



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0034007

(51)⁷ C07D 471/04; A61K 31/437; A61P
11/00

(13) B

(21) 1-2018-01909

(22) 02/11/2016

(86) PCT/US2016/059999 02/11/2016

(87) WO2017/079205 11/05/2017

(30) 62/250,113 03/11/2015 US

(45) 25/11/2022 416

(43) 25/10/2018 367A

(73) THERAVANCE BIOPHARMA R&D IP, LLC (US)

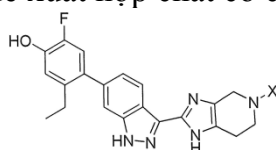
901 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080, United States of America

(72) FATHEREE, Paul R. (US); JACOBSEN, John R. (US); BEAUSOLEIL, Anne-Marie (CA); BRANDT, Gary E.L. (US); FLEURY, Melissa (CA); JIANG, Lan (CN); SMITH, Cameron (US); SULLIVAN, Steven D.E. (US); VAN ORDEN, Lori Jean (US); COLSON, Pierre-Jean (FR); FASS, Gene Timothy (US); RAPTA, Miroslav (SK); BENJAMIN, Noah (US); DABROS, Marta (US); THALLADI, Venkat R. (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ỨC CHẾ JAK KINAZA, DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)



trong đó, X là

và các biến là như được xác định trong phần mô tả, hoặc muối dược dụng của nó, hữu ích làm chất ức chế JAK kinaza. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này, và quy trình và các hợp chất trung gian hữu ích để điều chế hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất diamino hữu ích làm chất ức chế JAK kinaza. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này, mô tả phương pháp sử dụng hợp chất này để điều trị bệnh hô hấp, và quy trình và các hợp chất trung gian hữu ích để điều chế hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh hen là bệnh mạn tính đường khí không có biện pháp ngăn ngừa hoặc chữa trị. Bệnh được đặc trưng bởi viêm, xơ, tăng đáp ứng, và tái tổ chức đường khí, tất cả các đặc trưng này góp phần làm hạn chế luồng không khí. Ước tính 300 triệu người trên thế giới mắc bệnh hen và ước tính là số người mắc bệnh hen sẽ tăng lên đến 100 triệu vào năm 2025. Ở Hoa Kỳ, bệnh hen ảnh hưởng đến khoảng 6% đến 8% quần thể, khiến nó trở thành một trong số các bệnh mạn tính phổ biến nhất ở nước này. Mặc dù hầu hết bệnh nhân có thể kiểm soát các triệu chứng của bệnh hen bằng việc sử dụng corticosteroid dạng hít mà có thể được kết hợp với tác nhân cải biến leukotrien và/hoặc chất chủ vận beta hoạt động kéo dài, vẫn còn một nhóm bệnh nhân mắc bệnh hen nghiêm trọng mà bệnh này không được kiểm soát bằng các liệu pháp thông thường. Bệnh hen dai dẳng nghiêm trọng được xác định là bệnh mà không được kiểm soát bằng liều cao corticosteroid dạng hít. Mặc dù người mắc bệnh hen nghiêm trọng ước tính chiếm xấp xỉ 5% tổng số người mắc bệnh hen, nhưng họ có nguy cơ mắc bệnh và tử vong cao và chịu trách nhiệm cho việc chia sẻ không cân đối khi sử dụng nguồn lực chăm sóc sức khỏe trong số những người mắc bệnh hen. Vẫn cần có các liệu pháp mới để điều trị cho các bệnh nhân này.

Xytokin là các phân tử truyền tín hiệu gian bào bao gồm chemokin, interferon, interleukin, lymphokin, và yếu tố hoại tử khối u. Xytokin không chỉ quan trọng đối với sự phát triển tế bào bình thường và sự điều hòa miễn dịch bình thường mà còn đối với bệnh trung gian miễn dịch và góp phần vào sự phát triển của các tế bào ác tính. Mức xytokin tăng cao liên quan đến bệnh lý của viêm do hen. Ví dụ, các liệu pháp dựa trên kháng thể hướng đích interleukin (IL)-5, và 13 được thể hiện để tạo ra lợi ích

lâm sàng ở nhóm bệnh nhân mắc bệnh hen nghiêm trọng. Trong số các xytokin liên quan đến viêm do hen, nhiều xytokin hoạt động qua con đường truyền tín hiệu phụ thuộc vào họ Janus của tyrosin kinaza (JAK), truyền tín hiệu qua họ chất biến đổi tín hiệu và chất hoạt hóa phiên mã (Signal Transducer and Activator of Transcription - STAT) của các yếu tố phiên mã. Xytokin liên quan đến viêm do hen truyền tín hiệu thông qua con đường JAK-STAT bao gồm IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-23, IL-31, IL-27, lymphopoietin mô đệm tuyến ức (thymic stromal lymphopoietin - TSLP), interferon- γ (IFN γ) và yếu tố kích thích cụm bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - GM-CSF).

Họ JAK bao gồm bốn thành viên, JAK1, JAK2, JAK3, và tyrosin kinaza 2 (TYK2). Liên kết của xytokin với thụ thể xytokin phụ thuộc JAK gây ra sự dime hóa thụ thể dẫn đến sự phosphoryl hóa của các nhóm tyrosin trên JAK kinaza, ảnh hưởng đến sự hoạt hóa JAK. JAK đã phosphoryl hóa, quay trở lại, liên kết và phosphoryl hóa các protein STAT khác nhau mà dime hóa, nội bộ hóa trong nhân tế bào và điều chỉnh trực tiếp sự phiên mã gen, dẫn đến các tác dụng hướng xuôi liên quan đến bệnh viêm trong số các tác dụng khác. JAK thường liên kết với thụ thể xytokin theo cặp là đồng dime hoặc dị dime. Xytokin cụ thể liên quan đến việc kết cặp JAK cụ thể. Một trong số bốn thành viên của họ JAK liên quan đến việc truyền tín hiệu của ít nhất một trong số các xytokin liên quan đến viêm do hen. Kết quả là, chất ức chế hóa học bằng hoạt động theo khung chống lại tất cả thành viên của họ JAK có thể điều chỉnh phạm vi rộng con đường trước khi viêm mà góp phần vào bệnh hen nghiêm trọng.

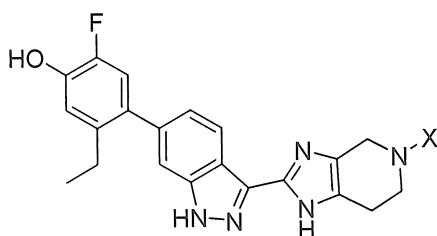
Tuy nhiên, tác dụng kháng viêm rộng của các chất ức chế này có thể ức chế chức năng tế bào miễn dịch bình thường, dẫn đến nguy cơ lây nhiễm tiềm năng tăng. Bằng chứng của nguy cơ lây nhiễm tăng được quan sát với tofacitinib chất ức chế JAK, được dùng liều qua miệng để điều trị viêm khớp dạng thấp. Ở bệnh hen, viêm khu trú ở đường hô hấp. Viêm đường khí là đặc trưng của các bệnh hô hấp khác ngoài bệnh hen. Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease - COPD), bệnh xơ nang (cystic fibrosis - CF), bệnh viêm phổi khu trú, bệnh phổi kẽ (bao gồm bệnh xơ hóa phổi tự phát), tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp cấp tính, viêm phế quản, bệnh tràn khí, và tắc viêm tiểu phế quản cũng là bệnh đường hô hấp trong đó sinh lý bệnh học được cho là liên quan đến xytokin tín hiệu JAK.

Việc dùng khu trú chất ức chế JAK cho phổi bằng cách hít tạo ra tiềm năng có hiệu quả điều trị bằng việc phân phối chất chống xytokin tiềm năng trực tiếp đến vị trí hoạt động, hạn chế tiếp xúc toàn thân và do đó hạn chế tiềm năng ức chế miễn dịch toàn thân gây bất lợi. Vẫn cần chất ức chế JAK tiềm năng thích hợp để dùng khu trú cho phổi để điều trị bệnh hô hấp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có hoạt tính làm chất ức chế JAK kinaza, được phẩm chứa hợp chất này và quy trình điều chế hợp chất này.

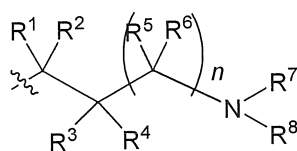
Cụ thể, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

X là nhóm có công thức (II):



(II)

n là 0 hoặc 1;

R¹ là hydro hoặc C₁₋₃alkyl;

R² là hydro hoặc C₁₋₃alkyl;

R³ là hydro hoặc C₁₋₃alkyl;

hoặc R² và R³ cùng với nhau tạo ra C₂₋₄alkylen;

hoặc, khi n là 1, R^3 được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}alkyl$, halo, $-C(O)OC_{1-3}alkyl$, và $C_{1-3}alkyl$, trong đó $C_{1-3}alkyl$ tùy ý được thế bằng $-OH$;

R^4 là hydro hoặc $C_{1-3}alkyl$;

R^5 được chọn từ hydro, $C_{1-3}alkyl$, $-C(O)OC_{1-3}alkyl$, và phenyl;

hoặc khi n là 1, R^2 và R^5 cùng với nhau tạo ra $C_{1-3}alkylen$;

R^6 là hydro hoặc $C_{1-3}alkyl$;

R^7 là hydro hoặc $C_{1-3}alkyl$,

hoặc khi n là 0, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra $C_{1-3}alkylen$, hoặc

R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra $C_{2-4}alkylen$ hoặc

$C_1alkylen-O-C_2alkylen$;

hoặc khi n là 1, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra $C_2alkylen$, tùy ý được thế bằng $C_{1-3}alkyl$ hoặc R^x ,

hoặc R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra $C_{1-3}alkylen$ hoặc

$-O-C_2alkylen$;

R^8 được chọn từ

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng $-CN$, phenyl hoặc $C_{3-6}xycloalkyl$;

(c) $C_{2-6}alkyl$, trong đó $C_{2-6}alkyl$ tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế được chọn từ $-OH$, $-OC_{1-3}alkyl$, $-CN$, $-SC_{1-3}alkyl$, phenyl, $C_{3-6}xycloalkyl$, halo, và tùy ý, ngoài ra bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra $C_{2-3}alkylen$;

(d) $C_{3-6}xycloalkyl$, trong đó $C_{3-6}xycloalkyl$ tùy ý được thế bằng $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-3}alkyl$, hoặc $C_{1-3}alkyl$, trong đó $C_{1-3}alkyl$ tùy ý được thế bằng $-OC_{1-3}alkyl$ hoặc bằng một hoặc hai halo,

(e) oxetanyl,

(f) tetrahydropyranyl,

(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit, và

(h) phenyl,

hoặc R^7 và R^8 cùng với nhau tạo ra C_{3-5} alkylen hoặc C_2 alkylen-O- C_2 alkylen;

trong đó C_{3-5} alkylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai R^x ;

R^x được chọn từ -OH, -CN, -OC₁₋₃alkyl, halo, phenyl, và C₁₋₃alkyl trong đó C₁₋₃alkyl tùy ý được thế bằng -OC₁₋₃alkyl hoặc -OH, hoặc

hai phần tử thế R^x cùng với nhau tạo ra C₁₋₅alkylen hoặc -CH₂OCH₂-,

hoặc khi n là 1 và R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C₂alkylen, R^4 và phần tử thế R^x trên C₂alkylen cùng với nhau tạo ra C₂alkylen;

với điều kiện là hai phần tử thế R^x trên cùng nguyên tử cacbon không cùng là flo, và

với điều kiện là khi R^x được gắn với nguyên tử cacbon bên cạnh nguyên tử nitơ, R^x không phải -OH, -OC₁₋₃alkyl, hoặc halo;

hoặc muối được dụng của nó.

Như được sử dụng sau đây, cụm từ “hợp chất có công thức (I)” nghĩa là hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó; nghĩa là, cụm từ này nghĩa là hợp chất có công thức (I) ở dạng bazơ tự do hoặc ở dạng muối được dụng trừ khi được chỉ ra khác.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế và chất mang được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất cụ thể có công thức (I) là hydrat bazơ tự do tinh thể. Hydrat tinh thể của 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol được phát hiện có nhiệt độ nóng chảy nằm trong khoảng từ khoảng 206°C đến khoảng 216°C, thường nằm trong khoảng từ khoảng 209°C đến khoảng 214°C, bắt đầu phân hủy ở nhiệt độ khoảng 245°C, và để thể hiện sự thay đổi khối lượng nhỏ hơn khoảng 0,12% khi tiếp xúc với khoảng độ ẩm tương đối nằm trong khoảng 5% đến khoảng 90% ở nhiệt độ trong phòng.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hô hấp, cụ thể, bệnh hen, ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm việc dùng cho động vật có vú lượng cho

hiệu quả điều trị của hợp chất hoặc của dược phẩm theo sáng chế. Theo các khía cạnh tách rời và riêng rẽ, sáng chế cũng đề xuất quy trình tổng hợp và các hợp chất trung gian được mô tả trong bản mô tả này, là hữu ích để điều chế hợp chất theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng trong liệu pháp y học, cũng như việc sử dụng hợp chất theo sáng chế trong sản xuất dạng chế phẩm hoặc thuốc để điều trị bệnh hô hấp ở động vật có vú.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các khía cạnh khác nhau theo sáng chế được minh họa bằng việc tham khảo đến các hình vẽ kèm theo.

Fig.1 thể hiện mẫu phổ nhiễu xạ bột tia X (powder x-ray diffraction - PXRD) của hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol.

Fig.2 thể hiện biểu đồ nhiệt phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry - DSC) của hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol.

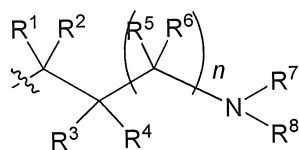
Fig.3 thể hiện đồ thị phân tích nhiệt trọng (thermal gravimetric analysis - TGA) của hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol.

Fig.4 thể hiện biểu đồ đẳng nhiệt thấm hút độ ẩm động (dynamic moisture sorption - DMS) của hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol được quan sát ở nhiệt độ khoảng 25°C.

Mô tả chi tiết sáng chế

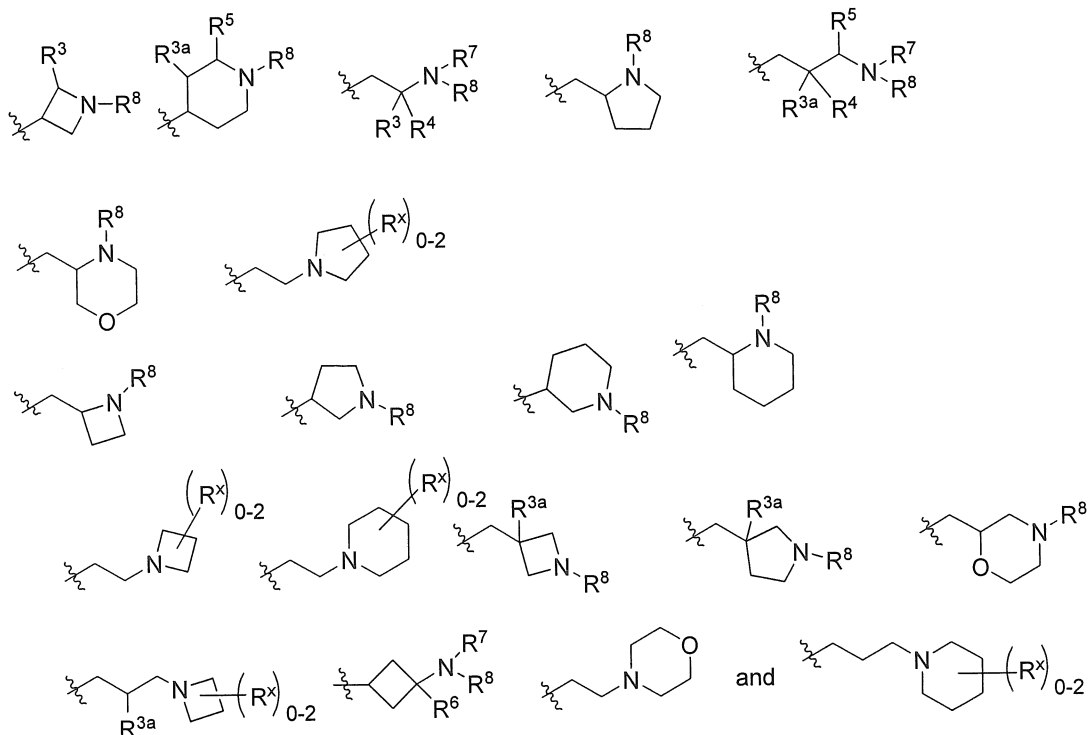
Theo các khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chất ức chế JAK kinaza có công thức (I), muối dược dụng của nó, và các hợp chất trung gian để điều chế của nó. Các phần tử thể và các giá trị dưới đây được dự định để cung cấp các ví dụ tiêu biểu về các khía cạnh khác nhau của sáng chế. Các giá trị tiêu biểu này được dự định để xác định các khía cạnh này và được dự định để loại trừ các giá trị khác hoặc hạn chế phạm vi của sáng chế.

Theo khía cạnh cụ thể X là nhóm có công thức (II):



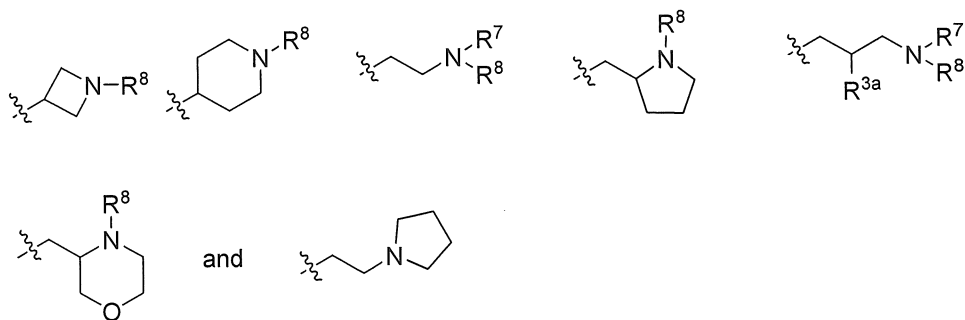
(II)

Theo khía cạnh khác cụ thể, X được chọn từ

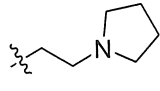


trong đó các biến R^4 , R^5 , R^7 , R^8 , và R^x được xác định như trong công thức (I) hoặc được xác định như sau đây, R^3 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl, và R^{3a} được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OH$. Theo khía cạnh khác, R^{3a} được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl,

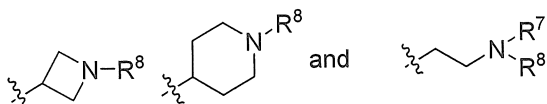
Theo khía cạnh khác, X được chọn từ:



trong đó các biến R^{3a} , R^7 , và R^8 được xác định như được mô tả ngay ở trên

hoặc trong đó, cụ thể, R^{3a} là halo và vòng pyrrolidin của  tùy ý được thế bằng C_{1-3} alkyl.

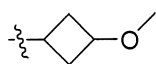
Theo khía cạnh khác, X được chọn từ:



trong đó:

R^7 là C_{1-3} alkyl; và

R^8 được chọn từ hydro, methyl, C_{2-4} alkyl, C_{3-4} cycloalkyl, và



Theo khía cạnh cụ thể n là 0 hoặc 1. Theo khía cạnh khác cụ thể, n là 0. Theo khía cạnh cụ thể khác, n là 1.

Theo khía cạnh cụ thể, R^1 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl. Theo khía cạnh khác cụ thể, R^1 là hydro.

Theo khía cạnh cụ thể, R^2 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl. Theo khía cạnh khác cụ thể, R^2 là hydro.

Theo khía cạnh cụ thể, R^3 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl; hoặc R^2 và R^3 cùng với nhau tạo ra C_{2-4} alkylen; hoặc, khi n là 1, R^3 được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OH$;

Theo khía cạnh khác cụ thể, R^3 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl; hoặc, khi n là 1, R^3 được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl;

Theo khía cạnh cụ thể, R^2 và R^3 cùng với nhau tạo ra C_3 alkylen;

Các giá trị cụ thể của R^3 bao gồm hydro, $-CH_3$, $-OH$, $-CH_2OH$, và flo.

Theo khía cạnh cụ thể, R^4 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl. Theo khía cạnh khác cụ thể, R^4 là hydro.

Theo khía cạnh cụ thể, R^5 được chọn từ hydro, C_{1-3} alkyl, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và phenyl, hoặc khi n là 1, R^2 và R^5 cùng với nhau tạo ra C_{1-3} alkylen.

Theo khía cạnh khác cụ thể, R^2 và R^5 cùng với nhau tạo ra C_1 alkylen.

Theo khía cạnh khác cụ thể, R^5 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl. Theo khía cạnh cụ thể khác, R^5 là hydro.

Theo khía cạnh cụ thể, R^6 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl. Theo khía cạnh khác cụ thể, R^6 là hydro.

Theo khía cạnh cụ thể, R^7 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl hoặc khi n là 0, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{1-3} alkylen, hoặc R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{2-4} alkylen hoặc C_1 alkylen-O- C_2 alkylen; hoặc khi n là 1, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen, tùy ý được thế bằng C_{1-3} alkyl, hoặc R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{1-3} alkylen hoặc -O- C_2 alkylen. Theo khía cạnh khác cụ thể, khi n là 1, R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra -O- C_2 alkylen.

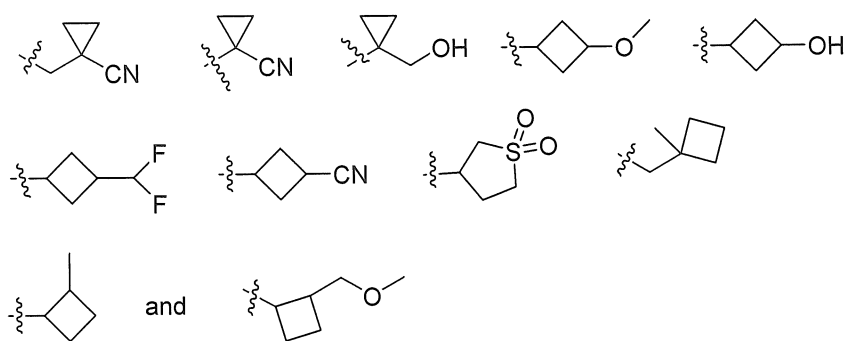
Theo khía cạnh khác cụ thể, R^7 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl.

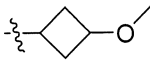
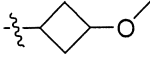
Theo khía cạnh cụ thể, R^8 được chọn từ (a) hydro, (b) metyl, tùy ý được thế bằng $-CN$, phenyl hoặc C_{3-6} xycloalkyl; (c) C_{2-6} alkyl, trong đó C_{2-6} alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế được chọn từ $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, $-CN$, $-SC_{1-3}$ alkyl, phenyl, C_{3-6} xycloalkyl, halo, và tùy ý, ngoài ra bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_{2-3} alkylen; (d) C_{3-6} xycloalkyl, trong đó C_{3-6} xycloalkyl tùy ý được thế bằng $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-3}$ alkyl, hoặc C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OC_{1-3}$ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo, (e) oxetanyl, (f) tetrahydropyranyl, (g) tetrahydrothiophenyl

1,1-dioxit, và (h) phenyl; hoặc R^7 và R^8 cùng với nhau tạo ra C_{3-5} alkylen hoặc C_2 alkylen-O- C_2 alkylen.

Theo khía cạnh khác cụ thể, R^8 được chọn từ (a) hydro, (b) metyl, tùy ý được thế bằng C_{3-6} xycloalkyl; (c) C_{2-4} alkyl, trong đó C_{2-4} alkyl tùy ý được thế bằng một phần tử thế được chọn từ -OH, -OC₁₋₃alkyl, -CN, -SC₁₋₃alkyl, C_{3-4} xycloalkyl, và halo và tùy ý, ngoài ra, bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen; (d) C_{3-4} xycloalkyl, trong đó C_{3-4} xycloalkyl tùy ý được thế bằng -OH, -CN, -OC₁₋₃alkyl, hoặc C₁₋₃alkyl, trong đó C₁₋₃alkyl tùy ý được thế bằng -OC₁₋₃alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo; (e) oxetanyl; (f) tetrahydropyranyl; và (g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit.

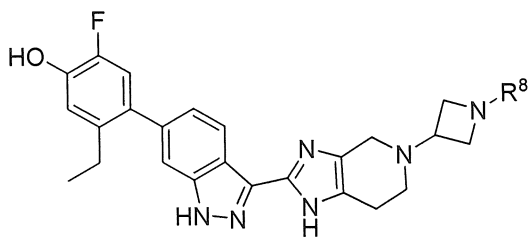
Các giá trị cụ thể của R^8 bao gồm hydro, -CH₃, -C₂H₅, isopropyl, xyclopropyl, xyclobutyl, -CH(CH₃)C₂H₅, -(CH₂)₂CN, -CH₂CH₂F, -CH₂isopropyl, -CH₂xyclopropyl, -(CH₂)₂OH, (CH₂)₂₋₃OCH₃, -(CH₂)₂₋₃SCH₃, -(CH₂)₂CH(CH₃)SCH₃, tetrahydropyran-4-yl, pyridin-4-yl,



Theo các khía cạnh cụ thể khác, R^8 được chọn từ hydro, metyl, C_{2-4} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl, và ; và hydro, metyl, C_{2-4} alkyl và .

Theo khía cạnh cụ thể khác, R^8 được chọn từ hydro, metyl, C_{2-4} alkyl, và C_{3-4} xycloalkyl, hoặc hydro, metyl, C_{2-4} alkyl và C_3 xycloalkyl.

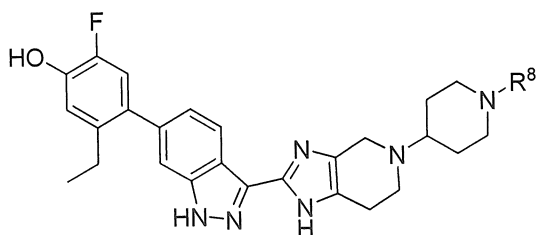
Theo khía cạnh nhất định, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (III):



(III)

trong đó biến R^8 như được xác định trong bản mô tả này.

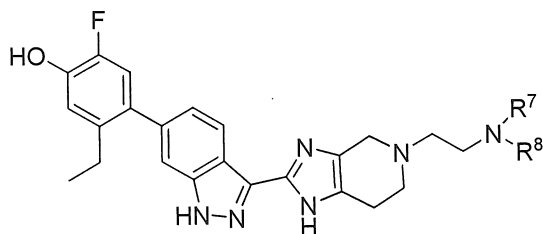
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (IV):



(IV)

trong đó biến R^8 như được xác định trong bản mô tả này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (V):



(V)

trong đó các biến R^7 và R^8 như được xác định trong bản mô tả này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ các hợp chất dưới đây

5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

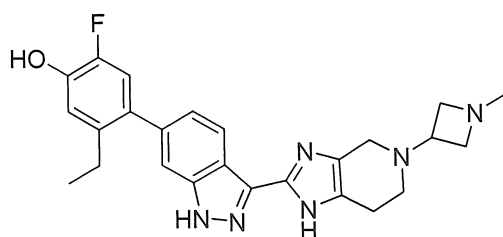
4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol,

- 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-isopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- 4-(3-(5-(1-(sec-butyl)azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol,
- 4-(3-(5-(1-xyclopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol,
- 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- 4-(3-(5-(2-(dimethylamino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol,
- 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(2-((3-metoxycyclobutyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- 5-ethyl-4-(3-(5-(2-(ethyl(methyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-2-flophenol,
- 4-(3-(5-(2-(sec-butyl(methyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol,
- (S)-5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-((1-methylpyrrolidin-2-yl)methyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- 4-(3-(5-(3-(dimethylamino)-2-flopropyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol,
- (S)-5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- (R)-5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- (S)-5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(2-(2-methylpyrrolidin-1-yl)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,
- và muối được dùng của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất theo các ví dụ 1-18 và các bảng 1-19 dưới đây.

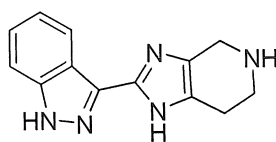
Theo khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất hợp chất 3-19, 3-28, và 3-29, được bộc lộ trong bảng 3 mà không được bao gồm trong công thức (I).

Các cấu trúc hóa học được đặt tên trong bản mô tả này theo công ước IUPAC như được thực hiện trong phần mềm ChemDraw (PerkinElmer, Inc., Cambridge, MA). Ví dụ, hợp chất theo ví dụ 1:

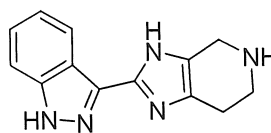


được thiết kế là 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol.

Hơn nữa, phần imidazo của gốc tetrahydroimidazopyridin trong cấu trúc có công thức (I) tồn tại ở dạng hỗn biến, được minh họa dưới đây đối với đoạn của hợp chất theo ví dụ 1



A



B

Theo công ước IUPAC, các chất đại diện này tạo ra việc đánh số các nguyên tử khác nhau của phần imidazol: 2-(1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (cấu trúc A) với 2-(1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-3H-imidazo[4,5-c]pyridin (cấu trúc B). Được hiểu rằng mặc dù các cấu trúc được thể hiện, hoặc được đặt tên, ở dạng cụ thể, sáng chế cũng bao gồm chất hỗn biến của nó.

Các hợp chất theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều tâm bất đối và do đó, các hợp chất này (và các hợp chất trung gian của nó) có thể tồn tại là hỗn hợp raxemic; chất đồng phân lập thể tinh khiết (nghĩa là, chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang); hỗn hợp giàu chất đồng phân lập thể và các hợp

chất tương tự. Các hợp chất bất đối được thể hiện và được đặt tên trong bản mô tả này không có cấu trúc hóa học lập thể xác định ở tâm bất đối được dự định để bao gồm bất kỳ hoặc tất cả các biến đổi chất đồng phân lập thể có thể ở tâm lập thể không được xác định trừ khi được chỉ ra khác. Việc mô tả hoặc đặt tên chất đồng phân lập thể cụ thể nghĩa là tâm lập thể được chỉ ra có cấu trúc hóa học lập thể được thiết kế với việc hiểu rằng lượng nhỏ các chất đồng phân lập thể khác có thể cũng có mặt trừ khi được chỉ ra khác, với điều kiện là lợi ích của hợp chất được mô tả hoặc được đặt tên không bị loại trừ bởi sự có mặt của chất đồng phân lập thể khác.

Hợp chất có công thức (I) cũng bao gồm nhiều nhóm bazơ (ví dụ, các nhóm amino) và do đó, các hợp chất này có thể tồn tại là bazơ tự do hoặc ở các dạng muối khác nhau, như a dạng muối được proton hóa một lần, dạng muối được proton hóa hai lần, dạng muối được proton hóa ba lần, hoặc hỗn hợp chứa chúng. Tất cả các dạng này được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, trừ khi được chỉ ra khác.

Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất đánh dấu đồng vị có công thức (I), nghĩa là, hợp chất có công thức (I) trong đó một nguyên tử được thay thế hoặc được làm giàu bằng một nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng khối lượng nguyên tử khác khối lượng nguyên tử mà chiếm ưu thế về bản chất. Các ví dụ về đồng vị mà có thể được kết hợp vào hợp chất có công thức (I) bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{36}Cl , và ^{18}F . Cần quan tâm đặc biệt là hợp chất có công thức (I) được làm giàu trong triti hoặc cacbon-14, là các hợp chất có thể được sử dụng, ví dụ, trong các nghiên cứu phân bố trong mô. Ngoài ra cần quan tâm cụ thể là hợp chất có công thức (I) được làm giàu trong deuteri đặc biệt ở vị trí chuyển hóa, là hợp chất được mong đợi để có độ ổn định chuyển hóa cao hơn. Ngoài ra cần quan tâm cụ thể là hợp chất có công thức (I) được làm giàu trong positron phát xạ đồng vị, như ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O và ^{13}N , là hợp chất có thể được sử dụng, ví dụ, trong các nghiên cứu Chụp cắt lớp bằng đồng vị phát xạ positron (Positron Emission Tomography - PET).

