



(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)



1-0034934

(51)⁸ C07D 471/04; A61P 35/00; A61K
31/437; A61P 19/02

(13) B

(21) 1-2019-00572

(22) 25/07/2017

(86) PCT/CN2017/094254 25/07/2017

(87) WO 2018/019223 01/02/2018

(30) 201610590791.7 26/07/2016 CN; 201710037675.7 19/01/2017 CN

(45) 27/03/2023 420

(43) 25/07/2019 376A

(73) Suzhou Longbiotech Pharmaceuticals Co., Ltd (CN)

Room 623, 6th Floor, Building 3, No. 118 Shengpu Road, Suzhou Industrial Park,
Suzhou 215126, China

(72) ZHANG, Wenyan (CN).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT ỨC CHẾ CHỌN LỌC JAK VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT
NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất ức chế chọn lọc JAK, solvat, và muối dược dụng của nó, và dược phẩm chứa hoạt chất là hợp chất này hoặc muối dược dụng của nó để điều trị bệnh liên quan đến đích JAK như bệnh ở hệ miễn dịch, bệnh viêm khớp dạng thấp và khối u.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất ức chế chọn lọc JAK, solvat, và muối được dụng của nó, và được phẩm chứa hoạt chất là hợp chất này hoặc muối được dụng của nó để điều trị bệnh liên quan đến đích JAK như bệnh ở hệ miễn dịch, bệnh viêm khớp dạng thấp và khối u.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quá trình truyền tín hiệu JAK-STAT là quá trình tải nạp tín hiệu được kích thích bởi xytokin được phát hiện trong những năm gần đây, trong đó JAK đóng vai trò quan trọng trong việc truyền tín hiệu xytokin. Các cơ chất phía sau của họ JAK kinaza bao gồm các chất tải nạp tín hiệu và các chất hoạt hóa quá trình phiên mã (STAT). Protein JAK là thành viên quan trọng trong quá trình này, và sự tăng bất thường hoạt tính của nó thường dẫn đến sự khởi phát bệnh. Nhiều bệnh liên quan đến các đáp ứng tế bào bất thường của quá trình truyền tín hiệu JAK-STAT, bao gồm bệnh tự miễn, bệnh viêm, bệnh xương, bệnh chuyển hóa, bệnh thần kinh và bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh ung thư, bệnh tim mạch, bệnh dị ứng và bệnh hen, và bệnh Alzheimer.

Bệnh viêm khớp dạng thấp (Rheumatoid arthritis - RA) là bệnh tự miễn mạn tính được quan sát thấy phổ biến trong lâm sàng, bệnh này được đặc trưng chủ yếu bởi chứng sưng, đau, cứng, biến dạng khớp và sự suy chức năng nặng. Tỷ lệ nhiễm RA trong quần thể nằm trong khoảng 0,5%-1,0%. Do sinh bệnh học của RA không rõ ràng, nên quá trình bệnh lý của nó khó kiểm soát, và tỷ lệ khuyết tật cao, làm suy giảm nghiêm trọng thể chất và tinh thần của đối tượng bị bệnh và làm giảm chất lượng cuộc sống của đối tượng bị bệnh. Các thuốc hiện được sử dụng để điều trị RA chủ yếu là thuốc chống viêm không steroid (non-steroidal anti-inflammatory drug - NSAID), thuốc chống thấp khớp làm thay đổi bệnh (disease-modifying antirheumatic drug - DMARD), và các thuốc kháng thể. Trong thời gian dài, các thuốc ưu tiên hàng đầu để điều trị RA là các DMARD. Năm 1988, thuốc DMARD thứ nhất methotrexate (MTX) đã được phê chuẩn bởi FDA để điều trị RA, làm cho MTX trở thành mốc quan trọng trong lịch sử điều trị RA. Thuốc này

được sử dụng rộng rãi do các ưu điểm của nó như tính hiệu quả, khả năng dung nạp, độ an toàn, v.v., nhưng nó có tác dụng bất lợi bao gồm chứng buồn nôn, nôn, khó chịu dạ dày, và độc tính với gan. Ngược lại, các thuốc kháng thể mới được phát triển có hiệu quả tốt và chỉ báo an toàn đối với RA từ trung bình đến nặng. Tuy nhiên, do nó hướng đích các xytokin đặc hiệu, quần thể có lợi từ nó bị giới hạn một cách đáng kể, và trong khi đó chi phí điều trị và sử dụng bằng cách tiêm cũng giới hạn sự khuyến khích sử dụng thuốc này.

Trong 20 năm qua, việc điều trị RA đã đạt được sự cải thiện lớn, và tình trạng của đối tượng bị bệnh có thể được kiểm soát một cách hiệu quả bằng chế độ điều trị hiện có. Tuy nhiên, các đối tượng bị bệnh RA còn trải qua các vấn đề như sự tái phát bệnh, tác dụng điều trị không đáp ứng được, sự dung nạp trong thời gian dài kém, và một số tác dụng bất lợi. Điều quan trọng hơn nữa, chất lượng cuộc sống của các đối tượng bị bệnh RA, bao gồm chức năng của các cơ quan như khớp, chưa thực sự được cải thiện bằng các biện pháp điều trị hiện có. Do đó, vẫn có nhu cầu lâm sàng lớn chưa được đáp ứng trong lĩnh vực này về việc khôi phục chức năng bình thường của các đối tượng bị bệnh.

Các nghiên cứu đã thể hiện rằng biện pháp cốt lõi điều trị RA là tạo ra một số lượng lớn các xytokin bằng cách tự tiết các tế bào đơn nhân/đại thực bào, tế bào limphô, v.v. bị thâm nhiễm trong mô và các tế bào hoạt dịch RA. Các xytokin này tương tác và hoạt hóa quá trình truyền tín hiệu JAK/STAT (Januskinase/Signal transducer and activators of transcription signaling pathway - Januskinaza/chất tải nạp tín hiệu và các chất hoạt hóa quá trình truyền tín hiệu sự phiên mã) thông qua các cách khác nhau. Bằng cách ức chế đặc hiệu quá trình truyền tín hiệu JAK/STAT, sự khuếch đại theo đợt của các xytokin này có thể được phong bế, nhờ đó cải thiện các triệu chứng của các khớp bị tổn thương ở các đối tượng bị bệnh RA. Do đó, quá trình truyền tín hiệu JAK/STAT là đích tiềm năng để điều trị RA. Vào tháng 11 năm 2012, chất ức chế JAK sử dụng qua đường miệng Tofacitinib được phê chuẩn đầu tiên bởi FDA để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp (RA), trở thành thuốc ức chế kinaza thành công đầu tiên trong lĩnh vực này.

