

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **048119**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.10.25

(51) Int. Cl. *A61K 31/4184* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
202191724

(22) Дата подачи заявки
2019.12.19

(54) ИНГИБИТОРЫ ПУТИ JAK1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

(31) 62/781,877; 62/854,801; 62/901,377

(32) 2018.12.19; 2019.05.30; 2019.09.17

(33) US

(43) 2021.10.19

(86) PCT/US2019/067418

(87) WO 2020/132210 2020.06.25

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

(72) Изобретатель:
**Елесварам Кришнасвами, Смит Пол,
Холлис Грегори Ф. (US)**

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

(56) WO-A1-2018111327
ARGOLLO MARJORIE ET AL: "Novel therapeutic targets for inflammatory bowel disease", JOURNAL OF AUTOIMMUNITY, vol. 85, 12 July 2017 (2017-07-12), - 12 July 2017 (2017-07-12), pages 103-116, XP085252808, ISSN: 0896-8411, DOI: 10.1016/J.JAUT.2017.07.004 paragraphs [04.1]-[4.1.3]

US-A1-2017145044
SANDBORN WILLIAM J ET AL: "Tofacitinib, an Oral Janus Kinase Inhibitor, in Active Ulcerative Colitis", THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE, - NEJM -, MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY, US, vol. 367, no. 7, 31 July 2012 (2012-07-31), pages 616-624, XP009503892, ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMOA1112168 Methods

(57) Настоящее изобретение относится к ингибиторам пути JAK1 и их применению при лечении желудочно-кишечных заболеваний или расстройств, таких как язвенный колит.

048119
B1

048119
B1

048119
B1

Область техники

Настоящее изобретение относится к ингибиторам пути JAK1 и их применению при лечении желудочно-кишечных заболеваний или расстройств.

Уровень техники

Язвенный колит (ЯК) представляет собой самую распространенную форму воспалительного заболевания кишечника во всем мире. Это хроническое идиопатическое рецидивирующее заболевание слизистой оболочки, которое обычно поражает прямую кишку и распространяется проксимально до толстой кишки, что приводит к диффузному контактному кровотечению и эрозиям с кровотечением. Существует некоторая корреляция между степенью заболевания и серьезностью симптомов; однако у многих пациентов течение заболевания имеет среднюю степень (Solberg et al., *Scand. J. Gastroenterol.* 2009;44:431-440). У большинства пациентов заболевание характеризуется периодами обострения симптомов и ремиссии, и пациенты также могут испытывать усиление болезни с течением времени.

Пациенты с ЯК обычно испытывают периодические эпизоды ректального кровотечения и диареи, часто сопровождающиеся спастической болью в животе и тенезмами. Характерными клиническими проявлениями являются диарея, ректальное кровотечение, отхождение слизи, тенезмы, urgency и боль в животе. Пациенты также могут испытывать усталость, лихорадку, потерю массы и обезвоживание, особенно в более тяжелых случаях. Смертность при ЯК в целом не увеличивается, но болезнь может проявляться как представляющий угрозу для жизни фульминантный колит. У большинства пациентов заболевание имеет хронический прерывистый характер с периодами повышенной активности заболевания, разделенными периодами ремиссии заболевания. После первоначального диагноза примерно половина пациентов будет иметь активную форму заболевания в любой конкретный момент времени, и примерно 90% будут иметь течение болезни, характеризующееся периодическими обострениями.

Заболеваемость ЯК в развивающихся странах неуклонно растет с середины 20 века. Ежегодная заболеваемость ЯК составляет от 1,2 до 20,3 случая на 100000 человек, причем самая высокая заболеваемость наблюдается среди населения Северной Европы и Северной Америки (Loftus et al. *Gastroenterology* 2004;126:1504-1517). Типичное начало ЯК происходит в возрасте от 15 до 30 лет (Andres et al., *Gastroenterol. Clin. North Am.* 1999; 28:255-281). Очевидно, мужчины и женщины страдают в равной степени. Вестернизированные условия и образ жизни считаются факторами риска для воспалительных заболеваний кишечника.

Современные методы лечения ЯК включают мезаламин, глюкокортикоиды, тиопурины и ингибиторы интеркина TNF α и α 4 β 7. Многие пациенты не реагируют на эти методы лечения или имеют неустойчивый ответ.

Несмотря на эти способы лечения, значительной части пациентов с ЯК по-прежнему требуется колэктомия в случае рефрактерного, тяжелого фульминантного заболевания или, в некоторых случаях, для профилактики онкологического заболевания. Хотя часто считается, что пациенты с ЯК излечиваются с помощью колэктомии и восстановительной проктоколэктомии, качество жизни может быть низким, а операция может приводить с краткосрочными и долгосрочными осложнениями, включая снижение женской плодовитости и развитие паучита.

В настоящее время не существует современной фармакологической терапии, которая может излечить ЯК. Основная цель лечения - вызвать ремиссию, а затем поддерживать это состояние.

Соответственно, существует необходимость в разработке новых методов лечения желудочно-кишечных заболеваний или расстройств, таких как язвенный колит. В этой заявке удовлетворяется эта и другие потребности.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 изображены профили средняя концентрация в плазме - время для среднего значения отдельной максимальной концентрации в кале после однократного введения 25 мг соединения 1.

На фиг. 2 изображены профили индивидуальная концентрация в плазме - время концентраций в кале после введения соединения 1 в однократной дозе 25 мг.

На фиг. 3 изображены концентрации [14 C] соединения 1 в толстой кишке у здоровых субъектов и субъектов с язвенным колитом после 1 часа инкубации.

На фиг. 4 изображено изменение IL-6 и TPO-индуцированного фосфорилирования STAT3 в группе лечения соединением 1 (субъекты, пригодные для оценки ФД) у пациентов, как описано в примере 3.

На фиг. 5 изображена корреляция между стимулированным IL-6 ингибированием фосфорилирования STAT3 и показателями эффективности (статическая общая оценка врача (sPGA) и изменение индекса площади и тяжести псориаза (PASI) по сравнению с исходным уровнем) у пациентов, как описано в примере 3.

На фиг. 6A показано изменение индуцированного IL-6 фосфорилирования STAT3 на 15 день 1 цикла у индивидуумов, как описано в примере 3.

На фиг. 6B показано изменение индуцированное TPO фосфорилирования STAT3 на 15 день 1 цикла у индивидуумов, как описано в примере 3.

На фиг. 7A-7D продемонстрировано, что лечение соединением 1 два раза в сутки (30 мг/кг) уменьшает симптомы (фиг. 7A), грубые тканевые аномалии (фиг. 7B) и гистологические доказательства пато-

логии ткани (фиг. 7C-7D) на мышинной модели спонтанного колита, нокаутированной по IL-10. Данные представляют собой среднее значение+COC, n=9-10 на группу лечения. *p<0,05, ***p<0,001, ****p<0,0001.

На фиг. 8A-8C продемонстрировано, что лечение соединением 1 два раза в сутки (30 мг/кг) уменьшает симптомы (фиг. 8A), повреждение тканей (фиг. 8B) и воспалительную припухлость (фиг. 8C) на мышинной модели колита, вызванного оксазолоном. Данные представляют собой среднее значение+COC, n=8 на группу лечения. Непараметрический двусторонний критерий Краскела-Уоллиса с тестом Данна на колит и макроскопические оценки. Параметрический двусторонний дисперсионный анализ с тестом Холма-Сидака для анализа массы толстой кишки *p<0,05, **p<0,01, ****p<0,0001.

На фиг. 9A-9B показано, что лечение соединением 1 два раза в сутки, вводимое перорально (фиг. 9A) или с помощью внутритолстокишечной инъекции (фиг. 9B), значительно снижает тяжесть заболевания на модели колита, индуцированного TNBS, у мышей. Данные представляют собой среднее значение+COC, n=3-8 на группу лечения. *p<0,05, **p<0,01.

На фиг. 10 показаны результаты лечения соединением 1 два раза в сутки в дозе 30 мг/кг, подавляющего начало заболевания на мышинной модели спонтанного колита с нокаутом по IL-10 (КО). Данные представляют собой среднее значение+COC, n=9-10 на группу лечения, а значения p рассчитаны с использованием анализа кривой выживаемости Каплана-Мейера. COC, стандартная ошибка среднего.

На фиг. 11A-11D показано, что лечение соединением 1 два раза в сутки, вводимое перорально (фиг. 11A) или с помощью внутритолстокишечной инъекции (фиг. 11B) значительно снижает тяжесть заболевания на модели колита, индуцированного TNBS, у мышей. Высокие дозы перорально (фиг. 11C) и низкие дозы внутритолстокишечно (фиг. 11D) обеспечили устойчивое воздействие лекарственных средств, превышающее охват IC₅₀. Данные представляют собой среднее значение+COC, n=8 на группу лечения. ВЗК, воспалительное заболевание кишечника; COC, стандартная ошибка среднего. *p<0,05, **p<0,01.

На фиг. 12A показана вулканическая диаграмма дифференциально экспрессируемых генов в толстой кишке мыши IL-10 КО после перорального введения соединения 1 в модели спонтанного колита на мышах.

На фиг. 12B показаны статистически значимые дифференциально экспрессируемые гены у мышей, получавших соединение 1, по сравнению с группой носителя в модели спонтанного колита у мышей.

На фиг. 13A-13D показаны результаты системной и локальной доставки соединения 1 внутрь толстой кишки на мышинной модели воспалительного заболевания кишечника (ВЗК), индуцированной оксазолоном. Введение соединения 1 дважды в сутки перорально (фиг. 13A, 13C) или внутритолстокишечно (фиг. 13B, 13D) значительно улучшило консистенцию стула и снизило уровни скрытой крови в кале на модели колита, индуцированного оксазолоном, у мышей. Данные представляют собой среднее значение+COC, n=8 на группу лечения. COC: стандартная ошибка среднего. **p<0,01, ***p<0,001, ****p<0,0001.

На фиг. 14A-14E показаны репрезентативные изображения укорочения толстой кишки в результате дозирования соединения 1 перорально или непосредственно в толстую кишку по сравнению с носителем. Пероральное (фиг. 14B) и внутритолстокишечное (фиг. 14D) лечение соединением 1 значительно уменьшало укорочение толстой кишки по сравнению с соответствующими обработанными носителем контролями (фиг. 14A, 14C) на модели мышинного колита, индуцированного оксазолоном. Данные о длине толстой кишки (фиг. 14E) представлены на графике как среднее значение+COC, n=8 на группу лечения. COC: стандартная ошибка среднего. ****p<0,0001.

На фиг. 15A-15B показано, что системная доставка соединения 1 связана со значительными защитными эффектами на морфологию толстой кишки у мышей IL-10 КО. На фиг. 15A показаны типичная толстая кишка, а на фиг. 15B показаны срезы толстой кишки, окрашенные гематоксилином/эозином. Белые стрелки на фиг. 15B указывают области инфильтратов мононуклеарных клеток. Увеличение 20×, полоса=100 мкм.

Краткая сущность изобретения

В настоящем документе представлены способы лечения желудочно-кишечного заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем документе предложен ингибитор пути JAK1 для лечения желудочно-кишечного заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом.

В настоящем документе предложено применение ингибитора пути JAK1 для производства лекарственного средства для применения при лечении желудочно-кишечного заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом.

Подробное описание

В настоящем изобретении предлагается, *inter alia*, способ лечения желудочно-кишечного заболевания или расстройства у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В описанных в настоящем документе способах используются ингибиторы пути JAK1, в частности

селективные ингибиторы JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, которое ингибирует активность JAK1 предпочтительно по сравнению с другими киназами Janus. JAK1 играет центральную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, нарушение регуляции которых может приводить к болезненным состояниям или способствовать их возникновению. Было показано, что JAK1 взаимодействует с другими JAK, опосредуя передачу сигналов ряда воспалительных цитокинов, связанных со многими воспалительными заболеваниями, включая язвенный колит (ЯК). Ингибирование передачи сигналов JAK/STAT путем нацеливания на несколько путей цитокинов, связанных с ЯК, может одновременно снижать воспаление, клеточную активацию и пролиферацию ключевых иммунных клеток и, следовательно, представляет собой многообещающую терапевтическую стратегию для лечения ЯК. Тофацитиниб для лечения ЯК был недавно одобрен FDA. Однако терапия тофацитинибом, как системно действующего pan-JAK ингибитора, по-видимому, связана с повышенным риском иммуносупрессии (Sandborn et al., N. Engl. J. Med. 2017;376:1723-1736).

Ингибитор пути JAK1, в частности, соединение 1 (т.е. {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, см. табл. 1), при введении в форме с замедленным высвобождением и в дозах, которые ниже, чем используемые для системной терапии, максимизирует воздействие на толстую кишку при минимальном системном воздействии (см., например, пример 1). В результате ожидается, что эффективность ингибитора пути JAK1 будет опосредована преимущественно локальным, а не системным ингибированием JAK1.

Кроме того, пациенты с желудочно-кишечными заболеваниями могут получить пользу от ингибирования JAK1, особенно от селективного ингибирования пути JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, избегая при этом ненужных и потенциально нежелательных эффектов ингибирования других киназ JAK.

Соответственно, в настоящем документе представлены способы лечения желудочно-кишечного заболевания или расстройства у субъекта, причем указанный способ включает введение субъекту ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли, при этом максимальная концентрация ингибитора пути JAK1 в кале после введения ингибитора пути JAK1 составляет более чем или равна около 25 нМ; и максимальная общая концентрация в плазме (C_{max}) после введения ингибитора пути JAK1 составляет менее чем или равна около 450 нМ.

Максимальная концентрация в кале может быть определена путем измерения концентрации в кале с использованием, например, анализа жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС) в течение некоторого периода времени после введения ингибитора пути JAK1 (например, от 0 до около 48 часов после введения ингибитора пути JAK1). Измерение концентрации соединения 1 в кале может быть выполнено с помощью способа, описанного в примере С в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления, максимальная концентрация ингибитора пути JAK1 в кале составляет более чем или равна около 25 нМ, около 30 нМ, около 35 нМ, около 40 нМ, около 45 нМ, около 50 нМ, около 55 нМ, около 60 нМ, около 65 нМ, около 70 нМ, около 75 нМ, около 80 нМ, около 85 нМ, около 90 нМ, около 95 нМ или около 100 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация ингибитора пути JAK1 в кале составляет более чем или равна около 50 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация ингибитора пути JAK1 в кале составляет от около 25 до 100 нМ после введения ингибитора пути JAK1.

Максимальная общая концентрация в плазме (т.е. C_{max}) может быть определена путем измерения концентрации в плазме с использованием, например, анализа жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ЖХ-МС/МС) в течение некоторого периода времени после введения ингибитора пути JAK1 (например, от 0 до около 48 часов после введения ингибитора пути JAK1). Измерение концентрации соединения 1 в плазме может быть выполнено способом, описанным в примере С.

В некоторых вариантах осуществления, максимальная общая концентрация ингибитора пути JAK1 в плазме составляет менее чем или равна около 450 нМ, около 425 нМ, около 400 нМ, около 375 нМ, около 350 нМ, около 325 нМ, около 300 нМ, около 275 нМ, около 250 нМ, около 225 нМ, около 200 нМ, около 175 нМ, около 150 нМ, около 125 нМ, около 100 нМ, около 75 нМ или около 50 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная общая концентрация ингибитора пути JAK1 в плазме составляет менее чем или равна около 150 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная общая концентрация ингибитора пути JAK1 в плазме составляет менее чем или равна около 141 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная общая концентрация ингибитора пути JAK1 в плазме составляет менее чем или равна около 100 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная общая концентрация в плазме составляет около от 25 нМ до 100 нМ.

В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация в плазме несвязанного ингибитора пути JAK1 составляет менее чем или равна около 150 нМ после введения ингибитора пути JAK1. Максимальная концентрация в плазме несвязанного ингибитора может быть получена из максимальной общей концентрации ингибитора пути JAK1 в плазме (см., например, пример С) и связывания белка in

vitro, которое может быть определено с помощью равновесного диализа. В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация несвязанного ингибитора пути JAK1 в плазме составляет менее чем или равна около 150 нМ, около 125 нМ, около 100 нМ, около 75 нМ, около 50 нМ или около 25 нМ после введения ингибитора пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация в плазме несвязанного ингибитора пути JAK1 составляет менее чем или равна около 100 нМ после введения ингибитора пути JAK1.

В некоторых вариантах осуществления максимальная концентрация в плазме несвязанного ингибитора пути JAK1 составляет менее чем или равна около 50 нМ после введения ингибитора пути JAK1.

В некоторых вариантах осуществления соотношение максимальной несвязанной концентрации в плазме к максимальной концентрации в кале составляет менее чем или равно около 6, около 5, около 4, около 3, около 2 или около 1. В некоторых вариантах осуществления соотношение максимальной несвязанной концентрации в плазме к максимальной концентрации в кале составляет менее чем или равно около 2. В некоторых вариантах осуществления соотношение максимальной несвязанной концентрации в плазме к максимальной концентрации в кале составляет от около 1 до около 6.

В некоторых вариантах осуществления представленных в данном документе способов заболелание или расстройство, связанное с желудочно-кишечным трактом, выбрано из язвенного колита, болезни Крона и целиакии.

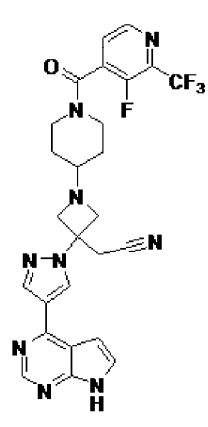
В некоторых вариантах осуществления желудочно-кишечное заболелание представляет собой рецидивирующий, рефрактерный или рецидивный и рефрактерный язвенный колит. В некоторых вариантах осуществления субъект не ответил на ранее введенное лечение язвенного колита. В других вариантах осуществления субъект не переносит ранее проведенное лечение язвенного колита. В некоторых вариантах осуществления ранее назначенное лечение выбрано из (а) кортикостероидов для перорального применения, (b) AZA или 6-MP или (c) терапии биопрепаратами, такой как инфликсимаб или адалимумаб.

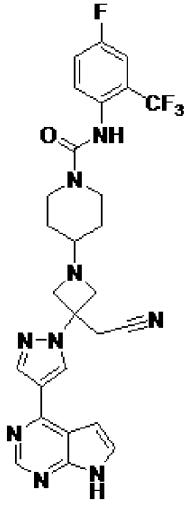
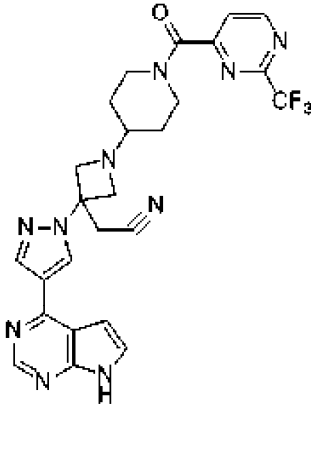
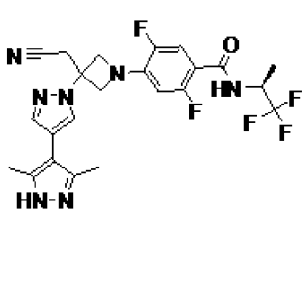
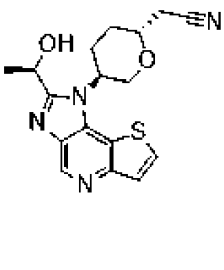
I. Ингибиторы пути JAK1.

