительно для

организационных целей, и их не следует истолковывать в качестве ограничения описанного объекта настоящего изобретения.

Определения стандартных химических терминов может найти в справочной литературе, в том числе, но без ограничения в работе Carey и Sundberg "Современная органическая химия", четвертое издание, том А (2000 г.) и том В (2001 г.), издательство Plenum Press, Нью-Йорк. Если не указано иное условие, предусмотрены традиционные методы масс-спектрометрии, ЯМР, ВЭЖХ, химии белков, биохимии, технологий рекомбинантных ДНК и фармакологии.

Если не приведены конкретные определения, номенклатура соединений, используемых в связи с лабораторными процедурами и технологиями, аналитической химии, синтетической органической химии, а также медицинской и фармацевтической химии, которые описаны в настоящем документе, представляет собой номенклатуру, которая признана в данной области техники. Стандартные технологии могут находить применение для химических синтезов, химических анализов, фармацевтических препаратов, композиций, способов их введения и лечения пациентов. Стандартные технологии могут находить применение для синтеза рекомбинантных ДНК и олигонуклеотидов, а также для культивации и трансформации тканей (например, для электропорации и липофекции). Технологии осуществления реакций и способы очистки могут быть осуществлены, например, с применением соответствующих наборов согласно техническим условиям производителей или согласно общей технической практике или описанию в настоящем документе. Как правило, указанные выше технологии и процедуры могут быть осуществлены традиционными способами и согласно описанию в разнообразных общих и более конкретных публикациях, которые цитируются и обсуждаются во всем тексте настоящего описания.

Следует понимать, что способы и композиции, которые описаны в настоящем документе, не ограничиваются конкретными технологиями, протоколами, клеточными линиями, конструкциями и реагентами, которые описаны в настоящем документе с учетом их возможных изменений. Кроме того, следует понимать, что терминология, которая используется в настоящем документе, предназначена исключительно для цели описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения объема способов, соединений и композиций, которые описаны в настоящем документе.

При использовании в настоящем документе C_1-C_x означает, в том числе, C_1-C_2 , C_1-C_3 ... C_1-C_x . C_1-C_x означает число атомов углерода, составляющих фрагмент, который должен быть обозначен (за исключением необязательных заместителей).

Термин "алкильная группа" означает алифатическую углеводородную группу. В алкильных группах могут присутствовать или отсутствовать ненасыщенные звенья. Алкильный фрагмент может представлять собой "насыщенную алкильную группу", и это означает, что в нем отсутствуют какие-либо ненасыщенные звенья (т.е. двойные связи между атомами углерода или тройные связи между атомами углерода). Алкильная группа также может представлять собой "ненасыщенный алкильный фрагмент", и это означает, что в нем присутствует по меньшей мере одно ненасыщенное звено. Алкильный фрагмент, в том числе насыщенный или ненасыщенный, может представлять собой разветвленную или неразветвленную цепь.

Алкильная группа может содержать от 1 до 6 атомов углерода (при упоминании в настоящем документе численный диапазон, такой как диапазон "от 1 до 6" означает каждое целое число в данном диапазоне; например, термин "1 до 6 атомов углерода" означает, что алкильная группа может состоять из одного атома углерода, двух атомов углерода, трех атомов углерода и т.д., вплоть до шести атомов углерода включительно, хотя настоящее определение также распространяется на упоминание термина "алкил", для которого не обозначен численный диапазон). Алкильная группа в соединениях, которые описаны в настоящем документе, может быть обозначена как " C_1-C_6 -алкил" или иметь аналогичное обозначение. Исключительно в качестве примера, термин " C_1-C_6 -алкил" означает, что алкильная цепь содержит от одного до шести атомов углерода, т.е. алкильная цепь выбрана из группы, которую составляют метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил и гексил. Алкильные группы могут быть замещенными или незамещенными. В зависимости от структуры, алкильная группа может представлять собой монарадикал или дирадикал (т.е. алкиленовую группу).

Термин "алкокси" означает -О-алкильную группу, причем термин "алкил" имеет значение, которое определено в настоящем документе.

Термин "алкенильная группа" означает радикал с линейной или разветвленной углеводородной цепью, которую составляют исключительно атомы углерода и водорода, и в которой присутствует по меньшей мере одна двойная связь между атомами углерода. Неограничительные примеры алкенильных групп представляют собой $-CH=CH_2$, $-C(CH_3)=CH_2$, $-CH=CHCH_3$, $-CH=C(CH_3)_2$ и $-C(CH_3)=CHCH_3$. Согласно некоторым вариантам осуществления алкенильные группы могут содержать от 2 до 6 атомов углерода. Алкенильные группы могут быть замещенными или незамещенными. В зависимости от структуры, алкенильная группа может представлять собой монарадикал или дирадикал (т.е. алкениленовую группу).

Термин "алкинил" означает радикал с линейной или разветвленной углеводородной цепью, которую составляют исключительно атомы углерода и водорода, и в которой присутствует по меньшей мере одна тройная связь между атомами углерода. Неограничительные примеры алкинильных групп пред-

ставляют собой $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$, $-C\equiv CCH_2,CH_3$ и $-C\equiv CCH_2,CH_2,CH_3$. Согласно некоторым вариантам осуществления алкинильная группа может содержать от 2 до 6 атомов углерода. Алкинильные группы могут быть замещенными или незамещенными. В зависимости от структуры, алкинильная группа может представлять собой монарадикал или дирадикал (т.е. алкиниленовую группу).

Термин "аминогруппа" означает группу $-NH_2$.

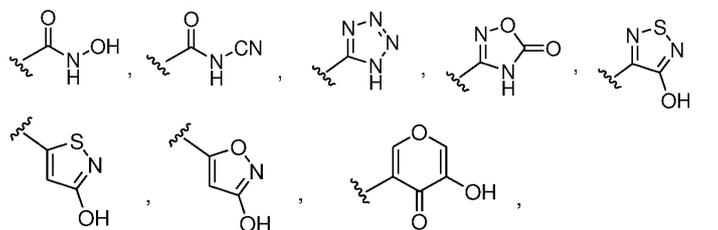
Термин "алкиламин" или "алкиламино" означает группу $-N(\text{алкил})_xH_y$, где алкил имеет значение, которое определено в настоящем документе, а числа x и y выбраны из группы $x=1, y=1$ и $x=2, y=0$. Когда $x=2$, алкильные группы, рассматриваемые вместе с атомом азота, с которым они связаны, могут необязательно образовывать циклическую кольцевую систему. Термин "диалкиламино" означает группу $-N(\text{алкил})_2$, где алкил имеет значение, которое определено в настоящем документе.

Термин "ароматический" означает плоское кольцо, имеющее делокализованную π -электронную систему, содержащую $4n+2$ π -электронов, где n составляет целое число.

Ароматические кольца могут быть образованы из пяти, шести, семи, восьми, девяти или более чем девяти атомов. Ароматические группы необязательно могут быть замещенными. Термин "ароматическая группа" распространяется как на арильные группы (например, фенил, нафталинил) и гетероарильные группы (например, пиридинил, хинолинил).

При использовании в настоящем документе термин "арил" означает ароматическое кольцо, в котором каждый из атомов, образующих кольцо, представляет собой атом углерода. Арильные кольца могут быть образованы из пяти, шести, семи, восьми, девяти или более чем девяти атомов углерода. Арильные группы необязательно могут быть замещенными. Примерные арильные группы представляют собой, но не ограничиваются ими, фенил, и нафталинил. В зависимости от структуры, арильная группа может представлять собой монарадикал или дирадикал (т.е. ариленовую группу).

Термин "карбоксии" означает $-CO_2H$. Согласно некоторым вариантам осуществления вместо карбоксильного фрагмента может присутствовать "карбоксильная биоизостерная группа", которая означает функциональную группу или фрагмент, который проявляет аналогичные физические и/или химические свойства по сравнению с карбоксильным фрагментом. Карбоксильная биоизостерная группа имеет аналогичные биологические свойства по сравнению с карбоксильной группой. Соединение, содержащее карбоксильный фрагмент, может обменивать этот карбоксильный фрагмент на карбоксильную биоизостерную группу и иметь аналогичные физические и/или биологические свойства по сравнению с соединением, содержащим карбоксильный фрагмент. Например, согласно одному варианту осуществления карбоксильная биоизостерная группа может ионизироваться при физиологическом значении pH приблизительно в такой же степени, как карбоксильная группа. Примерные биоизостерные карбоксильные группы представляют собой, но не ограничиваются ими,



а также аналогичные группы.

Термин "циклоалкил" означает моноциклический или полициклический неароматический радикал, в котором каждый из атомов, образующих кольцо (т.е. скелетных атомов) представляет собой атом углерода. Циклоалкилы могут быть насыщенными или частично ненасыщенными. Циклоалкилы могут быть сконденсированы с ароматическим кольцом (в таком случае циклоалкил образует связь через неароматический кольцевой атом углерода). Согласно некоторым вариантам осуществления циклоалкильные группы представляют собой группы, содержащие от 3 до 10 кольцевых атомов. Термины "гетероарильный" или, в качестве альтернативы, "гетероароматический" означает арильную группу, которая содержит один или несколько кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. Азотсодержащий "гетероароматический" или "гетероарильный" фрагмент означает ароматическую группу, в которой по меньшей мере один из скелетных атомов кольца представляет собой атом азота.

Термин "гетероциклоалкильная группа" или "гетероалициклическая группа" означает циклоалкильная группа, в которой по меньшей мере один скелетный кольцевой атом представляет собой гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы. Радикалы могут быть сконденсированы с арилом или гетероарилом. Термин "гетероалициклический" также распространяется на все циклические формы углеводов, в том числе, но без ограничения, на моносахариды, дисахариды и олигосахариды. Если не указано иное условие, гетероциклоалкилы содержат от 2 до 10 атомов углерода в кольце. Следует понимать, что при указании числа атомов углерода в гетероциклоалкиле число атомов углерода в гетероциклоалкиле не является таким же, как полное число атомов (включая гетероатомы), которые составляют гетероциклоалкил (т.е. скелетные атомы гетероциклоалкильного кольца).

Термин "галоген" или, в качестве альтернативы, "галоген" означает фтор, хлор, бром и йод. Термин "галогеналкил" означает алкильную группу, которая является замещенной и содержит один или несколько атомов галогенов. Галогены могут быть одинаковыми, или они могут быть различными. Неограничительные примерные галогеналкилы представляют собой $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$ и т.п.

Термины "фторалкил" и "фторалкокси" означают алкильные и алкоксильные группы, соответственно, которые являются замещенными и содержат один или несколько атомов фтора. Неограничительные примерные фторалкильные группы представляют собой $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}(\text{CH}_3)_3$ и т.п.

Неограничительные примерные фторалкоксильные группы представляют собой $-\text{OCF}_3$, $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCH}_2\text{F}$, $-\text{OCH}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}(\text{CH}_3)_2$ и т.п.

Термин "дейтероалкил" означает алкильную группу, которая является замещенной и содержит один или несколько атомов дейтерия.

Термин "гетероалкил" означает алкильный радикал, в котором один или несколько скелетных цепных атомов выбраны из атомов, которые представляют собой не атомы углерода, но, например, атомы кислорода, азота, серы, фосфора, кремния или их сочетания. Один или несколько гетероатомов могут занимать любые внутренние положения в гетероалкильной группе. Примеры представляют собой, но не ограничиваются этим, $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}(\text{O})\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}(\text{O})_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-O-Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH=N-OCH}_3$ и $-\text{CH=CH-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$. Кроме того, вплоть до двух гетероатомов могут занимать последовательные положения, таким образом, как, в качестве примера, в $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$ и $-\text{CH}_2\text{-O-Si}(\text{CH}_3)_3$. Без учета числа гетероатомов "гетероалкил" может содержать от 1 до 6 атомов углерода.

Термин "связь" или "простая связь" означает химическую связь между двумя атомами, или двумя фрагментами, когда атомы, которые соединены посредством связи, рассматриваются в качестве части более крупной субструктуры.

Термин "фрагмент" означает конкретный сегмент или функциональную группу молекулы.

Химические фрагменты часто представляют собой химические соединения, внедренные в молекулу или присоединенные к ней.

При упоминании в настоящем документе заместитель "R", который встречается индивидуально и без указания числа, означает заместитель, в качестве которого выбраны, помимо прочих, алкил, галогеналкил, гетероалкил, алкенил, циклоалкил, арил, гетероарил (связанный через кольцевой атом углерода) и гетероциклоалкил.

Термин "необязательный" или "необязательно" означает, что последующее описанное событие или обстоятельство может или не может происходить, и что описание распространяется на случаи, в которых данное событие или обстоятельство происходит, и случаи, в которых оно не происходит.

Термин "необязательно замещенный" или "замещенный" означает, что указанная группа может быть замещенной и содержать одну или несколько дополнительных групп, в качестве которых индивидуально и независимо могут быть выбраны алкил, циклоалкил, арил, гетероарил, гетероциклоалкил, $-\text{OH}$, алкокси, арилокси, алкилтио, арилтио, алкилсульфоксид, арилсульфоксид, алкилсульфон, арилсульфон, $-\text{CN}$, алкин, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкилалкин}$, галоген, ацил, ацилокси, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{-алкил}$, нитро, галогеналкил, фторалкил и амино, в том числе однозамещенные и двухзамещенные аминогруппы (например, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{N}(\text{R})_2$), а также соответствующие защищенные производные. В качестве примера, необязательные заместители могут представлять собой $\text{L}^{\text{S}}\text{R}^{\text{S}}$, причем в качестве каждого L^{S} независимо выбраны связь, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(=\text{O})-$, $-\text{S}(=\text{O})_2-$, $-\text{NH}-$, $-\text{NHC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$, $\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-$, $-\text{NHS}(=\text{O})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NH}-$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{O}-$, $-(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкил})-$ или $-(\text{C}_2\text{-C}_6\text{-алкенил})-$; и в качестве каждого R^{S} независимо выбраны H , $(\text{C}_1\text{-C}_6\text{-алкил})$, $(\text{C}_3\text{-C}_8\text{-циклоалкил})$, арил, гетероарил, гетероциклоалкил или $\text{C}_1\text{-C}_6\text{-гетероалкил}$. Защитные группы, которые могут образовывать защищенные производные перечисленных выше заместителей, можно найти в таких источниках, как указанные далее работы Greene и Wuts.

При использовании в настоящем документе термин "около" или "приблизительно" означает нахождение в пределах 20%, предпочтительно в пределах 10%, и предпочтительнее в пределах 5% от заданного значения или диапазона.

Термин "терапевтически эффективное количество" при использовании в настоящем документе означает количество лиганда псевдокиназы ТУК2, которое при введении нуждающемуся в этом млекопитающему оказывается настолько эффективным, чтобы по меньшей мере частично улучшать состояния, связанные со старением кожи, или по меньшей мере частично предотвращать такие состояния.

При использовании в настоящем документе термин "экспрессия" означает процесс, посредством которого происходит транскрипция полинуклеотидов в мРНК и трансляция в пептиды, полипептиды или белки.

Термин "модулировать" охватывает как уменьшение, так и увеличение активности или экспрессии в зависимости от молекулы-мишени.

Термин "активатор" используется в настоящем описании для обозначения любой молекулярной частицы, которая приводит к активации указанного рецептора, независимо от того, что сама эта частица

образует связь с рецептором, или метаболит этой частицы образует связь с рецептором в случае местного введения частицы. Таким образом, активатор может представлять собой лиганд рецептора, или он может представлять собой активатор, который в результате метаболизма превращается в лиганд рецептора, т.е. представлять собой метаболит, который образуется в ткани и фактически является лигандом.

Термином "пациент" или "млекопитающее" обозначены человек, примат, который не является человеком, собака, кошка, корова, овца, свинья, мышь или другое ветеринарное или лабораторное млекопитающее. Специалисты в данной области техники понимают, что для терапии, которая снижает степень патологии в случае млекопитающего одного вида, может быть спрогнозирован терапевтический эффект в случае млекопитающего другого вида.

Термин "слабодействующее лекарственное средство" при использовании в настоящем документе означает лекарственное вещество и/или химическое соединение, которое проявляет биологическую активность в желательной целевой ткани, и которое подвергается метаболизму после того, как оно проявляет свой эффект в целевой ткани, и превращается в соединение, которое оказывается неактивным в отношении биологической мишени. Согласно некоторым вариантам осуществления слабодействующее лекарственное средство не проявляет целевой биологической активности в общей системе кровообращения.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" охватывает соли присоединения кислоты и соли присоединения основания. Термин "фармацевтически приемлемая соль" в отношении любого из соединений, которые описаны в настоящем документе, предназначен для распространения на любые и все фармацевтически подходящие солевые формы. Предпочтительные фармацевтически приемлемые соли соединений, которые описаны в настоящем документе, представляют собой фармацевтически приемлемые соли присоединения кислоты и фармацевтически приемлемые соли присоединения основания. Термин "фармацевтически приемлемая соль присоединения кислоты" означает такие соли, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных оснований, которые не являются нежелательными в биологическом или ином отношении, и которые образуются с участием неорганических кислот, таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, серная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота, йодистоводородная кислота, фтористоводородная кислота, фосфористая кислота и т.п. Кроме того, предусмотрены соли, которые образуются с участием органических кислот, таких как алифатические монокарбоновые и дикарбоновые кислоты, фенилзамещенные алкановые кислоты, гидроксилкановые кислоты, алкандикарбоновые кислоты, ароматические кислоты, алифатические и ароматические сульфоновые кислоты и т.д., и к ним относятся, например, уксусная кислота, трифторуксусная кислота, пропионовая кислота, гликолевая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, винная кислота, лимонная кислота, бензойная кислота, коричная кислота, миндальная кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, салициловая кислота и т.п. Таким образом, примерные соли представляют собой сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, нитраты, фосфаты, моногидрофосфаты, дигидрофосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, йодиды, ацетаты, трифторацетаты, пропионаты, каприлаты, изобутираты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себацинаты, фумараты, малеаты, манделаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, фталаты, бензолсульфонаты, толуолсульфонаты, фенилацетаты, цитраты, лактаты, малаты, тартраты, метансульфонаты и т.п. Кроме того, предусмотрены соли аминокислот, такие как аргинаты, глюконаты и галактуронаты (см., например, статью Berge S.M. и соавторов "Фармацевтические соли", *Journal of Pharmaceutical Science*, 66: 1-19 (1997)). Соли присоединения кислоты, которые образуют основные соединения, получают посредством введения свободных основных форм в контакт с достаточным количеством желательной кислоты для получения соли. Термин "фармацевтически приемлемая соль присоединения основания" означает такие соли, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных кислот, которые не являются нежелательными в биологическом или ином отношении. Указанные соли получают в результате присоединения неорганического основания или органического основания к свободной кислоте. Согласно некоторым вариантам осуществления фармацевтически приемлемые соли присоединения основания образуют металлы или амины, такие как щелочные и щелочноземельные металлы или органические амины. Соли, которые получают из неорганических оснований, представляют собой, но не ограничиваются этим, соли натрия, калий, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и т.п. Соли, которые получают из органических оснований, представляют собой, но не ограничиваются этим, соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, в том числе встречающиеся в природе замещенных аминов, циклических аминов и основных ионообменных смол, таких как, например, изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин, этаноламин, диэтанолламин, 2-диметиламиноэтанол, 2-диэтиламиноэтанол, дициклогексиламин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин, прокаин, N,N-добензилэтилендиамин, хлорпрокаин, гидрабамин, холин, бетаин, этилендиамин, этилендианилин, N-метилглюкамин, глюкозамин, метилглюкамин, теобромин, пурины, пиперазин, пиперидин, N-этилпиперидин, полиаминные смолы и т.п. См. упомянутую выше работу Berge и соавторов.

При использовании в настоящем документе, "лечение" или "терапия" или "паллиативная помощь" или "улучшение состояния" используются взаимозаменяемым образом. Указанные термины означают

подход к получению благоприятных или желательных результатов, в том числе, но не ограничиваясь этим, терапевтический положительный эффект и/или профилактический положительный эффект. Термин "терапевтический положительный эффект" означает устранение или ослабление соответствующего расстройства, которое подлежит лечению. Кроме того, терапевтический положительный эффект достигается посредством устранения или ослабления одного или нескольких физиологических симптомов, связанных с соответствующим расстройством, таким образом, что наблюдается улучшение состояния пациента, несмотря на то, что пациент по-прежнему страдает от соответствующего расстройства. Для достижения профилактического положительного эффекта композиции вводят пациенту, который подвержен риску развития конкретного заболевания, или в случае возникновения у пациента одного или нескольких физиологических симптомов заболевания, даже если еще не был поставлен диагноз указанного заболевания.

В качестве представителя семейства тирозинкиназ JAK, TYK2 является посредником передачи сигналов провоспалительных цитокинов и, таким образом, представляет собой мишень для лечения разнообразных воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Важнейший структурный признак семейства JAK представляет собой домен псевдокиназы (JH2), который является непосредственно N-концевым по отношению к каталитическому домену (JH1). Хотя домен JH2 имеет в целом структуру типичного каталитического домена, ряд различий в отношении индивидуальных остатков и конформации между доменами JH1 и JH2 TYK2 указывает на отсутствие каталитической активности домена JH2. Было доказано, что домены JH2 семейства JAK регулируют функцию доменов JH1. Все это доказательство находится в соответствии с тем, что домен псевдокиназы TYK2 представляет собой автоингибирующее стабилизирующее инактивированное состояние домена киназы, и что низкомолекулярные лиганды могут стабилизировать автоингибирующую конформацию и в результате этого предотвращать белковую функцию аллостерическим образом (Moslin et al., *Med. Chem. Commun.*, 2017, 700-712).