Quá trình truyền tín hiệu JAK-STAT là quá trình tải nạp tín hiệu được kích thích bởi xytokin được phát hiện trong những năm gần đây, trong đó JAK đóng vai trò quan trọng trong việc truyền tín hiệu xytokin. JAK kinaza (được viết tắt là JAK, bao gồm bốn

thành viên đã biết JAK1, JAK2, JAK3, TYK2) là họ nhỏ của siêu họ tyrosin protein kinaza tế bào chất không phải thụ thể. JAK3 được phân bố trong tủy xương và hệ mạch bạch huyết, và JAK1, TYK2, và JAK2 được phân bố rộng rãi trong các tế bào mô khác nhau. Khi JAK gắn kết với thụ thể xytokin trên bề mặt tế bào, các JAK đã được ghép cặp với thụ thể được hoạt hóa, và đến lượt mình các thụ thể được phosphoryl hóa. Quá trình này tạo ra vị trí thu nhận đối với chất tải nập tín hiệu tế bào chất và chất hoạt hóa quá trình phiên mã protein STAT (được viết tắt là STAT, bao gồm STAT1-4, STAT5a, STAT5b, STAT6). JAK phosphoryl hóa protein STAT, và chất thu được được chuyển vào trong nhân để điều hòa quá trình biểu hiện gen sau khi nhị trùng hóa. Quá trình này là quá trình truyền tín hiệu JAK / STAT (O'Shea J. J., et al., N. Engl. J. Med., 2013, 368:161-170).

Quá trình truyền tín hiệu JAK/STAT là quá trình truyền tín hiệu được kích thích bởi nhiều xytokin và thụ thể yếu tố sinh trưởng, bao gồm các interleukin, các interferon (IFN- α , IFN- β , IFN- γ), erythropoietin (EPO), yếu tố kích thích tạo bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony stimulating factor - GM-CSF), somatotropin (GH), prolactin (PRL), thrombopoietin (TPO), v.v., mà đóng vai trò then chốt trong quá trình tăng sinh của các tế bào miễn dịch và các tế bào gốc tạo máu, và quá trình sinh học của quá trình điều hòa miễn dịch (Ghoreschi K., et al., Immunol. Rev., 2009, 228:273-287).

JAK1 có thể gắn kết với IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, IL-28, IFN- α , IFN- γ , IL-6 trong họ gp130, và các thụ thể khác chứa γc , v.v.. (Rodig S. J., et al., Cell, 1998, 93:373-383). Các thử nghiệm bất hoạt gen JAK1 ở mô hình chuột nhắt chỉ ra rằng enzym này đóng vai trò then chốt trong việc điều chỉnh các tác dụng sinh học của các thụ thể xytokin khác nhau được mô tả trên đây (Kisseleva T., et al., Gene, 2002, 285:1-24).

JAK1 là đích mới trong lĩnh vực các bệnh như các bệnh liên quan đến miễn dịch, bệnh viêm và ung thư. Các chất ức chế JAK1 có thể được sử dụng để điều trị/phòng bệnh tự miễn và viêm (Hornakova T., et al., Blood, 2010, 115:3287-3295), như bệnh bạch cầu, u limphô, u melanin, bệnh viêm khớp, bệnh vẩy nến, bệnh Crohn, bệnh luput ban đỏ, hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (Hou S., et al., Hum. Genet., 2013, 132:1049-1058) và các bệnh tương tự.

JAK2 đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa các tín hiệu thụ thể khác nhau bao gồm IL-3, IFN- γ , EPO, GH và các tín hiệu tương tự (Levy D. E., et al., Nat. Rev.

Mol. Cell Biol., 2002, 3:651-662). Việc bất hoạt gen JAK2 ở mô hình chuột nhất có thể dẫn đến sự chết của các động vật thiếu máu (Schindler C., et al., J. Biol. Chem., 2007, 282:20059-20063); sự đột biến bazơ JAK2V617F trên gen JAK2 ở người liên quan gần đến sự xuất hiện của bệnh tăng hồng cầu vô căn (polycythemia vera - PV) và bệnh tăng tiểu cầu vô căn (essential thrombocythemia - ET) trong các bệnh tăng sinh tuỷ xương, v.v. (Ghoreschi K., et al., Immunol. Rev., 2009, 228:273-287).

JAK3 điều hòa quá trình truyền tín hiệu tế bào bằng cách gắn kết với đồng chuỗi gamma (gamma co-chain - γ c) trong các phức hợp của thụ thể xytokin như IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21. Cả các đột biến JAK3 lẫn γ c có thể dẫn đến chứng suy giảm miễn dịch nặng kết hợp (severe combined immunodeficiency - SCID) (Villa A., et al., Blood, 1996, 88:817-823). Hoạt tính JAK3 bất thường được đặc trưng bởi sự giảm mạnh số lượng các tế bào T và các tế bào NK, và sự suy giảm chức năng của tế bào B, mà ảnh hưởng nghiêm trọng đến các chức năng sinh học bình thường của hệ miễn dịch. Dựa trên các đặc tính chức năng của nó và sự phân bố mô đặc biệt, JAK3 đã trở thành đích được chất hấp dẫn đối với các bệnh liên quan đến hệ miễn dịch. Các chất ức chế của nó có giá trị ứng dụng lâm sàng lớn trong việc điều trị/phòng ngừa bệnh viêm khớp dạng thấp (RA), bệnh Crohn, bệnh luput ban đỏ toàn thân, bệnh đa xơ cứng, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh vẩy nến, bệnh dị ứng, bệnh hen, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh bạch cầu, u limphô, ghép cơ quan và các bệnh khác (Papageorgiou A. C., et al., 2004, Trends Pharm. Sci., 2004, 25:558-562).

TYK2 là thành viên thứ nhất của họ JAK và có thể được hoạt hóa bởi nhiều thụ thể như các interferon (IFN), IL-10, IL-12, IL-23, IL-27, và các thụ thể tương tự. Ở chuột nhất, sự suy giảm chức năng của TYK2 có thể tạo ra sai sót trong quá trình truyền tín hiệu của các thụ thể xytokin khác nhau, dẫn đến sự nhiễm virus, giảm chức năng kháng khuẩn và miễn dịch, và tăng khả năng nhiễm trùng phổi (Kisseleva T., et al., 2002, Gene, 285:1-24). Ngoài ra, các nghiên cứu của nhóm Larner A.C đã cho thấy rằng TYK2 có thể giúp ức chế sự sinh trưởng và sự di căn của bệnh ung thư vú (Zhang Q., et al., 2011, J. Interferon Cytokine Res., 31:671-677).