Định nghĩa

Khi mô tả sáng chế này bao gồm các khía cạnh và phương án khác nhau của nó, các thuật ngữ dưới đây có nghĩa dưới đây, trừ khi được chỉ ra khác.

Thuật ngữ "alkyl" nghĩa là nhóm hydrocacbon bão hòa hóa trị một có thể là mạch thẳng hoặc nhánh hoặc dạng kết hợp của chúng. Trừ khi được xác định khác, các nhóm alkyl này thường chứa từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon. Các nhóm alkyl tiêu biểu bao gồm, bằng ví dụ, metyl (Me), etyl (Et), n-propyl (n-Pr) hoặc (nPr), isopropyl (i-Pr) hoặc (iPr), n-butyl (n-Bu) hoặc (nBu), sec-butyl, isobutyl, tert-butyl (t-Bu) hoặc (tBu), n-pentyl, n-hexyl, 2,2-dimethylpropyl, 2-methylbutyl, 3-methylbutyl, 2-ethylbutyl, 2,2-dimethylpentyl, 2-propylpentyl, và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ "alkylen" nghĩa là nhóm hydrocacbon bão hòa hóa trị hai có thể là mạch thẳng hoặc nhánh hoặc dạng kết hợp của chúng. Trừ khi được xác định khác, các nhóm alkyl này thường chứa từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon. Các nhóm alkylen tiêu biểu bao gồm, bằng ví dụ $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, và các nhóm tương tự.

Khi số nguyên tử cacbon cụ thể được dự định đối với thuật ngữ cụ thể, thì số nguyên tử cacbon này được thể hiện trước thuật ngữ đó. Ví dụ, thuật ngữ " C_{1-3} alkyl" nghĩa là nhóm alkyl có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon trong đó các nguyên tử cacbon này ở cấu hình có thể chấp nhận được về mặt hóa học bất kỳ, bao gồm cấu hình mạch thẳng hoặc nhánh.

Thuật ngữ "xycloalkyl" nghĩa là nhóm vòng cacbon bão hòa hóa trị một có thể là một vòng hoặc nhiều vòng. Trừ khi được xác định khác, các nhóm xycloalkyl này thường chứa từ 3 đến 10 nguyên tử cacbon. Các nhóm xycloalkyl tiêu biểu bao gồm, bằng ví dụ, xyclopropyl (cPr), xyclobutyl (cBu), xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, xyclooctyl, adamantyl, và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ "dị vòng", "tính dị vòng", hoặc "vòng dị vòng" nghĩa là nhóm không thơm vòng bão hòa hóa trị một hoặc nhóm không thơm vòng chưa bão hòa một phần, có tổng cộng từ 3 đến 10 nguyên tử vòng, trong đó vòng này chứa từ 2 đến 9 nguyên tử vòng cacbon và từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại trong vòng được chọn từ nitơ, oxy, và lưu huỳnh. Các nhóm dị vòng tiêu biểu có thể là một vòng hoặc nhiều vòng (nghĩa là, được dung hợp hoặc có cầu). Các nhóm dị vòng bao gồm, bằng ví dụ, pyrrolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, imidazolidinyl, morpholinyl, thiomorpholyl, indolin-3-yl, 2-imidazolinyl, tetrahydropyranyl, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-yl, quinuclidinyl, 7-azanorbornanyl, nortropanyl, và các nhóm tương tự, trong đó điểm

gắn là ở nguyên tử vòng cacbon hoặc nitơ có sẵn bất kỳ. Trong hoàn cảnh làm cho điểm gắn của nhóm dị vòng rõ ràng, các nhóm này có thể được đề cập đến bằng cách khác là loại không hóa trị, nghĩa là pyrrolidin, piperidin, piperazin, imidazol, tetrahydropyran v.v.

Thuật ngữ “halo” nghĩa là flo, clo, brom hoặc iot.

Thuật ngữ “solvat” nghĩa là phức chất hoặc hợp phần được tạo ra bằng một hoặc nhiều phân tử của chất tan, nghĩa là hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dung của nó, và một hoặc nhiều phân tử của dung môi. Các solvat này thường là các chất rắn tinh thể có tỷ lệ phân tử của chất tan và dung môi được cố định đáng kể. Các dung môi tiêu biểu bao gồm bằng ví dụ, nước, metanol, etanol, isopropanol, axit axetic, và các chất tương tự. Khi dung môi này là nước, solvat được tạo ra cụ thể là hydrat.

Thuật ngữ “lượng cho hiệu quả điều trị” nghĩa là lượng đủ để tác dụng điều trị khi được dùng cho bệnh nhân cần điều trị.

Thuật ngữ “điều trị” như được sử dụng trong bản mô tả này nghĩa là điều trị bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học (như bệnh hô hấp), ở bệnh nhân, như động vật có vú (cụ thể là người) mà bao gồm một hoặc nhiều dưới đây:

(a) ngăn ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học từ khi xuất hiện, nghĩa là, ngăn ngừa sự tái phát của bệnh hoặc tình trạng y học hoặc điều trị phòng ngừa cho bệnh nhân mà bị ảnh hưởng bởi bệnh hoặc tình trạng y học;

(b) cải thiện bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học, nghĩa là, loại trừ hoặc gây ra sự thoái hóa của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học ở bệnh nhân, bao gồm việc chống lại tác dụng của các chất điều trị khác;

(c) ngăn ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học, nghĩa là, làm chậm hoặc làm ngừng sự phát triển của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học ở bệnh nhân; hoặc

(d) làm giảm bớt các triệu chứng của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng y học ở bệnh nhân.

Thuật ngữ “muối được dụng” nghĩa là muối có thể được chấp nhận để dùng cho bệnh nhân hoặc động vật có vú, như người (ví dụ, muối có độ an toàn cho động vật có vú chấp nhận được đối với chế độ liều nhất định). Muối được dụng tiêu biểu bao gồm muối của axit axetic, ascorbic, benzensulfonic, benzoic, camphorsulfonic, citric, etansulfonic, edisyllic, fumaric, gentisic, gluconic, glucoronic, glutamic, hipuric, hydrobromic, clohydric, isethionic, lactic, lactobionic, maleic, malic, mandelic, metansulfonic, mucic, naphtalensulfonic, naphtalen-1,5-disulfonic, naphtalen-2,6-disulfonic, nicotinic, nitric, orotic, pamoic, pantothenic, phosphoric, suxinic, sulfuric, tartaric, p-toluensulfonic và xinafoic, và các muối tương tự.

Thuật ngữ “muối của nó” nghĩa là hợp chất được tạo ra khi hydro của axit được thay thế bằng cation, như cation kim loại hoặc cation hữu cơ và các chất tương tự. Ví dụ, cation này có thể là dạng được proton hóa của hợp chất có công thức (I), nghĩa là dạng mà một hoặc nhiều các nhóm amino được proton hóa bằng axit. Thông thường, muối này là muối được dụng, mặc dù điều này không được yêu cầu đối với các muối của các hợp chất trung gian mà không được dự định để dùng cho bệnh nhân.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ amino" nghĩa là nhóm bảo vệ thích hợp để ngăn ngừa các phản ứng không mong muốn ở amino nitơ. Các nhóm bảo vệ amino tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, formyl; các nhóm axyl, ví dụ các nhóm alkanoyl, như axetyl và tri-floaxetyl; các nhóm alkoxycarbonyl, như tert butoxycarbonyl (Boc); các nhóm arylmethoxycarbonyl, như benzyloxycarbonyl (Cbz) và 9-florenylmethoxycarbonyl (Fmoc); các nhóm arylmetyl, như benzyl (Bn), trityl (Tr), và 1,1-di-(4'-methoxyphenyl)metyl; các nhóm silyl, như trimetylsilyl (TMS), tert-butylldimetylsilyl (TBDMS), [2-(trimetylsilyl)etoxy]metyl (SEM); và các nhóm tương tự. Nhiều nhóm bảo vệ, và việc đưa vào và loại bỏ của chúng, như được mô tả bởi T. W. Greene và P.G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York

Quy trình tổng hợp chung

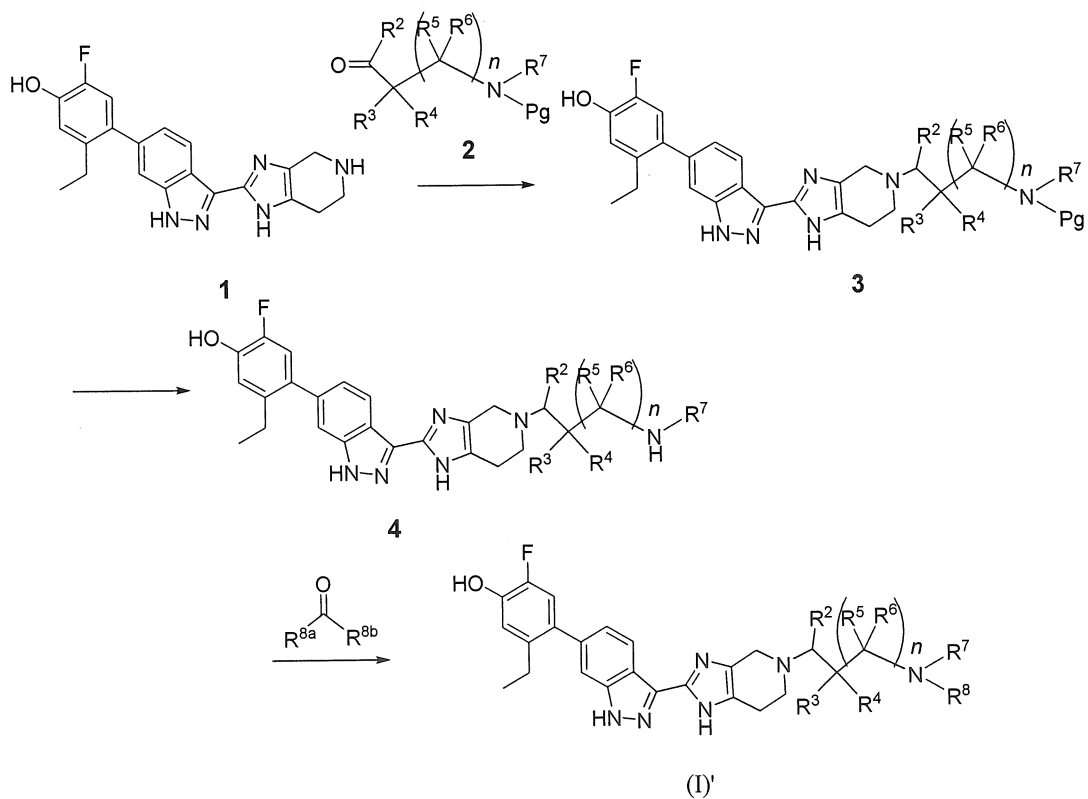
Hợp chất của sáng chế, và các hợp chất trung gian của nó, có thể được điều chế theo phương pháp và quy trình chung dưới đây bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu và chất phản ứng có thể mua được trên thị trường hoặc được điều chế thường xuyên. Các phần tử thế và các biến (ví dụ, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , v.v.) được sử dụng trong

các sơ đồ dưới đây có nghĩa giống nhau như được xác định trong bản mô tả này trừ khi được chỉ ra khác. Ngoài ra, hợp chất có nguyên tử axit hoặc bazơ hoặc nhóm chức có thể được sử dụng hoặc có thể được tạo ra là muối trừ khi được chỉ ra khác (trong một số trường hợp, việc sử dụng muối trong phản ứng cụ thể sẽ yêu cầu chuyển hóa muối thành dạng không phải là muối, ví dụ, bazơ tự do, bằng cách sử dụng các quy trình thông thường trước khi thực hiện phản ứng).

Mặc dù phương án cụ thể theo sáng chế có thể được thể hiện hoặc được mô tả theo các quy trình dưới đây, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra rằng các phương án hoặc các khía cạnh khác theo sáng chế cũng có thể được chuẩn bị bằng cách sử dụng các quy trình này hoặc bằng cách sử dụng các phương pháp, các chất phản ứng, và các nguyên liệu ban đầu khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Cụ thể, sẽ được đánh giá cao là hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều quy trình trong đó các chất phản ứng được kết hợp theo các thứ tự khác nhau để tạo ra các hợp chất trung gian khác nhau đến khi tạo ra các sản phẩm cuối cùng.

Phương pháp điều chế chung hợp chất cuối cùng theo sáng chế sử dụng hợp chất trung gian chính 1 như được minh họa trong sơ đồ 1. Các biến R^2 , R^3 , R^4 , và R^7 được xác định như trong công thức (I), R^1 là hydro, Pg thể hiện nhóm bảo vệ amino, điển hình Boc, và R^{8a} và R^{8b} được xác định sao cho nhóm R^8 được tạo ra khi hoàn thành phản ứng, nghĩa là $R^{8a}-C(H)-R^{8b}$ là R^8 . Ví dụ, khi R^8 là methyl, mỗi biến R^{8a} và R^{8b} là hydro sao cho $R^{8a}-C(=O)-R^{8b}$ là formaldehyt. Đối với R^8 được xác định là isopropyl, mỗi R^{8a} và R^{8b} là methyl sao cho $R^{8a}-C(=O)-R^{8b}$ là axeton.

Sơ đồ 1

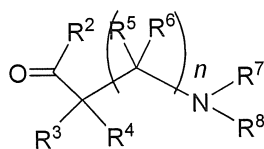


Trong sơ đồ 1, hợp chất trung gian **1** được alkyl hóa N khử bằng phản ứng với aldehyt hoặc keton **2** để tạo ra hợp chất trung gian được bảo vệ **3**. Phản ứng này thường được thực hiện bằng cách tiếp xúc hợp chất trung gian **1** nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 2 đương lượng của hợp chất **2** trong chất pha loãng trơ thích hợp, như diclometan, metanol, tetrahydrofuran, hoặc dimetylformamit trong sự có mặt của chất khử nằm trong khoảng từ khoảng 2 và khoảng 4 đương lượng. Axit axetic nằm trong khoảng từ khoảng 2 đến khoảng 3 đương lượng có thể tùy ý được bao gồm trong phản ứng này. Phản ứng này được thực hiện thường ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 20°C đến khoảng 40°C trong khoảng 2 đến khoảng 48 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn toàn. Các chất khử thông thường bao gồm natri triaxetoxibohydrit và natri xyanobohydrit.

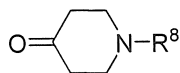
Nhóm bảo vệ được loại khỏi hợp chất trung gian **3** dưới điều kiện điển hình. Ví dụ, nhóm Boc có thể được loại bỏ bằng việc xử lý tiêu chuẩn bằng axit, thường là axit trifloaxetic hoặc axit clohydric trong dioxan để tạo ra hợp chất trung gian **4** được

phản ứng với hợp chất có công thức $R^{8a}-C(=O)-R^{8b}$ dưới điều kiện alkyl hóa khử tương tự như ở bước đầu tiên để tạo ra hợp chất cuối cùng (I)'.

Đối với các hợp chất trong đó nhóm có công thức (II) bao gồm nitơ bậc ba, ví dụ, trong đó R^7 và R^8 cùng với nhau tạo ra C_{3-5} alkylen hoặc C_2 alkylen-O- C_2 alkylen, hợp chất cuối cùng có thể được điều chế trực tiếp bằng phản ứng của hợp chất trung gian **1** với hợp chất trung gian **2'**

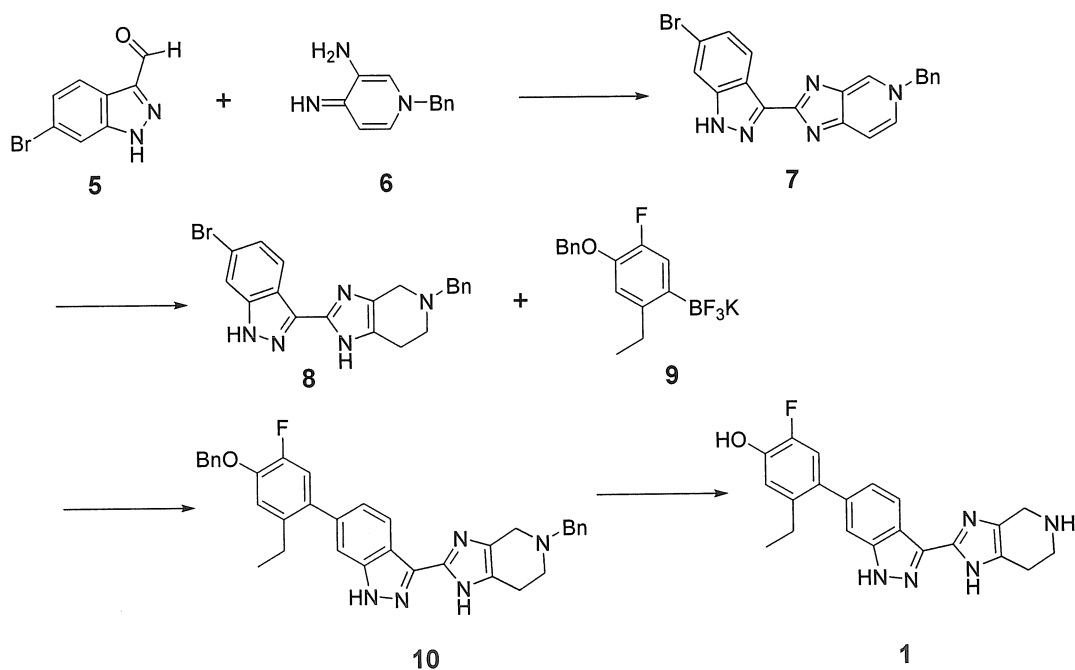
**2'**

trong đó nhóm bảo vệ amino Pg của hợp chất có công thức **2** được thay thế bằng R^8 . Ví dụ, như được minh họa trong các ví dụ 6 và 17 dưới đây, hợp chất cuối cùng có công thức (IV) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất trung gian **1** với hợp chất có công thức **2''**:

**2''**

Quy trình điều chế hữu ích hợp chất trung gian **1** được minh họa trong sơ đồ 2.

Sơ đồ 2



Như được mô tả chi tiết trong phần điều chế 9 và 10, và cũng trong 13 và 14, dưới đây, bromindazol aldehyt **5** được phản ứng với hợp chất imin được bảo vệ benzyl **6** để tạo ra hợp chất trung gian **7**. Phản ứng thông thường được thực hiện trong sự có mặt của natri bisulfite, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 130°C đến khoảng 140°C trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 6 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn toàn. Sản phẩm này có thể được phân tách bằng sự kết tủa từ hỗn hợp phản ứng sau đó bazơ tự do và tái tinh thể. Hợp chất **7** được khử bằng cách sử dụng chất khử như natri bohydrit để tạo ra hợp chất **8**. Phản ứng này được thực hiện một cách có lợi trong chất pha loãng bao gồm metyltetrahydrofuran, metanol, và nước.

Việc phân tách sản phẩm **8** này là bazơ tự do hoặc là muối hydroclorua tạo ra sản phẩm có độ tinh khiết tốt. Hợp chất trung gian **8** được kết hợp với phenyltrifloborat **9** được bảo vệ dưới điều kiện kết cặp Suzuki-Miyaura điển hình để tạo ra hợp chất trung gian **10**. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ cao trong sự có mặt của chất xúc tác paladi. Tùy ý, phản ứng kết cặp Suzuki được thúc đẩy bằng cách cả chất bổ sung được điều chế bằng phản ứng của bis(pinacolato)bo với kali hydro diflorua, như được mô tả trong phần điều chế 16. Cuối cùng, các nhóm

benzyl của hợp chất trung gian **10** được loại bỏ dưới điều kiện điển hình, ví dụ trong khí hydro trong sự có mặt của chất xúc tác paladi, để tạo ra hợp chất trung gian **1**.

Hợp chất imin **6** được sử dụng trong bước thứ nhất của sơ đồ 2 được điều chế thông thường bằng phản ứng pyridin diamin với benzyl bromua và được cung cấp như muối hydrobromua. Như được mô tả trong phần điều chế **8**, chất phản ứng Suzuki **9**, được thể hiện trong sơ đồ 2 là muối kali trifloborat có thể được điều chế bằng benzyl bảo vệ 4-brom-5-etyl-2-flophenol bằng phản ứng với benzyl bromua và phản ứng phenol được bảo vệ bởi benzyl với bis(pinacolato)dibor để điều chế bonat mà sau đó phản ứng với kali hydro diflorua để tạo ra hợp chất trung gian **9**. Theo cách khác, hợp chất trung gian bonat có thể được sử dụng thay cho trifloborat **9**.

Ngoài ra, theo khía cạnh về phương pháp, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (I') hoặc muối được dụng của nó, quy trình này bao gồm (a) phản ứng hợp chất có công thức **1** với hợp chất có công thức **2** để tạo ra hợp chất trung gian có công thức **3**, (b) khử bảo vệ hợp chất trung gian **3** để tạo ra hợp chất trung gian **4**, và (c) phản ứng hợp chất trung gian **4** với $R^{8a}-C(=O)-R^{8b}$ để tạo ra hợp chất có công thức (I') hoặc muối được dụng của nó. Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (IV) hoặc muối được dụng của nó, quy trình này bao gồm hợp chất phản ứng có công thức **1** với hợp chất có công thức **2''** để tạo ra hợp chất có công thức (IV) hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh về phương pháp, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức **1**, quy trình này bao gồm (a) phản ứng hợp chất có công thức **8** với hợp chất có công thức **9** để tạo ra hợp chất có công thức **10**, và (b) khử bảo vệ hợp chất có công thức **10** để tạo ra hợp chất có công thức **1**.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức **8** và muối hydroclorua của nó hữu ích trong việc điều chế hợp chất trung gian **1**.

Dạng tinh thể

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hydrat tinh thể của 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Hydrat tinh thể theo sáng chế là bazơ tự do tinh thể của hợp chất theo ví dụ 6. Theo một khía cạnh, hydrat tinh thể được đặc trưng bởi mẫu phổ nhiễu xạ bột tia X (powder x-ray diffraction - PXRD) có các đỉnh nhiễu xạ đáng kể, trong các đỉnh khác, ở các giá trị 2θ bằng $6,20 \pm 0,20$, $9,58 \pm 0,20$, $17,53 \pm 0,20$, $19,28 \pm 0,20$, và $21,51 \pm 0,20$. Hydrat tinh thể có thể còn được đặc trưng bởi mẫu PXRD có hai hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung, bao gồm ba hoặc nhiều và bốn hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung ở giá trị 2θ được chọn từ $10,34 \pm 0,20$, $11,54 \pm 0,20$, $12,77 \pm 0,20$, $13,01 \pm 0,20$, $16,94 \pm 0,20$, $20,61 \pm 0,20$, và $22,10 \pm 0,20$. Theo khía cạnh khác, hydrat tinh thể được đặc trưng bởi mẫu PXRD có các đỉnh nhiễu xạ ở các giá trị 2θ bằng $6,20 \pm 0,20$, $9,58 \pm 0,20$, $10,34 \pm 0,20$, $11,54 \pm 0,20$, $12,77 \pm 0,20$, $13,01 \pm 0,20$, $16,94 \pm 0,20$, $17,53 \pm 0,20$, $19,28 \pm 0,20$, $20,61 \pm 0,20$, $21,51 \pm 0,20$, và $22,10 \pm 0,20$.

Như được biết trong lĩnh vực về phổ nhiễu xạ bột tia X, vị trí đỉnh của phổ PXRD tương đối ít nhạy với các chi tiết thí nghiệm, như các chi tiết về chuẩn bị mẫu và hình dạng dụng cụ, hơn chiều cao đỉnh tương đối. Do đó, theo một khía cạnh, hydrat tinh thể được đặc trưng bởi mô hình phổ nhiễu xạ bột tia X trong đó vị trí đỉnh gần như theo vị trí đỉnh thể hiện trong Fig. 1.

Theo khía cạnh khác, hydrat tinh thể được đặc trưng bởi trạng thái của nó khi tiếp xúc với nhiệt độ cao. Như được chứng minh trong Fig. 2, lượng nhỏ phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry - DSC) được ghi lại ở tốc độ gia nhiệt bằng 10°C mỗi phút thể hiện sự thu nhiệt ngăn cản sự solvat hóa bằng việc khởi đầu ở nhiệt độ khoảng 83°C và đỉnh ở nhiệt độ khoảng 128°C và đỉnh trong dòng nhiệt hấp thụ, được xác định là sự chuyển pha nóng chảy, nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 206°C đến khoảng 216°C , bao gồm nằm trong khoảng từ khoảng 209°C đến khoảng 214°C . Lượng nhỏ phân tích nhiệt trọng (thermal gravimetric analysis - TGA) của Fig. 3 thể hiện việc bắt đầu ngăn cản solvat hóa ở nhiệt độ khoảng 112°C và bắt đầu phân hủy ở nhiệt độ khoảng 250°C . Profin TGA thể hiện sự mất khối lượng khoảng 3,86% ở nhiệt độ 190°C có thể được hiểu là mất nước và so với phần trăm khối lượng theo lý thuyết của nước đối với monohydrat bằng 3,65%. Ngoài ra hydrat tinh thể có mặt được cho là monohydrat.

Hydrat tinh thể được chứng minh là có profin hấp thụ/giải hấp ngược có xu hướng nhỏ khác thường đối với tính hút ẩm. Dạng I được chứng minh là có sự tăng

khối lượng nhỏ hơn khoảng 0,12% ở độ ẩm nằm trong khoảng từ 5% đến 90% độ ẩm tương đối như được thể hiện trong Fig.4. Không quan sát thấy hiện tượng trễ ở hai chu kỳ hấp thụ và giải hấp. Hydrat tinh thể được xem là không hút ẩm.

Hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol được điều chế thông thường bằng sự chuyển hóa thành dạng bột nhão của bột nhão của sản phẩm phản ứng của phản ứng alkyl hóa N khử của hợp chất trung gian có công thức **1** với 1-metylpiperidin-4-on. Sau khi làm ngưng phản ứng alkyl hóa N khử ban đầu bằng ammoniac trong nước, bột nhão tạo thành được pha loãng trong dung môi proton hóa, ví dụ metanol, etanol, rượu isopropylic, hoặc rượu n-propylic, và được gia nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 40°C đến khoảng 60°C trong khoảng 1 đến khoảng 24 giờ hoặc cho đến khi chuyển hóa hoàn toàn thành dạng solvat. Mặc dù nước nóng được bổ sung là chất chống dung môi để kết tủa solvat của sản phẩm phản ứng, được làm mát, ví dụ, đến khoảng 10°C. Chất kết tủa được rửa bằng hỗn hợp 1:1 của nước với dung môi proton hóa. Thông thường, solvat bao gồm chất pha loãng trong đó phản ứng alkyl hóa khử được thực hiện, dung môi proton hóa, và nước.

Chuyển hóa dạng bột nhão thành hydrate tinh thể của sáng chế được thực hiện bằng việc tạo ra bột nhão của solvat được tạo ra như được mô tả ở trên hoặc của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol vô định hình trong chất pha loãng bao gồm từ khoảng 1 đến khoảng 30% thể tích/thể tích nước cùng với dung môi hữu cơ. Các dung môi hữu cơ hữu ích đối với sự chuyển hóa dạng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở metanol, tetrahydrofuran, rượu tert-butylic, axetonitril, isopropylaxetat và axeton. Sự chuyển hóa dạng tùy ý bao gồm việc gia nhiệt, ví dụ việc gia nhiệt ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 60°C trong khoảng 1 giờ đến khoảng 2 ngày hoặc cho đến khi chuyển hóa dạng hoàn toàn. Như được mô tả trong ví dụ 17, metanol là hữu ích làm dung môi proton hóa ở bước đầu tiên trong khi axeton là đặc biệt hữu ích để chuyển hóa dạng bột nhão.

Ngoài ra theo khía cạnh về phương pháp, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hydrate tinh thể của 5-ethyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol, phương pháp này

bao gồm (a) việc tạo ra bột nhão chứa 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol trong solvat hoặc dạng vô định hình trong chất pha loãng bao gồm từ khoảng 1 đến khoảng 30% thể tích/thể tích nước cùng với dung môi hữu cơ được chọn từ metanol, tetrahydrofuran, rượu tert-butylic, axetonitril, isopropylaxetat và axeton, (b) gia nhiệt bột nhão ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 40°C đến khoảng 60°C trong khoảng 1 giờ đến khoảng 2 ngày, và (c) phân tách hydrat tinh thể từ bột nhão.

Dược phẩm

Hợp chất theo sáng chế và muối dược dụng của nó thông thường được sử dụng ở dạng dược phẩm hoặc dạng chế phẩm. Dược phẩm này có thể thuận lợi được dùng cho bệnh nhân bằng cách hít. Ngoài ra, dược phẩm có thể được dùng bằng đường dùng bất kỳ có thể được chấp nhận bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, cách dùng qua miệng, đường trực tràng, mũi, khu trú (bao gồm qua da) và ngoài đường tiêu hóa.

Ngoài ra, theo một trong số các khía cạnh về chế phẩm của nó, sáng chế đề xuất đến dược phẩm chứa chất mang dược dụng hoặc tá dược và hợp chất có công thức (I), ở đây, như được định nghĩa ở trên, "hợp chất có công thức (I)" nghĩa là hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó. Tùy ý, dược phẩm này có thể chứa các chất điều trị và/hoặc các chất bào chế khác nếu muốn. Khi thảo luận về các chế phẩm và việc sử dụng của chúng, "hợp chất theo sáng chế" cũng có thể được đề cập đến trong bản mô tả này là "chất có hoạt tính". Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "hợp chất theo sáng chế" được dự định để bao gồm tất cả các hợp chất được bao gồm bởi công thức (I) cũng như các loại được thể hiện trong các công thức (III), (IV), và (V) và muối dược dụng của nó

Dược phẩm theo sáng chế thường chứa lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra rằng, dược phẩm có thể chứa nhiều hơn lượng cho hiệu quả điều trị, nghĩa là, dược phẩm khối lượng lớn, hoặc ít hơn lượng cho hiệu quả điều trị, nghĩa là, từng các liều đơn vị riêng rẽ được thiết kế để dùng nhiều lần để đạt đến lượng cho hiệu quả điều trị.

Thông thường, các dược phẩm này sẽ chứa khối lượng nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 95% khối lượng chất có hoạt tính; bao gồm, ví dụ, từ khoảng 0,05 đến khoảng 30% khối lượng; và từ khoảng 0,1% đến khoảng 10% khối lượng của chất có hoạt tính.

Chất mang hoặc tá dược thông thường bất kỳ có thể được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế. Việc lựa chọn chất mang hoặc tá dược cụ thể, hoặc kết hợp của chất mang hoặc tá dược, sẽ tùy thuộc vào cách dùng dược sử dụng để điều trị cho bệnh nhân cụ thể hoặc loại tình trạng y học hoặc tình trạng bệnh. Về vấn đề này, việc điều chế dược phẩm thích hợp đối với cách dùng cụ thể là tốt trong phạm vi của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Ngoài ra, chất mang hoặc tá dược được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế có thể mua được trên thị trường. Bằng cách minh họa thêm, các kỹ thuật bào chế thông thường được mô tả bởi Remington: The Science and Practice of Pharmacy, tái bản lần thứ 20, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); và H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, tái bản lần thứ 7, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Các ví dụ tiêu biểu về các nguyên liệu có thể là chất mang dược dụng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, sau đây: đường, như lactoza, glucoza và sucroza; tinh bột, như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; xenluloza, như xenluloza vi tinh thể, và các dẫn xuất của chúng, như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; tragacan dạng bột; mạch nha; gelatin; talc; tá dược, như bơ cacao và sáp hình viên đạn; dầu, như dầu lạc, dầu hạt bông, dầu cây rum nhuộm, dầu vừng, dầu oliu, dầu ngô và dầu đậu tương; glycol, như propylen glycol; polyol, như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; este, như etyl oleat và etyl laurat; thạch; chất đệm, như magie hydroxit và nhôm hydroxit; axit alginic; nước không có chất gây sốt; nước muối đẳng trương; dung dịch Ringer; rượu etylic; dung dịch đệm phosphat; và các chất tương thích không độc khác được sử dụng trong dược phẩm.