Соединения формулы (I'), которые описаны в настоящем документе, представляют собой лиганды псевдокиназы TYK2. Соединения формулы (I'), которые описаны в настоящем документе, а также композиции, содержащие указанные соединения, являются подходящими для применения в лечении воспалительного или аутоиммунного заболевания.

Карбамидные соединения формулы (I'), которые описаны в настоящем документе, проявляют превосходную метаболическую устойчивость и, соответственно, превосходят соответствующие амидные соединения в отношении активности в условиях организма. Улучшенные фармакокинетические свойства карбамидных соединений обусловлены протеолитической устойчивостью карбамидной функциональной группы по сравнению с простым амидом. Кроме того, в результате замены амида карбамидом происходит изменение природы связующего взаимодействия с доменом псевдокиназы TYK2, что усиливает син-, антикарбамидную конформацию, которая, в свою очередь, одновременно обеспечивает группы N-H и C=O для непосредственных критических взаимодействий с резервным белком. Это изменение характера связывания приводит к различным структурным зависимостям (SAR) активности и селективности TYK2, а также обеспечивает улучшенный фармакокинетический и фармакологический профиль карбамидных соединений по сравнению с амидными соединениями. Согласно настоящему изобретению предусмотрено любое сочетание групп, которые описаны выше, для разнообразных переменных параметров. Специалист в данной области техники может выбирать группы и соответствующие заместители во всем тексте настоящего описания для получения устойчивых фрагментов и соединений.

Согласно некоторым вариантам осуществления в фармацевтической композиции в качестве фармацевтически приемлемой соли присутствуют одно или несколько терапевтических веществ (например, соединение формулы (I')). Согласно некоторым вариантам осуществления любое соединение, представленное выше, является подходящим для любого способа или композиции, которые описаны в настоящем документе.

Изомеры.

Соединения, которые описаны в настоящем документе, представляют собой все цис-, транс-, син-, анти-, E- и Z-изомеры, а также соответствующие смеси. В некоторых ситуациях соединения существуют как таутомеры. Соединения, которые описаны в настоящем документе, включают все возможные таутомеры в пределах формул, которые представлены в настоящем документе. В некоторых ситуациях соединения, которые описаны в настоящем документе, содержат один или несколько хиральных центров, и каждый центр существует в R-конфигурации или S-конфигурации. Соединения, которые описаны в настоящем документе, включают все диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также соответствующие смеси. Согласно дополнительным вариантам осуществления соединений и способов, которые представлены в настоящем документе, смеси энантиомеров и/или диастереоизомеров, которые образуются в результате одной и той же стадии получения, сочетания или взаимного превращения, являются пригодными для применения в приложениях, которые описаны в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, получают как оптически чистые энантиомеры посредством хирального хроматографического разделения рацемической смеси. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, получают как соответствующие индивидуальные стереоизомеры посредством реакции соединения в форме рацемической смеси с оптически активным разделяющим веществом с образованием пары

диастереоизомерных соединений, разделения диастереомеров и выделения оптически чистых энантиомеров. Согласно некоторым вариантам осуществления оказываются предпочтительными диссоциирующие комплексы (например, кристаллические диастереомерные соли). Согласно некоторым вариантам осуществления диастереомеры имеют различные физические свойства (например, температуры плавления, температуры кипения, растворимости, реакционные способности и т.д.), и их разделяют, используя преимущество указанных различий. Согласно некоторым вариантам осуществления диастереомеры разделяют посредством хиральной хроматографии или предпочтительно с применением технологий разделения/разрешения на основе различий в растворимости. Согласно некоторым вариантам осуществления оптически чистый энантиомер затем выделяют вместе с разделяющим веществом с применением любых практических средств, которые не приводят к рацемизации.

Фармацевтически приемлемые соли.

Согласно некоторым вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, существуют как соответствующие фармацевтически приемлемые соли. Согласно некоторым вариантам осуществления способы, которые описаны в настоящем документе, включают способы лечения заболеваний посредством введения таких фармацевтически приемлемых солей. Согласно некоторым вариантам осуществления способы, которые описаны в настоящем документе, включают способы лечения заболеваний посредством введения таких фармацевтически приемлемых солей в составе фармацевтических композиций. Согласно некоторым вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, содержат кислые или основные группы и, таким образом, реагируют с любыми соединениями из ряда неорганических или органических оснований, а также неорганических и органических кислот с образованием фармацевтически приемлемой соли. Согласно некоторым вариантам осуществления указанные соли получают на месте производства в процессе заключительного выделения и очистки соединений, которые описаны в настоящем документе, или в процессе отдельной реакции очищенного соединения в соответствующей свободной форме с подходящей кислотой или основанием и выделения соли, которая образуется в результате этой реакции.

Синтез соединений.

Согласно некоторым вариантам осуществления синтез соединений, которые описаны в настоящем документе, осуществляется с применением средств, описанных в химической литературе, и с применением способов, которые описаны в настоящем документе, или посредством их сочетания. Кроме того, растворители, температуры и другие условия реакций, которые представлены в настоящем документе, могут варьироваться.

Согласно другим вариантам осуществления исходные материалы и реагенты, используемые для синтеза соединений, которые описаны в настоящем документе, синтезируют или получают из товарных источников, таких как, но не ограничиваясь этим, Sigma-Aldrich, FischerScientific (Fischer Chemicals) и Acros Organics.

Согласно следующим вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, а также другие родственные соединения, содержащие различные заместители, синтезируют с применением технологий и материалов, которые описаны в настоящем документе, а также тех, которые являются признанными в данной области техники, и описания которых представляют, например, работы Fieser & Fieser "Реагенты для органического синтеза", тома 1-17 (John Wiley & Sons, 1991 г.); Rodd "Химия углеродных соединений", тома 1-5 и дополнительные материалы (Elsevier Science Publishers, 1989 г.); "Органические реакции", тома 1-40 (John Wiley & Sons, 1991 г.), Larock "Полный обзор превращений органических соединений" (VCH Publishers Inc., 1989 г.), March "Современная органическая химия", четвертое издание (Wiley 1992 г.); Carey & Sundberg "Современная органическая химия", четвертое издание", тома А и В (Plenum 2000, 2001 гг.), а также Greene и Wuts "Защитные группы в органическом синтезе", третье издание (Wiley, 1999 г.), причем все эти публикации считаются включенными посредством ссылки в целях такого раскрытия. Общие способы получения соединений, которые описаны в настоящем документе, могут быть разработаны на основании реакций, и эти реакции могут быть модифицированы посредством применения соответствующих реагентов и условий, для введения разнообразных фрагментов, присутствующих в формулах, которые представлены в настоящем документе. В качестве руководства могут быть использованы следующие синтетические методы.

Применение защитных групп.

В описанных реакциях может оказаться необходимой защита реакционноспособных функциональных групп, например, посредством гидроксильных, аминных, иминных, тиольных или карбоксильных групп, когда указанные группы являются желательными в конечном продукте в целях защиты от его нежелательного участия в реакциях. Защитные группы находят применение в целях блокирования некоторых или всех реакционноспособных фрагментов и предотвращения участия таких групп в химических реакциях до удаления защитной группы. Оказывается предпочтительным, чтобы каждая защитная группа имела возможность удаления отдельным способом. Защитные группы, которые отщепляются в полностью различных условиях реакции, выполняют требование раздельного удаления.

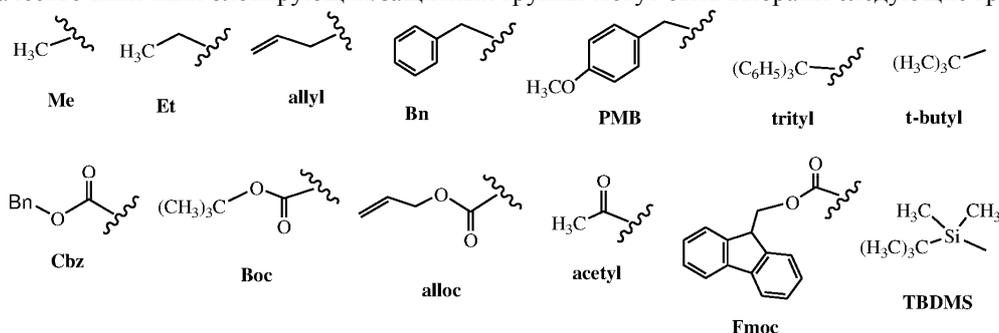
Защитные группы можно удалять, используя кислоту, основание, восстановительные условия (такие как, например, гидрогенолиз) и/или окислительные условия. Группы, такие как тритил, диметоксит-

ритил, ацеталь и трет-бутилдиметилсиллил, представляют собой лабильные по отношению к кислотам группы, которые могут быть использованы для защиты карбоксильных и гидроксильных реакционноспособных фрагментов в присутствии аминогрупп, защищенных карбобензоксигруппами (Cbz), которые могут быть удалены посредством гидрогенолиза, и 9-флуоренилметоксикарбонильными группами (Fmoc), которые представляют собой лабильные по отношению к основаниям группы. Карбоксильные и гидроксильные реакционноспособные фрагменты можно блокировать, используя лабильные по отношению к основаниям группы, такие как, но не ограничиваясь этим, метил, этил и ацетил, в присутствии аминов, а также блокировать, используя лабильные по отношению к кислотам группы, такие как трет-бутилкарбамат, или карбаматы, которые являются устойчивыми по отношению к кислотам и основаниям, но могут быть удалены в процессе гидролиза.

Карбоксильные и гидроксильные реакционноспособные фрагменты также можно блокировать, используя удаляемые в процессе гидролиза защитные группы, такие как бензильная группа, в то время как аминогруппы, способные образовывать водородные связи с кислотами, можно блокировать, используя лабильные по отношению к основаниям группы, такие как Fmoc. Карбоксильные реакционноспособные фрагменты могут быть защищены посредством превращения в обычные сложноэфирные соединения, которое проиллюстрировано примерами в настоящем документе и предусматривает превращение в сложные алкилэферы, или они могут быть заблокированы посредством удаляемых в окислительных условиях защитными группами, таким как 2,4-диметоксибензил, в то время как сосуществующие аминогруппы могут быть заблокированы лабильными к фторидам силлкарбаматами.

Аллильные блокирующие группы являются пригодными для применения в присутствии защитных от кислот и оснований групп, поскольку аллильные группы являются устойчивыми, и их можно впоследствии удалять, используя металл или π -кислыми катализаторами. Например, заблокированная аллильной группой карбоновая кислота может быть лишена защиты посредством реакции, которую катализирует Pd^0 , когда присутствуют лабильные по отношению к кислотам трет-бутилкарбаматные или лабильные по отношению к основаниям аминокетатные защитные группы. Следующую форму защитной группы представляет собой смола, с которой может быть связано соединение или промежуточное соединение. До тех пор, пока остаток связан со смолой, эта функциональная группа является заблокированной и не может реагировать. После высвобождения от смолы функциональная группа становится доступной для реакции.

В качестве типичных блокирующих/защитных группы могут быть выбраны следующие группы:



Другие защитные группы, а также подробное описание технологий, которые могут быть использованы для создания защитных групп и их удаления, представлены в работах Greene и Wuts "Защитные группы в органическом синтезе", третье издание, издательство John Wiley & Sons, Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, 1999 г.; и Kocienski "Защитные группы", издательство Нью-Йорк, штат Нью-Йорк, 1994 г., которые включены в настоящий документ посредством ссылки в целях такого раскрытия).

Фармацевтические композиции и способы введения.

Лиганды псевдокиназы ТУК2, которые описаны в настоящем документе, вводят субъектам в биологически совместимой форме, подходящей для введения в целях лечения или предотвращения заболеваний, расстройств или состояний. Введение лигандов псевдокиназы ТУК2, которые описаны в настоящем документе, может быть осуществлено в любой фармакологической форме, содержащей терапевтически эффективное количество лиганда псевдокиназы ТУК2, присутствующего в чистом виде или в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем.

Согласно определенным вариантам осуществления соединения, которые описаны в настоящем документе, вводят в форме чистых химических веществ. Согласно другим вариантам осуществления с соединениями, которые описаны в настоящем документе, объединен фармацевтически подходящий или приемлемый носитель (также упоминаемый в настоящем документе как фармацевтически подходящее (или приемлемое) вспомогательное вещество, физиологически подходящее (или приемлемое) вспомогательное вещество или физиологически подходящий (или приемлемый) носитель), выбранный на основании выбранного пути введения и стандартной фармацевтической практики, как описано, например, в книге Remington "Фармацевтическая наука и практика", под ред. Gennago, 21 издание, издательство Mack

Pub. Co., Истон, штат Пенсильвания (США), 2005 г. Соответственно, согласно настоящему изобретению предложена фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или фармацевтически приемлемую соль, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. Один или несколько носителей (или вспомогательных веществ) являются приемлемыми или подходящими, если носитель является совместимым с другими ингредиентами композиции и не является вредным для получателя композиции (т.е. субъекта). Согласно некоторым вариантам осуществления предложена фармацевтическая композиция, содержащая фармацевтически приемлемый носитель и соединение формулы (I), или соответствующую фармацевтически приемлемую соль.

Согласно другому варианту осуществления предложена фармацевтическая композиция, состоящая в основном из фармацевтически приемлемого носителя и соединения формулы (I), или соответствующей фармацевтически приемлемой соли.

Согласно определенным вариантам осуществления соединение, которое описано в настоящем документе, является практически чистым, то есть оно содержит менее чем около 5%, или менее чем около 1%, или менее чем около 0,1%, других органических низкомолекулярных веществ, таких как примесные промежуточные вещества или побочные продукты, которые образуются, например, на одной или нескольких стадиях способа синтеза.

К указанным композициям относятся композиции, подходящие для перорального, местного, буккального, парентерального (например, подкожного, внутримышечного, внутривенного или внутривенного) или аэрозольного введения.

Примерные фармацевтические композиции находят применение в форме фармацевтического препарата, например, в твердой, полутвердой или жидкой форме, в которой содержится одно или несколько из описанных соединений в качестве активного ингредиента в смеси с органическим или неорганическим носителем или вспомогательным веществом, подходящим для наружного, энтерального или парентерального применения. Согласно некоторым вариантам осуществления активный ингредиент объединяют, например, с обычными нетоксичными фармацевтически приемлемыми носителями для изготовления таблеток, гранул, капсул, суппозитория, растворов, эмульсий, суспензий и любых других форм, подходящих для применения. Рассматриваемое активное соединение содержится в фармацевтической композиции в достаточном количестве для достижения желательного эффекта в процессе или состоянии заболевания.

Согласно некоторым вариантам осуществления лиганда псевдокиназы ТУК2, которые описаны в настоящем документе, вводят субъектам в биологически совместимой форме, подходящей для местного применения в целях лечения или предотвращения кожных заболеваний, расстройств или состояний. Выражение "биологически совместимая форма, подходящая для местного применения" означает форму лиганда псевдокиназы ТУК2, которая предназначена для введения, и в которой любые токсические эффекты преодолены терапевтическими эффектами ингибитора. Введение лигандов псевдокиназы ТУК2, которые описаны в настоящем документе, может быть осуществлено в любой фармакологической форме, содержащей терапевтическое количество лиганда псевдокиназы ТУК2 в чистом виде или в сочетании с фармацевтически приемлемым носителем.

Местное применение лиганда псевдокиназы ТУК2 может быть осуществлено в форме аэрозоля, полутвердой фармацевтической композиции, порошка или раствора. Термин "полутвердая композиция" означает мазь, крем, бальзам, желе или другую фармацевтическую композицию, имеющую практически аналогичную консистенцию, подходящую для нанесения на кожу. Примерные полутвердые композиции представлены в главе 17 книги Lachman, Lieberman & Kanig "Теория и практика промышленной фармации", издательство Lea & Febiger (1970 г.) и в главе 67 книги Remington "Фармацевтические науки", 15 издание, издательство Mack Publishing Company (1975 г.).

Дермальные или кожные пластыри представляют собой еще один способ трансдермальной доставки терапевтических или фармацевтических композиций, которые описаны в настоящем документе. Пластыри могут содержать усилитель абсорбции, такой как диметилсульфоксид (DMSO) для увеличения абсорбции соединений. Пластыри могут представлять собой пластыри, которые регулируют скорость доставки лекарственного средства в кожу. Пластыри могут обеспечивать разнообразные дозировочные системы, в том числе резервуарные системы и монолитные системы, соответственно. В резервуарной конструкции могут, например, содержаться четыре слоя: адгезионный слой, который вступает в непосредственный контакт с кожей; регулирующая мембрана, которая регулирует диффузию молекул лекарственного средства; резервуар молекул лекарственного средства; и водостойкая основа. Такая конструкция доставляет равномерные количества лекарственного средства в течение определенного периода времени, причем скорость доставки должна составлять менее чем предел насыщения различных типов кожи. В монолитной конструкции, например, как правило, содержатся только три слоя: адгезионный слой; полимерная матрица, содержащая соединение; и водостойкая основа. Эта конструкция переносит насыщающее количество лекарственного средства в кожу. В результате этого регулируется доставка посредством кожи. Когда количество лекарственного средства в пластыре уменьшается до уровня, ниже насыщающего, скорость доставки снижается.

Согласно одному варианту осуществления композиция для местного применения может, например, присутствовать в форме гидрогеля на основе полиакриловой кислоты или полиакриламида; в форме мази, содержащей, например, полиэтиленгликоль (PEG) в качестве носителя, как стандартная мазь DAB 8 (50% PEG 300, 50% PEG 1500); или в форме эмульсии, в частности, микроэмульсии типа воды в масле или масла в воде, необязательно с добавленными липосомами. Подходящие ускорители проникновения (захватывающие вещества) представляют собой сульфоксидные производные, такие как диметилсульфоксид (DMSO) или децилметилсульфоксид (децил-MSO) и транскутол (моноэтиловый простой эфир диэтиленгликоля) или циклодекстрин; а также пирролидоны, например, 2-пирролидон, N-метил-2-пирролидон, 2-пирролидон-5-карбоновая кислота, или биоразлагаемый N-(2-гидроксиэтил)-2-пирролидон и соответствующие сложные эфиры жирных кислот; карбамидные производные, такие как додецилкарбамид, 1,3-дидодецилкарбамид, и 1,3-дифенилкарбамид; и терпены, например, D-лимонен, ментон, альфа-терпинеол, карвол, лимоненноксид или 1,8-цинеол.

Мази пасты, кремы и гели также могут содержать вспомогательные вещества, такие как крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, кремнийорганические соединения, бентониты, кремниевая кислота и тальк, или их смеси. Порошки и аэрозоли также могут содержать вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамид в форме порошка, или смеси указанных веществ. Растворы, содержащие нанокристаллические противомикробные металлы, могут быть превращены в аэрозоли или препараты для распыления любыми известными средствами, которые обычно находят применение для изготовления аэрозольных фармацевтических препаратов. Как правило, такие способы предусматривают сжатие или обеспечение средств для создания давления в контейнере с раствором, обычно с применением инертного газа-носителя, и пропускание сжатого газа через небольшое отверстие. Препараты для распыления могут дополнительно содержать традиционные распыляющие вещества, такие как хлорфторуглероды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан. Носитель также может содержать другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, чтобы модифицировать или поддерживать значение pH, осмолярность, вязкость, прозрачность, цвет, стерильность, устойчивость, скорость растворения или запах композиции. Композиции против старения кожи также могут дополнительно содержать антиоксиданты, солнцезащитные вещества, природные ретиноиды (например, ретинол), и другие добавки, которые обычно присутствуют в композициях для лечения кожи.

Согласно некоторым вариантам осуществления для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим носителем, например, содержащим традиционные ингредиенты для изготовления таблеток, такие как кукурузный крахмал, лактоза, сахароза, сорбит, тальк, стеариновая кислота, стеарат магния, дикальцийфосфат или камеди, а также с другими фармацевтическими разбавителями, такими как, например, вода, с образованием твердой предварительной композиции, содержащей в гомогенной смеси описанное соединение или соответствующую нетоксичную фармацевтически приемлемую соль. Когда указано, что данная предварительная композиция является гомогенной, это означает, что активный ингредиент равномерно диспергирован во всем объеме композиции, таким образом, что композиция может быть легко разделена на равные эффективные единичные дозированные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы.