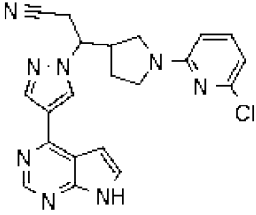
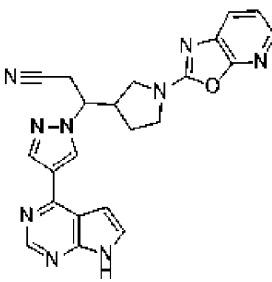
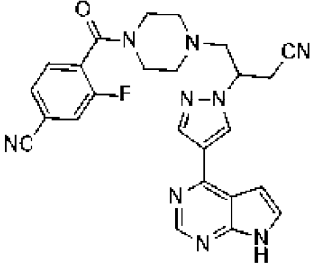
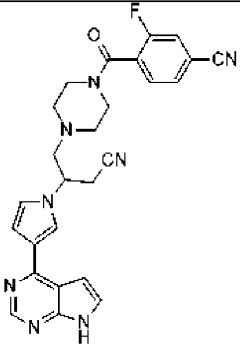
В описанных в данном документе способах используются ингибиторы пути JAK1. В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 является селективным в отношении JAK1 по сравнению с JAK2, JAK3 и TYK2 (т.е. селективный ингибитор JAK1). Например, описанные в данном документе соединения или их фармацевтически приемлемые соли предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с одним или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах осуществления соединения ингибируют JAK1 предпочтительно по сравнению с JAK2 (например, имеют соотношение IC_{50} JAK2/JAK1 > 1). В некоторых вариантах осуществления соединения или соли в около 10 раз более селективны в отношении JAK1 по сравнению с JAK2. В некоторых вариантах осуществления соединения или соли в около 3, в около 5, в около 10, в около 15 или в около 20 раз более селективны в отношении JAK1 по сравнению с JAK2, что рассчитано путем измерения IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

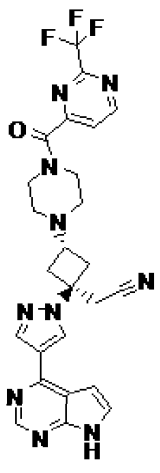
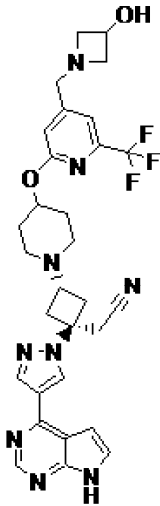
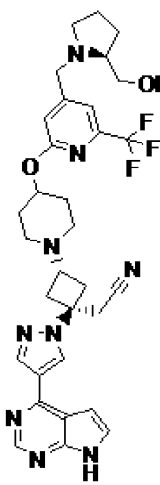
В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 представляет собой соединение из табл. 1 или его фармацевтически приемлемую соль. Соединения в табл. 1 являются селективными ингибиторами JAK1 (т.е. ингибиторами пути JAK1, которые являются селективными по сравнению с JAK2, JAK3 и TYK2). Значения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

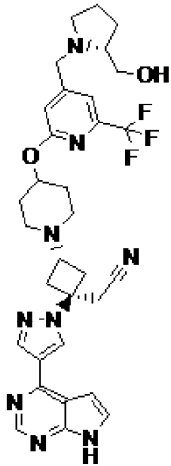
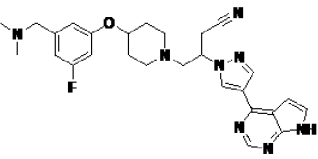
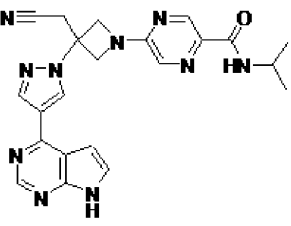
Таблица 1

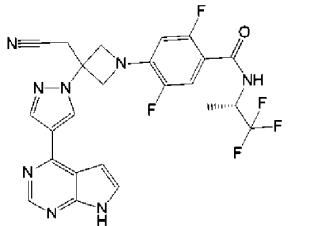
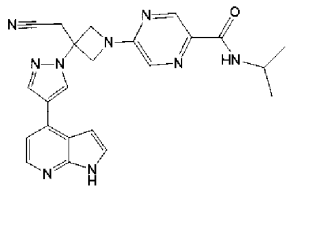
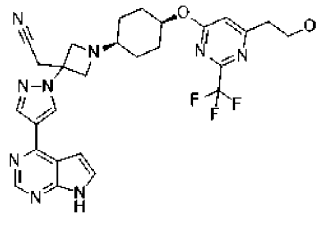
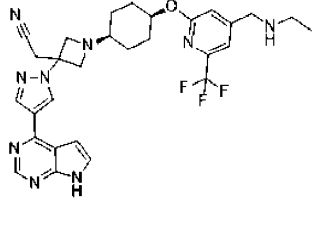
Соединение №.	Преп.	Название	Структура	JAK1 IC_{50} (нМ)	JAK2 / JAK1
1	US 2011/0224190 (Пример 1)	{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10

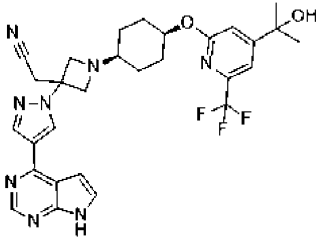
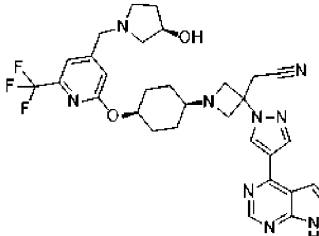
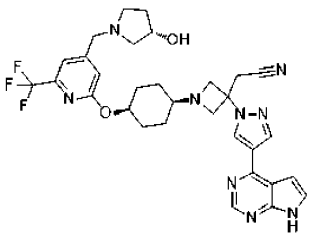
2	US 2011/0224190 (Пример 154)	4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид		+	>10
3	US 2011/0224190 (Пример 85)	[3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-1-(1-{2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}карбонил)пиперидин-4-ил]азетидин-3-ил]ацетонитрил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

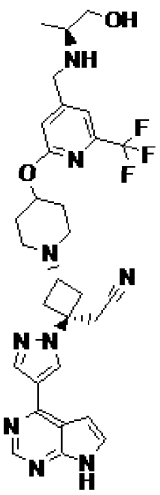
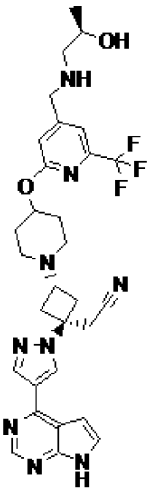
		ил)ацетонитрил			
6	US 2010/ 0298334 (Пример 2) ^a	3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	>10
7	US 2010/ 0298334 (Пример 13с)	3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил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

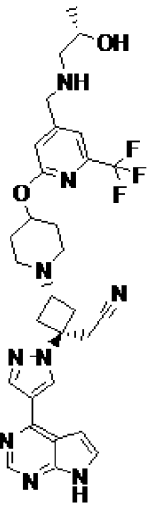
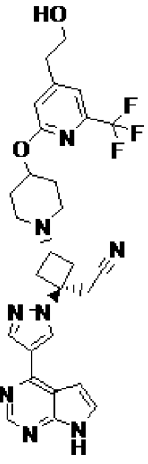
10	US 2012/ 0149681(Пример 7b)	[транс-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-3-(4-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперазин-1-ил)циклобутил]ацетонитрил		+	>10
11	US 2012/ 0149681 (Пример 157)	{транс-3-(4-{[4-[(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пира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

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

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

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

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

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

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

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

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

^aДанные для энантиомера 1.

^bДанные для энантиомера 2.

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

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

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

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

В некоторых вариантах реализации ингибитор пути JAK1 представляет собой соль фосфорной кислоты и 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-

[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида.

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

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

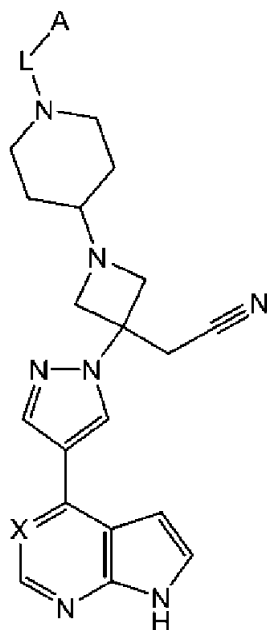
В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 представляет собой ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила моногидрат.

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

В некоторых вариантах осуществления соединения табл. 1 получают синтетическими методами, описанными в патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., патентной публикации США № 2014/0343030, поданной 16 мая 2014 г., патентной публикации США № 2014/0121198, поданной 31 октября 2013 г., патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., которая включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

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

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



I

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

X представляет собой N или CH;

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

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

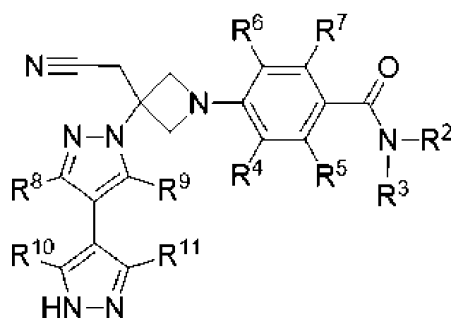
каждый R¹ независимо представляет собой фтор или трифторметил.

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

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

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

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



II

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

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

R³ представляет собой H или метил;

R⁴ представляет собой H, F или Cl;

R⁵ представляет собой H или F;

R⁶ представляет собой H или F;

R⁷ представляет собой H или F;

R⁸ представляет собой H или метил;

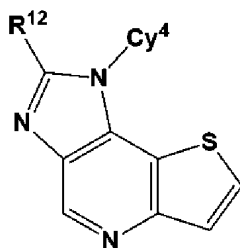
R⁹ представляет собой H или метил;

R¹⁰ представляет собой H или метил; и

R¹¹ представляет собой H или метил.

В некоторых вариантах реализации соединения формулы II представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метил-этил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

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



III,

или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Su⁴ представляет собой тетрагидро-2H-пирановое кольцо, которое необязательно замещено 1 или 2 группами, независимо выбранными из CN, OH, F, Cl, C₁₋₃ алкила, C₁₋₃ галогеналкила, циано-C₁₋₃ алкила, HO-C₁₋₃ алкила, amino, C₁₋₃ алкиламино и ди(C₁₋₃ алкил)амино, причем указанный C₁₋₃ алкил и ди(C₁₋₃

алкил)амин необязательно замещены 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из F, Cl, C₁₋₃ алкиламиносульфонила и C₁₋₃ алкилсульфонила; и

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

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

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 вводят в суточном количестве от около 1 мг до около 100 мг, от около 3 мг до около 100 мг, от около 5 мг до около 100 мг, от около 10 мг до около 100 мг, от около 10 мг до около 75 мг или от около 25 мг до около 75 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 вводят в суточном количестве от около 1 мг до около 100 мг, от около 3 мг до около 100 мг, от около 5 мг до около 100 мг, от около 10 мг до около 100 мг, от около 10 мг до около 75 мг или от около 25 мг до около 75 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 вводят в суточном количестве от около 10 мг до около 100 мг в пересчете на свободное основание. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор пути JAK1 вводят в суточном количестве около 1 мг, около 3 мг, около 5 мг, около 10 мг, около 15 мг, около 20 мг, около 25 мг, около 30 мг, около 35 мг, около 40 мг, около 45 мг, около 50 мг, около 55 мг, около 60 мг, около 65 мг, около 70 мг, около 75 мг, около 80 мг, около 85 мг, около 90 мг, около 95 мг или около 100 мг в пересчете на свободное основание.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе от около 50 мг до около 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе от около 25 мг до около 50 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе от около 25 мг до около 75 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 1 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 2 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 2,5 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 3 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 5 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 10 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 15 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 25 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 30 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 50 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе около 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в дозе около 25 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе (например, в виде суточной дозы один или два раза) от около 1 мг/кг до около 50 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе (например, в виде суточной дозы один или два раза) от около 3 мг/кг до около 30 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе около 3 мг/кг два раза в сутки (дважды в сутки) с общим суточным введением около 6 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят внутритолстокишечно два раза в сутки (дважды в сутки) в дозе около 3 мг/кг с общим суточным введением около 6 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе около 30 мг/кг два раза в сутки (дважды в сутки) с общим суточным введением около 60 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде пероральной дозы около 30 мг/кг два раза в сутки (дважды в сутки) с общим суточным введением около 60 мг/кг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в сутки в дозе около 25 мг с общим суточным введением около 50 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в дозе около 50 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят два раза в сутки в дозе около 50 мг с общим суточным введением около 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят один раз в сутки в дозе около 100 мг.

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

В настоящем документе предложен способ лечения желудочно-кишечного заболевания у субъекта, включающий введение субъекту суточной дозы от около 25 до 100 мг ингибитора пути JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли, причем ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в виде одной или более дозированных форм с замедленным высвобождением, содержащих ингибитор пути JAK1 или его фармацевтически приемлемую соль.

Варианты реализации, описанные в данном документе, предназначены для объединения в любую подходящую комбинацию, как если бы варианты осуществления являлись множественно зависимыми пунктами (например, варианты осуществления, относящиеся к селективному ингибитору пути JAK1 и его дозам, варианты осуществления, относящиеся к максимальной концентрации в плазме (общей или несвязанной), варианты осуществления, относящиеся к любым солевым формам соединений, раскрытых в данном документе, варианты осуществления, относящиеся к отдельным типам заболеваний, связанных с желудочно-кишечным трактом, и варианты осуществления, относящиеся к композиции и/или введению, могут быть объединены в любой комбинации).

В настоящем документе также предлагается способ лечения желудочно-кишечного заболевания, выбранного из группы, состоящей из воспалительного заболевания кишечника, язвенного колита, спонтанного колита, болезни Крона и целиакии. В некоторых вариантах осуществления желудочно-кишечное заболевание выбрано из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии.

В некоторых вариантах осуществления желудочно-кишечное заболевание выбрано из группы, состоящей из воспалительного заболевания кишечника и спонтанного колита.

В некоторых вариантах осуществления желудочно-кишечное заболевание представляет собой спонтанный колит.

Например, в настоящем документе предлагается способ лечения желудочно-кишечного заболевания, выбранного из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии, у нуждающегося в этом субъекта, причем способ включает введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли, причем максимальная концентрация {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила в кале после введения {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли составляет более чем около 25 нМ, и при этом максимальная общая концентрация {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила в плазме после введения {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли составляет менее чем около 150 нМ.

В настоящем документе также предлагается способ лечения желудочно-кишечного заболевания, выбранного из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии, у субъекта, причем способ включает введение субъекту суточной дозы от около 25 мг до около 100 мг в пересчете на свободное основание {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли, при этом доза включает одну или более дозированных форм с замедленным высвобождением, каждая из которых содержит {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В настоящем документе также предлагается способ лечения желудочно-кишечного заболевания, выбранного из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии, у субъекта, причем способ включает введение субъекту два раза в сутки дозы около 25 мг в пересчете на свободное основание {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли, при этом доза включает одну или более дозированных форм с замедленным высвобождением, каждая из которых содержит {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В настоящем документе также предлагается способ лечения желудочно-кишечного заболевания, выбранного из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии, у субъекта, причем способ включает введение субъекту два раза в сутки дозы около 50 мг в пересчете на свободное основание {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли, при этом доза включает одну или более дозированных форм с замедленным высвобождением, каждая из которых содержит {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

Лекарственные формы с замедленным высвобождением {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли (табл. 1, соединение 1) можно найти в публикации США № 2015-0065484, поданной 6 августа 2014 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки. См. также пример В ниже.

Все возможные комбинации в данном документе отдельно не перечислены только с целью краткости изложения.

Описанные в данном документе соединения могут быть асимметричными (например, иметь один или более стереоцентров). Предполагаются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иное. Соединения, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных материалов известны в данной области техники, как, например, разделение рацемических смесей или с помощью стереоселективного синтеза. В описанных в данном документе соединениях также могут присутствовать многие геометрические изомеры олефинов, С=N двойных связей и тому подобное, и все такие стабильные изомеры рассматриваются в настоящем изобретении. Цис и транс-геометрические изомеры соединений по настоящему изобретению описаны и могут быть выделены в качестве смеси изомеров или как отдельные изомерные формы.

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

Разделение рацемических смесей соединений может быть осуществлено любым из многочисленных способов, известных в данной области техники. Пример способа включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделительной кислоты, которая является оптически активной солеобразующей органической кислотой. Подходящие разделяющие агенты для способов фракционной перекристаллизации представляют собой, например, оптически активные кислоты, такие как D- и L-формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или разнообразных оптически активных камфорсульфоновых кислот, таких как β-камфорсульфовая кислота. Другие разделяющие агенты, пригодные для способов фракционной перекристаллизации, включают в себя стереоизомерно чистые формы α-метилбензиламина (например, S и R формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинола, норэфедрина, эфедрина, N-метилэфедрина, циклогексилэтиламина, 1,2-диаминоциклогексана и тому подобное.

Разделение рацемических смесей также можно проводить элюированием на колонке, содержащей оптически активный разделяющий агент (например, динитробензоилфенилглицин). Подходящую композицию растворителей для элюирования может определить специалист в данной области техники.

Соединения, описанные в данном документе, также включают в себя таутомерные формы. Таутомерные формы возникают вследствие обмена одинарной связи с соседней двойной связью и сопутствующего перехода протона. Таутомерные формы включают в себя прототропные таутомеры, которые отличаются местом присоединения протона и имеют одинаковую эмпирическую форму и общий заряд. Примеры прототропных таутомеров включают в себя пары кетон-енол, пары амид-имидная кислота, пары лактам-лактим, пары енамин-имин и кольцевые формы, где протон может занимать два или более положений гетероциклической системы, например, 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н-1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол и 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или быть стерически заблокированы в одной форме с использованием подходящего замещения.

Описанные в данном документе соединения могут также включать изотопно-меченые соединения

согласно настоящему изобретению. "Изотопно-" или "радиоактивно-меченое" соединение представляет собой соединение по изобретению, в котором один или более атомов заменены или замещены атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно обнаруживаемых в природе (т.е. природного происхождения). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения по настоящему изобретению включают, без ограничения, ^2H (также обозначенный как D для дейтерия), ^3H (также обозначенный как T для трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Например, один или более атомов водорода в соединении по данному изобретению могут быть заменены атомами дейтерия (например, один или более атомов водорода в C_{1-6} алкильной группе формулы (I), (II) или (III) или соединение из табл. 1 может быть необязательно замещен атомами дейтерия, так $-\text{CD}_3$, замещает $-\text{CH}_3$).

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

В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в данном документе, или их соли, по существу выделены. Под "по существу изолированным" подразумевается, что соединение, по меньшей мере, частично или в значительной степени отделено от окружающей среды, в которой оно было образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию, обогащенную описанными в данном документе соединениями. Существенное разделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 97% или по меньшей мере приблизительно 99% по массе описанных в данном документе соединений или их солей. Способы выделения соединений и их солей являются обычными в данной области техники.

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

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

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли описанных в данном документе соединений. Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем преобразования существующего кислотного или основного фрагмента в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваются ими, соли минеральных или органических кислот с основными остатками, такими как амины; соли щелочей или органических оснований с кислотными остатками, такими как карбоновые кислоты; и тому подобное. Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основной или кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены реакцией свободных кислотных или основных форм этих соединений со стехиометрическим количеством подходящего основания или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в их смеси; как правило, предпочтительны неводные среды, такие как эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (MeCN). Списки подходящих солей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), p. 1418, Berge et al, J. Pharm. Set, 1977, 66(1), 1-19 и в Stahl et al, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, (Wiley, 2002). В некоторых вариантах осуществления описанные в данном документе соединения включают формы N-оксидов.

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

Фраза "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного соединения или фармацевтического агента, которое вызывает биологический или медицинский отклик в ткани, системе, животном, индивиде или человеке, необходимый исследователю, ветеринару, врачу или другому

клиницисту.

Термин "лечить" или "лечение" относится к одному или более из (1) ингибирования заболевания; например, ингибирование заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику заболевания, состояния или расстройства (т.е. прекращение дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); и (2) облегчение болезни; например, облегчение заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который испытывает или демонстрирует патологию или симптомы заболевания, состояния или расстройства (т.е. обращение патологии и/или симптомов), такое как уменьшение тяжести заболевания. В одном варианте осуществления лечить или лечение включает предотвращение или снижение риска развития заболевания; например, предотвращение или снижение риска развития заболевания, состояния или расстройства у индивидуума, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или расстройству, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику заболевания.