Dược phẩm thông thường được điều chế bằng cách trộn hoặc pha trộn hoàn toàn và kỹ chất có hoạt tính với chất mang dược dụng và một hoặc nhiều thành phần tùy ý. Hỗn hợp được trộn đồng nhất tạo thành sau đó có thể được tạo hình dạng hoặc

được nạp vào viên nén, viên nang, viên tròn và các dạng tương tự bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường.

Theo một khía cạnh, dược phẩm thích hợp để dùng bằng cách hít. Dược phẩm để dùng bằng cách hít thông thường ở dạng sol khí hoặc bột. Các chế phẩm này thường được dùng bằng cách sử dụng thiết bị phân phối bằng bình xịt, như bình xịt bột khô (dry powder inhaler - DPI), bình xịt định liều (metered-dose inhaler - MDI), bình xịt có ống phun, hoặc thiết bị phân phối tương tự.

Theo phương án cụ thể, dược phẩm được dùng bằng cách hít sử dụng bình xịt bột khô. Các bình xịt bột khô này thông thường dùng dược phẩm là bột chảy tự do được phân tán tới dòng khí của bệnh nhân khi hít vào. Để đạt được chế phẩm bột chảy tự do, chất điều trị thường được bào chế bằng tá dược thích hợp như lactoza, tinh bột, manitol, dextroza, axit polylactic (PLA), polylactit-co-glycolit (PLGA) hoặc dạng kết hợp của chúng. Thông thường, chất điều trị được micron hóa và kết hợp với chất mang thích hợp để tạo ra chế phẩm thích hợp để hít.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong bình xịt bột khô chứa lactoza và hợp chất theo sáng chế ở dạng micron hóa. Chế phẩm bột khô này có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách kết hợp lactoza được xay khô với chất điều trị và sau đó pha trộn khô các thành phần. Chế phẩm này sau đó thông thường được nạp vào chất phân tán bột khô, hoặc vào bút tiêm hít hoặc viên nang để sử dụng bằng thiết bị phân phối bột khô.

Thiết bị phân phối bằng bình xịt bột khô thích hợp để dùng các chất điều trị bằng cách hít như được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật và các ví dụ về các thiết bị này là có thể mua được trên thị trường. Ví dụ, thiết bị phân phối bằng bình xịt bột khô hoặc sản phẩm tiêu biểu bao gồm Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Ellipta (GlaxoSmithKline); Easyhaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certihaler (SkyePharma); Twisthaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZeneca); Ultrahaler (Aventis); và các thiết bị và sản phẩm tương tự.

Theo phương án cụ thể khác, dược phẩm được dùng bằng cách hít bằng cách sử dụng bình xịt định liều. Bình xịt định liều thường xịt ra lượng chất điều trị xác định bằng cách sử dụng khí đẩy được nén. Ngoài ra, dược phẩm được dùng bằng cách sử dụng bình xịt định liều thường chứa dung dịch hoặc huyền phù của chất điều trị trong chất đẩy hóa lỏng. Chất đẩy hóa lỏng thích hợp có thể được sử dụng bao gồm hydrofloalkan (HFA), như 1,1,1,2-tetrafloetan (HFA 134a) và 1,1,1,2,3,3,3-heptaflon-propan, (HFA 227); và clofloacbon, như CCl_3F . Theo phương án cụ thể, chất đẩy này là hydrofloalkan. Theo một vài phương án, dạng chế phẩm hydrofloalkan chứa cùng dung môi, như etanol hoặc pentan, và/hoặc chất hoạt động bề mặt, như sorbitan trioleat, axit oleic, lexithin, và glyxerin.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong bình xịt định liều chứa từ khoảng 0,01% đến khoảng 5% khối lượng hợp chất theo sáng chế; từ khoảng 0% đến khoảng 20% khối lượng etanol; và từ khoảng 0% đến khoảng 5% khối lượng chất hoạt động bề mặt; với chất còn lại là chất đẩy HFA. Các chế phẩm này thông thường được điều chế bằng cách bổ sung hydrofloalkan được làm lạnh hoặc được tạo áp đến vật chứa thích hợp chứa chất điều trị, etanol (nếu có) và chất hoạt động bề mặt (nếu có). Để chuẩn bị huyền phù, chất điều trị được micron hóa và sau đó kết hợp với chất đẩy. Chế phẩm này sau đó được nạp vào hộp nhỏ sol khí, thông thường tạo thành một phần của thiết bị bình xịt định liều.

Thiết bị bình xịt định liều thích hợp để dùng các chất điều trị bằng cách hít như được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật và các ví dụ về các thiết bị này có thể mua được trên thị trường. Ví dụ, thiết bị bình xịt định liều hoặc sản phẩm tiêu biểu bao gồm hệ thống bình xịt AeroBid (Forest Pharmaceuticals); Sol khí Hít Atrovent (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); Bình xịt Maxair (3M); Bình xịt Proventil (Schering); Sol khí Hít Serevent (GlaxoSmithKline); và các thiết bị và sản phẩm tương tự.

Theo khía cạnh cụ thể khác, dược phẩm được dùng bằng cách hít sử dụng bình xịt có ống phun. Thiết bị có ống phun này thông thường tạo ra dòng khí có vận tốc cao làm cho dược phẩm được xịt ra ở dạng sương được mang vào đường hô hấp của bệnh nhân. Ngoài ra, khi được bào chế để sử dụng trong bình xịt có ống phun, chất điều trị có thể được hòa tan trong chất mang thích hợp để tạo ra dung dịch. Theo cách

khác, chất điều trị có thể được micron hóa hoặc được xay nano và kết hợp với chất mang thích hợp để tạo ra huyền phù.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong bình xịt có ống phun chứa dung dịch hoặc huyền phù chứa từ khoảng 0,05 µg/mL đến khoảng 20 mg/mL hợp chất theo sáng chế và tá dược tương thích với dạng chế phẩm được phun. Theo một phương án, dung dịch này có độ pH nằm trong khoảng từ 3 đến khoảng 8.

Thiết bị có ống phun thích hợp để dùng các chất điều trị bằng cách hít như được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật và các ví dụ về các thiết bị này có thể mua được trên thị trường. Ví dụ, thiết bị có ống phun hoặc sản phẩm tiêu biểu bao gồm Bình xịt sương ẩm Respimat (Boehringer Ingelheim); Hệ thống phân phối trong phổi AERx (Aradigm Corp.); PARI LC cùng với ống phun tái sử dụng (Pari GmbH); và các thiết bị và sản phẩm tương tự.

Theo khía cạnh khác, dược phẩm theo sáng chế có thể theo cách khác được điều chế ở dạng liều được dự định dùng qua miệng. Dược phẩm thích hợp để dùng qua miệng có thể ở dạng viên nang, viên nén, viên tròn, viên thuốc hình thoi, viên nhện, viên bao đường, bột, hạt; hoặc dung dịch hoặc huyền phù trong chất lỏng dạng nước hoặc chất lỏng không phải dạng nước; hoặc là nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc nước trong dầu; hoặc là cồn ngọt hoặc siro; và các dạng tương tự; mỗi dạng chứa lượng được định trước của hợp chất theo sáng chế là thành phần có hoạt tính.

Khi được dự định dùng qua miệng ở dạng liều rắn, dược phẩm theo sáng chế sẽ thông thường chứa chất có hoạt tính và một hoặc nhiều chất mang được dùng, như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat. Tùy ý hoặc theo cách khác, các dạng liều rắn này cũng có thể bao gồm: chất nạp hoặc chất độn, chất kết dính, chất gây ẩm, dung dịch chất làm chậm, chất tăng tốc hấp thụ, chất thấm ướt, chất hấp thụ, chất bôi trơn, chất màu, và chất đệm. Chất giải phóng, chất thấm ướt, chất phủ, chất khử lưu huỳnh, hương liệu và chất thơm, chất bảo quản và chất chống oxy hóa cũng có thể có mặt trong dược phẩm theo sáng chế.

Các dạng chế phẩm thay thế cũng có thể bao gồm dạng chế phẩm giải phóng được kiểm soát, dạng liều lỏng dùng qua miệng, miếng dán qua da, và dạng chế phẩm ngoài đường tiêu hóa. Tá dược và phương pháp thông thường điều chế các dạng chế

phẩm thay thế này như được mô tả, ví dụ, trong tài liệu tham khảo của Remington, ở trên.

Các ví dụ không giới hạn dưới đây minh họa được phẩm tiêu biểu theo sáng chế.

Chế phẩm bột khô

Hợp chất được micron hóa có công thức (I) (1 g) được trộn với lactoza được xay (25 g). Hỗn hợp được trộn này sau đó được nạp vào từng bao bì của gói bao bì có thể bóc lượng đủ để cung cấp từ khoảng 0,1 mg đến khoảng 4 mg hợp chất có công thức I mỗi liều. Lượng trong bao bì được dùng bằng cách sử dụng bình xịt bột khô.

Chế phẩm bột khô

Hợp chất được micron hóa có công thức (I) (1 g) được pha trộn với lactoza được xay (20 g) để tạo ra chế phẩm khối lượng lớn có tỷ lệ khối lượng của hợp chất với lactoza được xay bằng 1:20. Chế phẩm được trộn được đóng gói vào thiết bị hít bột khô có thể phân phối trong khoảng từ khoảng 0,1 mg đến khoảng 4 mg hợp chất có công thức I mỗi liều.

Chế phẩm xịt định liều

Hợp chất được micron hóa có công thức (I) (10 g) được phân tán trong dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan lexithin (0,2 g) trong nước được khử khoáng (200 mL). Huyền phù tạo thành được phun khô và sau đó được micron hóa để tạo ra chế phẩm được micron hóa chứa các hạt có đường kính trung bình nhỏ hơn khoảng 1,5 μm . Chế phẩm được micron hóa sau đó được nạp vào bình xịt bút tiêm định liều chứa 1,1,1,2-tetrafluoroetan được nén ở lượng đủ để cung cấp khoảng 0,1 mg đến khoảng 4 mg hợp chất có công thức I mỗi liều khi được dùng bằng bình xịt định liều.

Chế phẩm phun

Hợp chất có công thức (I) (25 mg) được hòa tan trong dung dịch chứa 1,5-2,5 đương lượng của axit clohydric, sau đó bổ sung natri hydroxit để điều chỉnh độ pH nằm trong khoảng từ 3,5 đến 5,5 và 3% khối lượng glyxerol. Dung dịch này được khuấy tốt cho đến khi tất cả các thành phần được hòa tan. Dung dịch này được dùng

bằng cách sử dụng thiết bị có ống phun mà cung cấp khoảng 0,1 mg đến khoảng 4 mg hợp chất có công thức I mỗi liều.

Tính hữu ích

Các chất ức chế JAK theo sáng chế được thiết kế để điều trị viêm và bệnh sợi của đường hô hấp. Cụ thể, hợp chất được thiết kế để có thể phân phối chất chống xytokin tiềm năng trực tiếp đến vị trí hoạt động của bệnh hô hấp trong phổi khi hạn chế tiếp xúc toàn thân.

Các hợp chất theo sáng chế được thể hiện là chất ức chế tiềm năng của họ JAK của các enzym: JAK1, JAK2, JAK3, và TYK2. Ngoài ra, các hợp chất được chứng minh sự ức chế tiềm năng tiền viêm và xytokin trước khi mắc bệnh sợi mà không biểu hiện sự gây độc tế bào trong thử nghiệm tế bào. Được nhận ra rằng tác dụng kháng viêm rộng của các chất ức chế JAK có thể ngăn chặn chức năng miễn dịch tế bào bình thường, dẫn đến nguy cơ lây nhiễm có khả năng tăng. Hợp chất này do đó được tối ưu hóa để hạn chế sự hấp thụ từ phổi vào trong huyết tương, do đó giảm đến mức tối thiểu nguy cơ ức chế miễn dịch.

Như được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây, sự hấp thụ và phân bố của các hợp chất điển hình được profin trong các thử nghiệm tiền lâm sàng. Các hợp chất được chọn được kiểm tra ở chuột nhắt thể hiện, ở cùng thời điểm, nồng độ cao trong mô phổi và hấp thụ chậm vào huyết tương. Các hợp chất được kiểm tra ở chuột nhắt thể hiện sự tiếp xúc ở trong phổi từ một đến hai thứ tự độ lớn lớn hơn khi tiếp xúc với huyết tương. Các hợp chất này cũng thể hiện sự duy trì đáng kể trong phổi chuột được chứng minh bằng thời gian bán hủy tổng phổi nhiều hơn khoảng 5 giờ. Quan trọng là, nồng độ của hợp chất thử nghiệm ở phổi chuột được thể hiện tương ứng với tác dụng được động học được dự đoán của sự ức chế enzym JAK. Các hợp chất theo sáng chế được thể hiện để ức chế tác dụng của xytokin IL-13 tiền viêm trong mô phổi chuột nhắt. Cụ thể, các hợp chất này chứng minh liều và nồng độ phụ thuộc vào sự ức chế sự phosphoryl hóa của STAT6 gây ra bởi IL-13 trong mô phổi tạo ra bằng chứng về sự tham gia hướng đích JAK ở trong phổi in vivo. Tác dụng này được quan sát khi xytokin IL-13 tiền viêm được dùng 4 giờ sau khi dùng hợp chất thử nghiệm, tạo ra bằng chứng về sự duy trì đáng kể trong phổi.

Hợp chất được kiểm tra được chứng minh thể hiện cả hoạt tính ức chế tiềm năng ở mức độ tế bào và sự duy trì đáng kể trong mô phổi. Việc điều tra mở rộng bởi các tác giả sáng chế xác định rằng mặc dù có thể xác định các hợp chất có tiềm năng ở cấp độ tế bào hoặc các hợp chất mà thể hiện sự duy trì đáng kể trong phổi, nó khó hơn để phát hiện ra các hợp chất mà thể hiện cả hai đặc điểm mong muốn ở cùng thời điểm.

Cấu trúc diamino của hợp chất theo sáng chế, bao gồm hai nguyên tử amino nitơ, thể hiện là quan trọng khi đáp ứng cả hai tiêu chí về hiệu lực tế bào và duy trì trong phổi. Như được mô tả trong phần thử nghiệm dưới đây, hợp chất trong đó nguyên tử nitơ trong nhóm có công thức (II) được thay thế bằng nguyên tử cacbon không thỏa mãn cả hai tiêu chí. Không chỉ là hợp chất monoamino này có ít tiềm năng đáng chú ý ở mức độ tế bào hơn hợp chất diamino tương ứng, mà nó còn không thể hiện sự ức chế đáng kể trong thử nghiệm được động học cũng như không thể hiện nồng độ cao trong mô phổi dưới cùng điều kiện thử nghiệm trong đó hợp chất này thể hiện sự duy trì đáng kể trong phổi.

Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế được chứng minh là thể hiện đủ khả năng hòa tan ở các giá trị pH tương thích với dạng chế phẩm dùng bằng khí dung hóa. Khả năng hòa tan cũng có thể liên quan đến việc kiểm tra độ độc của hợp chất được dự định để dùng bằng cách hít. Quan sát thấy rằng việc dùng chất chưa được hòa tan cụ thể bằng cách hít có thể liên quan đến tác dụng phụ ở phổi khi kiểm tra độ độc (Jones et al, *Xenobiotica*, **2011**,1-8). Khả năng hòa tan của hợp chất này cũng có thể thuận lợi đánh giá độ độc bằng cách hít.

Hoạt tính kháng viêm của các chất ức chế JAK được chứng minh mạnh mẽ trong mô hình tiền lâm sàng của bệnh hen (Malaviya et al., *Int Immunopharmacol*, **2010**, 10, 829,-836; Matsunaga et al., *Biochem and Biophys Res Commun*, **2011**, 404, 261-267; Kudlacz et al., *Eur J Pharmacol*, **2008**, 582, 154-161.) Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế được mong đợi là hữu ích để điều trị rối loạn hô hấp do viêm, cụ thể, bệnh hen. Viêm và xơ phổi là đặc trưng của các bệnh hô hấp khác ngoài bệnh hen như bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease - COPD), bệnh xơ nang (cystic fibrosis - CF), bệnh viêm phổi khu trú, bệnh phổi kẽ (bao gồm bệnh xơ hóa phổi tự phát), tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp

cấp tính, viêm phế quản, bệnh tràn khí, và tắc viêm tiểu phế quản. Hợp chất này, do đó, cũng được mong đợi là hữu ích để điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh xơ nang, bệnh viêm phổi khu trú, bệnh phổi kẽ (bao gồm bệnh xơ hóa phổi tự phát), tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp cấp tính, viêm phế quản, bệnh tràn khí và tắc viêm tiểu phế quản.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh hô hấp ở động vật có vú (ví dụ, người), phương pháp này bao gồm việc dùng cho động vật có vú lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc của dược phẩm chứa chất mang dược dụng và hợp chất theo sáng chế.

Theo một khía cạnh, bệnh hô hấp là bệnh hen, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh xơ nang, bệnh viêm phổi khu trú, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease - COPD), bệnh xơ nang (cystic fibrosis - CF), bệnh viêm phổi khu trú, bệnh phổi kẽ (bao gồm bệnh xơ hóa phổi tự phát), tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp cấp tính, viêm phế quản, bệnh tràn khí hoặc tắc viêm tiểu phế quản. Theo khía cạnh khác, bệnh hô hấp là bệnh hen hoặc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hen ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm việc dùng cho động vật có vú lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc của dược phẩm chứa chất mang dược dụng và hợp chất theo sáng chế.

Khi được sử dụng để điều trị bệnh hen, hợp chất theo sáng chế sẽ thông thường được dùng ở liều đơn mỗi ngày hoặc ở nhiều liều mỗi ngày, mặc dù dạng dùng khác có thể được sử dụng. Lượng chất có hoạt tính được dùng mỗi liều hoặc lượng tổng cộng được dùng mỗi ngày sẽ thường được xác định bởi bác sĩ, trong các trường hợp liên quan, bao gồm tình trạng bệnh được điều trị, đường dùng được chọn, hợp chất thực tế được dùng và hoạt tính tương đối của chúng, tuổi, cân nặng, và đáp ứng của từng bệnh nhân, mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng của bệnh nhân, và các yếu tố tương tự.

Các hợp chất theo sáng chế được chứng minh là các chất ức chế tiềm năng của enzym JAK1, JAK2, JAK3, và TYK2 trong thử nghiệm liên kết enzym, để có hoạt

động chức năng tiềm năng mà không gây độc tế bào trong thử nghiệm tế bào, và để sử dụng tác dụng được động học của sự ức chế JAK trong mô hình tiền lâm sàng, như được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ tổng hợp và sinh học dưới đây được đưa ra để minh họa cho sáng chế, tuy nhiên, cần phải hiểu rằng các ví dụ này không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Theo các ví dụ dưới đây, các từ viết tắt dưới đây có nghĩa dưới đây trừ khi được chỉ ra khác. Các từ viết tắt không được định nghĩa dưới đây có nghĩa chung được chấp nhận.

ACN = axetonitril

CPME = xyclopentyl metyl ete

DCM = diclometan

DIPEA = N,N-diisopropyletylamin

DMAc = dimetyloxetamit

DMF = N,N-dimetylformamit

EtOAc = etyl axetat

h = giờ

IPAc = isopropylaxetat

KOAc = kali axetat

MeOH = metanol

MeTHF = 2-metyltetrahydrofuran

min = phút

MTBE = metyl tert-butyl ete

NMP = N-metyl-2-pyrolidon

$\text{Pd}(\text{amphos})_2\text{Cl}_2$ = bis(di-tert-butyl(4-dimetylaminophenyl)-phosphin)dichloropalladi(II)

$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ = diclo(1,1'-bis(diphenylphosphino)-feroxen)dipalladi(II)

$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ = tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0)

$\text{Pd}(\text{t-Bu}_3\text{P})_2$ = bis(tri-tert-butylphosphin) paladi(0)

RT = nhiệt độ phòng

TEA = trietylamin

TFA = axit trifloaxetic

THF = tetrahydrofuran

bis(pinacolato)dibo = 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametyl-
[2,2']bi[[1,3,2]dioxabolanyl]

Các chất phản ứng và dung môi được mua từ nhà cung cấp thương mại (Aldrich, Fluka, Sigma, v.v.), và được sử dụng mà không tinh chế thêm. Tiến trình của hỗn hợp phản ứng được giám sát bằng sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography - TLC), sắc ký lỏng hiệu năng cao phân tích (HPLC phân tích), và khối phổ. Hỗn hợp phản ứng làm việc như được mô tả cụ thể trong mỗi phản ứng; thông thường chúng được tinh chế bằng phương pháp chiết và các phương pháp tinh chế khác như tinh thể hóa và kết tủa phụ thuộc nhiệt độ, và dung môi. Ngoài ra, hỗn hợp phản ứng thường được tinh chế bằng sắc ký cột hoặc bằng HPLC điều chế, thông thường sử dụng bao cột C18 hoặc BDS và chất rửa giải thông thường. Điều kiện HPLC điều chế điển hình như được mô tả dưới đây.

Xác định đặc điểm của sản phẩm phản ứng thường được thực hiện bằng khối và phép đo phổ $^1\text{H-NMR}$. Để phân tích NMR, các mẫu được hòa tan trong dung môi được đơteri hóa (như CD_3OD , CDCl_3 , hoặc $d_6\text{-DMSO}$), và phổ $^1\text{H-NMR}$ thu được bằng dụng cụ Varian Gemini 2000 (400 MHz) dưới điều kiện quan sát chuẩn. Việc xác định khối phổ của các hợp chất được thực hiện bằng phương pháp ion hóa phun điện tử (ESMS) bằng dụng cụ Applied Biosystems (Foster City, CA) mô hình API 150 EX hoặc dụng cụ Waters (Milford, MA) 3100, liên kết với hệ thống tự tinh chế.

Điều kiện HPLC điều chế

Cột: C18, 5 μm . 21,2 x 150 mm hoặc C18, 5 μm 21 x 250 hoặc C14, 5 μm 21x150 mm

Nhiệt độ cột: Nhiệt độ phòng

Tốc độ dòng: 20,0 mL/phút

Pha động: A = Nước + 0,05% TFA

B = ACN + 0,05% TFA,

Thể tích tiêm: (100-1500 μ L)

Bước sóng phát hiện: 214 nm

Hợp chất thô được hòa tan trong tỷ lệ 1:1 nước:axit axetic ở khoảng 50 mg/mL. Chạy kiểm tra quy mô phân tích trong 4 phút được thực hiện bằng cách sử dụng cột 2,1 x 50 mm C18 sau đó chạy quy mô điều chế trong 15 hoặc 20 phút bằng cách sử dụng 100 μ L tiêm với gradien dựa trên % B duy trì của chạy kiểm tra quy mô phân tích. Gradient chính xác độc lập với mẫu. Các mẫu chạy gần với tạp chất được kiểm tra bằng cột 21 x 250 mm C18 và/hoặc cột 21 x 150 mm C14 để tách tốt nhất. Các phân đoạn bao gồm sản phẩm mong muốn được xác định bằng phân tích khối phổ.

Điều kiện HPLC phân tích

Phương pháp A

Cột: Advanced Material Technology HALO® C18 (2), 150 x 4,60 nm, 2,7 micron

Nhiệt độ cột: 30°C

Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút

Thể tích tiêm: 5 μ L

Chuẩn bị mẫu: Hòa tan trong 1:1 ACN:nước

Pha động: A = Nước:ACN:TFA (98:2:0,1)

B = Nước:ACN:TFA (30:70:0,1)

Bước sóng phát hiện: 254 nm

Gradien: 22 phút tổng số (thời gian (phút)/% B): 0/30, 15/100, 18/100, 20/30, 22/30

Phương pháp B

Cột: Agilent Zorbax Bonus-RP C18, 150 x 4,60 nm, 3,5 micron

Nhiệt độ cột: 40°C

Tốc độ dòng: 1,5 mL/phút

Thể tích tiêm: 5 µL

Chuẩn bị mẫu: Hòa tan trong 1:1 ACN:1 M HCl

Pha động: A = Nước: TFA (99,95:0,05)

B = ACN:TFA (99,95:0,05)

Bước sóng phát hiện: 254 nm và 214 nm

Gradient: 26 phút tổng số (thời gian (phút)/% B): 0/5, 18/90, 22/90, 22,5/90, 26/5

Phương pháp C

Cột: Agilent Poroshell 120 Bonus-RP, 4,6 x 150 mm, 2,7 µm

Nhiệt độ cột: 30°C

Tốc độ dòng: 1,5 mL/phút

Thể tích tiêm: 10 µL

Pha động: A = ACN:Nước:TFA (2:98:0,1)

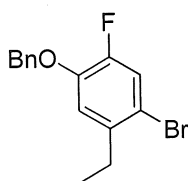
B = ACN:Nước:TFA (90:10:0,1)

Chuẩn bị mẫu: Hòa tan trong Pha động B

Bước sóng phát hiện: 254 nm và 214 nm

Gradient: 60 phút tổng số (thời gian (phút)/% B): 0/0, 50/100, 55/100, 55,1/0, 60/0

Điều chế 1: 1-(Benzyloxy)-4-brom-5-etyl-2-flobenzen



(a) 5-Etyl-2-flophenol

Hỗn hợp chứa hợp chất 5-brom-2-flophenol (80 g, 419 mmol) trong tetrahydrofuran khô (800 mL) được loại khí và được thổi nitơ 3 lần, và $\text{Pd}(\text{t-Bu}_3\text{P})_2$ (4,28 g, 8,38 mmol) được bổ sung. Diethyl kẽm (114 g, 921 mmol) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp ở nhiệt độ 25°C , và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 12 giờ dưới nitơ và được rót chậm vào nước đá lạnh (1 L). EtOAc (350 mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 20 phút và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng EtOAc (3 x 500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (600 mL), được làm khô trên natri sulfat, được cô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (85 g, thô) là dầu màu vàng.

(b) 2-(Benzyloxy)-4-etyl-1-flobenzen

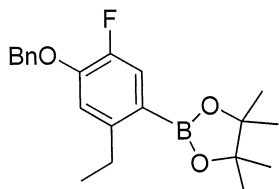
Bổ sung benzyl bromua (124 g, 728 mmol) và K_2CO_3 (126 g, 909 mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (85 g, 606 mmol) trong ACN (850 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 12 giờ, được rót vào nước (1 L) và được chiết bằng EtOAc (4 x 500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (600 mL), được làm khô trên natri sulfat, được cô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (100 g) là dầu màu vàng.

(c) 1-(Benzyloxy)-4-brom-5-etyl-2-flobenzen

Bổ sung từng phần N-bromsuxinimit (85 g, 477 mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (100 g, 434 mmol) trong ACN (1,0 L). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 5 giờ, được rót vào nước (1,3 L) và được chiết bằng EtOAc (3 x 500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (800 mL), được làm khô trên natri sulfat, được cô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (83 g) là dầu màu vàng. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz)

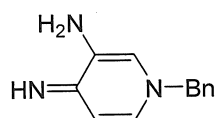
δ (ppm) 7,27-7,43 (m, 6H), 6,86 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 2,64 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,15 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H).

Điều chế 2: 2-(4-(Benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxabolan



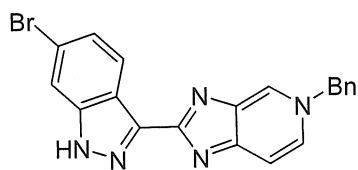
Hỗn hợp chứa hợp chất ở phần điều chế 1 (83 g, 268 mmol), bis(pinacolato)dibor (102 g, 402 mmol), và KOAc (79,0 g, 805 mmol) trong dioxan (830 mL) được loại khí và được thổi nitơ 3 lần, và Pd(dppf)Cl_2 (3,93 g, 5,37 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong 4 giờ dưới nitơ. Hỗn hợp này được làm mát đến 25°C , được rót vào nước (1 L), và được chiết bằng EtOAc (3 x 500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (800 mL), được làm khô trên natri sulfat, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel. Sản phẩm này được rửa bằng metanol (200 mL), được lọc, và bánh lọc được làm khô để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (65 g) là chất rắn màu trắng. ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ (ppm) 7,26-7,42 (m, 5H), 6,74 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,08 (s, 2H), 2,76 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,25 (s, 12 H), 1,06 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Điều chế 3: 1-Benzyl-4-imino-1,4-dihydropyridin-3-amin



Bổ sung benzyl bromua (306 g, 1,79 mol) vào dung dịch chứa pyridin-3,4-diamin (200 g, 1,8 mol) trong ACN (17,0 L) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 15°C trong 12 giờ, được lọc và bánh lọc được làm khô dưới chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (250 g) là chất rắn màu trắng. ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 8,02 (dd, $J = 7,2, 1,6$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,34-7,41 (m, 5H), 6,79 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 5,62 (s, 2H), 5,36 (s, 2H).

Điều chế 4: 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin



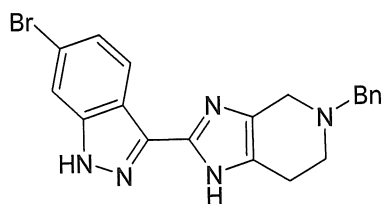
(a) 6-Brom-1H-indazol-3-yl-carbaldehyt

Dung dịch chứa NaNO_2 (704 g, 10,2 mol) trong nước (1 L) được bổ sung từng giọt vào dung dịch chứa 6-brom-1H-indol (400 g, 2,0 mol) trong axeton (7 L) ở nhiệt độ 10°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 10°C trong 30 phút, HCl 3M dạng nước (437 mL) được bổ sung chậm cùng với khuấy mạnh, giữ nhiệt độ bên trong giữa 10 và 25°C . Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong 3 giờ, và được cô trong khi giữ nhiệt độ dưới 35°C . Chất rắn thu được bằng cách lọc. Bánh lọc được rửa bằng 1:2 ete dầu mỏ:MTBE (800 mL). Các chất rắn thu được bằng cách lọc và được làm khô dưới chân không để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (450 g) là chất rắn màu nâu đen. ^1H NMR (CH_3OD , 400 MHz) δ (ppm) 7,77 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,22 (dd, $J = 8,4, 2,4$ Hz, 1H), 5,70 (s, 1H).

b) 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin

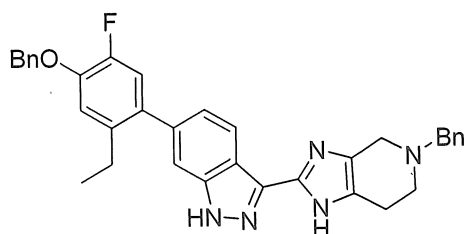
Nạp NaHSO_3 (83,2 g, 799,9 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 6-brom-1H-indazol-3-yl-carbaldehyt (150,0 g, 666 mmol) và 1-benzyl-4-imino-1,4-dihydropyridin-3-amin (127,5 g, 639,9 mmol) trong DMF (750 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 6 giờ ở nhiệt độ 140°C và được rót vào nước (3,5 L). Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng nước (1 L) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (180 g) là chất rắn màu nâu đen. ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 8,69 (s, 1H) 8,71 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H) 8,37 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H) 8,07 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H) 7,97 (s, 1H) 7,38-7,43(m, 3H) 7,50-7,54 (m, 4H) 5,87 (s, 2H).