Do JAK kinaza tham gia vào các quá trình sinh lý quan trọng khác nhau trong cơ thể, nên sự ức chế rộng các tiểu loại khác nhau có thể có tác dụng bất lợi. Tofacitinib

được cho các đối tượng bị bệnh bị RA từ trung bình đến nặng có đáp ứng MTX không đủ hoặc không dung nạp MTX sử dụng. Đã quan sát thấy rằng có các tác dụng bất lợi nhất định trong các thử nghiệm lâm sàng, bao gồm bệnh nhiễm trùng, bệnh lao, khối u, bệnh thiếu máu, tổn thương gan, tăng cholesterol và các bệnh tương tự. Tofacitinib có hoạt tính ức chế đáng kể trên các tiểu loại JAK1, JAK2, và JAK3. Do hoạt tính JAK2 liên quan đến sự biệt hóa tế bào hồng cầu và sự chuyển hóa lipid, một vài trong số các tác dụng bất lợi này được cho là liên quan đến đặc tính ức chế không chọn lọc của dược chất này. Do đó, việc tìm kiếm các chất ức chế JAK1 và/hoặc JAK3 chọn lọc sẽ trở thành hướng mới trong nghiên cứu thuốc RA.

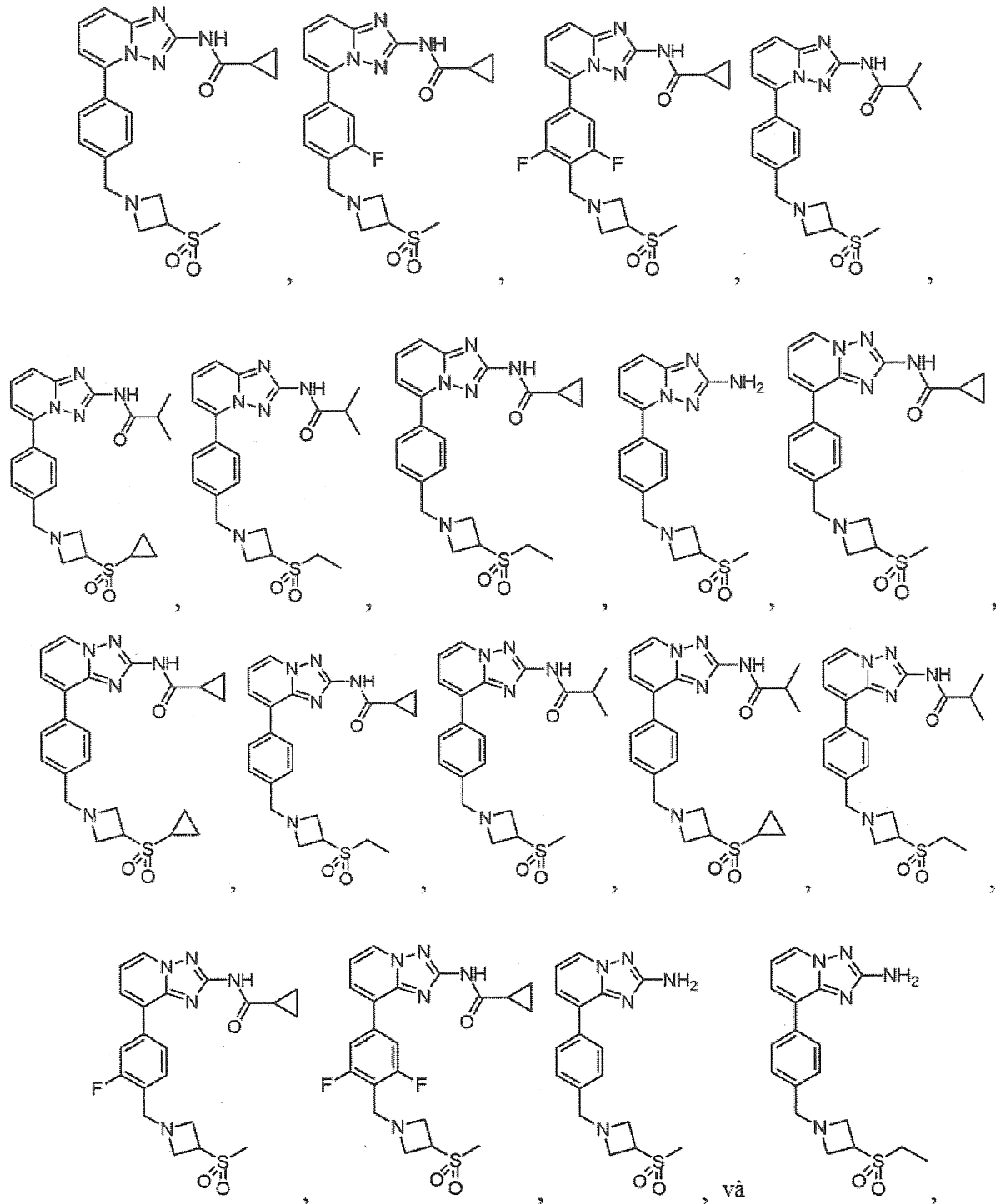
Hiện nay, các chất ức chế JAK đã được chứng minh là hữu ích trong thuốc sử dụng để điều trị các bệnh của hệ mạch máu, các khối u, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến và các bệnh tương tự.

WO20017/041130 A2 đề cập đến 5-(het)aryl-pyrololo[2,3-d]pyrimidin có hoạt tính ức chế JAK, WO2012/146659 A1 đề cập đến 4-(het)aryl-pyrazolo[1,6-a]pyridin có hoạt tính ức chế JAK, và WO2010/010190 A1 đề cập đến 5-(het)aryl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin có hoạt tính ức chế JAK.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích thứ nhất của sáng chế là đề xuất nhóm hợp chất ức chế chọn lọc JAK.

Sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

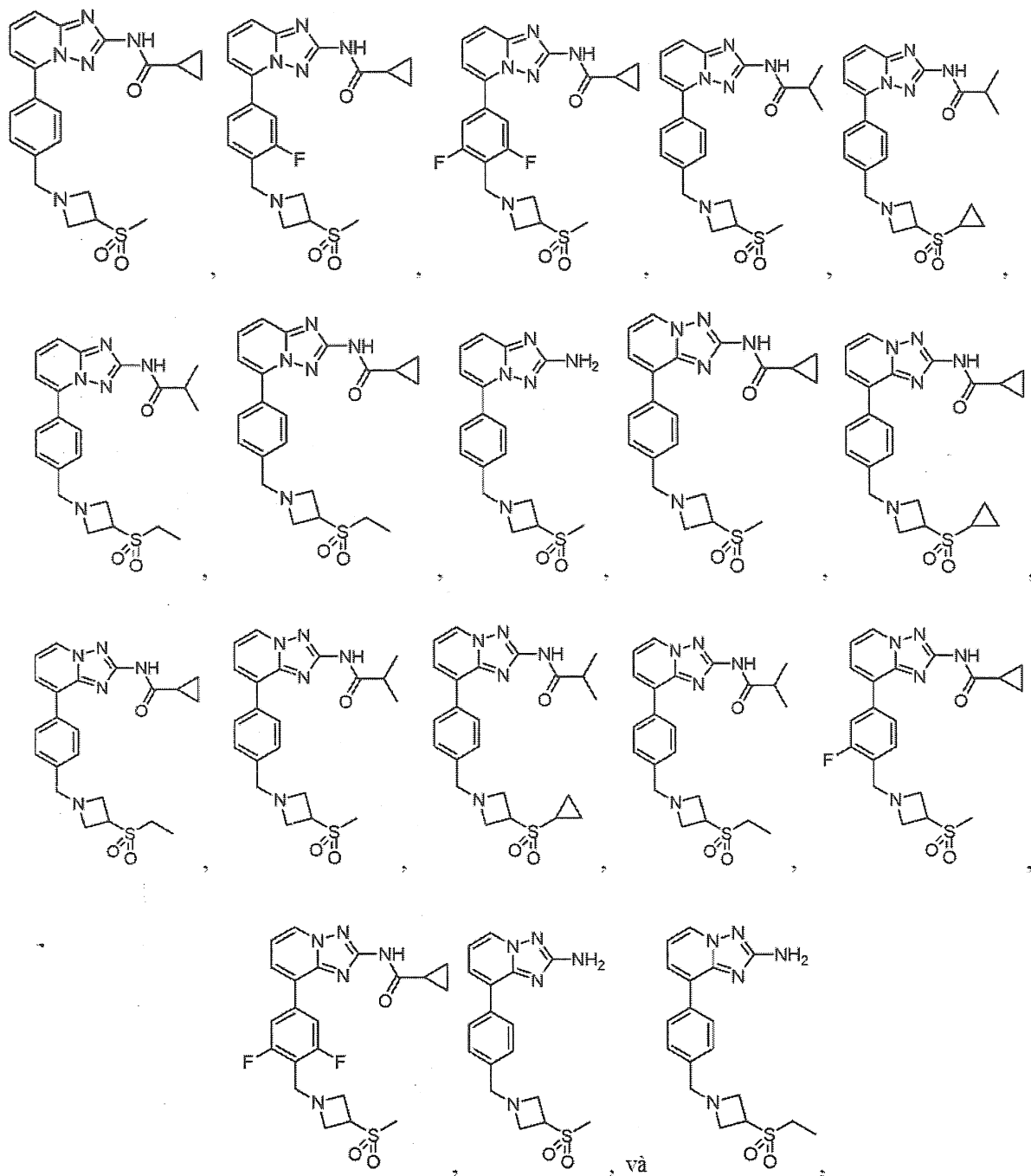


hoặc solvat, hoặc muối dược dụng của chúng.

Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa hợp chất nêu trên, solvat hoặc muối được dung của nó, và các chất mang được dung.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:



hoặc solvat, hoặc muối được dụng của chúng.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa hợp chất nêu trên, hoặc chất đồng phân, solvat hoặc muối được dụng của nó, và các chất mang được dụng.

Sáng chế mô tả sử dụng hợp chất hoặc dược phẩm nêu trên trong điều trị bệnh liên quan đến JAK kinaza.

Bệnh này được chọn từ bệnh tự miễn, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh da, bệnh đa xơ cứng, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm ruột, chứng nhược cơ năng, và bệnh vảy

nên.

Theo các phương án của sáng chế, nếu hợp chất theo sáng chế chứa nhóm bazơ, thì hợp chất này có thể tạo ra muối với axit, và muối của dẫn xuất pyrimidin có thể được tạo ra bằng phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Các muối axit thông thường bao gồm các muối axit hữu cơ, các muối axit vô cơ, và các muối tương tự. Nói chung, các muối axit hữu cơ thường được sử dụng là xitrat, fumarat, oxalat, malat, lactat, sulfonat (ví dụ, camphor sulfonat, p-toluensulfonat, metansulfonat, và các muối tương tự), v.v.; các muối axit vô cơ bao gồm hydrohalogenua, sulfat, phosphat, nitrat, và các muối tương tự.

Ví dụ, axit alkylsulfonic như axit metansulfonic, axit triflometansulfonic hoặc các axit tương tự có thể tạo ra muối mesylat, muối triflat; và axit arylsulfonic như axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic hoặc các axit tương tự có thể tạo ra p-toluensulfonat, benzensulfonat; axit carboxylic hữu cơ như axit axetic, axit fumaric, axit tartric, axit oxalic, axit maleic, axit malic, axit succinic, axit xitric hoặc các axit tương tự có thể tạo ra các muối tương ứng; axit amin như axit glutamic hoặc axit aspartic có thể tạo ra glutamat hoặc aspartat. Axit vô cơ như các axit hydrohalic (như axit flohydric, axit bromhydric, axit hydroiodic, axit clohydric), axit nitric, axit cacbonic, axit sunfuric hoặc axit phosphoric hoặc các axit tương tự cũng có thể tạo ra các muối tương ứng.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất thuốc chứa hoạt chất là hợp chất ức chế JAK có công thức (I), chất đồng phân hoặc muối được dùng hoặc solvat của nó. Thuốc trên đây có thể còn chứa một hoặc nhiều chất mang được dùng, bao gồm các chất pha loãng, tá dược, chất độn, chất kết dính, chất thấm ướt, chất gây rã, chất tăng hấp thu, chất hoạt động bề mặt, chất mang hấp phụ, chất làm trơn chảy, v.v. thông thường trong lĩnh vực dược. Nếu cần, chất tạo hương vị, chất làm ngọt hoặc các chất tương tự có thể được bổ sung vào. Thuốc được bộc lộ trong bản mô tả này có thể được bào chế thành các dạng khác nhau như viên nén, bột, thuốc cốm, viên nang, chế phẩm lỏng sử dụng qua đường miệng và chế phẩm để tiêm, và các thuốc ở các dạng liều khác nhau trên đây có thể được bào chế theo phương pháp thông thường trong lĩnh vực dược.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất hợp chất ức chế JAK có công thức (I), và

muối được dùng của nó, để sử dụng trong thuốc sử dụng để điều trị bệnh tự miễn, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh da, bệnh đa xơ cứng, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm ruột, chứng nhược cơ năng, và bệnh vảy nến ở người hoặc động vật, đặc biệt là để sử dụng trong thuốc sử dụng để điều trị các bệnh liên quan đến JAK kinaza.

