(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) **1-0020433**

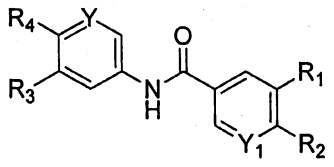
(51)[7] **C07D 401/14**, A61K 31/4439, A61P 35/00, C07D 213/82, 401/04, 403/10

(13) **B**

(21) 1-2014-04155
(22) 09.05.2013
(86) PCT/IB2013/053768 09.05.2013
(87) WO2013/171639 21.11.2013
(30) 61/647,174 15.05.2012 US
61/790,967 15.03.2013 US
(45) 25.02.2019 371
(43) 27.04.2015 325
(73) NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland
(72) DODD, Stephanie Kay (US), FURET, Pascal (FR), GROTZFELD, Robert Martin (DE), JONES, Darryl Brynley (GB), MANLEY, Paul (GB), MARZINZIK, Andreas (DE), PELLE, Xavier Francois Andre (FR), SALEM, Bahaa (FR), SCHOEPFER, Joseph (CH), JAHNKE, Wolfgang (DE)
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyến (INVENCO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT ĐỂ ỨC CHẾ HOẠT TÍNH ENZYM TYROSIN KINAZA CỦA PROTEIN ABELSON, PROTEIN HỌ ABELSON, PROTEIN KHẢM CÙNG HỌ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) có khả năng ức chế hoạt tính enzym tyrosin kinaza của protein Abelson (ABL1), protein họ Abelson (ABL2) và protein khảm cùng họ, cụ thể BCR-ABL1. Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa hợp chất này.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất hợp chất có khả năng ức chế hoạt tính enzym tyrosin kinaza của protein Abelson (ABL1), protein họ Abelson (ABL2) và protein khảm cùng họ, cụ thể là BCR-ABL1. Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hoạt tính tyrosin kinaza của protein ABL1 thường được điều hòa một cách chặt chẽ, có vùng đầu chóp đuôi tận cùng N của miền SH3 đóng một vai trò quan trọng. Một cơ chế điều hòa có liên quan đến gốc glyxin-2 đầu chóp tận cùng N được myristoyl hóa và sau đó tương tác với vị trí gắn kết myristat nằm trong miền xúc tác SH1. Dấu hiệu phân biệt của bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML-chronic myeloid leukemia) là nhiễm sắc thể Philadelphia (Ph), được tạo ra bởi sự chuyển đoạn nhiễm sắc thể thuận nghịch t(9,22) trong tế bào mầm tạo huyết. Nhiễm sắc thể này mang gen gây ung thư BCR-ABL1 mã hóa protein BCR-ABL1 khảm, gen này thiếu đầu chóp tận cùng N và có miền tyrosin kinaza cấu trúc hoạt động.

Mặc dù các dược chất ức chế hoạt tính tyosin kinaza của BCR-ABL1 thông qua cơ chế cạnh tranh ATP, như Gleevec®/Glivec® (imatinib), Tasigna® (nilotinib) và Sprycel® (dasatinib), là có hiệu quả trong điều trị CML, một số bệnh nhân tái phát do sự xuất hiện của các dòng kháng thuốc, trong đó các đột biến trong miền SH1 làm giảm sự gắn kết chất ức chế. Mặc dù Tasigna® và Sprycel® duy trì hiệu lực đối với nhiều dạng đột biến kháng Gleevec của BCR-ABL1, sự đột biến trong đó gốc threonin-315 được thay thế bởi isoleuxin (T315I) vẫn không nhạy cảm với tất cả ba dược chất này và có thể khiến cho các bệnh nhân CML tăng sự kháng thuốc với điều trị. Do đó, việc ức chế sự đột biến BCR-ABL1, như T315I, vẫn là một nhu cầu y học chưa được đáp ứng. Ngoài CML, các protein dung hợp BCR-ABL1 là nguyên nhân gây ra một tỷ lệ phần trăm bệnh bạch cầu lympho cấp tính, và dược chất chọn đích là hoạt tính ABL kinaza cũng có tính ứng dụng trong chỉ định này.

Các tác nhân hướng đích là vị trí gắn kết myristoyl (có tên gọi là chất ức chế dị lập thể) có hiệu lực để điều trị bệnh BCR-ABL1 (J. Zhang, F. J. Adrian, W. Jahnke, S. W. Cowan-Jacob, A. G. Li, R. E. Iacob4, T. Sim, J. Powers, C. Dierks, F. Sun, G.-R. Guo, Q. Ding, B. Okram, Y. Choi, A. Wojciechowski, X. Deng, G. Liu, G. Fendrich, A. Strauss, N. Vajpai, S. Grzesiek, T. Tuntland, Y. Liu, B. Bursulaya, M. Azam, P. W. Manley, J. R. Engen, G. Q. Daley, M. Warmuth., N. S. Gray. Targeting BCR–ABL by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature 2010;463:501-6). Để ngăn cản sự xuất hiện kháng thuốc khi sử dụng chất ức chế ATP và/hoặc chất ức chế dị lập thể, việc điều trị kết hợp sử dụng cả hai kiểu chất ức chế có thể được phát triển để điều trị các bệnh liên quan đến BCR-ABL1. Cụ thể, vẫn tồn tại nhu cầu về các phân tử nhỏ, hoặc hỗn hợp chứa nó, mà ức chế hoạt tính BCR-ABL1 và sự đột biến BCR-ABL1 thông qua vị trí gắn kết ATP, vị trí gắn kết myristoyl hoặc kết hợp cả hai vị trí này.

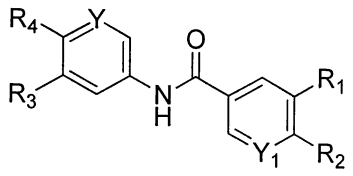
Hơn nữa, các chất ức chế hoạt tính ABL1 kinaza có tiềm năng để sử dụng làm thuốc điều trị ung thư biểu mô xâm lấn di căn và các bệnh nhiễm virut như virut đậu mùa và virut Ebola.

Hợp chất theo sáng chế cũng có hiệu lực để điều trị hoặc phòng các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến hoạt tính kinaza hoạt hóa bất thường của ABL1 kiểu dại, bao gồm các bệnh hoặc rối loạn không ác tính, như các bệnh CNS cụ thể là bệnh thoái hóa thần kinh (ví dụ bệnh Alzheimer, Parkinson), bệnh thần kinh vận động (xơ cứng cột bên teo cơ), loạn dưỡng cơ, bệnh tự miễn và viêm nhiễm (bệnh đái tháo đường và xơ phổi), các bệnh nhiễm virut, bệnh do prion.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế nhằm đề xuất hợp chất có hiệu lực để điều trị hoặc phòng các bệnh hoặc rối loạn liên quan đến hoạt tính kinaza hoạt hóa bất thường của ABL1 kiểu dại, bao gồm các bệnh hoặc rối loạn không ác tính, như các bệnh CNS cụ thể là bệnh thoái hóa thần kinh (ví dụ bệnh Alzheimer, Parkinson), bệnh thần kinh vận động (xơ cứng cột bên teo cơ), loạn dưỡng cơ, bệnh tự miễn và viêm nhiễm (bệnh đái tháo đường và xơ phổi), các bệnh nhiễm virut, bệnh do prion.

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



(I)

trong đó:

R_1 là pyrazolyl; trong đó pyrazolyl này là không được thế hoặc được thế bởi từ 1 đến 2 nhóm R_6;

R_2 là pyrolidinyl; trong đó pyrolidinyl này được thế bởi một nhóm R_7;

R_3 được chọn từ hydro và halo;

R_4 được chọn từ $-SF_5$ và $-Y_2-CF_2-Y_3$;

R_6 ở mỗi nhóm là độc lập được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl;

R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl;

Y được chọn từ CH và N;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$; và

Y_3 được chọn từ hydro, clo, flo, metyl, diflometyl và triflometyl.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất hợp chất có công thức (I) hoặc dẫn xuất N-oxit, đồng phân riêng lẻ và hỗn hợp các đồng phân của nó, hoặc muối dược dụng của nó, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược thích hợp.

Sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) và dẫn xuất N-oxit, dẫn xuất tiền chất, dẫn xuất được bảo vệ, đồng phân riêng lẻ và hỗn hợp các đồng phân của nó, và muối dược dụng của nó.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1: Giản đồ nhiễu xạ bột tia X (sử dụng nguồn đồng (lambda = 1,54A) để đo) với chế phẩm phân tán rắn vô định hình trong Ví dụ 9 (xem Ví dụ 41) có lượng nạp 25% là hợp chất Ví dụ 9 với PVP VA64 (37,5%) và Pharmacoat 603 (37,5%).

Fig.2: Đồ thị chứng minh hoạt tính chống khối u phụ thuộc liều trên động vật với khối ghép khác loại KCL-22 dưới da được sử dụng hằng ngày hợp chất Ví dụ 9.

Fig.3: Đồ thị thể hiện hiệu quả điều trị khối u kháng nilotinib. Các tế bào KCL-22 được phát triển ở dạng khối ghép dưới da và bốn con vật được cho dùng Nilotinib BID liều 75mg/kg (hai lần mỗi ngày). Khi các khối u xuất hiện sự kháng với việc điều trị bằng Nilotinib, liều được thay đổi thành 30mg/kg hợp chất Ví dụ 9 BID. Việc điều trị các khối u kháng nilotinib bằng hợp chất Ví dụ 9 dẫn đến sự đẩy lùi các khối u. Mỗi đường là một con vật riêng biệt.

Fig.4: Đồ thị thể hiện hiệu quả điều trị khối u. Động vật với các khối ghép KCL-22 dưới da được cho dùng liều hỗn hợp 30mg/kg hợp chất Ví dụ 9 BID và 75mg/kg hợp chất Nilotinib BID. Mỗi đường là một con vật riêng biệt. Quan sát thấy việc đẩy lùi hoàn toàn khối u ở tất cả động vật và được duy trì đến khi kết thúc nghiên cứu.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

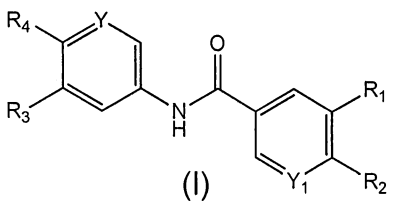
"Alkyl" là để chỉ các gốc hydrocacbon phân nhánh hoặc không phân nhánh có từ 1 đến 7 nguyên tử cacbon (C_{1-7}alkyl), hoặc từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon (C_{1-4}alkyl). Ví dụ đại diện của alkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, metyl, etyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, iso-butyl, tert-butyl, n-pentyl, isopentyl, neopentyl, n-hexyl, 3-metylhexyl, 2,2-dimetylpentyl, 2,3-dimetylpentyl, n-heptyl, n-octyl, n-nonyl, n-dexyl và tương tự. Alkyl thế là nhóm alkyl chứa một hoặc nhiều, như một, hai hoặc ba phần tử thế được chọn từ halogen, nhóm hydroxy hoặc alkoxy. Alkyl được thế halo và alkoxy được thế halo, có thể hoặc là mạch thẳng hoặc phân nhánh và bao gồm, metoxy, etoxy, diflometyl, triflometyl, pentafloetyl, diflometoxy, triflometoxy, và tương tự.

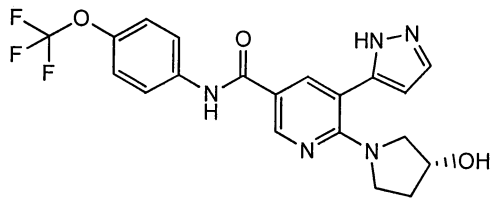
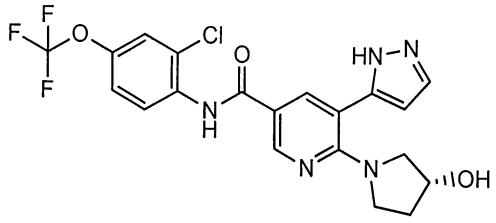
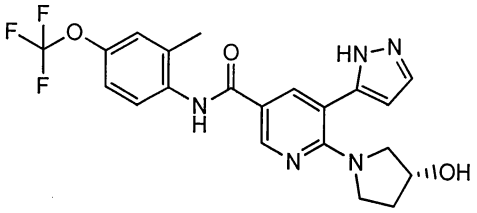
"Aryl" có nghĩa là nhân thơm đơn vòng hoặc hai vòng ngưng tụ cùng nhau chứa từ sáu đến mười nguyên tử cacbon trong vòng. Ví dụ, aryl có thể là phenyl hoặc naphtyl, tốt hơn là phenyl. "Arylen" có nghĩa là gốc hóa trị hai có nguồn gốc từ nhóm aryl.

"BCR-ABL1" là để chỉ protein ngưng tụ tạo ra từ exon tận cùng N của gen BCR (breakpoint cluster region) và phần chính tận cùng C (exon 2–11) của gen Abelson (ABL1). Gen sao chép dung hợp chung nhất mã hóa protein 210-kDa (p210 BCR-ABL1), mặc dù các đoạn gen sao chép hiếm hơn mã hóa protein 190-kDa (p190 BCR-ABL1) và protein 230-kDa (p230 BCR-ABL1). Các trình tự ABL1 của các protein này chứa một miền ABL1 tyrosin kinaza được điều hòa chặt chẽ trong protein kiểu dại, nhưng được hoạt hóa theo cấu trúc trong các protein dung hợp BCR-ABL1. Tyrosin kinaza không được điều hòa tương tác với nhiều con đường truyền tín hiệu tế bào dẫn đến sự biến nạp và sự tăng sinh không điều hòa của các tế bào.

"Gen đột biến BCR-ABL1" để chỉ nhiều đột biến vị trí đơn trong BCR-ABL1 bao gồm: Glu255→Lysin, Glu255→Valin, Thr315→Isoleuxin, Met244→Val, Phe317→Leu, Leu248→Val, Met343→Thr, Gly250→Ala, Met351→Thr, Gly250→Glu, Glu355→Gly, Gln252→His, Phe358→Ala, Gln252→Arg, Phe359→Val, Tyr253→His, Val379→Ile, Tyr253→Phe, Phe382→Leu, Glu255→Lys, Leu387→Met, Glu255→Val, His396→Pro, Phe311→Ile, His396→Arg, Phe311→Leu, Ser417→Tyr, Thr315→Ile, Glu459→Lys và Phe486→Ser.

Hợp chất theo sáng chế là nhạy cảm với sự thế trên vòng được thế R_3/R_4 ở vị trí ortho với điểm gắn của nhóm NHC(O). So sánh, ví dụ, các hợp chất có công thức (I) sau. Giá trị IC_{50} của hợp chất Ví dụ 2 là 1nM so với chất thế clo hoặc metyl lần lượt có giá trị IC_{50} = 1,6 và 1,8μM:

 (I) Hợp chất có công thức (I)	Thử nghiệm Caliper ABL1 (64-515) IC_{50} [μM]

 Ví dụ 2	0,001
	1,6
	1,8

"Heteroaryl" là như định nghĩa đối với aryl nêu trên trong đó một hoặc nhiều thành phần trong vòng là dị nguyên tử. Ví dụ heteroaryl từ 5 đến 8 cạnh có tối thiểu 5 thành phần trong vòng được chọn từ cacbon, nitơ, oxy và lưu huỳnh. Do đó, heteroaryl từ 5 đến 8 cạnh bao gồm pyridyl, indolyl, indazolyl, quinoxalinyl, quinolinyl, benzofuranyl, benzopyranyl, benzothiopyranyl, benzo[1,3]dioxol, imidazolyl, benzo-imidazolyl, pyrimidinyl, furanyl, oxazolyl, isoxazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, thienyl, v.v.

"Xycloalkyl" có nghĩa là nhân bão hòa, đơn vòng, hai vòng ngưng tụ hoặc đa vòng bắc cầu cùng chứa một số nguyên tử trong vòng được nêu rõ. Ví dụ, C_{3-10}xycloalkyl bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, v.v. Xycloalkyl không bão hòa một phần có nghĩa là xycloalkyl như được nêu trên có ít nhất một liên kết là liên kết đôi.

"Heteroxycloalkyl" có nghĩa là xycloalkyl, như xác định trong sáng chế, với điều kiện là một hoặc nhiều cacbon trong vòng đã nêu, được thay thế bởi gốc được chọn từ -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O) - hoặc -S(O)2-, trong đó R là hydro, C1-

4alkyl hoặc nhóm bảo vệ nitơ (ví dụ, carbobenzyloxy, p-metoxybenzyl cacbonyl, t-butyyoxycacbonyl, axetyl, benzoyl, benzyl, p-metoxy-benzyl, p-metoxy-phenyl, 3,4-dimetoxybenzyl, và tương tự). Ví dụ, heteroxycloalkyl 3 đến 8 cạnh bao gồm morpholino, pyrolidinyl, pyrolidinyl-2-on, piperazinyl, piperidinyl, piperidinylon, 1,4-dioxa-8-aza-spiro[4.5]dec-8-yl, thiomorpholino, sulfanomorpholino, sulfonomorpholino, v.v.

"Halogen" (hoặc halo) tốt hơn là là clo hoặc flo, nhưng cũng có thể là brom hoặc iod.