Điều chế 5: 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin



Bổ sung từng phần NaBH_4 (12,9 g, 341,3 mmol) vào dung dịch chứa 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin (23,0 g, 56,9 mmol) trong MeOH (200 mL) và THF (1 L) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 2 giờ. Axit axetic (10 eq) được bổ sung, dung dịch này được cô đến khi khô và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (30 g silic oxit, 0-10% MeOH/DCM với 0,1% TEA) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (6,0 g). ^1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 8,24 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,28 - 7,37 (m, 7H), 3,74 (s, 2H), 3,48 (br.s, 2H), 2,80 (s, 2H), 2,66 (s, 2H).

Điều chế 6: 5-Benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin



(a) tert-Butyl 5-benzyl-2-(6-brom-1-(tert-butoxycarbonyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-1-carboxylat

Hai phản ứng được thực hiện song song. Huyền phù chứa 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (80 g, 196 mmol), di-tert-butyl dicacbonat (128 g, 587,8 mmol, 135 mL) và TEA (79,3 g, 784 mmol, 109 mL) trong DCM (1 L) được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong 12 giờ. Hai huyền phù phản ứng được kết hợp, được cô đến khi khô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (ete dầu mỏ: EtOAc 10:1 - 0:1) để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (170,0 g).

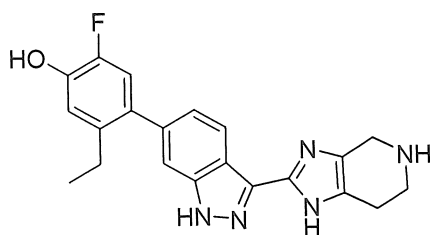
(b) 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

Hai phản ứng được thực hiện song song. Dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (85 g, 140 mmol) và HCl 4M trong MeOH (400 mL) trong DCM (400 mL) được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được kết hợp và được cô đến khi khô, DCM (250 mL) được bổ sung cùng với khuấy, và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng DCM (2 x 20 mL) và được làm khô để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (85 g) là chất rắn màu trắng đục.

(c) 5-Benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-ethyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

Tám mươi lăm phản ứng được thực hiện song song. Sản phẩm ở bước trước đó (1,0 g, 2,5 mmol), 2-(4-(benzyloxy)-2-ethyl-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxabolan (873 mg, 2,5 mmol), và $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (227 mg, 196. μmol) được hòa tan trong hỗn hợp chứa nước (4 mL) và dioxan (10 mL). Phản ứng vial was bubbled with nitơ trong 2 phút và Na_2CO_3 (779 mg, 7,4 mmol) được bổ sung nhanh dưới nitơ. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 130°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp 85 phản ứng được kết hợp và được cô dưới áp suất giảm. Cặn được hòa tan trong DCM (500 mL) và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (150 g silic oxit, được rửa giải bằng DCM:THF (6:1 đến 3:1)) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (50 g) là chất rắn màu trắng đục.

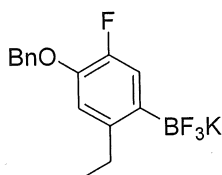
Điều chế 7: 5-Etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Hỗn hợp chứa 5-benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-ethyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (44,5 g, 79,8 mmol), $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (25 g, 2,7 mmol, 50% tinh khiết) và TFA (44,5 g, 390 mmol, 28,9 mL) trong MeOH (500 mL) được khuấy dưới hydro (50 Psi) trong 4 giờ và được lọc. $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (25 g, 2,7 mmol, 50% tinh khiết) được bổ sung vào dịch lọc và huyền phù tạo thành được khuấy dưới hydro (50 Psi) ở nhiệt độ 25°C trong 12 giờ. Huyền phù này được kết hợp với huyền phù từ phản ứng trước ở lượng 5,5 g và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng 20:1 MeOH:TFA (2 x 200 mL). Dịch lọc kết hợp được cô và HCl 4M trong MeOH (200 mL) được bổ sung vào cặn cùng với khuấy. Huyền phù tạo thành được cô, được làm nhão bằng MeOH (80 mL) và được khuấy trong 30 phút. Chất rắn màu trắng được kết tủa. Chất rắn được lọc, bánh lọc được rửa bằng MeOH (2 x 10 mL) và được làm khô dưới chân không để tạo ra muối HCl của hợp chất nêu ở đề mục (24,8 g) là

chất rắn màu trắng đục. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{21}H_{20}FN_5O$ 378,17 tìm thấy 378,1. 1H NMR (d_6 -DMSO, 400 MHz) δ (ppm) 8,23 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,35 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 6,90 – 6,97 (m, 2H), 4,57 (s, 2H), 3,72 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,22 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,51 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,04 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Điều chế 8: (4-(Benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)trifloborat, kali



(a) 1-(Benzyloxy)-4-brom-5-etyl-2-flobenzen

Bổ sung kali cacbonat (34,7 g, 251 mmol) ở nhiệt độ phòng vào hỗn hợp chứa 4-brom-5-etyl-2-flophenol (50 g, 228 mmol) và DMF (200 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 phút; benzyl bromua (25,8 mL, 217 mmol) được bổ sung từng giọt; hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và được rót vào nước (1 L). Etyl axetat (1 L) được bổ sung; các pha này được tách ra; lớp hữu cơ này được rửa bằng nước muối (1 L), và được làm khô bằng natri sulfat sau đó dung môi loại bỏ để tạo ra hợp chất trung gian thô nêu ở đề mục (71 g) là dầu đặc. HPLC Phương pháp A Thời gian duy trì 17,37 phút.

(b) 2-(4-(Benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxabolan

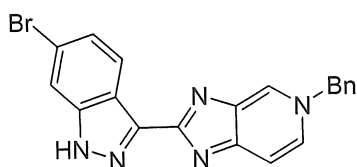
Hỗn hợp chứa sản phẩm ở bước trước đó (70 g, 226 mmol) và dioxan (800 mL) được thổi nitơ và sau đó bis(pinacolato)dibor (86 g, 340 mmol) được bổ sung sau đó kali axetat (66,7 g, 679 mmol). Hỗn hợp phản ứng được thổi nitơ; $Pd(dppf)Cl_2$ (3,31 g, 4,53 mmol) được bổ sung; hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ $120^\circ C$ dưới nitơ trong 4 giờ; được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay và tách phần nước (800 mL) và etyl axetat (800 mL). Lớp hữu cơ này được rửa bằng nước muối (800 mL) và được làm khô bằng natri sulfat sau đó dung môi loại bỏ. Sản phẩm thô được hòa tan trong DCM (400 mL) và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (1 kg silic oxit, được rửa giải bằng 20% etyl axetat trong hexan (2 L)). Dung môi

được loại bỏ bằng cách làm bay hơi kiểu quay để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (81 g) là dầu màu vàng nhạt.

(c) (4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)trifloborat, kali

Sản phẩm ở bước trước đó (81g, 227 mmol) được trộn với axeton (400 mL) cho đến khi hòa tan hoàn toàn và metanol (400 mL) được bổ sung sau đó kali hydro diflorua 3M trong nước (379 mL, 1137 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng. Hầu hết dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi kiểu quay. Nước (500 mL) được bổ sung và bột nhão đặc tạo thành được khuấy trong 30 phút và được lọc. Bình thốt cổ và bánh lọc được rửa bằng nước (2 x 100 mL) và chất rắn được làm khô qua đêm. Toluene (400 mL) được bổ sung, 200 mL được loại bỏ bằng cách làm bay hơi kiểu quay ở nhiệt độ 50°C. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ trong phòng, được khuấy trong 30 phút và được lọc. Chất rắn được làm khô để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (69,7 g, 205 mmol, 90% hiệu suất) là chất rắn màu trắng. HPLC Phương pháp A Thời gian duy trì 10,90 phút.

Điều chế 9: 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin



(a) 1-Benzyl-4-imino-1,4-dihydropyridin-3-amin

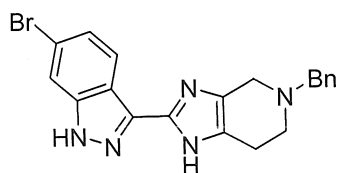
Hỗn hợp chứa pyridin-3,4-diamin (700 g, 6,414 mol) và ACN (15,5 L) được khuấy trong 80 phút ở nhiệt độ từ 25°C đến 15°C. Dung dịch chứa benzyl bromua (763 mL, 6,414 mol) trong ACN (1 L) được bổ sung trong 10 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 25°C và ở nhiệt độ 20°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc. Bình phản ứng và bánh lọc được rửa bằng ACN (8 L) và được làm ấm đến 25°C, và được rửa lần nữa bằng ACN (8 L) và được làm ấm đến 25°C. Chất rắn được làm khô trên bộ lọc trong 3 giờ dưới nitơ, ở nhiệt độ 50°C dưới chân không trong 2 giờ và sau đó ở nhiệt độ trong phòng qua đêm để tạo ra muối HBR của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (1659 g, 5,922 mol, 92% hiệu suất). HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 3,74 phút.

(b) 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin

Dung dịch chứa 6-brom-1H-indazol-3-carbaldehyt (558 g, 2,480 mol), sản phẩm ở bước trước đó (746 g, 2,529 mol) và DMF (4,75 L) được khuấy trong 80 phút và natri bisulfít (261 g, 2,504 mol) được bổ sung bằng cách trộn. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 135°C và được giữ trong 2 giờ và được cho làm mát đến nhiệt độ trong phòng trong khoảng 3 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 2°C và được giữ trong 1 giờ ở nhiệt độ 0-5°C. Bột nhão được lọc trên bộ lọc áp suất bằng cách lọc chậm. Bổ sung DMF vào bình phản ứng (1 L) và hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ 5°C. Bánh lọc được rửa và quy trình được lặp lại với phần khác của DMF (4 L). Bánh lọc được rửa bằng ACN (1 L) và được làm khô dưới nitơ và dưới chân không qua đêm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (1080 g, 2,591 mol, 105% hiệu suất, 97% tinh khiết) là chất rắn màu vàng nhạt. HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 7,83 phút.

Hỗn hợp chứa hợp chất nêu ở đề mục (1000 g, 2,474 mol) và MeTHF (6 L) được gia nhiệt đến 55°C và 1 M natri hydroxit (3,216 L) được bổ sung trong 5 phút. Nhiệt độ giảm xuống 45°C và hỗn hợp được pha loãng bằng dung dịch natri hydroxit lạnh. Các lớp này được để riêng và lớp nước ở dưới được hút cạn. Hỗn hợp này được làm mát đến nhiệt độ phòng và sau đó đến nhiệt độ 5°C và được giữ qua đêm. Hỗn hợp được lọc và bình phản ứng và bánh lọc được rửa bằng MeTHF (1 L). Chất rắn từ màu be đến màu vàng tạo thành được làm khô trên bộ lọc trong 3 ngày để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (700 g, 1,680 mol, 67,9% hiệu suất, 97% tinh khiết) là chất rắn màu vàng nhạt. HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 7,84 phút.

Điều chế 10: 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

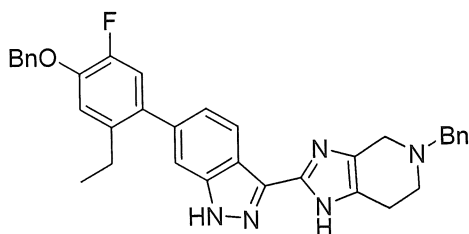


Bổ sung 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin (350 g, 866 mmol) vào 15 L bình thót cổ sau đó MeTHF (4 L), metanol (2 L) và nước (1 L). Bột nhão được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 45 phút và NaBH₄ (197 g,

5195 mmol) được bổ sung thành hai phần. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 18 giờ. Nước (1 L) được bổ sung sau đó 20% khối lượng. Dung dịch natri clorua (2 L) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút và các lớp này được để riêng rẽ. Lớp nước được hút cạn; NaOH (1,732 L) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút; các lớp này được để riêng rẽ và lớp nước được hút cạn.

Lớp hữu cơ này được kết hợp với sản phẩm của mẻ thứ hai ở lượng tương tự và được cô đến khoảng nửa thể tích bằng cách làm bay hơi kiểu quay ở nhiệt độ 55°C. Các lớp này được cho sa lắng và lớp nước được hút cạn. Bổ sung HCl 3M trong CPME (1,732 L) ở nhiệt độ 35°C vào lớp hữu cơ này sau đó MeTHF (4 L) và MeOH (4 L) và hỗn hợp được gia nhiệt đến 60°C để tạo ra bột nhão đặc, được làm mát đến nhiệt độ 25°C trong 5 giờ và giữ ở nhiệt độ này qua đêm. Bột nhão được chuyển vào bộ lọc áp suất và bánh lọc ướt được chuyển vào bộ làm khô hai khay ở nhiệt độ 55°C và được làm khô dưới chân không và dưới nitơ trong 6 giờ và sau đó ở nhiệt độ 35°C trong 2 ngày để tạo ra muối 3HCl của hợp chất nêu ở đề mục (609 g, 1153 mmol, 66,6% hiệu suất, 98% tinh khiết) là chất rắn màu vàng/be cứng. HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 5,93 phút.

Điều chế 11: 5-Benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

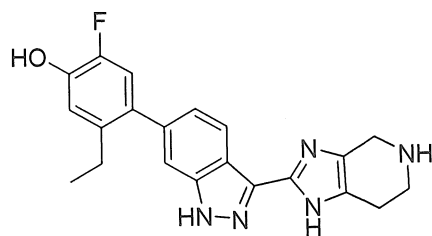


Bổ sung xesi cacbonat (123 g, 377 mmol) và nước (455 mL) cùng với khuấy ở nhiệt độ 22°C vào 5 L bình thót cổ, sau đó 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin, 3HCl (65 g, 126 mmol) và MeOH (1365 mL). Bột nhão được gia nhiệt hồi lưu trong 0,5 giờ và xesi cacbonat (127 g, 389 mmol) được bổ sung sau đó (4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)trifloborat, kali (52,8 g, 157 mmol). Bột nhão được thổi nitơ ba lần, bis(di-tert-butyl(4-dimethylaminophenyl) phosphin) diclopaladi(II) (8,89 g, 12,56 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt hồi lưu trong 42 giờ. (4-(benzyloxy)-2-etyl-5-

flophenyl)trifloborat, kali (5,28 g, 15,7 mmol) bổ sung và xesi cacbonat (16,4 g, 50,3 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy hồi lưu trong thêm 18 giờ và được làm mát đến nhiệt độ 25°C.

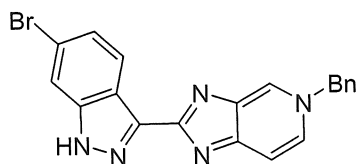
Bổ sung HCl 1M trong nước (502 mL, 502 mmol) vào hỗn hợp phản ứng sau đó nước (3 L). Bột nhão tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 22°C trong 1 giờ, và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng nước (1 L) và được làm khô dưới chân không và dưới nitơ để tạo ra muối 3HCl của hợp chất nêu ở đề mục (88 g, 132 mmol, 105% hiệu suất) được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo. HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 10,07 phút.

Điều chế 12: 5-ethyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Dung dịch chứa 5-benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-ethyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (70,6 g, 127 mmol) trong EtOH (845 mL) và HCl 1,25 M trong MeOH (203 mL, 253 mmol) được khuấy dưới nitơ trong 10 phút bằng cách gia nhiệt đến 50°C và sau đó 10% khối lượng Pd/C (8,45 g) được bổ sung ngay sau đó khí hydro. Hỗn hợp phản ứng được để kín trong hydro (50 Psi) ở nhiệt độ 50°C trong 3 giờ, được lọc qua Celite®, và được cô đến 169 mL. Ethyl axetat (845 mL) được bổ sung, hỗn hợp phản ứng được cô đến 169 mL, EtOAc (1521 mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 22°C trong 1 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 0°C, sau đó được giữ trong 1 giờ và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng EtOAc (100 mL) và được làm khô dưới chân không và dưới nitơ để tạo ra muối 3HCl của sản phẩm nêu ở đề mục (52 g, 107 mmol, 70,5% hiệu suất). HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 6,06 phút.

Điều chế 13: 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin



(a) 5-Benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin

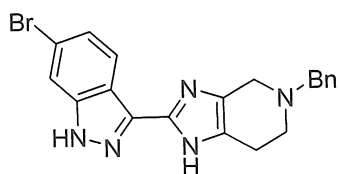
Dung dịch chứa 6-brom-1H-indazol-3-carbaldehyt (550 g, 2,444 mol), 1-benzyl-4-imino-1,4-dihydropyridin-3-amin HBr (721 g, 2,333 mol) và DMAc (2,65 L) được khuấy trong 60 phút và natri bisulfit (257 g, 2,468 mol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 135°C và được giữ trong 3 giờ, và được để làm mát đến nhiệt độ 20°C và được giữ ở nhiệt độ 20°C qua đêm. Axetonitril (8 L) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ 15°C. Bột nhão được lọc trên bộ lọc áp suất ở tốc độ lọc trung bình. Bổ sung ACN (1 L) vào bình phản ứng. Bánh lọc được rửa bằng việc rửa bình phản ứng ACN và được làm khô dưới nitơ qua đêm và sau đó dưới chân không ở nhiệt độ 50°C trong 24 giờ để tạo ra muối HBr của hợp chất nêu ở đề mục (1264 g, 2,444 mol, 100% hiệu suất, 94% tinh khiết) là chất rắn màu be/nâu ướt đậm đặc. HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 8,77 phút.

Hỗn hợp chứa sản phẩm ở bước trước đó (1264 g, 2,444 mol), MeTHF (6 L) và nước (2,75 L) được gia nhiệt đến nhiệt độ 65°C và natri hydroxit 50% khối lượng (254 g, 3,177 mol) được bổ sung qua 5 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 65°C trong 1 giờ, được làm mát đến nhiệt độ trong phòng, sau đó đến 5°C và được giữ trong 2 giờ. Bột nhão được lọc và bình phản ứng và bánh lọc được rửa bằng MeTHF (1 L). Chất rắn từ màu be đến màu vàng tạo thành được làm khô trên bộ lọc dưới nitơ trong 3 ngày để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (475 g, 1,175 mmol, 48% hiệu suất) là chất rắn màu be/màu vàng. Phần lỏng ngưng gốc (khoảng 8 L) được cô đến khoảng 2 L, rồi chất rắn bắt đầu vỡ. Bột nhão được gia nhiệt đến 50°C, được giữ trong 2 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 5°C qua 2 giờ, được khuấy qua đêm, và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng MeTHF (100 mL) và được làm khô qua đêm dưới chân

không ở nhiệt độ 40°C để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục bổ sung (140 g, 0,346 mol, 14% hiệu suất).

Hỗn hợp chứa tổng sản phẩm ở bước trước đó, kết hợp với sản phẩm của mẻ thứ hai ở lượng tương tự (1500 g, 3,710 mol) và MeTHF (4 L) được khuấy ở nhiệt độ 20°C trong 2 giờ và được lọc. Bình phản ứng và bánh lọc được rửa bằng MeTHF (1,5 L). Chất rắn từ màu be đến màu vàng tạo thành được làm khô dưới nitơ trong 3 ngày để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục là chất rắn màu vàng be (1325 g, 3,184 mol, 86% hiệu suất (tổng 68% hiệu suất), 97% tinh khiết). HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 8,77 phút.

Điều chế 14 : 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

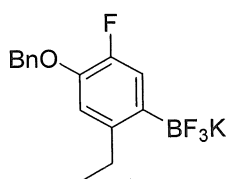


Bổ sung 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-5H-imidazo[4,5-c]pyridin (440 g, 1,088 mol) vào 15 L bình thót cổ sau đó MeTHF (4,5 L), metanol (2,25 L) và nước (1,125 L). Bột nhão được làm mát đến nhiệt độ 20°C, được khuấy trong 1 giờ, và NaBH₄ (247 g, 6,530 mol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 18 giờ. Nước (1,125 L) được bổ sung sau đó 20% khối lượng. Dung dịch natri clorua (1,125 L) và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút và các lớp này được để riêng rẽ. Lớp nước được hút cạn. Dung dịch trước khi trộn chứa NaOH (522 g) và nước (5 L) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 60 phút; các lớp này được để riêng rẽ và lớp nước được hút cạn. Hai mẻ bổ sung ở lượng tương tự được chuẩn bị.

Lớp hữu cơ từ một mẻ được cô dưới áp suất giảm trong 15 L bình phản ứng đã bọc bằng vỏ chăn cài đặt ở nhiệt độ 50°C, nhiệt độ bên trong là 20°C. Các mẻ bổ sung được bổ sung vào bình phản ứng và được cô một ở thời điểm tạo thành bột nhão khoảng 6 L theo thể tích. Bột nhão được gia nhiệt đến 50°C, IPAc (6 L) được bổ sung và hỗn hợp được giữ ở nhiệt độ 60°C trong 1,5 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 20°C trong 10 giờ, được gia nhiệt đến 60°C trong 50 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 20°C

trong 5 giờ, sau đó được làm mát đến nhiệt độ 5°C và được giữ trong 3 giờ. Hỗn hợp được lọc và bình phản ứng và bánh lọc được rửa bằng dung dịch trước khi trộn chứa IPAc (1 L) và MeTHF (1 L), được làm lạnh trước đến nhiệt độ 5°C. Các chất rắn được làm khô dưới nitơ trên bộ lọc ở nhiệt độ 40°C trong 3 ngày để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (1059 g, 2,589 mol, 79% hiệu suất) là chất rắn màu trắng đục. Nguyên liệu này còn được làm khô trong lò chân không ở nhiệt độ 50-60°C trong 8 giờ và ở nhiệt độ 27°C trong 2 ngày để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (1043 g, 2,526 mol, 77% hiệu suất, 99% tinh khiết). HPLC Phương pháp B Thời gian duy trì 6,73 phút.

Điều chế 15: (4-(Benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)trifloborat, kali



(a) 2-(4-(Benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxabolan

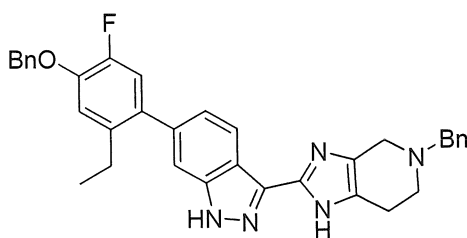
Hỗn hợp chứa 1-(benzyloxy)-4-brom-5-etyl-2-flobenzen (520 g, 1682 mmol) và dioxan (5193 mL) được thổi nitơ và sau đó bis(pinacolato)dibor (641 g, 2523 mmol) được bổ sung sau đó kali axetat (495 g, 5046 mmol). Hỗn hợp phản ứng được thổi nitơ; Pd(dppf)Cl₂ (41,2 g, 50,5 mmol) được bổ sung; hỗn hợp phản ứng được thổi nitơ, được gia nhiệt ở nhiệt độ 103°C dưới nitơ trong 5 giờ; và được làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được cô bằng cách chưng cất trong chân không và tách phần etyl axetat (5204 mL) và nước (5212 mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua Celite; lớp hữu cơ này được rửa bằng nước muối (2606 mL) sau đó dung môi loại bỏ bằng cách chưng cất trong chân không để tạo ra thô sản phẩm là dầu màu đen đặc (~800 g).

Sản phẩm thô được hòa tan trong DCM (1289 mL) và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (2627 g silic oxit trước khi được làm nhão trong hexan, được rửa giải bằng 20% etyl axetat trong hexan (10,35 L)). Dung môi được loại bỏ bằng cách chưng cất trong chân không để tạo ra dầu màu vàng nhạt (600 g). HPLC Phương pháp C Thời gian duy trì 33,74 phút.

(b) (4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)trifloborat, kali

Sản phẩm ở bước trước đó (200 g, 561 mmol) được trộn với axeton (1011 mL) cho đến khi hòa tan hoàn toàn và metanol (999 mL) được bổ sung sau đó kali hydro diflorua 3M (307 g, 3930 mmol) được hòa tan trong nước (1310 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3,5 giờ. Hầu hết dung môi hữu cơ được loại bỏ bằng cách chưng cất trong chân không. Nước (759 mL) được bổ sung và bột nhão đặc tạo thành được khuấy trong 30 phút và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng nước (506 mL) và các chất rắn được làm khô trên bộ lọc trong 30 phút. Các chất rắn được làm nhão trong axeton (1237 mL) và được khuấy trong 1 giờ. Bột nhão tạo thành được lọc và các chất rắn được rửa bằng axeton (247 mL). Dung dịch axeton được cô bằng cách chưng cất trong chân không, và thể tích không đổi (2 L) được duy trì bằng cách bổ sung chậm toluen (2983 mL) cho đến khi tất cả axeton và nước được chưng cất. Dung dịch toluen được chưng cất thành bột nhão màu vàng đặc bằng cách làm bay hơi kiểu quay, trong suốt thời gian các sản phẩm này được kết tủa là chất rắn màu trắng. Phân toluen bổ sung (477 mL) được bổ sung vào hỗn hợp và được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp này sau đó được lọc và được rửa bằng toluen (179 mL) và được làm khô dưới chân không ở nhiệt độ 50°C trong 24 giờ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (104 g, 310 mmol, 55% hiệu suất) là chất rắn màu trắng đục nhạt, mịn, chảy tự do. HPLC Phương pháp C Thời gian duy trì 27,71 phút.

Điều chế 16: 5-Benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin



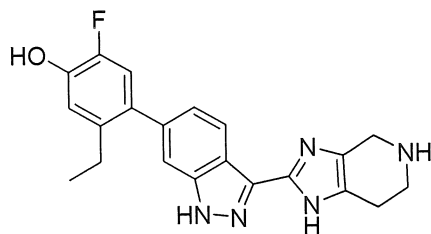
(a) 5-Benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin

Hỗn hợp chứa bis(pinacolato)dibor (250 g, 984 mmol) và IPA (1,88 L) được khuấy để hòa tan và sau đó dung dịch chứa kali hydro diflorua (538 g, 6,891 mol) trong nước (2,31 L) được bổ sung từng phần qua 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ và được lọc. Chất rắn như gel được làm nhão bằng nước (1,33 L)

cho đến khi hỗn hợp này tạo ra hydrogel trong và sau đó để 45 phút. Chất rắn/gel tạo thành được lọc, sau đó được làm nhão lại trong axeton (1,08 L), được lọc, không khí được làm khô trên bộ lọc trong 30 phút và được làm khô qua đêm để tạo ra chất rắn màu trắng mịn (196,7 g).

Bổ sung 5-benzyl-2-(6-brom-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin (135 g, 331 mmol), (4-(benzyloxy)-2-etyl-5-flophenyl)-trifloborat, kali (133 g, 397 mmol) vào 5 L bình thót cổ, và sản phẩm là chất rắn màu trắng ở bước trước đó (40,5 g) sau đó MeTHF (1,23 L) và MeOH (1,75 L). Bột nhão tạo thành được loại khí ba lần bằng nitơ. Bổ sung dung dịch chứa xesi cacbonat được khử khí (431 g, 1,323 mol) trong nước (1,35 L) vào bột nhão. Bột nhão được loại khí hai lần, Pd (amphos)₂Cl₂ (11,71 g, 16,53 mmol) được bổ sung, bột nhão được khử khí hai lần lần nữa và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 67°C qua đêm và được làm mát đến nhiệt độ 20°C. Các lớp này được tách ra và được chiết trở lại bằng MeTHF (550 mL). Lớp hữu cơ này được kết hợp và được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay cho đến khi các chất rắn được kết tủa. MeTHF (700 mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 65°C. Các lớp này được tách ra và pha nước được chiết trở lại bằng MeTHF (135 mL). Pha hữu cơ được kết hợp và được cô đến khoảng 300 mL tạo thành bột nhão màu cam đặc. Bổ sung MeOH (270 mL) vào bột nhão sau đó HCl 1M (1,325 L) ở nhiệt độ 20°C cùng với khuấy nhanh. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút và nước (1 L) được bổ sung và bột nhão tạo thành được khuấy trong 1 giờ. Các chất rắn được lọc, được rửa bằng nước (150 mL), được làm khô trên bộ lọc trong 10 phút và ở nhiệt độ 45°C dưới nitơ trong 16 giờ để tạo ra muối 2 HCl của hợp chất nêu ở đề mục (221,1 g, 351 mmol, 92,2% tinh khiết) là chất rắn màu vàng nhạt. HPLC Phương pháp C thời gian duy trì 23,41 phút.

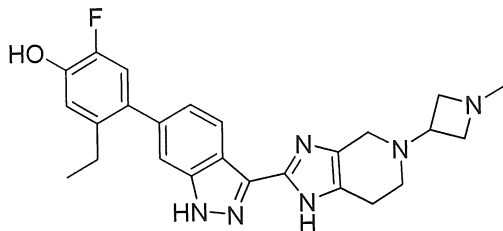
Điều chế 17: 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung 5-benzyl-2-(6-(4-(benzyloxy)-2-ethyl-5-flophenyl)-1H-indazol-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin, 2 HCl (40 g, 63,4 mmol) là bột nhão trong etanol (348 mL) và HCl 1,25M trong MeOH (101 mL) và nước (17,14 mL) vào 1 L bình thót cổ. Hỗn hợp phản ứng được loại khí bằng nitơ trong 5 phút và 10% khối lượng Pd/C, 50 % khối lượng H₂O (4,05 g, 1,903 mmol) được bổ sung. Bình phản ứng được đậy kín, được thổi bằng H₂ làm tăng áp đến 1-2 psi. được làm ấm đến 50°C, và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm và được lọc qua Celite. Bình phản ứng và bộ lọc được rửa bằng metanol (100 mL).

Dung dịch được lọc được kết hợp với sản phẩm của mẻ thứ hai ở lượng 98 mmol và được cô đến 390 g. EtOAc (2,04 L) được bổ sung chậm cùng với khuấy và sau đó dung dịch này được làm mát đến nhiệt độ 5°C cùng với khuấy. Các chất rắn được lọc, được rửa bằng EtOAc (510 mL), và được làm khô qua đêm ở nhiệt độ 45°C dưới nitơ để tạo ra muối 2 HCl của hợp chất nêu ở đề mục (58 g, 80% hiệu suất) là chất rắn màu trắng đục. HPLC Phương pháp C thời gian duy trì 12,83 phút.

Ví dụ 1: 5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



(a) 4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol

Hỗn hợp chứa 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol HCl (300 mg, 0,795 mmol), tert-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (272 mg, 1,590 mmol) và axit axetic (0,137 ml, 2,385 mmol) trong hỗn hợp chứa THF (6 mL) và DMF (2 mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ trong phòng, được xử lý bằng natri triaxetoxibohydrit (505 mg, 2,385 mmol), và được gia nhiệt ở nhiệt độ 40°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được kết hợp với phản ứng song song ở lượng 0,132 mmol và được cô. Cặn tạo thành được tách phần EtOAc (200 mL) và amoni clorua bão hòa (30

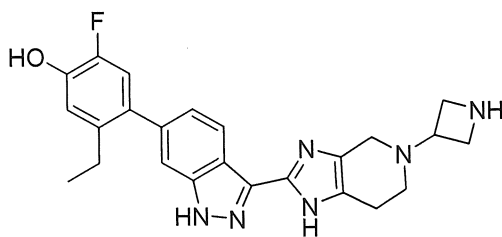
mL). Lốp hữu cơ này được rửa bằng nước (2 x 20 mL), được làm khô trên natri sulfat, được lọc, được cô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (24g silica gel, 0-15% MeOH/DCM). Các phân đoạn mong muốn được kết hợp và được cô chất rắn mềm màu trắng.

Chất rắn được xử lý bằng HCl 4N trong 1,4-dioxan (3,97 mL) và nước (1 mL) ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, được cô, và làm đông khô để tạo ra muối HCl của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (388 mg, 0,768 mmol, 83% hiệu suất) là chất rắn màu trắng. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{24}H_{25}FN_6O$ 433,21 tìm thấy 433.