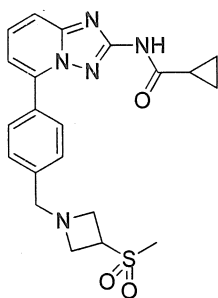
Các tác giả sáng chế đã xác nhận bằng thử nghiệm rằng hợp chất theo sáng chế có tác dụng ức chế tốt trên JAK kinaza, đặc biệt là JAK1 hoặc JAK3, và có hoạt tính ức chế thấp trên JAK2, gợi ý rằng hợp chất theo sáng chế là chất ức chế JAK chọn lọc. Thuốc có sử dụng hợp chất có công thức (I), chất đồng phân hoặc muối được dùng của nó có độc tính thấp hơn trong việc điều trị bệnh tự miễn, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh da, bệnh đa xơ cứng, bệnh viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh viêm ruột, chứng nhược cơ năng, và bệnh vảy nến.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả thông qua các ví dụ dưới đây.

Ví dụ 1.

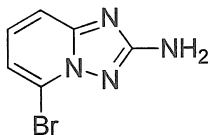
N-(5-(4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamit



Bước 1, 1-(6-bromo-pyridin-2-yl)-3-etoxycarbonyl-thioure

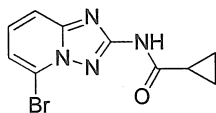
10g 2-amino-6-bromopyridin được hòa tan trong 100mL diclometan, và làm lạnh đến nhiệt độ 5°C trong bể nước đá. 6,8mL etoxycarbonyl isothioxyanat được bổ sung vào. Hỗn hợp này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng (20°C), và khuấy trong 10 giờ. Sau khi lọc, rửa bằng ete dầu mỏ và làm khô, thu được chất rắn (12g).

Bước 2, 5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5a]pyridin-2-ylamin



10,0g hydroxylamin hydroclorua được hòa tan trong 100mL etanol, 14,5mL N,N-diisopropyletylamin được bổ sung vào, và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Sau đó, 9g hợp chất thu được ở bước 1 được bổ sung vào, và hỗn hợp được gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu. Sau 3 giờ, hỗn hợp được để nguội và chất rắn kết tủa. Chất rắn này được lọc, rửa, và để khô trong không khí để thu được 6g hợp chất mong muốn.

Bước 3. N-(5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5a]pyridin-2-yl)xyclopropanecarboxamit



100mL diclometan và 9g diisopropyletylamin được bổ sung vào 5g hợp chất thu được ở bước 2. Hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C trong bể nước đá. 6,1g xyclopropanecarbonyl clorua được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp trở nên trong suốt sau 1 giờ phản ứng. Sau khi phản ứng được tiếp tục trong 4 giờ, hệ phản ứng được cô đến khô để thu được chất rắn dạng dầu. Sau đó, dung dịch hỗn hợp chứa 7mL nước amoniac và 43mL metanol được bổ sung vào chất rắn dạng dầu kết hợp làm lạnh trong bể đá muối, và khuấy trong khoảng 3 giờ. Hệ này trở thành chất lỏng đục màu nâu. Sau khi lọc bằng cách hút, chất rắn được rửa bằng nước và làm khô để thu được 4g hợp chất mong muốn.

Bước 4,

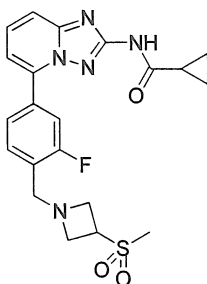
N-(5-(4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl)xyclopropanecarboxamit

1g N-(5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl)xyclopropanecarboxamit, 1,25 g 3-(metylsulfonyl)-1-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl)azetidin, 1,0g kali cacbonat, và 0,14g Pd(dppf)Cl₂ được bổ sung vào trong 30mL dioxan/nước (5:1), và gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Sau khi lọc, phần dịch lọc được làm bay hơi quay đến khô để loại bỏ dioxan và pha loãng bằng nước. Sau khi được chiết bằng etyl axetat, và tinh chế bằng sắc ký cột, thu được hợp chất mong muốn (0,86g).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ 9,21 (s, 1H), 7,94 (m, 2H), 7,56-7,62 (m, 2H), 7,44 (m, 2H), 7,26 (s, 1H), 7,07 (d, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,77 (s, 2H), 3,60-3,73 (m, 4H), 2,93 (s, 3H), 1,79 (s, 1H), 1,18 (m, 2H), 0,91 (m, 2H). MS (ESI): 426,16 (M+1).

Ví dụ 2.

N-(5-(3-flu-4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamit

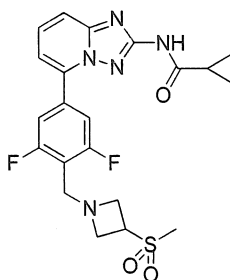


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 443,15 (M+1)

Ví dụ 3.

N-(5-(3,5-diflu-4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamit

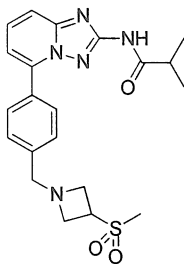


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 462,14 (M+1)

Ví dụ 4.

N-(5-(4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]isobutyramit

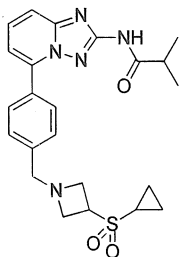


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 428,17 (M+1)

Ví dụ 5.

N-(5-(4-((3-(cyclopropylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]
[pyridin-2-yl]isobutyramit

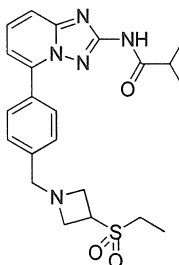


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 454,18 (M+1)

Ví dụ 6.

N-(5-(4-((3-(ethylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin
-2-yl]isobutyramit

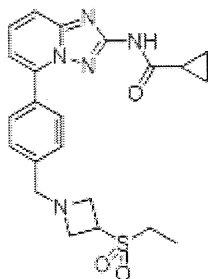


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 442,18 (M+1)

Ví dụ 7.

N-(5-(4-((3-(ethylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamid



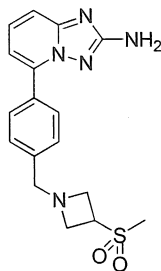
N-(5-(4-((3-(ethylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamid

Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 440,17 (M+1)

Ví dụ 8.