Для терминов "например" и "такой как" и их грамматических эквивалентов, следует понимать фразу "и без ограничений", если явно не указано иное.

Употребляемые в настоящем раскрытии формы единственного числа включают ссылки на формы множественного числа, если из контекста явно следует иное.

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

Комбинированные терапевтические средства.

Описанные в данном документе способы могут дополнительно включать введение одного или более дополнительных терапевтических агентов. Эти терапевтические агенты включают противовоспалительные агенты, стероиды, иммунодепрессанты или терапевтические антитела.

Например, способы, описанные в данном документе, могут использоваться в сочетании с современными методами лечения ЯК, такими как мезаламин для перорального применения (5-ASA), кортикостероиды для перорального применения, азатиоприн (AZA), 6-меркаптопурин (6-MP) и метотрексат, инфликсимаб, ведолизумаб, ингибиторы адгезии клеток к адрессину, молекуле клеточной адгезии в слизистой (MADCAM1) и пересадка кала.

Например, 5-ASA для перорального применения (месаламин, например, от около 1600 мг/день до около 2400 мг/день) или сульфасалазин (например, до, например, от около 1000 мг/день до 4000 мг/день) могут быть введены с ингибиторами пути JAK1 для любого из описанных в данном документе способов.

В качестве другого примера кортикостероиды для перорального применения (например, от около 0,5 мг/день до около 60 мг/день преднизона или эквивалента кортикостероида для перорального применения) могут быть введены с ингибиторами пути JAK1 любым из способов, описанных в данном документе.

В качестве другого примера, азатиоприн от около 50 мг/день до около 225 мг/день, 6-меркаптопурин до, например, от около 30 мг/день до около 112,5 мг/день, или метотрексат, например, до около 25 мг еженедельно также могут быть введены с ингибиторами пути JAK1 для любого из описанных в данном документе способов. В некоторых вариантах осуществления азатиоприн вводят в дозе от около 50 мг/день до около 100 мг/день с ингибиторами пути JAK1 для любого из описанных в данном документе способов. В других вариантах осуществления 6-меркаптопурин вводят в дозе от около 30 мг/день до около 50 мг/день с ингибиторами пути JAK1 для любого из описанных в данном документе способов.

В качестве другого примера может быть введен курс инфликсимаба в дозе 2-10 мг/кг для индукции и поддержания, например, 5 мг/кг, с ингибиторами пути JAK1 для любого из описанных в данном документе способов. В некоторых вариантах осуществления инфликсимаб вводят в дозе 5 мг/кг через ноль, две и шесть недель, а затем каждые восемь недель.

В качестве другого примера ведолизумаб в дозах от около 200 до около 400 мг, например, 300 мг, может быть введен с ингибиторами пути JAK1 любым из способов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ведолизумаб вводят на нулевой, второй и шестой неделях, а затем каждые восемь недель.

Когда субъекту вводят более одного фармацевтического агента, их можно вводить одновременно, последовательно или в комбинации (например, для более чем двух агентов).

Композиции.

Указанные соединения могут быть введены в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть получены способом, хорошо известным в области фармацевтики, и могут вводиться различными путями, в зависимости от того, показано ли местное или системное лечение, и от области, подлежащей лечению. Введение может быть местным (включая трансдермальное, эпидермальное, офтальмологическое и через слизистые оболочки, включая интраназальное, вагинальное и ректальное введение), легочным (например, путем ингаляции или вдывания порошков или аэрозолей, в том числе с помощью небулайзера; интратрахеально или интраназально), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриаартериальное, подкожное, внутрибрюшинное внутримышечное введение или инъекцию или инфузию; или внутрочерепное, например, внутриоболочечное

или внутривенное введение. Парентеральное введение может осуществляться в форме однократной болюсной дозы или может осуществляться, например, с помощью перфузионного насоса непрерывного действия. Фармацевтические композиции и составы для местного применения могут включать в себя трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, крема, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Необходимыми или желательными могут быть традиционные принятые фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и тому подобное. В некоторых вариантах осуществления введение является пероральным. В некоторых вариантах осуществления введение является интраколоническим.

Фармацевтические композиции могут содержать в качестве активного ингредиента соединения или их фармацевтически приемлемую соль в сочетании с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах осуществления изобретения композиция пригодна для местного применения. При изготовлении композиций активный ингредиент обычно смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или заключают в такой носитель в форме, например, капсулы, саше, бумажного пакета или другого контейнера. Когда вспомогательное вещество служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который служит несущей средой, носителем или средой для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть в форме таблеток, пилюль, порошков, пастилок для рассасывания, саше, капсул, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердой или жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% по весу активного соединения, мягких и твердых желатиновые капсулы, суппозиторий, стерильных растворов для инъекций и стерильных упакованных порошков.

Для получения состава активное соединение можно размалывать, чтобы обеспечить подходящий размер частиц, до объединения с другими ингредиентами. Если активное соединение практически нерастворимо, его можно размалывать до получения частиц, размером менее 200 мкм. Если активное соединение по сути растворимо в воде, размер частиц можно регулировать измельчением для обеспечения по сути равномерного распределения в составе, например, приблизительно 40 мкм.

Соединения могут быть измельчены с использованием известных процедур измельчения, таких как мокрый помол, для получения размера частиц, подходящего для формирования таблеток и для других типов составов. Тонкоизмельченные (наночастицы) препараты соединений по настоящему изобретению могут быть получены способами, известными в данном уровне техники, см., например, WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих наполнителей включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Композиции могут дополнительно включать: смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгирующие и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; и подсластители и ароматизаторы. Композиции согласно данному изобретению могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием процедур, известных в данной области техники.

Компоненты, используемые для составления фармацевтических композиций, имеют высокую чистоту и по сути не содержат потенциально вредных примесей (например, по меньшей мере национальную пищевую степень чистоты, как правило, по меньшей мере аналитическую степень чистоты и более конкретно по меньшей мере фармацевтическую степень чистоты). В частности, для использования человеком композиция предпочтительно производится или составляется в соответствии со стандартами Надлежащей производственной практики, как определено в применимых правилах Управления США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов. Например, подходящие составы могут быть стерильными и/или по сути изотоническими и/или полностью соответствовать всем правилам надлежащей производственной практики Управления США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне доз и обычно вводится в терапевтически эффективном количестве. Однако следует понимать, что фактически вводимое количество соединения обычно определяется врачом в зависимости от соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактически вводимое соединение, возраст, вес и реакцию отдельного пациента, тяжесть симптомов пациента и тому подобное.

Терапевтическая дозировка соединения по настоящему изобретению может варьироваться в зависимости, например, от конкретного применения, для которого проводится лечение, способа введения соединения, здоровья и состояния пациента и заключения лечащего врача. Доля или концентрация соединения по изобретению в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая дозировку, химические характеристики (например, гидрофобность) и путь введения.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим наполнителем с образованием твердой предварительно составленной композиции, содержащей гомогенную смесь соединения по настоящему изобретению. Когда указывают, что эти предварительные композиции гомогенные, понимают, что активный ингредиент, как правило, дисперги-

рован равномерно по всей композиции, так что композицию легко можно разделить на равно эффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, драже и капсулы. Этот твердый предварительный состав затем подразделяют на стандартные лекарственные формы описанного выше типа, содержащие от, например, приблизительно 0,1 до приблизительно 1000 мг активного ингредиента по настоящему изобретению.

Таблетки или пилюли по настоящему изобретению могут быть покрыты оболочкой или составлены иным образом для получения лекарственной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или драже может содержать внутренний компонент дозировки и внешний компонент дозировки, причем последний находится в форме оболочки для первого. Два компонента могут разделяться энтеросолюбильным слоем, который препятствует разложению в желудке и позволяет внутреннему компоненту в неизменном виде попасть в двенадцатиперстную кишку или высвободиться отсрочено. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий можно использовать различные вещества, такие как вещества включают ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими веществами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые могут быть включены соединения и композиции по настоящему изобретению для перорального или инъекционного введения, включают водные растворы, сиропы с подходящим вкусом, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии пищевых масел, таких как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические несущие среды.

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

Композиции, вводимые пациенту, могут находиться в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методами стерилизации или могут быть стерильно отфильтрованы. Водные растворы могут быть упакованы для применения как есть или лиофилизированы, причем лиофилизированный состав объединяют со стерильным водным носителем перед введением. рН составов соединений обычно составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что использование некоторых из вышеупомянутых наполнителей, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Наборы.

Настоящее изобретение также включает полезные фармацевтические наборы, которые включают один или более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество соединения, или любой из его вариантов осуществления. Такие наборы могут дополнительно включать один или несколько различных традиционных фармацевтических компонентов набора, таких как, например, контейнеры с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., как будет очевидно специалистам в данной области техники. В набор также могут быть включены инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количества вводимых компонентов, руководства по применению и/или руководства по смешиванию компонентов.

Примеры

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

Пример А. Анализ киназы JAK *in vitro*.

Ингибиторы пути JAK1, которые можно использовать для лечения заболеваний или нарушений, связанных с цитокинами, тестируют на ингибирующую активность JAK-мишеней согласно следующему анализу *in vitro*, описанному в Park et al., *Analytical Biochemistry* 1999, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 человека (а.к. 837-1142), JAK2 (а.к. 828-1132) и JAK3 (а.к. 781-1124) с N-концевой меткой His экспрессируют с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищают. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид детектировали с помощью гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). IC₅₀ соединений измеряли для каждой киназы в реакциях объемом 40 мкл, содержащих фермент, АТФ и 500 нМ пептид в 50 мМ Трис (рН 7,8) буфере с 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT и 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. Для измерений IC₅₀ 1 мМ концентрация АТФ в реакциях составляет 1 мМ. Реакции проводили при комнатной температуре в течение 1 часа, а затем останавливали с помощью 20 мкл 45 мМ ЭДТК, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс).μ Связывание с антителом, меченным европием, происходило в течение 40 минут, и сигнал HTRF измеря-

ли на планшет-ридере Fusion (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Соединения в табл. 1 были протестированы в этом анализе, и было показано, что они имеют значения IC_{50} указанные в табл. 1.

Пример В: Приготовление композиций с замедленным высвобождением соединения 1

Таблетки с замедленным высвобождением, содержащие соединение 1, были приготовлены со вспомогательными веществами в количествах, указанных в таблицах ниже. Протокол А использовали для таблеток SR1, протокол В использовали для таблеток SR2, протокол С использовали для таблеток SR3 и таблеток SR на 25 мг, а протокол D использовали для таблеток SR4. Эти процедуры раскрыты в патентной публикации США № 2015/0065484, которая относится к лекарственным формам с замедленным высвобождением соединения 1.

Протокол А:

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

Стадия 2. Переносят просеянный материал из стадии 1 в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 3. Добавляют смесь, полученную на стадии 2, в подходящий гранулятор и перемешивают.

Стадия 4. Добавляют очищенную воду при перемешивании.

Стадия 5. Переносят гранулы, полученные на стадии 4, в подходящую сушильную установку и сушат, пока ПМВ не составит менее 3%.

Стадия 6. Измельчают гранулы, полученные на стадии 5.

Стадия 7. Смешивают просеянный стеарат магния с гранулами, полученными на стадии 6, в подходящем смесителе.

Стадия 8. Полученную на стадии 7 смесь прессуют на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол В:

Стадия 1. Отдельно просеивают соль адипиновой кислоты соединения формулы I, микрокристаллическую целлюлозу, гипромеллозу и прежелатинизированный крахмал.

Стадия 2. Переносят просеянный материал из стадии 1 в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 3. Переносят смесь, полученную на стадии 2, в подходящий гранулятор и перемешивают.

Стадия 4. Добавляют очищенную воду при перемешивании.

Стадия 5. Переносят гранулы, полученные на стадии 4, в подходящую сушильную установку и высушивают, пока ПМВ не составит менее 3%.

Стадия 6. Просеивают гранулы, полученные на стадии 5.

Стадия 7. Отдельно просеивают роуох, бутилированный гидрокситолуол и коллоидный диоксид кремния.

Стадия 8. Переносят гранулы, полученные на стадии 6, и материал, полученный на стадии 7, в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 9. Добавляют просеянный стеарат магния к материалу, полученному на стадии 8, и продолжают смешивание.

Стадия 10. Полученную на стадии 9 смесь прессуют на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол С:

Стадия 1. Отдельно просеивают моногидрат лактозы, соль адипиновой кислоты соединения формулы I, микрокристаллическую целлюлозу и гипромеллозу через подходящее сито.

Стадия 2. Переносят просеянный материал из стадии 1 в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 3. Переносят смесь, полученную на стадии 2, в подходящий гранулятор и перемешивают.

Стадия 4. Добавляют очищенную воду при перемешивании.

Стадия 5. Просеивают влажные гранулы через подходящее сито.

Стадия 6. Переносят гранулы, полученные на стадии 5, в подходящую сушильную установку и высушивают, пока ПМВ не составит менее 3%.

Стадия 7. Измельчают гранулы, полученные на стадии 6.

Стадия 8. Смешивают просеянный стеарат магния с гранулами, полученными на стадии 7, в подходящем смесителе.

Стадия 9. Полученную на стадии 8 смесь прессуют на подходящем роторном таблеточном прессе.

Протокол D:

Стадия 1. Отдельно просеивают прежелатинизированный крахмал, соль адипиновой кислоты соединения формулы I, гипромеллозу и часть необходимой микрокристаллической целлюлозы через подходящее сито.

Стадия 2. Переносят просеянный материал из стадии 1 в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 3. Переносят смесь, полученную на стадии 2, в подходящий гранулятор и перемешивают.

Стадия 4. Добавляют очищенную воду при перемешивании.

Стадия 5. Просеивают влажные гранулы через подходящее сито.

Стадия 6. Переносят гранулы, полученные на стадии 5, в подходящую сушильную установку и высушивают, пока ПМВ не составит менее 3%.

Стадия 7. Измельчают гранулы, полученные на стадии 6.

Стадия 8. Просеивают оставшуюся часть микрокристаллической целлюлозы и половину гидрокар-

боната натрия.

Стадия 9. Переносят измельченные гранулы, полученные на стадии 7, и просеянный материал, полученный на стадии 8, в подходящий смеситель и перемешивают.

Стадия 10. Просеивают оставшуюся часть гидрокарбоната натрия и смешивают со смесью, полученную на стадии 9.

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

Стадия 12. Полученную на стадии 11 смесь прессуют на подходящем роторном таблеточном прессе.

SR1: Состав 100 мг таблеток с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетка)	Состав (% масс.)
Соль адипиновой кислоты Соединения 1 ^a	Активный ингредиент	126,42 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	60,0	10,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	60,0	10,0
Гипромеллоза (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	60,0	10,0
Моногидрат лактозы	Наполнитель	290,58	48,4
Стеарат магния ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Очищенная вода ^c	Гранулирующая жидкость	q. s.	--
Всего		600,0	100

a) Коэффициент перевода соли адипата в свободное основание составляет 0,7911.

b) Добавлено после гранулирования.

c) Удалено во время обработки.

SR2: Состав 100 мг таблеток с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетка)	Состав (% масс.)
Соль адипиновой кислоты Соединения 1 ^a	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	180,0	30,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Связующее вещество	6,0	1,0
Оксид полиэтилена (Polyox WRS 1105) ^b	Контроль высвобождения	180,0	30,0
Прежелатинизированный крахмал	Наполнитель	101,6	16,9
Коллоидный диоксид кремния ^b	Глидант	3,0	0,5
Бутилированный гидрокситолуол ^b	Антиоксидант	0,012	0,002
Стеарат магния ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Очищенная вода ^c	Гранулирующая жидкость	q.s.	--
Всего		600,0	100,0

а) Коэффициент перевода соли адипата в свободное основание составляет 0,7911.

b) Добавлено после гранулирования.

c) Удалено во время обработки.

SR3: (100 мг): Состав 100 мг таблеток с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетка)	Состав (% масс.)
Соль адипиновой кислоты Соединения 1 ^a	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	108,0	18,0
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	42,0	7,0
Гипромеллоза (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	30,0	5,0
Моногидрат лактозы	Наполнитель	290,6	48,4
Стеарат магния ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Очищенная вода ^c	Гранулирующая жидкость	q.s.	--
Всего		600,0	100,0

а) Коэффициент перевода соли адипата в свободное основание составляет 0,7911.

b) Добавлено после гранулирования.

c) Удалено во время обработки.

SR4: Состав 100 мг таблеток с замедленным высвобождением.

Вспомогательное вещество	Функция	Масса (мг/таблетка)	Состав (% масс.)
Соль адипиновой кислоты Соединения 1 ^a	Активный ингредиент	126,4 ^a	21,1
Микрокристаллическая целлюлоза ^d	Наполнитель	104,6	17,4
Гипромеллоза (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	210,0	35,0
Прежелатинизированный крахмал	Наполнитель	60,0	10,0

Гидрокарбонат натрия ^b	Вспомогательное вещество для желудочной плавучести	96,0	16,0
Стеарат магния ^b	Смазывающее вещество	3,0	0,5
Очищенная вода ^c	Гранулирующая жидкость	q.s.	--
Всего		600,0	100,0

a) Коэффициент перевода соли адипата в свободное основание составляет 0,7911.

b) Добавлено после гранулирования.

c) Удалено во время обработки.

d) Частично добавлено до и частично добавлено после гранулирования.

25 мг SR: Состав 25 мг таблеток с замедленным высвобождением.

Компонент	Функция	Масса (мг/таблетка)	Состав (% масс.)
Соль адипиновой кислоты соединения Формулы I ^a	Активный ингредиент	31,6 ^a	12,6
Микрокристаллическая целлюлоза	Наполнитель	105,0	42,0
Гипромеллоза, (Methocel K100LV)	Контроль высвобождения	25,0	10,0
Гипромеллоза, (Methocel K4M)	Контроль высвобождения	25,0	10,0
Моногидрат лактозы	Наполнитель	62,15	24,9
Стеарат магния ^b	Смазывающее вещество	1,25	0,5
Очищенная вода ^c	Гранулирующая жидкость	q.s.	--
Всего		250	100,0

a) Коэффициент перевода соли адипата в свободное основание составляет 0,7911.

b) Добавлено после гранулирования.

c) Удалено во время обработки.

Пример С: Биоанализ соединения 1 в плазме и кале.

Для понимания функциональной активности ингибирования JAK1 можно использовать два разных анализа. Первый с использованием стандартного клеточного анализа, и второй с использованием цельной крови. Первый проводится с использованием мононуклеарных клеток периферической крови человека (МКПК); вкратце, клетки стимулируются IL-6 для увеличения активности JAK1, которая измеряется с помощью измерения уровня фосфорилированного STAT3. По мере добавления возрастающих концентраций соединения 1 наблюдается соответствующее снижение уровня фосфорилированного STAT3. Этот

анализ подходит для оценки активности JAK1 и/или ингибирующей активности соединения 1 в образцах, лишенных белков сыворотки, например, в образцах кала.

Для оценки ингибирующей активности соединения 1 в среде с высоким содержанием сыворотки, например, в плазме или цельной крови, анализ проводят с использованием цельной крови; вкратце, образец цельной крови стимулируют IL-6 и определяют уровни фосфорилированного STAT3. Этот анализ можно проводить либо *in vitro* (образцы крови человека содержат соединение 1), либо *ex vivo* (образцы цельной крови, собранные у людей, которым вводят дозу соединения 1).