GLEEVEC® (imatinib mesylat) được chỉ định cho điều trị cho các bệnh nhân có khối u mô đệm đường tiêu hóa dương tính với KIT (CD117) không thể phẫu thuật và/hoặc di căn ác tính (GIST). Nó cũng được chỉ định để điều trị cho các bệnh nhân trưởng thành sau khi hoàn thành đại phẫu thuật bệnh GIST dương tính với KIT (CD117). Nó cũng được chỉ định để điều trị cho người trưởng thành mới được chẩn đoán và các bệnh nhi mắc bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính Philadelphia dương tính với nhiễm sắc thể (Ph+ CML) ở pha mãn tính và các bệnh nhân mắc Ph+ CML trong cơn bùng phát (BC), pha tăng tốc (AP), hoặc trong pha mãn tính (CP) sau khi thất bại với liệu pháp interferon-alpha. Nó cũng được sử dụng làm thuốc hướng đích để điều trị các rối loạn hiếm sau đây với lựa chọn điều trị có hạn chế: bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính Philadelphia dương tính với nhiễm sắc thể (Ph+ ALL) tái phát hoặc dai dẳng; bệnh loạn sản tủy xương/bệnh tăng sinh tủy xương (MDS/MPD-myelodysplastic/myeloproliferative disease) đi cùng với sự bố trí lại gen thụ thể yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu (PDGFR- platelet-derived growth factor receptor); bệnh u tế bào bón hệ thống (ASM - aggressive systemic mastocytosis) không có đột biến D816V c-KIT hoặc có trạng thái đột biến c-KIT chưa được biết rõ; hội chứng ưa eosin quá mức/bệnh bạch cầu ưa eosin mãn tính (HES/CEL) với kinaza dung hợp FIP1L1-PDGFRα (phân tích đột biến hoặc chứng minh FISH về sự xóa alen CHIC2) và cho bệnh nhân mắc HES và/hoặc CEL có kinaza dung hợp FIP1L1-PDGFRα âm tính hoặc chưa rõ; và không thể phẫu thuật, tái phát, và/hoặc sacom bì xơ lồi (DFSP) di căn.

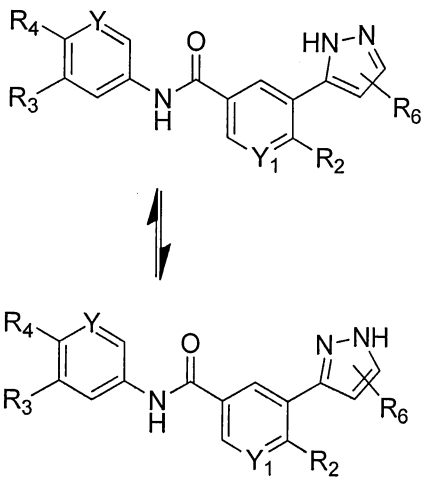
TASIGNA® (nilotinib) được chỉ định để điều trị cho bệnh nhân trưởng thành mắc bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính dương tính với nhiễm sắc thể Philadelphia (Ph+ CML) mới chẩn đoán trong pha mãn tính. Nó có thể được sử dụng để điều trị cho

người trưởng thành đã mắc bệnh không còn đáp ứng tích cực với, hoặc đã không còn dung nạp phương pháp điều trị khác, bao gồm imatinib (GLEEVEC®), hoặc đã sử dụng các phương pháp điều trị khác, bao gồm imatinib (GLEEVEC) nhưng không thể dung nạp chúng.

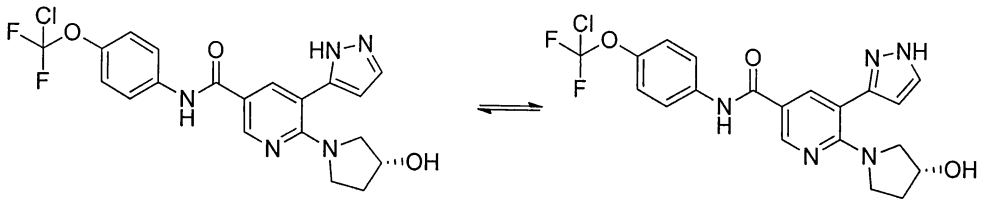
SPRYCEL® (dasatinib) là một thuốc kê đơn sử dụng để điều trị cho người trưởng thành mắc mới được chẩn đoán bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (Ph+) dương tính với nhiễm sắc thể Philadelphia (CML) mới được chẩn đoán ở pha mãn tính và để điều trị cho người trưởng thành không còn đáp ứng tính cực hoặc không dung nạp với các phương pháp điều trị khác, cũng như với các bệnh nhân mắc ALL.

BOSULIF® (Bosutinib) là thuốc kê đơn sử dụng để điều trị cho bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (Ph+) dương tính với nhiễm sắc thể Philadelphia (CML) mới được chẩn đoán ở pha mãn tính và để điều trị cho người trưởng thành không có đáp ứng tính cực hoặc không dung nạp với các phương pháp điều trị khác, cũng như bệnh nhân mắc ALL.

Hợp chất có công thức (I) có thể có nhiều dạng đồng phân khác nhau. Ví dụ, nguyên tử cacbon không đối xứng có thể có trong cấu hình (R), (S) hoặc (R,S), tốt hơn là ở cấu hình (R) hoặc (S). Phần tử thế ở liên kết đôi hoặc đặc biệt là ở nhân có thể có ở dạng cis- (= Z-) hoặc trans (= E-). Do đó, hợp chất này ở dạng hỗn hợp các đồng phân hoặc tốt hơn là các đồng phân tinh khiết, tốt hơn là các chất đồng phân không đối quang hoặc đồng phân đối ảnh tinh khiết. Hợp chất có công thức (I) sau sẽ tồn tại ở dạng tautome:



Để minh họa cho hiện tượng tautome hóa bằng các ví dụ cụ thể sau, (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (cấu trúc bên phải, sau đây) là tautome của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-3-yl)nicotinamit (cấu trúc bên trái, sau đây) và ngược lại:



Khi dạng số nhiều (ví dụ, các hợp chất, các muối) được sử dụng, nó bao gồm dạng số ít (ví dụ một hợp chất riêng lẻ, một muối riêng lẻ). "Một hợp chất" không loại trừ (ví dụ trong dược phẩm) việc cho nhiều hơn một hợp chất có công thức (I) (hoặc muối của nó), từ "một" chỉ đơn giản để chỉ một vật thể xác định. Do đó, "một" tốt hơn là có thể được xem là "một hoặc nhiều", hơn là cách khác được hiểu là "một".

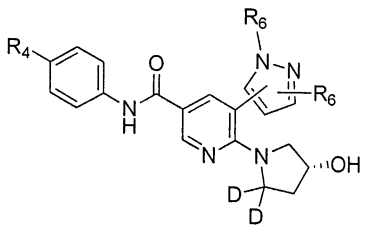
Thuật ngữ "và/hoặc N-oxit của nó, tautome của nó và/hoặc muối của nó (tốt hơn là muối dươc dụng)" cụ thể có nghĩa là hợp chất có công thức (I) có thể ở dạng hoặc hỗn hợp với N-oxit của nó, là tautome (ví dụ thuộc keto-enol, trong hiện tượng tautome hóa lactam-lactim, axit amit-imidic hoặc enamine-imin) hoặc trong hỗn hợp với tautome của nó (ví dụ phản ứng đương lượng gây ra), hoặc là muối của hợp chất có công thức (I) và/hoặc có dạng bất kỳ này hoặc hỗn hợp chứa hai hoặc nhiều dạng này.

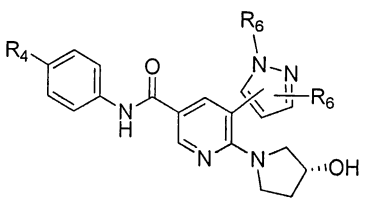
Công thức bất kỳ nêu trong đây được dự tính là thể hiện dạng không được đánh dấu bất kỳ cũng như dạng được đánh dấu đồng vị của hợp chất. Hợp chất được đánh dấu đồng vị có cấu trúc được mô tả bởi công thức nêu trong đây ngoại trừ việc một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bởi một nguyên tử có khối lượng phân tử hoặc số khối đã chọn. Ví dụ về các đồng vị có thể đưa vào trong hợp chất theo sáng chế lần lượt bao gồm đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo, và clo, như ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{123}I, ^{124}I, ^{125}I. Sáng chế bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị khác nhau như xác định trong đây, ví dụ các hợp chất mà đồng vị hoạt động phóng xạ được đưa vào trong đó, như ^{3}H và ^{14}C, hoặc các hợp chất mà đồng vị không hoạt động phóng xạ được đưa vào trong đó, như ^{2}H và ^{13}C. Các hợp

chất được đánh dấu đồng vị là hữu dụng trong các nghiên cứu chuyển hóa (với ^{14}C), các nghiên cứu động học của phản ứng (với, ví dụ ^{2}H hoặc ^{3}H), các kỹ thuật phát hiện hoặc ghi ảnh, như chụp positon cắt lớp (PET) hoặc chụp cắt lớp bằng bức xạ đơn photon (SPECT) bao gồm các thử nghiệm phân bố dược chất hoặc cơ chất trong mô, hoặc trong phương pháp điều trị phóng xạ cho các bệnh nhân. Cụ thể, hợp chất được đánh dấu ^{18}F có thể đặc biệt được mong muốn cho các nghiên cứu PET hoặc SPECT. Hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế nói chung có thể được điều chế bởi các kỹ thuật thông dụng đã biết rõ với các chuyên gia trong lĩnh vực này hoặc bởi các quy trình tương tự như được mô tả trong phần Ví dụ sử dụng các thuốc thử được đánh dấu đồng vị thích hợp.

Hơn nữa, việc thế bởi đồng vị nặng, cụ thể đơtơri (tức là, ^{2}H hoặc D) có thể mang lại một số lợi ích điều trị do sự ổn định trong chuyển hóa cao hơn, ví dụ tăng thời gian bán thải *in vivo* hoặc giảm yêu cầu về liều hoặc cải thiện chỉ số điều trị. Hiểu rằng đơtơri trong bản mô tả được coi là một phần tử thế của hợp chất theo sáng chế. Hàm lượng của đồng vị nặng, cụ thể là đơtơri, có thể được xác định bởi hệ số làm giàu đồng vị. Thuật ngữ "hệ số làm giàu đồng vị" như được sử dụng trong đây có nghĩa là tỷ số giữa độ giàu đồng vị và độ giàu tự nhiên của một đồng vị cụ thể. Nếu phần tử thế trong hợp chất theo được ký hiệu là đơtơri, hợp chất này có hệ số làm giàu đồng vị với mỗi nguyên tử đơtơri atom được thiết kế ít nhất là 3500 (52,5% đơtơri đưa vào tại mỗi nguyên tử đơtơri được thiết kế), ít nhất 4000 (60% đơtơri đưa vào), ít nhất 4500 (67,5% đơtơri đưa vào), ít nhất 5000 (75% đơtơri đưa vào), ít nhất 5500 (82,5% đơtơri đưa vào), ít nhất 6000 (90% đơtơri đưa vào), ít nhất 6333,3 (95% đơtơri đưa vào), ít nhất 6466,7 (97% đơtơri đưa vào), ít nhất 6600 (99% đơtơri đưa vào), hoặc ít nhất 6633,3 (99,5% đơtơri đưa vào).

Ví dụ, hợp chất có công thức Ib, nêu trong đây trong đó R_3 là hydro và Y là CH, có thể đưa đơtơri vào trên nhân pyrolidinyl như trình bày:



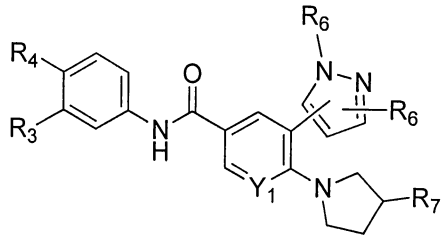


Dạng đơtơri hóa ít có xu hướng biến nạp chuyển hóa (bên trái, ở trên) so với dạng không đơtơri hóa (bên phải, ở trên).

Mô tả các phương án của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất có hoạt tính ức chế tiềm năng BCR-ABL1 hoặc gen đột biến của BCR-ABL1 thông qua vị trí gắn kết myristoyl dị lập thể.

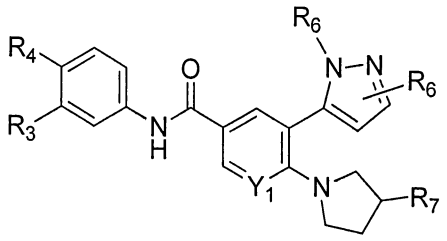
Theo một phương án, đối với hợp chất theo sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ib):



(Ib)

trong đó: R_3 được chọn từ hydro và halo; R_4 được chọn từ $-SF_5$ và $-Y_2-CF_2-Y_3$; R_6 khi liên kết với nitơ của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, metyl, hydroxy-etyl, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; và R_6 khi liên kết với nguyên tử cacbon của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl; Y_1 được chọn từ CH và N; Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$; Y_3 được chọn từ hydro, flo, clo, metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ic):



(Ic)

trong đó: R_3 được chọn từ hydro và halo; R_4 được chọn từ $–SF_5$ và $–Y_2–CF_2–Y_3$; R_6 khi liên kết với nitơ của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, metyl, hydroxy-etyl, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; và R_6 khi liên kết với nguyên tử cacbon của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl; Y_1 được chọn từ CH và N; Y_2 được chọn từ CF2, O và S(O)0-2; Y_3 được chọn từ hydro, flo, clo, metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R_1 là pyrazolyl; trong đó pyrazolyl này không được thế hoặc được thế bởi từ 1 đến 2 nhóm R_6.

Theo một phương án khác, R_1 là pyrazolyl không được thế.

Theo một phương án khác, R_1 là pyrazolyl được thế bởi một nhóm R_6.

Theo một phương án khác, R_1 là pyrazolyl được thế bởi hai nhóm R_6.

Theo phương án khác, R_2 là pyrolidin-1-yl được thế bởi một nhóm R_7.

Theo phương án khác, Y được chọn từ CH và N.

Theo một phương án khác, Y là N.

Theo một phương án khác, Y là CH.

Theo phương án khác, Y1 được chọn từ CH và N.

Theo một phương án khác, Y_1 là N.

Theo một phương án khác, Y_1 là CH.

Theo phương án khác nữa, hợp chất bất kỳ có công thức (I), (Ib) hoặc (Ic), hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án khác, R_3 được chọn từ hydro và halo.

Theo phương án khác, R_4 được chọn từ $–SF_5$ và $–Y_2–CF_2–Y_3$.

Theo một phương án khác, R_4 là clodiflometoxy.

Theo một phương án khác, R_4 là triflometoxy.

Theo phương án khác, R_6 tại mỗi vị trí độc lập được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl.

Theo một phương án khác, R_6, khi liên kết với nitơ của nhân pyrazolyl, được chọn từ hydro, metyl, hydroxy-etyl, flo-etyl, etyl và xyclopropyl.

Theo một phương án khác, R_6, khi liên kết với nguyên tử cacbon của nhân pyrazolyl, được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl.

Theo phương án khác, R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl.

Theo phương án khác, Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$.

Theo một phương án khác, Y_2 là O.

Theo một phương án khác, Y_2 là CF_2.

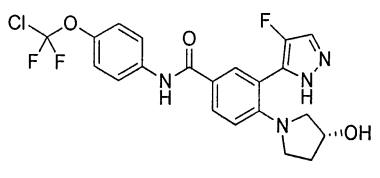
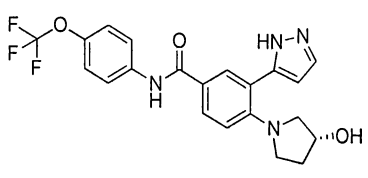
Theo một phương án khác, Y_2 là $S(O)_{0-2}$.

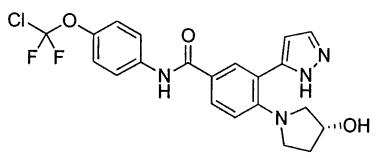
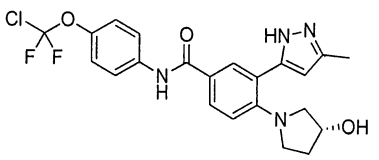
Theo phương án khác, Y_3 được chọn từ hydro, clo, flo, metyl, diflometyl và triflometyl.

Theo một phương án khác, Y_3 là clo.

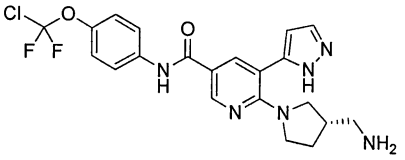
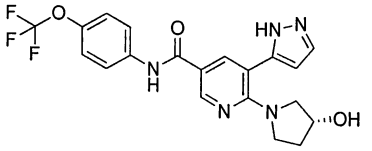
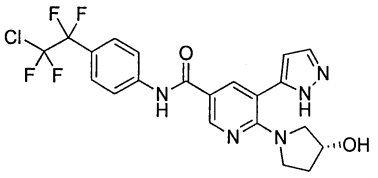
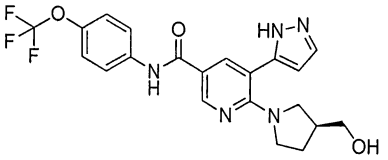
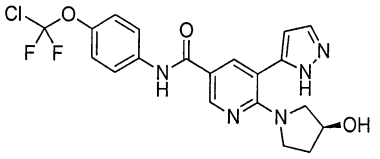
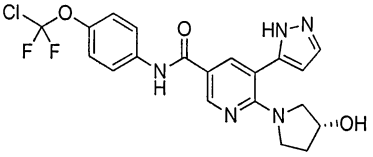
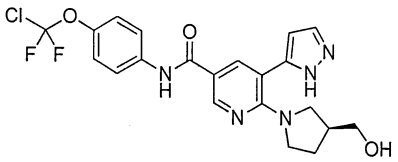
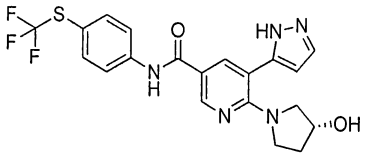
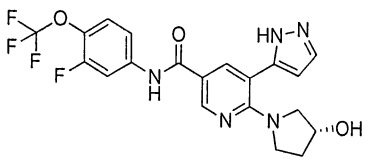
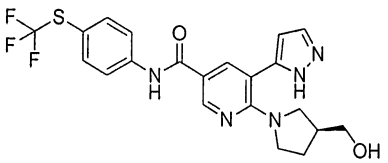
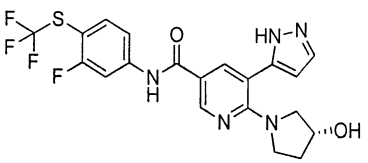
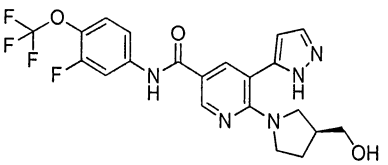
Theo một phương án khác, Y_3 là flo.