5-(4-((3-(methylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-ylamin

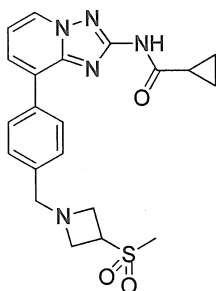


1g 5-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5a]pyridin-2-ylamin, 1,5g
3-(methylsulfonyl)-1-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl)azetidin, 1,0g
kali cacbonat, và 0,2 g Pd(dppf)Cl₂ được bổ sung vào trong 30mL dioxan/nước (5:1), và gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Sau khi lọc, phần dịch lọc được làm bay hơi quay đến khô để loại bỏ dioxan và pha loãng bằng nước. Sau khi được chiết bằng ethyl axetat, và tinh chế bằng sắc ký cột, thu được hợp chất mong muốn (0,86g).

MS (ESI): 358,13 (M+1)

Ví dụ 9.

N-(8-(4-((3-(methylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamide

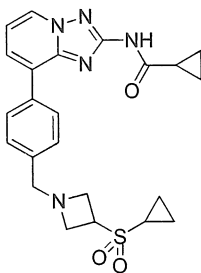


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 426,16 (M+1)

Ví dụ 10.

N-(8-(4-((3-(xyclopropylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamide

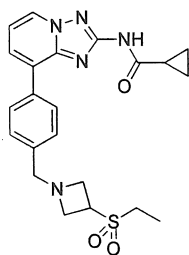


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 452,17 (M+1)

Ví dụ 11.

N-(8-(4-((3-(ethylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamide

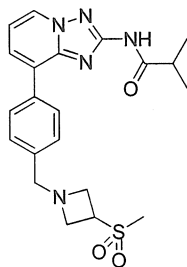


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 440,17 (M+1)

Ví dụ 12.

N-(8-(4-((3-(metylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]xyclopropanecarboxamit

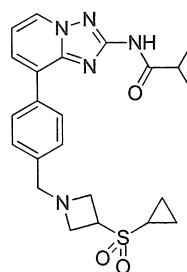


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 428,17 (M+1)

Ví dụ 13.

N-(8-(4-((3-(xyclopropylsulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]isobutyramit

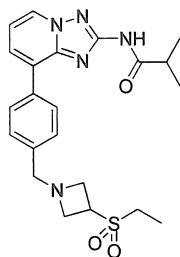


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 454,18 (M+1)

Ví dụ 14.

N-(8-(4-((3-(etylulfonyl)azetidin-1-yl)metyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl]isobutyramit

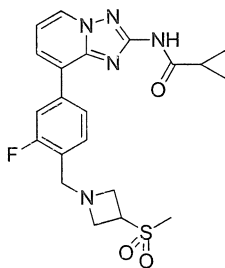


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 442,18 (M+1)

Ví dụ 15.

N-(8-(3-fluoro-4-((3-(methylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl)xylopropylcarboxamide

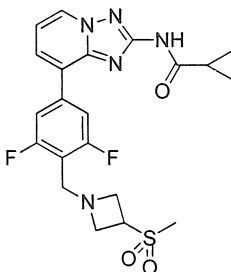


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 443,15 (M+1)

Ví dụ 16.

N-(8-(3,5-difluoro-4-((3-(methylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-yl)xylopropylcarboxamide

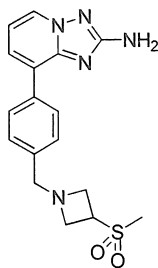


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 462,14 (M+1)

Ví dụ 17.

8-(4-((3-(methylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-ylamin

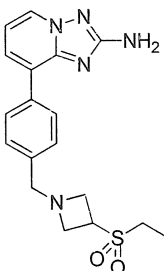


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

MS (ESI): 358,13 (M+1)

Ví dụ 18.

8-(4-((3-(ethylsulfonyl)azetidin-1-yl)methyl)phenyl)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-2-ylamin

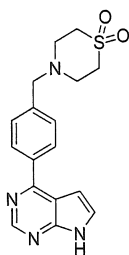


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 1.

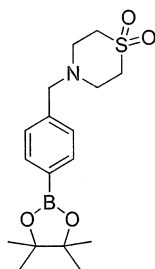
MS (ESI): 372,14 (M+1)

Ví dụ 19.

4-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit



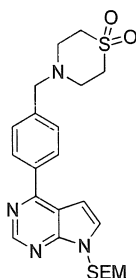
Bước 1, 4-(4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit



5g 2-(4-(bromomethyl)phenyl)-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan được bổ sung vào trong bình thủy tinh đáy tròn ba cổ dung tích 100mL, và hòa tan bằng 10mL N,N-dimetylformamit. Sau đó, 5,8g kali cacbonat và 4g thiomorpholin 1,1-dioxit hydroclorua được bổ sung vào, và cho phản ứng dưới khí nitơ trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Sắc ký lớp mỏng cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Nước đá được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, và chiết bằng etyl axetat (25mL x 3). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, được làm khô (natri sulfat), lọc và cô để thu được 6g hợp chất mong muốn.

Bước 2.

4-(4-(7-((2-(trimetylsilyl)ethoxy)methyl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit



2g 4-clo-7-((2-(trimetylsilyl)ethoxy)methyl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin, 2,7g hợp chất thu được ở bước 1, 1,0g kali cacbonat, và 0,3 g Pd(dppf)Cl₂ được bổ sung vào trong 30mL dioxan/nước (5:1) và gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Sau khi lọc, phần dịch lọc được làm bay hơi quay đến khô để loại bỏ dioxan và pha loãng bằng nước. Sau khi được chiết bằng etyl axetat, và tinh chế bằng sắc ký cột, thu được hợp chất mong muốn (1,8g).

Bước 3. 4-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit

3g hợp chất thu được ở bước 2 được hòa tan trong 15mL diclometan, và làm lạnh đến nhiệt độ 0°C trong bể nước đá. 5mL axit trifloaxetic được bổ sung vào hỗn hợp phản

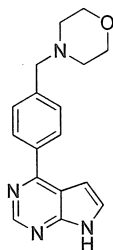
ứng này. Sau khi bổ sung, bể đá được loại bỏ, và phản ứng được tiếp tục ở nhiệt độ phòng. Sau 5 giờ, sắc ký lớp mỏng cho thấy rằng phản ứng đã hoàn thành. Dung môi được loại bỏ bằng cách cô dưới áp suất thấp và diclometan được bổ sung vào. Axit trifloaxetic dư được loại bỏ bằng cách làm bay hơi quay để thu được dầu màu vàng. Dầu màu vàng này được hòa tan trong 15mL metanol và làm lạnh đến nhiệt độ 0°C bằng bể đá muối. 3mL etylendiamin khan được bổ sung theo từng giọt vào hỗn hợp phản ứng này. Sau khi việc bổ sung được hoàn thành, bể đá được loại bỏ và hỗn hợp được cho phản ứng ở nhiệt độ phòng qua đêm. Ngày tiếp theo, phản ứng đã được hoàn thành. Chất rắn được kết tủa, được lọc, và tinh chế bằng cách sắc ký cột silicagel để thu được 1,6g hợp chất mong muốn.