I. Соединение 1 в плазме человека.

Способ, используемый для анализа соединения 1 в плазме человека, прошел валидацию. Вкратце, 50 мкл образца плазмы человека помещали в 96-луночный планшет. После добавления аликвоты 50 мкл внутреннего стандарта (растворенного в смеси ацетонитрил: вода 50:50) добавляли аликвоту 100 мкл 0,1 М NaHCO₃. Затем добавляли 800 мкл метил-трет-бутилового эфира (MtBE), образцы накрывали и встряхивали. После центрифугирования 700 мкл слоя MtBE переносили в чистый 96-луночный планшет. Затем образцы сушили в атмосфере азота при около 50°C. Затем к каждому образцу добавляли аликвоту 250 мкл раствора для восстановления (ацетонитрил:вода, 50:50, об./об.). Планшет помещали в лоток автоматического пробоотборника и вводили в ЖХ-МС/МС для анализа. Анализ ЖХ-МС/МС выполняли с помощью масс-спектрометра AB Sciex 4000 или Sciex 6500 QTRAP, соединенного с насосом ВЭЖХ и автоматическим пробоотборником. Хроматографическое разделение достигали на колонке для ВЭЖХ Waters T3 (50 мм × 2,1 мм) при изократическом элюировании. Масс-спектрометр работал в режиме положительной ИЭР. Переход для мониторинга множественных реакций (MRM): m/z 554,1→186,0 для соединения 1 и m/z 558,1→190,0 для внутреннего стандарта. Интегрирование площадей пиков выполняли с помощью программного обеспечения Analyst, а концентрации рассчитывали в Watson LIMS. Концентрации рассчитывали с использованием 10 уровней концентрации в диапазоне от 5 нМ до 5000 нМ с взвешенной линейной регрессией по следующей формуле:

$$y=ax+b \text{ (весовой коэффициент}=1/x^2),$$

где: x=концентрация соединения 1 в нМ; y=отношение площади пика; a=наклон; и b=точка пересечения.

Нижний предел количественного определения составлял 5 нМ, а калибровочная кривая находилась в диапазоне от 5 нМ до 5000 нМ для соединения 1 в плазме человека.

II. Соединение 1 в кале человека.

Способ, используемый для анализа соединения 1 в кале человека, является квалифицированным способом. Образцы кала человека собирали в гомогенате 1:1 в клиническом центре [1 часть воды (мл):1 часть кала (г)]. Перед анализом образца к гомогенату образца добавляли дополнительное количество воды для достижения конечного соотношения кала и воды 1:19 в качестве калибровочного стандарта и образцов для QC. Конечные гомогенаты обрабатывали и анализировали с помощью калибровочных стандартов и образцов контроля качества.

Вкратце, для анализа гомогената человека 100 мкл гомогената кала (холостые, контрольные и исследуемые образцы) помещали в пробирку. После добавления и перемешивания аликвоты 20 мкл внутреннего стандарта добавляли аликвоту 200 мкл 0,1 М NaHCO₃ и встряхивали. Затем добавляли 2 мл MtBE и образцы встряхивали. После центрифугирования слой MtBE переносили в чистую пробирку. Затем образцы сушили в атмосфере азота при около 40°C. Затем к каждому образцу добавляют аликвоту 1 мл раствора для восстановления (ацетонитрил:вода, 50:50, об./об.) и встряхивали. Затем 10 мкл образца разбавляли 3 мл восстанавливающего раствора в чистой пробирке. Образец переносили во флакон автоматического пробоотборника и 10 мкл вводили в ЖХ-МС/МС для анализа. Анализ ЖХ-МС/МС выполняли с помощью масс-спектрометра AB Sciex API 4000 или API 4000 QTrap, соединенного с насосом ВЭЖХ и автоматическим пробоотборником. Хроматографическое разделение достигали на колонке для ВЭЖХ Agilent Eclipse Plus C8 50×4,6 мм, 5 мкм, с градиентным элюированием. Масс-спектрометр работал в режиме положительной ИЭР. Переход для MRM: m/z 554,3→186,2 для соединения 1 и m/z 558,4→190,2 для внутреннего стандарта. Интегрирование площадей пиков выполняли с помощью программного обеспечения Analyst, а концентрации рассчитывали в Watson LIMS. Концентрации гомогенатов кала человека рассчитывали с использованием 8 уровней концентрации в диапазоне от 1 мкг/г до 300 мкг/г (от 1,8 μМ до 542 μМ) с взвешенной линейной регрессией по следующей формуле:

$$y=ax+b \text{ (весовой коэффициент}=1/x^2),$$

где x=концентрация соединения 1 в мкг/г в гомогенатах кала человека, y=отношение площади пика, a=наклон и b=точка пересечения.

Пример 1: Стратегия для схемы введения соединения 1, селективного ингибитора JAK1, для лечения язвенного колита.

Соединение 1 представляет собой ингибитор JAK1, который в настоящее время разрабатывается для лечения онкологических и аутоиммунных заболеваний. Были проведены клинические исследования и исследования *ex vivo*, чтобы понять расположение толстой кишки, которое важно при язвенном колите (ЯК).

Способы: Концентрации Соединения 1 в плазме и кале (заменитель толстой кишки) определяли после однократного перорального приема 25 мг дозы с замедленным высвобождением (см., например, пример В, композиция SR 25 мг). Концентрации соединения 1 в плазме после однократной дозы 100 мг также определяли в отдельном исследовании (см., например, пример С для измерения концентраций соединения 1 в плазме). Исследование *ex vivo*: Образцы ткани толстой кишки от здоровых субъектов и субъектов с ЯК (2/группу) помещали в вертикальную диффузионную камеру Уссинга. [¹⁴C]Соединение 1 нанесли на апикальную сторону камеры при 100 и 1000 нМ и инкубировали в течение 1 часа. Образцы собирали с донорной стороны и с реципиентной стороны для определения концентрации соединения 1. Ткань толстой кишки быстро замораживали для количественной авторадиографии.

Результаты: соединение 1 доставляли в виде состава с замедленным высвобождением, при этом 27,1% дозы выводилось в виде неизмененного соединения 1 с калом (см., например, пример С для измерения концентраций соединения 1 в кале). После однократного приема 25 мг соединения 1 у восьми из двенадцати пациентов наблюдали максимальные концентрации в кале, которые превышали *in vitro* IC₅₀ для ингибирования JAK1 (т.е. 58 нМ) (фиг. 1 и 2). Максимальное среднее ФК значение для кала (СО), СГ=93,4 нМ (41,4 нМ), 85,5 нМ, где ФК является фармакокинетическим значением, СО-стандартным отклонением, и СГ-средним геометрическим. Максимальная концентрация в кале была взята непосредственно из наблюдаемых данных для кала, например, концентрации в кале, собранном за 0-24 часа.

Системные концентрации были ниже IC₅₀ для ингибирования JAK1 в цельной крови для любой дозы, средняя (СО) C_{max}=18,9 (7,46) нМ для 25 мг и 84,4 (45,8) нМ для 100 мг (фиг. 1 и таблица ниже).

Переменная	N	Среднее		Среднее геометрическое
		значение	СО	
AUC _{всe} (нМ.ч)	12	110	36,6	105
AUC _{0-inf} (нМ.ч)	12	117	38,7	111
Cl/F (л/час)	12	424	131	405
C _{max} (нМ)	12	18,9	7,46	17,2
Период полураспада или t _{1/2} (ч)	12	12,3	11,0	9,04
V _z /F (л)	12	7360	6880	5290
T _{max} (ч) (медиана, мин, макс)	12	2	1	4

Использовали стандартные некомпартментные фармакокинетические способы для анализа концентраций соединения 1 в плазме. C_{max} (максимальная концентрация в плазме) и T_{max} (время, при котором достигается максимальная концентрация в плазме) были взяты непосредственно из данных наблюдаемой концентрации в плазме. Константа скорости распределения (λ_z) в конечной фазе оценивалась с использованием лог-линейной регрессии данных о концентрации в конечной фазе распределения, и t_{1/2} оценивалась как ln(2)/ λ_z . AUC_{всe} определяется как площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени от момента времени 0 до последнего наблюдения, рассчитываемой с использованием линейного правила трапеций для возрастающих концентраций и логарифмического правила трапеций для уменьшения концентраций. AUC_{0-inf} рассчитывали как AUC_{0-t}+C_t λ_z , где AUC_{0-t} определяли как площадь под кривой зависимости концентрации в плазме от времени от момента времени 0 до последнего наблюдения (также рассчитывали с использованием линейно-логарифмического метода трапеций), и C_t представляет собой последнюю измеряемую концентрацию. Cl/F представляет собой кажущийся клиренс и рассчитывали как доза/AUC_{0-inf}. Vz/F представляет собой кажущийся объем распределения на основе конечной фазы, рассчитанный как доза/(λ_z *AUC_{0-inf}).

Ex vivo, с реципиентной стороны не было обнаружено радиоактивности, связанной с соединением 1. Соединение 1 проникало в слой слизистой оболочки и, в меньшей степени, в подслизистый слой в зависимости от концентрации (см. пример 2).

Результаты: Диапазон доз от около 25 мг до около 100 мг BID (два раза в сутки) или от около 25 мг до около 200 мг QD (один раз в сутки) рекомендуется для исследования у пациентов с ЯК, чтобы максимизировать воздействие на толстую кишку при минимизации возможности системного воздействия.

Пример 2: Анализ проникновения в ткани и распределения [¹⁴C] соединения 1 в толстой кишке здоровых и с язвенным колитом субъектов с помощью микроавторадиографии (MARG) и количественной авторадиолюминографии (QARL).

1. Цели.

Цели этого исследования состояли в том, чтобы определить тканевое распределение радиоактивности, связанной с [¹⁴C] соединением 1, в образцах толстой кишки, взятых у здоровых людей с язвенным колитом (ЯК), с использованием количественной авторадиолюминографии (QARL) и микроавторадио-

графии (MARG).

II. Материалы и способы.

A. Отправка образца.

Небольшой кусочек двух образцов толстой кишки от двух здоровых субъектов и субъектов с ЯК (всего восемь образцов) был предоставлен Analytical Biological Services Inc. (Вильмингтон, Дэлавер) и его хранили при -70°C до использования.

B. Составление дозы.

Составы доз, то есть 100 нМ и 1000 нМ, были приготовлены в день эксперимента для всех тканей в исследовании. [^{14}C] соединение 1 (1,06 мг) растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО; 1,514 мл) с получением 1 мМ исходного раствора (0,7 мг/мл). Исходный раствор (20 мкл) разбавляли бикарбонатным буфером Кребса-Рингера (KRB) (20 мл) до конечной концентрации 1000 нМ. Состав дозы 1000 нМ (2 мл) разбавляли буфером KRB (18 мл) для достижения конечной концентрации 100 нМ. pH обоих составов доз составлял около 5,5.

Состав дозы анализировали перед инкубацией, чтобы определить концентрацию радиоактивности и однородность. Аликвоту по 100 мкл отбирали из верхней, средней и нижней части контейнера, каждую взвешивали и разбавляли до 10 мл ДМСО для анализа радиоактивности. Аликвоты в трипликатах каждого разведения по 10 мл анализировали с помощью жидкостного сцинтилляционного счета (LSC).

C. Инкубация и сбор образцов.

Исследования проницаемости кишечной ткани выполняли с использованием системы вертикальных диффузионных камер Уссинга (Harvard Apparatus, Холлистон, Массачусетс) для здоровых тканей. Замороженные ткани оттаивали до температуры окружающей среды и промывали предварительно нагретым буфером KRB, используемым для приготовления дозы, перед тем, как осторожно поместить в устройство. Проникновение осуществляли от слизистой оболочки к серозной при 37°C в течение 1 часа с добавлением тестируемого образца в буфере KRB со стороны слизистой оболочки. Реципиентная сторона камеры Уссинга, содержащая пустой буфер KRB, перемешивалась пузырьками воздуха с помощью аэратора. Из-за ограниченной доступности образцов ткани ЯК были закреплены (слизистой оболочкой вверх) на одном конце полипропиленовой пробирки с обоими открытыми концами, а серозную сторону помещали в пустой буфер KRB во флаконе с мешалкой. KRB, содержащий исследуемый продукт, добавляли в пробирку, и, таким образом, слизистая сторона ткани подвергалась воздействию тестируемого вещества во время инкубации. После 1 часа инкубации при 37°C образцы (100-500 мкл) были взяты как с донорной стороны, так и с реципиентной стороны, а затем перенесены в пробирку на 1,5 мл для оценки проницаемости. Образцы ткани осторожно извлекали из камеры (здоровая ткань) или пробирки (ткань ЯК) и мгновенно замораживали в охлаждаемом жидким азотом изопентане в течение около 30 секунд. Отдельные замороженные образцы здоровой кишки и образцы толстой кишки с ЯК были залиты в среде Cryogel, причем образцы здоровых тканей большего размера были разделены 1/2 для первичного и вторичного образцов.

D. Анализ проб.

[^{14}C] Концентрации соединения 1 как на донорной, так и на реципиентной сторонах анализировали с помощью LSC. Нижний предел количественного определения (LLOQ) был определен как 2-кратный фон (21 dpm).

Образцы ткани были установлены для разрезания таким образом, чтобы можно было разрезать ткани в поперечном сечении, от слизистой оболочки до серозных слоев, представленных в каждом сечении.

Образцы подвергали криосрезу при 40 мкм (для QARL) и 6-8 мкм (для MARG) при около- -20°C и собирали на предметные стекла микроскопа путем размораживания с последующей термической фиксацией на нагревателе для предметных стекол. Приблизительно 3 среза ткани были получены из каждого образца для QARL. После QARL-срезов для MARG было получено около 10 наборов с 3 срезами/слайд.

E. QARL.

Слайды с 40 мкм срезами были закреплены на картонной основе, покрыты пластиковой пленкой и подвергнуты совместному воздействию фосфорно-визуализационных экранов вместе с [^{14}C] калибровочными стандартами крови (10 концентраций в трипликатах, которые варьировались от 0,00030 мкКи/г до 7,72 мкКи/грамм). Планшет для визуализации, срезы и калибровочные стандарты были помещены в светонепроницаемую кассету для экспонирования в свинцовом сейфе с медным покрытием для 4-дневной выдержки при комнатной температуре. Пластины для визуализации сканировали с использованием системы получения изображений Turphoon FLA 9500 (GE Healthcare, Саннивейл, Калифорния), и полученное изображение сохраняли на отдельном компьютерном сервере QPS. Изображения, полученные с помощью калибровочных стандартов крови с добавлением [^{14}C], использовали для построения калибровочной кривой изображения с использованием программного обеспечения для анализа изображений (Microcomputer Imaging Device (система анализа изображений MCID, Interfocus Imaging, Кембридж, Линтон, Великобритания)).

F. MARG.

Все срезы тканей размораживали и помещали на подкладные стеклянные предметные стекла, кото-

рые были предварительно покрыты фотографической эмульсией в темноте, и закреплены нагреванием на нагревателе для предметных стекол. Затем предметные стекла помещали в черные коробки для предметных стекол, содержащие осушитель. Коробку для слайдов заклеивали черной изоляционной лентой и помещали в контейнер покрытый свинцом при 4°C. Слайды подвергали воздействию фотоэмульсии в течение 72 часов, 1 недели, 10 дней, 2 недель, 4 недель, 6 недель и 8 недель. Слайды проявляли с помощью проявителя Kodak D19 Replacement и фиксатора Kodak. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Исследование и цифровые микрофотографии репрезентативных результатов были получены с использованием цифровой камеры, установленной на микроскопе Olympus BX51. Местоположение радиоактивности визуализируется на предметных стеклах в виде небольших черных зерен серебряного осадка, образовавшегося из эмульсии, подвергшейся воздействию радиоактивного исследуемого изделия. Наблюдения и выводы основаны на оценке всех образцов. Выводы относительно количественных концентраций в тканях не могут быть сделаны с использованием изображений MARG.

Г. Анализ данных.

Все кривые отклика, определенные для калибровки анализа изображений, были построены с использованием взвешенного полиномиального линейного уравнения 1 степени (1/MDC/мм²). Числовая оценка качества подгонки была дана относительной ошибкой, где абсолютное значение для относительной ошибки каждого калибровочного стандарта было принято ≤0,250.

Расчет стандартной кривой:

Отклик (MDC/мм²)=a₁ × концентрация (стандарты плотности в мкКи/г)+a₀,

где:

Стандарты плотности=концентрация в мкКи/г.

MDC/мм²=молекулярно-динамические числа/площадь ткани a₁=наклон.

a₀=точка пересечения с осью Y.

Относительная ошибка для каждого стандарта рассчитывалась с использованием стандартной кривой в соответствии с:

Относительная ошибка

$$= \frac{\text{номинальная концентрация} \left(\frac{\text{мкКи}}{\text{г}} \right) - \text{рассчитанная концентрация} \left(\frac{\text{мкКи}}{\text{г}} \right)}{\text{номинальная концентрация} \left(\frac{\text{мкКи}}{\text{г}} \right)}$$

LLOQ был определен как 3-кратный средний фон для каждой панели. Были отобраны десять целевых регионов, чтобы определить среднее значение для каждой панели.

LLOQ для здоровых тканей=3×(0,00111)=0,0033 мкКи/г LLOQ для тканей ЯК=3×(0,00106)=0,0032 мкКи/г.

Данные о концентрации в тканях были получены с использованием метода анализа изображений профиля.

Визуализация профиля включала сбор данных о концентрации с регулярными интервалами (50 мкм) по изображению каждого участка с использованием области отбора проб ленточного типа, предоставляемой с помощью функции "профиль" MCID. Данные о концентрации получали непрерывно через сечение и они соответствовали помеченным слоям каждого образца.

III. Результаты.

А. Анализ состава дозы.

Концентрации радиоактивности в составах дозы составляли в среднем 4,53 и 48,7 нКи/мл (80,7 и 868 нМ) для аликвот перед дозированием в день дозирования. Коэффициент вариации для анализа трех аликвот составов, каждая из которых анализировалась в трипликатах, составлял 1,5 и 0,7%, соответственно, что указывает на то, что составы были гомогенными (таблица, ниже).

Уровень дозы^b.

Ткань а	Группа	Номинальное		Измерено		% КВ
		нМ	нКи/мл	нМ	нКи/мл	
Здоровые	1	100	5,61	80,7	4,53	1,5
	3	1000	56,1	868	48,7	0,7
Язвенный колит	2	100	5,61	80,7	4,53	1,5
	4	1000	56,1	868	48,7	0,7

а) Всего было использовано восемь образцов толстой кишки (два образца на группу).

б) Уровень дозы был скорректирован с использованием поправочного коэффициента (1,264; об-

щее/свободное основание).

Радиочистота составов до и после введения дозы составляла >96%.

В. Исследование проницаемости.

Результаты проницаемости [^{14}C] соединения 1 в толстую кишку здоровых субъектов и субъектов с ЯК после 1 ч инкубации перечислены в таблице ниже (где INCB039110 представляет собой соединение 1).

Проницаемость [^{14}C] INCB039110 в толстой кишке от здоровых и с язвенным колитом субъектов после 1 ч инкубирования.

Ткань	Группа	Субъект	Образец	р.в м. в аликвоте образца ^d е, f	Концентрация [^{14}C]INCB039110 ^f		% дозы композиции	
					нМ	нКи/мл		
Здоровые ^a	1	1	A	462	74,2	4,16	91,8	
			B	0	0	0		
		2	A	473	75,9	4,26	94,0	
			B	0	0	0		
	3	1	A	5029	807	45,3	93,1	
			B	0	0	0		
		2	A	4909	788	44,2	90,8	
			B	0	0	0		
	ЯК ^{b, c}	2	1	A	388	62,4	3,50	77,3
				B	0	0	0	
		4	1	A	4346	699	39,2	80,5
				B	0	0	0	

A: Апикальная сторона (мукоза, донорное отделение; KRB буфер с тестируемым соединением);

B: базолатеральная сторона (сероза, реципиентное отделение: только KRB буфер); ЯК: язвенный колит.

^a Для инкубирования использовали вертикальную камерную систему диффузии Уссинга.

^b Для инкубирования использовали полипропиленовую трубку с обоими обрезанными открытыми концами.