Твердые дозированные формы для перорального введения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы и т.д.) содержат композицию согласно настоящему изобретению, с которой смешивают один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, таких как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или любые из следующих вещества: (1) наполнители или разбавители, такие как крахмалы, целлюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, силицированная микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такой как, например, карбоксиметилцеллюлоза, гипромеллоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или камедь акации; (3) увлажняющие вещества, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как кросповидон, натриевая соль кроскармеллозы, крахмалгликолят натрия, агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, определенные силикаты и карбонат натрия; (5) замедляющие растворение вещества, такие как парафин; (6) ускорители абсорбции, такие как четвертичные аммониевые соединения; (7) смачивающие вещества, такие как, например, докузат натрия, цетиловый спирт и моностеарат глицерина; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазочные вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси; и (10) красящие вещества. Согласно некоторым вариантам осуществления композиции в случае капсул, таблеток и пилюль содержат буферные вещества. Согласно некоторым вариантам осуществления твердые композиции аналогичного типа также находят применение в качестве наполнителей в наполненных мягкими и твердыми веществами желатиновых капсулах, в которых содержатся такие вспомогательные вещества как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и аналогичные вещества.

Согласно некоторым вариантам осуществления таблетки изготавливают, осуществляя прессование или формование и необязательно используя один или несколько вспомогательных ингредиентов. Согласно некоторым вариантам осуществления сжатые таблетки изготавливают, используя связующее ве-

щество (например, желатин или гидроксипропилметилцеллюлозу), смазочный материал, инертный разбавитель, консервант, разрыхлитель (например, крахмалгликолят натрия или сшитая натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы), поверхностно-активное вещество или диспергирующее вещество. Согласно некоторым вариантам осуществления формованные таблетки изготавливают, осуществляя формование в подходящем устройстве и используя смесь, содержащую композицию согласно настоящему изобретению, смоченную инертным жидким разбавителем. Согласно некоторым вариантам осуществления таблетки и другие твердые дозированные формы, такие как драже, капсулы, пилюли и гранулы, изготавливают с насечками или покрытиями и оболочками, такими как кишечнорастворимые покрытия и другие покрытия.

Композиции для ингаляции или инсуффляции представляют собой растворы и суспензии, содержащие фармацевтически приемлемые водные или органические растворители или их смеси, а также порошки. Жидкие дозированные формы для перорального введения представляют собой фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо композиции согласно настоящему изобретению, жидкие дозированные формы согласно некоторым вариантам осуществления содержат инертные разбавители, такие как, например, вода или другие растворители, солубилизирующие вещества и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (в частности, хлопковое масло, арахисовое масло, масло проростков пшеницы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбита, циклодекстрины и их смеси.

Согласно некоторым вариантам осуществления, в дополнение к композиции согласно настоящему изобретению, суспензии содержат суспендирующие вещества, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбита, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, в также их смеси.

Согласно некоторым вариантам осуществления порошки и препараты для распыления содержат, помимо композиции согласно настоящему изобретению, вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамид в форме порошка, или смеси указанных веществ. Согласно некоторым вариантам осуществления препараты для распыления могут дополнительно содержать традиционные распыляющие вещества, такие как хлорфторуглероды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

В качестве альтернативы, композиции и соединения, которые описаны в настоящем документе, вводят в форме аэрозоля. Это осуществляют посредством получения водного аэрозоля, липосомного препарата или твердых частиц, содержащих данное соединение. Согласно некоторым вариантам осуществления находят применение неводная суспензия, содержащая, например, фторуглеродное распыляющее вещество. Согласно некоторым вариантам осуществления находят применение акустические небулайзеры, поскольку они сокращают до минимума подверженность вещества сдвигу, который приводит к разложению соединений, содержащихся в композициях согласно настоящему изобретению. Как правило, водный аэрозоль получают, изготавливая водный раствор или суспензию композиции согласно настоящему изобретению вместе с традиционными фармацевтически приемлемыми носителями и стабилизаторами. Носители и стабилизаторы варьируются в зависимости от требований для конкретной композиции согласно настоящему изобретению, но, как правило, они представляют собой неионогенные поверхностно-активные вещества (Tweens, Pluronic или полиэтиленгликоль), нетоксичные белки, такие как сывороточный альбумин, сложные эфиры сорбита, олеиновая кислота, лецитин, аминокислоты, такие как глицин, буферные вещества, соли, сахара или сахароспирты. Как правило, аэрозоли получают, используя изотонические растворы.

Фармацевтические композиции, подходящие для парентерального введения, представляют собой композиции согласно настоящему изобретению в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, или стерильные порошки, из которых непосредственно перед применением изготавливают разбавлением предназначенные для инъекций стерильные растворы или дисперсии, которые согласно некоторым вариантам осуществления содержат антиоксиданты, буферные вещества, бактериостатические средства, жидкие фазы, которые делают композиции изотоническими по отношению к крови заданного реципиента, или суспендирующие или загущающие вещества.

Примерные подходящие водные и неводные носители, которые находят применение в фармацевтических композициях, содержат воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и аналогичные вещества), а также соответствующие подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и предназначенные для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат и циклодекстрины. Надлежащую текучесть поддерживают, например, посредством применения покровных материалов, таких как лецитин, обеспечивая требуемый размер частиц в случае дисперсий, а также посредством применения поверхностно-активных веществ.

Доза композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, различается в зависимости от состояния пациента (например, человека), которое представляет

собой стадию заболевания, общее состояние здоровья, возраст и другие факторы. Фармацевтические композиции вводят способом, соответствующим заболеванию, которое подлежит лечению (или предотвращению). Соответствующую дозу, а также подходящую продолжительность и частоту введения будут определять такие факторы, как состояние пациента, тип и степень заболевания пациента, конкретная форма активного ингредиента и способ введения. Как правило, соответствующая доза и режим лечения обеспечивают одну или несколько композиций в достаточном количестве для обеспечения терапевтического и/или профилактического положительного эффекта например, улучшенного клинического результата, такого как повышение частоты полной или частичной ремиссии или увеличение продолжительности отсутствия заболевания и/или общей выживаемости, или снижение степени симптомов). Оптимальные дозы, как правило, определяют с применением экспериментальных моделей и/или клинических исследований. Согласно некоторым вариантам осуществления оптимальная доза зависит от массы тела, веса или объема крови пациента.

Пероральные дозы, как правило, находятся в диапазоне от около 1,0 мг до около 1000 мг, и прием осуществляют от одного раза до четырех или большего числа раз в сутки.

Введение дозы может повторяться в зависимости от фармакокинетических параметров дозируемой композиции и используемого пути введения.

Оказывается особенно преимущественным изготовление композиций в единичной дозированной форме для простоты введения и однородности дозировки. Термин "единичная дозированная форма", которая используется в настоящем документе, означает физически дискретные единицы, приспособленные в качестве единичных доз для субъекта-млекопитающего, подлежащего лечению; при этом каждая единица содержит заданное количество активного соединения, вычисленное для обеспечения желательного терапевтического эффекта в сочетании с требуемым фармацевтическим носителем. Технические условия для единичных дозированных форм определяются в непосредственной зависимости от следующих факторов: (а) индивидуальные характеристики лиганда псевдокиназы ТУК2 и конкретный терапевтический эффект, который должен быть достигнут; и (b) характерные технические ограничения в отношении изготовления композиций, содержащих такое активное соединение и предназначенных для лечения чувствительности отдельных субъектов. Конкретная доза может быть легко вычислена обычным специалистом в данной области техники, например, в зависимости от приблизительной массы тела или площади поверхности тела пациента, или объема, занимаемого телом в пространстве. Кроме того, доза может быть вычислена в зависимости от конкретного выбранного пути введения. Дополнительное уточнение вычислений, необходимых в целях определения соответствующей дозировки для лечения, может быть сделано в регулярном режиме обычными специалистами в данной области техники. Такие вычисления могут быть осуществлены без обязательного экспериментирования специалистом в данной области техники с учетом активности лиганда псевдокиназы ТУК2, описанного в настоящем документе, в исследуемых препаратах целевых клеток. Точные дозировки определяются по результатам стандартных исследований зависимости эффекта от дозы. Следует понимать, что количество фактически вводимой композиции будет определять лечащий врач с учетом соответствующих обстоятельств, включая состояние или состояния, подлежащие лечению, выбор композиции, подлежащей введению, возраст, вес и индивидуальные реакции пациента, степень симптомов пациента, и выбранный путь введения.

Токсичность и терапевтическая эффективность таких лигандов псевдокиназы ТУК2 могут быть определены посредством стандартных фармацевтических процедур с применением клеточных культур или подопытных животных, например, для определения LD₅₀ (смертельная доза для 50% популяции) и ED₅₀ (терапевтически эффективная доза для 50% популяции). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс, который может быть выражен как соотношение LD₅₀/ED₅₀. Оказываются предпочтительными лиганды псевдокиназы ТУК2, которые проявляют высокие терапевтические индексы. Хотя могут находить применение лиганды псевдокиназы ТУК2, которые проявляют токсические побочные эффекты, необходимо обращать внимание на конструкцию системы доставки, которая целевым образом переносит такие ингибиторы в область пораженной ткани, чтобы сокращать до минимума потенциальное повреждение неинфицированных клеток и в результате этого уменьшать побочные эффекты.

Данные, получаемые в результате анализов клеточных культур и исследования животных, могут находить применение в разработке диапазона дозировки для введения человеку. Дозировка таких лигандов псевдокиназы ТУК2 предпочтительно находится в пределах диапазона концентраций в системе кровообращения, в котором находятся значения ED₅₀ с низкой или нулевой токсичностью. Дозировка может варьироваться в пределах данного диапазона в зависимости от применяемой дозированной формы и используемого пути введения. Для любого лиганда псевдокиназы, используемого в способе, который описан в настоящем документе, терапевтически эффективная доза может быть оценена первоначально на основании анализов клеточных культур. Доза может быть вычислена на животной модели в целях достижения диапазона концентраций в плазме системы кровообращения, в котором находится IC₅₀ (т.е. концентрация лиганда псевдокиназы ТУК2, которая обеспечивает половину максимального ингибирования симптомов) при определении в клеточной культуре. Такая информация может находить применение для более точного определения доз, пригодных для применения в случае человека. Содержание в плазме мо-

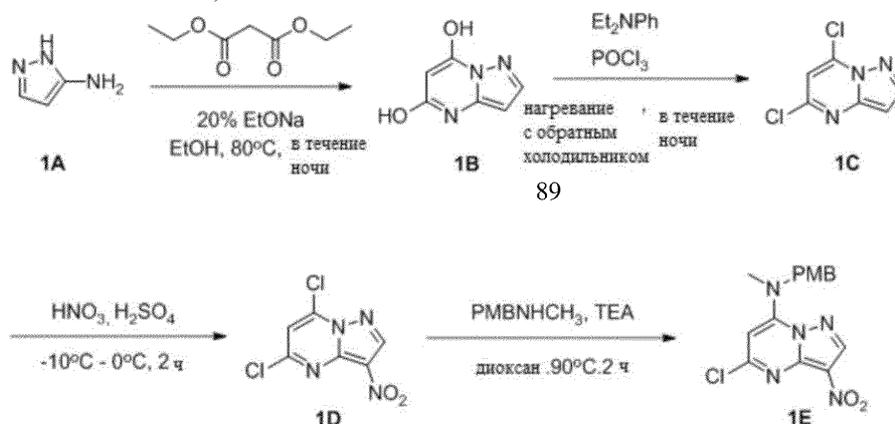
жет быть измерено, например, с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Следующие примеры представлены для целей иллюстрации и не предназначены для ограничения объема формулы изобретения, которая приведена в настоящем документе. Вся цитируемая литература в приведенных примерах и во всем тексте настоящего описания включена в настоящий документ посредством ссылки для всех законных целей, которые могут быть поставлены. Исходные материалы и реагенты, используемые для синтеза соединений, которые описаны в настоящем документе, могут быть синтезированы или могут быть получены из товарных источников, таких как, но не ограничиваясь этим, компании Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fluka и Fischer Scientific.

В настоящем документе использованы стандартные сокращения и аббревиатуры, которые определены в статье J. Org. Chem. 2007 72(1): 23A-24A. Другие сокращения и аббревиатуры, которые использованы в настоящем документе, определены в следующей таблице.

AcOH	уксусная кислота
DMF	диметилформамид
DMP	периодинан Десса-Мартина
dppf	(дифенилфосфино)ферроцен
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
экв.	эквивалент
HBTU	гексафторфосфат N,N,N',N'-тетраметил-О-(1Н-бензотриазол-1-ил)уруния
ЖХ-МС	жидкостная хроматография-масс-спектрометрия
MeOH	метанол
TEA	триэтиламин
к. т.	комнатная температура

Пример 1: синтез 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-метил-3-нитропиразоло[1,5-a]пиримидин-7-амина (промежуточное соединение 1E).



Стадия 1. - В раствор, содержащий соединение 1A (100 г, 1,17 моль) и диэтилмалонат (214 г, 1,34 моль) в EtOH (500 мл), добавляли EtONa (20 мас.% в EtOH, 819 г, 2,41 моль). Реакционную смесь перемешивали при температуре 80°C в течение ночи в атмосфере азота. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток разбавляли водой (2000 мл) и подкисляли раствором 1N HCl до pH ~2. Образовавшийся осадок собирали посредством фильтрования с получением соединения 1B (125 г, 69%) в виде коричневого твердого вещества.

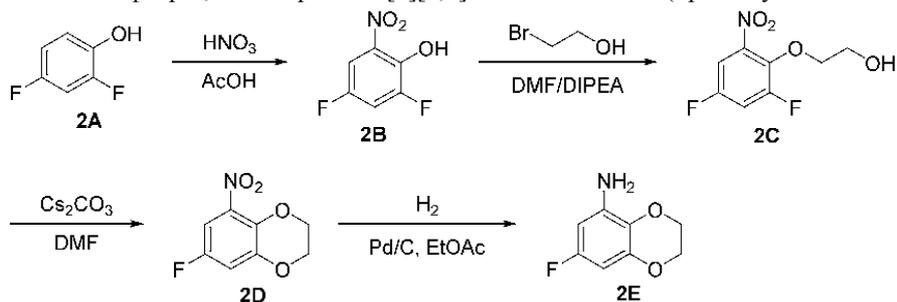
Стадия 2. - В раствор, содержащий соединение 1B (100 г, 1,7 ммоль) в POCl₃ (500 мл), добавляли Et₂NPh (167,8 г, 1,12 моль, 1,7 экв.) при температуре ниже 30°C. Смесь перемешивали при температуре 90°C в течение 5,0 ч. Реакционную смесь выливали в воду со льдом (3000 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×1000 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток очищали на колонке с гелем диоксида кремния с получением соединения 1C (90 г, 73%) в виде белого твердого вещества.

Стадия 3. - В концентрированную серную кислоту (600 мл) в колбе объемом 2000 мл при температуре -10°C добавляли азотную кислоту (300 мл, 70%) в капельном режиме в течение 30 минут. Твердое соединение 1C (100 г) добавляли порциями, поддерживая при этом температуру ниже 0°C. Смесь перемешивали при температуре 0°C в течение следующих двух часов. Смесь выливали в воду со льдом (3,0 л)

и экстрагировали дихлорметаном (3×1 л). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором NaHCO_3 и насыщенным раствором хлорида натрия, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Остаток растирали со смесью петролейного эфира и EtOAc (300 мл, объемное соотношение 5/1). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением соединения 1D (96 г, 77%) в виде желтого твердого вещества.

Стадия 4. - В раствор соединения 1D (100 г, 430 ммоль) в диоксане (1500 мл) добавляли PMBNHCH_3 (65 г, 430 ммоль) и TEA (87,0 г, 860 ммоль). Смесь перемешивали при температуре 90°C в течение одного часа. Смесь разбавляли дихлорметаном (3000 мл) и промывали насыщенным раствором хлорида натрия. Органическую фазу высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растирали со смесью петролейного эфира и EtOAc (1500 мл, объемное соотношение 10/1). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-метил-3-нитропиразоло[1,5-a]пиримидин-7-амина (1E) (130 г, 87%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: 248,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 2: синтез 7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-амина (промежуточное соединение 2E).



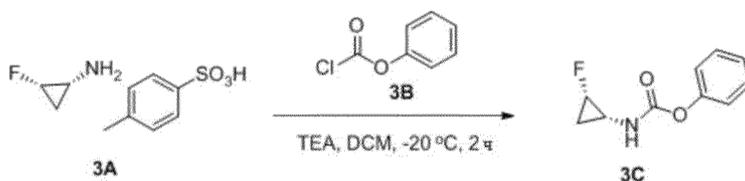
Стадия 1. - В раствор соединения 2A (100,0 г, 0,769 моль) в AcOH (800 мл) добавляли в капельном режиме HNO_3/AcOH (200 мл, объемное соотношение 1/1). Смесь перемешивали при температуре 10°C в течение 90 мин и затем выливали в воду со льдом (4 л). Твердое вещество собирали путем фильтрования и промывали небольшим количеством воды с получением соединения 2B (125 г, 93%), которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 2. - В раствор соединения 2B (125,0 г, 0,714 моль) в DMF (800 мл) при температуре 25°C добавляли 2-бромэтанол (220,0 г, 1,785 моль) и DIPEA (454,0 г, 3,570 моль). Смесь перемешивали при температуре 120°C в течение двух часов. Реакционный раствор разбавляли водой (8 л), экстрагировали этилацетатом (4 л), высушивали над Na_2SO_4 . Неочищенный продукт очищали посредством колоночной хроматографии с получением соединения 2C (116 г, 73%) в виде желтого масла.

Стадия 3. - В раствор соединения 2C (116 г, 0,530 моль) в DMF (600 мл) добавляли Cs_2CO_3 (460,0 г, 1,589 моль), затем смесь нагревали до температуры 80°C в течение одного часа. Смесь выливали в воду со льдом (5L) и экстрагировали этилацетатом (3 л). Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток очищали посредством колоночной хроматографии с получением соединения 2D (85 г, 85%) в виде светло-желтого твердого вещества.

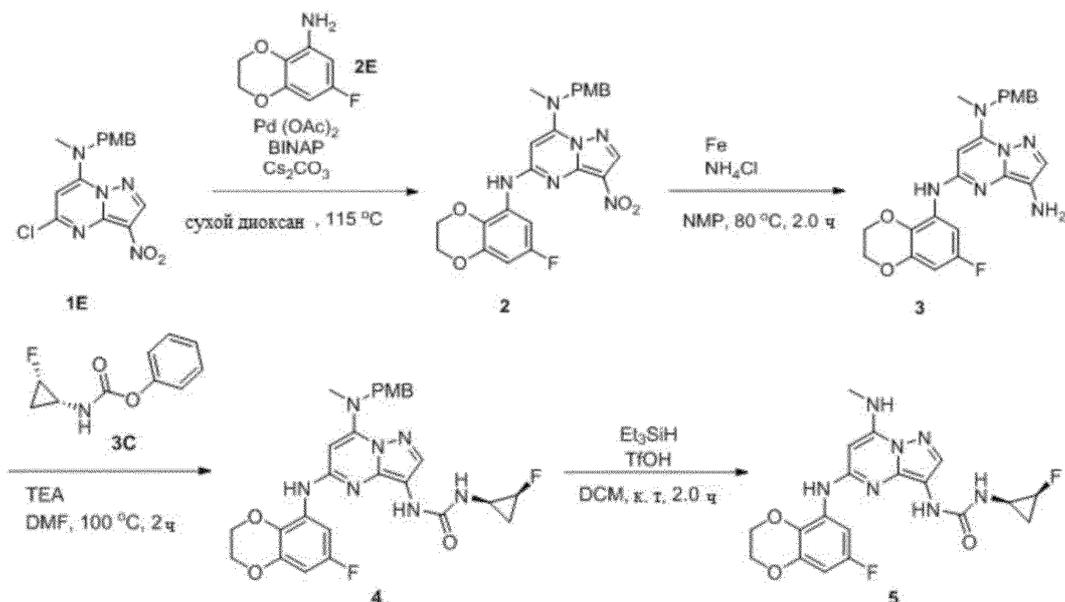
Стадия 4. - В раствор соединения 2D (70,0 г, 0,352 моль) в EtOAc (500 мл) при температуре 25°C добавляли Pd/C (7,0 г). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 14 ч. Смесь фильтровали и промывали этилацетатом. Органическую фазу собирали, и растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-амина (2E) (45 г, 75%) в виде коричневого масла.

Пример 3: синтез фенил((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамата (промежуточное соединение 3C).



В раствор соединения 3A (100 г, 405 ммоль) в DCM (1000 мл) при температуре -20°C добавляли TEA (122 г, 1,22 моль). Соединение 3B (70 г, 445 ммоль) добавляли в смесь при температуре -20°C в течение 30 мин. Смесь перемешивали при температуре -20°C в течение 2,0 ч. Реакционную смесь промывали насыщенным раствором NaHCO_3 и насыщенным раствором хлорида натрия, органическую фазу высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением фенил((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамата (3C) (70 г, 91%) в виде коричневого твердого вещества. ЖХ-МС: 196,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 4: синтез 1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пирозоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамида (5).