$^1\text{HNMR}$ (400 MHz, DMSO- D_6) δ 12,06 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,17 (d, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,55 (d, 2H), 6,90 (s, 1H), 3,78 (s, 2H), 3,15 (m, 4H), 2,93 (m, 4H).

MS (ESI): 343,12 (M+1)

Ví dụ 20.

4-(4-(7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl)benzyl)morpholin



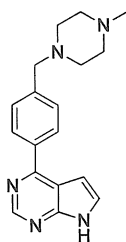
Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

$^1\text{HNMR}$ (400 MHz, DMSO- D_6) δ 12,21 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,15 (d, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,53 (d, 2H), 6,90 (d, 1H), 3,62-3,58 (m, 4H), 3,56 (s, 2H), 2,41 (s, 4H).

MS (ESI): 343,12 (M+1)

Ví dụ 21.

4-(4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)phenyl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin

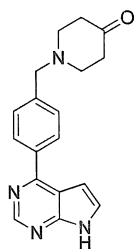


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 12,31 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 8,11 (d, 2H), 7,52 (d, 2H), 7,43 (d, 1H), 7,53 (d, 2H), 6,85 (d, 1H), 3,62 (s, 4H), 2,55 (m, 8H), 2,33 (s, 3H).

Ví dụ 22.

1-(4-(7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)benzyl)piperidin-4-on

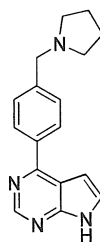


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,32 (s, 1H), 8,19 (d, 2H), 7,15 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,58 (d, 2H), 6,90 (d, 1H), 3,72 (s, 2H), 2,74 (t, 4H), 2,40 (t, 4H).

Ví dụ 23.

4-(4-(pyrol-1-ylmetyl)phenyl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin

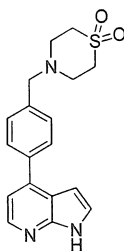


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,27 (s, 1H), 8,83 (s, 1H), 8,15 (d, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,53 (d, 2H), 6,90 (m, 1H), 3,69 (s, 2H), 2,50-2,47 (m, 4H), 1,72 (s, 4H).

Ví dụ 24.

4-(4-(1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-4-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit

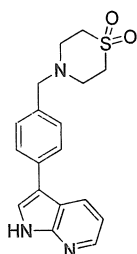


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

MS (ESI): 342,12 (M+1)

Ví dụ 25.

4-(4-(1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)benzyl)thiomorpholin 1,1-dioxit

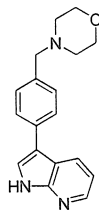


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

MS (ESI): 342,12 (M+1)

Ví dụ 26.

4-(4-(1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)benzyl)morpholin

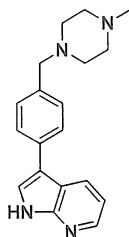


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

¹HNMR (400 MHz, DMSO-D₆) δ 11,93 (s, 1H), 8,32-8,24 (m, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,69 (d, 2H), 7,36 (d, 2H), 7,15 (m, 1H), 3,64-3,52 (m, 4H), 2,50-2,47 (m, 4H), 3,48 (s, 2H), 2,38 (s, 4H).

Ví dụ 27.

3-(4-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)phenyl)-7H-pyrolo[2,3-b]pyridin

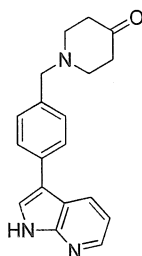


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ 11,93 (s, 1H), 8,28 (m, 2H), 7,85 (s, 1H), 7,68 (d, 2H), 7,35 (d, 2H), 7,15 (m, 1H), 3,46 (s, 2H), 2,36 (brs, 8H), 2,15 (s, 3H).

Ví dụ 28.

4-(4-(1H-pyrolo[2,3-b]pyridin-3-yl)benzyl)piperidin-4-on

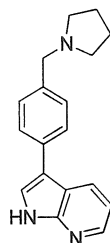


Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ 12,05 (s, 1H), 8,41 (m, 2H), 7,99 (d, 1H), 7,82 (d, 2H), 7,53 (d, 2H), 7,26 (dd, 1H), 3,72 (s, 2H), 2,81 (t, 4H), 2,47 (t, 4H).

Ví dụ 29.

3-(4-(pyrrol-1-ylmethyl)phenyl)-1H-pyrolo[2,3-b]pyridin



Hợp chất này được điều chế bằng cách viện dẫn đến phương pháp của ví dụ 19.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- D_6) δ 11,92 (s, 1H), 8,27 (m, 2H), 7,84 (s, 1H), 7,65 (m, 2H), 7,35 (d, 2H), 7,15 (dd, 1H), 3,57 (s, 2H), 2,42 (dd, 4H), 1,69 (m, 4H).

Ví dụ 30. Ức chế JAK

Nghiên cứu về tác dụng của các hợp chất đến hoạt tính của JAK tái tổ hợp đã được tinh chế được thực hiện bằng cách đánh giá hoạt tính ức chế của các hợp chất trên JAK từ mức độ enzym. Nguyên lý thử nghiệm là sử dụng thử nghiệm kinaza phát quang để phát hiện hàm lượng ADP được sản sinh nhờ phản ứng của JAK với cơ chất Poly (4:1 glu, Tyr) peptit: sau khi ADP được chuyển hóa thành ATP, ATP có thể tác động như cơ chất đối với phản ứng xúc tác Ultra-Glo luxiferaza, tạo ra tín hiệu quang học. Tín hiệu phát quang liên quan thuận đến lượng ADP và hoạt tính kinaza. Do đó, tác dụng ức chế của các hợp chất trên JAK tái tổ hợp được xác định bằng cách quan sát tín hiệu phát quang được tạo ra nhờ phản ứng của JAK và cơ chất, và biểu thị bằng IC_{50} .