^c Часть ткани субъекта 2 в группе 2 была повреждена при попытке надежно закрыть один конец полипропиленовой трубки тканью, что могло быть связано с потерей растяжимости из-за состояния ЯК. Протекание было найдено субъекта 2 в группе 4 после 1 ч инкубирования.

^d Объем образца составлял 0,05 мл.

^e От всех представленных данных был отнят фоновый уровень (21 р. в м.).

^f Все представленные данные представляют собой средние значения дубликатов.

Внутренняя часть ткани субъекта 2 в группе 2 была повреждена при попытке надежно закрыть один конец полипропиленовой трубки тканью, что могло быть связано с потерей растяжимости из-за состояния ЯК. Хотя результат проникновения субъекта 2 в группе 4 не был определен из-за утечки в течение 1 ч инкубации, этот образец ткани был использован для QARL и MARG. Все концентрации [^{14}C] соединения 1 на базолатеральной стороне (реципиентное отделение) были ниже LLOQ.

С. Авторадиографический анализ.

QARL.

Сводные данные профиля концентрации отдельных образцов по слоям образцов представлены на фиг. 3 и перечислены в таблице ниже (где INCB039110 представляет собой соединение 1).

Концентрации [^{14}C] INCB039110 в толстой кишке от здоровых и с язвенным колитом субъектов после 1 ч инкубирования.

Ткань	Группа	Субъект	Секция толстой кишки	Концентрация [¹⁴ C]INCB039110 мкКи/г
Здоровые ^a	1	1	Мукоза	0,173
			Мышечная	0,113
			Сероза	НУО
		2	Мукоза	0,155
			Мышечная	0,090
			Сероза	0,059
	3	1	Мукоза	1,802
			Мышечная	0,471
			Сероза	0,122
		2	Мукоза	2,359
			Мышечная	1,062
			Сероза	0,226
ЯК ^b	2	1	Мукоза	0,491
			Мышечная	0,143
			Сероза	0,062
	4	1	Мукоза	2,059
			Мышечная	0,471
			Сероза	0,488
		2	Мукоза	0,148
			Мышечная	НУО
			Сероза	НУО

НУО: ниже уровня определения (<0,0033 мкКи/г для здоровых тканей и <0,0032 мкКи/г для ЯК тканей); ЯК: язвенный колит.

^a Для инкубирования использовали вертикальную камерную систему диффузии Уссинга.

^b Для инкубирования использовали полипропиленовую трубку с обоими обрезанными открытыми концами.

Собранные пики отражают изменчивость слоев ткани толстой кишки. [¹⁴C] соединение 1 в основном распределялось в слое слизистой оболочки, но обнаруживалось через слой подслизистой оболочки (5 из 7 тканей).

MARG.

Никакой реакции MARG не наблюдалось в первых сериях слайдов (образцы после 72 часа), на последующих слайдах наблюдалась реакция, которая выходила на плато через 4-8 недель. Относительные концентрации радиоактивности, производной от лекарственного средства, были единообразными по слоям ткани между образцами, концентрациями лекарственного средства и здоровым состоянием и ЯК состоянием. Самые высокие концентрации присутствовали в ворсинах и связанных крипах во всех образцах, а затем в подслизистом слое. В мышечном слое практически не наблюдалось радиоактивности. Снаружи мышечный слой находился на заднем плане.

Пример 3: IL-6 опосредованное фосфорилирование STAT3 и JAK1.

Интерлейкин-6 (IL-6) передает сигналы через общий рецептор gp130 и специфический IL-6R α ко-рецептор, чтобы активировать Janus киназный (JAK)-передатчик сигнала и активатор транскрипции (STAT) сигнального пути (Heinrich et al. The Biochemical journal. 2003;374:1-20). Биопсия язвенного колита определила IL-6 как преобладающий цитокин в воспаленных участках кишечника, и его концентрация коррелирует с эндоскопической оценкой Майо (см. Bernado et al., 2012). Аберрантная активация воспалительного пути IL-6/STAT3 была описана в мононуклеарных клетках периферической крови (МКПК)

пациентов с ревматоидным артритом (РА) (Isomäki, P et al. *Rheumatology*, Volume 54, Issue 6, 1 June 2015, 1103-1113) и терапия анти-IL-6 демонстрирует значительную клиническую эффективность (*Expert Rev Clin Immunol.* 2017 Jun;13(6): 535-551; *J Dermatolog Treat.* 2018 Sep;29(6): 569-578). Патогенез бляшечного псориаза (Ps) обусловлен IL-23-опосредованным Thelper 17 (Th17)/IL-17 (ссылки) воспалением. IL-6 играет решающую роль в стимулировании STAT3-зависимой индукции рецептора IL-23, который, в свою очередь, необходим для обеспечения полных эффекторных функций Th17-клеток (Zhou et al. *Nat. Immunol.* 2007;8:967-974; Hirota et al. *J. Exp. Med.* 2007;204: 41-47; Calautti et al. *Int J Mol Sci.* 2018 Jan; 19(1): 171). Ингибирование передачи сигнала через путь JAK/STAT можно измерить косвенно, в анализах, основанных на клетках, управляемых цитокинами. Оценка уровней фосфорилированного STAT измеряется в ответ на стимуляцию JAK1, часто рекомбинантным человеческим IL-6.

Системные эффекты соединения 1 были изучены при аутоиммунных заболеваниях РА и Ps. В обоих исследованиях измеряли ингибирование фосфорилирования STAT3 после стимуляции IL-6, маркером ингибирования JAK1, и TPO, маркером ингибирования JAK2.

У пациентов с Ps изучались дозы 100 мг один раз в сутки, 200 мг один раз в сутки, 200 мг два раза в сутки и 600 мг один раз в сутки. Имело место зависимое от концентрации соединения 1 ингибирование pSTAT3 в ответ на стимуляцию IL-6 *ex vivo*. Однако в ответ на TPO не наблюдалось значительного ингибирования pSTAT3 при дозах 100 мг один раз в сутки, 200 мг один раз в сутки и 200 мг два раза в сутки (фиг. 4). Также наблюдался дозозависимый ответ в среднем изменении основного показателя эффективности по сравнению с исходным sPGA на 28 день (см. таблицу ниже).

Изменение общей статической оценки врача по сравнению с исходным уровнем на 28 день у пациентов с бляшечным псориазом (наблюдаемые случаи в популяции mITT)
(где INCB039110 представляет собой соединение 1)

Переменная	Плацебо (n=12)	INCB039110			
		100 мг один раз в сутки (n=9)	200 мг один раз в сутки (n=9)	200 мг два раза в сутки (n=9)	600 мг два раза в сутки (n=9)
Оценка sPGA на исходном уровне ^a					
n	12	9	9	9	11
Среднее (CO)	3,4 (0,51)	3,2 (0,44)	3,3 (0,71)	3,1 (0,33)	3,1 (0,30)
Медиана	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
Оценка sPGA на 28 День					
n	12	9	9	9	11
Среднее (CO)	3,0 (7,4)	2,6 (1,01)	2,3 (1,00)	2,0 (1,00)	1,8 (0,98)
Медиана	3,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Процентное изменение относительно исходного уровня для оценки sPGA на 28 День на основании наблюдаемой оценки					
n	12	9	9	9	11
Среднее (CO)	-12,5 (15,69)	-22,2 (23,57)	-29,4 (31,14)	-35,2 (33,79)	-42,4 (26,21)
Медиана	0	-33,3	-33,3	-33,3	-33,3
P-значение ^b		0,270	0,118	0,0053	0,003

^a Исходным уровнем считалась последняя не пропущенная оценка sPGA до введения первой дозы исследуемого лекарственного средства.

^b На основании двухобразовых t-тестов между каждой группой лечения и плацебо; никаких поправок для множественных сравнений не проводили.

Дозы 200 мг два раза в сутки (p=0,053) и 600 мг один раз в сутки (p=0,003) продемонстрировали

клинически значимые изменения по сравнению с исходным уровнем, в то время как дозы 100 мг или 200 мг один раз в сутки не имели никакого статистического значения и статистически не отличались от плацебо ($p=0,270$, $p=0,118$, соответственно). Существует хорошая корреляция между фармакодинамическим маркером ингибирования *ex vivo* стимулированного IL-6 STAT3 и конечными точками эффективности (фиг. 5) Не было отмечено нейтропении, что согласуется с наблюдением, что не было отмечено значительного ингибирования JAK2 (как определено по ингибированию pSTAT3, стимулированному TPO) при дозах 100 мг один раз в сутки, 200 мг один раз в сутки и 200 мг два раза в сутки; считается, что нейтропения и другие цитопении являются результатом ингибирования JAK2, вызывающей миелосупрессию (Bissonnette R et al J Dermatol Treat, 2016 27(4)332-338, Mascarenhas et al. Haematologica 2017 102(2): 327-335.).

У пациентов с РА исследовались дозы 100 мг один раз в сутки и два раза в сутки, 200 мг два раза в сутки, 300 мг один раз в сутки, 400 мг два раза в сутки и 600 мг один раз в сутки, и снова наблюдалась общая тенденция дозозависимого ингибирования индуцированного IL-6 pSTAT3 (фиг. 6A и 6B). Также наблюдалась общая тенденция к увеличению индуцированного TPO ингибирования pSTAT3. Однако наибольшее ингибирование, по-видимому, наблюдалось после дозировки 200 мг два раза в сутки. Также следует отметить, что доза 100 мг один раз в сутки имела меньшее ингибирование pSTAT3, индуцированное TPO, чем плацебо. В этом исследовании было несколько случаев снижения ANC, но дозозависимой тенденции не наблюдалось. Что касается эффективности, то дозозависимая тенденция не была очевидна во всем диапазоне доз, но были показаны статистически значимые различия в ответах ACR20, ACR50 и ACR70 между соединением 1 и плацебо для группы лечения 600 мг один раз в сутки на 84 день посещения (посещение для первичной конечной точки).

Взятые в совокупности, клинические данные пациентов с РА и Ps позволяют предположить, что доза 100 мг один раз в сутки имеет минимальные системные эффекты на основе совокупных данных о безопасности, эффективности и биомаркерах. Ожидается, что суточное воздействие после 50 мг два раза в сутки будет ниже, чем 100 мг два раза в сутки, учитывая, что соединение 1 демонстрирует супралинейную ФК в отношении дозы.

Пример 4: фаза 2, двойное слепое, с подбором оптимальной дозы, плацебо-контролируемое исследование с открытым расширенным исследованием для оценки безопасности и эффективности соединения 1 при умеренном и тяжелом язвенном колите.

I. Цель.

Это исследование будет оценивать безопасность и эффективность перорального введения соединения 1 у участников с умеренно или сильно активным ЯК. Соединение 1 будет вводиться в составе SR. Биодоступность соединения 1 при пероральном введении у людей умеренная, около 30% введенной дозы выводится в неизменном виде в виде исходного соединения с калом. Подавление стимулированного IL-6 фосфорилирования STAT3 является мерой ингибирования JAK1. Ожидается, что доза 50 мг два раза в сутки.

Соединения 1 приведет к концентрациям в кале (~200 нМ), которые превышают значение IC_{50} *in vitro* для подавления стимулированного IL-6 фосфорилирования STAT3 в МКПК (58 нМ). Однако ожидается, что соответствующие концентрации в плазме, связанные с этой дозой, будут низкими, со значением C_{max} (51 нМ), которое намного ниже значения IC_{50} в цельной крови *ex vivo*, равного 141 нМ. В результате ожидается, что эффективность соединения 1 будет опосредована преимущественно локальным, а не системным ингибированием JAK1.

В качестве селективного и локально действующего ингибитора JAK1 соединения 1 может обладать противовоспалительными свойствами, наблюдаемыми с другими ингибиторами JAK, без связанного риска анемии или нейтропении. Учитывая благоприятный профиль безопасности соединения 1 в выбранном диапазоне доз, будет разрешено одновременное использование иммуносупрессивных терапий для ЯК (AZA, 6-MP и метотрексат).

II. Общий дизайн.

Приблизительно 206 участников будут зарегистрированы в части А (n=30) и части В (n=176) в течение 12 недель. Части А и В являются рандомизированными, двойными слепыми, плацебо-контролируемыми и параллельными дизайнами.

В части А 30 участников будут случайным образом распределены для приема 50 мг два раза в сутки или плацебо в соотношении 2:1. Участники части А завершат ночной визит в клинику на 4 неделе. Во время этого визита будет получен 24-часовой образец стула для анализа концентрации лекарственного средства в кале и серийные образцы крови для ФК анализа концентрации лекарственного средства в плазме. В дополнение к прохождению эндоскопии на исходном уровне и на 12 неделе участники (только части А) будут проходить эндоскопию на 4 неделе. Часть А предназначена для подтверждения механизма при 50 мг два раза в сутки в соотношении 2:1, и часть В предназначена для оценки клинической эффективности диапазона доз от 25 до 100 мг общей суточной дозы, вводимой один раз в сутки или два раза в сутки. Режимы дозирования, которые будут использоваться в части В, будут выбраны после части А. Участники, завершившие либо часть А, либо часть В, и все соответствующие процедуры исследования, включая эндоскопию на 12 неделе, имеют право участвовать в соответствующем 40-недельном пе-

риде OLE исследования.

В части В 176 участников будут рандомизированы для получения 1 из 3 доз таблеток соединения 1 или плацебо в соотношении 1:1:1. В дополнение к плацебо, в часть В следует включить следующие дозы: 25 мг два раза в сутки, 50 мг два раза в сутки и 100 мг один раз в сутки. Режимы дозирования, указанные в части В, будут подтверждены по завершении части А (в пределах диапазона общей суточной дозы от 25 до 100 мг, вводимой один раз в сутки или два раза в сутки). Участники части В будут проходить эндоскопию на исходном уровне и на 12 неделе. Кроме того, в общей сложности 24 участника части В (по 6 из каждой группы лечения) совершат ночной визит в клинику на 4 неделе. Во время этого визита будет получен 24-часовой образец стула для определения концентрации лекарственного средства в кале и серийные образцы крови для ФК анализа.

Фоновую стабильную терапию для ЯК как в части А, так и в части В не следует менять в течение периода скрининга и двойного слепого лечения до завершения оценки на 12 неделе.

Участники, которым требуется начало новой терапии ЯК в этот период, должны пройти эндоскопию и быть исключены из исследования с применением соответствующего стандарта лечения, назначенного на усмотрение исследователя. После эндоскопии на 12 недели суточная доза кортикостероидов может быть увеличена или уменьшена по усмотрению исследователя. В дополнение к анализу данных на 12 неделе из части А и части В, для этого исследования также запланированы 3 дополнительных промежуточных анализа:

1. Первый промежуточный анализ будет выполнен, когда будут получены данные после 4 недели от 15 участников, рандомизированных в части А. Открытая группа ФК/ФД без ослепления оценит системное воздействие и выполнит предварительный анализ биомаркеров, чтобы установить, влияет ли соединение 1 на пути передачи сигналов JAK/STAT.

2. Второй промежуточный анализ будет проведен, когда эти 15 участников будут на 12 неделе. В дополнение к рассмотрению результатов ФК/ФД, если в этом разделе недостаточно доказательств эффективности, исследование может быть прекращено.

3. Третий промежуточный анализ будет проведен, когда будут получены данные после 12 недели от 88 участников, рандомизированных в части В. Исследование может быть прекращено, если нет достаточных доказательств эффективности.

По завершении части А SRC (состоящий из членов исследовательской группы спонсора) проведет окончательный анализ для части А, чтобы рассмотреть все данные по безопасности и ФД на открытой основе, чтобы решить, переходить ли к части В или прекратить исследование. Выбор схем введения для части В будет основан на этом анализе данных. Схемы введения в части В будут либо один раз в сутки, либо два раза в сутки с общей суточной дозой от 25 до 100 мг. Кроме того, схемы введения в периоды OLE в части А и части В могут быть изменены исследовательской группой спонсора на основании результатов части А). Доза в части А OLE составляет 50 мг два раза в сутки. Дозы в период OLE в части В могут быть позже изменены в том же диапазоне доз (общая суточная доза от 25 мг до 100 мг).

Когда 88 участников завершат 12 неделю в части В, DMC может дать рекомендации о продолжении исследования (никакие подробности о результатах текущего анализа безопасности не будут раскрыты до следующего запланированного анализа) или может рекомендовать остановить исследование (на основании отсутствия данных эффективности или любых результатов безопасности). Они также могут дать рекомендации относительно изменения доз OLE для части В.

Окончательный анализ двойного слепого периода будет проведен, когда все участники части В завершат 12 неделю.

Окончательный анализ исследования будет произведен после того, как все участники завершат период OLE исследования, включая 30-дневный период последующего наблюдения.

III. Исследуемое лечение.

Название исследуемого лечения:	Соединение 1
Состав дозы:	Таблетка SR
Сила(ы) единичной дозы/уровень(и) дозировки:	25 мг (белая таблетка) и соответствующее плацебо. Как в Части А, так и в Части В, участники, рандомизированные по схеме один раз в сутки, получают слепое исследуемое лечение два раза в сутки.
Путь введения:	Пероральный
Инструкции по введению:	<p>Для Части А и Части В на 2, 4 и 12 неделе исследуемое лекарственное средство будет вводиться на месте, после отбора ФК пробы, перед введением дозы.</p> <p>Для всех других посещений утренняя доза будет вводиться участником самостоятельно дома, до запланированного посещения, независимо от еды.</p> <p>Примечание: Схема введения в Части В будет определяться после Части А. Как в Части А, так и в Части В, участники, рандомизированные по схеме один раз в сутки, получают слепое исследуемое лечение два раза в сутки.</p> <p>Пропущенные дозы можно принять в течение 6 часов после назначенного времени приема.</p>
Упаковка и маркировка:	<p>Исследуемое лекарственное средство будет поставляться во флаконах.</p> <p>Этикетки исследуемых продуктов будут на местном языке и маркированы в соответствии с требованиями страны.</p>
Хранение:	Окружающая среда 15 °C-30 °C (59 °F-86 °F)

в/в оценка эффективности.

Определения конечных точек эффективности на основе баллов Майо, определенные ниже, будут использоваться в Протоколе.

А. Список определений конечных точек эффективности на основе баллов Майо.

Срок	Определение
Клиническая ремиссия	Подшкала частоты стула 0, подшкала ректального кровотечения 0, оценка по модифицированной шкале эндоскопии Майо (mMES) от 0 до 1.
Клинический ответ	Снижение по сравнению с исходным уровнем трехкомпонентной оценки Майо не менее чем на 2 балла и снижение по меньшей мере на 30% от исходного уровня с сопутствующим уменьшением суб-балла для ректального кровотечения не менее чем на 1 балл или абсолютного суб-балла для ректального кровотечения на 0 или 1.
Эндоскопическая ремиссия	Оценка mMES 0.
Эндоскопический ответ	Снижение по сравнению с исходным уровнем показателя mMES не менее чем на 1 балл.
Заживление слизистой оболочки	Оценка mMES от 0 до 1.

В. Эндоскопия.

Эндоскопическое обследование (предпочтительно колоноскопия) требуется в начале исследования и на 12 неделе. Кроме того, эндоскопия (колоноскопия или гибкая ректороманоскопия по усмотрению учреждений) требуется на 4 неделе только для всех участников части А. Эта процедура будет выполняться для определения 3-компонентной оценки Майо, включая mMES, в которой любая хрупкость дает результат не менее 2 (Food and Drug Administration. Guidance for Industry: Ulcerative Colitis: Clinical Trial Endpoints. 2016.

<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM515143.pdf>). Промежуток времени между эндоскопией и запланированными визитами не должен превышать 14 дней. Эндоскопия также позволит выполнить щипковую биопсию для оценки эффекта ФД в ткани слизистой оболочки.

Эндоскопию должен проводить обученный эндоскопист. По возможности один и тот же эндоскопист должен выполнять эндоскопию при всех посещениях. Все результаты будут централизованно прочитаны и оценены, как описано в Руководстве по исследованию.

Гистологические оценки образцов биопсии, полученных во время эндоскопии, также могут быть рассмотрены обученными патологами, как описано в отдельном документе.