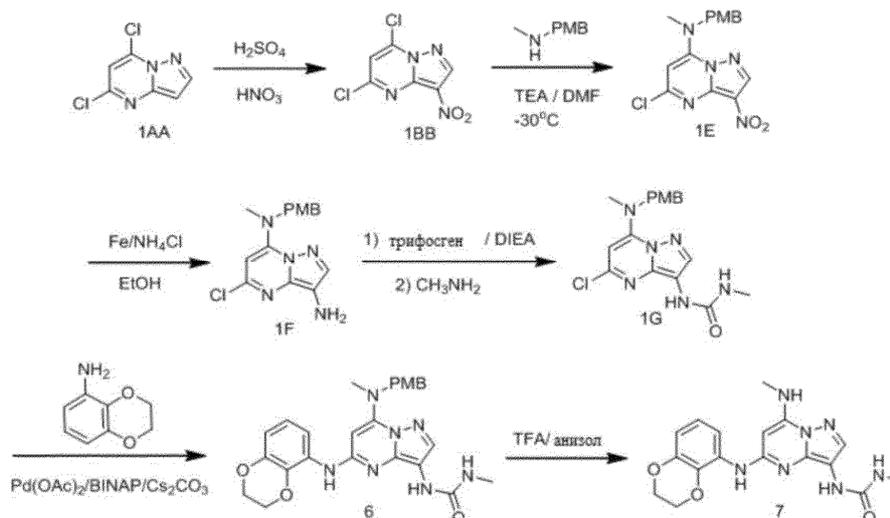
Стадия 1. - В раствор, содержащий соединение 1E (100 г, 288 ммоль) и 2E (57 г, 345 ммоль) в сухом 1,4-диоксане (3000 мл) в атмосфере азота добавляли Cs_2CO_3 (141 г, 432 ммоль), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (5,2 г, 23,3 ммоль) и BINAP (28,6 г, 46,6 ммоль). После перемешивания при температуре 115°C в течение ночи реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли гексаном (3000 мл). Твердое вещество собирали путем фильтрования и промывали раствором 50% гексана в DCM (2×1500 мл). Твердое вещество суспендировали в 5000 мл воды и перемешивали в течение одного часа. Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением соединения 2 (90 г, 65%) в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 2. - В раствор соединения 2 (70 г, 145 ммоль) в NMP (2000 мл) добавляли насыщенный водный раствор NH_4Cl (1000 мл) и Fe (92,8 г, 1,45 моль). После перемешивания при температуре 80°C в течение 5,0 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали. Фильтрат выливали в воду (20 л), и твердое вещество собирали путем фильтрования. Твердое вещество растворяли в DCM (~1500 мл) и пропускали через короткую колонку с гелем диоксида кремния, колонку промывали смесью DCM и MeOH (3000 мл, объемное соотношение 30/1). Органические фазы концентрировали при пониженном давлении. Остаток растирали со смесью EtOH/MeCN (2000 мл, объемное соотношение 5/1). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением соединения 3 (46 г, 71%) в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 3. - В раствор соединения 3 (86 г, 0,19 моль, 1,0 экв.) в DMF (800 мл) добавляли 3C (44,7 г, 0,23 моль, 1,3 экв.) и TEA (38,6 г, 0,38 моль, 2 экв.). После перемешивания при температуре 80°C в течение 2 ч реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в воду (8000 мл). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении. Остаток растирали со смесью EtOH и MeCN (1200 мл, объемное соотношение 5/1). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением соединения 4 (75 г, 71%) в виде коричневого твердого вещества.

Стадия 4. - В раствор соединения 4 (118 г, 0,21 моль, 1,0 экв.) в DCM (1200 мл) добавляли триэтилсилан (37,3 г, 0,32 моль, 1,5 экв.). После перемешивания в течение 10 мин в смесь добавляли TFA (240 мл), и реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Добавляли TfOH (60 мл), и реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение следующих двух часов. Реакционную смесь выливали в насыщенный раствор NaHCO_3 (30 мл). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении. Твердое вещество растирали с EtOH (500 мл) и собирали посредством фильтрования. Твердое вещество растирали с EtOAc (2×500 мл). Твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением соединения 1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид (5) (80 г, 86%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС: 432,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 5: синтез 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (7).



Стадия 1. - В концентрированную серную кислоту (9 мл) в колбе объемом 100 мл при температуре -10°C добавляли азотную кислоту (4,5 мл, 70%) в капельном режиме в течение 2 мин. Твердый 5,7-дихлорпиразоло[1,5-а]пиримидин (1AA) (1,0 г) добавляли порциями. Полученную в результате смесь непрерывно перемешивали при температуре 0°C в течение 6 часов. Методом ЖХ-МС было показано отсутствие остатка исходного материала. В реакционную смесь добавляли 80 мл воды со льдом и перемешивали при температуре 0°C в течение 20 мин. Смесь экстрагировали дихлорметаном (3×60 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением 5,7-дихлор-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидина (1BB) (1,15 г) в виде желтого твердого вещества, которое использовали без дополнительной очистки.

Стадия 2. - 5,7-дихлор-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин (1BB) (1,2 г, 1,0 экв.) и TEA (0,624 г, 1,2 экв.) растворяли в DMF (12 мл). Раствор охлаждали при температуре -30°C (гексан/твердый диоксид углерода), затем раствор 1-(4-метоксифенил)-N-метилметанамина (0,682 г, 0,98 экв.) в DMF (2 мл) добавляли в капельном режиме. Полученную в результате смесь перемешивали при температуре -20°C в течение 15 мин. Реакционную смесь выливали в воду со льдом (200 мл) и перемешивали в течение 5 мин. Осадок собирали путем фильтрования, промывали водой (2×20 мл), и высушивали при пониженном давлении с получением 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-метил-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амина (1E) (1,68 г, 94%) который использовали без дополнительной очистки.

Стадия 3. - 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-метил-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амин (1E) (1,68 г, 1,0 экв.) суспендировали в EtOH (100 мл). В раствор добавляли порошкообразное железо (4,0 г, 15 экв.) и насыщенный водный раствор NH₄Cl (30 мл). Полученную в результате смесь нагревали при температуре 90°C в течение 35 мин. Избыток железа удаляли посредством фильтрования через целитовую прокладку. Растворитель концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в этилацетате (70 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенную смесь очищали на колонке с гелем диоксида кремния с получением 5-хлор-N7-(4-метоксибензил)-N7-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3,7-диамин (1F) в виде желтого масла (1,4 г, 91%), которое затвердевало в течение ночи.

Стадия 4. - 5-хлор-N7-(4-метоксибензил)-N7-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3,7-диамин (1F) (120 мг, 1,0 экв.) растворяли в сухом THF (8 мл) и охлаждали до температуры 0°C в атмосфере азота. В раствор добавляли трифосген (37 мг, 0,33 экв.) и DIEA (54 мг, 1,1 экв.). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь охлаждали в ванне, содержащей воду со льдом, и добавляли CH₃NH₂ (2 М в THF, 0,6 мл, 3,0 экв.) при температуре 0°C. Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенный продукт очищали методом хроматографии ISCO с получением 1-(5-хлор-7-(4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (1G) (114 мг, 80%).

Стадия 5. - 1-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид (1G) (100 мг, 1,0 экв.), 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-амин (61 мг, 1,5 экв.), Pd(OAc)₂ (15 мг, 0,25 экв.), BINAP (67 мг, 0,4 экв.) и Cs₂CO₃ (156 мг, 1,8 экв.) объединяли в сухом диоксане (8 мл). Смесь перемешивали посредством барботирования азота в течение 5 мин, затем реакционную смесь нагревали при температуре 115°C в запаянной трубке в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном DCM (50 мл) и промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия.

Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с гелем диоксида кремния с получением 1-(5-((2,3-Дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-

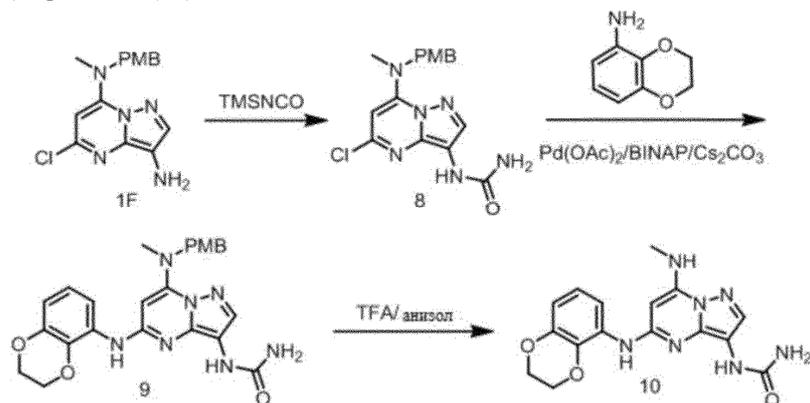
3-ил)-3-метилкарбамида (6) (45 мг).

Стадия 6. - В раствор, содержащий 1-(5-((2,3-Дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид (6) (45 мг) в DCM (2 мл), добавляли анизол (0,1 мл) и TFA (0,5 мл). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа.

Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли с DCM (50 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO_3 и насыщенным раствором хлорида натрия.

Неочищенную смесь очищали на колонке ISCO с гелем диоксида кремния с получением 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (7) (22 мг, 64%) в виде бежевого твердого вещества ЖХ-МС: 370,4 (M+H)⁺.

Пример 6: синтез 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (10).

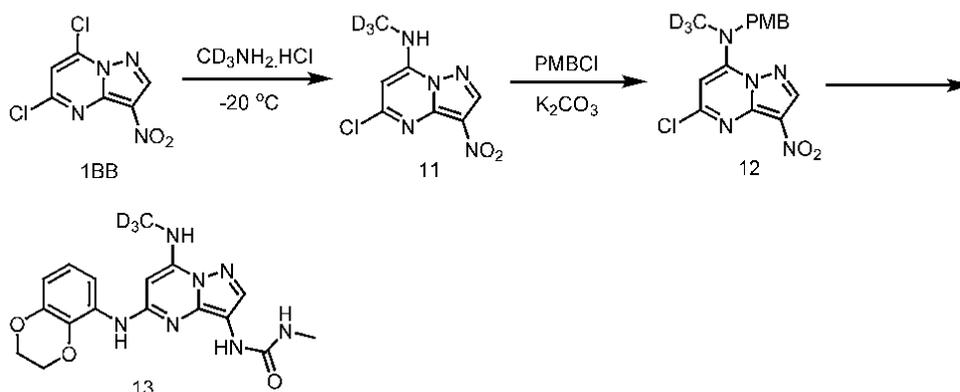


Стадия 1. - В раствор 5-хлор-N7-(4-метоксибензил)-N7-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3,7-диамина (1F) (150 мг, 1,0 экв.) в сухом THF (2 мл) добавляли TMSNCO (82 мг, 1,5 экв.). Полученную в результате смесь нагревали при температуре 60°C в течение одного часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток суспендировали в MeOH (5 мл), и смесь нагревали при температуре 60°C в течение одного часа. После охлаждения до комнатной температуры образовавшийся твердый осадок собирали посредством фильтрования с получением 1-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (8) (120 мг, 70%), который использовали без дополнительной очистки.

Стадия 2. - 1-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид (120 мг, 1,0 экв.), 2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-амин (8) (76 мг, 1,5 экв.), Pd(OAc)₂ (12 мг, 0,15 экв.), BINAP (42 мг, 0,2 экв.) и Cs₂CO₃ (162 мг, 1,5 экв.) объединяли в сухом диоксане (8 мл). Смесь перемешивали посредством барботирования азота в течение 5 мин, затем реакционную смесь нагревали при температуре 115°C в запаянной трубке в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (50 мл), промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенный продукт очищали на колонке ISCO с гелем диоксида кремния с получением 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (9) (39 мг, 25%).

Стадия 3. - В раствор, содержащий 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид (9) (39 мг) в DCM (2 мл), добавляли анизол (0,1 мл) и TFA (0,5 мл). Полученный в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM (50 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO_3 и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенную смесь очищали на колонке ISCO с гелем диоксида кремния с получением 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (10) (20 мг, 69%) в виде бежевого твердого вещества. ЖХ-МС: 356,5 (M+H)⁺.

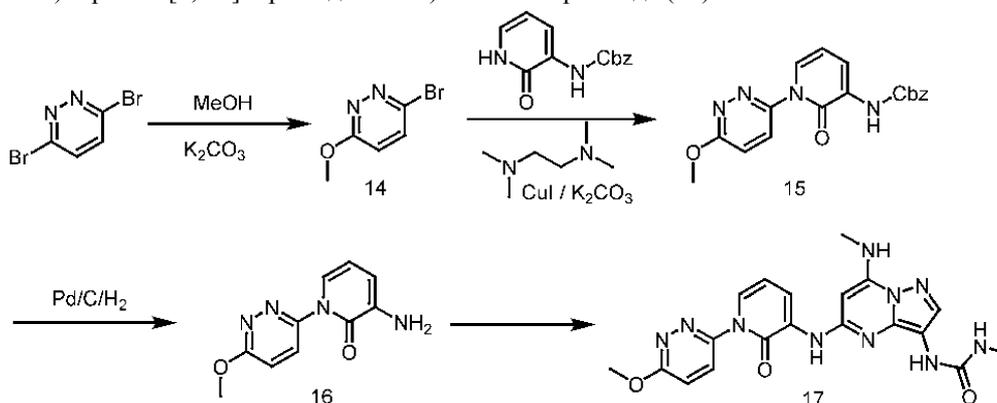
Пример 7: синтез 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((метил-d₃)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (13).



Стадия 1. - 5,7-дихлор-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин (1BB) (500 мг, 1,0 экв.) и ТЕА (0,26 г, 1,2 экв.) растворяли в DMF (8 мл). Раствор охлаждали при температуре -20°C , используя смесь гексана и твердого диоксида углерода, затем добавляли $\text{CD}_3\text{NH}_2\cdot\text{HCl}$ (148 мг, 0,98 экв.). Полученную в результате смесь перемешивали при температуре -20°C в течение одного часа. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (80 мл), промывали водой (3×50 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия. Органическую фазу высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении с получением 5-хлор-N-(метил-d₃)-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амина (11) (400 мг) в виде желтого твердого вещества, которое использовали без очистки.

Стадия 2. - В раствор 5-хлор-N-(метил-d₃)-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амина (11) (400 мг, 1,0 экв.) в DMF (15 мл) добавляли K_2CO_3 (760 мг, 3,0 экв.) и PMBCl (410 мг, 1,5 экв.). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 суток. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл), промывали водой (3×60 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенную смесь очищали на колонке с гелем диоксида кремния с получением 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-(метил-d₃)-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амина (12) (410 мг, 67%). 1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((метил-d₃)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид (13) получали из 5-хлор-N-(4-метоксибензил)-N-(метил-d₃)-3-нитропиразоло[1,5-а]пиримидин-7-амина (12) с применением синтетических процедур стадий 3-6, описанных в примере 1. ЖХ-МС: 373,5 (M+H)⁺.

Пример 8: синтез 1-(5-((1-(6-метоксипиридазин-3-ил)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (17).



Стадия 1. - В суспензию 3,6-дибромпиридазина (1,0 г, 1,0 экв.) в MeOH (50 мл) добавляли K_2CO_3 (1,2 г, 2,0 экв.). Полученную в результате смесь нагревали при температуре 90°C в запаянной трубке в течение 15 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток растворяли в этилацетате, промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия с получением 3-бром-6-метоксипиридазина (14) (725 мг, 92%), который использовали без дополнительной очистки.

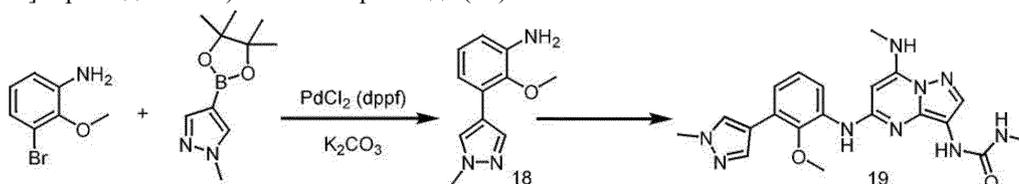
Стадия 2. - Бензил(2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)карбамат (900 мг, 1,0 экв.), 3-бром-6-метоксипиридазин (14) (700 мг, 1,0 экв.), N1,N1,N2,N2-тетраметилэтан-1,2-диамин (0,13 г, 0,3 экв.), CuI (71 мг, 0,1 экв.) и K_2CO_3 (1,1 г, 2,0 экв.) объединяли в сухом диоксане (25 мл). Смесь перемешивали посредством барботирования газообразного азота в течение 5 мин. Полученную в результате смесь нагревали при температуре 100°C в запаянной трубке в течение 14 ч. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (100 мл) и промывали водой (2×50 мл). Неочищенный продукт очищали на колонке с гелем диоксида кремния с получением бензил(1-(6-метоксипиридазин-3-ил)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)карбамаата (15) (362 мг, 27%).

Стадия 3. Бензил(1-(6-метоксипиридазин-3-ил)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)карбамат (15) (360 мг) растворяли в смеси MeOH (20 мл) и этилацетата (20 мл). В раствор добавляли Pd/C (10%, 72 мг). Смесь гидрировали водородом при давлении 50 фунтов на квадратный дюйм в течение 5 ч. Катализатор

удаляли посредством фильтрования. Растворитель удаляли при пониженном давлении с получением бежевого твердого вещества. Это твердое вещество суспендировали в этилацетате (5 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение 5 мин. После охлаждения до комнатной температуры осаждалось белое твердое вещество. Это твердое вещество собирали путем фильтрования и высушивали при пониженном давлении с получением 3-амино-1-(6-метоксипиридазин-3-ил)пиридин-2(1H)-она (16) (149 мг, 67%).

1-(5-((1-(6-метоксипиридазин-3-ил)-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид (17) получали из 3-амино-1-(6-метоксипиридазин-3-ил)пиридин-2(1H)-он (16) с применением синтетических процедур, описанных в примере 1 на стадиях 4-6. ЖХ-МС: 437,5 (M+H)⁺.

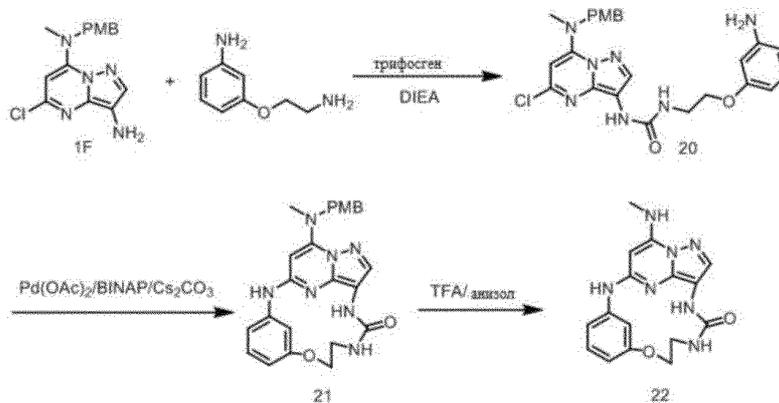
Пример 9: синтез 1-(5-((2-метокси-3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)фенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамида (19).



Стадия 1. - 3-бром-2-метоксианилин (1,0 г, 1,0 экв.), 1-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborolan-2-ил)-1H-пиразол (1,23 г, 1,2 экв.), PdCl₂(dppf) (0,38 г, 0,1 экв.) и K₂CO₃ (1,3 г, 2 экв.) объединяли в смеси диоксана (30 мл) и воды (10 мл). Смесь дегазировали посредством барботирования газообразного азота в течение 5 мин. Полученный в результате смесь нагревали при температуре 90°C в атмосфере азота в течение 14 ч. Смесь разбавляли этилацетатом (150 мл) и промывали водой (100 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенную смесь очищали на колонке с гелем диоксида кремния с получением 2-метокси-3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)анилина (18) (0,64 г, 63%) в виде коричневого твердого вещества.

1-(5-((2-метокси-3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)фенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид (19) получали из 2-метокси-3-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)анилина (18) с применением синтетических процедур, описанных в примере 1 на стадиях 4-6. ЖХ-МС: 422,5 (M+H)⁺.

Пример 10: синтез (1³E,1⁴E)-17-(метиламино)-4-окса-2,7,9-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидина-3(1,3)-бензенацклононафан-8-она (22).

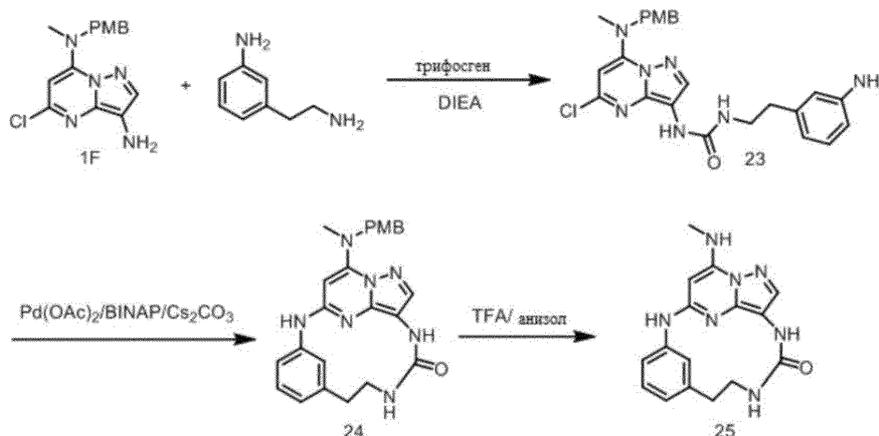


5-хлор-N7-(4-метоксибензил)-N7-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3,7-диамин (1F) (250 мг, 1,0 экв.) растворяли в сухом THF (15 мл) и охлаждали при температуре 0°C в атмосфере азота. В раствор добавляли трифосген (77 мг, 0,33 экв.) и DIEA (112 мг, 1,1 экв.). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут, а затем охлаждали в ванне, содержащей воду со льдом. В реакционную смесь 3-(2-аминоэтокси)анилин (132 мг, 1,1 экв.) добавляли при температуре 0°C. Полученный в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (60 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии ISCO с получением 1-(2-(3-аминофенокси)этил)-3-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (20) (258 мг, 66%).