(b) 5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

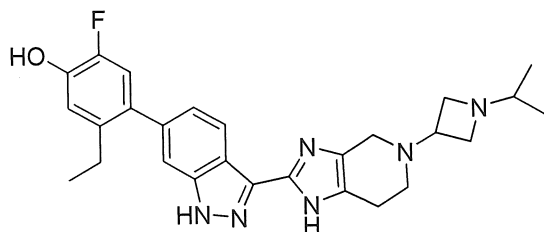
Bổ sung dung dịch formaldehyt, 37% trong nước (0,076 mL, 1,026 mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (259,4 mg, 0,513 mmol) trong MeOH (7 ml) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút và sau đó natri xyanobohydrit (129 mg, 2,053 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được để qua đêm. Ngày kế tiếp natri bohhydrit (194 mg, 5,13 mmol) được bổ sung ở nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ, phản ứng được làm dừng bằng cách bổ sung axit axetic chậm (5 mL) và nước (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút, được cô, và nước bổ sung (3 mL) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được lọc, được tinh chế bằng HPLC điều chế, và làm đông khô để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (132 mg) là chất rắn màu hơi vàng. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{25}H_{27}FN_6O$ 447,22 tìm thấy 447. 1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,17 (dd, J = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 7,56 (dd, J = 1,4, 0,8 Hz, 1H), 7,33 (dd, J = 8,5, 1,4 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,58 – 4,43 (m, 1H), 4,41 – 4,28 (m, 1H), 4,23 – 3,97 (m, 2H), 3,81 – 3,67 (m, 3H), 3,00 (s, 3H), 2,97 – 2,88 (m, 4H), 2,53 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ví dụ 2: 4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol



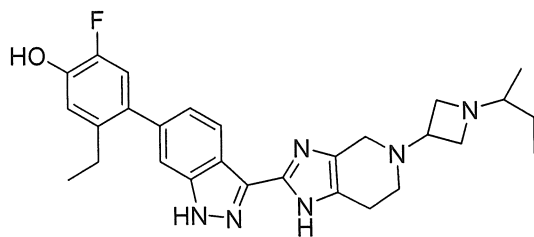
Bổ sung natri xyanobohydrit (50,0 mg, 0,795 mmol) vào dung dịch chứa 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol (50mg, 0,132 mmol) và tert-butyl 3-oxoazetidine-1-carboxylat (68,0 mg, 0,397 mmol) trong metanol (2 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng, được hòa tan trong 5 mL chứa 2:1 axit axetic:nước (5 mL) và được tinh chế bằng HPLC điều chế. Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và dung môi được làm bay hơi. Bổ sung ACN (1 mL) và HCl 4N trong dioxan (1 mL) vào sản phẩm khô tinh khiết. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (20 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{24}H_{25}FN_6O$ 433,21 tìm thấy 433.

Ví dụ 3: 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-isopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



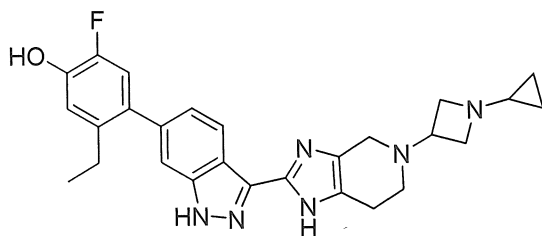
Bổ sung natri xyanobohydrit (17,44 mg, 0,277 mmol) vào dung dịch chứa 4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol (15 mg, 0,035 mmol) và axeton (10,07 mg, 0,173 mmol) trong MeOH (2,0 ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, được cô dưới chân không và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (10,4 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{27}H_{31}FN_6O$ 475,25 tìm thấy 475,1.

Ví dụ 4: 4-(3-(5-(1-(sec-butyl)azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol



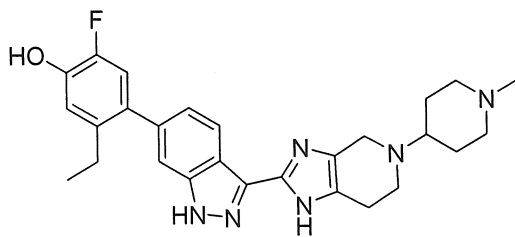
Bằng cách sử dụng quy trình tương tự quy trình theo ví dụ 3 ở lượng 0,045 mmol với chất phản ứng 2-butanon thay cho axeton, muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (10 mg) được điều chế. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{28}H_{33}FN_6O$ 489,27 tìm thấy 489,2.

Ví dụ 5: 4-(3-(5-(1-xyclopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol



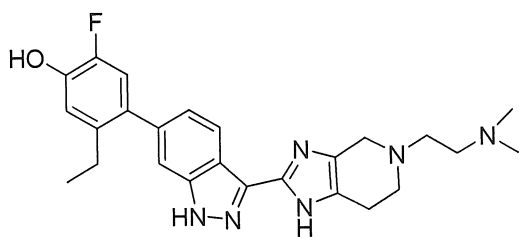
Bổ sung natri xyanobohydrit (507 mg, 8,07 mmol) trong metanol (4,03 mL) được bổ sung vào dung dịch chứa 4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol (349 mg, 0,807 mmol), [(1-etoxyxyclopropyl)oxy]-trimetylsilan (0,811 mL, 4,03 mmol), và axit axetic (0,185 ml, 3,23 mmol) trong metanol (4,03 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 65°C trong 2 giờ, được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay, và được tinh chế bằng HPLC điều chế. Các phân đoạn được kết hợp để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (62 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{27}H_{29}FN_6O$ 473,24 tìm thấy 473,2.

Ví dụ 6: 5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung natri triaxetoxibohydrit (1,229 g, 5,80 mmol) vào dung dịch chứa 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol HCl (0,80 g, 1,93 mmol), axit axetic (0,33 mL, 5,80 mmol), và 1-methylpiperidin-4-on (0,29 mL, 2,32 mmol) trong DMF (30 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 48 giờ, được cô, và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (612 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{27}H_{31}FN_6O$ 475,25 tìm thấy 475,1. 1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,19 (dd, $J = 8,5, 1,0$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 1,4$ Hz, 1H), 7,26 (dd, $J = 8,5, 1,5$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 6,89 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 4,22 (s, 2H), 3,75 – 3,61 (m, 2H), 3,53 – 3,37 (m, 4H), 3,22 – 3,08 (m, 1H), 3,07 – 3,00 (m, 2H), 2,91 (s, 3H), 2,52 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,43 – 2,30 (m, 3H), 2,19 – 2,01 (m, 3H), 1,05 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

Ví dụ 7: 4-(3-(5-(2-(dimethylamino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol



(a) tert-Butyl (2-(2-(6-(2-ethyl-5-fluoro-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)carbamate

Bổ sung tert-butyl (2-oxoethyl)carbamate (277 mg, 1,74 mmol) và axit axetic (0,25 mg, 4,35 mmol) vào huyền phù chứa 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol HCl (600 mg, 1,45 mmol) trong DMF (20 mL) sau đó bổ sung từng phần natri triaxetoxibohydrit (922 mg, 4,35 mmol) qua nhiều phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 96 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay và được tinh chế

bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (364 mg).

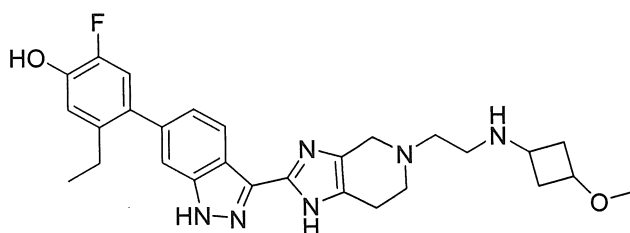
(b) 4-(3-(5-(2-aminoethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol

Bổ sung HCl 4M trong dioxan (3 mL) và nước (0,1 mL) vào sản phẩm ở bước trước đó (364 mg, 0,57 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay, được làm bay hơi bằng EtOAc (3 x 5 mL) bằng cách làm bay hơi kiểu quay, và được làm khô dưới chân không cao để tạo ra muối HCl của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (283 mg) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

(c) 4-(3-(5-(2-(dimethylamino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol

Bổ sung dung dịch formaldehyt, 37% trong nước (0,171 mL, 2,30 mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (283 mg) trong MeOH (11 mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút và sau đó natri xyanobohydrit (252 mg, 4,02 mmol) được bổ sung. Một giờ 15 phút sau đó, natri bohhydrit (152 mg, 4,02 mmol) được bổ sung. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (141 mg) là bột màu vàng. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{25}H_{29}FN_6O$ 449,24 tìm thấy 449. 1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,16 (dd, J = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 7,32 (dd, J = 8,4, 1,4 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 2H), 3,40 (dd, J = 6,5, 5,0 Hz, 2H), 3,12 (t, J = 5,7 Hz, 2H), 3,06 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 2,98 – 2,86 (m, 8H), 2,52 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ví dụ 8: 5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(2-((3-metoxycyclobutyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



(a) tert-Butyl (2-(2-(6-(2-ethyl-5-flo-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)carbamate

Bổ sung tert-butyl (2-oxoethyl)carbamate (277 mg, 1,74 mmol) và axit axetic (0,25 mg, 4,35 mmol) vào huyền phù chứa 5-ethyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol HCl (600 mg, 1,45 mmol) trong DMF (20 mL) sau đó natri triacetoxymethylhydrit (922 mg, 4,35 mmol) trong các phần qua nhiều phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 96 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế (10-70% ACN/Nước) để tạo ra muối TFA của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (507 mg).

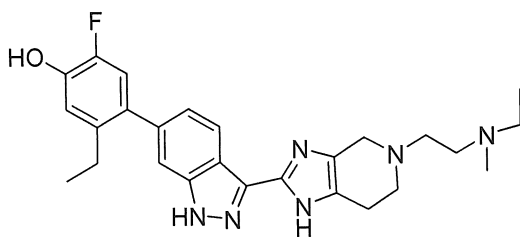
(b) 4-(3-(5-(2-aminoethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-flophenol

Sản phẩm ở bước trước đó (505 mg, 0,80 mmol) được hòa tan trong dioxan (8 mL) và nước (1,6 mL) và sau đó HCl 4M trong dioxan (8 mL, 32 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, làm đông, và được làm đông khô nhanh để tạo ra muối HCl của hợp chất trung gian nêu ở đề mục mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

(c) 5-Ethyl-2-flo-4-(3-(5-(2-((3-metoxycyclobutyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Sản phẩm ở bước trước đó (393 mg, 0,80 mmol) và axit axetic (0,14 mL, 2,39 mmol) được hòa tan trong DMF (10 mL), sau đó 3-metoxycyclobutan-1-on (0,094 mL, 0,88 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và natri triacetoxymethylhydrit (507 mg, 2,39 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm, được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (56 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{28}H_{33}FN_6O_2$ 505,26 tìm thấy 505,3.

Ví dụ 9: 5-ethyl-4-(3-(5-(2-(ethyl(metyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-2-flophenol



(a) tert-butyl (2-(2-(6-(2-ethyl-5-fluoro-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)ethyl)(methyl)carbamate

Axit axetic (0,166 mL, 2,90 mmol), tert-butyl methyl(2-oxoethyl)carbamate (201 mg, 1,160 mmol), và 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol, HCl (400 mg, 0,966 mmol) được kết hợp trong DMF (3,65 mL). Natri triaxetoxymethydrat (615 mg, 2,90 mmol) được bổ sung từng phần trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm và được pha loãng bằng EtOAc (50 mL). Dung dịch hữu cơ được rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (2 x 20 mL). Pha hữu cơ được thu, được làm khô (MgSO₄), và được cô dưới chân không. Cặn thô được tinh chế bằng sắc ký silica gel (0% to 15% MeOH trong DCM). Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được cô để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (491 mg) là chất rắn không màu, vô định hình. (m/z): [M+H]⁺ được tính toán đối với C₂₉H₃₅FN₆O₃ 535,28 tìm thấy 536.

(b) 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(2-(methylamino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

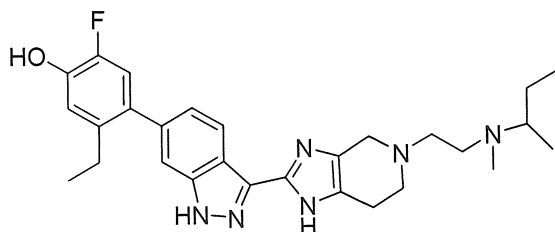
Sản phẩm ở bước trước đó (0,491 g, 0,918 mmol) được hòa tan trong dioxan (4,59 mL) và nước (4,59 mL) và HCl 4N trong dioxan (4,59 mL, 18,36 mmol) được bổ sung chậm trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ, được pha loãng bằng nước (20 mL), làm đông khô ở nhiệt độ -78°C, và được làm đông khô nhanh để tạo ra muối di-HCl của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (413 mg).

(c) 5-ethyl-4-(3-(5-(2-(ethyl(methyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-2-fluorophenol

Bổ sung axetaldehyt (0,11 mL, 1,971 mmol) vào sản phẩm ở bước trước đó (0,2 g, 0,394 mmol) được hòa tan trong MeOH (1,971 mL) sau đó natri xyanobohydrit (248 mg, 3,94 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm, được hòa tan trong 2:1 axit axetic:nước, ống tiêm được lọc, và được tinh chế bằng HPLC

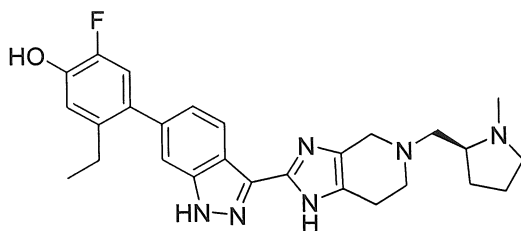
điều chế. Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm đông khô nhanh để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (25 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{31}FN_6O_3$ 436,28 tìm thấy 436,2.

Ví dụ 10: 4-(3-(5-(2-(sec-butyl(metyl)amino)etyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol



Quy trình chung dưới đây theo ví dụ 9 bằng cách sử dụng butan-2-on (0,177 mL, 1,971 mmol) thay cho axetaldehyt ở bước (c) muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục được điều chế (66 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{28}H_{35}FN_6O_3$ 491,29 tìm thấy 492.

Ví dụ 11: (S)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-((1-metylpyrolidin-2-yl)metyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



(a) tert-butyl (S)-2-((2-(6-(2-etyl-5-flo-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)metyl)pyrolidin-1-carboxylat

Bổ sung natri xyanobohydrit (33,3 mg, 0,530 mmol) vào huyền phù chứa 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol (50 mg, 0,132 mmol) và (S)-tert-butyl 2-formylpyrolidin-1-carboxylat (34,3 mg, 0,172 mmol) trong metanol (1,34 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Natri xyanobohydrit bổ sung (33,3 mg, 0,530 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 30 phút. Vào ngày sau đó, hai phần bổ sung chứa (S)-tert-butyl 2-formylpyrolidin-1-carboxylat (34,3 mg, 0,172 mmol) được bổ sung, mỗi phần sau đó gia nhiệt bổ sung ở nhiệt độ 70°C

trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được hòa tan trong 8:2 DCM:metanol (8 mL) và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (100% DCM 15 min, 0-5% DCM:metanol, 20 phút, 5% DCM:metanol, 20 phút). Các phân đoạn được kết hợp và được cô để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục là chất rắn sáp màu trắng (167 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{31}H_{37}FN_6O_3$ 561,29 tìm thấy 561,3.

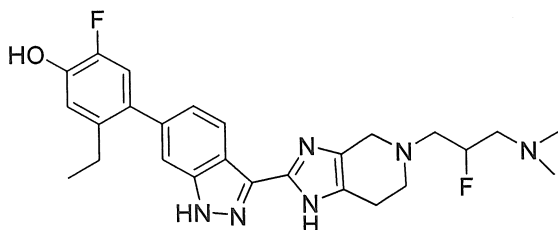
(b) (S)-5-etyl-2-fluoro-4-(3-(5-(pyrrolidin-2-ylmethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Bổ sung DCM (14,9 mL) vào sản phẩm ở bước trước đó (167 mg, 0,298 mmol) sau đó TFA (14,9 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ, được cô, và được hòa tan trong 4:1 nước:axit axetic (8 mL) bằng 8 giọt metanol và được tinh chế bằng HPLC điều chế. Các phân đoạn được kết hợp và được cô để tạo ra muối TFA của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (70 mg) là chất rắn màu trắng trong suốt. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{29}FN_6O$ 461,24 tìm thấy 461,1.

(c) (S)-5-etyl-2-fluoro-4-(3-(5-((1-methylpyrrolidin-2-yl)methyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Bổ sung natri xyanobohydrit (38,2 mg, 0,608 mmol) vào dung dịch chứa sản phẩm ở bước trước đó (70 mg, 0,152 mmol) và dung dịch formaldehyt 37% trong nước (0,023 mL, 0,304 mmol) trong metanol (15,2 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Phần formaldehyt bổ sung (0,023 mL, 0,304 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C qua đêm và được cô. Metanol (1,52 mL) và natri xyanobohydrit (382 mg, 6,08 mmol) được bổ sung; hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ; natri xyanobohydrit bổ sung (382 mg, 6,08 mmol) được bổ sung; hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C qua cuối tuần; được cô; được hòa tan 1:1 axit axetic:nước (4 mL), được lọc và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (36,4 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{27}H_{31}FN_6O$ 475,25 tìm thấy 475,2.

Ví dụ 12: 4-(3-(5-(3-(dimethylamino)-2-flopropyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol



(a) tert-butyl 3-(2-(6-(2-etyl-5-flo-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)-2-flopropyl)carbamát

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa tert-butyl (3-brom-2-flopropyl)carbamát (248 mg, 0,966 mmol) trong DMF (2,416 mL) vào dung dịch chứa DIPEA (0,505 mL, 2,90 mmol) và 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol, HCl (400 mg, 0,966 mmol) trong DMF (2,416 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. tert-butyl (3-brom-2-flopropyl)carbamát bổ sung (248 mg, 0,966 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm, được cô dưới chân không, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (MeOH:DCM) để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (286 mg, 0,518 mmol, 54% hiệu suất). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{29}H_{34}F_2N_6O_3$ 553,27 tìm thấy 553.

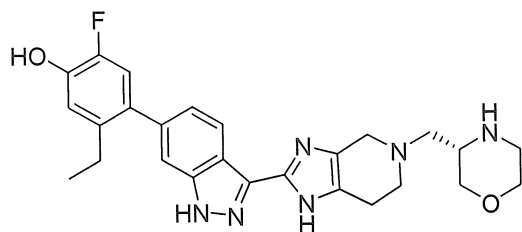
(b) 4-(3-(5-(3-amino-2-flopropyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol

Sản phẩm ở bước trước đó (0,286 g, 0,518 mmol) được hòa tan trong dioxan (2,15 mL) và nước (0,48 mL) và HCl 4M trong dioxan (2,15 mL, 8,60 mmol) được bổ sung chậm qua 5 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, làm đông, và được làm đông khô nhanh để tạo ra muối HCl của hợp chất trung gian nêu ở đề mục (261 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{24}H_{26}F_2N_6O$ 453,21 tìm thấy 453.

(c) 4-(3-(5-(3-(dimethylamino)-2-flopropyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol

Sản phẩm ở bước trước đó (0,261 g, 0,497 mmol) và dung dịch formaldehyt 37% trong nước (0,083 mL, 1,043 mmol) được kết hợp trong MeOH (4,97 mL). Natri xyanobohydrit (0,156 g, 2,484 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong nhiều giờ. Natri bohhydrit được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế. Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm đông khô nhanh để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (30 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{30}F_2N_6O$ 481,24 tìm thấy 481.

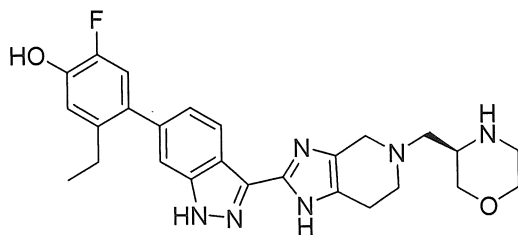
Ví dụ 13: (S)-5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmetyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung natri xyanobohydrit (167 mg, 2,65 mmol) vào dung dịch chứa 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol TFA (100 mg, 0,203 mmol) và tert-butyl (R)-3-formylmorpholine-4-carboxylat (285 mg, 1,325 mmol) trong MeOH (5 mL), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm.

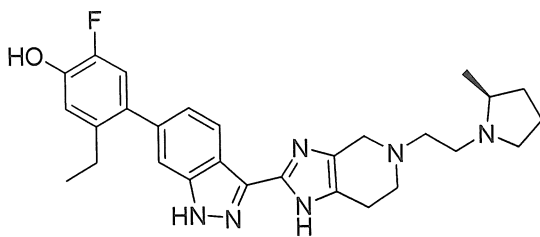
Hỗn hợp phản ứng được cô và TFA (3 mL) được bổ sung ở nhiệt độ 0°C. Sau 30 phút, hỗn hợp phản ứng được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế (2-70% ACN/Nước) để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (55,2 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{29}FN_6O_2$ 477,23 tìm thấy 477,1. 1H NMR (400 MHz, Metanol-d₄) δ 8,16 (dd, J = 8,5, 0,9 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 7,31 (dd, J = 8,5, 1,4 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 6,90 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,04 (ddd, J = 15,8, 12,7, 3,4 Hz, 2H), 3,97 – 3,72 (m, 4H), 3,66 (td, J = 8,2, 7,3, 3,1 Hz, 1H), 3,57 (dd, J = 12,5, 9,1 Hz, 1H), 3,35 – 3,32 (m, 1H), 3,28 – 3,12 (m, 2H), 3,07 – 2,96 (m, 1H), 2,96 – 2,90 (m, 2H), 2,88 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 2,52 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ví dụ 14: (R)-5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmetyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bằng cách sử dụng quy trình tương tự quy trình theo ví dụ 13 ở lượng 0,159 mmol, muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (29,1 mg) được điều chế. (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{29}FN_6O_2$ 477,23 tìm thấy 477,1

Ví dụ 15: (S)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(2-(2-metylpyrrolidin-1-yl)etyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



(a) 4-(3-(5-(2,2-dimetoxyetyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol

Bổ sung natri xyanobohydrit (121mg, 1,933 mmol) vào hỗn hợp chứa 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol HCl (200 mg, 0,483 mmol) và 2,2-dimetoxyaxetaldehyt (0,146 mL, 0,966 mmol) trong MeOH (4,83 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng, được cô, và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (10% MeOH trong DCM) để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục, (210 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{25}H_{28}FN_5O_3$ 466,22 tìm thấy 466.

(b) 2-(2-(6-(2-etyl-5-flo-4-hydroxyphenyl)-1H-indazol-3-yl)-1,4,6,7-tetrahydro-5H-imidazo[4,5-c]pyridin-5-yl)etan-1,1-diol

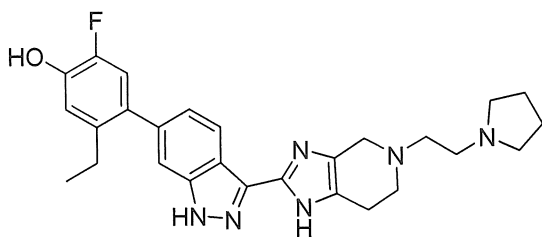
Sản phẩm ở bước trước đó (210 mg, 0,0451 mmol) được hòa tan trong MeTHF (4 mL) và HCl 3N trong nước (4 mL, 12 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 ngày, được cô, được hòa tan trong 1:1 axit axetic: nước,

và được tinh chế bằng HPLC điều chế. Các phân đoạn tinh khiết được kết hợp và được làm đông khô nhanh để tạo ra hợp chất trung gian nêu ở đề mục (150 mg) (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{23}H_{24}FN_5O_3$ 438,19 tìm thấy 438.

(c) (S)-5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(2-(2-methylpyrrolidin-1-yl)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Bổ sung natri xyanobohydrit (28,7 mg, 0,457 mmol) trong MeOH (0,5 mL) vào hỗn hợp chứa sản phẩm ở bước trước đó (20 mg, 0,046 mmol) và (S)-2-methylpyrrolidin (19 mg, 0,229 mmol) trong MeOH (0,5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm, được hòa tan trong 2:1 axit axetic: nước và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (6 mg, 0,0084 mmol, 18% hiệu suất). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{28}H_{33}FN_6O$ 489,27 tìm thấy 489,2.

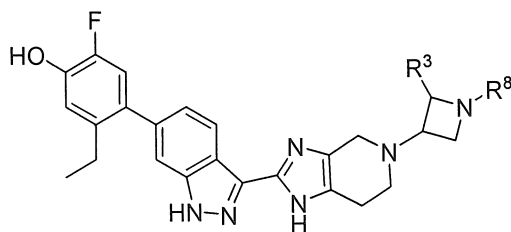
Ví dụ 16: 5-Ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(2-(pyrrolidin-1-yl)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung 1-(2-bromethyl)pyrrolidin (21,23 mg, 0,119 mmol) và DIPEA (69,2 μ L, 0,397 mmol) vào dung dịch chứa 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol (30 mg, 0,079 mmol) trong DMF (500 μ L). Hỗn hợp phản ứng được khuấy và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, được cô, được hòa tan trong 1:1 axit axetic:nước, và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (18 mg, 0,026 mmol, 32% hiệu suất). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{27}H_{31}FN_6O$ 475,25 tìm thấy 475,2.

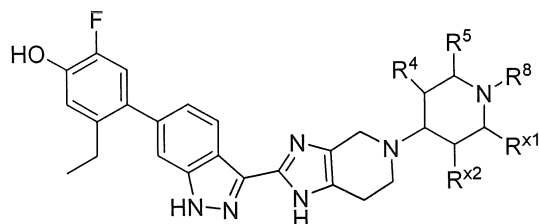
Bằng cách sử dụng các phương pháp tổng hợp giống nhau, các hợp chất trong các bảng 1-19 được điều chế. Trong các bảng dưới đây, khoảng trống trong cột bất kỳ chỉ ra nguyên tử hydro, * ở trên đầu của cấu trúc chỉ ra tâm bất đối, và ký hiệu (R) hoặc (S) phía trước phân tử thể chỉ ra cấu hình của nguyên tử cacbon mà phân tử thể gắn vào.

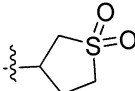
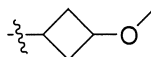
Bảng 1



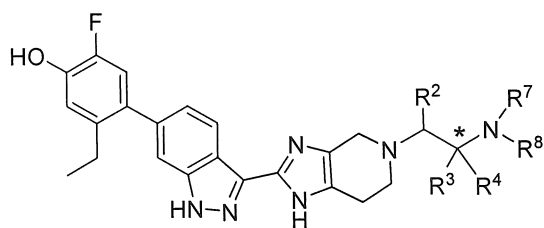
Ví dụ số	R ⁸	R ³	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
1-1	-(CH ₂) ₂ OH		C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O ₂	477,23	477,2
1-2		-CH ₃	C ₂₅ H ₂₇ FN ₆ O	447,22	447
1-3	-C ₂ H ₅		C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
1-4	-(CH ₂) ₃ SCH ₃		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ OS	521,24	521,2
1-5			C ₂₉ H ₃₀ FN ₇ O	512,25	512,3
1-6	-(CH ₂) ₂ OCH ₃		C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,25	491,1
1-7	-(CH ₂) ₃ OCH ₃		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O ₂	505,27	505,2
1-8	-(CH ₂) ₂ CN		C ₂₇ H ₂₈ FN ₇ O	486,23	486,1
1-9	-(CH ₂) ₂ SCH ₃		C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ OS	507,23	507,2
1-10	cBu		C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O	487,25	487,2
1-11	-CH ₂ iPr		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
1-12	oxetan-3-yl		C ₂₇ H ₂₉ FN ₆ O ₂	489,23	489,1
1-13	-(CH ₂) ₂ CH(CH ₃)SCH ₃		C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ OS	535,26	535,1
1-14	-CH ₃	-CH ₃	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461
1-15			C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O ₃ S	551,22	551,1
1-16	tetrahydropyran-4-yl		C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,3
1-17			C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,2
1-18	-CH ₂ cPr		C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O	487,25	487,2

Bảng 2

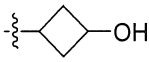
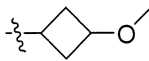
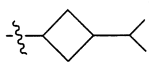
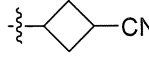
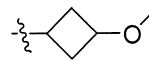


Ví dụ số	R ⁸	R ⁴ , R ⁵ , R ^{x1} , R ^{x2}	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
2-1	-CH ₃	R ⁵ = C(O)OCH_3 –	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₃	533,26	533
2-2		R ⁴ = $\text{C(O)OC}_2\text{H}_5$ –	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₃	533,26	533,1
2-3			C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
2-4		R ⁵ = (R)CH ₃	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,2
2-5		R ⁵ = (R)CH ₃ R ^{x1} = (R)CH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489
2-6	cBu		C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
2-7	-CH ₂ iPr		C ₃₀ H ₃₇ FN ₆ O	517,30	517,2
2-8			C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O ₃ S	579,25	579,2
2-9	oxetan-3-yl		C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,2
2-10	-CH ₂ -phenyl		C ₃₃ H ₃₅ FN ₆ O	551,29	551,2
2-11	-(CH ₂) ₂ CN		C ₂₉ H ₃₂ FN ₇ O	514,27	514,2
2-12	tetrahydropyran-4-yl		C ₃₁ H ₃₇ FN ₆ O ₂	545,30	545,3
2-13	cPr		C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,2
2-14	oxetan-3-yl	R ⁴ và R ^{x2} dạng $\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-}$	C ₃₁ H ₃₄ F ₂ N ₆ O ₂	561,27	561,2
2-15	tetrahydropyran-4-yl	R ⁴ và R ^{x2} dạng $\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-}$	C ₃₃ H ₃₈ F ₂ N ₆ O ₂	589,30	589,2
2-16	-CH ₂ iPr	R ⁴ và R ^{x2} dạng $\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-}$	C ₃₂ H ₃₆ F ₂ N ₆ O	559,29	559,2
2-17		R ⁴ và R ^{x2} dạng $\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-}$	C ₃₃ H ₃₈ F ₂ N ₆ O ₂	589,30	589,2
2-18	-C ₂ H ₅		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
2-19	-CH ₂ CH ₂ F		C ₂₈ H ₃₂ F ₂ N ₆ O	507,26	507,3
2-20	iPr		C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,29	503,3

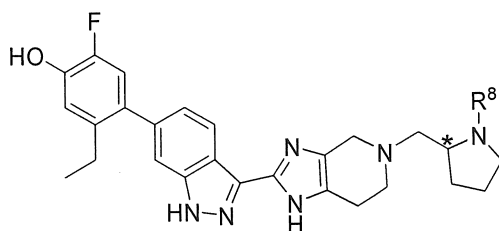
Bảng 3



Ví dụ số	R ⁸	R ² , R ³ , R ⁴ , R ⁷	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
3-1				C ₂₇ H ₂₈ FN ₇ O	486,23	486,1
3-2	cBu	R ⁷ = -CH ₃		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
3-3	iPr	R ⁷ = -CH ₃		C ₂₇ H ₃₃ FN ₆ O	477,27	477,2
3-4	-CH ₃	R ³ = -CH ₃ R ⁴ = -CH ₃ R ⁷ = -CH ₃		C ₂₇ H ₃₃ FN ₆ O	477,27	477,1
3-5	-CH ₃	R ³ = -CH ₃ R ⁷ = -CH ₃	(S)	C ₂₆ H ₃₁ FN ₆ O	463,25	463,2
3-6				C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,25	491,2
3-7				C ₂₃ H ₂₅ FN ₆ O	421,21	421,1
3-8	-CH ₃	R ² và R ³ dạng -(CH ₂) ₃ - R ⁷ = -CH ₃		C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
3-9		R ³ = -CH ₃	(S)	C ₂₄ H ₂₇ FN ₆ O	435,22	435
3-10	-(CH ₂) ₂ SCH ₃			C ₂₆ H ₃₁ FN ₆ OS	95,23	95,1
3-11	cBu			C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	75,25	75,2
3-12	-(CH ₂) ₃ SCH ₃			C ₂₇ H ₃₃ FN ₆ OS	09,24	09,1
3-13	-(CH ₂) ₂ CN			C ₂₆ H ₂₈ FN ₇ O	74,23	74,1
3-14				C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	03,29	03,2