С. Опросник по воспалительному заболеванию кишечника (IBDQ).

IBDQ представляет собой психометрически подтвержденный инструмент результатов, сообщаемых пациентами, для измерения качества жизни, связанного с конкретным заболеванием, у участников с воспалительным заболеванием кишечника, включая ЯК. IBDQ состоит из 32 пунктов, сгруппированных по 4 параметрам, которые оцениваются следующим образом:

Симптомы кишечника: от 10 до 70.

Системные симптомы: от 5 до 35.

Эмоциональная функция: от 12 до 84.

Социальная функция: от 5 до 35.

Общий балл IBDQ колеблется от 32 до 224. Для общей оценки и каждой области более высокая оценка указывает на лучшее качество жизни. Оценка не менее 170 соответствует клинической ремиссии, а увеличение не менее чем на 16 баллов считается показателем клинически значимого улучшения.

IBDQ будет оцениваться на исходном уровне и при каждом конкретном исследовательском визите.

D. 3-компонентная оценка Майо.

3-компонентная шкала Майо будет использоваться для измерения активности заболевания ЯК в этом исследовании. 3-компонентная оценка Майо (оценка Майо без PGA, колеблется от 0 до 9 баллов) состоит из следующих 3 оценок, каждая из которых имеет балл от 0 до 3, причем более высокие баллы

указывают на более тяжелое заболевание:

Частота стула (0-3).

Ректальное кровотечение (0-3).

mMES (0-3).

3-компонентная оценка Майо будет определяться на исходном уровне и при каждом конкретном визите для исследования на основе включения результатов эндоскопии, оцененных центральным аналитиком. Если центральный эндоскопический результат отсутствует, в расчетах будет использоваться эндоскопическая подшкала, определенная исследователем.

3-компонентная оценка Майо рассчитывается с использованием данных о частоте стула и ректальных кровотечениях за последние 3 дня имеющихся данных до визита. Данные, собранные за следующие периоды, не будут включены в этот расчет:

ежедневно принимаются лекарственные средства от запора или диареи.

День процедуры или подготовки к процедуре (например, клизмы, другие слабительные, жидкая диета), влияющие на частоту стула или содержание соединений в крови.

48 часов после использования агентов против моторики (например, лоперамида).

48 часов после эндоскопии.

Е. Глобальная оценка врача.

PGA будет рассчитываться отдельно от 3-компонентной оценки Майо. PGA признает следующие 3 критерия:

ежедневные воспоминания участника о дискомфорте в животе и

общее самочувствие участника, и

другие наблюдения участника, такие как физические данные и статус участника.

Критерии PGA будут оцениваться следующим образом:

0=Нормальный.

1=Легкое заболевание.

2=Умеренное заболевание.

3=Тяжелое заболевание.

PGA будет оцениваться на исходном уровне и при каждом конкретном визите для исследования.

V. Фармакокинетические оценки.

A. Сбор образцов крови и стула.

Во время ФК-визитов (2 и 12 недели) участники должны воздерживаться от приема исследуемого лекарственного средства до прибытия на место исследования. Следует собрать образец для ФК перед введением. После сбора образца ФК перед введением вводится соединение 1, и последующие пробы с определенным временем отбираются у участников. Дата и время взятия крови на ФК анализ; последней дозы исследуемого лекарственного средства; и 2 последних приема пищи, предшествовавших забору крови (например, ужин накануне вечером и завтрак этим утром), будут записаны.

На 4 неделе все участники части A и подгруппа участников части B (n = ~24) завершат ночной стационарный визит в клинику. Во время этого посещения у участников будут собирать 24-часовой образец стула для определения каловых концентраций соединения 1 в стуле, и будут получены серийные образцы крови для анализа концентраций лекарственного средства в плазме (см., например, пример C). Эндоскопия (колоноскопия или гибкая ректороманоскопия) будут выполнены до того, как участник будет выписан из CRU и оценен центральным аналитиком.

Время для отбора образцов крови для исследований фармакокинетики

Визит исследования ^a	Время взятия пробы относительно введения исследуемого лекарственного средства						
	Предозировка (-30 мин)	1 часа ± 15 мин	2 часа ± 30 мин	5 часа ± 30 мин	8 часа ± 60 мин	12 часа ± 60 мин	24 часа ± 60 мин
2 Неделя	X	X	X	-	-	-	-
4 Неделя	X	X	X	X	X	X	X
12 Неделя	X	X	X	-	-	-	-

^a У всех участников будут отобраны образцы перед введением дозы, через 1 час и 2 часа, на 2, 4 и 12 неделях. Только подгруппа участников (т.е. участники из части A и около 24 из части B) будут иметь дополнительный забор крови на 4 неделе (5, 8, 12 и 24-часовой сбор образцов) и забор кала в течение 24 часов на 4 неделе.

VI. Цели и конечные точки.

Цели	Критерии оценки
Первичная	
Оценить эффективность Соединения 1 в индукции клинического ответа у участников с умеренным и тяжелым ЯК.	Доля участников с клиническим ответом на 12 неделе.
Вторичная	
Оценить эффективность Соединения 1 в отношении эндоскопических и клинических исходов и показателей качества жизни у участников с умеренным и тяжелым ЯК.	<p>Доля участников с эндоскопическим ответом на 12 неделе.</p> <p>Доля участников с заживлением слизистой оболочки на 12 неделе.</p> <p>Доля участников с эндоскопической ремиссией на 12 неделе.</p> <p>Доля участников с клинической ремиссией на 12 неделе.</p> <p>Доля участников в каждой из 3-компонентных промежуточных оценок Майо.</p> <p>Изменение 3-компонентной оценки Майо по сравнению с исходным уровнем на 12 неделе.</p> <p>Изменение оценки PGA по сравнению с исходным уровнем на 12 недели.</p> <p>Изменение показателя качества жизни по данным IBDQ на 4 и 12 неделях.</p>
Изучить безопасность и переносимость Соединения 1 у участников с ЯК.	Мониторинг частоты, продолжительности и тяжести НЯ; выполнение медицинских осмотров; сбор показателей жизнедеятельности; и сбор ЭКГ и лабораторных данных для оценки гематологии, химии сыворотки и анализа мочи.
Изучить ФК Соединения 1 у участников с ЯК.	<p>Концентрации Соединения 1 в плазме на 2, 4 и 12 неделе для определения C_{min}, C_{max} и, если позволяют данные, AUC_{0-t}, CL/F, V_z/F, периода полужизни и T_{max}.</p> <p>Концентрации Соединения 1 в стуле на 4 неделе после 24-часового сбора.</p>

Пример 5. Доклиническая модель спонтанного колита на мышах.

Модель мыши с нокаутом интерлейкина-10 (IL-10) (KO) отражает многофакторную природу воспалительного заболевания кишечника (ВЗК), такого как язвенный колит и болезнь Крона, у мышей IL-10 KO, BALB/cAnNTac-II10^{em7Tac}, спонтанно развивающих колит. Колит у мышей IL-10 KO возникает в результате aberrантного ответа CD4⁺T-хелперных 1-подобных T-клеток и чрезмерной секреции провоспалительных цитокинов, которые передают сигнал через киназу Janus/передатчик сигнала и активатор пути транскрипции (JAK/STAT). Соединение 1 является мощным ингибитором JAK1 с селективностью от 22 до >500 раз в отношении JAK2, JAK3 и TYK2, и в настоящее время оно исследуется в качестве монотерапии в клинических испытаниях при язвенном колите от средней до тяжелой степени.

Самки мышей с гомозиготным нокаутом по IL-10 в породе BALB/c были получены от Taconic (США). Начиная с возраста 6 недель, соединение 1 и носитель (10 мл/кг) вводили через желудочный зонд дважды в день. Диарею количественно оценивали по шкале от 0 до 3 (стул 0=нормальный; 1=мягкий, но все еще имеющий форму; 2=очень мягкий; 3=диарея). Мышей умерщвляли удушающим действием CO₂ и измеряли длину и массу толстой кишки. Патология ткани оценивалась по шкале от 0 до 10 на основании следующих критериев: Лимфоцитарный инфильтрат в слизистой оболочке и лимфоидной ткани, связанной с кишечником, расположенной в собственной пластинке/подслизистой оболочке, эрозии/изъязвления слизистой оболочки и трансмуральное воспаление. Оценивали массу тела, консистенцию стула, скрытую кровь в кале и ректальное кровотечение. Регистрировали частоту выпадения прямой кишки.

Значительные улучшения наблюдались в отношении общего бремени болезни, как показано на фиг. 7A, и начала выпадения прямой кишки как маркер тяжелого заболевания, как показано на фиг. 7B. Ex vivo ткань толстой кишки мышей, обработанных соединением 1, характеризовалась сниженной тканевой патологией, как показано на фиг. 7C-7D. Пероральное введение два раза в сутки соединения 1 в дозе 30 мг/кг значительно (p<0,001) задерживало начало колита и модулировало потерю массы тела, связанную с заболеванием. Совокупный клинический балл заболевания был значительно (p<0,0001) снижен у животных, получавших соединение 1, по сравнению с контролем с носителем. Частота выпадения прямой кишки также была значительно (p<0,01) ниже. Введение соединения 1 привело к значительному (p<0,01) уменьшению структурной патологии толстой кишки. Лимфоцитарная инфильтрация и трансмуральное воспаление также были значительно (p<0,01) уменьшены у мышей, получавших соединение 1, по сравнению с контролем с носителем. Как показано на фиг. 10 также было обнаружено, что соединение 1 уменьшало спонтанный колит в мышинной модели IL-10 KO, о чем свидетельствует значительно более медленное начало заболевания, и что обработка соединением 1 приводила к дифференциальным профилям экспрессии генов в толстой кишке мышей IL-10 KO, по сравнению с контролем носителем, как показано на фиг. 12A-12B. Как изображено на фиг. 15A-15B, системная доставка соединения 1 была связана со значительными защитными эффектами для морфологии толстой кишки у мышей IL-10 KO.

Эти данные предполагают, что соединение 1 может быть полезным в качестве терапевтического агента для лечения ВЗК (например, спонтанного колита).

Пример 6. Экспериментально индуцированное воспалительное заболевание кишечника на модели мышей.

Воспалительное заболевание кишечника (ВЗК), такое как язвенный колит и болезнь Крона, представляет собой группу идиопатических хронических и рецидивирующих воспалительных состояний, возникающих в результате сложного взаимодействия между иммунной системой и тканями желудочно-кишечного тракта. Разнообразные цитокины и факторы роста в патогенезе ВЗК передают сигналы через киназу Janus/передатчики сигналов и активаторы пути транскрипции.

Доклинические модели ВЗК были созданы у мышей BALB/c путем внутритолстокишечной инъекции 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты (TNBS) или 4-этоксиметилена-2-фенил-2-оксазолон-5-она (оксазолон), чтобы вызвать иммунную реакцию, как описано ниже. Оценивали массу тела, консистенцию стула и кровь в кале. Дополнительные данные включали соотношение массы толстой кишки к ее длине и гистологическую оценку. Кровь собирали для фармакокинетического анализа.

Модель колита, индуцированного оксазолоном у мышей.

Самцов мышей BALB/c приобретали (Charles River Laboratories). В 0 день мышей сенсibilizировали, нанося оксазолон (150 мкл, 3% в ацетоне/оливковом масле, 4:1 об./об.) на предварительно выбритую ростральную часть спины. На 5 день животных повторно сенсibilizировали оксазолоном. Мышей не кормили перед интратректальным введением оксазолон. Дистальный колит вызывали инстилляцией раствора оксазолон (1 мг в 0,1 мл 40% этанола), после чего животных держали в вертикальном положении в течение 30 секунд, чтобы гарантировать, что раствор остается в толстой кишке. Мыши в контрольной группе получали только 0,1 мл 40% этанола. Соединение 1 и носитель (10 мл/кг) вводили через желудочный зонд дважды в день. Диарею количественно оценивали по шкале от 0 до 3 (стул 0=нормальный; 1=мягкий, но все еще имеющий форму; 2=очень мягкий; 3=диарея). Скрытая кровь в кале определялась по шкале от 0 до 3 с использованием бумаги для определения скрытой крови S-Y (Shih-Yung Medical Instruments, Тайвань) (0=отрицательный результат; 1=положительный результат; 2=видимые следы крови; 3=ректальное кровотечение). На 8 день мышей умерщвляли удушающим дей-

ствием CO₂ и измеряли длину и массу толстой кишки. Кроме того, при вскрытии брюшной полости отмечались спайки между толстой кишкой и другими органами, а также наличие изъязвлений толстой кишки после удаления и взвешивания каждой толстой кишки. Макроскопическая оценка была выполнена по шкале от 0 до 12, как показано в табл. А. Нормализованная масса толстой кишки представляет собой увеличение количества ткани по сравнению с контрольными мышами.

Таблица А

Параметр	Наблюдение	Балл
Спайки	Нет	0
	Минимальная	1
	Вовлечение нескольких петель кишечника	2
Стриктуры	Нет	0
	Легкая	2
	Тяжелая проксимальная дилатация	3
Язвы/воспаление	Без повреждения	0
	Очаговая гиперемия, язв нет	1
	1 участок изъязвления/воспаления <1 см	2
	2 участка изъязвления/воспаления <1 см	3
	Основное место(а) изъязвления/воспаления > 1 см	4
	Если повреждение > 2 см, увеличивайте оценку на 1 за каждый дополнительный см повреждения.	5+
Толщина стенок	<1 мм	0
	1-3 мм	1
	более 3 мм	2

Интраректальное введение оксазолон в этаноле вызывает прямое повреждение тканей и индуцирует иммунный ответ, который приводит к воспалению слизистой оболочки, эпителиальным микроязвениям и гистопатологическим изменениям в дистальном отделе толстой кишки, которые напоминают язвенный колит человека (см., например, Kojima et al, J. Pharmacol. Sci. 2004, 96(3): 307-313). Последняя фаза воспаления управляется выработкой цитокинов Th2, таких как выработка IL-4, IL-5 и IL-13 (см., например, Randhawa et al, J. Physiol. Pharmacol. 2014, 18(4):279-288).

Ежедневное лечение соединением 1 (30 мг/кг два раза в сутки) было эффективным в ускорении выздоровления от диареи и ректального кровотечения, как показано на фиг. 8А, улучшении макроскопической патологии ткани, как показано на фиг. 8В, и уменьшении нормализованной массы толстой кишки в качестве суррогатного показателя воспалительного отека, как показано на фиг. 8С. Эти данные согласуются с опубликованными результатами, демонстрирующими, что тофацитиниб ингибирует колит, вызванный оксазолоном (см., например, Beattie et al, J. Inflamm. (Lond). 2017, 14:28) и предполагают, что значительная часть противовоспалительной эффективности обусловлена ингибированием JAK1. Кроме того, лечение Соединением 1 два раза в сутки (перорально или внутритолстокишечно значительно улучшило консистенцию стула и уменьшило число баллов для фекальной скрытой крови по сравнению с контрольными группами, получавшими носитель (см. фиг. 13А-13D), и лечение соединением 1 значительно уменьшало укорочение толстой кишки по сравнению с соответствующими контролями, обработанными носителем (см. фиг. 14А-14Е).

Модель колита, индуцированного TNBS.

Самцов мышей BALB/c приобрели (Charles River Laboratories), и у них вызывали дистальный колит инстилляцией TNBS (раствор 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты, 1 мг в 0,1 мл 50% этанола). Лечение соединением 1 проводили в дозе 30 мг/кг через желудочный зонд (РО) или 3 мг/кг путем внутритолстокишечной инъекции (IC) два раза в сутки (ВІD). Диарею количественно оценивали по шкале от 0 до 3 (стул 0=нормальный; 1=мягкий, но все еще имеющий форму; 2=очень мягкий; 3=диарея) на 3-5 дни после сенсibilизации TNBS.

Пероральное соединение 1 лечило значительные симптомы диареи по сравнению с животными, получавшими носитель, как показано на фиг. 9А. Эти данные согласуются с данными модели, индуцированной оксазолоном, показанной на фиг. 8А. Обработка низкими дозами соединения 1, вводимыми непосредственно в толстую кишку, также была высокоэффективной для ускорения выздоровления, как показано на фиг. 9В. Например, в модели с оксазолоном соединение 1 в дозе 30 мг/кг перорально два раза в сутки показало значительное (p<0,05) уменьшение укорочения толстой кишки (см. фиг. 14А-14В и 14Е) и

увеличение массы. Соединение 1 в дозе 3 мг/кг IC два раза в сутки также значительно ($p < 0,05$) уменьшало укорочение толстой кишки (см. фиг. 14C-14E).

Пероральная доза (PO) соединения 1 дважды в сутки в дозе 30 мг/кг или 3 мг/кг внутритолстокишечно значительно ($p < 0,05$) улучшила консистенцию стула по сравнению с контролем. Кроме того, статистически значимое ($p < 0,05$) снижение показателя фекальной крови было достигнуто при дозе 3 мг/кг IC два раза в сутки. Более того, оба пути введения (пероральный, IC) приводили к значительному ($p < 0,05$) улучшению консистенции стула и показателей фекальной крови. Соединение 1 в дозе 3 мг/кг IC два раза в сутки уменьшало общее макроскопическое повреждение толстой кишки. Внутритолстокишечные дозы соединения 1 поддерживали системное воздействие лекарственного средства ниже IC_{50} JAK1, но достигали сравнимого ингибирования экспериментального ВЗК. Вместе эти данные предполагают, что соединение 1 может быть полезным в качестве терапевтического агента для лечения ВЗК.

Интраректальное введение агента гаптенилирования (TNBS) делает белки толстой кишки иммуногенными для иммунной системы хозяина и тем самым инициирует Т-хелпер (Th) 1-опосредованный иммунный ответ, характеризующийся инфильтрацией собственной пластинки CD4⁺ Т-клетками, нейтрофилами и макрофагами. Соединение 1 вводили перорально в дозе 30 мг/кг или непосредственно в толстую кишку в дозе 3 мг/кг, чтобы определить, будет ли эффективным локализованное ингибирование JAK1. В соответствии с моделью с оксазолоном пероральное соединение 1 ускоряет выздоровление по шкале болезни по сравнению с животными, получавшими носитель, как показано на фиг. 11A. Низкая доза соединения 1, вводимая непосредственно в толстую кишку, быстрее вызывала выздоровление и, по-видимому, опосредовала более высокий терапевтический ответ, как показано на фиг. 11B.

В другом исследовании количественная оценка циркулирующих и тканевых концентраций лекарственного средства четко дифференцировала локальное и системное ингибирование мишени JAK1. Пероральное введение привело к пиковому уровню циркулирующего лекарственного средства около 11 мкМ, который был подобен концентрации в толстой кишке, как показано на фиг. 11C. Напротив, локальная доставка соединения 1 характеризовалась минимальными пиковыми системными концентрациями около 0,04 мкМ, но длительным воздействием $\geq 0,45$ мкМ в ткани толстой кишки, как показано на фиг. 11D. Следовательно, стратегическое нацеливание или высвобождение ингибиторов JAK1 в воспаленной ткани желудочно-кишечного тракта потенциально может улучшить профили польза-риск.

Низкая доза соединения 1, вводимая непосредственно в место воспаления кишечника, была высокоэффективной при колите, индуцированном TNBS, и этот ответ на лечение не зависел от системного ингибирования JAK1, поскольку концентрация соединения 1 в плазме была минимальной. Эти данные убедительно подтверждают обоснование того, что локализованное ингибирование JAK может быть достаточным для достижения терапевтического ответа, что позволяет избежать необходимости системного подавления иммунитета. Не будучи связанными теорией, полагается, что эти данные также предполагают, что JAK1 является доминирующим механизмом, управляющим патогенезом.