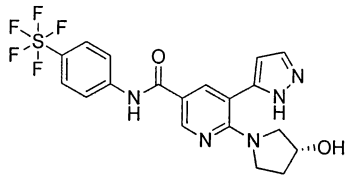
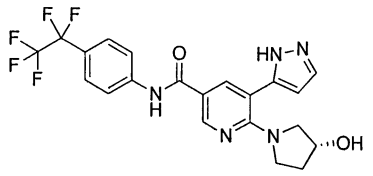
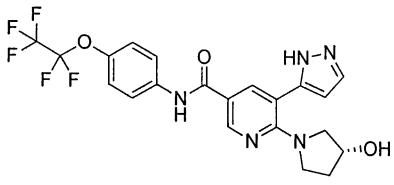
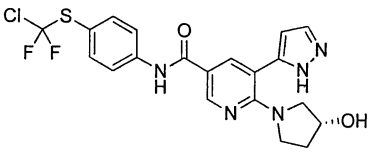
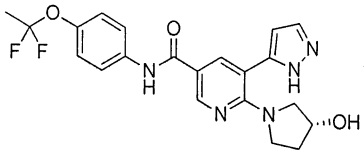
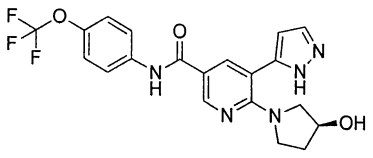
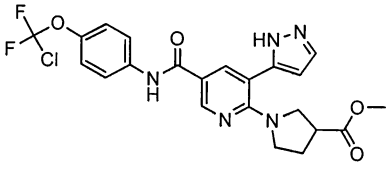
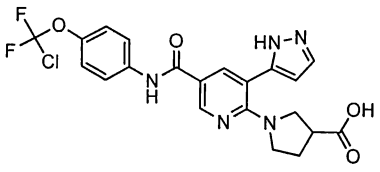
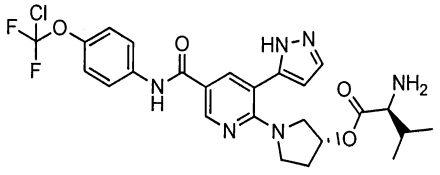
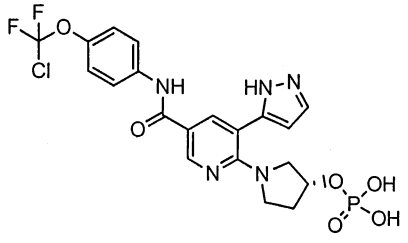
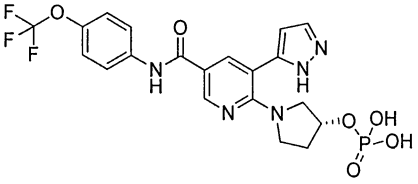
Theo một phương án khác, hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó được chọn từ:

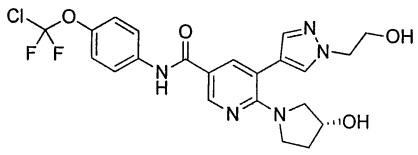
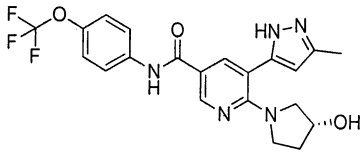
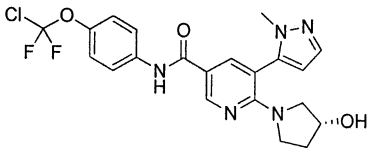
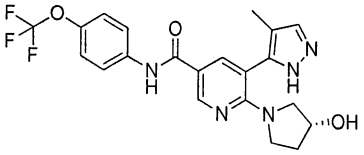
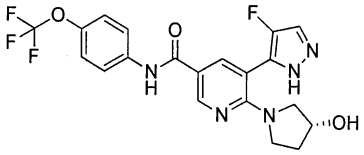
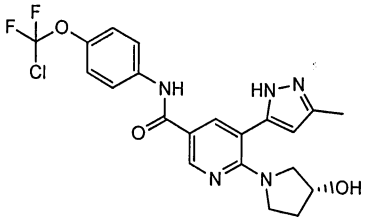
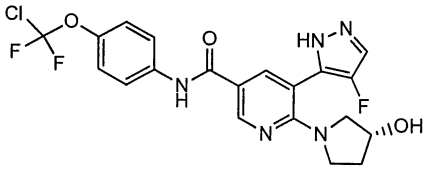
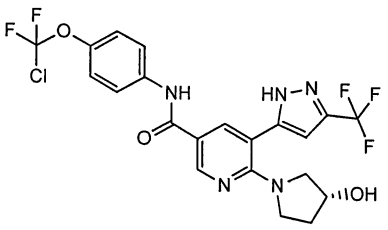
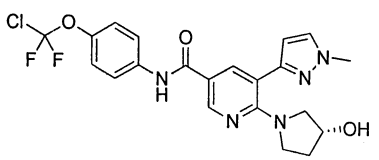
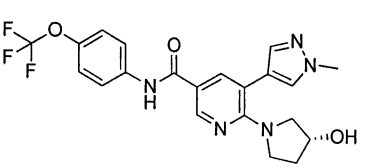
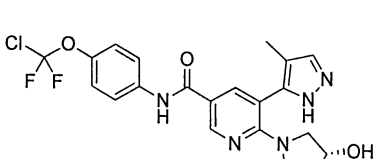
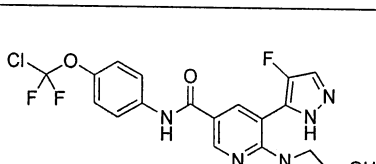
	

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, được chọn từ:

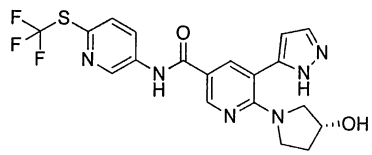
	
	
	
	
	
	

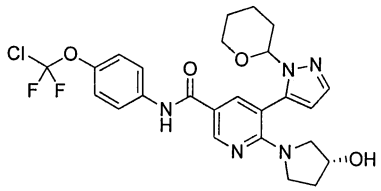
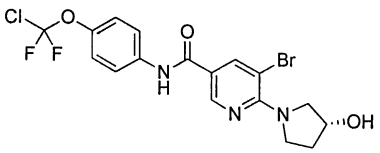
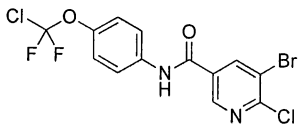
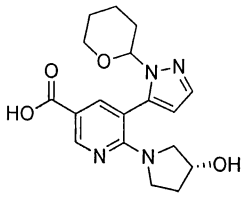
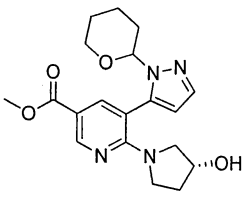
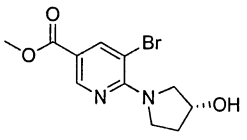
Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, được chọn từ:

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, là:

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ:

Dược lý và tính ứng dụng

Dựa trên các nghiên cứu ức chế được mô tả trong phần "Thử nghiệm" sau đây, hợp chất có công thức (I) theo sáng chế thể hiện hiệu lực điều trị cụ thể chống lại rối loạn bệnh phụ thuộc vào hoạt tính BCR-ABL1. Cụ thể, hợp chất theo sáng chế ức chế vị trí gắn kết dị lập thể hoặc myristoyl của BCR-ABL1 (bao gồm kiểu dại BCR-ABL1 và/hoặc kiểu đột biến của nó).

Việc kết hợp chất ức ATP cạnh tranh của BCR-ABL1 với chất ức chế dị lập thể của BCR-ABL1 làm chậm tính kháng thu được ở tế bào BCR-ABL1+KCL-22, *in vitro*. Ngạc nhiên, các tế bào BCR-ABL1+KCL-22 được điều trị mỗi lần 3-4 ngày bằng hợp chất theo sáng chế thể hiện tính kháng thu được sau khoảng 28 ngày trong khi các tế bào tương tự điều trị mỗi 3-4 ngày bằng nilotinib hoặc dasatinib thể hiện

tính kháng thu được chỉ sau 18-21 ngày. Thậm chí ngạc nhiên hơn, khi tế bào BCR-ABL1+KCL-22 được điều trị mỗi 3-4 ngày bằng hỗn hợp chứa hợp chất theo sáng chế và hoặc là nilotinib hoặc là dasatinib, không quan sát thấy tính kháng thu được trong ít nhất 60 ngày đầu tiên. Do đó, hợp chất theo sáng chế gắn kết với vị trí gắn kết myristoyl, kết hợp với chất ức chế BCR-ABL1 gắn kết với vị trí gắn kết ATP là đặc biệt quan trọng để điều trị bệnh tăng sinh có vai trò điều hòa tăng hoạt tính ABL1 kinaza, như trong trường hợp protein dung hợp BCR-ABL1 trong CML và tập hợp nhỏ của các bệnh máu ác tính khác như ALL và AML.

Các tế bào ung thư biểu mô ứng dụng tế bào hình thành mấu lồi đầu tiên để phân hủy chất nền ngoại bào trong khi xâm lấn khối u và di căn. Hoạt tính ABL kinaza là cần có để hình thành tế bào hình thành mấu lồi đầu tiên do SRC, điều hòa các giai đoạn riêng biệt của việc kết hợp và chức năng tế bào hình thành mấu lồi đầu tiên. Hợp chất theo sáng chế, do đó, là chất ức chế ABL1, có khả năng sử dụng làm phương pháp điều trị bệnh ung thư biểu mô xâm lấn di căn.

Chất ức chế dị lập thể của ABL1 kinaza có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư não: bao gồm u nguyên bào đệm là bệnh khối u não tự phát ác tính thông thường nhất & xâm lấn nhất, trong đó sự biểu hiện ABL1 là có thể phát hiện về mặt mô hóa học trong một tập hợp bệnh nhân (Haberler C, Gelpi E, Marosi C, Rössler K, Birner P, Budka H, Hainfellner JA. Immunohistochemical analysis of platelet-derived growth factor receptor-alpha, -beta, c-KIT, ABL1, and ABL2 proteins in glioblastoma: possible implications for patient selection for imatinib mesylate therapy. J Neurooncol. 2006 Jan;76(2):105-9). Tuy nhiên, các thử nghiệm lâm sàng với Gleevec® thất bại ở các bệnh có u nguyên bào đệm (Reardon DA, Dresemanng, Taillibert S, Campone M, van den Bent M, Clement P, Blomquist E, Gordower L, Schultz H, Raizer J, Hau P, Easaw J, Gil M, Tonn J, Gijtenbeek A, Schlegel U, Bergstrom P, Green S, Weir A, Nikolova Z. Multicentre phase II studies evaluating imatinib plus hydroxyurea in patients with progressive glioblastoma. Br J Cancer. 2009 Dec 15;101(12):1995-2004; Razis E, Selviaridis P, Labropoulos S, Norris JL, Zhu MJ, Song DD, Kalebic T, Torrens M, Kalogera-Fountzila A, Karkavelasg, Karanastasi S, Fletcher JA, Fountzilas G. Phase II study of neoadjuvant imatinib in glioblastoma: evaluation of clinical and molecular effects of the treatment. Clin Cancer Res. 2009 Oct 1;15(19):6258-66; Dresemann G. Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma

multiforme: a patient series. Ann Oncol. 2005 Oct;16(10):1702-8), có thể do sự tiếp xúc của dược chất trong khối u não kém và thiếu hàng rào máu-não bị nhiễu (Holdhoff et al, J Neurooncol. 2010;97(2):241-5). Sự vận chuyển của Gleevec® đi qua hàng rào máu não thực tế là chỉ ra trong các nghiên cứu tiền lâm sàng là bị hạn chế bởi các chất vận chuyển dòng hoạt động như P-glycoprotein. Đây cũng là trường hợp của dasatinib (Chen Y, Agarwal S, Shaik NM, Chen C, Yang Z, Elmquist WF. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein influence brain distribution of dasatinib. J Pharmacol Exp Ther. 2009 Sep;330(3):956-63). Đã biết việc chiếu xạ là để tăng cường sự mở hàng rào máu não. Trong các mô hình chuột, đáp ứng đa dạng của u nguyên bào đệm với Gleevec® sẽ tỷ lệ với sự tăng độ trễ phát triển khối u và tỷ lệ sống khi sử dụng Gleevec® kết hợp với chiếu xạ hằng ngày (Geng L, Shinohara ET, Kim D, Tan J, Osusky K, Shyr Y, Hallahan DE. STI571 (Gleevec) improves tumor growth delay and survival in irradiated mouse models of glioblastoma. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006 Jan 1;64(1):263-71). Do đó, chất ức chế ABL1 mới có mức tiếp xúc não cao là liệu pháp rắn cho bệnh u nguyên bào đệm và các bệnh ung thư não khác.

CNS-CML: Ở một số bệnh nhân CML được điều trị bằng Gleevec®, cơn bùng phát CNS và suy CNS đã được báo cáo và có thể được giải thích là do sự tiếp xúc não kém với Gleevec®. (Kim HJ, Jung CW, Kim K, Ahn JS, Kim WS, Park K, Ko YH, Kang WK, Park K. Isolated blast crisis in CNS in a patient with chronic myelogenous leukemia maintaining major cytogenetic response after imatinib. J Clin Oncol. 2006 Aug 20;24(24):4028-9; Radhika N, Minakshi M, Rajesh M, Manas BR, Deepak Kumar M.Central nervous system blast crisis in chronic myeloid leukemia on imatinib mesylate therapy: report of two cases. Indian J Hematol Blood Transfus. 2011 Mar;27(1):51-4). Thực tế, ở bệnh nhân CML, nồng độ Gleevec® trên thực tế thấp hơn nhiều (~100 lần) ở trong CNS so với trong huyết tương (Leis JF, Stepan DE, Curtin PT, Ford JM, Peng B, Schubach S, Druker BJ, Maziarz RT. Central nervous system failure in patients with chronic myelogenous leukemia lymphoid blast crisis and Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib (STI-571). Leuk Lymphoma. 2004 Apr;45(4):695-8). Do đó, chất ức chế ABL1 theo sáng chế thể hiện mức tiếp xúc với não cao sẽ là phương pháp có giá trị để phát triển điều trị bệnh CML bao gồm CNS-CML.

Hợp chất theo sáng chế có thể hữu dụng trong điều trị các virut. Ví dụ, các bệnh nhiễm virut có thể là do hoạt tính ABL1 kinaza, như trong trường hợp virut đậu mùa và virut Ebola. Gleevec® và Tasigna® được chỉ ra là làm ngừng sự giải phóng các hạt virut Ebola từ tế bào nhiễm, in vitro (Kalman, Daniel; Bornmann, William Gerard, Methods of use of non-ATP competitive tyrosin kinaza inhibitor to treat pathogenic infection, PCT Int. Appl. 2007, WO 2007002441; Garcia Mayra; Cooper Arik; Shi Wei; Bornmann William; Carrion Ricardo; Kalman Daniel; Nabel Gary J. Productive Replication of Ebola Virus Is Regulated by the ABL1 Tyrosin kinaza. Science translational medicine 2012;4:123ra24). Do đó, hợp chất theo sáng chế ức chế ABL1 kinaza, có thể được hy vọng là làm giảm khả năng sao chép của nguyên nhân bệnh.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu dụng để điều trị chứng thoái hóa thần kinh. Trong khi ABL1 tyrosin kinaza tự nhiên vẫn giữ được tình trạng không hoạt động tương đối trong não người trưởng thành khỏe mạnh, nó có thể được hoạt hóa trong não của bệnh nhân mắc bệnh CNS, bao gồm bệnh thoái hóa thần kinh như, bệnh Alzheimer (AD), bệnh Parkinson (AD), bệnh lú lẫn tiền đình thái dương (FTD), bệnh Picks, bệnh Niemann-Pick dạng C (NPC) và các bệnh thoái hóa, bệnh viêm và bệnh tự miễn, bệnh khác và bệnh lão hóa.

Bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh mãn tính thông dụng thứ hai với dạng bệnh di truyền dạng lặn của nhiễm sắc thể gia đình thông dụng nhất thường có nguyên nhân do gen đột biến trong E3 ubiquitin ligaza, parkin. Các nghiên cứu gần đây thể hiện rằng ABL1/ABL2 hoạt hóa được tìm thấy trong thể vân của bệnh nhân mắc bệnh Parkinson đơn phát. Đồng thời, parkin được tyrosin-phosphoryl hóa, gây mất ubiquitin ligaza của nó và hoạt tính bảo vệ tế bào được thể hiện bởi sự tích lũy chất parkin (Ko HS, Lee Y, Shin JH, Karuppagounder SS, Gadad BS, Koleske AJ, Pletnikova O, Troncoso JC, Dawson VL, Dawson TM. Phosphorylation by the c-Abl protein tyrosine kinase inhibits parkin's ubiquitination and protective function. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Sep 21;107(38):16691-6; Imam SZ, Zhou Q, Yamamoto A, Valente AJ, Ali SF, Bains M, Roberts JL, Kahle PJ, Clark RA, Li S. Novel regulation of parkin function through c-Abl-mediated tyrosine phosphoryl hóaion: implications for Parkinson's disease. J Neurosci. 2011 Jan 5;31(1):157-63). Hai nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng trong mô hình tế bào hoặc động vật mắc bệnh Parkinson, sự ức chế dược lý của ABL1 kinaza hoặc ABL1 gen ngăn cản hoàn toàn sự phosphoryl

hóa tyrosin của parkin và phục hồi hoạt tính E3 ligaza của nó và chức năng bảo vệ tế bào cả *in vitro* và *in vivo*. Các kết quả này chỉ ra rằng sự phosphoryl hóa tyrosin phụ thuộc vào ABL1 là sự biến đổi sau dịch mã cơ bản dẫn đến sự mất chức năng parkin và tiến trình bệnh của bệnh PD đơn phát. Do đó, khả năng hợp chất theo sáng chế ức chế vị trí gắn kết myristat của ABL1, có thể được hy vọng là mang đến cơ hội điều trị mới để ức chế sự phát triển bệnh của bệnh Parkinson.

Bệnh Alzheimer có đặc trưng ở hai dấu hiệu phân biệt chính: sự lắng đọng ngoại bào của amyloit-β gây độc thần kinh dẫn đến sự phát triển mảng bám amyloit, và sự tích lũy nội bào của các tau siêu phosphoryl hóa góp phần vào phát triển đám rối sợi thần kinh (NFT).

Mức amyloit-β bị giảm đi sau khi điều trị trong vỏ bằng Gleevec® trong não của mô hình chuột lang kiểu dại và trong mô hình tế bào (Netzer WJ, Dou F, Cai D, Veach D, Jean S, Li Y, Bornmann WG, Clarkson B, Xu H, Greengard P. Gleevec inhibits beta-amyloit production but not Notch cleavage. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Oct 14;100(21):12444-9). Nhóm tương tự gợi ý rằng Gleevec® đạt được hiệu quả giả mức amyloit-β- của nó thông qua cơ chế mới ngăn cản sự tương tác GSAP với cơ chất gamma-secretaza, APP-CTF (Heg, Luo W, Li P, Remmers C, Netzer WJ, Hendrick J, Bettayeb K, Flajolet M, Gorelick F, Wennogle LP, Greengard P. Gamma-secretaza activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease. Nature. 2010 Sep 2;467(7311):95-8). Trong nghiên cứu này, chỉ quan sát thấy hiệu quả ức chế GSAP/APP-CTF của Gleevec® ở các nồng độ micromol. Một nhóm khác chỉ ra rằng sự phosphoryl hóa tyrosin của miền nội bào của APP (tức là Tyr682) sẽ điều hòa quá trình xử lý APP sinh amyloit làm gia tăng sự hình thành amyloit-β *in vivo* (Barbagallo AP, Weldon R, Tamayev R, Zhou D, Giliberto L, Foreman O, D'Adamio L. Tyr(682) in the intracellular domain of APP regulates amyloitogenic APP processing in vivo. PLoS One. 2010 Nov 16;5(11):e15503). Các nghiên cứu khác chỉ ra rằng APP bị tyrosin-phosphoryl hóa trong tế bào biểu hiện dạng hoạt động cấu trúc của gen gây ung thư ABL1 (Zambrano N, Bruni P, Minopolig, Mosca R, Molino D, Russo C, Schettinig, Sudol M, Russo T. The beta-amyloit precursor protein APP is tyrosin-phosphorylated in cells expressing a constitutively active form of the Abl oncogene. J Biol Chem. 2001 Jun 8;276(23):19787-92). Các dữ liệu này cùng gợi ý về quá trình xử

lý APP sinh amyloit phụ thuộc vào ABL1 để tạo ra peptit amyloit-β độc tính và sau đó là mảng amyloit. Do đó, chất ức chế ABL1 được hy vọng là làm giảm sự hình thành mảng amyloit ở bệnh nhân Alzheimmer.

Tau đã thể hiện là được phosphoryl hóa bởi ABL1 kinaza ở các tyrosin 18, 197, 310, và 394 trong mô hình tế bào, và tau pY394 đã được chỉ ra là xuất hiện trong các tổn thương NFT trong não của bệnh nhân AD.

ABL1 được hoạt hóa trong não của bệnh nhân mắc bệnh Alzheimer như được chỉ ra bởi sự phosphoryl hóa của nó hoặc là ở Y412, một chất chỉ thị cho sự hoạt hóa, nó đồng thời chỉ thị cho sự thoái hóa không bào hạt, hoặc ở T735 đồng thời chỉ thị cho các tổn thương đặc trưng, mảng bám amyloit, đám rối sợi thần kinh (NFT) ngoài GVD. Amyloit-β và áp lực oxi hóa sẽ hoạt hóa ABL1 kinaza trong môi trường nơron và việc tiêm trong não peptit amyloit dạng sợi dẫn đến việc biểu hiện tăng lên của ABL1 và p73 hiệu ứng xuôi dòng. Chuột biến đổi gen (mô hình chuột APP/Swe của AD), thể hiện mức ABL1 cao hơn trong não của chúng và, khi chuột được điều trị bằng chất ức chế ABL1 Gleevec®, sự phosphoryl hóa tau giảm đi trong não của chúng. Mô hình chuột biến đổi gen biểu hiện ABL1 hoạt động chủ yếu trong cácnơron não trước thể hiện sự mất nơron, sự viêm thần kinh nặng, và sự phosphoryl hóa tyrosin của tau trong não (để xem xét, xem Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. J Mol Neurosci. 2011 Nov;45(3):445-52).

Dựa trên các kết quả trên, đã có các bằng chứng về vai trò của ABL1 kinaza trong nguyên nhân bệnh Alzheimer để gia tăng cả tổn thương, mảng bám amyloit và đám rối sợi thần kinh.

Hơn nữa, ABL1 đã hoạt hóa cũng có mặt trong các bệnh suy thoái thần kinh khác do protein tau, bên cạnh bệnh Alzheimer đơn phát mà có đột biến N279K và P301L trong não bệnh nhân mắc bệnh lú lẫn tiền đình thái dương, bệnh Pick, và bệnh sa sút trí tuệ Guam Parkinson (Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. J Mol Neurosci. 2011 Nov;45(3):445-52).

Do đó, hợp chất theo sáng chế, ức chế ABL1 trong CNS, là một phương pháp có giá trị để phát triển điều trị chống lại bệnh Alzheimer, cũng như các β-amyloitoza khác, như bệnh sa sút trí tuệ mạch và bệnh suy thoái thần kinh khác do protein tau, như bệnh lú lẫn tiền đình thái dương và bệnh Pick (bệnh sa sút trí tuệ trán-thái dương).

Bệnh Niemann-Pick kiểu C (NPC) là một bệnh nhiễm sắc thể thường dạng lặn nguy hiểm có đặc trưng bởi sự tích lũy cholesteol và glycosphingolipit tự do trong hệ nội thể-thể tiêu thể, và bởi sự chết nơron tăng dần cụ thể là của nơron tiểu não Purkinje. Ở mô hình chuột mắc NPC, ABL1 trước con đường gây chết tế bào theo chương trình, đích xuôi dòng cũng như gen đích p73 được biểu hiện trong tiểu não. Sự ức chế ABL1 bằng Gleevec® sẽ ngăn cản sự mất nơron Purkinje, cải thiện các triệu chứng thần kinh, và tăng tỷ lệ sống sót. Hiệu quả chống lại sự chết theo chương trình của Gleevec® có tương quan với mức mRNA giảm của gen đích tiền chất chết tế bào theo chương trình p73 (Alvarez AR, Klein A, Castro J, Cancino GI, Amigo J, Mosqueira M, Vargas LM, Yévenes LF, Bronfman FC, Zanlungo S. Imatinib therapy blocks cerebellar apoptosis and improves neurological symptoms in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. FASEB J. 2008 Oct;22(10):3617-27). Do đó, hợp chất theo sáng chế, bằng cách ức chế ABL1 kinaza, là một phương pháp có giá trị để phát triển việc điều trị chống lại các bệnh do con đường ABL1/p73 trước con đường gây chết tế bào theo chương trình, như NPC.

Trong các mô hình bệnh do prion, Gleevec® thể hiện các hiệu quả có lợi: Nó làm chậm sự xâm lấn thần kinh của prion do ức chế sự nhân lên của prion từ ngoại vi đến CNS (Yun SW, Ertmer A, Flechsig E, Gilch S, Riederer P, Gerlach M, Schätzl HM, Klein MA. The tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate delays prion neuroinvasion by inhibiting prion propagation in the periphery. J Neurovirol. 2007 Aug;13(4):328-37). Sự thiếu hụt Gleevec® và ABL1 gây thanh thải trong tế bào PrPSc ở các tế bào nhiễm prion (Ertmer A, Gilch S, Yun SW, Flechsig E, Klebl B, Stein-Gerlach M, Klein MA, Schätzl HM. The tyrosine kinase inhibitor STI571 induces cellular clearance of PrPSc in prion-infected cells. J Biol Chem. 2004 Oct 1;279(40):41918-27). Do đó, các chất ức chế ABL1 mới của sáng chế cũng là một phương pháp có giá trị để điều trị bệnh do prion như bệnh Creutzfeldt-Jacob.

Bệnh loạn dưỡng cơ tính lặn liên quan đến nhiễm sắc thể X Emery-Dreifuss là do các đột biến emerin, một protein màng-nhân có vai trò trong xây dựng nhân, điều hòa gen và dẫn truyền tín hiệu. Một nghiên cứu gần đây đã chỉ ra rằng emerin được tyrosin-phosphoryl hóa trực tiếp bởi ABL1 trong mô hình tế bào, và trạng thái phosphoryl hóa của emerin thay đổi sự gắn kết của emerin với các protein khác như BAF. Điều này, lần lượt, có thể giải thích do sự đặt sai chỗ của emerin đột biến từ

nhân đến các ngăn bào tương và do đó thay đổi hiệu ứng xuôi dòng và hợp nhất các con đường truyền tín hiệu ở phần vỏ nhân (Tifft KE, Bradbury KA, Wilson KL. Tyrosine phosphorylation of nuclear-membrane protein emerin by SRC, ABL1 and other kinases. J Cell Sci. 2009 Oct 15;122(Pt 20):3780-90). Sự thay đổi tương tác emerin-lamin trong cả kỳ nguyên phân và pha gian kỳ phù hợp là nguyên nhân bệnh của bệnh loạn dưỡng cơ. Ngoài ra, các kết quả từ nghiên cứu khác chứng minh rằng Gleevec® làm giảm chứng loạn dưỡng cơ xương ở chuột mdx (Huang P, Zhao XS, Fields M, Ransohoff RM, Zhou L. Imatinib attenuates skeletal muscle dystrophy in mdx mice. FASEB J. 2009 Aug;23(8):2539-48).

Do đó, các chất ức chế ABL1 mới theo sáng chế cũng là phương pháp điều trị để điều trị chứng loạn dưỡng cơ xương.

Hơn nữa, ABL1 kinaza đóng một vai trò trong bệnh nhiễm và áp lực oxy hóa, là hai cơ chế có liên quan đến một loạt các bệnh ở người nằm trong khoảng từ bệnh CNS cấp tính, như đột quỵ và chấn thương não hoặc chấn thương tủy sống, các bệnh CNS mãn tính, như bệnh Alzheimer, Parkinson, Huntington và bệnh thần kinh vận động, đến các bệnh viêm không phải CNS và bệnh tự miễn, như bệnh đái tháo đường, xơ phổi.

Ví dụ, Gleevec® ngăn cản chứng xơ hóa trong các mô hình tiền lâm sàng khác nhau của bệnh xơ cứng toàn thân và đẩy lùi chứng xơ hóa đã mắc (Akhmetshina A, Venalis P, Dees C, Busch N, Zwerina J, Schett G, Distler O, Distler JH. Treatment with imatinib prevents fibrosis in different preclinical models of systemic sclerosis and induces regression of established fibrosis. Arthritis Rheum. 2009 Jan;60(1):219-24) và nó thể hiện hiệu quả chống xơ hóa trong chứng xơ phổi do bleomyxin ở chuột (Aono Y, Nishioka Y, Inayama M, Ugai M, Kishi J, Uehara H, Izumi K, Sone S. Imatinib as a novel antifibrotic agent in bleomyxin-induced pulmonary fibrosis in mice. Am J Respir Crit Care Med. 2005 Jun 1;171(11):1279-85). Nghiên cứu khác chỉ ra rằng cả imatinib và nilotinib đều làm giảm các tổn thương phổi cấp tính do bleomyxin và bệnh xơ phổi ở chuột (Rhee CK, Lee SH, Yoon HK, Kim SC, Lee SY, Kwon SS, Kim YK, Kim KH, Kim TJ, Kim JW. Effect of nilotinib on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice. Respiration. 2011;82(3):273-87). Mặc dù trong các nghiên cứu này, các tác giả tập trung vào sự liên quan của cơ chế liên quan đến PDGFR, được nghiên cứu, trong nghiên cứu bởi Rhee et al. (Respiration.

2011;82(3):273-87), nilotinib là chất ức chế c-ABL có hiệu lực hơn imatinib thể hiện hiệu quả điều trị chống xơ hóa vượt trội, do đó làm tăng tính ứng dụng điều trị của chất ức chế c-ABL để điều trị bệnh cho người mắc bệnh viêm phổi. Trong một nghiên cứu khác, việc tiếp xúc của chuột với tình trạng tăng oxy làm tăng sự hoạt hóa ABL1 là đòi hỏi cần có để dynamin 2 phosphoryl hóa và tạo ra loại oxi hoạt động và chứng rò phổi (Singleton PA, Pendyala S, Gorshkova IA, Mambetsariev N, Moitra J, Garcia JG, Natarajan V. Dynamin 2 and c-Abl are novel regulators of hyperoxia-mediated NADPH oxidase activation and reactive oxygen species production in caveolin-enriched microdomains of the endothelium. J Biol Chem. 2009 Dec 11;284(50):34964-75).

Do đó, dữ liệu này chỉ ra rằng các chất ức chế c-ABL mới theo sáng chế có khả năng ứng dụng điều trị bệnh cho người mắc bệnh viêm phổi.

Sự hoạt hóa ABL1 bởi insulin, thông qua việc điều hòa đáp ứng FAK, có thể đóng vai trò quan trọng trong việc điều hướng sự truyền tín hiệu thụ thể chuyển hóa insulin nguyên phân so với chuyển hóa (Genua M, Pandinig, Cassarino MF, Messina RL, Frasca F. c-Abl and insulin receptor signalling. Vitam Horm. 2009;80:77-105). Các chất ức chế c-Abl như Gleevec® đã được thể hiện là đảo ngược bệnh đái tháo đường typ 1 ở chuột đái tháo đường không béo phì (Louvet C, Szot GL, Lang J, Lee MR, Martinier N, Bollag G, Zhu S, Weiss A, Bluestone JA. Tyrosine kinase inhibitors reverse type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Dec 2;105(48):18895-900). Sự cải thiện bệnh đái tháo đường bởi Gleevec® là giống với sự bất hoạt ABL1 mRNA thông qua siRNA (Hägerkvist R, Sandler S, Mokhtari D, Welsh N. Amelioration of diabetes by imatinib mesylate (Gleevec): role of beta-cell NF-kappaB activation and anti-apoptotic preconditioning. FASEB J. 2007 Feb;21(2):618-28).

Do đó, các chất ức chế ABL1 mới theo sáng chế có khả năng ứng dụng điều trị cho bệnh đái tháo đường ở người.

Chất ức chế ABL1 theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều liệu pháp điều trị đang có cho các bệnh trên: ví dụ chất ức chế ABL1 theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với Levodopa hoặc thuốc chứa L-DOPA khác hoặc chất chủ vận dopamin để điều trị bệnh Parkinson hoặc kết hợp với chất ức chế

cholinsteaza như viên nang Exelon hoặc thuốc cao dán qua da để điều trị bệnh Alzheimer.