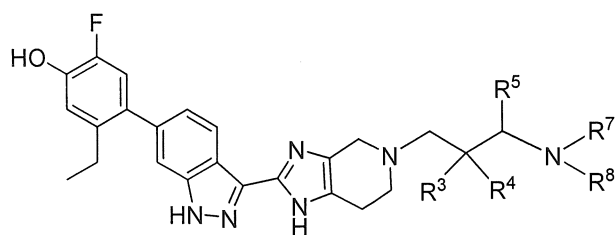
Ví dụ số	R ⁸	R ² , R ³ , R ⁴ , R ⁷	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
3-15	-C ₂ H ₅			$\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FN}_6\text{O}$	4 49,24	4 49,2
3-16	-CH ₃			$\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{FN}_6\text{O}$	4 35,22	4 35,1
3-17		R ³ = -CH ₃ R ⁴ = -CH ₃		$\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FN}_6\text{O}$	4 49,24	4 49,1
3-18	-(CH ₂) ₂ CH(CH ₃)S CH ₃			$\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{FN}_6\text{OS}$	5 23,26	5 23,2
3-19		R ³ = -CH((R)CH ₃)OH	(R)	$\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FN}_6\text{O}_2$	4 65,23	4 65
3-20				$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{FN}_6\text{O}_2$	4 91,25	4 91,2
3-21		R ² = -CH ₃ R ⁴ = -CH ₃		$\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{FN}_6\text{O}$	4 49,24	4 49,2
3-22		R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{FN}_6\text{O}_2$	5 19,28	5 19
3-23				$\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}$	5 25,25	5 25,2
3-24				$\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{FN}_6\text{O}$	4 89,27	4 89,2
3-25				$\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{FN}_7\text{O}$	5 00,25	5 00,2
3-26				$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{FN}_6\text{O}_2$	5 19,28	5 19,2
3-27	-CH ₂ C(CH ₃) ₂ CH ₂ OC ₂ H ₅			$\text{C}_{30}\text{H}_{39}\text{FN}_6\text{O}_2$	5 35,31	5 35,3
3-28	-CH ₃	R ³ = (R)CH ₂ OH R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FN}_6\text{O}_2$	4 79,25	4 79
3-29	-CH ₃	R ³ = (S)CH ₂ OH R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{FN}_6\text{O}_2$	4 79,25	4 79
3-30				$\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{FN}_6\text{O}_2$	5 05,27	5 05,2
3-31	tetrahydropyran-4-yl	R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{FN}_6\text{O}_2$	5 19,28	5 19
3-32	oxetan-3-yl	R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{FN}_6\text{O}_2$	4 91,25	4 91,2
3-33	-CH ₂ iPr	R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{FN}_6\text{O}$	4 89,27	4 89
3-34	cPr	R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{27}\text{H}_{31}\text{FN}_6\text{O}$	4 75,25	4 75,3
3-35	pyridin-4-yl	R ⁷ = -CH ₃		$\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{FN}_7\text{O}$	5 12,25	5 12,2

Bảng 4

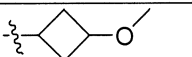


Ví dụ số	R ⁸	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
4-1		(S)	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
4-2		(R)	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
4-3	-CH ₃	(R)	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,2
4-4	-C ₂ H ₅	(R)	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
4-5	-CH ₂ iPr	(R)	C ₃₀ H ₃₇ FN ₆ O	517,30	517,2
4-6	cBu	(R)	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
4-7	iPr	(R)	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,29	503,2
4-8	oxetan-3-yl	(R)	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,2
4-9	-CH ₂ iPr	(S)	C ₃₀ H ₃₇ FN ₆ O	517,30	517,2
4-10	-cBu	(S)	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
4-11	tetrahydropyran-4-yl	(S)	C ₃₁ H ₃₇ FN ₆ O ₂	545,30	545,2
4-12	-C ₂ H ₅	(S)	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
4-13	-CH ₂ cPr	(R)	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
4-14	iPr	(S)	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,29	503,2
4-15	-CH ₂ cPr	(S)	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
4-16	oxetan-3-yl	(S)	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,2
4-17	phenyl	(R)	C ₃₁ H ₃₂ FN ₇ O	538,27	538,2
4-18	phenyl	(S)	C ₃₁ H ₃₂ FN ₇ O	538,27	538,2
4-19	cPr	(S)	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,2
4-20	cPr	(R)	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,2

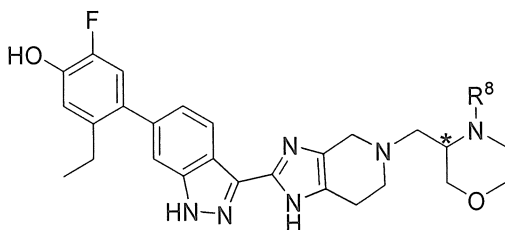
Bảng 5

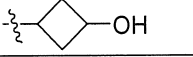


Ví dụ số	R ⁸	R ³ , R ⁴ , R ⁵ , R ⁷	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
5-1	-CH ₃	R ³ =-CH ₃ R ⁴ =-CH ₃ R ⁷ =-CH ₃	⁶ O C ₂₈ H ₃₅ FN	29 491,	,2 491
5-2	iPr	R ³ =-OH R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₈ H ₃₃ FN	27 505,	505
5-3	-CH ₃	R ³ =-OH R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₆ H ₃₁ FN	25 479,	479
5-4	-CH ₃	R ³ =-OH R ⁴ =-CH ₃ R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₇ H ₃₃ FN	27 493,	493
5-5		R ³ =-OH R ⁴ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₅ H ₂₉ FN	23 465,	465
5-6		R ⁵ =(S)phe nyl	⁶ O C ₃₀ H ₃₁ FN	25 511,	,1 511
5-7		R ³ =(S)OH	⁶ O ₂ C ₂₆ H ₃₁ FN	25 479,	479
5-8		R ³ =(R)OH	⁶ O ₂ C ₂₆ H ₃₁ FN	25 479,	479
5-9	-(CH ₂) ₂ CN	R ³ =-OH, R ⁷ =-CH ₃	⁷ O ₂ C ₂₈ H ₃₂ FN	26 518,	,2 518
5-10	-(CH ₂) ₂ OCH ₃	R ³ =-OH, R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₃ C ₂₈ H ₃₅ FN	28 523,	,2 523
5-11	iPr	R ³ =-OH, R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₈ H ₃₅ FN	28 507,	,2 507
5-12	-C ₂ H ₅	R ³ =-OH, R ⁷ =-CH ₃	⁶ O ₂ C ₂₇ H ₃₃ FN	27 493,	,2 493
5-13	-CH ₃	R ³ =-CH ₃ R ⁷ =-CH ₃	⁶ O C ₂₇ H ₃₃ FN	27 477,	477
5-14		R ³ =F	N ₆ O C ₂₄ H ₂₆ F ₂	21 453,	453
5-15	-CH ₃	R ⁷ =-CH ₃	⁶ O C ₂₆ H ₃₁ FN	25 463,	,1 463

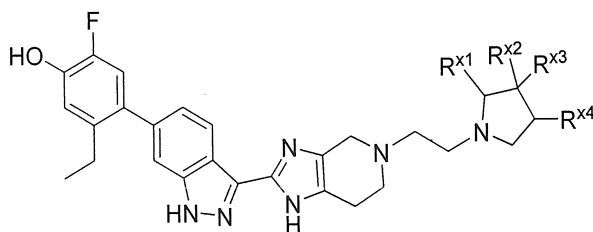
Ví dụ số	R ⁸	R ³ , R ⁴ , R ⁵ , R ⁷	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
5-16	cPr	R ⁷ =-CH ₃	$C_{28}H_{33}FN$ _{6O}	489, 27	489 ,2
5-17	iPr	R ⁷ =-CH ₃	$C_{28}H_{35}FN$ _{6O}	491, 29	491 ,1
5-18	cBu	R ⁷ =-CH ₃	$C_{29}H_{35}FN$ _{6O}	503, 29	503 ,6
5-19		R ⁷ =-CH ₃	$C_{30}H_{37}FN_6O_2$	533,30	533,6
5-20	tetrahydropyran-4-yl	R ⁷ =-CH ₃	$C_{30}H_{37}FN_6O_2$	533,30	533,6
5-21	-CH ₂ CH ₂ F	R ⁷ =-CH ₃	$C_{27}H_{32}F_2N_6O$	495,26	495,1

Bảng 6



Ví dụ số	R ⁸	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
6-1	-CH ₃	(S)	$C_{27}H_{31}FN_6O_2$	491,25	491,1
6-2	-CH ₃	(R)	$C_{27}H_{31}FN_6O_2$	491,25	491,2
6-3	-CH ₂ phenyl	(R)	$C_{33}H_{35}FN_6O_2$	567,28	567,2
6-4		(R)	$C_{30}H_{35}FN_6O_3$	547,28	547,2
6-5	-CH ₂ CH ₂ OH	(R)	$C_{28}H_{33}FN_6O_3$	521,26	521,3

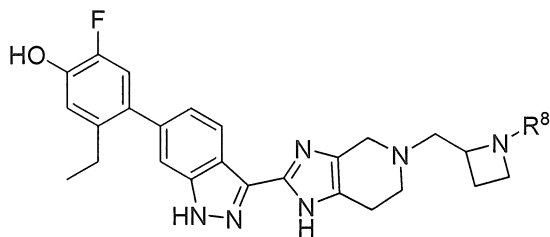
Bảng 7



Ví dụ số	R ^{x1} , R ^{x3} , R ^{x4}	R ^{x2}	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
----------	--	-----------------	-----------	--------------------------------------	-------------------------------------

dụ số	Ví	$R^{x1}, R^{x2}, R^{x3}, R^{x4}$	Công thức	$[M+H]^+$ được tính toán	$[M+H]^+$ được tìm thấy
7-1		$R^{x2}=(R)F$	$C_{27}H_{30}F_2N_6O$	493,25	493,2
7-2		$R^{x2}=(S)F$	$C_{27}H_{30}F_2N_6O$	493,25	493,2
7-3			$C_{27}H_{31}FN_6O$	475,25	475,2
7-4		R^{x3} và R^{x4} dạng $-CH_2-$	$C_{28}H_{31}FN_6O$	487,25	487,6
7-5		$R^{x1} = -CH_2OCH_3$	$C_{29}H_{35}FN_6O_2$	519,28	519,2
7-6		$R^{x2} = OH$	$C_{27}H_{31}FN_6O_2$	491,25	491,2
7-7		$R^{x2} = -C_2H_5$	$C_{29}H_{35}FN_6O$	503,29	503,2
7-8		$R^{x2} =$ phenyl	$C_{33}H_{35}FN_6O$	551,29	551,2
7-10		$R^{x2} = (S)CH_2OH$	$C_{28}H_{33}FN_6O_2$	505,27	505,2
7-11		$R^{x2} = -OiPr$	$C_{30}H_{37}FN_6O_2$	533,30	533,2
7-12		$R^{x2} = -CH_2OCH_3$	$C_{29}H_{35}FN_6O_2$	519,28	519,2

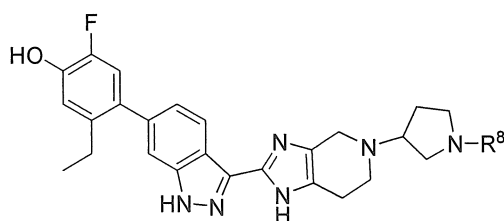
Bảng 8



Ví dụ số	R^8	Công thức	$[M+H]^+$ được tính toán	$[M+H]^+$ được tìm thấy
8-1		$C_{25}H_{27}FN_6O$	447,22	447,2
2	8- -CH ₃	$C_{26}H_{29}FN_6O$	461,24	461,2
3	8- cBu	$C_{29}H_{33}FN_6O$	501,27	501,2
4	8- -CH ₂ cPr	$C_{29}H_{33}FN_6O$	501,27	501,2
5	8- iPr	$C_{28}H_{33}FN_6O$	489,27	489,1
6	8- tetrahydropyran-4-yl	$C_{30}H_{35}FN_6O_2$	531,28	531,2
7	8- -CH ₂ iPr	$C_{29}H_{35}FN_6O$	503,29	503,2
	8- -C ₂ H ₅	$C_{27}H_{31}FN_6O$	475,25	475,1

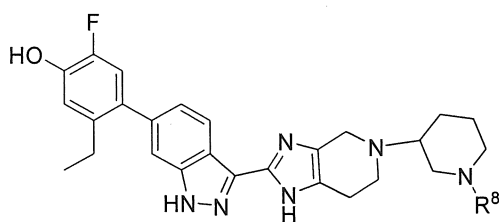
Ví dụ số	R ⁸	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
8				
9	8-phenyl	C ₃₀ H ₃₀ FN ₇ O	524,25	524,2
10	8-cPr	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O	487,25	487,2
11	8-oxetan-3-yl	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O ₂	503,25	503,2

Bảng 9



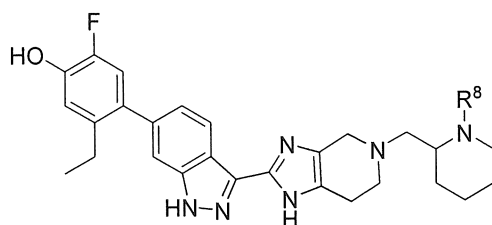
Ví dụ số	R ⁸	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
9-1		C ₂₅ H ₂₇ FN ₆ O	447,22	447,1
9-2	-CH ₃	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
9-3	oxetan-3-yl	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O ₂	503,25	503,1
9-4	-CH ₂ iPr	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,29	503,2
9-5		C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₃ S	565,23	565,2
9-6	cBu	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,3
9-7	-C ₂ H ₅	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,2
9-8	iPr	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
9-9	-CH ₂ cPr	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,2
9-10	tetrahydropyran-4-yl	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O ₂	531,28	531,2
9-11	cPr	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O	487,25	487,2
9-12	phenyl	C ₃₀ H ₃₀ FN ₇ O	524,25	524,2

Bảng 10



Ví dụ số	R ⁸	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
10-1	iPr	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,29	503,2
10-2	-CH ₂ iPr	C ₃₀ H ₃₇ FN ₆ O	517,30	517,2
10-3	-CH ₂ cPr	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
10-4	-C ₂ H ₅	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
10-5	cBu	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,29	515,2
10-6	oxetan-3-yl	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,2
10-7	tetrahydropyran-4-yl	C ₃₁ H ₃₇ FN ₆ O ₂	545,30	545,2
10-8	-CH ₃	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,2
10-9	cPr	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,27	501,2
10-10	phenyl	C ₃₁ H ₃₂ FN ₇ O	538,27	538,2

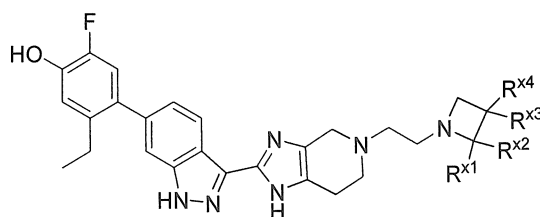
Bảng 11



Ví dụ số	R ⁸	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
11-1	-CH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,2 7	489, 2
11-2	-C ₂ H ₅	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O	503,2 9	503, 2
11-3	oxetan-3-yl	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O ₂	531,2 8	531, 2
11-4	-CH ₂ iPr	C ₃₁ H ₃₉ FN ₆ O	531,3 2	531, 2
11-5	-CH ₂ cPr	C ₃₁ H ₃₇ FN ₆ O	529,3 0	529, 2
11-6	cBu	C ₃₁ H ₃₇ FN ₆	529,3	529,

Ví dụ số	R ⁸	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
		O	0	2
11-7	tetrahydropyran-4-yl	C ₃₂ H ₃₉ FN ₆ O ₂	559,3 1	559, 2
11-8	iPr	C ₃₀ H ₃₇ FN ₆ O	517,3 0	517, 2
11-9	cPr	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O	515,2 9	515, 2
11-10		C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,2 5	475, 2

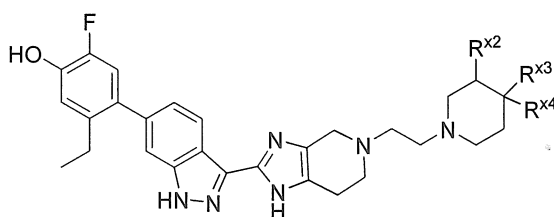
Bảng 12



Ví dụ số	R ^{x1} , R ^{x2} , R ^{x3} , R ^{x4}	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
1	12- R ^{x3} = -CN	C ₂₇ H ₂₈ FN ₇ O	486,23	486,1
2	12- R ^{x3} = -CN, R ^{x4} = -CH ₃	C ₂₈ H ₃₀ FN ₇ O	500,25	500,2
3	12- R ^{x1} = -CH ₃ , R ^{x2} = -CH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
4	12- R ^{x3} = -CH ₃	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,1
5	12- R ^{x3} = -CH ₃ , R ^{x4} = -OCH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O ₂	505,27	505,2
6	12- R ^{x3} = - CH ₂ CH ₂ OH	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O ₂	505,27	505,2
7	12- R ^{x3} = -CH ₃ , R ^{x4} = -CH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489,2
8	12- R ^{x3} = - CH ₂ OC ₂ H ₅	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O ₂	519,28	519,2
9	12- R ^{x3} = phenyl	C ₃₂ H ₃₃ FN ₆ O	537,27	537,2
10	12- R ^{x3} = -CH ₃ , R ^{x4} = -OH	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,25	491,2
11	12-	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	461,2
	12- R ^{x3} = -CH ₂ OH	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,25	491,1

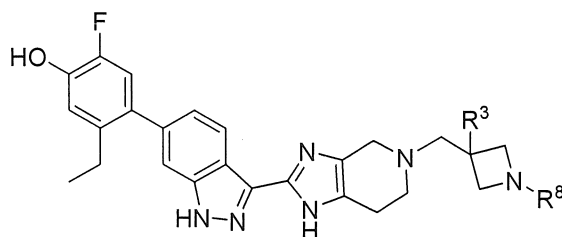
Ví dụ số	$R^{x1}, R^{x2}, R^{x3}, R^{x4}$	Công thức	$[M+H]^+$ được tính toán	$[M+H]^+$ được tìm thấy
12				
13	12- R^{x3} và R^{x4} dạng $-(CH_2)_5-$	$C_{31}H_{37}FN_6O$	529,30	529,2
14	12- R^{x3} và R^{x4} dạng $-CH_2OCH_2-$	$C_{28}H_{31}FN_6O_2$	503,25	503,2
15	12- $R^{x1} = \text{phenyl}$	$C_{32}H_{33}FN_6O$	537,27	536,6

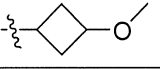
Bảng 13



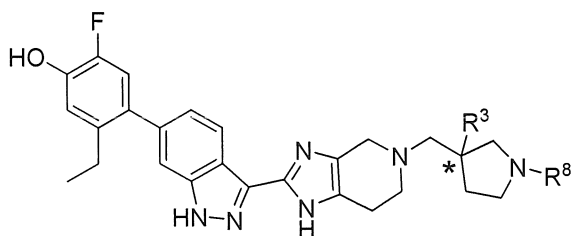
Ví dụ số	R^{x2}, R^{x3}, R^{x4}	Công thức	$[M+H]^+$ được tính toán	$[M+H]^+$ được tìm thấy
13-1		$C_{28}H_{33}FN_6O$	489,27	489,2
13-2	$R^{x3} = -OH$	$C_{28}H_{33}FN_6O_2$	505,27	505,2
13-3	$R^{x3} = -OCH_3$	$C_{29}H_{35}FN_6O_2$	519,28	519,2
13-4	$R^{x3} = F$	$C_{28}H_{32}F_2N_6O$	507,26	507,2
13-5	$R^{x3} = -CN$	$C_{29}H_{32}FN_7O$	514,27	514,2
13-6	$R^{x3} = -CH_2OH$	$C_{29}H_{35}FN_6O_2$	519,28	519,2
13-7	R^{x3} và R^{x4} dạng $-(CH_2)_3-$	$C_{31}H_{37}FN_6O$	529,30	529,3
13-8	$R^{x2} = -CH_2OH$	$C_{29}H_{35}FN_6O_2$	519,28	519,2
13-9	$R^{x2} = -OH$	$C_{28}H_{33}FN_6O_2$	505,27	505,2

Bảng 14

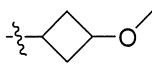


Ví dụ số	R ⁸	₃ R	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
1	14-	- OCH ₃	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O ₂	477,2 3	477
2	14-	-CH ₃ OH	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O ₂	477,2 3	477
3	14-	- OH	C ₂₅ H ₂₇ FN ₆ O ₂	463,2 2	463
4	14-	-CH ₃ OCH ₃	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,2 5	490
5	14-	-CH ₃	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,2 4	461, 1
6	14-	-CH ₃ F	C ₂₆ H ₂₈ F ₂ N ₆ O	479,2 3	479
7	14-		C ₂₅ H ₂₇ FN ₆ O	447,2 2	447, 1
8	14-	F	C ₂₅ H ₂₆ F ₂ N ₆ O	465,2 1	465
9	14-	cPr	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O	487,2 5	487, 2
10	14-	-(CH ₂) ₂ CN	C ₂₈ H ₃₀ FN ₇ O	500,2 5	500, 2
11	14-		C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O ₂	531,2 8	531, 3
12	14-	cBu	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O	501,2 7	501, 3
13	14-	- (CH ₂) ₃ OCH ₃	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O ₂	519,2 8	519, 3
14	14-	- (CH ₂) ₂ OCH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O ₂	505,2 7	505, 2
15	14-	oxetan-3-yl	C ₂₈ H ₃₁ FN ₆ O ₂	503,2 5	503, 2

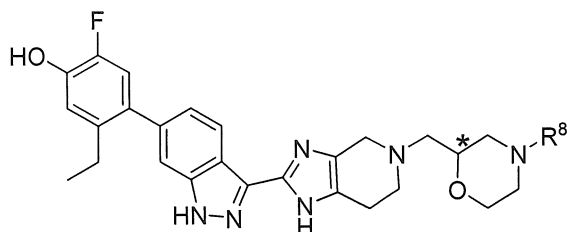
Bảng 15



Ví dụ số	R ⁸	R ³	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
----------	----------------	----------------	---	-----------	---	--

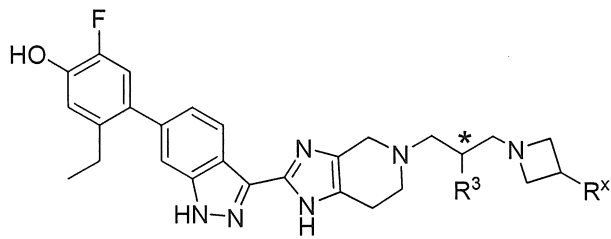
Ví dụ số	R ⁸	R ³	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
15-1	-CH ₃	-OH		C ₂₇ H ₃₁ F N ₆ O ₂	491 ,25	49 1
5-2	1	OH		C ₂₆ H ₂₉ F N ₆ O ₂	477 ,23	47 7
5-3	1		(R)	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O	461,24	46 1,1
5-4	1	-iPr		C ₂₉ H ₃₅ F N ₆ O	503 ,29	50 3,6
5-4	1	cBu		C ₃₀ H ₃₅ F N ₆ O	515 ,29	51 5,6
5-6	1			C ₃₁ H ₃₇ F N ₆ O ₂	545 ,30	54 5,6
5-7	1	cPr		C ₂₉ H ₃₃ F N ₆ O	501 ,27	50 1,2
5-8	1	-CH ₂ CH ₂ F		C ₂₈ H ₃₂ F ₂ N ₆ O	507 ,26	50 7,1
5-9	1	-CH ₃		C ₂₇ H ₃₁ F N ₆ O	475 ,25	47 5,2
5-10	1	tetrahydrop yran-4-yl		C ₃₁ H ₃₇ F N ₆ O ₂	545 ,30	54 5,2

Bảng 16



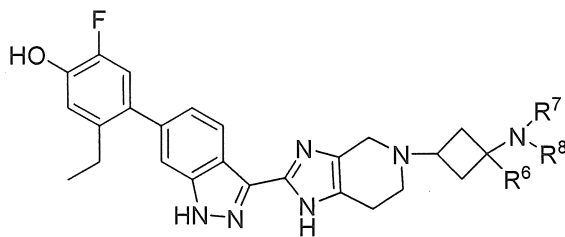
Ví dụ số	R ⁸	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
16-1	-CH ₃	(R)	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O ₂	491,25	491,2
16-2		(R)	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O ₂	477,23	477,2
16-3		(S)	C ₂₆ H ₂₉ FN ₆ O ₂	477,23	477,2
16-4	cBu	(S)	C ₃₀ H ₃₅ FN ₆ O ₂	531,28	531,2
16-5	cPr	(S)	C ₂₉ H ₃₃ FN ₆ O ₂	517,27	517,3
16-6	iPr	(S)	C ₂₉ H ₃₅ FN ₆ O ₂	519,28	519,6

Bảng 17



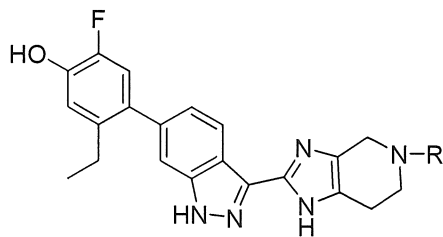
Ví dụ số	R ³	R ^x	*	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
17-1	-OH		(S)	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O 2	491,2 5	491
-2	17 OH	-	(R)	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O 2	491,2 5	491
-3	17	CHF ₂	-	O C ₂₈ H ₃₁ F ₃ N ₆	525,2 5	525, 2

Bảng 18



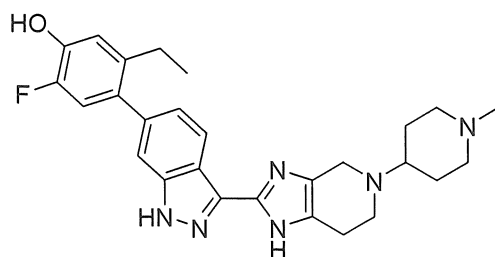
Ví dụ số	R ⁶	R ⁷	Công thức	[M+H] ⁺ được tính toán	[M+H] ⁺ được tìm thấy
-1	18 CH ₃	- = -CH ₃	C ₂₇ H ₃₁ FN ₆ O	475,25	475,2
-2	18 CH ₃	- = -CH ₃ , R ⁷ = - CH ₃	C ₂₈ H ₃₃ FN ₆ O	489,27	489
-3	18		O C ₂₅ H ₂₇ FN ₆	447,22	447,2

Bảng 19



Ví dụ số	R	Công thức	$[M+H]^+$ được tính toán	$[M+H]^+$ được tìm thấy
19-1		$C_{27}H_{31}FN_6O_2$	491,25	491,1
19-2		$C_{29}H_{34}F_2N_6O$	521,28	521,1

Ví dụ 17: Hydrat tinh thể của 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung NMP (239 mL) và 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol, 2 HCl (74,5 g, 165 mmol) cùng với khuấy sau đó NMP (74 mL) vào 3 L bình thoát cổ. Axit axetic (31,3 mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ 55°C trong 10 phút và sau đó được làm mát đến nhiệt độ 25°C. 1-metylpiiperidin-4-on (61,0 mL, 496 mmol) được bổ sung trong một phần và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 30 phút và được làm mát đến nhiệt độ 15°C. Natri triaxetoxibohydrit (98 g, 463 mmol) được bổ sung và lớp ngoài được cài đặt nhiệt độ đến 20°C sau 5 phút. Sau 3 giờ, amoni hydroxit (365 mL, 5790 mmol) được bổ sung từng giọt qua 45 phút duy trì nhiệt độ dưới 25°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1,5 giờ ở nhiệt độ 20°C, tạo ra bột nhão màu trắng đục. Metanol (709 mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy chậm qua đêm ở nhiệt độ 55°C. Nước (1,19 L) được bổ sung qua 30 phút ở nhiệt độ 55°C và hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 10°C, được khuấy trong 2 giờ, và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng tỷ lệ 1:1 MeOH:nước (334 mL), được

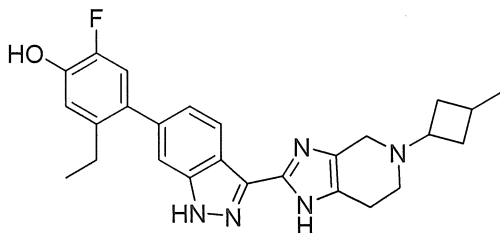
làm khô trên bộ lọc trong 20 phút và ở nhiệt độ 45°C dưới chân không bằng cách thổi nitơ để tạo ra chất rắn màu vàng (87 g).

Bổ sung 5% nước/axeton (1,5 L) ở nhiệt độ 55°C bằng cách khuấy chậm vào các chất rắn và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong 6 giờ, được làm mát đến nhiệt độ 10°C, được lọc, và được rửa bằng 5% nước/axeton (450 mL). Các chất rắn được làm khô qua đêm ở nhiệt độ 50°C dưới chân không bằng cách thổi nitơ, được làm cân bằng trong không khí trong 20 giờ, được làm khô trong lò chân không trong 48 giờ và được làm cân bằng bằng không khí để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (71,3 g, 91% hiệu suất) là chất rắn màu vàng nhạt chảy tự do. HPLC Phương pháp C Thời gian duy trì 12,29 phút.

Ví dụ 18: Hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol

Bổ sung 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol (45,4 g, 95 mmol) và nước (450 mL) và 37% NH₄OH (11,25 mL) vào bình thót cổ và bột nhão được khuấy trong 10 phút và được lọc. Bánh lọc ướt được chuyển vào bình thót cổ 2L và 2,5% nước/axeton (900 mL) được bổ sung và bột nhão được khuấy qua đêm. Nước bổ sung (23 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 48 giờ, được làm ấm đến nhiệt độ 55°C và được khuấy ở nhiệt độ 55°C qua đêm. Nước bổ sung (69 mL) được bổ sung và bột nhão được khuấy ở nhiệt độ 25°C qua đêm và được làm ấm đến 55°C. Sau 3 giờ, phần nước bổ sung (23 mL) được bổ sung, hỗn hợp này được làm mát đến RT, được lọc, và được rửa bằng 15% nước/axeton (250 mL). Các chất rắn được làm khô qua đêm trong lò chân không ở nhiệt độ 50°C để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (32,4 g, 68,3 mmol, 72% hiệu suất, 99/2% tinh khiết). HPLC Phương pháp C Thời gian duy trì 12,27 phút. ¹H NMR (400 MHz, Metanol-d₄) δ 8,24 (dd, J = 8,4, 0,8 Hz, 1H), 7,39 (t, J = 1,1 Hz, 1H), 7,13 (dd, J = 8,4, 1,4 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 11,7 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,00 (dd, J = 10,0, 4,0 Hz, 4H), 2,81 (t, J = 5,8 Hz, 2H), 2,68 – 2,57 (m, 1H), 2,53 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,18 – 2,06 (m, 2H), 1,99 (d, J = 11,9 Hz, 2H), 1,75 (td, J = 12,4, 3,7 Hz, 2H), 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

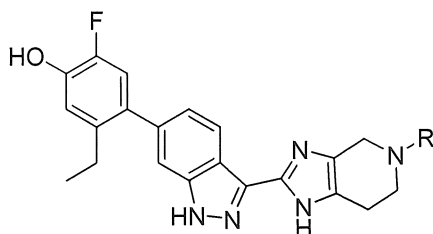
Ví dụ so sánh C-1: 5-Etyl-2-flo-4-(3-(5-(3-metylxcyclobutyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol



Bổ sung natri xyanobohydrit (77 mg, 1,221 mmol) vào dung dịch chứa 5-etyl-2-flo-4-(3-(4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol TFA (60 mg, 0,122 mmol) và 3-metylxcyclobutan-1-on (51 mg, 0,610 mmol) trong MeOH (1,221 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay, được hòa tan trong tỷ lệ 2:1 axit axetic:nước (1,5 mL) và được tinh chế bằng HPLC điều chế để tạo ra muối TFA của hợp chất nêu ở đề mục (40 mg). (m/z): $[M+H]^+$ được tính toán đối với $C_{26}H_{28}FN_5O$ 446,23 tìm thấy 446,1.