Разнообразные модификации изобретения, в дополнение к описанным в настоящем документе, будут очевидны квалифицированным специалистам в данной области из предыдущего описания. Такие модификации также входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая все патенты, заявки на патенты и публикации, цитируемые в настоящем изобретении, полностью включены в настоящий документ посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

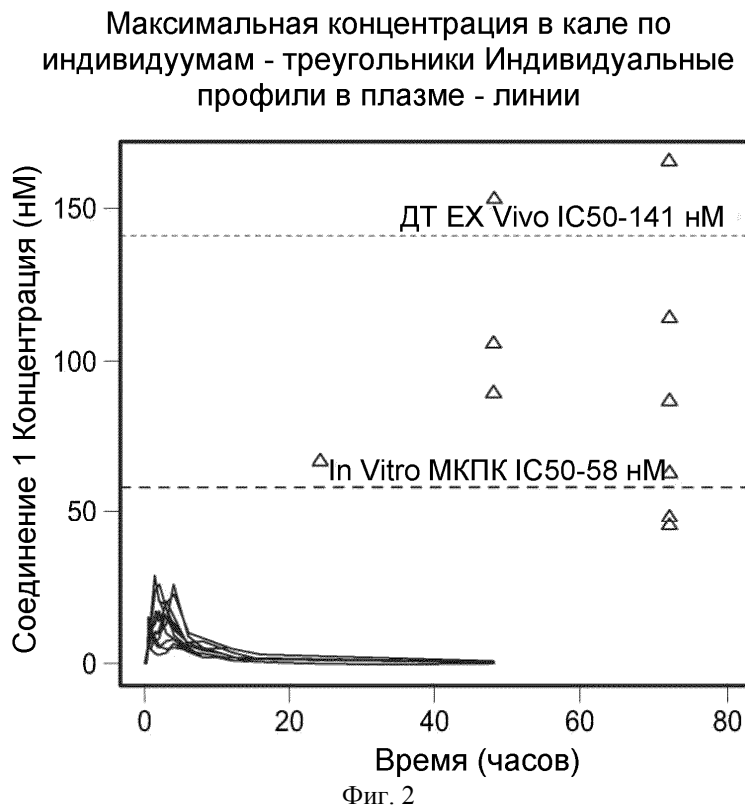
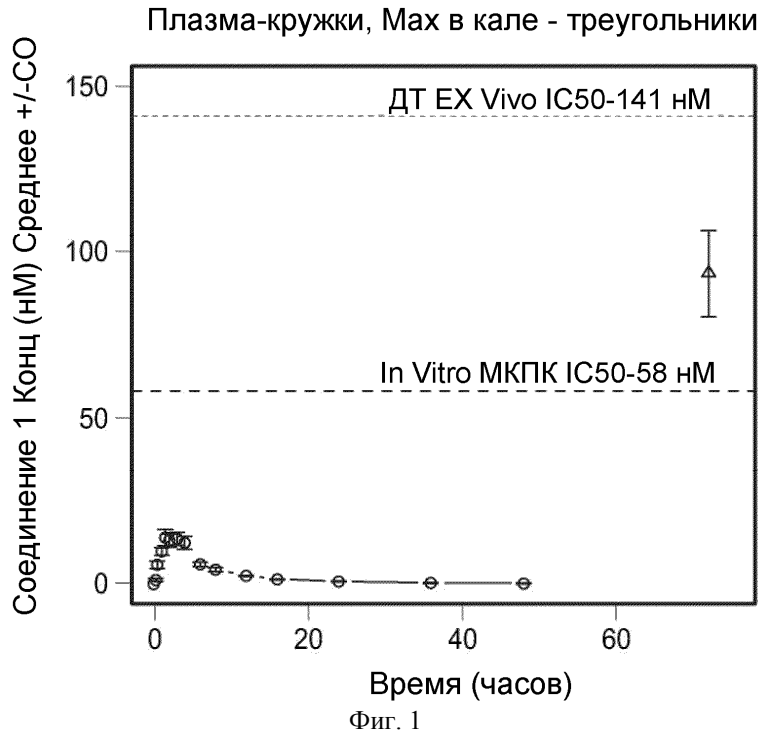
1. Способ лечения язвенного колита у субъекта, который в этом нуждается, причем способ включает введение субъекту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли,

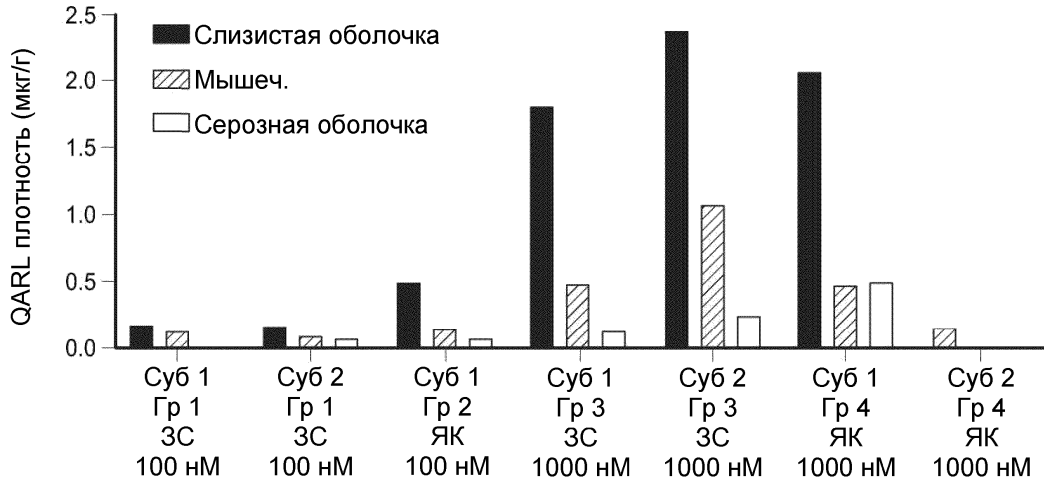
при этом максимальная концентрация {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила в кале после введения {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли составляет более чем 25 нМ, и

при этом максимальная общая концентрация {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила в плазме после введения {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли составляет менее чем 150 нМ.

2. Способ по п.1, где {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль вводят в суточной дозе от 50 до 100 мг.

3. Способ по п.1, где {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически

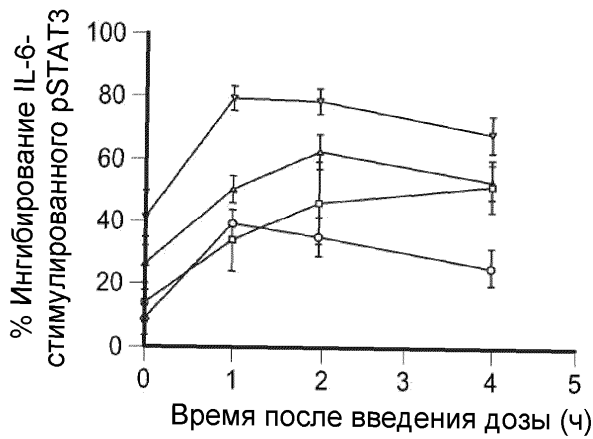




ЗС: Здоровый субъект
 Гр: Группа
 Суб: Субъект
 QARL: Количественная авторадииолюминография
 ЯК: Язвенный колит

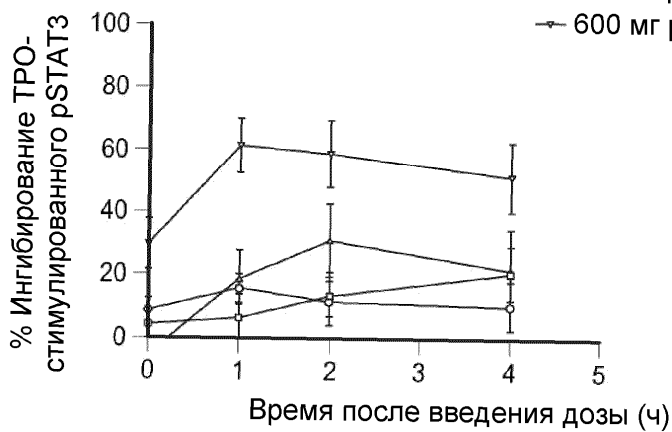
Фиг. 3

IL-6



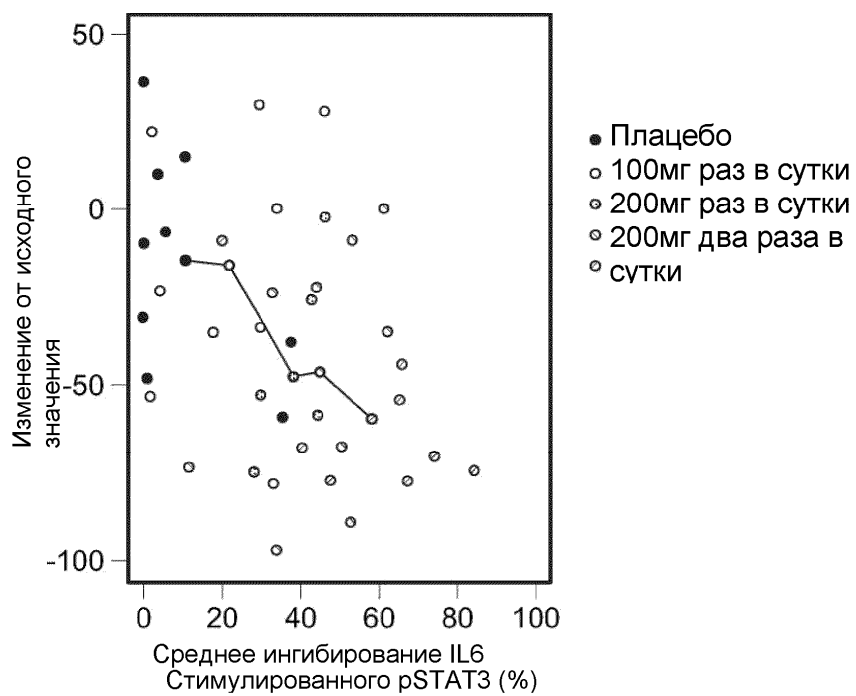
○ 100 мг раз в сутки
 □ 200 мг раз в сутки
 △ 200 мг два раза в сутки
 ◇ 600 мг раз в сутки

TPO

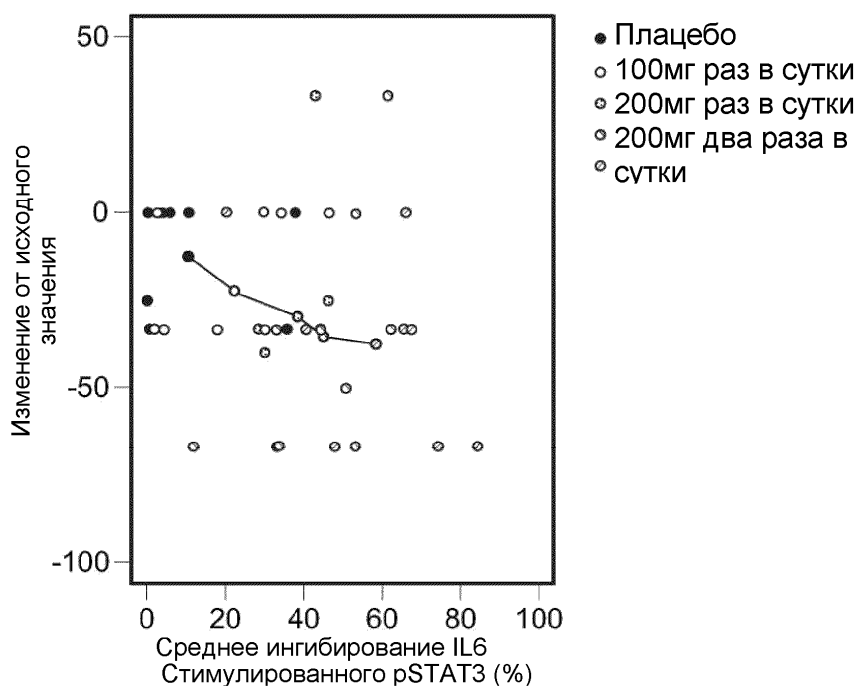


Фиг. 4

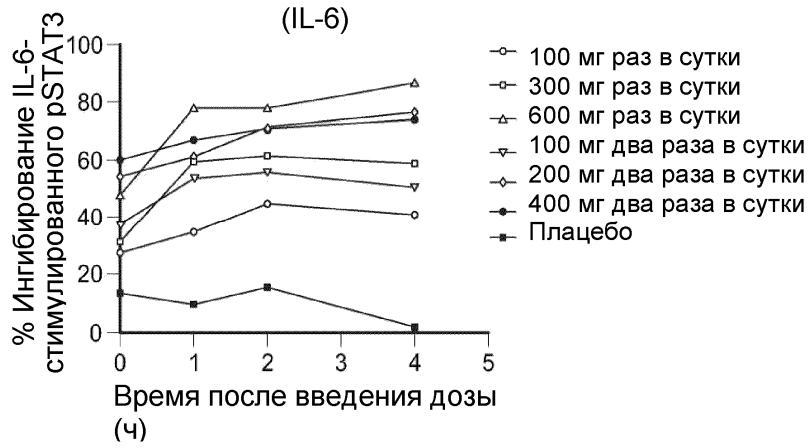
Твердая-среднее значение, открытая-индивидуальное значение



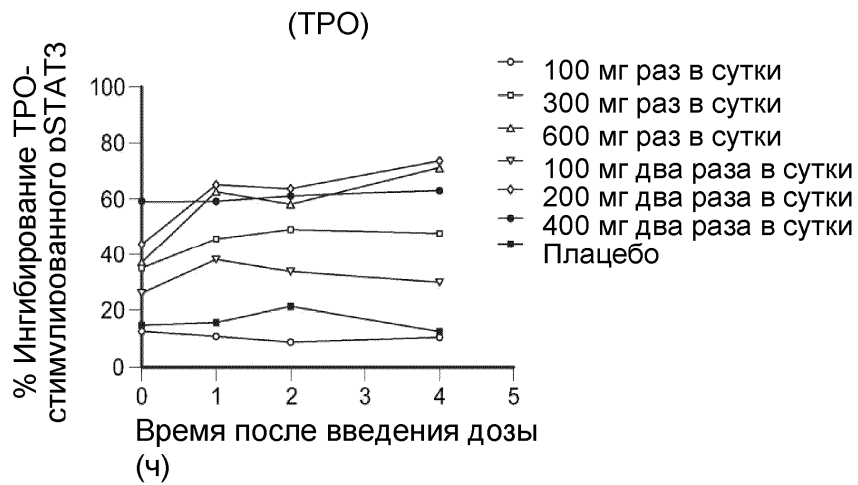
Заполненные-среднее значение, открытые-индивидуальное значение