1-(2-(3-аминофенокси)этил)-3-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид (20) (200 мг, 1,0 экв.), Pd(OAc)₂ (20 мг, 0,2 экв.), BINAP (110 мг, 0,4 экв.) и Cs₂CO₃ (215 мг, 1,5 экв.) объединяли в сухом диоксане (25 мл). Смесь перемешивали посредством барботирования газообразного азота в течение 5 мин. Полученную в результате смесь нагревали при температуре 115°C в запаянной трубке в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном DCM (100 мл) и этилацетатом (100 мл). Нерастворимое твердое вещество удаляли посредством фильтрования. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Это твердое

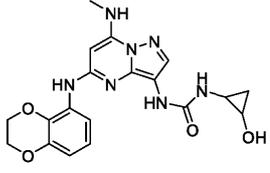
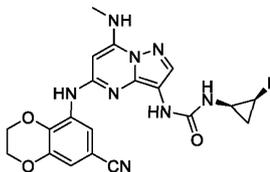
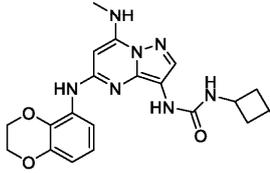
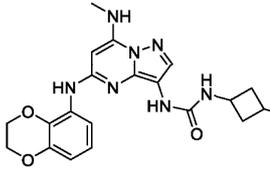
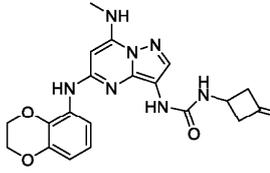
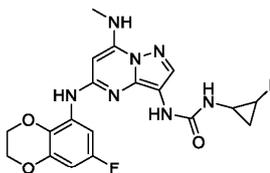
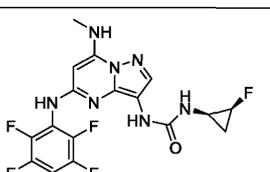
вещество суспендировали в DCM (20 мл) и суспензию нагревали с обратным холодильником в течение 10 минут. После охлаждения до комнатной температуры оставшееся твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали дихлорметаном (2×5 мл) и высушенный при пониженном давлении с получением (1E,1E)-1-((4-метоксибензил)(метил)амино)-4-окса-2,7,9-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3(1,3)-бензенацклононафан-8-она (21) (75 мг, 40%) в виде желтого твердого вещества. (1E,1E)-1-((4-метоксибензил)(метил)амино)-4-окса-2,7,9-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3(1,3)-бензенацклононафан-8-он (21) (75 мг) суспендировали в DCM (4 мл), добавляли анизол (0,2 мл) и TFA (1 мл). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь концентрировали с получением коричневого масла. Это коричневое масло растворяли в DCM (100 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Органическую фазу высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества, которое промывали дихлорметаном (2×5 мл) с получением (1³E,1⁴E)-17-(метиламино)-4-окса-2,7,9-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидин-3(1,3)-бензенацклононафан-8-она (22) (38 мг, 69%). ЖХ-МС: 340,3 (M+H)⁺.

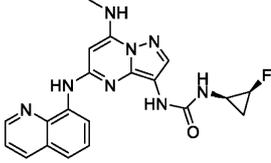
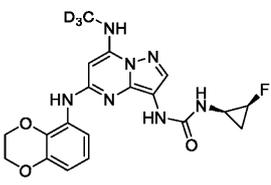
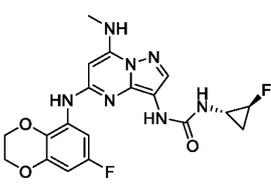
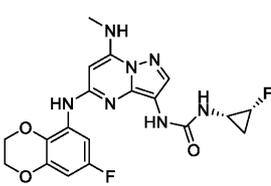
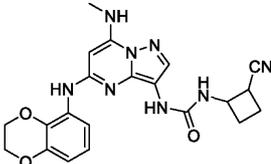
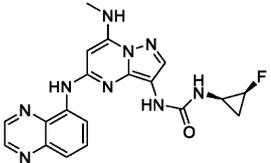
Пример 11: синтез (1³E,1⁴E)-17-(метиламино)-2,6,8-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидина-3(1,3)-бензенацклооктафан-7-она (25).

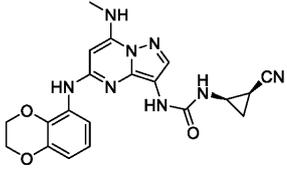
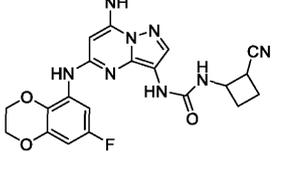
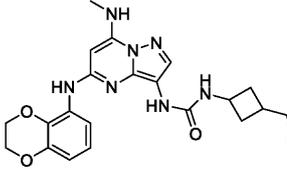
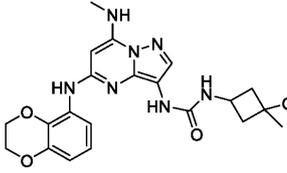
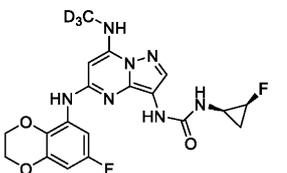
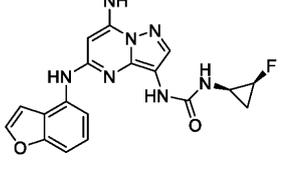


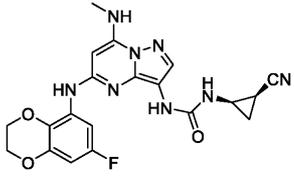
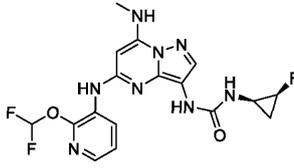
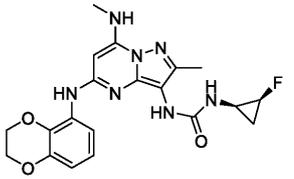
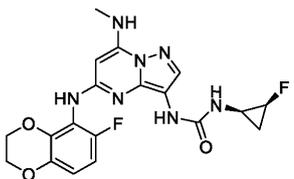
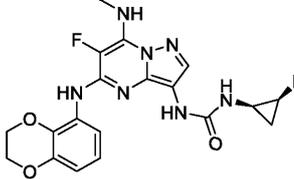
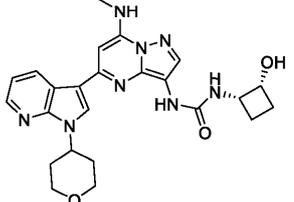
5-хлор-N7-(4-метоксибензил)-N7-метилпиразоло[1,5-а]пиримидин-3,7-диамин (1F) (180 мг, 1,0 экв.) растворяли в сухом THF (12 мл) и охлаждали при температуре 0°C в атмосфере азота. В раствор добавляли трифосген (55 мг, 0,33 экв.) и DIEA (80 мг, 1,1 экв.). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин и затем охлаждали в ванне, содержащей воду со льдом. В реакционную смесь добавляли 3-(2-аминоэтил)анилин (85 мг, 1,1 экв.) при температуре 0°C. Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (40 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Неочищенный продукт очищали посредством хроматографии ISCO с получением 1-(3-аминофенэтил)-3-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамида (23) (165 мг, 61%). 1-(3-аминофенэтил)-3-(5-хлор-7-((4-метоксибензил)(метил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид (23) (160 мг, 1,0 экв.), Pd(OAc)₂ (15 мг, 0,2 экв.), BINAP (83 мг, 0,4 экв.) и Cs₂CO₃ (165 мг, 1,5 экв.) объединяли в сухом диоксане (25 мл). Смесь перемешивали посредством барботирования газообразного азота в течение 5 мин. Полученную в результате смесь нагревали при температуре 115°C в запаянной трубке в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном DCM (100 мл) и этилацетатом (100 мл). Нерастворимое твердое вещество удаляли посредством фильтрования. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества. Это твердое вещество суспендировали в DCM (20 мл), и суспензию нагревали с обратным холодильником в течение 10 минут. После охлаждения до комнатной температуры оставшееся твердое вещество собирали путем фильтрования, промывали дихлорметаном (2×5 мл) и высушивали при пониженном давлении с получением (1E,1E)-1-((4-метоксибензил)(метил)амино)-2,6,8-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидина-3(1,3)-бензенацклооктафан-7-она (24) (56 мг, 38%) в виде желтого твердого вещества. (1E,1E)-1-((4-метоксибензил)(метил)амино)-2,6,8-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидина-3(1,3)-бензенацклооктафан-7-он (24) (56 мг) суспендировали в DCM (4 мл), добавляли анизол (0,2 мл) и TFA (1 мл). Полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь концентрировали с получением коричневого масла. Это коричневое масло растворяли в DCM (100 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным раствором хлорида натрия. Органическую фазу высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением твердого вещества, которое промывали дихлорметаном (2×5 мл) с получением (1³E,1⁴E)-17-(метиламино)-2,6,8-триаза-1(5,3)-пиразоло[1,5-а]пиримидина-3(1,3)-бензенацклооктафан-7-она (25) (30 мг, 73%). ЖХ-МС: 324,6 (M+H)⁺. Соединения 26-187 были получены с применением аналогичных процедур, как описано в предшествующих примерах.

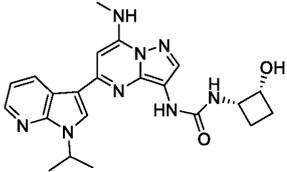
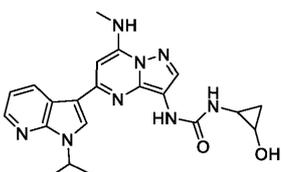
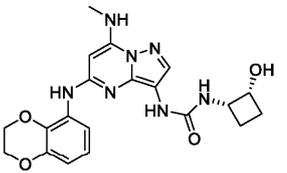
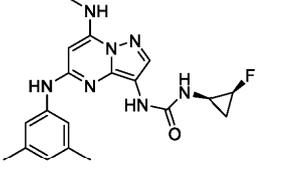
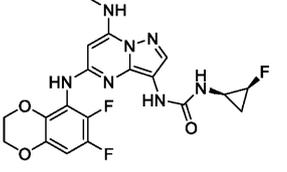
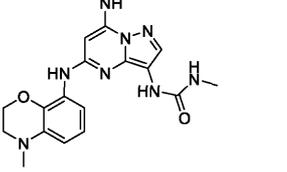
Соединение	Структура	Название	MS [M+H] ⁺
26		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	414.2
27		1-(3-цианоциклобутил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	435.2
28		1-(1-цианоциклопропил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	421.1
29		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-гидроксициклобутил)карбамид	426.2
30		1-(2-гидроксициклопропил)-3-(7-(хиноксалин-5-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	406.2
31		1-(2-гидроксициклопропил)-3-(7-(хинолин-8-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	405.2

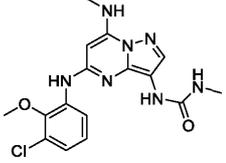
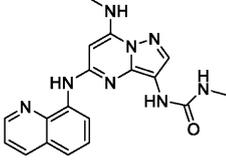
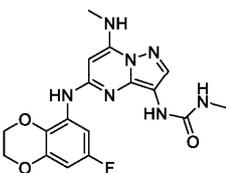
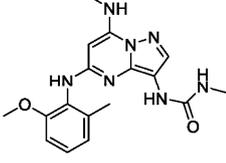
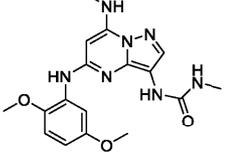
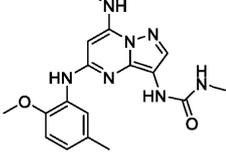
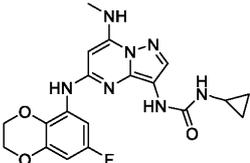
32		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2-гидроксициклопропил)карбамид	412.2
33		1-(5-((7-циано-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	439.5
34		1-(3,3-дифторциклобутил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	446.1
35		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-фторциклобутил)карбамид	428.1
36		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-оксоциклобутил)карбамид	424.2
37		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2-фторциклопропил)карбамид	433.1
38		1-((1R,2S)-2-фторциклопропил)-3-(7-(метиламино)-5-((2,3,5,6-тетрафторфенил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	428.2

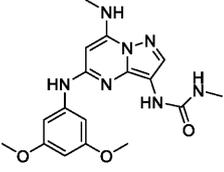
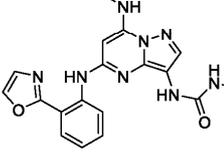
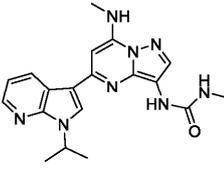
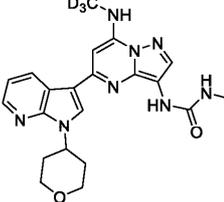
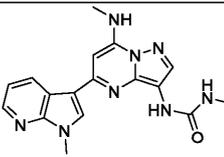
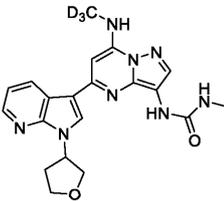
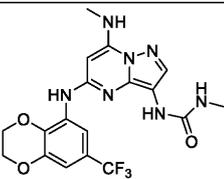
39		1-((1R,2S)-2-фторциклопропил)-3-(7-(метиламино)-5-(хинолин-8-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	407.1
40		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-((метил-d3)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	417.3
41		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1S,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	432.3
42		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1S,2R)-2-фторциклопропил)карбамид	432.2
43		1-(2-цианоциклобутил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	435.1
44		1-((1R,2S)-2-фторциклопропил)-3-(7-(метиламино)-5-(хиноксалин-5-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	408.1

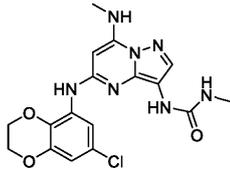
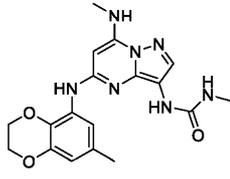
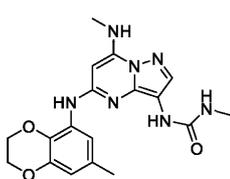
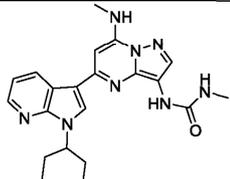
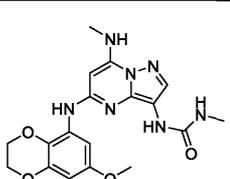
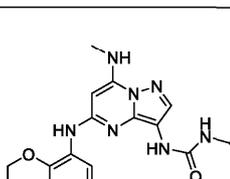
45		1-((1R,2S)-2-цианоциклопропил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	421.1
46		1-(2-цианоциклобутил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	453.1
47		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-(гидроксиметил)циклобутил)карбамид	440.1
48		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-гидрокси-3-метилциклобутил)карбамид	440.2
49		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-((метил-d3)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	435.3
50		1-(5-(бензофуран-4-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	396.1

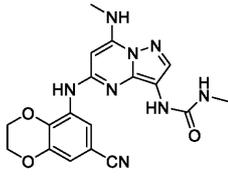
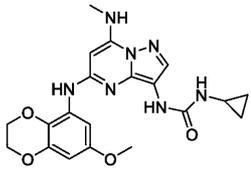
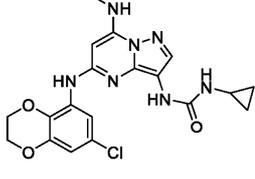
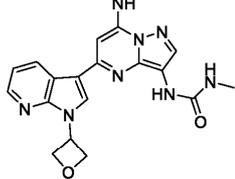
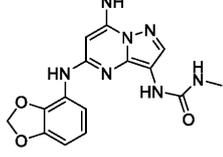
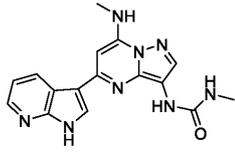
51		1-((1R,2S)-2-цианоциклопропил)-3-(5-((7- фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	439.0
52		1-(5-((2-(дифторметокси)пиридин-3-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	423.1
53		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5- ил)амино)-2-метил-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	428.1
54		1-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	432.3
55		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5- ил)амино)-6-фтор-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	432.1
56		1-((1S,2R)-2-гидроксициклобутил)-3-(7-(метиламино)-5-(1-(тетрагидро-2Н-пиран-4-ил)-1Н-пирроло[2,3-б]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	477.3

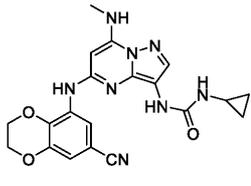
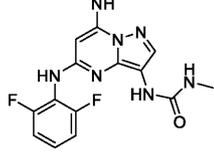
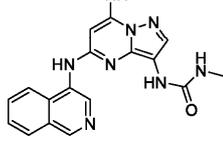
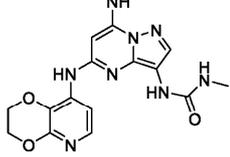
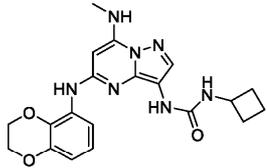
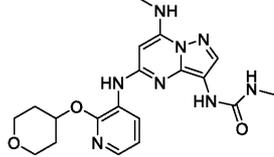
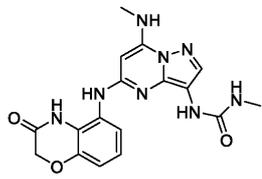
57		1-((1S,2R)-2-гидроксициклобутил)-3-(7-(метиламино)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)карбамид	435.3
58		1-(2-гидроксициклопропил)-3-(5-(1-изопропил-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)карбамид ОН	421.3
59		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-((1S,2R)-2-гидроксициклобутил)карбамид	426.4
60		1-(5-((3,5-диметилфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	384.3
61		1-(5-((6,7-дифтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	450.2
62		1-метил-3-(5-((4-метил-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-8-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)карбамид	383.5

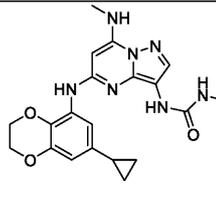
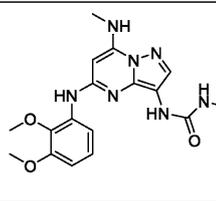
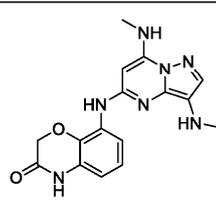
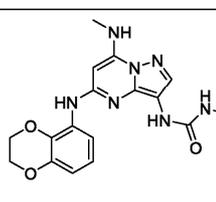
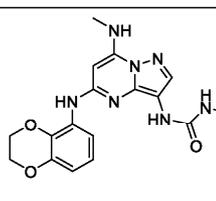
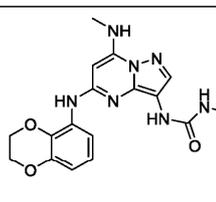
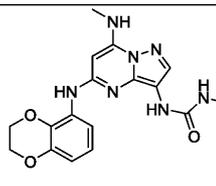
63		1-(5-((3-хлор-2-метоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	376.5
64		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(хинолин-8-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	363.6
65		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	388.5
66		1-(5-((2-метокси-6-метилфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	356.5
67		1-(5-((2,5-диметоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	372.4
68		1-(5-((2-метокси-5-метилфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	356.5
69		1-циклопропил-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	415.2

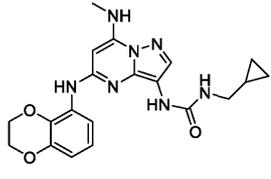
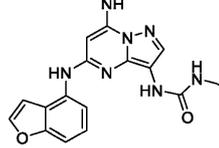
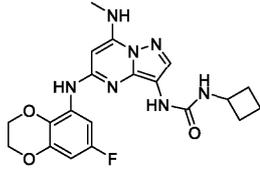
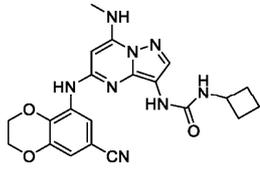
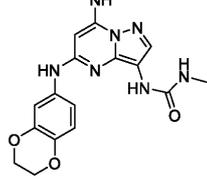
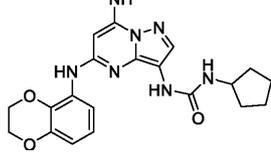
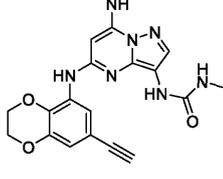
70		1-(5-((3,5- диметоксифенил)амино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	372.3
71		1-метил-3-(7-(метиламино)- 5-((2-(оксазол-2- ил)фенил)амино)пиразоло[1 ,5-а]пиримидин-3- ил)карбамид	379.5
72		1-(5-(1-изопропил-1Н- пирроло[2,3- b]пиридин-3- ил)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	379.1
73		1-метил-3-(7-((метил- d3)амино)-5-(1- (тетрагидро-2Н-пиреп-4- ил)-1Н-пирроло[2,3- b]пиридин-3- ил)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)карбамид	424.4
74		1-метил-3-(5-(1-метил-1Н- пирроло[2,3- b]пиридин-3- ил)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)карбамид	351.2
75		1-метил-3-(7-((метил- d3)амино)-5-(1- (тетрагидрофуран-3-ил)-1Н- пирроло[2,3- b]пиридин-3- ил)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3- ил)мочевина	410.2
76		1-метил-3-(7-(метиламино)- 5-((7-(трифторметил)-2,3- дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)пиразоло[1,5- а] пиримидин-3- ил)мочевина	439.5