Bằng cách sử dụng quy trình tương tự, việc thay thế chất phản ứng thích hợp cho 3-metylxcyclobutan-1-on, các hợp chất so sánh dưới đây được điều chế:

Hợp chất so sánh C-2 đến C-4



Ví dụ số	R	Công thức	Tính toán $[M+H]^+$	Tìm thấy $[M+H]^+$
C-2		$C_{26}H_{30}FN_5O$	448,24	448,2
C-3		$C_{27}H_{30}FN_5O_2$	476,24	476,2
C-4		$C_{28}H_{32}FN_5O$	474,26	474,2

Các ví dụ 19-21: Các tính chất của dạng rắn theo sáng chế

Ví dụ về hydrat tinh thể 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol theo ví dụ 18 được phân tích bằng phổ nhiễu xạ bột tia X (powder x-ray diffraction - PXRD), phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry - DSC), phân tích nhiệt trọng (thermal gravimetric analysis - TGA), và thẩm hút độ ẩm động (dynamic moisture sorption - DMS).

Ví dụ 19 Phổ nhiễu xạ bột tia X

Mẫu phổ nhiễu xạ bột tia X theo Fig.1 được thu bằng nhiễu xạ kế tia X Bruker D8-Advance bằng cách sử dụng phóng xạ Cu-K α ($\lambda = 1,54051 \text{ \AA}$) với điện áp đầu ra bằng 45 kV và cường độ dòng điện 40 mA. Dụng cụ này được hoạt động trong hình học Bragg-Brentano khe tới, khe phân kỳ, và khe phân tán cài đặt tối đa đến cường độ ở mẫu. Để xác định, lượng bột nhỏ (5-25 mg) được nén nhẹ vào trong thiết bị giữ mẫu để làm bề mặt mịn và cho tiếp xúc với tia X. Các mẫu này được quét ở chế độ 2 θ -2 θ từ 2° đến 40° trong 2 θ với kích thước bước bằng 0,02° và tốc độ quét bằng 0,30° giây mỗi bước. Việc thu thập số liệu được kiểm soát bởi phần mềm đo Bruker DiffracSuite và được phân tích bởi phần mềm Jade (phiên bản 7.5.1). Dụng cụ này được điều chỉnh bằng chất chuẩn corundum, trong $\pm 0,02^\circ$ hai góc teta. PXRD hai vị trí đỉnh teta được quan sát và khoảng cách d được thể hiện trong bảng 20.

Bảng 20: Số liệu PXRD đối với hydrat tinh thể

2-Teta	d(Å)	Diện tích	A%
6,20	14,24	81639	45,70
9,58	9,22	178629	100,00
10,34	8,55	30022	16,80
10,65	8,30	12801	7,20
11,54	7,66	27220	15,20
12,77	6,93	27705	15,50
13,01	6,80	48785	27,30
13,39	6,61	9261	5,20
16,94	5,23	40031	22,40
17,53	5,05	83718	46,90
18,67	4,75	9542	5,30
19,28	4,60	152922	85,60
20,02	4,43	22391	12,50
20,61	4,31	30308	17,00
21,51	4,13	92875	52,00

22,10	4,02	37495	21,00
22,79	3,90	13802	7,70
23,22	3,83	12117	6,80
25,16	3,54	13792	7,70
28,80	3,10	14487	8,10
29,62	3,01	14810	8,30
30,20	2,96	9709	5,40

Ví dụ 20: Phân tích nhiệt

Phân tích nhiệt quét vi sai (Differential scanning calorimetry - DSC) được thực hiện bằng cách sử dụng môđun Dụng cụ TA mẫu Q-100 với Bộ kiểm soát phân tích nhiệt. Số liệu được thu thập và được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm phân tích nhiệt bằng Dụng cụ TA. Mẫu của mỗi dạng tinh thể được cân chính xác vào chảo nhôm được bao phủ. Sau 5 phút là thời gian cân bằng đẳng nhiệt ở nhiệt độ 5°C, mẫu này được gia nhiệt bằng cách sử dụng độ dốc gia nhiệt tuyến tính 10°C/phút từ nhiệt độ 0°C đến 250°C. Biểu đồ nhiệt DSC tiêu biểu của tinh thể bazơ tự do dạng I theo sáng chế được thể hiện trong Fig.2.

Phép đo phân tích nhiệt trọng (thermal gravimetric analysis - TGA) được thực hiện bằng cách sử dụng môđun Dụng cụ TA mô hình Q-50 được trang bị khả năng phân giải cao. Số liệu được thu thập bằng cách sử dụng Dụng cụ TA có Bộ kiểm soát phân tích nhiệt và được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm phân tích toàn cầu dụng cụ TA. Mẫu đã cân được đặt trên chảo nhôm và tốc độ gia nhiệt bằng 10°C từ nhiệt độ môi trường xung quanh đến 300°C. Buồng cân bằng và buồng đốt được thổi dòng nitơ khi sử dụng. Lượng nhỏ TGA tiêu biểu của tinh thể bazơ tự do dạng I theo sáng chế được thể hiện trong Fig.3.

Ví dụ 21: Đánh giá sự thấm hút độ ẩm động

Phép đo sự thấm hút độ ẩm động (dynamic moisture sorption - DMS) được thực hiện bằng cách sử dụng cân vi lượng khí quyển VTI, hệ thống SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Mẫu đã cân được sử dụng và độ ẩm là giá trị thấp nhất có thể (gần với 0% RH) ở thời điểm bắt đầu phân tích. Phân tích DMS bao gồm bước làm khô ban đầu (~0%RH) trong 120 phút, sau đó hai chu kỳ thấm hút và giải hấp với tốc độ quét bằng 5% RH/bước ở độ ẩm nằm trong khoảng từ 5% RH đến 90% RH.

Việc chạy DMS được thực hiện đẳng nhiệt ở nhiệt độ 25°C. Lượng nhỏ DMS đối với tinh thể bazơ tự do dạng I theo sáng chế được thể hiện trong Fig.4.

Các thử nghiệm sinh học

Hợp chất theo sáng chế được đặc trưng trong một hoặc nhiều thử nghiệm sinh học dưới đây.

Thử nghiệm 1: Các thử nghiệm hóa sinh JAK và kinaza không hướng đích

Tám bốn thử nghiệm sinh hóa LanthaScreen JAK (JAK1, 2, 3 và Tyk2) được thực hiện trong đệm phản ứng kinaza thông thường (50 mM HEPES, pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 mM $MgCl_2$, và 1 mM EGTA). Enzym JAK hướng đích GST tái tổ hợp và chất nền peptit STAT1 hướng đích GFP thu được từ Life Technologies.

Hợp chất được pha loãng lần lượt được ủ trước bằng một trong bốn enzym JAK và chất nền trong vi tấm 384 lỗ (Corning) ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ. ATP được bổ sung sau đó để bắt đầu phản ứng kinaza trong 10 μ L tổng thể tích, bằng DMSO 1%. Nồng độ enzym cuối cùng đối với JAK1, 2, 3 và Tyk2 lần lượt là 4,2 nM, 0,1 nM, 1 nM, và 0,25 nM; nồng độ Km ATP tương ứng được sử dụng là 25 μ M, 3 μ M, 1,6 μ M, và 10 μ M; trong khi nồng độ chất nền là 200 nM đối với tất cả bốn thử nghiệm. Phản ứng kinaza được cho tiếp tục trong 1 giờ ở nhiệt độ xung quanh trước khi 10 μ L điều chế của EDTA (nồng độ cuối cùng bằng 10mM) và kháng thể pSTAT1 kháng Tb (pTyr701) (Life Technologies, nồng độ cuối cùng bằng 2 nM) trong đệm pha loãng TR-FRET (Life Technologies) được bổ sung. Các tấm được ủ ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ trước khi đọc trên thiết bị đọc EnVision (Perkin Elmer). Tín hiệu tỷ lệ phát xạ (520nm/495nm) được ghi chép lại và được sử dụng để tính toán giá trị phần trăm ức chế dựa trên DMSO và sự đối chứng chung.

Đối với việc phân tích đáp ứng liều, số liệu phần trăm ức chế được vẽ biểu đồ với nồng độ hợp chất, và các giá trị IC_{50} được xác định từ mô hình lấp khít rõ ràng 4 thông số bằng phần mềm Prism (Phần mềm GraphPad). Các kết quả được biểu hiện là pIC_{50} (logarit âm của IC_{50}) và được chuyển đổi sau đó thành pK_i (logarit âm của hằng số phân ly, K_i) bằng cách sử dụng phương trình Cheng-Prusoff.

Hợp chất thử nghiệm có giá trị pK_i cao hơn trong một trong bốn thử nghiệm JAK thể hiện sự ức chế hoạt tính của JAK mạnh hơn. Hợp chất theo sáng chế được

kiểm tra trong thử nghiệm này thông thường biểu hiện giá trị pK_i nằm trong khoảng từ khoảng 9 đến khoảng 10,5.

Tấm thử nghiệm tyrosin kinaza không hướng đích (Flt3, RET, FGFR2, TrkA, và pDGFR β) được phát triển bằng cách sử dụng phương pháp tương tự, bằng enzym tái tổ hợp thu được từ Life Technologies và chất nền peptit được biotinyl hóa tổng hợp ở AnaSpec. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ xung quanh bằng nồng độ ATP cuối cùng bằng 100 μ M. Chất phản ứng phát hiện, bao gồm kháng thể phosphotyrosin kháng Eu (pY20) và SureLight APC-SA, được mua từ Perkin Elmer. Tín hiệu tỷ lệ phát xạ (665nm/615nm) được ghi chép lại và được sử dụng cho việc phân tích số liệu, và các kết quả cuối cùng được biểu hiện là pIC_{50} .

Thử nghiệm 2: Thử nghiệm hiệu lực JAKI tế bào

Thử nghiệm hiệu lực tế bào AlphaScreen JAKI được thực hiện bằng cách xác định interleukin-13 (IL-13, R&D Systems) gây ra sự phosphoryl hóa STAT6 trong tế bào biểu mô phổi BEAS-2B ở người (ATCC). Kháng thể kháng STAT6 (Cell Signaling Technologies) được liên hợp với các hạt nhận AlphaScreen (Perkin Elmer), trong khi kháng thể kháng pSTAT6 (pTyr641) (Cell Signaling Technologies) được biotinyl hóa bằng cách sử dụng EZ-Link Sulfo-NHS-Biotin (Thermo Scientific).

Các tế bào BEAS-2B được phát triển ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ ẩm 5% CO₂ trong 50% môi trường DMEM/50% F-12 (Life Technologies) được bổ sung 10% FBS (Hyclone), 100 U/mL penixilin, 100 μ g/mL streptomycin (Life Technologies), và 2 mM GlutaMAX (Life Technologies). Vào ngày 1 của thử nghiệm, các tế bào được nuôi ở mật độ 7,500 tế bào/lỗ trong các tấm 384 lỗ phủ poly-D-lysine màu trắng (Corning) bằng 25 μ L môi trường, và được cho kết dính qua đêm trong tủ ủ. Vào ngày 2 của thử nghiệm, môi trường được loại bỏ và được thay thế bằng 12 μ L đệm thử nghiệm (Dung dịch muối cân bằng Hank/HBSS, 25mM HEPES, và 1 mg/ml albumin huyết thanh bò/BSA) chứa đáp ứng liều của hợp chất thử nghiệm. Hợp chất được pha loãng lần lượt trong DMSO và sau đó được pha loãng 1000 lần trong môi trường để tạo ra nồng độ cuối cùng của DMSO đến 0,1%. Các tế bào được ủ với hợp chất thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C trong 1 giờ, và sau đó bổ sung 12 μ L IL-13 được làm ấm trước (80 ng/ml trong đệm thử nghiệm) để kích thích. Sau khi ủ ở nhiệt độ 37°C trong 30 phút, đệm thử nghiệm (chứa hợp chất và IL-13) được loại bỏ, và 10 μ L đệm phân

giải tế bào (25 mM HEPES, 0,1% SDS, 1% NP-40, 5 mM MgCl₂, 1,3 mM EDTA, 1 mM EGTA, và bổ sung chất ức chế proteaza Complete Ultra mini và PhosSTOP từ Roche Diagnostics). Các tấm được lắc ở nhiệt độ xung quanh trong 30 phút trước khi bổ sung chất phản ứng phát hiện. Hỗn hợp chứa pSTAT6 kháng biotin và các hạt nhận được liên hợp kháng STAT6 được bổ sung đầu tiên và được ủ ở nhiệt độ xung quanh trong 2 giờ, sau đó bổ sung streptavidin được liên hợp các hạt cho (Perkin Elmer). Sau khi ủ tối thiểu 2 giờ, các tấm thử nghiệm được đọc trên thiết bị đọc tấm EnVision. Các tín hiệu phát quang AlphaScreen được ghi chép và được sử dụng để tính toán các giá trị phần trăm ức chế dựa trên DMSO và đối chứng chung.

Đối với việc phân tích đáp ứng liều, số liệu phần trăm ức chế được biểu hiện bằng nồng độ hợp chất, và các giá trị IC₅₀ được xác định từ mô hình lấp khít rõ ràng 4 thông số bằng phần mềm Prism. Các kết quả được biểu hiện là logarit âm của giá trị IC₅₀, pIC₅₀.

Hợp chất thử nghiệm có giá trị pIC₅₀ cao hơn trong thử nghiệm này thể hiện sự ức chế IL-13 lớn hơn gây ra sự phosphoryl hóa STAT6. Hợp chất theo sáng chế được kiểm tra trong thử nghiệm này thông thường biểu hiện các giá trị pIC₅₀ nằm trong khoảng từ khoảng 7,5 đến khoảng 8,5.

Thử nghiệm 3: Thử nghiệm gây độc tế bào

Thử nghiệm khả năng sống của tế bào/gây độc tế bào CellTiter-Glo phát quang được thực hiện trong các tế bào biểu mô phổi BEAS-2B ở người (ATCC) dưới điều kiện phát triển bình thường.

Các tế bào được phát triển ở nhiệt độ 37°C trong tủ ủ ẩm 5% CO₂ trong môi trường 50% DMEM/50% F-12 (Life Technologies) được bổ sung 10% FBS (Hyclone), 100 U/mL penixilin, 100 µg/mL streptomycin (Life Technologies), và 2 mM GlutaMAX (Life Technologies). Vào ngày 1 của thử nghiệm, các tế bào được nuôi ở mật độ 500 tế bào/lỗ trong tấm nuôi cấy mô 384 lỗ màu trắng (Corning) bằng môi trường 25 µL, và được cho kết dính qua đêm trong tủ ủ. Vào ngày 2 của thử nghiệm, 5 µL môi trường chứa đáp ứng liều của hợp chất thử nghiệm được bổ sung, và được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. 30 µL dung dịch phát hiện CellTiter-Glo (Promega) được bổ sung sau đó, được trộn trên thiết bị lắc theo quỹ đạo trong 5 phút,

và được ủ trong thêm 10 phút trước khi được đọc trên thiết bị đọc EnVision. Các tín hiệu phát quang được ghi chép và phần trăm các giá trị đối chứng DMSO được tính toán.

Đối với việc phân tích đáp ứng liều, số liệu phần trăm DMSO kiểm soát được biểu hiện với nồng độ hợp chất để tạo ra đường cong đáp ứng liều bằng đường nối từng điểm số liệu. Nồng độ trên mỗi đường cong vượt qua ngưỡng ức chế 15% được xác định là CC_{15} . Các kết quả được biểu hiện là logarit âm của giá trị CC_{15} , pCC_{15} .

Được mong đợi là hợp chất thử nghiệm thể hiện giá trị pCC_{15} thấp hơn trong thử nghiệm này có ít khả năng hơn gây độc tế bào. Hợp chất theo sáng chế được kiểm tra trong thử nghiệm này thông thường biểu hiện các giá trị pCC_{15} nằm trong khoảng giá trị nhỏ hơn 5 đến khoảng 6,6.

Các kết quả thử nghiệm In Vitro

Tất cả hợp chất theo các ví dụ 1 đến 16 và các bảng 1 đến 19 được kiểm tra trong một hoặc nhiều của thử nghiệm được mô tả ở trên. Trong các bảng dưới đây, đối với các thử nghiệm enzyme JAK1, JAK 2, JAK3, và TYK2, A thể hiện giá trị $pK_i \geq 10$ ($K_i \leq 0,1$ nM), B thể hiện giá trị pK_i nằm trong khoảng từ 9 đến 10 (K_i nằm trong khoảng từ 1 nM đến 0,1 nM), C thể hiện giá trị pK_i nằm trong khoảng từ 9 đến 9,5 (K_i nằm trong khoảng từ 1 nM đến 0,32 nM), và D thể hiện giá trị pK_i nằm trong khoảng từ 8,5 đến 9 (K_i nằm trong khoảng từ 32 nM đến 1 nM). Đối với BEAS-2B thử nghiệm hiệu lực tế bào, A thể hiện giá trị $pIC_{50} \geq 8$ ($IC_{50} \leq 10$ nM) và B thể hiện giá trị pIC_{50} nằm trong khoảng từ 7,4 đến 8 (IC_{50} nằm trong khoảng từ 40 nM đến 10 nM). Hợp chất được kiểm tra dưới đây trong tất cả các thử nghiệm in vitro được mô tả ở trên.

Ví dụ số	JAK 1 (pK_i)	JAK 2 (pK_i)	JAK 3 (pK_i)	Tyk 2 (pK_i)	BEAS-2B pIC_{50}
1	A	A	A	B	A
2	A	A	A	B	B
3	A	A	B	B	A
4	A	A	B	B	A
5	A	A	B	C	A
6	A	A	B	B	A
7	A	A	B	C	A
8	A	A	B	B	A

Ví dụ số	JAK 1 (pK _i)	JAK 2 (pK _i)	JAK 3 (pK _i)	Tyk 2 (pK _i)	BEAS-2B pIC ₅₀
9	A	A	B	C	A
10	A	A	B	B	A
11	B	A	B	C	A
12	A	A	B	C	A
13	A	A	B	C	A
14	A	A	B	B	A
15	A	A	B	C	A
16	A	A	A	B	A
1-1	A	A	B	C	B
1-3	A	A	A	C	B
1-6	A	A	A	C	A
1-8	A	A	A	C	A
2-3	A	A	B	B	B
3-30	A	A	B	B	A
4-1	B	B	C	D	B
4-2	A	A	A	C	B
7-3	A	A	A	B	A
9-1	A	A	B	C	B
9-2	A	A	A	C	A
14-7	A	A	A	C	B

Được quan sát rằng hiệu lực enzym JAK 1 đã dự đoán hiệu lực tế bào trong thử nghiệm BEAS-2B. Do đó tất cả các hợp chất còn lại được kiểm tra trong thử nghiệm enzym JAK1 và thử nghiệm tế bào và thể hiện giá trị enzym pK_i nằm trong khoảng từ 9 đến 10,5 và giá trị BEAS-2B pIC₅₀ nằm trong khoảng từ 7,4 đến 8,5 ngoại trừ hợp chất 3-32, 4-8, 4-16, và 8-11, biểu hiện sự ức chế JAK ở giá trị enzym pK_i nằm trong khoảng từ 8,5 đến 9 và hiệu lực tế bào nằm trong khoảng từ 6 đến 7,4.

Thử nghiệm 4: Được động học trong huyết tương và phổi ở chuột nhắt

Mức độ của hợp chất thử nghiệm và tỷ lệ của nó trong huyết tương và phổi được xác định theo các sau đây. Chuột nhắt BALB/c từ Charles River Laboratories được sử dụng trong thử nghiệm. Hợp chất thử nghiệm được bào chế riêng rẽ trong propylen glycol 20% ở độ pH 4 đệm xitrat ở nồng độ bằng 0,2 mg/mL và 50 uL dung dịch liều được đưa vào khí quản của chuột nhắt bằng cách hít vào bằng miệng. Ở các điểm thời gian khác nhau (thông thường 0,167, 2, 6, 24 giờ) sau khi dùng liều, các mẫu máu được loại bỏ nhờ chọc qua tim và phổi nguyên vẹn được cắt từ chuột nhắt. Các mẫu máu được ly tâm (ly tâm Ependorf, 5804R) trong 4 phút ở xấp xỉ 12.000

vòng/phút ở nhiệt độ 4°C để thu huyết tương. Phổi được bịt cho khô, được cân, và được đồng nhất khi pha loãng theo tỷ lệ 1:3 trong nước vô trùng. Mức huyết tương và phổi của hợp chất thử nghiệm được xác định bằng việc phân tích LC-MS chống lại tiêu chuẩn phân tích áp dụng đường cong chuẩn trong ma trận thử nghiệm. Tỷ lệ phổi trên huyết tương được xác định là tỷ lệ của AUC trong phổi theo μg giờ/g trên huyết tương AUC theo μg giờ/mL, trong đó AUC được xác định thông thường là diện tích dưới đường cong của nồng độ hợp chất thử nghiệm theo thời gian. Hợp chất theo sáng chế biểu hiện sự tiếp xúc trong phổi từ một đến hai thứ tự có độ lớn lớn hơn tiếp xúc trong huyết tương ở chuột nhắt. Tất cả hợp chất được profin trong thử nghiệm này biểu hiện thời gian bán hủy nằm trong khoảng thời gian từ 5 đến khoảng 12 giờ.

Thử nghiệm 5: Mô hình chuột (chuột nhắt) của sự cảm ứng pSTAT6 được gây ra bởi IL-13 trong mô phổi

IL-13 là xytokin quan trọng phụ thuộc sinh lý bệnh học của bệnh hen (Kudlacz et al. Eur. J. Pharmacol, 2008, 582,154-161). IL-13 liên kết với thụ thể bề mặt tế bào hoạt hóa thành viên của họ Janus của kinaza (JAK) sau đó phosphoryl hóa STAT6 và sau đó hoạt hóa con đường phiên mã. Trong mô hình được mô tả, liều IL-13 được phân phối vào trong phổi của chuột nhắt để gây ra sự phosphoryl hóa của STAT6 (pSTAT6) sau đó được xác định là điểm cuối.

Chuột nhắt balb/c trưởng thành từ Harlan được sử dụng trong thử nghiệm. Vào ngày nghiên cứu, các con vật được gây mê nhẹ bằng isofluran và được dùng chất dẫn thuốc hoặc hợp chất thử nghiệm (0,5 mg/mL, 50 μL tổng thể tích qua nhiều lần thở) nhờ hít qua miệng. Các con vật được đặt nằm nghiêng sang một bên sau khi dùng liều và được giám sát để phục hồi hoàn toàn khỏi sự gây mê trước khi trở lại chuồng của chúng. Bốn giờ sau đó, các con vật một lần nữa lại được gây mê và được dùng chất dẫn thuốc hoặc IL-13 (0,03 μg tổng liều được phân phối, 50 μL tổng thể tích) nhờ hít qua miệng trước khi được giám sát để phục hồi khỏi sự gây mê và trở lại chuồng của chúng. Một giờ sau khi dùng chất dẫn thuốc hoặc IL-13, phổi được thu từ cả hai phát hiện pSTAT6 bằng cách sử dụng kháng pSTAT6 ELISA (kháng thể bắt giữ/phủ mAb thô; kháng thể phát hiện/báo cáo mAb chuột nhắt: kháng pSTAT6-pY64; kháng thể thứ hai: kháng IgG-HRP ở chuột) và được phân tích đối với nồng độ thuốc tổng số như được mô tả ở trên trong Thử nghiệm 4.

Các hợp chất theo sáng chế được chọn được kiểm tra trong thử nghiệm này. Hoạt tính trong mô hình được chứng minh bằng sự giảm mức độ của pSTAT6 có mặt trong phổi của các con vật được điều trị ở nhiệt độ 5 giờ so với chất dẫn thuốc được điều trị, các con vật đối chứng dùng IL-13. Sự khác biệt giữa các con vật đối chứng được điều trị bằng chất dẫn thuốc, được dùng IL-13 và các con vật đối chứng được điều trị bằng chất dẫn thuốc, được dùng chất dẫn thuốc ức chế 0% và 100% tác dụng ức chế, lần lượt, theo thí nghiệm nhất định bất kỳ. Hợp chất theo sáng chế tiêu biểu được kiểm tra trong thử nghiệm, và biểu hiện sự ức chế của sự phosphoryl hóa STAT6 ở nhiệt độ 4 giờ sau khi dùng IL-13 như tài liệu sau đây. Hợp chất 1-15 và 3-1 được lưu ý là ngoại lệ dưới các điều kiện của thử nghiệm.

Xác nhận sự liên quan của con đường JAK-STAT trong viêm đường khí, hợp chất được chứng minh in vivo hướng đích trong mô hình chuột nhất pSTAT6 gây ra IL13 được kiểm tra sau đó và được chứng minh là có hiệu quả trong mô hình chuột nhất mắc viêm ưa eosin do chất gây dị ứng.

Kết quả thử nghiệm In Vivo

Các hợp chất được chọn theo sáng chế được đặc trưng ở cả hai thử nghiệm được động học (Thử nghiệm 4) và thử nghiệm được lực học (Thử nghiệm 5). Một mối tương quan tốt được quan sát giữa nồng độ hợp chất thử nghiệm trong phổi được xác định trong thử nghiệm được động học và trong thử nghiệm được lực học ở các điểm thời gian tương tự sau khi dùng liều. Quan sát nồng độ hợp chất đáng kể ở phổi chuột nhất trong thử nghiệm được lực học được xác định là sự ức chế được quan sát của sự cảm ứng pSTAT6 gây ra bởi IL-13 là kết quả hoạt động của hợp chất thử nghiệm.

Trong bảng dưới đây, đối với tỷ lệ tiếp xúc phổi trên tiếp xúc huyết tương (Thử nghiệm 4), A chỉ tỷ lệ > 100 , B chỉ tỷ lệ nằm trong khoảng từ 50 đến 100, và C chỉ tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10 đến 50. Đối với phần trăm ức chế của sự cảm ứng pSTAT6 gây ra bởi IL-13 (Thử nghiệm 5), A thể hiện $> 65\%$ sự ức chế, B thể hiện nằm trong khoảng từ 50% đến 65% ức chế và C thể hiện nằm trong khoảng từ 33% đến 50% ức chế.

Ví dụ số	Tỷ lệ phổi trên huyết tương Thử nghiệm 4	Ức chế pSTAT6 Thử nghiệm 5
1	B	A
2	C	C
3	C	A
4	B	A
5	C	A
6	B	B
7	B	A
8	A	B
9	B	B
10	B	C
11	A	C
12	C	C
13	A	C
14	A	A
15	A	B
1-7	B	C
1-11	C	C
1-18	B	C
3-33	A	C
14-7	A	B

Thử nghiệm 6: Mô hình chuột của viêm ưa eosin gây ra do Luân phiên *alternata* của phổi

Sự tăng tế bào ưa eosin ở đường khí là dấu hiệu của người bệnh hen. Luân phiên *alternata* là chất gây dị ứng đường thở có thể làm trầm trọng bệnh hen ở người và gây ra viêm ưa eosin ở phổi của chuột nhắt (Havaux et al. Clin Exp Immunol. 2005, 139(2):179-88). Ở chuột nhắt, được chứng minh là luân phiên hoạt hóa không trực tiếp mô khu trú typ 2 các tế bào lymphoit bẩm sinh ở phổi, đáp ứng (ví dụ IL-2 và IL-7) và giải phóng xytokin phụ thuộc JAK (ví dụ IL-5 và IL-13) và phối hợp viêm ưa eosin (Bartemes et al. J Immunol. 2012, 188(3):1503-13).

Chuột nhắt C57 đực bảy đến chín tuần tuổi từ Taconic được sử dụng trong nghiên cứu. Vào ngày nghiên cứu, các con vật được gây mê nhẹ bằng isofluran và được dùng chất dẫn thuốc hoặc hợp chất thử nghiệm (0,1 – 1,0 mg/mL, 50 µL tổng thể tích qua nhiều lần thở) nhờ hít vào qua đường miệng hầu. Các con vật được đặt nằm nghiêng sang một bên sau khi dùng liều và được giám sát để phục hồi hoàn toàn khỏi sự gây mê trước khi trở lại chuồng của chúng. Một giờ sau, các con vật một lần

nữa lại được gây mê và được dùng chất dẫn thuốc hoặc chất chiết luân phiên (200 ug tổng dịch chiết được phân phối, 50 μ L tổng thể tích) nhờ hít vào qua đường miệng hầu trước khi được giám sát để phục hồi khỏi sự gây mê và trở lại chuồng của chúng. Bốn mươi tám giờ sau khi dùng luân phiên, dịch rửa phế quản phế nang (BALF) được thu và ura eosin được đếm trong BALF bằng cách sử dụng Hệ thống huyết học Advia 120 (Siemens).

Các hợp chất được chọn theo sáng chế được kiểm tra trong thử nghiệm luân phiên này. Hoạt động trong mô hình được chứng minh bằng sự giảm mức ura eosin có mặt trong BALF của các con vật được điều trị trong bốn mươi tám giờ so với chất dẫn thuốc được điều trị, các con vật đối chứng. Số liệu biểu hiện là phần trăm ức chế của chất dẫn thuốc được điều trị, đáp ứng được thử thách luân phiên BALF ura eosin. Để tính toán phần trăm ức chế, số BALF ura eosin đối với mỗi tình trạng bệnh được chuyển đổi thành phần trăm chất dẫn thuốc trung bình được điều trị, được thử thách luân phiên BALF ura eosin và trừ từ một trăm phần trăm. Hợp chất theo sáng chế tiêu biểu được kiểm tra trong thử nghiệm và biểu hiện sự ức chế của eosinophil BALF tính toán ở bốn mươi tám giờ sau khi thử thách luân phiên như tài liệu dưới đây.

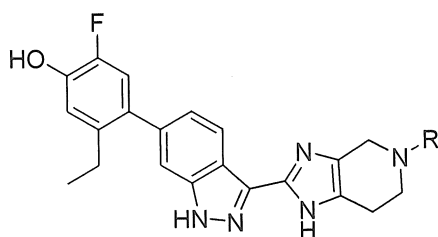
Các kết quả thử nghiệm In Vivo

Tất cả các hợp chất kiểm tra đã chứng minh khoảng ức chế (60% - 98%) của BALF gây ra bằng cách thay thế ura eosin. Bảng dưới đây phản ánh phần trăm ức chế có ý nghĩa thống kê tối đa của chất dẫn thuốc được xử lý, mức độ được thử thách luân phiên của việc cảm ứng ura eosin.

Ví dụ số	Phần trăm ức chế của BALF gây ra bằng cách luân phiên ưa eosin
1	98
2	93
3	61
6	88
7	96
8	60
11	71
13	82

Đặc điểm của hợp chất so sánh

Sự tương ứng giữa hợp chất so sánh và hợp chất theo sáng chế được minh họa dưới đây.