Trong các bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML), sự chuyển đoạn nhiễm sắc thể cân bằng thuận nghịch trong tế bào mầm tạo huyết (HSC) sinh ra gen lai BCR-ABL1. Gen lai BCR-ABL1 sẽ mã hóa protein dung hợp BCR-ABL1 sinh khối u. Trong khi ABL1 mã hóa protein tyrosin kinaza được điều hòa chặt chẽ, là một thành phần đóng vai trò cơ bản trong điều hòa sự tăng sinh tế bào, kết dính và sự chết tế bào theo chương trình, thì gen dung hợp BCR-ABL1 mã hóa như là kinaza được hoạt hóa cấu trúc. Kinaza đã hoạt hóa này biến đổi các HSC để tạo ra phenotyp biểu hiện sự tăng sinh dòng vô tính không được điều hòa, làm giảm khả năng kết dính với chất đệm tủy xương và làm giảm đáp ứng chết tế bào theo chương trình đối với kích thích đột biến gen, dần dần gây ra các biến nạp ác tính hơn. Các bạch cầu hạt thu được không thể phát triển thành lympho bào trưởng thành và được giải phóng vào trong hệ tuần hoàn, dẫn đến sự suy giảm tế bào trưởng thành và làm tăng độ nhạy cảm với viêm nhiễm. Các chất ức chế ATP cạnh tranh của BCR-ABL1 đã được chứng minh là ngăn cản kinaza không hoạt hóa gây nguyên phân và các con đường chống sự chết tế bào theo chương trình (ví dụ, PI-3 kinaza và STAT5), dẫn đến sự chết tế bào phenotyp BCR-ABL1 và do đó mang lại một liệu pháp hiệu quả chống lại CML. Dòng tế bào KCL-22 (được mua từ DSMZ, Leibniz Institute, Germany) đã xác định từ dịch tràn màng phổi của phụ nữ 32 tuổi mắc CML dương tính với nhiễm sắc thể Philadelphia trong cơn bùng phát năm 1981, và đã được mô tả là chứa t(9;22) dẫn đến gen dung hợp BCR-ABL1 và thể đột biến p53. Dòng tế bào KCL-22 có thể được sử dụng trong các mô hình Xenograft để thể hiện hiệu quả *in vivo* của hợp chất theo sáng chế (xem mục Thử nghiệm, phần dưới). Hợp chất theo sáng chế, là chất ức chế BCR-ABL1, bao gồm gen đột biến của nó, do đó là đặc biệt thích hợp để điều trị các bệnh liên quan đến sự biểu hiện quá mức của nó, như bệnh bạch cầu ALL hoặc CML.

Hợp chất theo sáng chế đã được chứng minh là có hoạt tính chống khối u, *in vitro*: Hoạt tính chống khối u *in vitro* được kiểm tra, ví dụ sử dụng dòng tế bào bạch cầu như Ba/F3-BCR-ABL1, KCL-22, K-562, MEG-01, KYO-1, LAMA-84, KU812, EM-2, CML-T1, BV-173, hoặc ALL-SIL.

Hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm có thể được sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm việc sử dụng cho đối tượng cần điều trị lượng có hiệu quả của hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm.

Một tác nhân điều trị hỗ trợ có thể được sử dụng.

Tác nhân điều trị hỗ trợ có thể là là chất ức chế BCR-ABL1 khác được chọn từ imatinib, nilotinib, dasatinib, dosutinib, radotinib, ponatinib và bafetinib.

Phương pháp điều trị tình trạng bệnh do BCR-ABL1, có thể bao gồm việc sử dụng cho đối tượng cần được điều trị lượng có hiệu quả của hợp chất theo sáng chế hoặc dược phẩm.

BCR-ABL1 có thể chứa một hoặc nhiều gen đột biến. Các gen đột biến này bao gồm V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C và F359V (UJane F. Apperley. Part 1: Mechanism of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. Lancet Oncology 2007;8:1018).

Tình trạng bệnh do BCR-ABL1, trong đó BCR-ABL1 chứa một hoặc nhiều gen đột biến được chọn từ V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C và F359V, có thể được điều trị.

Hợp chất này có thể được sử dụng ngoài đường tiêu hóa.

Hợp chất này có thểđược sử dụng trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da, qua đường miệng, tại phổi, trong vỏ, tại chỗ hoặc trong mũi.

Hợp chất này có thể được sử dụng toàn thân.

Bệnh nhân có thể là động vật có vú.

Bệnh nhân có thể là động vật linh trưởng.

Bệnh nhân có thể là người.

Phương pháp điều trị bệnh do ABL1/BCR-ABL1, có thể bao gồm bước: sử dụng cho bệnh nhân cần được điều trị lượng có hiệu quả điều trị của tác nhân hóa trị liệu kết hợp với lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức (I).

Theo khía cạnh khác, hợp chất có công thức I, hoặc phương án cụ thể khác bất kỳ của nó được mô tả trên, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo khía cạnh khác, bệnh ung thư là bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I hoặc phương án cụ thể bất kỳ của nó để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư kết hợp với hợp chất hỗ trợ điều trị được chọn từ imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib và bafetinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất có công thức I là (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất có công thức I là muối dược dụng của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị được sử dụng tiếp theo sau.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị được sử dụng đồng thời.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là nilotinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là imatinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là dasatinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là bosutinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là ponatinib.

Theo khía cạnh mở rộng, hợp chất hỗ trợ điều trị là bafetinib.

Dược phẩm

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều hợp chất được mô tả trên, được bào chế cùng với một hoặc nhiều chất mang dược dụng (tá dược) và/hoặc chất pha loãng. Như được mô tả chi tiết sau đây, dược phẩm theo sáng chế có thể được tạo công thức cụ thể để sử dụng ở dạng rắn hoặc dạng lỏng, bao gồm các dược phẩm thích hợp cho: (1) đường dùng qua đường miệng, ví dụ, thuốc thú y (dung dịch hoặc huyền phù trong nước hoặc không phải trong nước), viên nén, ví dụ, dạng thuốc có đích là trong má, dưới lưỡi, và hấp thụ toàn thân, viên hoàn, thuốc bột, thuốc hạt, bột nhão để sử dụng cho lưỡi; (2) đường dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, tiêm dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch hoặc gây tê

ngoài màng cứng, ví dụ, như dung dịch vô khuẩn hoặc huyền phù, hoặc chế phẩm giải phóng kéo dài; (3) sử dụng tại chỗ, ví dụ, như thuốc kem, thuốc mỡ, hoặc miếng dán giải phóng kiểm soát hoặc thuốc phun sử dụng cho da; (4) trong âm đạo hoặc tại trực tràng, ví dụ, như viên đặt âm đạo, kem hoặc dạng bọt; (5) dưới lưỡi; (6) tại mắt; (7) qua da; (8) tại mũi; (9) tại phổi; hoặc (10) trong vỏ.

Thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" được sử dụng trong đây có nghĩa là lượng của hợp chất, nguyên liệu, hoặc chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để tạo ra một số hiệu quả điều trị mong muốn trong ít nhất một phân nhóm tế bào ở động vật với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý có thể áp dụng cho việc điều trị y học bất kỳ.

Thuật ngữ "dược dụng" được sử dụng trong đây để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều mà, trong phạm vi chỉ định y khoa, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với các mô của người và động vật mà không gây ra độc tính, sự kích thích, đáp ứng dị ứng quá mức, hoặc các vấn đề hoặc biến chứng khác, tương ứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý.

Thuật ngữ "chất mang dược dụng" như được sử dụng trong đây có nghĩa là nguyên liệu, chế phẩm hoặc tá dược dược dụng, như chất độn lỏng hoặc rắn, chất pha loãng, tá dược, hỗ trợ sản xuất (ví dụ, tá dược trơn, talc magie, canxi hoặc kẽm stearat, hoặc axit steric), hoặc dung môi nguyên liệu tạo nang, có vai trò trng việc mang hoặc vận chuyển hợp chất đối tượng từ một cơ quan, hoặc một phần của cơ thể, đến một cơ quan, hoặc phần khác của cơ thể. Mỗi chất mang phải là "chấp nhận được" về khả năng tương thích với các thành phần khác của dược phẩm và không gây hại cho bệnh nhân. Một số ví dụ về nguyên liệu có thể sử dụng làm chất mang dược dụng bao gồm: (1) đường, như lactoza, glucoza và sucroza; (2) tinh bột, như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; (3) xenluloza, và dẫn xuất của nó, như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; (4) tragacanth bột; (5) mạch nha; (6) gelatin; (7) talc; (8) tá dược, như bơ cacao và sáp nền; (9) dầu, như dầu lạc, dầu hạt cải, dầu rum, dầu vừng, dầu oliu, dầu ngô và dầu đậu nành; (10) glycol, như propylen glycol; (11) polyhydric, như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; (12) este, như etyl oleat và etyl laurat; (13) aga; (14) chất đệm, như magie hydroxit và nhôm hydroxit; (15) axit alginic; (16) nước không có chí nhiệt tố; (17) nước muối đẳng trương; (18) dung dịch Ringer; (19) rượu etylic; (20) dung dịch đệm pH; (21) polyeste,

polycacbonat và/hoặc polyanhydrit; và (22) các chất tương thích không gây độc khác sử dụng trong dược phẩm.

Như đã nêu rõ ở trên, các phương án nhất định của hợp chất theo sáng chế có thể chứa nhóm chức bazơ, như amino hoặc alkylamino, và do đó, có khả năng tạo ra muối dược dụng với axit dược dụng. Thuật ngữ "muối dược dụng" trong khía cạnh này, là để chỉ muối cộng axit hữu cơ và vô cơ, tương đối không độc của hợp chất theo sáng chế. Các muối này có thể được điều chế *in situ* trong tá dược lỏng sử dụng hoặc quy trình sản xuất dạng liều, hoặc bằng cách phản ứng riêng biệt hợp chất tinh khiết theo sáng chế ở dạng bazơ tự do của nó với axit hữu cơ hoặc vô cơ thích hợp, và tách muối thu được theo cách đó qua bước tinh chế sau đó. Các muối đại diện bao gồm muối hydrobromua, hydroclorua, sulfat, bisulfat, phosphat, nitrat, axetat, valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, benzoat, lactat, phosphat, tosylat, xitrat, maleat, fumarat, sucxinat, tartrat, napthylat, mesylat, glucoheptonat, lactobionat, và laurylsulphonat và tương tự. (Xem, ví dụ, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Muối dược dụng của hợp chất theo sáng chế bao gồm các muối không độc thông thường hoặc muối amoni bậc bốn của hợp chất, ví dụ, từ axit hữu cơ hoặc vô cơ không độc. Ví dụ, các muối không độc thông thường này bao gồm các muối có nguồn gốc từ axit vô cơ như hydroclorua, hydrobromic, sulfuric, sulfamic, phosphoric, nitric, và tương tự; và các muối được điều chế từ axit hữu cơ như axetic, propionic, sucxinic, glycolic, stearic, lactic, malic, tartric, xitric, ascorbic, palmitic, maleic, hydroxymaleic, phenylaxetic, glutamic, benzoic, salixyclic, sulfanilic, 2-axetoxybenzoic, fumaric, toluensulfonic, metansulfonic, etan disulfonic, oxalic, isothionic, và axit tương tự.

Trong các trường hợp khác, hợp chất theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều nhóm chức axit và, do đó, có khả năng tạo ra muối dược dụng với bazơ dược dụng. Thuật ngữ "muối dược dụng" trong các trường hợp này là để chỉ muối cộng bazơ vô cơ và hữu cơ tương đối không độc của hợp chất theo sáng chế. Tương tự, các muối này có thể được điều chế *in situ* trong tá dược lỏng sử dụng hoặc quy trình sản xuất dạng liều, hoặc bằng phản ứng riêng biệt hợp chất tinh khiết ở dạng axit tự do của nó với bazơ thích hợp, như hydroxit, cacbonat hoặc bicacbonat của cation kim loại dược dụng, với amoniac, hoặc với amin hữu cơ bậc một, bậc hai hoặc bậc ba dược dụng. Các muối kiềm hoặc kiềm thổ đặc trưng bao gồm muối liti, natri, kali, canxi, magie, và nhôm và

tương tự. Các amin hữu cơ đại diện hữu dụng để tạo ra muối cộng bazơ bao gồm etylamin, dietylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin và tương tự. (Xem, ví dụ, Berge et al., ở trên)

Chất tạo ẩm, chất nhũ hóa và tá dược trơn, như natri lauryl sulfat và magie stearat, cũng như chất tạo màu, tác nhân giải phóng, tác nhân bao, chất làm ngọt, tác nhân điều hương và điều vị, chất bảo quản và chất chống oxy hóa cũng có thể có mặt trong chế phẩm này.

Ví dụ về chất chống oxy hóa dược dụng bao gồm: (1) chất chống oxy hóa tan được trong nước, như axit ascorbic, cystein hydroclorua, natri bisulfat, natri metabisulfit, natri sulfit và tương tự; (2) chất chống oxy hóa tan được trong dầu, như ascorbyl palmitat, hydroxyanisol butyl hóa (BHA), hydroxytoluen butyl hóa (BHT), lexitin, propyl gallat, alpha-tocopherol, và tương tự; và (3) tác nhân chelat hóa kim loại, như axit xitric, axit etylendiamin tetraaxetic (EDTA), sorbitol, axit tartric, axit phosphoric, và tương tự.

Các chế phẩm theo sáng chế bao gồm các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua đường miệng, tại mũi, tại chỗ (bao gồm trong má và dưới lưỡi), trực tràng, đường âm đạo và/hoặc đường dùng ngoài đường tiêu hóa. Các chế phẩm này thuận tiện có thể ở dạng liều đơn vị và có thể được điều chế bởi phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược phẩm. Lượng thành phần hoạt động có thể được kết hợp với nguyên liệu mang để tạo ra dạng liều đơn sẽ thay đổi phụ thuộc vào thể chủ được điều trị, đường dùng cụ thể. Lượng thành phần hoạt động có thể được kết hợp với nguyên liệu mang để tạo ra dạng liều đơn thường sẽ là lượng hợp chất tạo ra hiệu quả điều trị. Thông thường, trong khoảng một trăm phần trăm, lượng này sẽ nằm trong khoảng từ 0,1 phần trăm đến khoảng 99 phần trăm là thành phần hoạt động, tốt hơn là từ khoảng 5 phần trăm đến 70 phần trăm, tốt nhất là từ khoảng 10 đến 30 phần trăm.

Theo một số phương pháp, chế phẩm theo sáng chế bao gồm tá dược được chọn từ nhóm bao gồm xyclodextrin, xenluloza, liposom, tác nhân tạo vi hạt, ví dụ, axit mật, và chất mang polyme, ví dụ, polyeste và polyanhydrit; và hợp chất theo sáng chế. Theo một số phương pháp, chế phẩm nêu trên sẽ trả lại hợp chất sinh khả dụng khi sử dụng qua đường miệng.

Phương pháp điều chế chế phẩm hoặc hợp chất theo sáng chế bao gồm bước kết hợp hợp chất theo sáng chế với chất mang và, tùy chọn, một hoặc nhiều thành phần phụ. Nói chung, các chế phẩm được điều chế bằng cách kết hợp đồng nhất và kỹ hợp chất theo sáng chế với chất mang lỏng, hoặc chất mang rắn được phân chia mịn, hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, tạo hình sản phẩm.

Các chế phẩm theo sáng chế thích hợp với đường dùng qua đường miệng có thể ở dạng viên nang, viên nhộng, viên tròn, viên nén, viên ngậm (sử dụng chất nền điều vị, thường là sucroza và acaxia hoặc tragacanth), thuốc bột, hạt, hoặc dung dịch, huyền phù hoặc hệ phân tán rắn trong chất lỏng là nước hoặc không phải là nước, hoặc là nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc nước trong dầu, hoặc là cồn ngọt hoặc sirô, hoặc là viên kẹo (sử dụng chất nền trơ, như gelatin và glyxerin, hoặc sucroza và acaxia) và/hoặc nước súc miệng và tương tự, mỗi dạng chứa môt lượng đã xác định của hợp chất theo sáng chế là thành phần hoạt động. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng dạng viên hoàn, thuốc tễ hoặc bột nhão.

Chế phẩm phân tán rắn theo sáng chế bao gồm, ví dụ, hệ phân tán vô định hình của hợp chất theo sáng chế, tá dược (copolyme, như polyvinyl pyrolidinon (PVP) VA64 (Kollidon® VA64 hoặc Copovidone), và tương tự). Hệ phân tán rắn còn có thể được tăng cường bởi hydroxyl propyl metyl xenluloza có độ nhớt thấp (HPMC) (như Pharmacoat 603, Methocel E3, hoặc tương tự). Xem Ví dụ 41, sau đây, để biết chi tiết hơn về việc điều chế chế phẩm phân tán rắn theo sáng chế.

Theo một phương án theo sáng chế, dược phẩm chứa hệ phân tán vô định hình của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) và từ 1 đến 2 tá dược; trong đó tá dược được chọn từ HPMC AS, Pharmacoat 603, Eudragit L100, PVP K30, PVP VA64 và Eudragit EPO.

Theo một phương án khác, tá dược là PVP VA64 và Pharmacoat 603.

Theo một phương án khác, phần trăm của Pharmacoat 603 là nằm trong khoảng từ 30% đến 45%, phần trăm của PVP VA64 nằm trong khoảng từ 30% đến 45% và phần trăm của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) là nằm trong khoảng từ 20% đến 30%.

Theo một phương án khác, phần trăm của Pharmacoat 603 là 37,5%, phần trăm của PVP VA64 là 37,5% và phần trăm của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) là 25%.

Trong dạng liều rắn theo sáng chế cho đường dùng qua đường miệng (viên nang, viên nén, viên tròn, kẹo ngậm, bột, hạt, viên ngậm trong má và tương tự), thành phần hoạt động được phối hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat, và/hoặc chất bất kỳ sau: (1) chất độn hoặc chất làm đặc, như tinh bột, lactoza, sucroza, glucoza, manitol, và/hoặc axit silicic; (2) chất gắn kết, như, ví dụ, carboxymetylxenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrolidon, sucroza và/hoặc acaxia; (3) chất giữ ẩm, như glyxerol; (4) tá dược rã, như aga-aga, canxi cacbonat, tinh bột khoai tây hoặc bột sắn hột, axit alginic, một số silicat, và natri cacbonat; (5) chất làm chậm hòa tan, như parafin; (6) chất gia tăng hấp thụ, như amoni bậc bốn hợp chất và chất hoạt động bề mặt, như poloxame và natri lauryl sulfat; (7) chất tạo ẩm, như, ví dụ, rượu xetylic, glyxerol monostearat, và chất hoạt động bề mặt không ion hóa; (8) chất hấp phụ, như kaolin và đất sét; (9) tá dược trơn, như talc, canxi stearat, magie stearat, polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat, kẽm stearat, natri stearat, axit stearic, và hỗn hợp chứa chúng hỗn hợp chứa chúng; (10) chất tạo màu; và (11) chất giải phóng kiểm soát như crospovidon hoặc etyl xenluloza. Trong trường hợp viên nang, viên nén và viên tròn, dược phẩm này cũng có thể bao gồm chất đệm. Chế phẩm rắn chứa kiểu tương tự cũng có thể được sử dụng làm chất độn ở dạng dẻo và viên nang gelatin vỏ cứng sử dụng tá dược như lactoza hoặc đường sữa, cũng như polyetylen glycol trọng lượng phân tử cao và tương tự.