Phương pháp thử nghiệm: 10 nồng độ khác nhau của các hợp chất lần lượt được ủ với JAK1, JAK2 và JAK3, trong 60 phút ở nhiệt độ 37°C. Sau đó, cơ chất và ATP được bổ sung vào, được trộn, và cho phản ứng ở nhiệt độ 37°C trong 50 phút. 25µL ADP-GloTM được bổ sung vào và trộn trong 2 phút. Phản ứng này được thực hiện trong 50 phút ở nhiệt độ phòng. Tiếp theo, 50µL chất phát hiện được bổ sung vào và trộn trong 2 phút, và ủ ở nhiệt độ phòng trong 50 phút, và phát hiện bằng máy đo độ phát quang hóa học. Các kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1 Các kết quả của thử nghiệm ức chế JAK

Hợp chất	Ức chế JAK1 IC_{50} (nM)	Ức chế JAK2 IC_{50} (nM)	Ức chế JAK3 IC_{50} (nM)
Hợp chất theo ví dụ 1	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 2	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 3	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 5	b	c	b
Hợp chất theo ví dụ 6	c	c	c
Hợp chất theo ví dụ 7	b	c	b
Hợp chất theo ví dụ 8	b	c	b
Hợp chất theo ví dụ 9	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 10	c	c	c
Hợp chất theo ví dụ 11	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 12	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 13	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 14	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 15	b	c	c
Hợp chất theo ví dụ 16	c	c	c

Hợp chất theo ví dụ 17	b	c	b
Hợp chất theo ví dụ 18	c	c	c
Hợp chất theo ví dụ 19	a	c	c
Ghi chú: 1. (a) $\leq 20\text{nM}$; 2. (b) $> 20\text{nM}$ đến 50nM ; 3. (c) $> 50\text{nM}$			

Để làm ví dụ, hợp chất theo ví dụ 1 được so sánh với các kết quả của chất ức chế JAK hiện có trong cùng điều kiện thử nghiệm, và các kết quả được thể hiện trong bảng 2.

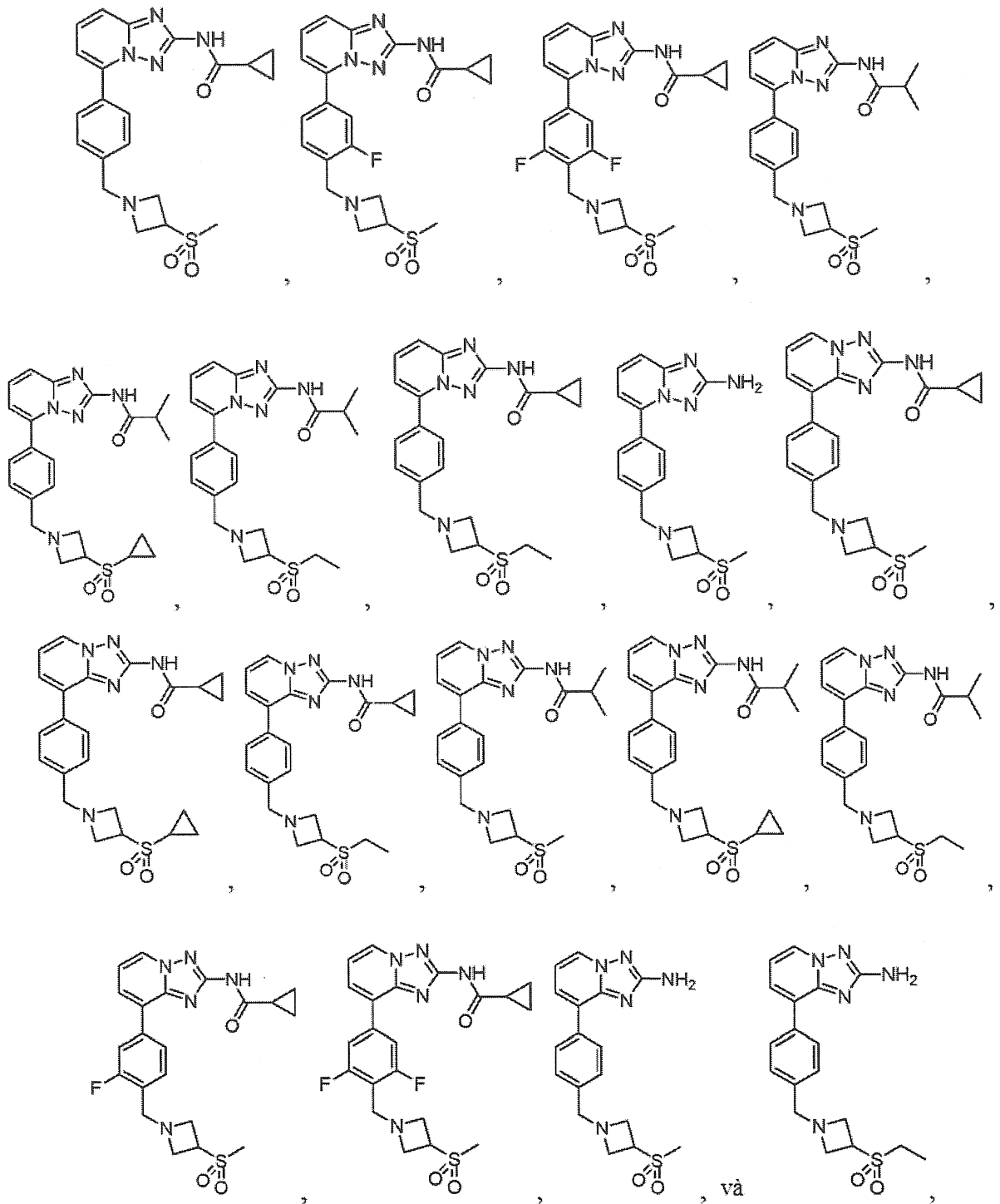
Bảng 2 So sánh các tác dụng ức chế của các hợp chất theo sáng chế và chất ức chế JAK hiện có đến JAK

Hợp chất	Ức chế JAK1 IC ₅₀ (nM)	Ức chế JAK2 IC ₅₀ (nM)	Ức chế JAK3 IC ₅₀ (nM)
Hợp chất theo ví dụ 1	48,0	498	2433
Filgotinib	46	55	644

Các kết quả cho thấy rằng hoạt tính ức chế JAK1 của hợp chất theo ví dụ 1 gấp 10 lần hoạt tính ức chế JAK2 của hợp chất này, và các hoạt tính ức chế JAK1 và JAK2 của filgotinib (hợp chất được bộc lộ trong CN104262337) là tương đương trong thử nghiệm này, cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có độ chọn lọc tốt hơn đối với JAK1, do đó có độc tính thấp hơn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:



hoặc solvat, hoặc muối được dựng của chúng.

2. Dược phẩm chứa hợp chất, solvat hoặc muối được dựng của nó theo điểm 1, và các chất mang được dựng.