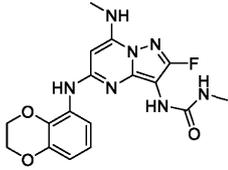
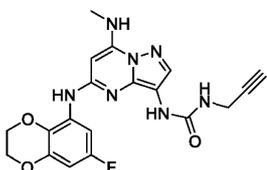
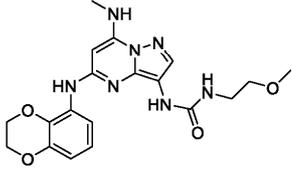
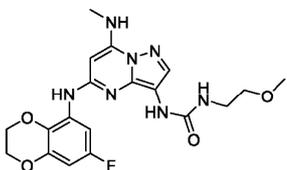
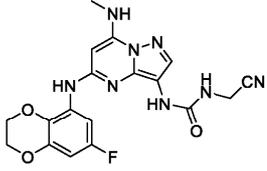
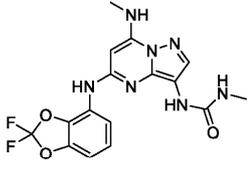
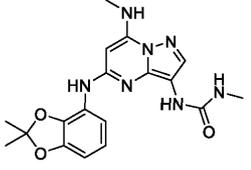
77		1-(5-((7-хлор-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	404.6
78		1-метил-3-(5-((7-метил-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	384.4
79		1-циклопропил-3-(5-((7-метил-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	410.4
80		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	421.2
81		1-(5-((7-метокси-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	400.3
82		1-циклопропил-3-(7-(метиламино)-5-((7-(трифторметил)-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	464.5

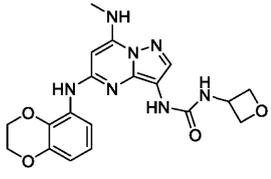
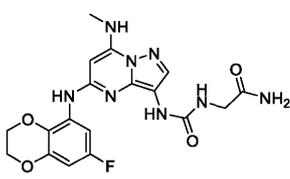
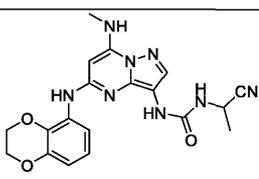
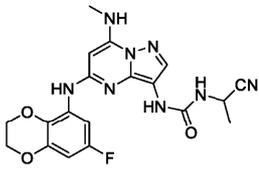
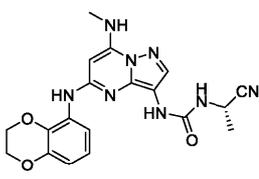
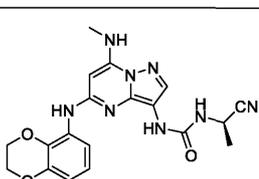
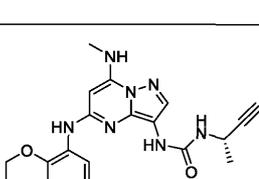
83		1-(5-((7-циано-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	395.2
84		1-циклопропил-3-(5-((7-метокси-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)мочевина	426.3
85		1-(5-((7-хлор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-циклопропилмочевина	430.5
86		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(1-(оксетан-3-ил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)мочевина	393.1
87		1-(5-(бензо[d][1,3]диоксол-4-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	356.5
88		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-3-ил)мочевина	337.2

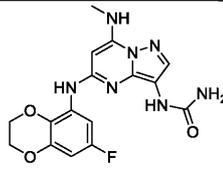
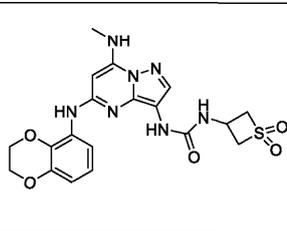
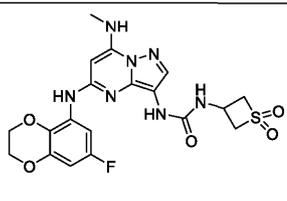
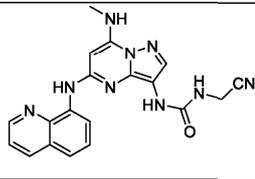
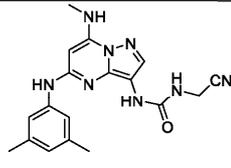
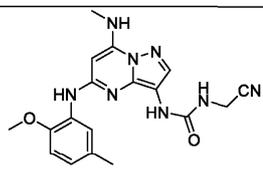
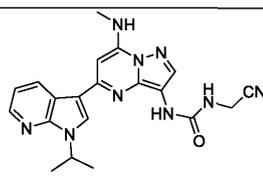
89		1-(5-((7-циано-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-циклопропилмочевина	412.4
90		1-(5-((2,6-дифторфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	348.4
91		1-(5-(изохинолин-4-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	363.6
92		1-(5-((2,3-дигидро-[1,4]диоксино[2,3-b]пиридин-8-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	371.4
93		1-циклобутил-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	410.2
94		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-((2-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)окси)пиридин-3-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	413.1
95		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(3-оксо-3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]оксазин-5-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	383.5

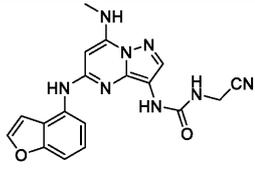
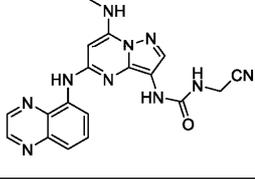
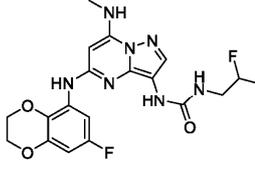
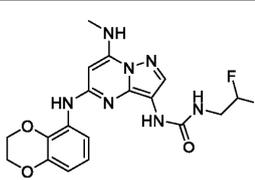
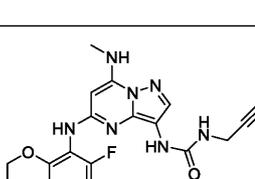
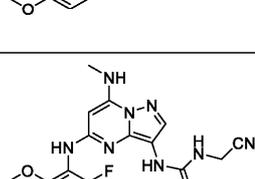
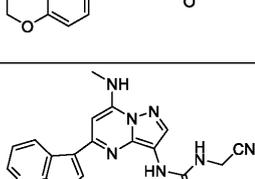
96		1-(5-((7-циклопропил-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	410.4
97		1-(5-((2,3-диметоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилмочевина	372.3
98		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-((3-оксо-3,4-дигидро-2Н-бензо[b][1,4]оксазин-8-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)мочевина	383.5
99		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2,2,2-трифторэтил)карбамид	438.2
100		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-гидроксипропил)карбамид	414.2
101		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)карбамид	394.1
102		1-(цианометил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	395.2

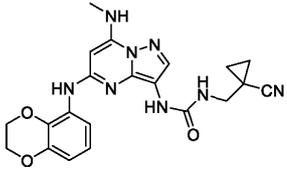
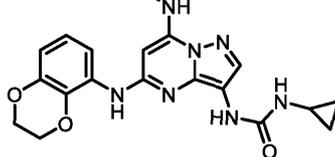
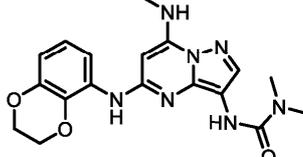
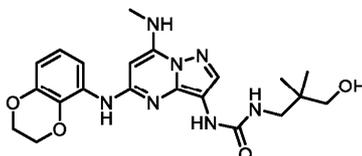
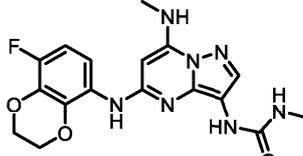
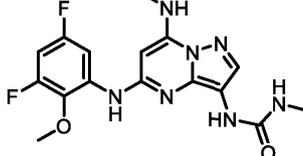
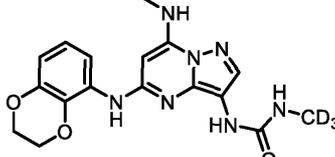
103		1-(циклопропилметил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	410.2
104		1-(5-(бензофуран-4-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	352.1
105		1-циклобутил-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	428.5
106		1-(5-((7-циано-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-циклобутилкарбамид	435.5
107		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-6-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	370.3
108		1-циклопентил-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	424.5
109		1-(5-((7-этинил-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	394.4

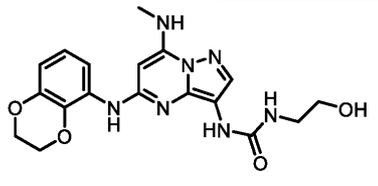
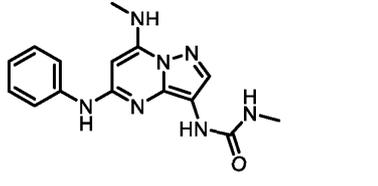
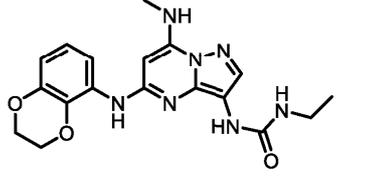
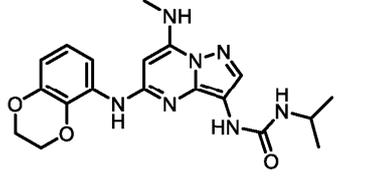
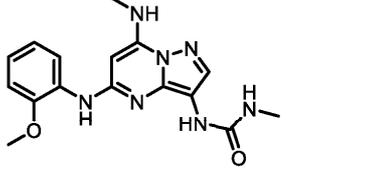
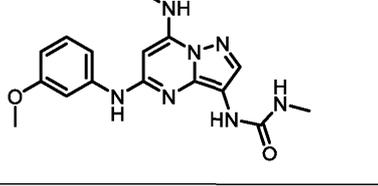
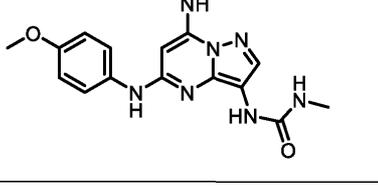
110		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-2-фтор-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	388.2
111		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)карбамид	412.3
112		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2-метоксиэтил)карбамид	414.5
113		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2-метоксиэтил)карбамид	432.5
114		1-(цианометил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	413.5
115		1-(5-((2,2-дифторбензо[d][1,3]диоксол-4-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	392.2
116		1-(5-((2,2-диметилбензо[d][1,3]диоксол-4-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	384.2

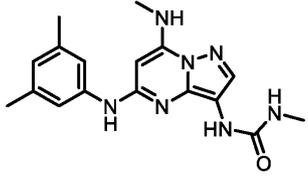
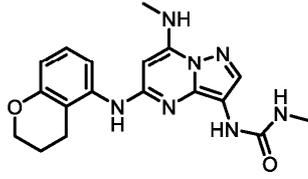
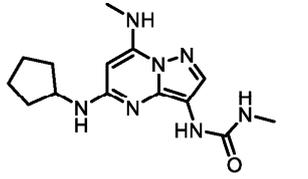
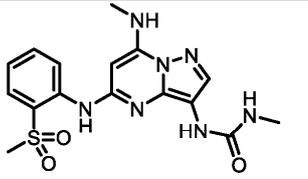
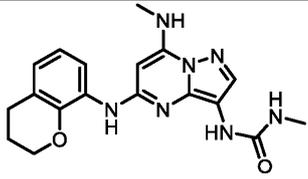
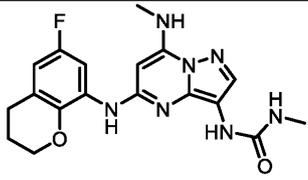
117		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(оксетан-3-ил)карбамид	412.2
118		2-(3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)уреидо)ацетамид	431.6
119		1-(1-цианоэтил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	409.5
120		1-(1-цианоэтил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	427.4
121		(S)-1-(1-цианоэтил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	409.5
122		(R)-1-(1-цианоэтил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	409.5
123		(S)-1-(бут-3-ин-2-ил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	408.5

124		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	374.4
125		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(1,1-диоксидотиетан-3-ил)карбамид	460.2
126		1-(1,1-диоксидотиетан-3-ил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	478.2
127		1-(цианометил)-3-(7-(метиламино)-5-(хинолин-8-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	388.1
128		1-(цианометил)-3-(5-((3,5-диметилфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	365.2
129		1-(цианометил)-3-(5-((2-метокси-5-метилфенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	381.3
130		1-(цианометил)-3-(5-(1-изопропил-1Н-пирроло[2,3-б]пиридин-3-ил)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	404.1

131		1-(5-(бензофуран-4-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(цианометил)карбамид	377.1
132		1-(цианометил)-3-(7-(хиноксалин-5-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	389.1
133		1-(2,2-дифторэтил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	438.2
134		1-(2,2-дифторэтил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	420.2
135		1-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(проп-2-ин-1-ил)карбамид	412.2
136		1-(цианометил)-3-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[б][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	413.2
137		1-(цианометил)-3-(7-(1-(тетрагидро-2Н-пиреп-4-ил)-1Н-пирроло[2,3-б]пиридин-3-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	446.2

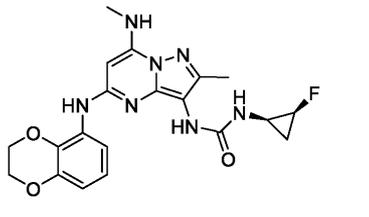
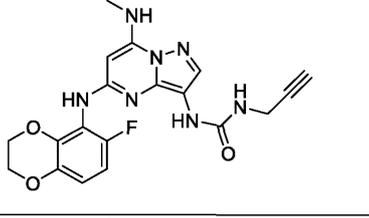
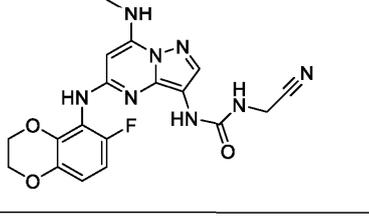
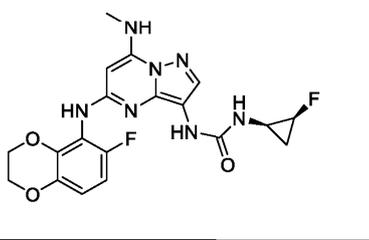
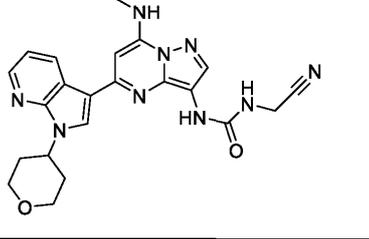
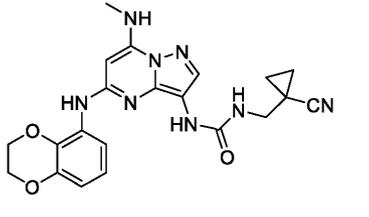
138		1-((1-цианоциклопропил)метил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	435.2
139		1-циклопропил-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	396.3
140		3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-1,1-диметилкарбамид	384.4
141		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(3-гидрокси-2,2-диметилпропил)карбамид	442.7
142		1-(5-((8-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	388.5
143		1-(5-((3,5-дифтор-2-метоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	378.6
144		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси n-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(метил-d3)карбамид	373.5

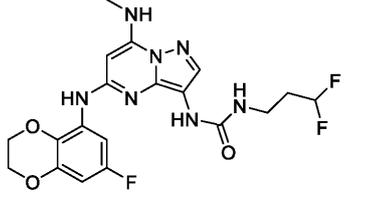
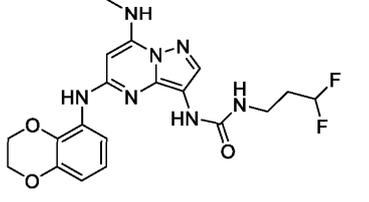
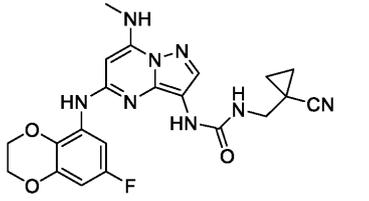
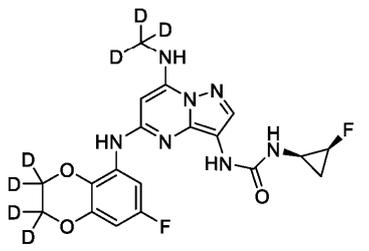
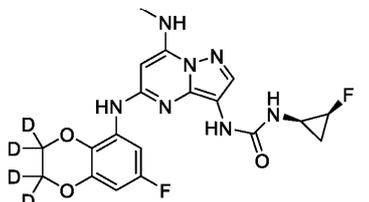
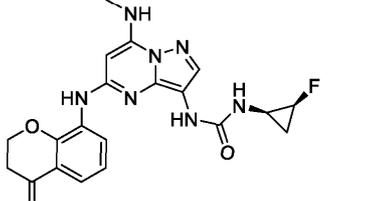
145		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5- ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(2-гидроксиэтил)карбамид	400.2
146		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(фениламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	312.2
147		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5- ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-этилкарбамид	384.4
148		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5- ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-изопропилкарбамид	398.4
149		1-(5-((2-метоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	342.4
150		1-(5-((3-метоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	342.4
151		1-(5-((4-метоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	342.4

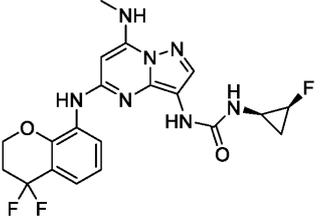
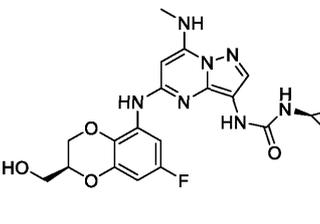
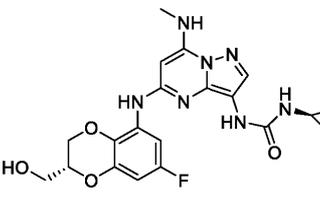
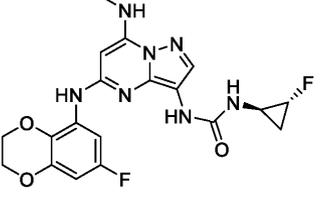
152		1-(5-((3,5- диметилфенил)амино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	340.5
153		1-(5-(бензо[d][1,3]диоксол- 4-иламино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	356.5
154		1-(5-(хроман-5-иламино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	368.4
155		1-(5-(циклопентиламино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	304.5
156		1-метил-3-(7-(метиламино)- 5-((2- (метилсульфонил)фенил)ам ино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)карбамид	390.5
157		1-(5-(хроман-8-иламино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилкарбамид	368.4
158		1-(5-((6-фторхроман-8- ил)амино)-7- (метиламино)пиразоло[1,5- а]пиримидин-3-ил)-3- метилмочевина	386.4

159		1-метил-3-(5-(метил(фенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)мочевина	326.6
160		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(нафталин-1-иламино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)мочевина	362.2
161		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-((2-феноксифенил)амино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)мочевина	404.6
162		1-(5-((2-изопропоксифенил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)-3-метилмочевина	370.5
163		1-метил-3-(5-((4-метил-3,4-дигидро-2Н-бензо[б][1,4]оксазин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)мочевина	383.5
164		1-(5-((2-метоксипиридин-3-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пириимидин-3-ил)-3-метилмочевина	343.3

165		1-(5-([1,1'-бифенил]-2-иламино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	388.5
166		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-(хиноксалин-5-иламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	364.6
167		N-(7-(метиламино)-3-(3-метилуреидо)пиразоло[1,5-а]пиримидин-5-ил)бензамид	340.4
168		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-((2-(трифторметокси)фенил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	396.4
169		1-(5-((3,4-дигидро-2H-бензо[b][1,4]диоксепин-6-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-метилкарбамид	384.3
170		1-метил-3-(7-(метиламино)-5-((5,6,7,8-тетрагидронафталин-1-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	366.4
171		1-(5-((2-(дифторметокси)пиридин-3-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	423.1

172		1-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-2-метил-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	428,1
173		1-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-(прог-2-ин-1-ил)карбамид	
174		1-(цианометил)-3-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	412,2
175		1-(5-((6-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	413,2
176		1-(цианометил)-3-(7-(метиламино)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	432,3
177		1-((1-цианоциклопропил)метил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	446,2

178		1-(3,3-дифторпропил)-3-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	435,2
179		1-(3,3-дифторпропил)-3-(5-((2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	434,3
180		1-((1-цианоциклопропил)метил)-3-(5-((7- фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	453,3
181		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил-2,2,3,3-d4)амино)-7-((метил-d3)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	439,6
182		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диокси н-5-ил-2,2,3,3-d4)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	436,4
183		1-((1R,2S)-2-фторциклопропил)-3-(7-(метиламино)-5-((4-оксохроман-8-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)карбамид	426,1

184		1-(5-((4,4-дифторхроман-8-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	448.1
185		1-(5-(((S)-7-фтор-2-(гидроксиметил)-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	461.4
186		1-(5-(((R)-7-фтор-2-(гидроксиметил)-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2S)-2-фторциклопропил)карбамид	461.4
187		1-(5-((7-фтор-2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)амино)-7-(метиламино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-3-ил)-3-((1R,2R)-2-фторциклопропил)карбамид	431.9

Пример 12: анализ совместной стимуляции в подвергнутой лизису цельной крови; JAK2: анализ стимулированного GM-CSF фосфорилирования STAT5 и стимулированного JAK1/ТYK2 фосфорилирования STAT1.