Hợp chất theo sáng chế		Hợp chất so sánh	
Ví dụ số	R	Ví dụ số	R
1		C-1	
7		C-2	
13		C-3	
6		C-4	

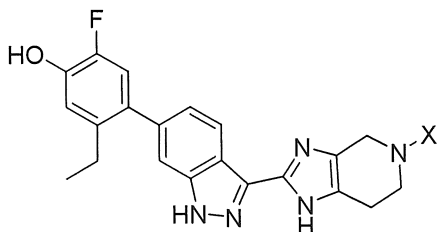
Các hợp chất so sánh được đặc trưng trong thử nghiệm enzym JAK1, thử nghiệm tế bào BEAS-2B và thử nghiệm dược lực học ức chế pSTAT6. Hợp chất so sánh C-1, C-2, C-3, và C-4 ít có hiệu lực hơn 2 lần, 3 lần, 6 lần, và 2,5 lần, lần lượt, so với hợp chất tương ứng theo sáng chế trong thử nghiệm enzym và ít có hiệu lực bằng 6 lần, 6 lần, 3 lần, và 6 lần, lần lượt, so với hợp chất tương ứng theo sáng chế trong thử nghiệm tế bào BEAS-2B. Hợp chất so sánh không thể hiện sự ức chế pSTAT6 trong thử nghiệm dược lực học. Ngoài ra, trong thử nghiệm này, hợp chất này thể hiện nồng độ trong phổi không đáng kể. Nồng độ trong phổi được quan sát

đối với hợp chất so sánh C-1, C-2, C-3, và C-4 nhỏ hơn được quan sát đối với hợp chất tương ứng theo sáng chế lần lượt bằng các yếu tố 36, 52, 13, và 23.

Trong khi sáng chế được mô tả bằng cách tham chiếu đến các khía cạnh cụ thể hoặc phương án của nó, được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật là có các thay đổi khác nhau có thể được tạo ra hoặc tương đương có thể được thay thế mà không nằm ngoài phạm vi thực của sáng chế. Ngoài ra, đối với mức độ được cho phép theo quy chế và quy định về sáng chế hiện hành, tất cả công bố, sáng chế và đơn sáng chế được trích dẫn trong bản mô tả này được nêu trong bản mô tả này ở mức độ tương tự như khi mỗi tài liệu đã được kết hợp riêng lẻ bằng cách tham chiếu ở đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

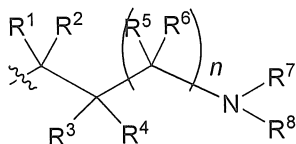
1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

X là nhóm có công thức (II):



(II)

n là 0 hoặc 1;

R^1 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^2 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^3 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

hoặc R^2 và R^3 cùng với nhau tạo ra C_{2-4} alkylen;

hoặc, khi n là 1, R^3 được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}alkyl$, halo, $-C(O)OC_{1-3}alkyl$, và $C_{1-3}alkyl$, trong đó $C_{1-3}alkyl$ tùy ý được thế bằng $-OH$;

R^4 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^5 được chọn từ hydro, $C_{1-3}alkyl$, $-C(O)OC_{1-3}alkyl$, và phenyl;

hoặc khi n là 1, R^2 và R^5 cùng với nhau tạo ra $C_{1-3}alkylen$;

R^6 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^7 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl,

hoặc khi n là 0, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{1-3} alkylen, hoặc

R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{2-4} alkylen hoặc

C_1 alkylen-O- C_2 alkylen;

hoặc khi n là 1, R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen, tùy ý được thế bằng C_{1-3} alkyl hoặc R^x ,

hoặc R^4 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_{1-3} alkylen hoặc

-O- C_2 alkylen;

R^8 được chọn từ

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng -CN, phenyl hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

(c) C_{2-6} alkyl, trong đó C_{2-6} alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế được chọn từ -OH, -OC₁₋₃ alkyl, -CN, -SC₁₋₃ alkyl, phenyl, C_{3-6} xycloalkyl, halo, và tùy ý, ngoài ra bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_{2-3} alkylen;

(d) C_{3-6} xycloalkyl, trong đó C_{3-6} xycloalkyl tùy ý được thế bằng -OH, -CN, -OC₁₋₃ alkyl, hoặc C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng -OC₁₋₃ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo,

(e) oxetanyl,

(f) tetrahydropyranyl,

(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit, và

(h) phenyl,

hoặc R^7 và R^8 cùng với nhau tạo ra C_{3-5} alkylen hoặc C_2 alkylen-O- C_2 alkylen;

trong đó C_{3-5} alkylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai R^x ;

R^x được chọn từ -OH, -CN, -OC₁₋₃ alkyl, halo, phenyl, và C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng -OC₁₋₃ alkyl hoặc -OH, hoặc

hai phần tử thế R^x cùng với nhau tạo ra C_{1-5} alkylen hoặc -CH₂OCH₂-,

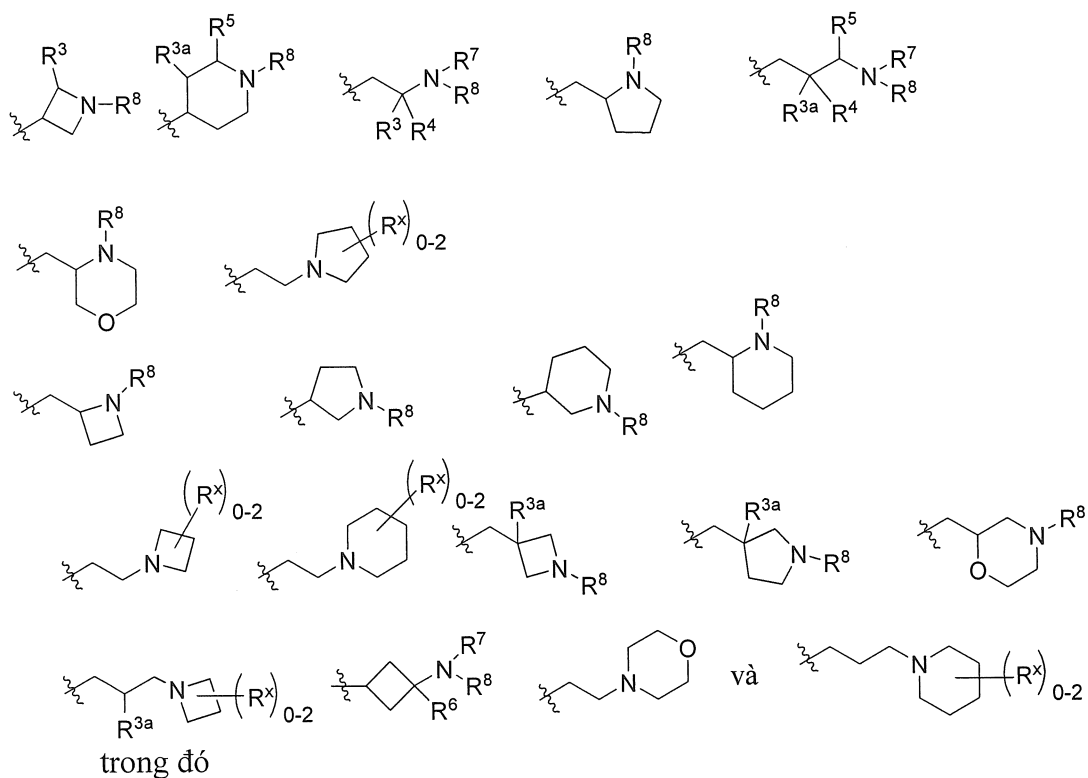
hoặc khi n là 1 và R^2 và R^7 cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen, R^4 và phần tử thế R^x trên C_2 alkylen cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen;

với điều kiện là hai phần tử thế R^x trên cùng nguyên tử cacbon không cùng là flo, và

với điều kiện là khi R^x được gắn với nguyên tử cacbon bên cạnh nguyên tử nitơ, R^x không phải $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, hoặc halo;

hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X được chọn từ:



R^3 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^{3a} được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OH$;

R^4 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^5 được chọn từ hydro, C_{1-3} alkyl, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và phenyl;

R^6 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl;

R^7 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl; và

R^8 được chọn từ

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng $-CN$, phenyl hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

(c) C_{2-6} alkyl, trong đó C_{2-6} alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế được chọn từ $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, $-CN$, $-SC_{1-3}$ alkyl, phenyl, C_{3-6} xycloalkyl, halo, và tùy ý, ngoài ra bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_{2-3} alkylen;

(d) C_{3-6} xycloalkyl, trong đó C_{3-6} xycloalkyl tùy ý được thế bằng $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-3}$ alkyl, hoặc C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OC_{1-3}$ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo,

(e) oxetanyl,

(f) tetrahydropyranyl,

(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit, và

(h) phenyl.

3. Hợp chất theo điểm 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^{3a} được chọn từ hydro, $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, halo, $-C(O)OC_{1-3}$ alkyl, và C_{1-3} alkyl; và

R^8 được chọn từ

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng C_{3-6} xycloalkyl,

(c) C_{2-4} alkyl, trong đó C_{2-4} alkyl tùy ý được thế bằng một phần tử thế được chọn từ $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, $-CN$, $-SC_{1-3}$ alkyl, C_{3-4} xycloalkyl, và halo và tùy ý, ngoài ra, bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen;

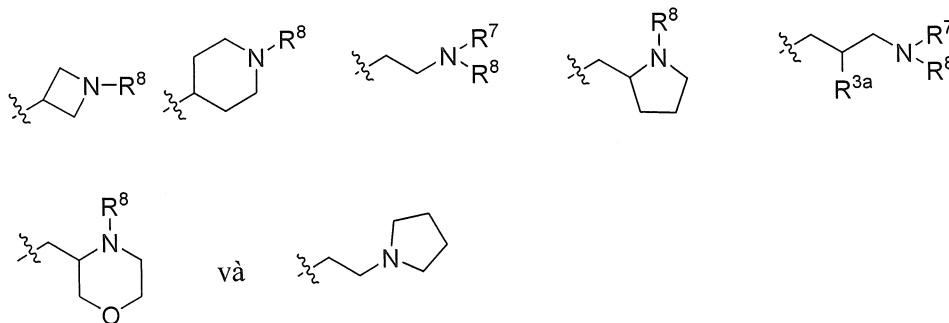
(d) C_{3-4} xycloalkyl, trong đó C_{3-4} xycloalkyl tùy ý được thế bằng $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-3}$ alkyl, hoặc C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OC_{1-3}$ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo,

(e) oxetanyl,

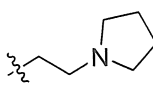
(f) tetrahydropyranyl, và

(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit.

4. Hợp chất theo điểm 2, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X được chọn từ:



trong đó R^{3a} là halo và

vòng pyrrolidin của  tùy ý được thế bằng C_{1-3} alkyl.

5. Hợp chất theo điểm 4, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^8 được chọn từ:

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng C_{3-6} xycloalkyl,

(c) C_{2-4} alkyl, trong đó C_{2-4} alkyl tùy ý được thế bằng một phần tử thế được chọn từ $-OH$, $-OC_{1-3}$ alkyl, $-CN$, $-SC_{1-3}$ alkyl, C_{3-4} xycloalkyl, và halo và tùy ý, ngoài ra, bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C_2 alkylen;

(d) C_{3-4} xycloalkyl, trong đó C_{3-4} xycloalkyl tùy ý được thế bằng $-OH$, $-CN$, $-OC_{1-3}$ alkyl, hoặc C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bằng $-OC_{1-3}$ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo,

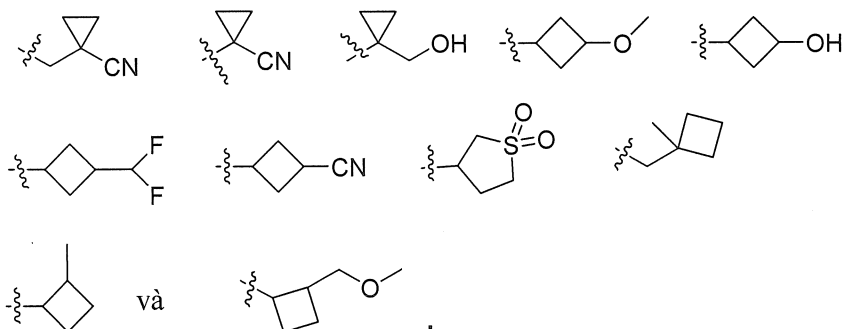
(e) oxetanyl,

(f) tetrahydropyranyl, và

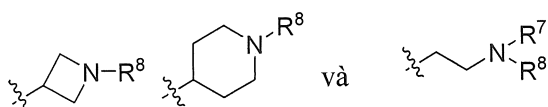
(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit.

6. Hợp chất theo điểm 5, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^8 được chọn từ hydro, $-CH_3$, $-C_2H_5$, isopropyl, xyclopropyl, xyclobutyl, $-CH(CH_3)C_2H_5$, $-(CH_2)_2CN$,

-CH₂CH₂F -CH₂isopropyl, -CH₂xyclopropyl, -(CH₂)₂OH, (CH₂)₂₋₃OCH₃, -(CH₂)₂-
₃SCH₃, -(CH₂)₂CH(CH₃)SCH₃, tetrahydropyran-4-yl,

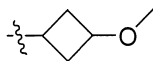


7. Hợp chất theo điểm 5, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X được chọn từ:

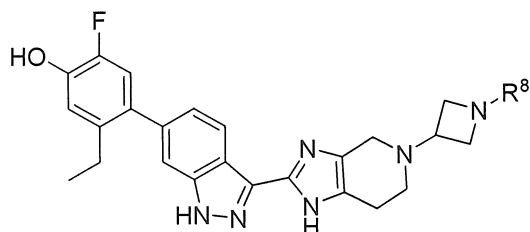


trong đó:

R⁸ được chọn từ hydro, metyl, C₂₋₄ alkyl, C₃₋₄ xycloalkyl, và



8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (III):



(III)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó R⁸ được chọn từ:

(a) hydro,

(b) metyl, tùy ý được thế bằng C₃₋₆ xycloalkyl,

(c) C₂₋₄ alkyl, trong đó C₂₋₄ alkyl tùy ý được thế bằng một phân tử thế được chọn từ -OH, -OC₁₋₃ alkyl, -CN, -SC₁₋₃ alkyl, C₃₋₄ xycloalkyl, và halo và tùy ý, ngoài

ra, bằng hai phần tử thế trên một nguyên tử cacbon duy nhất cùng với nhau tạo ra C₂ alkylen;

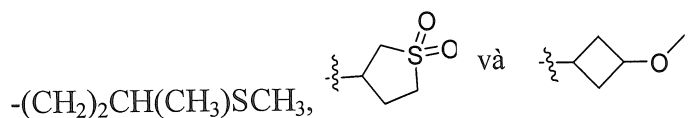
(d) C₃₋₄ xycloalkyl, trong đó C₃₋₄ xycloalkyl tùy ý được thế bằng -OH, -CN, -OC₁₋₃ alkyl, hoặc C₁₋₃ alkyl, trong đó C₁₋₃ alkyl tùy ý được thế bằng -OC₁₋₃ alkyl hoặc bằng một hoặc hai halo,

(e) oxetanyl,

(f) tetrahydropyranyl, và

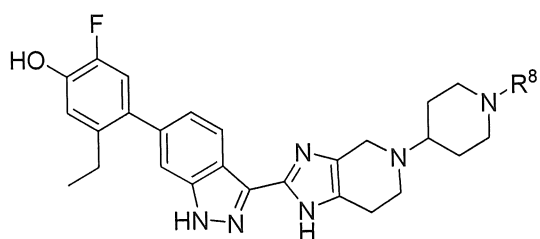
(g) tetrahydrothiophenyl 1,1-dioxit.

9. Hợp chất theo điểm 8, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁸ được chọn từ hydro, -CH₃, -C₂H₅, isopropyl, xyclopropyl, -CH(CH₃)C₂H₅, -(CH₂)₂CN, -CH₂CH₂F, -CH₂isopropyl, -CH₂xyclopropyl, -(CH₂)₂OH, (CH₂)₂₋₃OCH₃, -(CH₂)₂SCH₃,



10. Hợp chất theo điểm 8, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁸ được chọn từ hydro, metyl, C₂₋₄ alkyl, và C₃ xycloalkyl.

11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (IV):

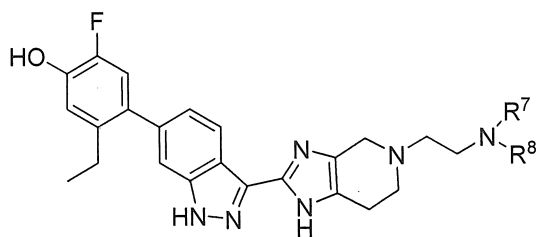


(IV)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó R⁸ được chọn từ hydro, metyl, C₂₋₄ alkyl, và C₃₋₄ xycloalkyl.

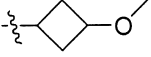
12. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (V):



(V)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó:

R^7 là hydro hoặc C_{1-3} alkyl và R^8 là methyl, C_{2-4} alkyl hoặc .

13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức (I) được chọn từ:

5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

4-(3-(5-(azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-fluorophenol,

5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-isopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

4-(3-(5-(1-(sec-butyl)azetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-fluorophenol,

4-(3-(5-(1-cyclopropylazetidin-3-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-fluorophenol,

5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

4-(3-(5-(2-(dimethylamino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-ethyl-2-fluorophenol,

5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(2-((3-methoxycyclobutyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

5-ethyl-4-(3-(5-(2-(ethyl(methyl)amino)ethyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-2-fluorophenol,

4-(3-(5-(2-(sec-butyl(metyl)amino)etyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol,

(S)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-((1-metylpyrrolidin-2-yl)metyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

4-(3-(5-(3-(dimetylamino)-2-flopropyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)-5-etyl-2-flophenol,

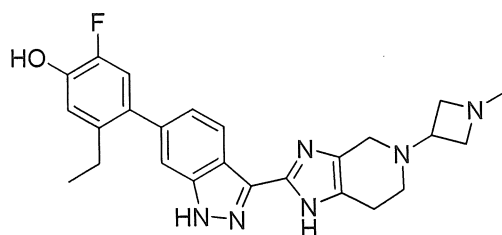
(S)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmetyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

(R)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(morpholin-3-ylmetyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

(S)-5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(2-(2-metylpyrrolidin-1-yl)etyl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol,

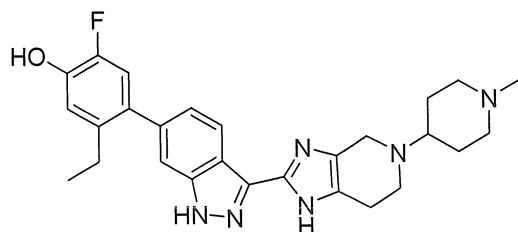
và muối được dụng của nó.

14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức:



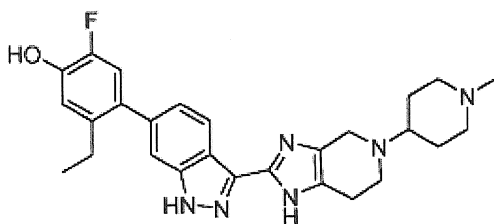
hoặc muối được dụng của nó.

15. Hợp chất có công thức:



hoặc muối được dụng của nó.

16. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất này có công thức:



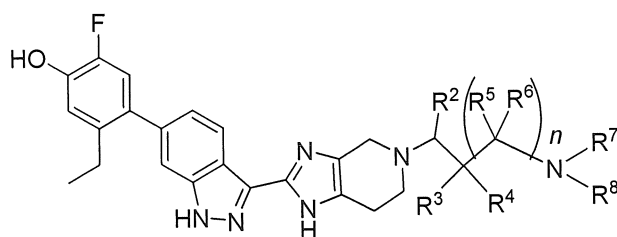
17. Hydrat tinh thể của 5-ethyl-2-fluoro-4-(3-(5-(1-methylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol trong đó dạng tinh thể được đặc trưng bởi mẫu phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh nhiễu xạ ở giá trị 2θ bằng $6,20 \pm 0,20$, $9,58 \pm 0,20$, $17,53 \pm 0,20$, $19,28 \pm 0,20$, và $21,51 \pm 0,2$.

18. Hydrat tinh thể theo điểm 17 trong đó mẫu phổ nhiễu xạ bột tia X khác biệt hơn ở chỗ có hai hoặc nhiều đỉnh nhiễu xạ bổ sung ở giá trị 2θ được chọn từ $10,34 \pm 0,20$, $11,54 \pm 0,20$, $12,77 \pm 0,20$, $13,01 \pm 0,20$, $16,94 \pm 0,20$, $20,61 \pm 0,20$, và $22,10 \pm 0,20$.

19. Hydrat tinh thể theo điểm 17, trong đó dạng tinh thể được đặc trưng bởi lượng nhỏ phân tích nhiệt quét vi sai được ghi lại ở tốc độ gia nhiệt bằng 10°C mỗi phút thể hiện tối đa sự hấp thụ dòng nhiệt ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 206°C đến khoảng 216°C .

20. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc hydrat tinh thể theo điểm 17 hoặc 18, và chất mang dược dụng.

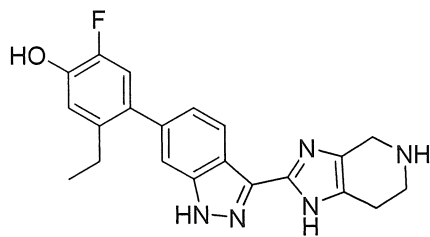
21. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I'):



(I')

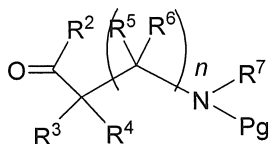
trong đó R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 , và n được xác định như trong điểm 1, hoặc muối dược dụng của nó, quy trình này bao gồm:

(a) phản ứng hợp chất có công thức 1:



1

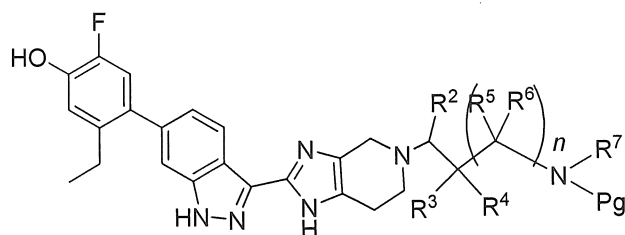
với hợp chất có công thức 2:



2

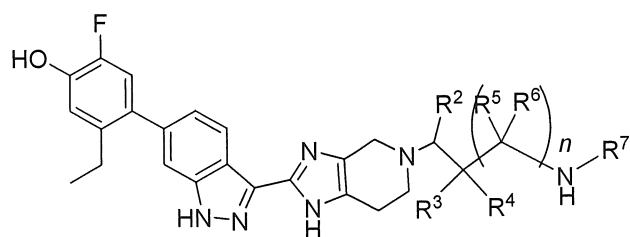
trong đó Pg là nhóm bảo vệ amino để tạo ra hợp chất trung gian có công thức

3:



3;

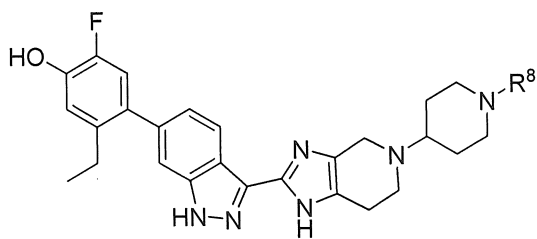
(b) khử bảo vệ hợp chất trung gian 3 để tạo ra hợp chất trung gian 4:



4;

và (c) phản ứng hợp chất trung gian 4 với $R^{8a}-C(=O)-R^{8b}$, trong đó R^{8a} và R^{8b} được xác định sao cho $R^{8a}-C(H)-R^{8b}$ là R^8 , để tạo ra hợp chất có công thức (I') hoặc muối được dụng của nó.

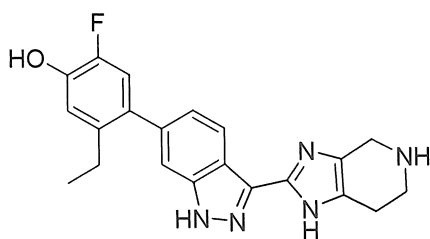
22. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (IV):



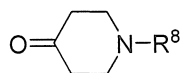
(IV)

hoặc muối được dụng của nó,

trong đó R⁸ được chọn từ hydro, metyl, C₂₋₄ alkyl, và C₃₋₄ xycloalkyl, quy trình này bao gồm phản ứng hợp chất có công thức **1**:

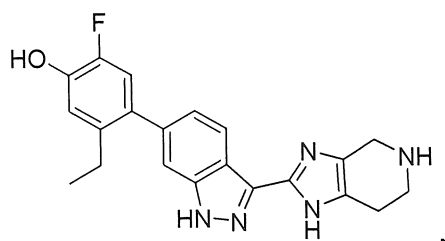
**1**

với hợp chất có công thức **2''**:

**2''**

để tạo ra hợp chất có công thức (IV) hoặc muối được dụng của nó.

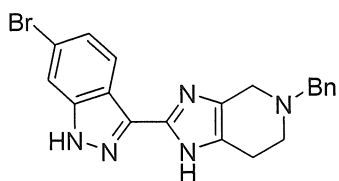
23. Quy trình điều chế hợp chất có công thức **1**:

**1**

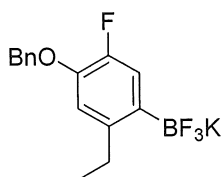
hoặc muối của nó,

quy trình này bao gồm:

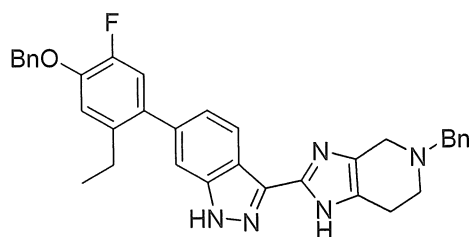
(a) phản ứng hợp chất có công thức **8**;

**8**

trong đó Bn thể hiện nhóm bảo vệ benzyl với hợp chất có công thức **9**:

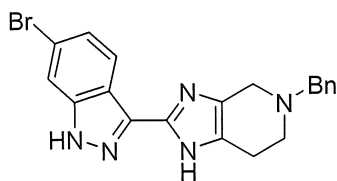
**9**

để tạo ra hợp chất có công thức **10**:

**10,**

và (b) khử bảo vệ hợp chất có công thức **10**, để tạo ra hợp chất có công thức **1** hoặc muối của nó.

24. Hợp chất có công thức **8**:

**8**

hoặc muối của nó.

25. Hợp chất theo điểm 24, trong đó hợp chất này là muối hydroclorua của hợp chất có công thức **8**.

26. Phương pháp điều chế hydrat tinh thể của 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol, phương pháp này bao gồm các bước:

(a) việc tạo ra bột nhão của 5-etyl-2-flo-4-(3-(5-(1-metylpiperidin-4-yl)-4,5,6,7-tetrahydro-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-2-yl)-1H-indazol-6-yl)phenol trong dạng solvat hoặc vô định hình trong chất pha loãng nằm trong khoảng từ khoảng 1 đến khoảng 30% thể tích/thể tích nước cùng với dung môi hữu cơ được chọn từ metanol, tetrahydrofuran, rượu tert-butylic, axetonitril, isopropylaxetat và axeton;

(b) gia nhiệt bột nhão ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng 40°C đến khoảng 60°C trong thời gian khoảng từ khoảng 1 giờ đến khoảng 2 ngày; và

(c) phân tách hydrat tinh thể từ bột nhão.

1/2

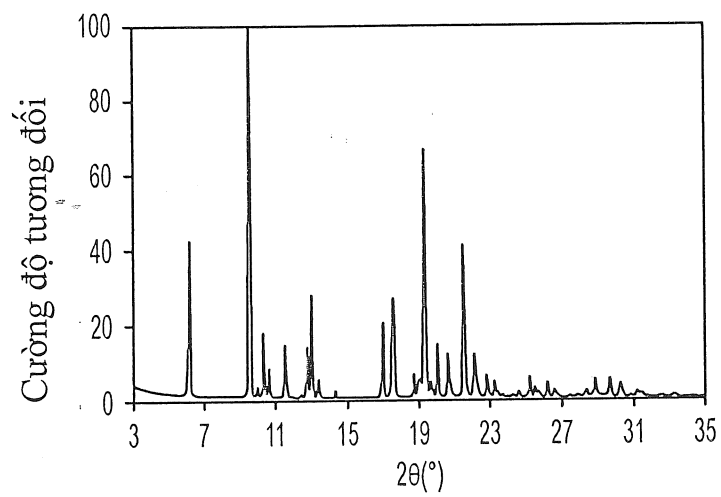


FIG. 1

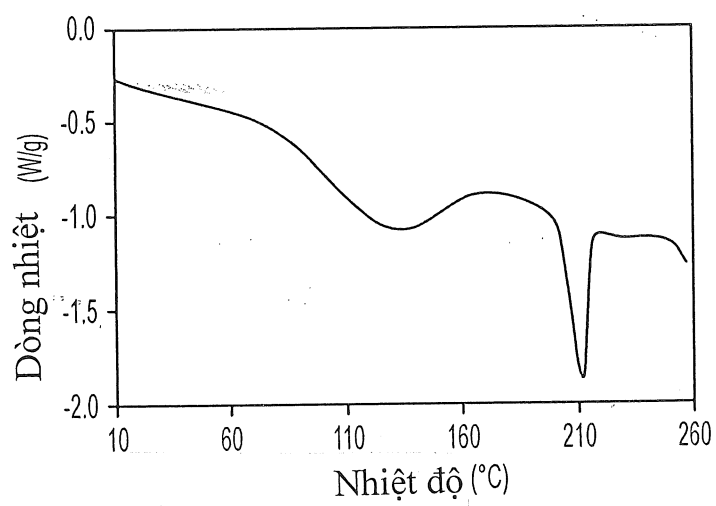


FIG. 2

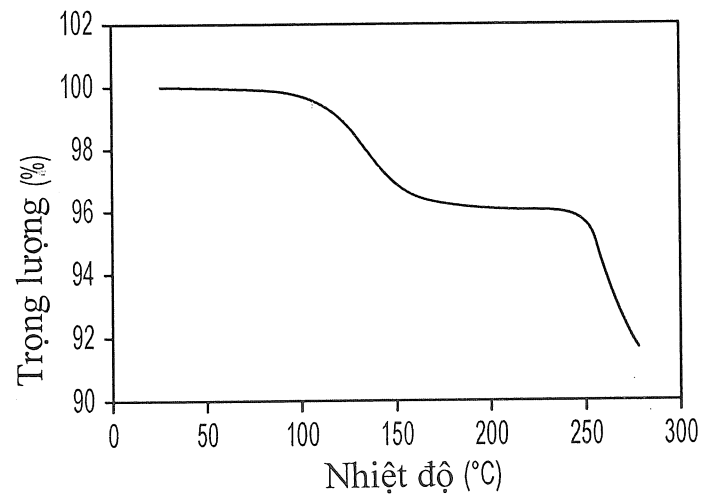


FIG. 3

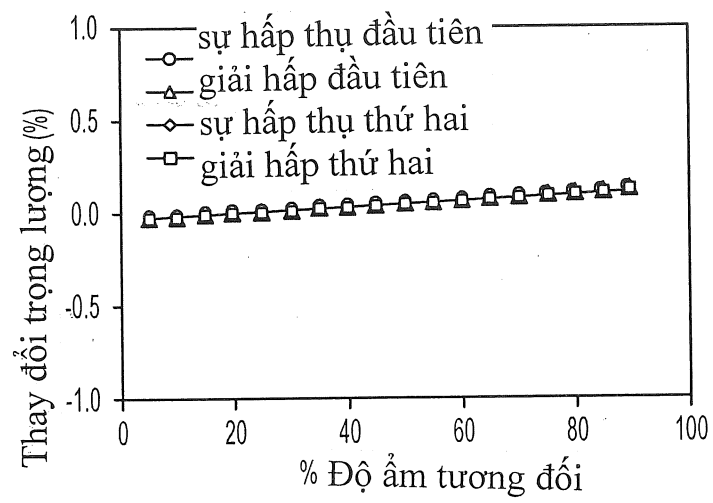


FIG. 4