Viên nén có thể được tạo ra bằng cách dập viên hoặc đổ khuôn, tùy chọn với một hoặc nhiều thành phần phụ. Viên nén dập viên có thể được bào chế bằng cách sử dụng tá dược độn (ví dụ, gelatin hoặc hydroxypropylmetyl xenluloza), tá dược trơn, chất pha loãng trơ, chất bảo quản, tá dược rã (ví dụ, natri tinh bột glycolat hoặc natri carboxymetyl xenluloza liên kết chéo), tác nhân hoạt động bề mặt hoặc phân tán. Viên nén đổ khuôn có thể được tạo ra bằng cách đổ khuôn trong một máy thích hợp hỗn hợp chứa bột hợp chất được tạo ẩm bằng chất pha loãng lỏng trơ.

Viên nén, và các dạng liều rắn khác của dược phẩm theo sáng chế, như kẹo ngậm, viên nang, viên tròn và hạt, tùy chọn có thể được phân loại hoặc bào chế với màng bao và vỏ, như màng bao tan trong ruột và các màng bao khác đã biết trong lĩnh

vực bào chế dược phẩm. Chúng có thể được bào chế sao cho giải phóng chậm hoặc giải phóng kiểm soát thành phần hoạt động trong đó sử dụng, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza với các tỷ lệ khác nhau để tạo ra profin giải phóng mong muốn, các chất nền polyme khác, liposom và/hoặc các vi cầu. Chúng có thể được tạo công thức để giải phóng nhanh, ví dụ, làm đông khô. Chúng có thể được tiệt khuẩn bằng cách, ví dụ, lọc qua phễu lọc giữ vi khuẩn, hoặc bằng cách đưa các tác nhân tiệt khuẩn ở dạng chế phẩm rắn vô khuẩn có thể được hòa tan trong nước vô khuẩn, hoặc một số môi trường vô khuẩn tiêm được khác ngay lập tức trước khi sử dụng. Các chế phẩm này cũng có thể tùy chọn chứa chất chắn sáng và có thể là chế phẩm mà chỉ giải phóng (các) thành phần hoạt động, hoặc ưu tiên, ở một phần nhất định trong đường tiêu hóa, tùy chọn, theo cách giải phóng chậm. Ví dụ về các chế phẩm cấy có thể sử dụng bao gồm các cơ chất polyme và sáp. Thành phần hoạt động cũng có thể ở dạng vi nang, nếu thích hợp, với một hoặc nhiều tá dược được mô tả trên.

Dạng liều lỏng cho đường dùng qua đường miệng chứa hợp chất theo sáng chế bao gồm các nhũ tương, vi nhũ tương, dung dịch, huyền phù, sirô và cồn ngọt dược dụng. Ngoài thành phần hoạt động, dạng liều lỏng có thể chứa chất pha loãng trơ thường được sử dụng trong lĩnh vực, như, ví dụ, nước hoặc các dung môi khác, tác nhân hòa tan và chất nhũ hóa, như rượu etylic, rượu isopropyl, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzylic, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (cụ thể, dầu hạt bông, dầu lạc, dầu bông, dầu mầm, dầu oliu, dầu hải ly và dầu vừng), glyxerol, rượu tetrahydrofuryl, polyetylen glycol và este sorbitan của axit béo, và hỗn hợp chứa chúng.

Bên cạnh chất pha loãng trơ, các chế phẩm dùng qua đường miệng cũng có thể bao gồm các tá dược như chất tạo ẩm, chất nhũ hóa hoặc tạo huyền phù, chất làm ngọt, chất điều vị, chất tạo màu, chất điều hương và chất bảo quản.

Huyền phù, ngoài hợp chất hoạt động, có thể chứa chất tạo huyền phù như, ví dụ, rượu isostearyl etoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol và este sorbitan, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, aga-aga và tragacanth, và hỗn hợp chứa chúng.

Các công thức của dược phẩm theo sáng chế để sử dụng tại trực tràng hoặc đường âm đạo có thể là ở dạng thuốc đạn, có thể được bào chế bằng cách phối hợp

một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều tá dược hoặc chất mang không kích ứng thích hợp bao gồm, ví dụ, bơ cacao, polyetylen glycol, sáp thuốc đạn hoặc salixylat, và ở dạng rắn ở nhiệt độ phòng, nhưng là dạng lỏng ở nhiệt độ cơ thể và, do đó, sẽ chảy ra trong trực tràng hoặc khoang âm đạo và giải phóng thành phần hoạt động.

Các chế phẩm theo sáng chế thích hợp để sử dụng tại đường âm đạo cũng bao gồm các thuốc đặt âm đạo, băng vệ sinh, kem, gel, bột nhão, bọt hoặc chế phẩm phun chứa chất mang như đã biết trong lĩnh vực này là thích hợp.

Dạng liều cho đường dùng tại chỗ hoặc qua da chứa hợp chất theo sáng chế bao gồm thuốc bột, thuốc xịt, thuốc mỡ, bột nhão, kem, thuốc nước bôi, gel, dung dịch, thuốc cao và thuốc hít. Thành phần hoạt động có thể được phối hợp trong điều kiện vô khuẩn với chất mang dược dụng, và với chất bảo quản bất kỳ, hệ đệm, hoặc khí trơ có thể cần có.

Thuốc mỡ, bột nhão, kem và gel có thể chứa, ngoài hợp chất hoạt động theo sáng chế, tá dược, như mỡ động vật và thực vật, dầu, sáp, parafin, tinh bột, tragacanth, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, axit silicic, talc và kẽm oxit, hoặc hỗn hợp chứa chúng.

Thuốc bột và thuốc phun có thể chứa, ngoài hợp chất theo sáng chế, tá dược như lactoza, talc, axit silicic, nhôm hydroxit, canxi silicat và bột polyamit, hoặc hỗn hợp chứa các chất này. Thuốc phun có thể còn chứa khí trơ thông thường, như cloflohydrocacbon và hydrocacbon không thế dễ bay hơi, như butan và propan.

Miếng dán tác dụng qua da có một thuận lợi khác nhữa là phân phối kiểm soát hợp chất theo sáng chế đến cơ thể. Dạng liều này có thể được tạo ra bằng cách hòa tan hoặc phân tán hợp chất trong môi trường thích hợp. Chất làm tăng cường hấp thụ cũng có thể được sử dụng làm tăng dòng thuốc đi qua da. Tốc độ của dòng này có thể được kiểm soát hoặc bằng cách tạo ra màng kiểm soát tốc độ này hoặc phân tán hợp chất trong chất nền polyme hoặc gel.

Chế phẩm dùng tại mắt, thuốc mỡ tra mắt, thuốc bột, dung dịch và tương tự, cũng được dự tính nằm trong phạm vi của sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế thích hợp với đường dùng ngoài đường tiêu hóa chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều dung dịch, hệ phân tán, huyền phù hoặc nhũ tương nước hoặc không phải là nước dược dụng đẳng trương vô khuẩn, hoặc bột vô khuẩn có thể được hoàn nguyên thành dung dịch hoặc hệ phân tán vô khuẩn tiêm được ngay trước khi sử dụng, chúng có thể chứa đường, rượu, chất chống oxy hóa, đệm, chất kìm khuẩn, chất tan khiến cho chế phẩm đẳng trương với máu của người nhận hoặc chất tạo huyền phù hoặc làm đặc.

Ví dụ về chất mang là nước hoặc không phải là nước thích hợp có thể được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm nước, etanol, rượu polyhydric (như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và tương tự), và hỗn hợp thích hợp của chúng, dầu thực vật, như dầu oliu, và este hữu cơ tiêm được, như etyl oleat. Độ lỏng thích hợp có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng nguyên liệu bao, như lexitin, bằng cách duy trì cỡ hạt yêu cầu trong trường hợp hệ phân tán, và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt.

Các chế phẩm này cũng có thể chứa các tá dược như chất bảo quản, chất tạo ẩm, chất nhũ hóa và chất phân tán. Có thể đảm bảo ngăn cản tác động của vi sinh vật lên hợp chất theo sáng chế bằng cách đưa các tác nhân chống nấm và kháng vi khuẩn khác nhau, ví dụ, paraben, clobutanol, axit phenol sorbic, và tương tự. Cũng có thể mong muốn đưa tác nhân gây đẳng trương, như đường, natri clorua, và chất tương tự vào chế phẩm này. Ngoài ra, sự hấp thụ kéo dài của dạng dược phẩm tiêm được có thể mang lại bằng cách đưa vào các tác nhân làm chậm sự hấp thu như nhôm monostearat và gelatin.

Trong một số trường hợp, để kéo dài tác dụng của thuốc, mong muốn làm chậm sự hấp thu của thuốc khi tiêm dưới da hoặc trong cơ. Điều này có thể thực hiện được bằng cách sử dụng huyền phù lỏng chứa nguyên liệu tinh thể hoặc vô định hình có độ tan trong nước thấp. Tốc độ hấp thu của thuốc do đó phụ thuộc vào tốc độ hòa tan của nó, tốc độ này có thể phụ thuộc vào cỡ tinh thể và dạng tinh thể. Cách khác, sự thấp thụ chậm của dạng thuốc dùng ngoài đường tiêu hóa có thể có được bằng cách hòa tan hoặc tạo huyền phù dược chất trong tá dược dầu.

Dạng cấy dưới da được tạo ra bằng cách tạo các chất nền vi nang chứa hợp chất theo sáng chế trong các polyme thoái biến sinh học như polylactit-polyglycolit. Phụ

thuộc vào tỷ lệ của dược chất với polyme, và bản chất của polyme cụ thể sử dụng, tốc độ giải phóng dược chất có thể được kiểm soát. Ví dụ về các polyme thoái biến sinh học bao gồm poly(orthoeste) và poly(anhydrit). Các chế phẩm tích lũy thuốc tiêm được cũng được bào chế bằng cách đưa dược chất vào trong liposom hoặc vi nhũ tương tương thích với mô cơ thể.

Khi hợp chất theo sáng chế được sử dụng làm dược phẩm, cho người và động vật, chúng có thể được sử dụng trực tiếp hoặc ở dạng dược phẩm chứa, ví dụ, từ 0,1 đến 99% (tốt hơn là, từ 10 đến 30%) thành phần hoạt động kết hợp với chất mang dược dụng.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, tại chỗ, hoặc trực tràng. Tất nhiên chúng ở dạng thích hợp cho mỗi đường dùng. Ví dụ, chúng được sử dụng ở dạng viên nén hoặc viên nang, bằng cách đường tiêm, đường hít, nước nhỏ mắt, thuốc mỡ, thuốc đạn, v.v. đường tiêm, truyền hoặc hít; tại chỗ bằng thuốc nước hoặc thuốc mỡ; và trực tràng bằng thuốc đạn. Đường dùng qua đường miệng được ưu tiên.

Thuật ngữ "đường dùng ngoài đường tiêu hóa" và "sử dụng ngoài đường tiêu hóa" được sử dụng trong đây có nghĩa là cách sử dụng không phải trong đường ruột và tại chỗ, thường là bằng cách tiêm, và bao gồm, không hạn chế, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong động mạch, trong vỏ, trong vỏ, trong hốc mắt, trong tim, trong da, trong màng bụng, trong khí quản, dưới da, dưới biểu bì, trong khớp, dưới bao, dưới màng nhện, tiêm và truyền trong màng nhện và trong xương ức.

Thuật ngữ "sử dụng toàn thân" và "sử dụng ngoại biên" được sử dụng trong đây có nghĩa là sử dụng hợp chất, thuốc hoặc nguyên liệu khác không phải là trực tiếp vào hệ thần kinh trung ương, sao cho nó đi vào hệ thống cơ thể của bệnh nhân và, bằng cách đó được đưa vào chuyển hóa và các quy trình tương tự khác, ví dụ, đường dùng dưới da.

Các hợp chất này có thể được sử dụng cho người và động vật khác bằng cách điều trị theo đường dùng thích hợp bất kỳ, bao gồm qua đường miệng, tại mũi, như bằng, ví dụ, thuốc phun, trực tràng, trong âm đạo, ngoài đường tiêu hóa, trong bể và tại chỗ, như bằng thuốc bột, thuốc mỡ hoặc thuốc nhỏ, bao gồm trong má và dưới lưỡi.

Bất kể đường dùng nào được chọn, hợp chất theo sáng chế, có thể được sử dụng ở dạng hydrat hóa thích hợp, và/hoặc dược phẩm theo sáng chế, được bào chế thành dạng liều dược dụng bởi phương pháp thông dụng đã biết với các chuyên gia trong lĩnh vực này.

Mức liều thực tế của thành phần hoạt động trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi sao cho thu được lượng thành phần hoạt động có hiệu quả để đạt được đáp ứng điều trị mong muốn cho bệnh nhân cụ thể, chế phẩm, và đường dùng, mà không gây độc cho bệnh nhân này.

Mức liều được chọn sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể theo sáng chế sử dụng, hoặc este, muối hoặc amit của nó, đường dùng, thời gian sử dụng, tốc độ bài tiết hoặc chuyển hóa của hợp chất cụ thể được sử dụng này, tốc đọ và mức độ hấp thu, quá trình điều trị, các dược chất khác, hợp chất và/hoặc nguyên liệu sử dụng kết hợp với hợp chất cụ thể được sử dụng, tuổi, giới tính, trọng lượng, tình trạng bệnh, sức khỏe tổng quát và tiền sử bệnh của bệnh nhân được điều trị, và các yếu tố tương tự đã biết trong lĩnh vực y khoa.

Bác sỹ hoặc bác sỹ thú y có chuyên môn có thể xác định rõ ràng và chỉ định lượng có hiệu quả của dược phẩm cần có. Ví dụ, bác sỹ hoặc bác sỹ thú y có thể bắt đầu các liều hợp chất theo sáng chế sử dụng trong dược phẩm ở các mức thấp hơn yêu cầu để đạt được hiệu quả điều trị mong muốn và tăng dần liều cho đến khi đạt được hiệu quả mong muốn.

Thông thường, liều hằng ngày thích hợp của hợp chất theo sáng chế sẽ là lượng hợp chất ở mức liều thấp nhất co hiệu quả để tạo hiệu quả điều trị. Liều có hiệu quả này thường phụ thuộc vào các yếu tố được mô tả trên. Thông thường, liều qua đường miệng, trong tĩnh mạch, trong não thất và liều dưới da của hợp chất theo sáng chế cho bệnh nhân, khi được sử dụng cho hiệu quả gây mê chỉ định, sẽ nằm trong khoảng từ 0,0001 đến khoảng 100mg trên mỗi kilogam trọng lượng cơ thể mỗi ngày.

Nếu muốn, liều hằng ngày có hiệu quả của hợp chất hoạt động có thể được sử dụng thành hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc nhiều liều nhỏ sử dụng riêng biệt với các khoảng giãn liều thích hợp trong cả ngày, tùy chọn, ở dạng liều đơn vị.

Các thông số PK *in vivo* có thể được sử dụng để ước tính các thông số PK của người. Áp dụng các phương pháp khác nhau đã biết trong lĩnh vực dự đoán PK người,

có thể đánh giá độ thanh thải ở người dự đoán. Ví dụ, (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) được ước tính là 3mL/phút/kg và thể tích phân bố được ước tính là 1L/kg. Liều hằng ngày dự đoán có hiệu quả với người của hợp chất Ví dụ 9, do đó, được đánh giá là nằm trong khoảng từ 90 đến 130 mg/ngày.

Trong khi hợp chất theo sáng chế có thể sử dụng riêng biệt, tốt hơn là nó được sử dụng ở dạng dược phẩm (chế phẩm).

Hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế để sử dụng theo cách thuận tiện bất kỳ để sử dụng cho người hoặc lĩnh vực thú y, tương tự như các dược phẩm khác.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều hợp chất đối tượng, như mô tả trên, được bào chế cùng với một hoặc nhiều chất mang dược dụng (tá dược) và/hoặc chất pha loãng. Như mô tả chi tiết sau đây, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế riêng biệt để sử dụng ở dạng rắn hoặc lỏng, bao gồm các dạng thích hợp sau đây: (1) đường dùng qua đường miệng, ví dụ, thuốc thú y (dung dịch hoặc huyền phù trong nước hoặc không phải trong nước), viên nén, viên hoàn, thuốc bột, thuốc hạt, bột nhão để sử dụng cho lưỡi; (2) đường dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, đường tiêm dưới da, trong cơ hoặc trong tĩnh mạch, ví dụ, dung dịch hoặc huyền phù vô khuẩn; (3) sử dụng tại chỗ, ví dụ, thuốc kem, thuốc mỡ hoặc thuốc phun áp dụng cho da, phổi, hoặc màng niêm mạc; hoặc (4) trong âm đạo hoặc tại trực tràng, ví dụ, viên đặt âm đạo, kem hoặc thuốc bọt; (5) dưới lưỡi hoặc trong má; (6) tại mắt; (7) qua da; hoặc (8) tại mũi.