Лизис крови человека с применением эритроцитного лизисного буферного раствора Abcam.

Разбавляли дистиллированной водой эритроцитный лизисный буферный раствор до 1X. Добавляли 2 мл крови в 38 мл эритроцитного лизисного буферного раствора 1X. Инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте. Центрифугировали при ускорении 300 g в течение 5 мин, чтобы собрать осадок. Осуществляли повторный лизис в случае необходимости. Повторно суспендировали осадок в 5 мл cRPMI.

Обработка соединениями и цитокинами.

Аликвоту 80 мкл подвергнутой лизису крови человека помещали на планшет с 96 глубокими лунками. Во все лунки, кроме контрольных (неокрашенных и нестимулированных), помещали по 10 мкл (10-кратная концентрация) соединений в различных концентрациях и перемешивали с помощью многоканальной пипетки на 100 мкл. Разбавление соединений и диапазон разбавления представлены в приложении. Инкубировали в водяной бане или инкубаторе в атмосфере CO₂ в течение 1 ч при температуре 37°C. Добавляли 10 мкл (10-кратная концентрация) цитокиновой смеси (GM-CSF и IFNα) (конечная концентрация 10 нг/мл GM-CSF и 100 нг/мл IFNα) в каждую лунку, за исключением нестимулированных и неокрашенных контрольных, и инкубировали дополнительно в течение 20 мин в водяной бане при температуре 37°C.

Лизис эритроцитов и фиксация.

Добавляли 900 мкл предварительно нагретого раствора 1X Fix/Lyse (приложение) и тщательно перемешивали с помощью многоканальной пипетки на 1000 мкл, затем инкубировали в водяной бане при температуре 37°C в течение 10 мин (включая продолжительность добавления). Центрифугировали при ускорении 800 g в течение 5 мин при температуре 40°C; удаляли 900 мкл надосадочного раствора и добавляли 900 мкл раствора 1X PBS. Центрифугировали при ускорении 800 g в течение 5 мин при температуре 40°C и удаляли 900 мкл надосадочного раствора. Промывали еще один раз, используя 900 мкл раствора PBS (необязательно) и повторно суспендировали осадок в 100 мкл PBS.

Пермеабиллизация.

Разрыхляли осадок слабым постукиванием, добавляли 1000 мкл буферного раствора BD Phosflow Perm III и инкубировали планшет на льду в течение 30 мин. Центрифугировали планшет при ускорении 800 g в течение 5 мин при температуре 40°C. Промывали еще два раза, используя по 1000 мкл окрашивающего буферного раствора BD Pharmingen.

Обработка антителами.

Разрыхляли осадок слабым постукиванием. Повторно суспендировали осадок в 100 мкл окрашивающего буферного раствора и добавляли 5 мкл pSTAT5_AF488 Ab и 5 мкл pSTAT1_PE во все лунки, за исключением неокрашенной контрольной, тщательно перемешивали с помощью многоканальной пипетки на 200 мкл и инкубировали в течение ночи при температуре 40°C. Добавляли 900 мкл промывочного буферного раствора и центрифугировали при скорости 1800 об/мин в течение 3 мин при температуре 40°C. Промывали еще один раз, используя 1000 мкл окрашивающего буферного раствора BD Pharmingen. Наконец, повторно суспендировали осадок в 300 мкл окрашивающего буферного раствора BD Pharmingen. Клетки переносили в планшет с 96 лунками, имеющими V-образное дно, и вводили клетки в проточный цитометр Beckman Coulter Cytoflex. После введения клеток в проточный цитометр поддерживали пороговое значение 250, чтобы концентрация клеток не превышала 100-500 клеток/мкл. Вводили по меньшей мере 5000-10000 клеток.

Приложение.

Получение реагентов.

Полная среда RPMI 1640: среда RPMI 1640 + 10% FBS. Разбавление цитокинов: 1) Использовали концентрированный раствор 100 мкг/мл GM-CSF. Получали разбавление 1 мкг/мл посредством добавления 2 мкл концентрированного раствора в 198 мкл среды cRPMI. Дополнительно разбавляли до 100 нг/мл, добавляя 100 мкл концентрированного раствора в 900 мкл cRPMI. 2) Использовали концентрированный раствор 200 мкг/мл IFN α . Разбавляли концентрированный раствор IFN α в соотношении 1:200, добавляя 5 мкл концентрированного раствора в 1000 мкл рабочего раствора 100 нг/мл GM-CSF, как указано выше, получая объединенный рабочий раствор 1000 нг/мл IFN α и 100 нг/мл GM-CSF (10-кратный). Раствор выдерживали на льду до применения.

Получение буферного раствора Lyse/Fix: разбавляли буферный раствор 5X Lyse/Fix до 1X с применением воды MQ и выдерживали при температуре 37°C до применения. Буферный раствор BD Phosflow Perm III: выдерживали на льду/в холодильнике.

Разбавление соединения.

Образец	Конечная концентрация, нМ	10-кратная концентрация, нМ	Разбавление
1	10000	100000	2 мкл раствора 10 мМ соединения + 198 мкл среды cRPMI
2	3333,3	33,333	60 МКu A + 120 МКu с pegm cRPMI
3	1111,1	11,111	60 МКu B + 120 МКu с pegm cRPMI
4	370,4	3,704	60 МКu C + 120 МКu с pegm cRPMI
5	123,5	1,235	60 МКu D + 120 МКu с pegm cRPMI
6	41,2	412	60 МКu E + 120 МКu с pegm cRPMI
7	13,7	137	60 МКu F + 120 МКu с pegm cRPMI
8	4,6	46	60 МКu G + 120 МКu с pegm cRPMI
9	0	0	2 МКu DMSO + 198 МКu с pegm cRPMI

Значения IC₅₀ представлены в приведенной ниже таблице.

Соединение	IFN-a/Jak1Tyk2 IC ₅₀	Соединение	IFN-a/Jak1Tyk2 IC ₅₀	Соединение	IFN-a/Jak1Tyk2 IC ₅₀
5	A	75	A	132	A
7	A	76	A	133	B
10	A	77	A	134	B
13	A	78	A	135	B
17	B	79	B	136	B
19	B	80	A	137	A
22	B	81	A	138	A
25	A	82	B	139	A
26	A	83	A	140	C
27	A	84	B	141	B
28	C	85	A	142	A
29	B	86	B	143	A
30	C	87	A	144	A
31	C	88	B	145	B
32	C	89	A	146	B
33	A	90	B	147	A
34	B	91	B	148	A
35	A	92	B	149	A
36	A	93	A	150	A
37	A	94	B	151	B
38	B	95	B	152	A
39	A	96	A	153	A
40	A	97	B	154	A

41	A	98	B	155	B
42	A	99	A	156	C
43	B	100	B	157	A
44	A	101	A	158	A
45	A	102	A	159	C
46	B	103	B	160	A
47	A	104	A	161	B
48	C	105	A	162	B
49	A	106	B	163	B
50	A	107	B	164	A
51	A	108	A	165	C
52	B	109	A	166	A
53	C	110	C	167	B
54	C	111	A	168	B
55	C	112	A	169	A
56	C	113	A	170	B
57	B	114	A	171	B
58	C	115	B	172	C
59	B	116	B	173	B
60	C	117	A	174	C
61	C	118	A	175	C
62	B	119	A	176	A
63	B	120	A	177	A
64	A	121	A	178	A
65	A	122	A	179	A
66	B	123	A	180	C
67	B	124	A	181	A
68	A	125	B	182	A
69	A	126	B	183	A
70	A	127	A	184	B
71	A	128	A	185	B
72	A	129	A	186	B
73	A	130	A	187	B
74	B	131	A		

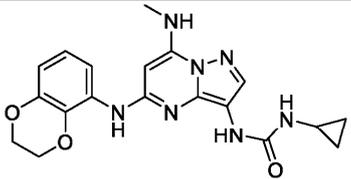
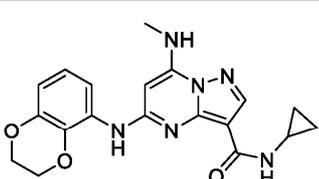
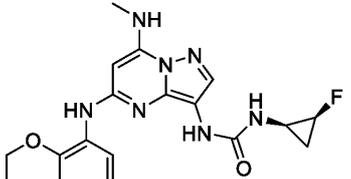
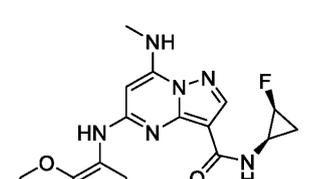
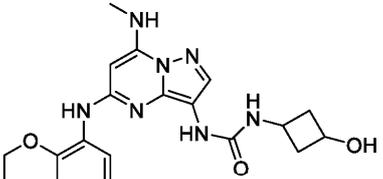
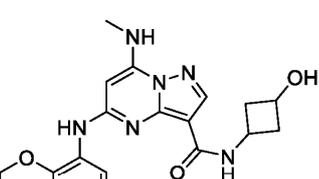
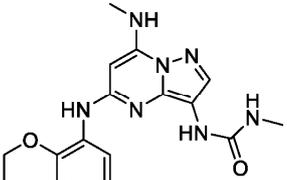
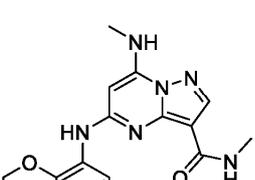
A: $IC_{50} < 1$ мкМ; B: $IC_{50} \geq 1$ мкМ и < 10 мкМ; C: $IC_{50} \geq 10$ мкМ.

Пример 13: исследование устойчивости микросом печени человека.

Исследование устойчивости микросом осуществляли, используя 96-луночные микротитрационные планшеты при температуре 37°C. Реакционные смеси (25 мкл), содержащие конечную концентрацию 1 мкМ исследуемого соединения, 0,5 мг/мл белка микросом печени человека и 1 мМ NADPH и/или 1 мМ UDPGA (с аламетицином) в буферном растворе 100 мМ фосфата калия при pH 7,4, содержащем 3 мМ $MgCl_2$. В каждый момент времени (например, 0, 15, 30 и 60 мин) в каждую лунку помещали по 150 мкл раствора для гашения (100% ацетонитрил и 0,1% муравьиная кислота) с внутренним стандартом. Помимо контрольных образцов для нулевого момента времени, смеси, содержащие такие же компоненты, за исключением NADPH, также были получены в качестве отрицательного контрольного образца. Верапамил присутствовал в качестве положительного контрольного образца для проверки выполнения исследований. Планшеты подвергали герметизации, перемешиванию вихревым способом и центрифугированию

в течение 15 мин при температуре 4°C и скорости 4000 об/мин. Надосадочный раствор переносили на свежие планшеты для анализа методом жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС). Сравнительные результаты устойчивости микросом для карбамидных соединений, описанных в настоящем документе, и соответствующих амидных соединений представлены в табл. 1. Карбамиды проявляли неожиданное увеличение устойчивости микросом по сравнению с амидами.

Таблица 1

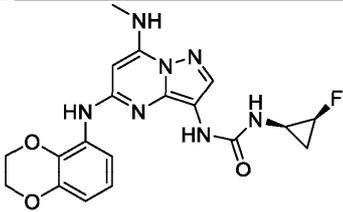
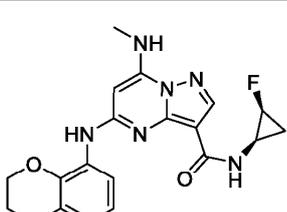
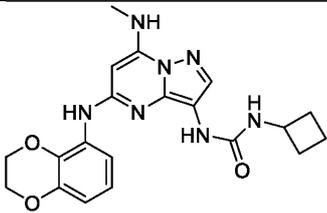
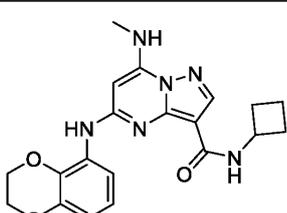
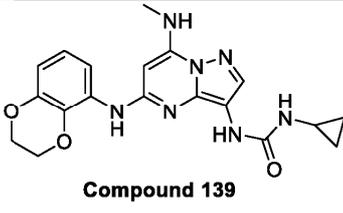
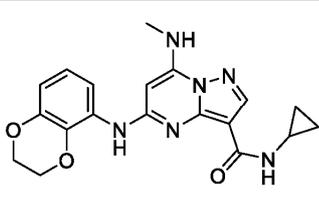
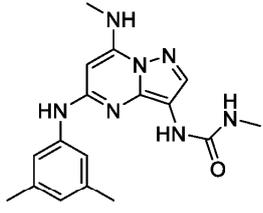
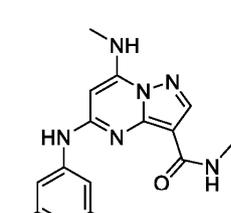
	Карбамид	Соответствующий амид
Устойчивость микросом, период полужизни	 <p>Compound 139</p> <p>Соединение 139 >120 минут</p>	 <p>19 минут</p>
Устойчивость микросом, период полужизни	 <p>Compound 5</p> <p>Соединение 5 >120 минут</p>	 <p>60 минут</p>
Устойчивость микросом, период полужизни	 <p>Compound 29</p> <p>Соединение 29 >120 минут</p>	 <p>18 минут</p>
Устойчивость микросом, период полужизни	 <p>Compound 65</p> <p>Соединение 65 >120 минут</p>	 <p><50 минут</p>

Пример 14: фармакокинетика (ПК) крыс.

Эксперименты по фармакокинетике крыс были выполнены с участием внутривенной группы и пероральной группы РО, причем в каждой группе присутствовали по три крысы. Композиция представляла собой раствор для внутривенной группы, и композиция представляла собой раствор или суспензию для пероральной группы. В образцы плазмы добавляли K₂EDTA в качестве антикоагулянта через 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 ч для внутривенной группы и через 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 и 24 ч для пероральной группы и осуществляли анализ в соответствии с поставленной целью методом ЖХ-МС/МС. Некомпарментный аналитический модуль в программном обеспечении Phoenix WinNonlin® (версия 8.0) был использован для исследования фармакокинетических параметров. На основании наблюдаемых значений

была определена максимальная концентрация (C_{max}). Карбамиды проявляли неожиданное увеличение C_{max} по сравнению с амидами.

Таблица 2

	Карбамид	Соответствующий амид
C_{max}	 <p>Compound 26 Соединение 26 1,688 нг/мл</p>	 <p>400 нг/мл</p>
C_{max}	 <p>Compound 93 Соединение 93 5,000 нг/мл</p>	 <p>1,900 нг/мл</p>
C_{max}	 <p>Compound 139 Соединение 139 1,800 нг/мл</p>	 <p>400 нг/мл</p>
C_{max}	 <p>Compound 152 Соединение 152 915 нг/мл</p>	 <p>200 нг/мл</p>

Пример 15: устойчивость гепатоцитов.

Метаболическая устойчивость соединений может быть оценена с применением гепатоцитов человека, крысы, мыши или другого животного в целях прогнозирования собственного клиренса. Криоконсервированные гепатоциты человека от 20 доноров LiverPool™ и животных были получены от компании BioreclamationIVT.

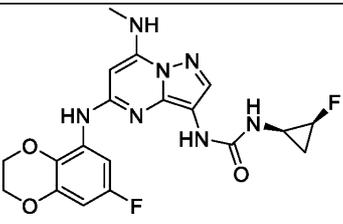
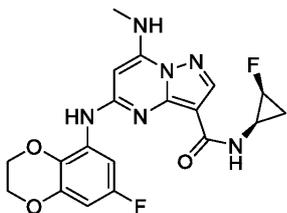
Криоконсервированные гепатоциты извлекали из резервуара с жидким азотом и размораживали в ванне с водой при температуре 37°C. Как только клетки отделялись от стенки ампулы, их декантировали в 48 мл теплой гипоксантин-тимидиновой среды (HT). Клетки центрифугировали в течение четырех минут при скорости 420 об/мин (ускорение 50 g). После удаления надосадочного раствора осадок повторно

супендировали в теплой минимальной эссенциальной среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко (DMEM). Плотность клеток измеряли с помощью гемацитометра.

Исследование осуществляли, используя 96-луночные микротитровальные планшеты. Соединение 5 инкубировали в течение 0, 60, 120 и 180 мин при температуре 37°C с гепатоцитами. Реакционные смеси (50 мкл) содержали конечную концентрацию 1 мкМ исследуемого соединения и гепатоциты в количестве 0,5 млн. клеток на 1 мл в среде DMEM. В каждый из моментов времени (например, через 0, 1, 2 и 3 ч) в каждую лунку переносили по 200 мкл раствора для гашения (100% ацетонитрил и 0,1% муравьиная кислота) с внутренним стандартом. Мидазолам присутствовал в качестве положительного контрольного образца для проверки выполнения исследований. Планшеты герметизировали и центрифугировали в течение 15 мин при температуре 4°C и скорости 4000 об/мин. Надосадочный раствор переносили в свежие планшеты для анализа методом ЖХ-МС/МС. Все образцы анализировали методом ЖХ-МС/МС, используя прибор AB Sciex API 4000, соединенный с насосной системой Shimadzu LC-20AD LC. Аналитические образцы выделяли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью прибора Waters Atlantis T3 dC18 с колонкой (20 мм×2,1 мм) при скорости потока 0,5 мл/мин. Подвижная фаза представляла собой раствор 0,1% муравьиной кислоты в воде (растворитель А) и раствор 0,1% муравьиной кислоты в 100% ацетонитриле (растворитель В).

Степень метаболизма вычисляли по исчезновению исследуемого соединения по сравнению с инкубацией контрольной реакции в нулевой момент времени. Начальные скорости вычисляли для концентрации соединения и использовали для определения значений $t_{1/2}$, а затем собственного клиренса, $CL_{int} = (0,693)(1/t_{1/2} \text{ (мин)})(\text{мл инкубации/млн. клеток})$. Как представлено в табл. 3, карбамидное соединение (соединение 5) проявляло неожиданно высокую метаболическую устойчивость по сравнению с соответствующим амидным соединением.

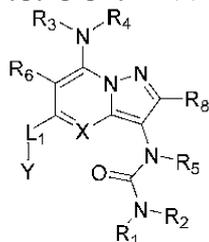
Таблица 3

Карбамид	Соответствующий амид
 <p>Compound 5</p> <p>Устойчивость микросом человека, период полужизни</p>	 <p>Соединение 5</p> <p><100 минут</p>
>360 минут	

Примеры и варианты осуществления, которые описаны в настоящем документе, представлены исключительно для иллюстративных целей, и согласно некоторым вариантам осуществления разнообразные модификации или изменения должны быть включены в область раскрытия и в объем прилагаемой формулы настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру формулы (I):



Формула (I);

в которой:

X представляет собой N;

Y представляет собой C₆-C₁₀-арил или C₂-C₉-гетероарил, содержащий один или несколько кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, где C₆-C₁₀-арил или C₂-C₉-гетероарил необязательно являются замещенными и содержат 1, 2, 3 или 4 радикала R₇;

L₁ представляет собой связь или -N(R₉)-;

R_1 представляет собой замещенный C_3 - C_6 -циклоалкил, содержащий 1, 2 или 3 радикала R_{13} ;

R_2 представляет собой водород;

R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_6 -дейтероалкила;

R_5 представляет собой водород;

R_6 представляет собой водород;

каждый R_7 независимо выбран из галогена, C_1 - C_6 -алкила, C_1 - C_6 -дейтероалкила, C_1 - C_6 -алкокси, C_1 - C_6 -галогеналкокси, C_2 - C_9 -гетероциклоалкила, содержащего один или несколько кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы, оксо, $-OR_{10}$, и $-CN$; или

два R_7 являются объединенными с образованием 5-, 6- или 7-членного гетероциклоалкильного кольца, содержащего по меньшей мере один кольцевой гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы;

R_8 представляет собой водород;

R_9 представляет собой водород или C_1 - C_6 -алкил;

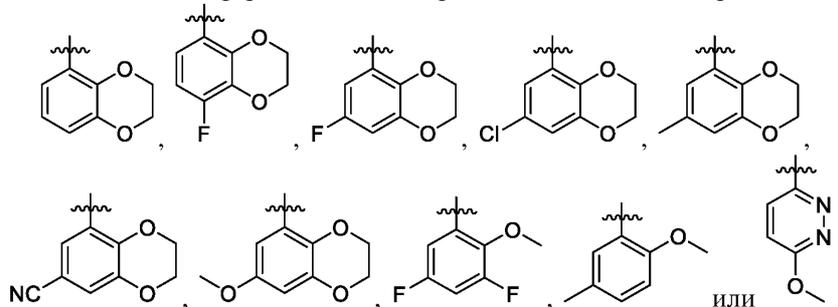
каждый R_{10} независимо выбран из водорода, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_6 -галогеналкила;

каждый R_{13} независимо выбран из галогена, C_1 - C_6 -алкила, оксо, $-OR_{10}$, и $-CN$;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где Y представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 R_7 .