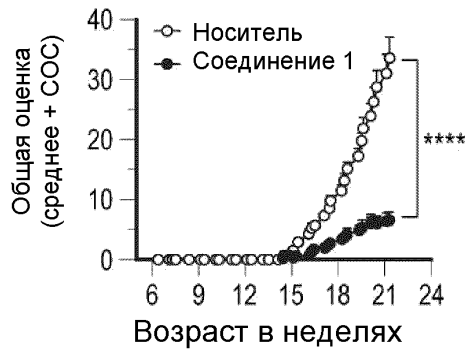
Фиг. 5



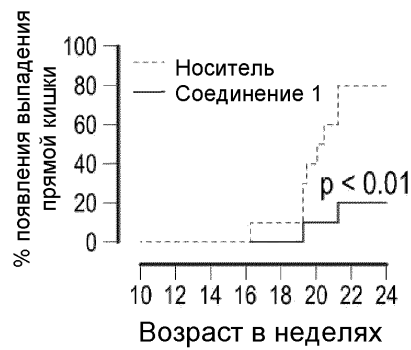
Фиг. 6А



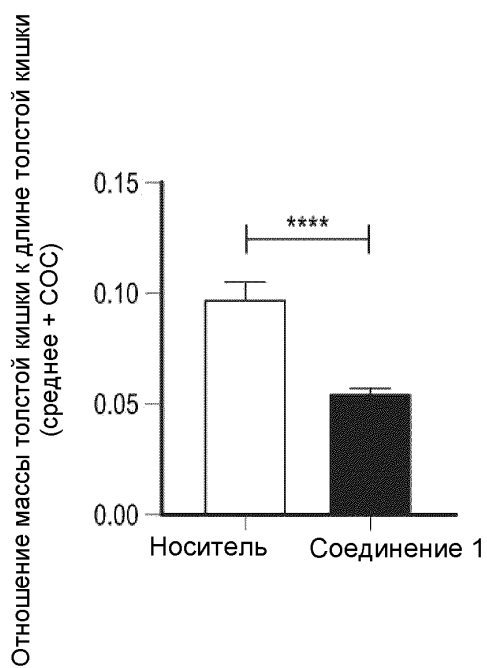
Фиг. 6В



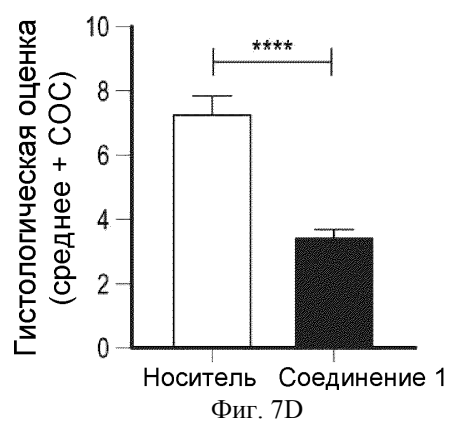
Фиг. 7А



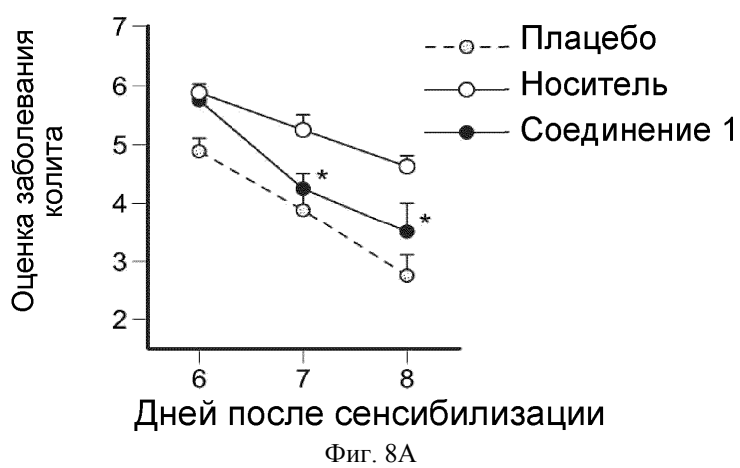
Фиг. 7В



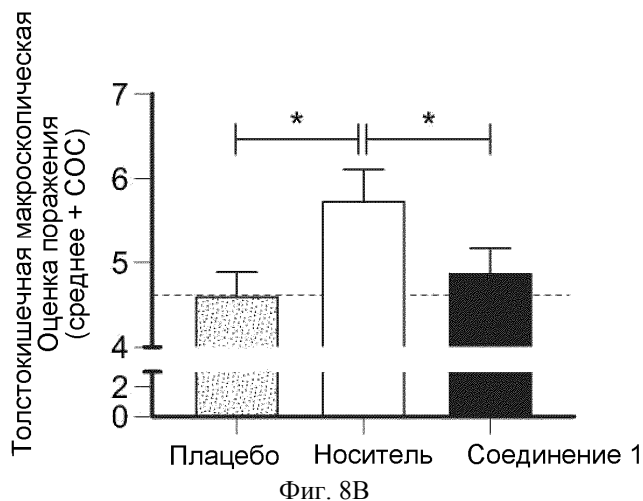
Фиг. 7С



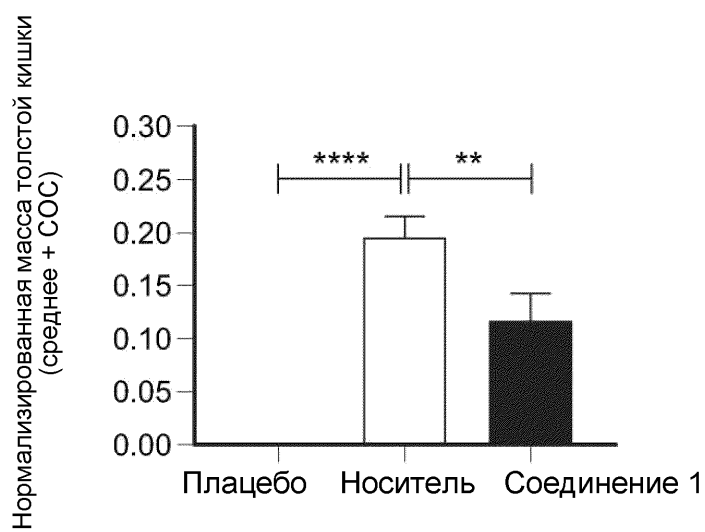
Фиг. 7D



Фиг. 8А



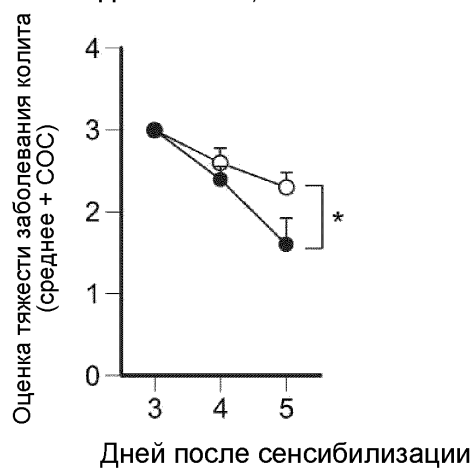
Фиг. 8B



Фиг. 8C

перорально

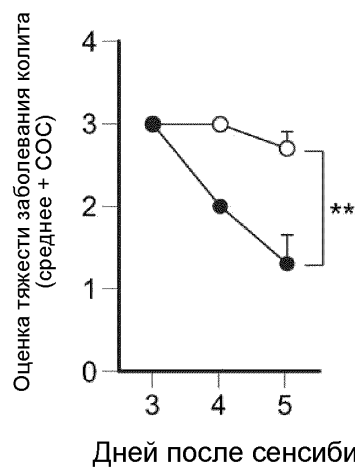
- Носитель
- Соединение 1, 30 мг/кг



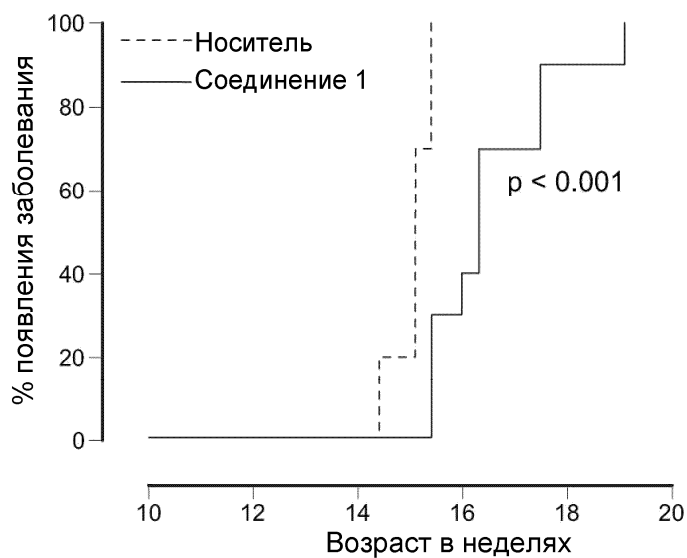
Фиг. 9A

внутриполстокишечно

- Носитель
- Соединение 1, 3 мг/кг



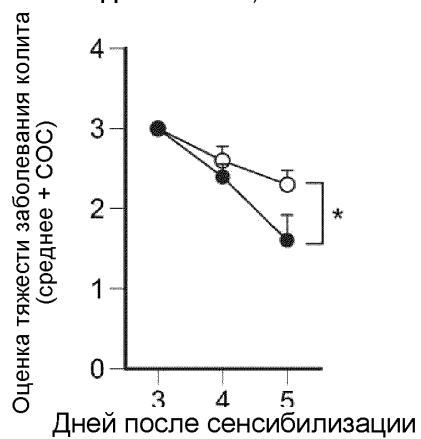
Фиг. 9В



Фиг. 10

перорально

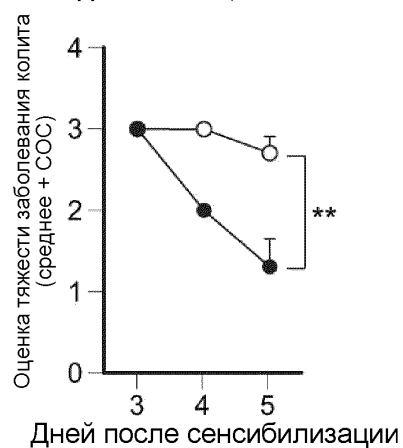
- Носитель
- Соединение 1, 30 мг/кг



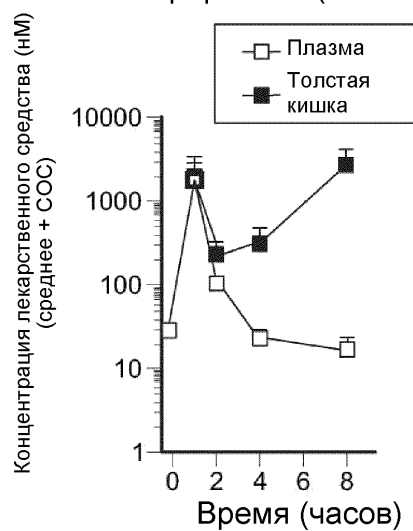
Фиг. 11А

внутриротокишечно

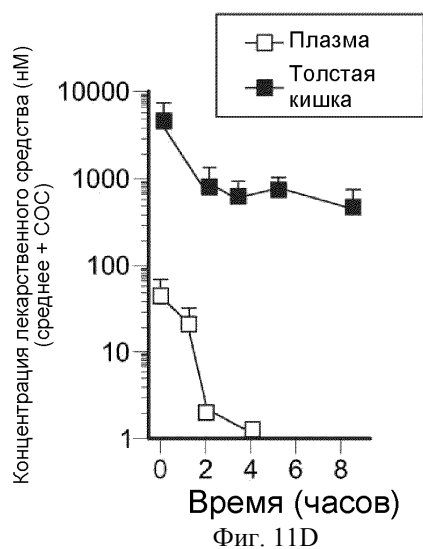
○ Носитель

● Соединение 1, 3 мг/кг¹

Фиг. 11В

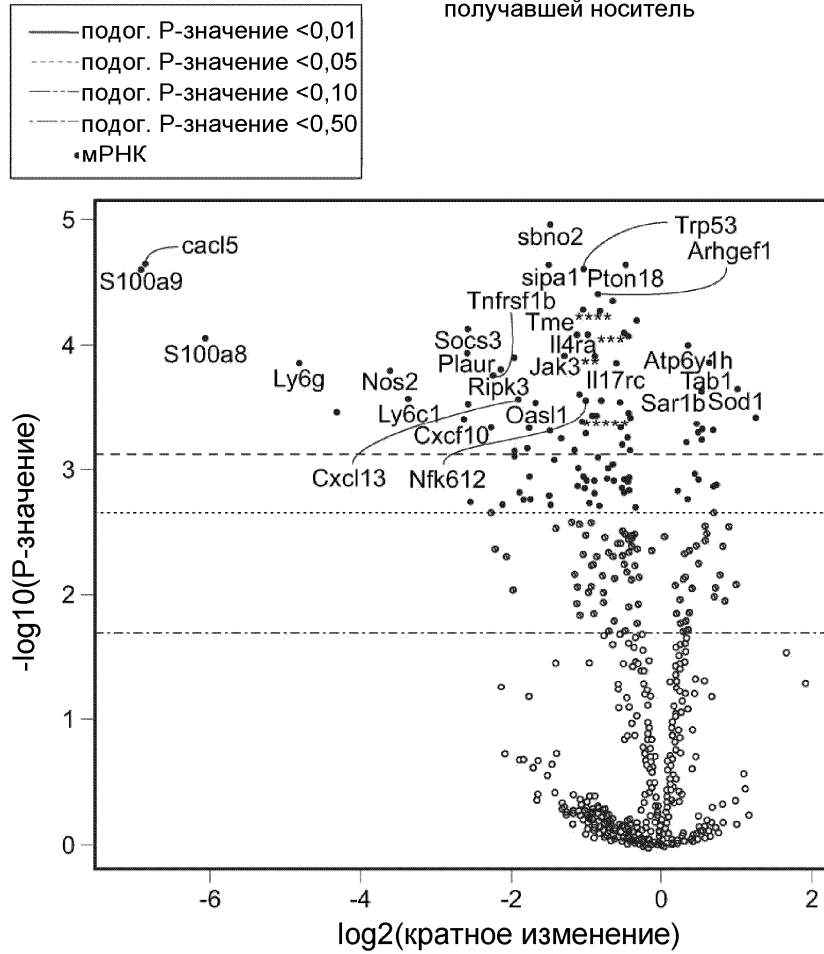
Перорально (30 мг кг⁻¹)

Фиг. 11С

Внутриротокишечно (3 мг кг⁻¹)

Фиг. 11D

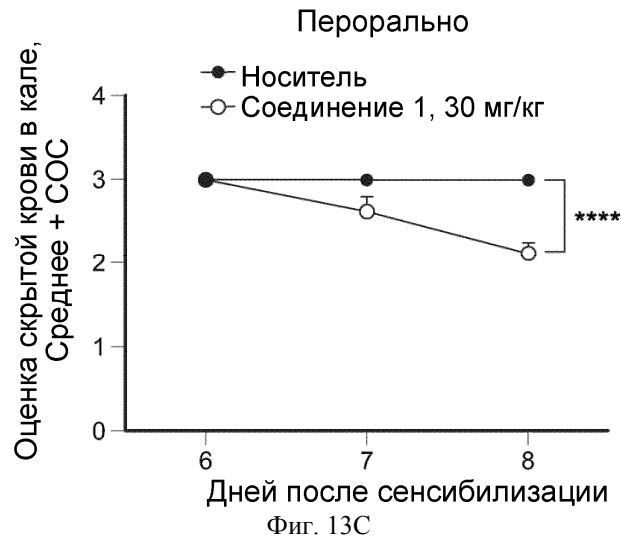
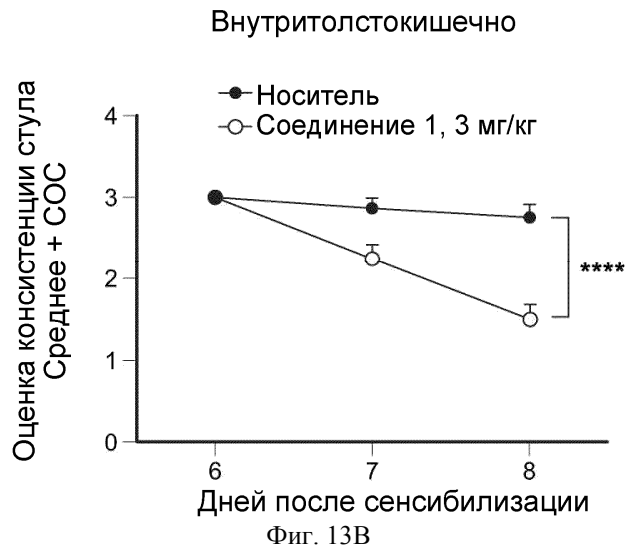
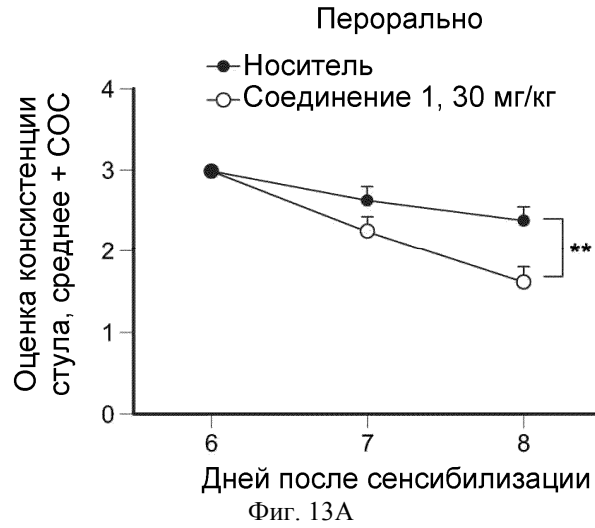
Дифференциальная экспрессия генов в группе получавшей Соединение 1 по сравнению с исходным уровнем группы получавшей носитель



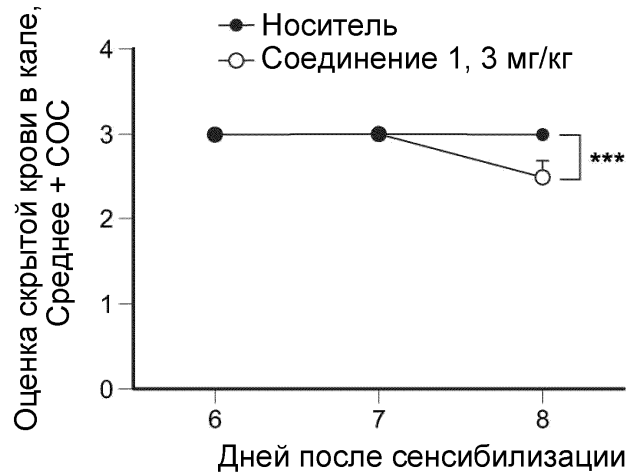
Фиг. 12А

Главная роль	Ген мишень	Log2 кратное изменение	P-значение
Хемокин сигнализирование	Cxcl5	-7,11	2.27E-05
	Cxcl10	-2,53	0,000287
	Ccl5	-1,76	0,000474
	Cxcl9	-2,55	0,00182
Сигналирование Toll-подобного рецептора	IL1b	-3,91	0,000306
	Nos2	-3,37	0,000186
	Ripk3	-1,96	0,000126
	Nfkbia	-1,08	0,000252
JAK/STAT путь	Socs3	-2,54	7.62E-05
	Socs1	-2,47	0,000326
	Jak3	-1,19	0,000123
	STAT1	-0,953	0,00976
	il6	-0,953	0,00976
Маркер нейтрофилов	Ly6g	-4,61	0,000157
Маркер моноцитов	Ly6c1	-3,01	0,00028

Фиг. 12В



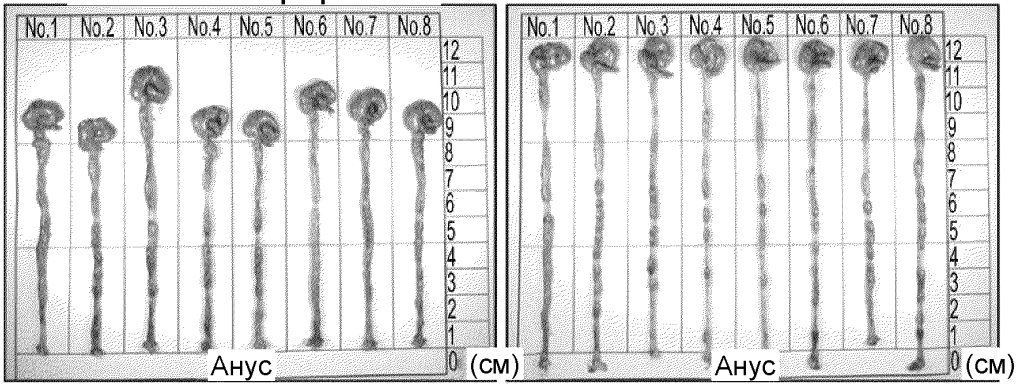
Внутритолстокишечно



Фиг. 13D

Носитель перорально

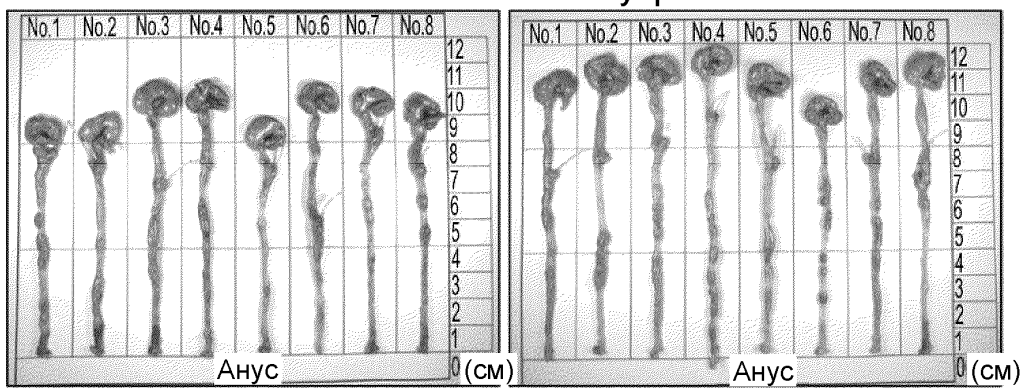
Соединение 1, 30 мг/кг Перорально



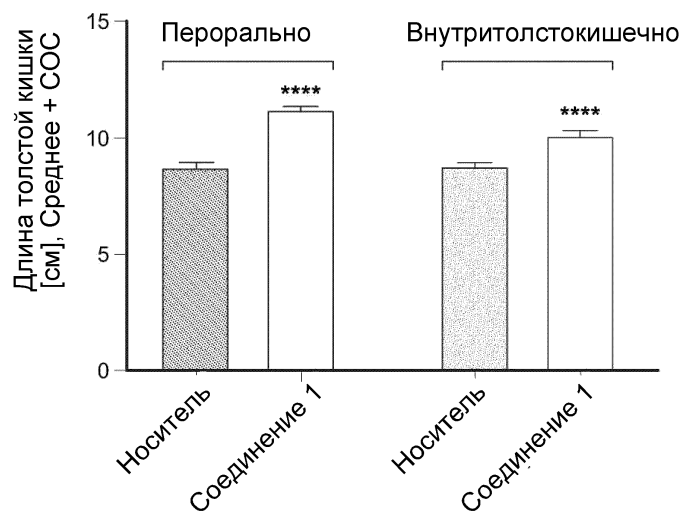
Фиг. 14А-14В

Носитель внутритолстокишечно

Соединение 1, 3 мг/кг
Внутритолстокишечно



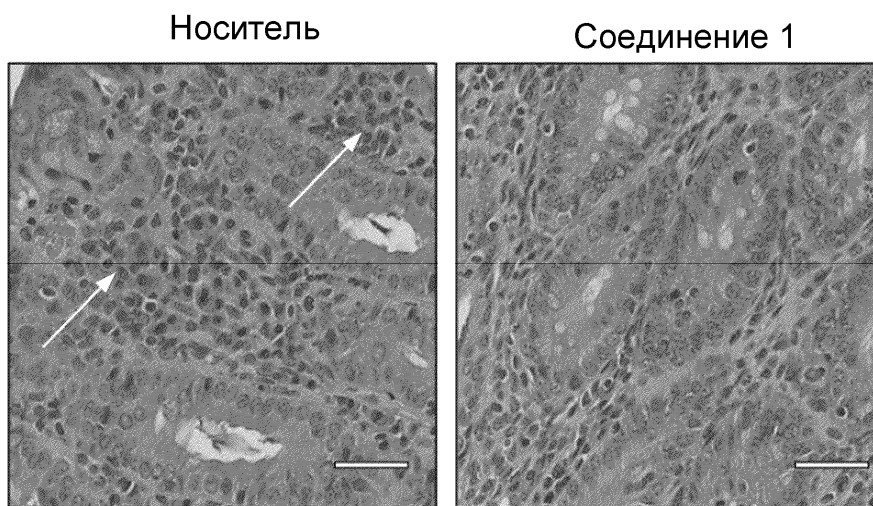
Фиг. 14С-14D



Фиг. 14Е



Фиг. 15А



Фиг. 15В