Thuật ngữ "điều trị" được dự tính là bao gồm việc phòng bệnh, điều trị và chữa trị.

Bệnh nhân nhận sự điều trị này là động vật bất kỳ cần điều trị, bao gồm động vật linh trưởng, cụ thể là người, và các động vật có vú khác như ngựa, gia súc, lợn và cừu; và gia cầm và vật nuôi nói chung.

Kỹ thuật vi nhũ tương có thể cải thiện sinh khả dụng của một số dược chất thân mỡ (không tan trong nước). Ví dụ bao gồm Trimetrine (Dordunoo, S. K., et al., Drug Development và Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991 và REV 5901 (Sheen, P. C., et al., J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Trong số đó, vi nhũ tương mang lại sinh khả dụng tăng cao bằng cách hướng sự hấp thu ưu tiên đến hệ bạch huyết thay vì

là hệ tuần hoàn, bằng cách đó tránh đi qua gan, và ngăn chặn sự phá hủy cấu trúc của hợp chất trong hệ tuần hoàn gan-ống gan.

Trong khi tất cả các chất mang lưỡng tính thích hợp được dự tính, chất mang được ưu tiên theo sáng chế thường là chất mang có trạng thái GRAS (Generally-Recognized-as-Safe – được xác nhận là an toàn), và có thể hòa tan theo sáng chế và vi nhũ hóa nó ở giai đoạn muộn khi dung dịch này tiếp xúc với pha nước phức hợp (như tìm thấy trong đường dạ dày – ruột của người). Thông thường, các thành phần lưỡng tính thỏa mãn các yêu cầu có giá trị HLB (cân bằng thân nước và thân mỡ) nằm trong khoảng từ 2-20, và các cấu trúc của chúng chứa các gốc béo mạch thẳng nằm trong khoảng từ C-6 đến C-20. Ví dụ là các glyxerit béo được polyetylen-glycol hóa và polyetylen glycol.

Các chất lưỡng tính có sẵn trên thị trường được dự tính cụ thể, bao gồm Gelucire-series, Labrafil, Labrasol, hoặc Lauroglycol (tất cả được sản xuất và phân phối bởi Gattefosse Corporation, Saint Priest, France), PEG-mono-oleat, PEG-di-oleat, PEG-mono-laurat và di-laurat, Lexitin, Polysorbate 80, v.v. (sản xuất và phân phối bởi một số công ty ở Mỹ và toàn cầu).

Các polyme thân nước thích hợp để sử dụng theo sáng chế là các chất dễ tan trong nước, có thể gắn đồng hóa trị với lipit tạo nang, và dung nạp *in vivo* mà không có hiệu quả gây độc (tức là, tương thích về mặt sinh học). Các polyme thích hợp bao gồm polyetylen glycol (PEG), polylactic (cũng gọi là polylactit), axit polyglycolic (cũng gọi là polyglycolit), copolyme của axit polylactic-polyglycolic, và rượu polyvinyl. Các polyme được ưu tiên là các polyme có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 100 hoặc 120 dalton lên đến khoảng 5.000 hoặc 10.000 dalton, và tốt hơn là từ khoảng 300 dalton đến khoảng 5.000 dalton. Theo phương án được ưu tiên cụ thể, polyme là polyetylenglycol có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 100 đến khoảng 5.000 dalton, và tốt hơn là có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 300 đến khoảng 5.000 dalton. Theo phương án được ưu tiên cụ thể, polyme là polyetylenglycol nặng 750 dalton (PEG(750)). Polyme cũng có thể được xác định bởi số lượng monome trong đó; phương án được ưu tiên theo sáng chế sử dụng polyme ít nhất khoảng ba monome, PEG polyme này bao gồm ba monome (xấp xỉ 150 dalton).

Các polyme thân nước khác có thể thích hợp để sử dụng theo sáng chế bao gồm polyvinylpyrolidon, polymetoxazolin, polyetyloxazolin, polyhydroxypropyl metacrylamit, polymetacrylamit, polydimetylacrylamit, và dẫn xuất xenluloza như hydroxymetylxenluloza hoặc hydroxyetylxenluloza.

Theo một số phương pháp, chế phẩm theo sáng chế bao gồm polyme tương thích về mặt sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyamit, polycacbonat, polyalkylen, polyme của este acrylic và metacrylic, polyvinyl polyme, polyglycolit, polysiloxan, polyuretan và co-polyme của nó, xenluloza, polypropylen, polyetylen, polystyren, polyme của axit lactic và axit glycolic, polyanhydrit, poly(ortho)este, poly(axit butic), poly(axit valeric), poly(lactide-co-caprolacton), polysaccarit, protein, axit polyhyaluronic, polyxyanoacrylat, và hỗn hợp hoặc copolyme của nó.

Xyclodextrin là oligosaccarit vòng, gồm có 6, 7 hoặc 8 đơn vị glucoza, lần lượt được ký hiệu theo chữ La Mã alpha, beta hoặc gamma. Xyclodextrin có ít hơn sáu đơn vị glucoza được biết là không tồn tại. Các đối với glucoza được liên kết bởi liên kết alpha-1,4-glucosidic. Kết quả của cấu hình ghế của các đơn vị đường là, trong khi tất cả các nhóm hydroxyl bậc hai (ở C-2, C-3) ở một phía của vòng, trong khi tất cả các nhóm hydroxyl bậc một ở C-6 được đặt ở phía khác. Kết quả là, mặt ngoài là thân nước, khiến cho xyclodextrin tan được trong nước. Ngược lại, các khoang của xyclodextrin là kỵ nước, do chúng được nối bởi hydro của nguyên tử C-3 và C-5, và bởi oxy tương tự như ete. Các chất nền này cho phép tạo phức với một loạt các hợp chất kỵ nước, bao gồm, ví dụ, hợp chất steroit như 17-beta-estradiol (xem, ví dụ, van Uden et al. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 38:1-3-113 (1994)). Việc tạo phức xảy ra do tương tác Van der Waals và do sự hình thành liên kết hydro. Để xem xét hóa học của xyclodextrin, xem, Wenz, Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:803-822 (1994).

Đặc điểm hóa lý hóa sinh của các dẫn xuất xyclodextrin phụ thuộc nhiều vào kiểu và mức độ thế. Ví dụ, độ tan trong nước của chúng nằm trong khoảng từ không tan (ví dụ, triaxetyl-beta-xyclodextrin) đến tan 147% (trọng lượng/thể tích) (G-2-beta-xyclodextrin). Ngoài ra, chúng tan được trong nhiều dung môi hữu cơ. Các đặc điểm của xyclodextrin khiến cho có thể kiểm soát độ tan của nhiều thành phần chế phẩm bằng cách tăng hoặc giảm độ tan của chúng.

Một số xyclodextrin và phương pháp điều chế chúng đã được mô tả. Ví dụ, Parmeter (I), et al. (Patent Mỹ số 3,453,259) và Gramera, et al. (Patent Mỹ số 3,459,731) mô tả về xyclodextrin trung hòa điện tích. Các dẫn xuất khác bao gồm xyclodextrin với đặc điểm cation [Parmeter (II), Patent Mỹ số 3,453,257], xyclodextrin liên kết chéo tan được (Solms, Patent Mỹ số 3,420,788), và xyclodextrin với đặc điểm anion [Parmeter (III), Patent Mỹ số 3,426,011]. Trong số các dẫn xuất xyclodextrin với đặc điểm anion, axit carboxylic, axit phospho, axit phosphinous, axit phosphonic, axit phosphoric, axit thiophosphonic, axit thiosulphinic, và axit sulfonic đã được cho vào họ xyclodextrin [xem, Parmeter (III), ở trên]. Hơn nữa, các dẫn xuất sulfoalkyl ete xyclodextrin đã được mô tả bởi Stella, et al. (Patent Mỹ số 5,134,127).

Liposom bao gồm ít nhất một màng lipit hai lớp bao quanh một thành phần bên trong không phải là nước. Liposom có thể đặc trưng ở kiểu màng và kích thước. Các nang màng đơn nhỏ (SUV) có màng đơn và đặc trưng có đường kính nằm trong khoảng từ 0,02 và 0,05μm; các bong bóng màng đơn lớn (LUVS) đặc trưng là lớn hơn các nang 0,05μm. Nang lớn Oligolamellar và các bong bóng đa màng có nhiều lớp màng, thường là đồng tâm, và đặc trưng lớn hơn 0,1μm. Liposom với nhiều lớp màng không đồng tâm, tức là, nhiều nang nhỏ hơn nằm trong một nang lớn, được gọi là các nang đa nang.

Một khía cạnh theo sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa liposom chứa hợp chất theo sáng chế, trong đó màng liposom được tạo ra để cung cấp liposom có khả năng mang tăng lên. Cách khác hoặc ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có thể chứa trong, hoặc được hấp thụ lên trên, lớp liposom kép của liposom. Hợp chất theo sáng chế có thể kết tụ với chất hoạt động bề mặt lỏng và được mang bên trong khoảng bên trong của liposom; trong các trường hợp này, màng liposom được xây dựng để giữ được hiệu quả ngăn cản sự kết tụ của tác nhân hoạt động và chất hoạt động bề mặt.

Theo một phương án của sáng chế, màng lipit kép của liposom chứa các lipit được tạo dẫn xuất với polyetylen glycol (PEG), sao cho các chuỗi PEG trải dài từ bề mặt bên trong của màng lipit kép vào khoảng bên trong được kết nang bởi liposom, và trải dài từ bên ngoài của màng lipit kép vào đến môi trường xung quanh.

Thành phần hoạt động trong liposom theo sáng chế là ở dạng hòa tan. Hạt kết tụ của chất hoạt động bề mặt và tác nhân hoạt động (như nhũ tương hoặc vi hạt chứa tác

nhân hoạt động đang nghiên cứu) có thể được đưa vào khoảng bên trong của liposom theo sáng chế. Chất hoạt động bề mặt có tác dụng phân tán và hòa tan tác nhân hoạt động, và có thể được chọn từ chất hoạt động bề mặt thơm hoặc vòng béo, béo thích hợp bất kỳ, bao gồm nhưng không hạn chế ở lysophosphatidylcholin tương thích về mặt sinh học (LPC) có chiều dài sợi thay đổi (ví dụ, từ khoảng C_{14} đến C_{20}). Các lipit được tạo dẫn xuất với polyme như PEG-lipit cũng có thể được sử dụng để tạo vi hạt vì chúng sẽ tác động để ức chế sự dung hợp vi hạt/màng, và vì việc bổ sung polyme vào phân tử hoạt động bề mặt làm giảm giá trị CMC của chất hoạt động bề mặt và hỗ trợ trong việc tạo vi hạt. Ưu tiên chất hoạt động bề mặt có giá trị CMC trong khoảng micromol; chất hoạt động bề mặt có giá trị CMC cao hơn có thể được sử dụng để bào chế vi hạt được đưa vào trong liposom theo sáng chế, tuy nhiên, monome hoạt động bề mặt của vi hạt có thể ảnh hưởng đến sự ổn định của liposom màng kép và sẽ là một yếu tố trong thiết kế liposom có tính ổn định mong muốn.

Liposom theo sáng chế có thể được bào chế theo nhiều kỹ thuật bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,235,871; đơn PCT đã công bố WO 96/14057; New RRC, Liposom: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), pages 33-104; Lasic DD, Liposom from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993.

Ví dụ, liposom theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách khuếch tán lipit tạo dẫn xuất với polyme thân nước vào trong liposom đã tạo ra trước đó, như bằng cách cho liposom đã tạo ra trước đó tiếp xúc với vi hạt cấu tạo từ polyme ghép với lipit, ở các nồng độ lipit tương ứng với phần trăm mol cuối cùng của lipit dẫn xuất được mong muốn trong liposom. Liposom chứa polyme thân nước cũng có thể được tạo ra bằng cách đồng nhất, hydrat hóa vùng lipit, hoặc kỹ thuật đùn, như đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một khía cạnh của sáng chế, liposom được bào chế có kích thước đồng đều về cơ bản trong khoảng kích thước được chọn. Một phương pháp xác định kích thước hiệu quả bao gồm việc đùn huyền phù nước chứa liposom đi qua một loạt các màng polycacbonat có kích thước lỗ đều đã chọn; kích thước lỗ của màng sẽ tương ứng với các kích thước lớn nhất của liposom tạo ra bằng cách đùn qua màng. Xem ví dụ, Patent Mỹ số 4,737,323 (ngày 12, tháng 4, năm 1988).

Đặc điểm giải phóng của chế phẩm theo sáng chế phụ thuộc vào nguyên liệu tạo nang, nồng độ của dược chất được tạo nang, và sự có mặt của chất điều chỉnh giải phóng. Ví dụ, việc giải phóng có thể được thực hiện phụ thuộc vào độ pH, ví dụ, sử dụng màng bao nhạy với độ pH sẽ chỉ giải phóng ở độ pH thấp, như trong dạ dày, hoặc độ pH cao hơn, như trong ruột non. Màng bao tan trong ruột có thể được sử dụng để ngăn cản sự giải phóng không xảy ra cho đến sau khi đi qua dạ dày. Nhiều màng bao hoặc hỗn hợp xyanamit được tạo nang trong các nguyên liệu khác nhau có thể được sử dụng để thu được sự giải phóng ban đầu trong dạ dày, sau đó giải phóng muộn hơn trong ruột non. Việc giải phóng cũng có thể được thực hiện bằng cách vùi muối hoặc các tác nhân tạo lỗ hổng, các thành phần này có thể làm tăng sự hấp thụ nước hoặc giải phóng dược chất bằng cách khuếch tán từ viên nang. Tá dược điều chỉnh độ tan của dược chất cũng có thể được sử dụng để kiểm soát tốc độ giải phóng. Các tác nhân làm tăng sự phân hủy của chất nền hoặc giải phóng từ chất nền cũng có thể được đưa vào. Chúng có thể được bổ sung vào dược chất, bổ sung ở pha riêng biệt (tức là, là hạt), hoặc có thể được hòa tan đồng thời trong pha polyme phụ thuộc vào hợp chất. Trong tất cả các trường hợp, lượng này sẽ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30 phần trăm (trọng lượng/trọng lượng polyme). Kiểu của chất làm tăng phân hủy bao gồm muối vô cơ như amoni sulfat và amoni clorua, axit hữu cơ như axit xitric, axit benzoic, và axit ascorbic, bazơ vô cơ như natri cacbonat, kali cacbonat, canxi cacbonat, kẽm cacbonat, và kẽm hydroxit, và bazơ hữu cơ như protamin sulfat, spermin, cholin, etanolamin, dietanolamin, và trietanolamin và chất hoạt động bề mặt như Tween® và Pluronic®. Các tác nhân tạo lỗ hổng sẽ bổ sung vi cấu trúc vào chất nền (tức là, hợp chất tan được trong nước như muối vô cơ và đường) được bổ sung vào ở dạng hạt. Khoảng này sẽ nằm trong khoảng từ 1 đến 30 phần trăm (trọng lượng/trọng lượng polyme).

Sự hấp thu có thể được thực hiện bằng cách thay đổi thời gian lưu của các hạt trong ruột. Điều này có thể đạt được, ví dụ, bằng cách bao hạt này với, hoặc lựa chọn làm nguyên liệu tạo nang, polyme kết dính niêm mạc. Ví dụ bao gồm hầu hết polyme có nhóm carboxyl tự do, như chitosan, xenluloza, và đặc biệt là polyacrylat (khi được sử dụng trong đây, polyacrylat là để chỉ polyme bao gồm nhóm acrylat và nhóm acrylat biến đổi như xyanoacrylat và methacrylat).

Dược phẩm hỗn hợp

Sáng chế đặc biệt đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I) (hoặc dược phẩm bao gồm hợp chất có công thức (I) trong điều trị một hoặc nhiều bệnh được nêu trong đây; trong đó đáp ứng với điều trị là có lợi đã được chứng minh, ví dụ, bởi sự loại bỏ một phần hoặc hoàn toàn một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh cho đến khi hoàn toàn chữa hoặc thuyên giảm bệnh.

ALL dương tính với nhiễm sắc thể Philadelphia (Ph+) chiếm 15-30 % là ALL ở người trưởng thành và lên đến 5% là ALL bệnh nhi (Faderl S, Garcia-MAnero G, Thomas D, et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia- Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002;6:142-160). Ph+ ALL bệnh nhi có đặc điểm là tuổi lớn hơn (trung bình là 9-10 tuổi so với khoảng 4 tuổi ở tất cả bệnh nhân ALL) và số lượng WBC cao hơn khi chẩn đoán. Ở cả người trưởng thành và trẻ nhỏ, Ph+ ALL có đặc điểm là sự chuyển đoạn thuận nghịch giữa các nhiễm sắc thể 9 và 22 (t(9;22)(q34;q11)) gây ra sự dung hợp của gen BCR trên nhiễm sắc thể 22 với trình tự gen ABL hoán vị từ nhiễm sắc thể 9, gây ra sự biểu hiện protein BCR-ABL1. Có hai biến thể chính của BCR-ABL1, p190BCR-ABL1, có thể phát hiện trong khoảng 85% bệnh nhân Ph+ ALL, và p210 BCR-ABL1, đặc trưng của CML, xác định trong khoảng 15% bệnh nhân Ph+ ALL (Dombret H, Galbert J, Boiron J, et al. Outcome of Treatment in Adults with Philadelphia chromosome-posititve acute lymphoblastic leukemia- Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. Blood 2002;100:2357-2366; Faderl S, Garcia-MAnero G, Thomas D, et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia- Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002;6:142-160).