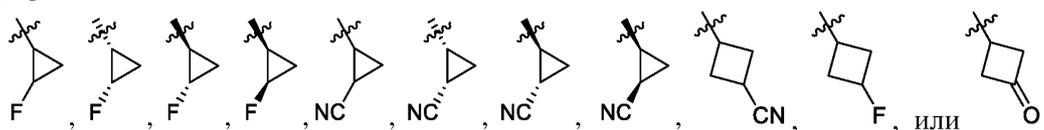
3. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где Y представляет собой



4. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором каждый R_{13} независимо выбран из галогена $-OH$ и $-CN$.

5. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль в котором R_1 представляет собой циклопропил, замещенный 1 радикалом R_{13} .

6. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где R_1 представляет собой



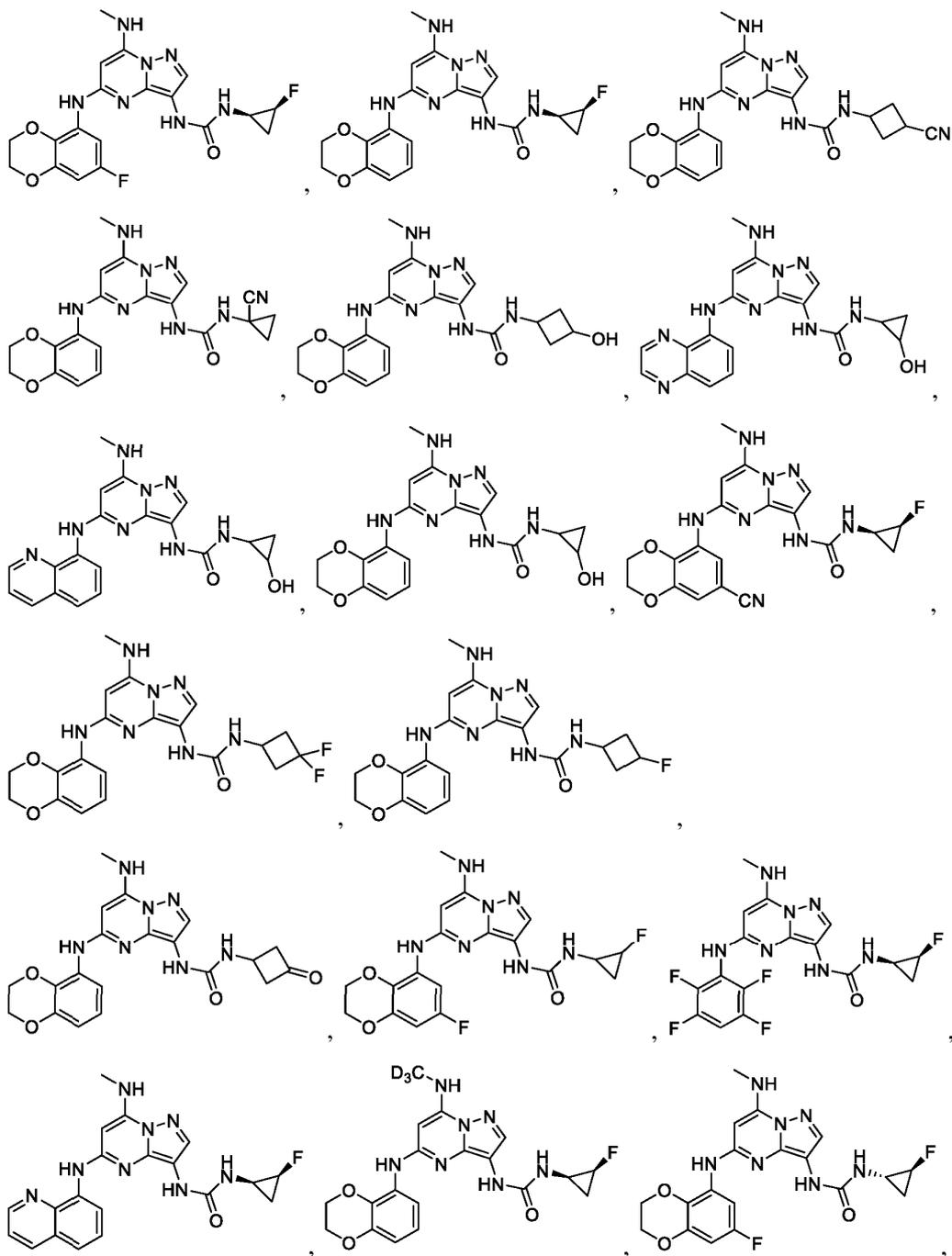
7. Соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором L_1 представляет собой связь.

8. Соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором L_1 представляет собой $-N(H)-$.

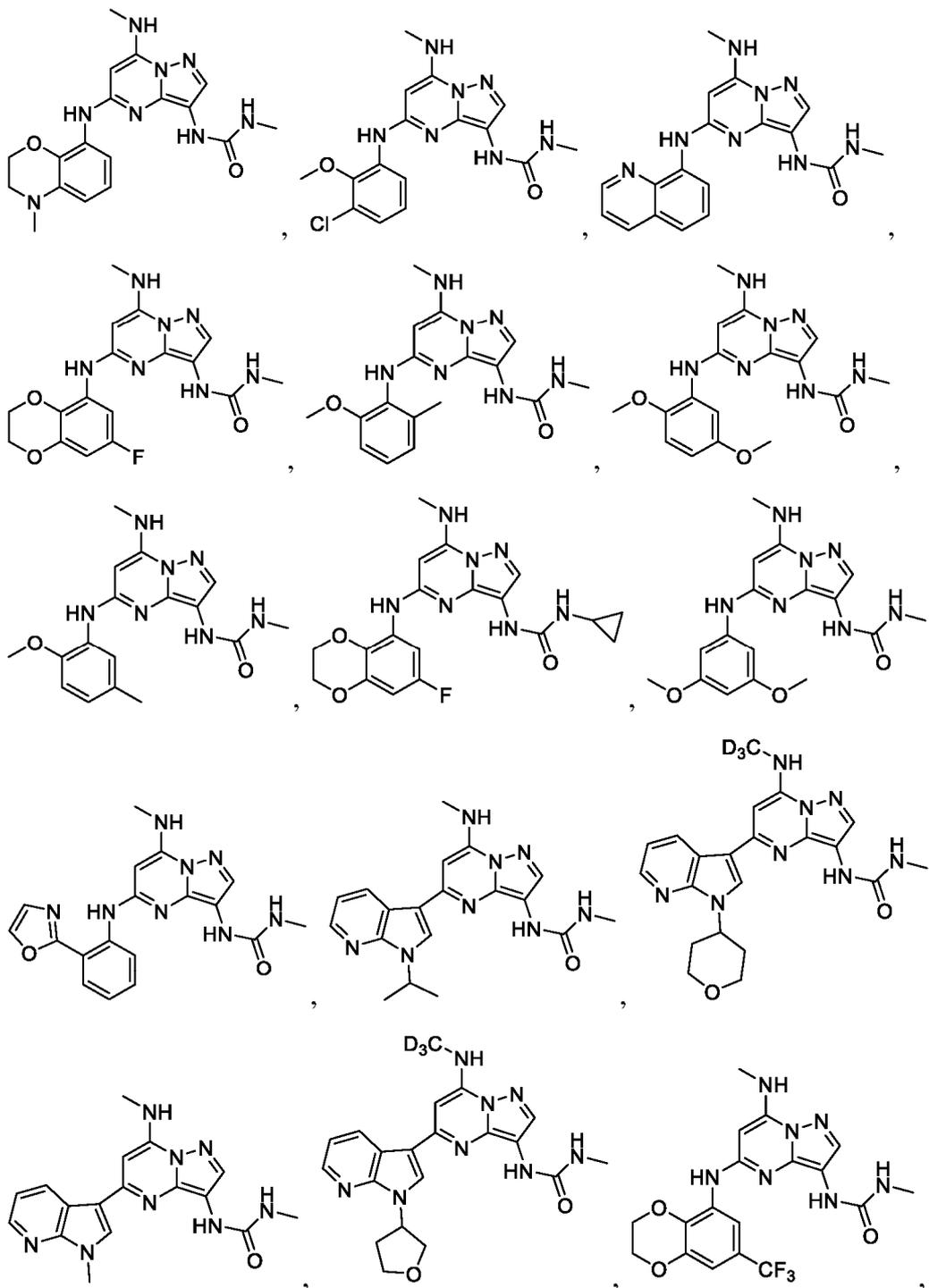
9. Соединение по любому из пп.1-8 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором R_3 и R_4 независимо выбраны из водорода и C_1 - C_6 -алкила.

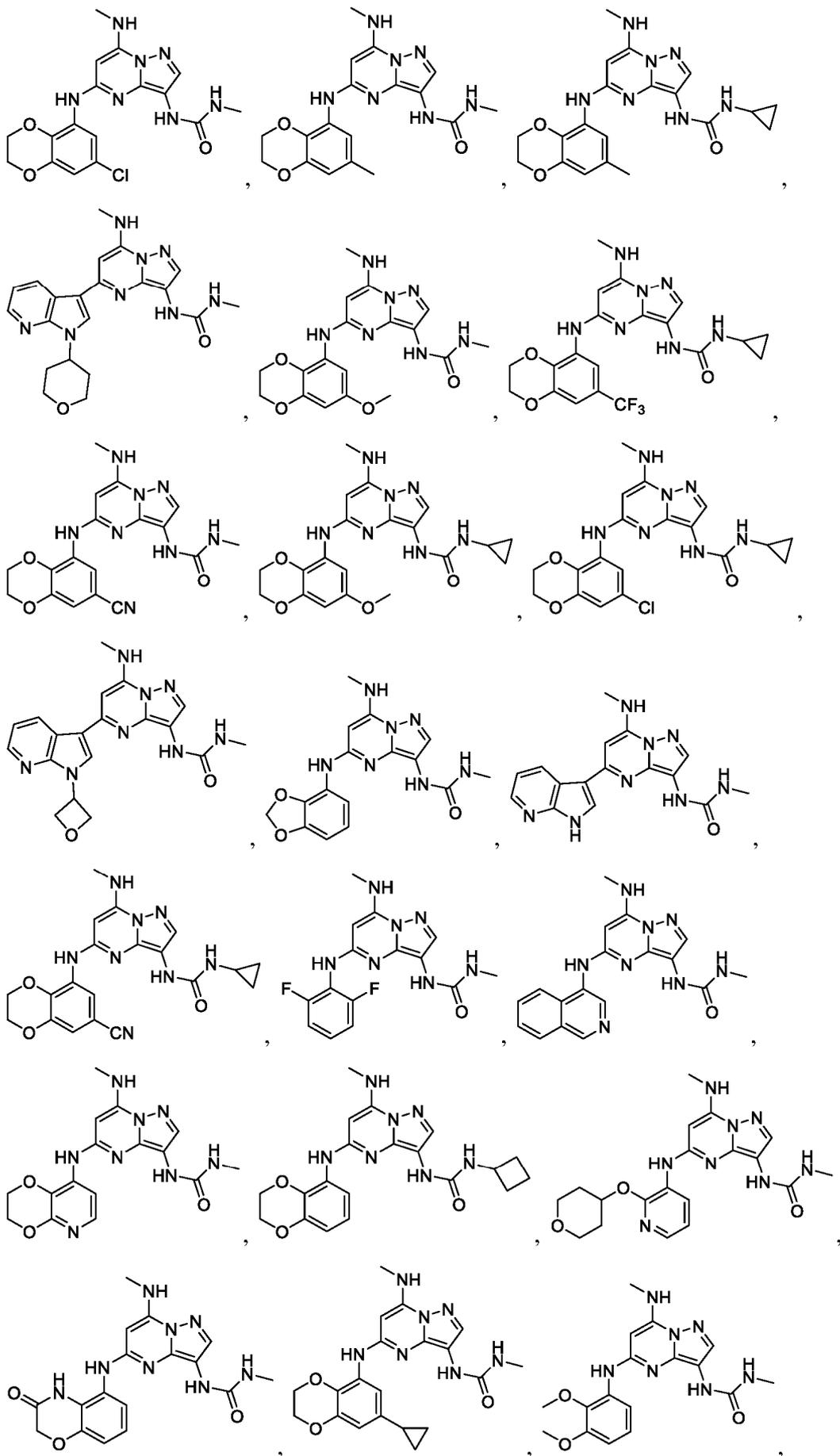
10. Соединение по любому из пп.1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором R_3 представляет собой водород, и R_4 представляет собой C_1 - C_6 -алкил.

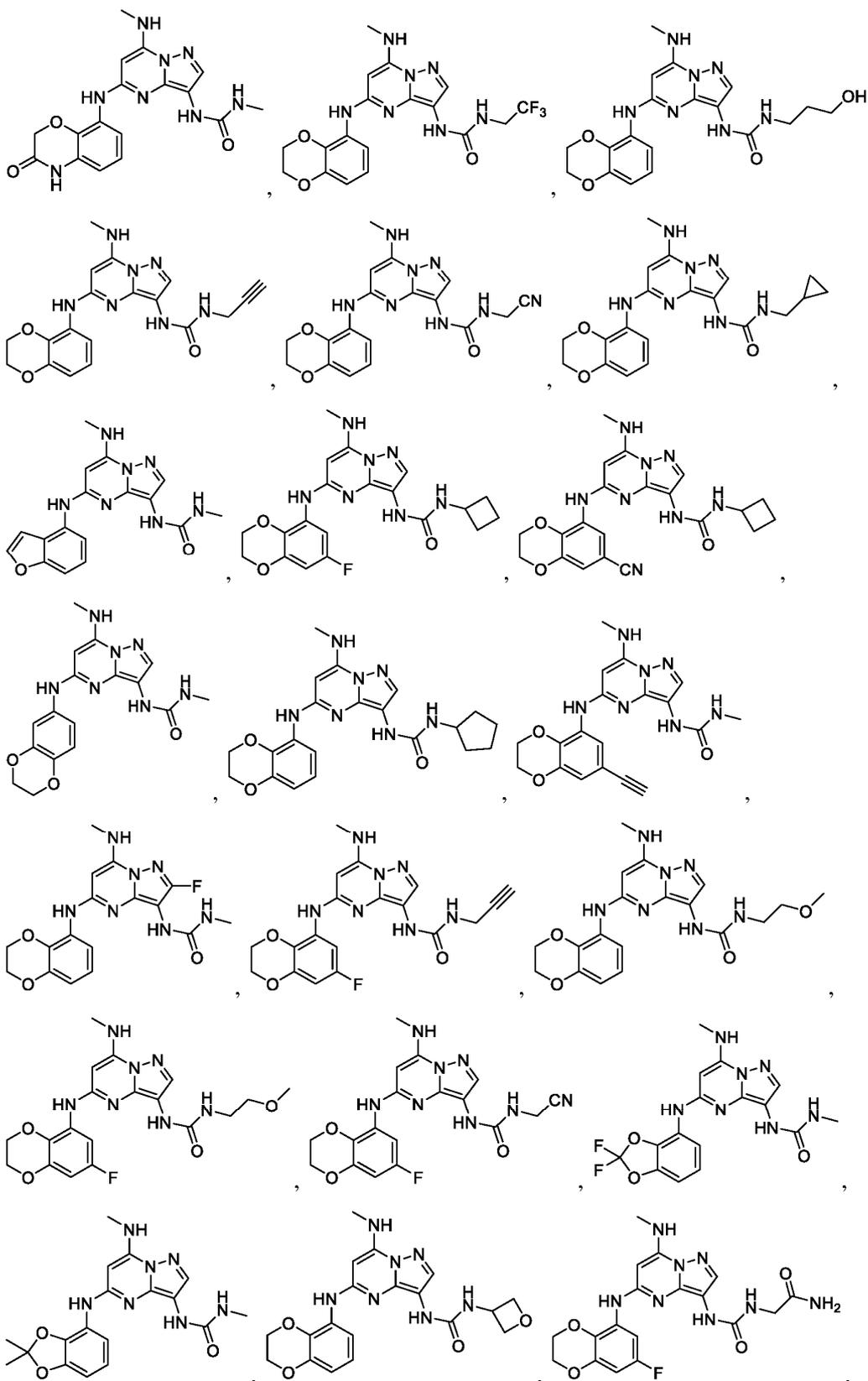
11. Соединение, выбранное из

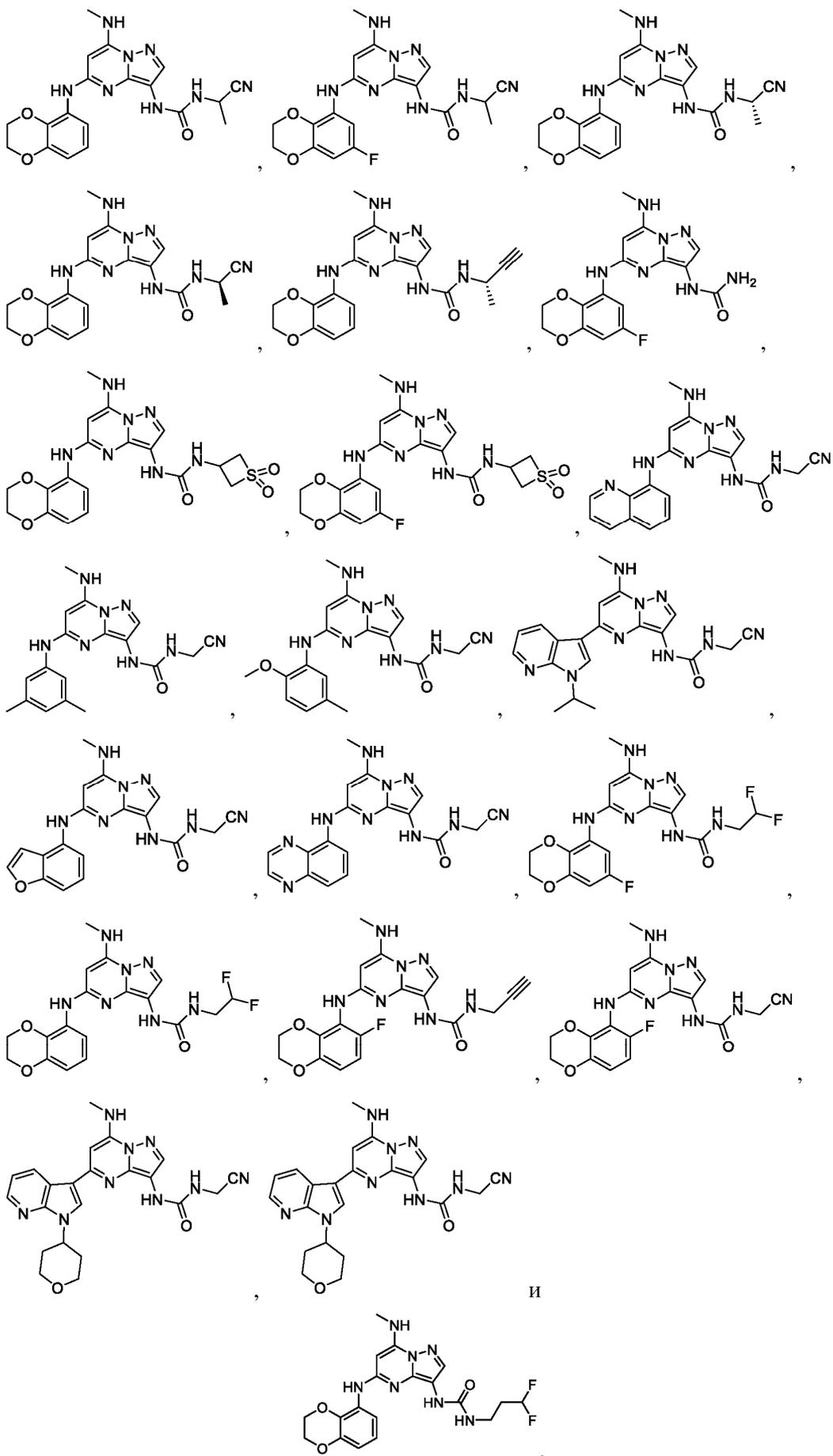


12. Соединение, выбранное из









или его фармацевтически приемлемая соль.

13. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного или аутоиммунного заболевания, содержащая соединение по любому из пп.1-12, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

14. Применение соединения по любому из пп.1-12, или его фармацевтически приемлемой соли, для лечения воспалительного заболевания.

15. Применение соединения по любому из пп.1-12, или его фармацевтически приемлемой соли, для лечения аутоиммунного заболевания.