Việc điều trị ALL là dựa trên phân nhóm nguy cơ của mỗi bệnh nhân, với việc điều trị mức độ ngày càng tăng lên của các bệnh nhân có nguy cơ tái phát cao hơn; chiến lược này tối đa hóa tốc độ thuyên giảm bệnh trong khi vẫn hạn chế độc tính không mong muốn. Quá trình này đang phát triển dần, từ việc đưa liệu pháp hóa trị kết hợp và điều trị cho bệnh bạch cầu hệ thần kinh trung ương tiền triệu chứng đến các chế độ điều trị chuyên sâu, mới hơn cho bệnh nhân có nguy cơ tái phát cao (C. H. Pui and W. E. Evans. Acute Lymphoblastic Leukemia New Engl J Med 1998;339:605-615;). Trước khi phát triển imatinib, bệnh nhân Ph+ALL được điều trị bằng hóa trị liệu chuyên sâu sau đó cấy ghép tế bào mầm tạo huyết (HSCT), lý tưởng là với người cho cùng huyết thống phù hợp, do điều này thể hiện là cải thiện EFS so với hoặc HSCT với

người cho khác hoặc chỉ liệu pháp hóa trị liệu riêng biệt. Một cách tổng thể, và trái ngược với phần lớn bệnh nhi mắc ALL, bệnh nhân mắc Ph+ALL có tiên lượng xấu với tỷ lệ sống không bệnh (EFS) thấp (Arico M, Valsecchimg, Camitta B, Schrappe M, Chessells J, Baruchel A, Gaynon P, Silverman L, Janka-Schaubg, Kamps W, et al. New Engl J Med 2000;342:998-1006).

Các liệu pháp đang có (như GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF®, ICLUSIGTM và tương tự) gắn kết với vị trí gắn kết ATP của miền kinaza. Ngược lại, hợp chất theo sáng chế là chất ức chế BCR-ABL1, ABL1 và ABL2 có tiềm năng gắn kết với vị trí trên miền kinaza xa với vị trí gắn kết ATP.

Do đó, hợp chất theo sáng chế với cơ chế tác dụng dị lập thể mới của nó, có thể được sử dụng làm liệu pháp riêng biệt hoặc có thể được sử dụng tiếp theo sau hoặc kết hợp với liệu pháp đã có được chọn từ GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF® và ICLUSIGTM.

Đối với liệu pháp riêng biệt, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị bệnh và rối loạn bệnh liên quan đến BCR-ABL1, ABL1 và ABL2. BCR-ABL1 có thể là kiểu dại hoặc BCR-ABL1 đột biến được chọn từ V299L, T315I, F317I/L, Y253F/H, E255K/V, và F359C/V. Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân không đáp ứng với các liêu pháp đang có khi kết quả của các đột biến xuất hiện ở vị trí gắn kết ATP. Với liệu pháp kết hợp, hợp chất theo sáng chế là một cơ hội duy nhất để điều trị bệnh nhân mắc bệnh bạch cầu Ph+ bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa hai chất ức chế BCR-ABL tiềm năng khác biệt về cơ chế. Phương pháp kết hợp trong lâm sàng có thể khiến cho bệnh nhân giảm sâu và liên tục hơn trọng lượng khối u với nguy cơ tái phát giảm.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị cho động vật máu nóng mắc bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), phương pháp này bao gồm sử dụng cho động vật này lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án khác, động vật máu nóng là người (bệnh nhân).

Theo một phương án khác, hợp chất theo sáng chế là (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến việc điều trị cho động vật máu nóng mắc bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL) bao gồm cho động vật này sử dụng liên tục lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó và lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất được chọn từ imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib và bafetinib.

Theo một phương án khác, động vật máu nóng là người (bệnh nhân).

Theo một phương án khác, hợp chất theo sáng chế là (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án khác, liều của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) là nằm trong khoảng từ 90 đến 130mg.

Theo một phương án khác, liều của nilotinib là nằm trong khoảng từ 10 đến 50mg/kg, Imatinib là nằm trong khoảng từ 50 đến 200mg/kg, dasatinib là nằm trong khoảng từ 5 đến 20mg/kg hoặc ponatinib là nằm trong khoảng từ 2 đến 10mg/kg.

Theo một phương án khác, liều của bosutinib là 500mg.

Theo phương án khác, động vật máu nóng mắc bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL) có thể được điều trị bao gồm việc sử dụng cho động vật này đồng thời lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó và lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất được chọn từ imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib và bafetinib.

Theo một phương án khác, động vật máu nóng là người (bệnh nhân).

Theo một phương án khác, hợp chất theo sáng chế là (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án khác, liều của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) là nằm trong khoảng từ 90 đến 130mg.

Theo một phương án khác, liều của nilotinib là nằm trong khoảng từ 10 đến 50mg/kg, Imatinib là nằm trong khoảng từ 50 đến 200mg/kg, dasatinib là nằm trong khoảng từ 5 đến 20 mg/kg hoặc ponatinib là nằm trong khoảng từ 2 đến 10mg/kg.

Theo một phương án khác, liều của bosutinib là 500mg.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị cho động vật máu nóng mắc bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), phương pháp này bao gồm sáng chế cho động vật này đồng thời lượng có hiệu quả điều trị của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) hoặc muối dược dụng của nó và lượng có hiệu quả điều trị của Nilotinib.

Theo phương án khác, động vật máu nóng mắc bệnh bạch cầu được chọn từ bệnh bạch cầu tủy xương mãn tính (CML) và bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL) có thể được điều trị,gồm sử dụng cho động vật này đồng thời lượng có hiệu quả điều trị của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (hợp chất Ví dụ 9) hoặc muối dược dụng của nó và lượng có hiệu quả điều trị Nilotinib.

Hợp chất có công thức (I) cũng có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất chống ung thư khác. Các hợp chất như vậy bao gồm, nhưng không giới hạn ở chất ức chế ribonucleotit reductaza, chất ức chế topoisomerazaI; chất ức chế JAK, như ruxolitinib; chất ức chế giãn cơ, như LDE225; interferon; chất ức chế topoisomerazaII; hợp chất tác dụng lên vi ống; hợp chất alkyl hóa; chất ức chế histon deaxetylaza; chất ức chế mTOR, như RAD001; chất kháng chuyển hóa chống ung thư; hợp chất platin; hợp chất hướng đích/làm giảm hoạt tính protein hoặc lipit kinaza, chất ức chế metionin aminopeptidaza; chất điều hòa đáp ứng sinh học; chất ức chế chất đồng phân gây ung thư Ras; chất ức chế telomeraza; chất ức chế proteasom; hợp chất sử dụng trong điều trị các bệnh máu ác tính, như fludarabin; hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của PKC, như midostaurin; chất ức chế HSP90 như 17-AAG (17-alylamino-geldanamyxin, NSC330507), 17-DMAG (17-dimetylaminoetylamino-17-demetoxy-

geldanamyxin, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 from Conforma Therapeutics, HSP990 và AUY922; temozolomit (TEMODAL®); chất ức chế protein vùng sống lưng kinesin, như SB715992 hoặc SB743921 từ GlaxoSmithKline, hoặc pentamidin/chlorpromazin từ CombinatoRx; chất ức chế PI3K, như BEZ235, BKM120 hoặc BYL719; chất ức chế MEK như ARRY142886 từ Array PioPharma, AZD6244 từ AstraZeneca, PD181461 từ Pfizer, leucovorin, chất gắn kết EDG, hợp chất kháng bệnh bạch cầu, chất ức chế S-adenosylmetionin decarboxylaza, kháng thể chống tăng sinh hoặc hợp chất hóa trị liệu khác. Hơn nữa, cách khác hoặc kết hợp, chúng có thể được sử dụng kết hợp với phương pháp xạ trị ion hóa. Hơn nữa, vào hoặc ngoài, chúng có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế JAK, như ruxolitinib.

Hơn nữa, cách khác hoặc kết hợp chúng có thể được sử dụng kết hợp với chất ức chế giãn cơ, như LDE225.

Hơn nữa, cách khác hoặc kết hợp chúng có thể được sử dụng kết hợp với interferon.

Thuật ngữ "chất ức chế ribonucleotit reductaza" là để chỉ các chất tương tự pyrimidin hoặc purin nucleosit bao gồm, nhưng không hạn chế ở, fludarabin và/hoặc cytosin arabinosit (ara-C), 6-thioguanin, 5-floraxil, cladribin, 6-mercaptopurin (đặc biệt là kết hợp với ara-C kháng ALL), clofarabin, nelarabin (tiền chất của 9-β-arabinofuranosylguanin, ara-G), pentostatin, hydroxyurea hoặc dẫn xuất 2-hydroxy-1H-isoindol-1,3-dion (Nandy et al., Acta Oncologica 1994;33:953-961.

Thuật ngữ "chất ức chế topoisomeraza I" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở topotecan, gimatecan, irinotecan, camptothecian và chất tương tự của nó, 9-nitrocamptothexin và thể liên hợp camptothecin đại phân tử PNU-166148 (hợp chất A1 trong WO99/ 17804). Irinotecan có thể được sử dụng, ví dụ ở dạng được bán trên thị trường, ví dụ dưới tên thương mại CAMPTOSAR. Topotecan có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng được bán trên thị trường, ví dụ dưới tên thương mại HYCAMTIN.

Thuật ngữ "chất ức chế topoisomeraza II" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở anthraxyclin như doxorubicin (bao gồm chế phẩm liposom, ví dụ CAELYX), daunorubixin, epirubixin, idarubixin và nemorubixin, anthraquinon mitoxantron và losoxantron, và podophillotoxin etoposit và teniposit. Etoposit có thể

được sử dụng, ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại ETOPOPHOS. Teniposit có thể được sử dụng, ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại VM 26-BRISTOL. Doxorubixin có thể được sử dụng, ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại ADRIBLASTIN hoặc ADRIAMYCIN. Epirubixin có thể được sử dụng, ở dạng như được bán trên thị trường. với tên thương mại FARMORUBICIN. Idarubixin có thể được sử dụng, ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại ZAVEDOS. Mitoxantron có thể được sử dụng, ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại NOVANTRON.

Thuật ngữ "hợp chất tác dụng lên vi ống" đề cập đến hợp chất ổn định vi ống, phân giải vi ống và chất ức chế sự polyme hóa vi ống bao gồm, nhưng không hạn chế ở taxan, ví dụ paclitaxel và docetaxel, alkaloit dừa cạn, ví dụ, vinblastin, đặc biệt là vinblastin sulfat, vincristin đặc biệt là vincristin sulfat, và vinorelbin, discodermolit, cochixin và epothilon và dẫn xuất của nó, ví dụ epothilon B hoặc D hoặc dẫn xuất của nó. Paclitaxel có thể được sử dụng ví dụ ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ TAXOL. Docetaxel có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại TAXOTERE. Vinblastin sulfat có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại VINBLASTIN R.P.. Vincristin sulfat có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại FARMISTIN. Discodermolit có thể có được, ví dụ, như bộc lộ trong US 5,010,099. Cũng bao gồm các dẫn xuất Epothilone được bộc lộ trong WO 98/10121, US 6,194,181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 và WO 00/31247. Đặc biệt ưu tiên là Epothilone A và/hoặc B.

Thuật ngữ "hợp chất alkyl hóa" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở, xyclophosphamit, ifosfamit, melphalan hoặc nitrosourea (BCNU hoặc Gliadel). Xyclophosphamit có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại XYCLOSTIN. Ifosfamit có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại HOLOXAN.

Thuật ngữ "chất ức chế histon deaxetylaza" hoặc "chất ức chế HDAC" đề cập đến hợp chất ức chế histon deaxetylaza và có hoạt tính chống tăng sinh. Nó bao gồm hợp chất như LDH589 được bộc lộ trong WO 02/22577, đặc biệt là N-hydroxy-3-[4-[[(2-hydroxyetyl)[2-(1H-indol-3-yl)etyl]-amino]metyl]phenyl]-2E-2-propenamit, N-

hydroxy-3-[4-[[[2-(2-metyl-1H-indol-3-yl)-etyl]-amino]metyl]phenyl]-2E-2-propenamit và muối dược dụng của của nó. Nó đặc biệt còn bao gồm axit suberoylanilide hydroxamic (SAHA).

Thuật ngữ "chất kháng chuyển hóa chống ung thư" bao gồm, nhưng không hạn chế ở, 5-flouraxil hoặc 5-FU, capecitabin, gemcitabin, hợp chất demetyl hóa ADN, như 5-azacytidin và decitabin, methotrexat và edatrexat, và chất đối kháng axit folic như pemetrexed. Capecitabin có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như dược bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại XELODA. Gemcitabin có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại GEMZAR.

Thuật ngữ "hợp chất platin" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở, carboplatin, cis-platin, cisplatinum và oxaliplatin. Carboplatin có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại CARBOPLAT. Oxaliplatin có thể được sử dụng, ví dụ, ở dạng như được bán trên thị trường, ví dụ với tên thương mại ELOXATIN.

Thuật ngữ "hợp chất hướng đích/làm giảm hoạt tính protein hoặc lipit kinaza"; hoặc "hoạt tính protein hoặc lipit phosphataza" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở, chất ức chế protein tyrosin kinaza và/hoặc serin và/hoặc threonin kinaza hoặc chất ức chế lipit kinaza, ví dụ:

a) hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của các chất trong họ ABL1, các sản phẩm dung hợp gen của chúng (ví dụ BCR-ABL1 kinaza) và gen đột biến, như hợp chất hướng đích làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của các chất trong họ ABL1 và các sản phẩm dung hợp gen, ví dụ imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib, bafetinib, PD180970, AG957, NSC 680410 và PD173955;

b) hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của các chất trong họ protein kinaza C (PKC- protein kinase C) và Raf của serin/threonin kinaza, các chất của họ MEK, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, và Ras/MAPK, và/hoặc các thành phần của họ kinaza phụ thuộc xyclin (CDK –cyclin dependent kinase) và đặc biệt là các dẫn xuất staurosporin bộc lộ trong US 5,093,330, ví dụ midostaurin; ví dụ về hợp chất khác bao gồm ví dụ UCN-01, safingol, BAY 43-9006, Bryostatin 1, Perifosine; Ilmofosine; RO 318220 và RO 320432; GO 6976; Isis 3521; LY333531/LY379196;

hợp chất isochinolin như bộc lộ trong WO 00/09495; FTIs; BEZ235 (chất ức chế P13K) hoặc AT7519 (chất ức chế CDK);

Thuật ngữ "chất ức chế mTOR" đề cập đến hợp chất ức chế đích của rapamyxin của động vật có vú (mTOR) và còn bao gồm tác dụng chống tăng sinh (Rapamune®), everolimus (Certican™), CCI-779 và ABT578.

Thuật ngữ "chất điều hòa đáp ứng sinh học" được sử dụng trong đây là để chỉ lymphokin hoặc interferon, ví dụ interferon γ.

Thuật ngữ "chất ức chế đồng phân Ras gây ung thư", ví dụ H-Ras, K-Ras, hoặc N-Rs, như được sử dụng trong đây là để chỉ hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính gây ung thư của Ras ví dụ "chất ức chế farnesyl transferaza" ví dụ L-744832, DK8G557 hoặc $R_1$15777 (Zarnestra).

Thuật ngữ "chất ức chế telomeraza" được sử dụng trong đây là để chỉ hợp chất nhắm đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của telomeraza. Hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của telomeraza đặc biệt là hợp chất ức chế thụ thể telomeraza, ví dụ telomestatin.

Thuật ngữ "chất ức chế metionin aminopeptidaza" được sử dụng trong đây là để chỉ hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của metionin aminopeptidaza. Hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của metionin aminopeptidaza ví dụ là bengamit hoặc dẫn xuất của nó.

Thuật ngữ "chất ức chế proteasom" được sử dụng trong đây là để chỉ hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của proteasom. Hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của proteasom bao gồm ví dụ Bortezomid (Velcade™)and MLN 341.

Thuật ngữ "chất ức chế HSP90" được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở, hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính ATPaza nội tại của HSP90; phân hủy, nhắm đích, làm giảm hoặc ức chế các protein HSP90 ngoại lai thông qua con đường ubiquitin proteosom. Hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính ATPaza nội tại của HSP90 đặc biệt là hợp chất, protein hoặc kháng thể ức chế hoạt tính ATPaza của HSP90 ví dụ, 17-alylamino,17-demetoxygeldanamyxin

(17AAG), dẫn xuất geldanamyxin; các hợp chất cùng họ geldanamyxin khác; radicicol và chất ức chế HDAC. Chất ức chế HSP90 ví dụ là HSP990 và AUY922.

Để điều trị bệnh bạch cầu tủy xương (AML) ác tính, hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng kết hợp với liệu pháp chữa bệnh bạch cầu chuẩn, cụ thể là kết hợp với liệu pháp sử dụng để điều trị AML. Cụ thể, hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng kết hợp với, ví dụ, chất ức chế farnesyl transferaza và/hoặc các dược chất khác hữu dụng để điều trị AML, như Daunorubicin, Adriamycin, Ara-C, VP-16, Teniposide, Mitoxantrone, Idarubicin, Carboplatinum và PKC412.

Hợp chất hướng đích, làm giảm hoặc ức chế hoạt tính của chất ức chế histon deaxetylaza (HDAC) như natri butyrat và axit suberoylanilit hydroxamic (SAHA) ức chế hoạt tính của các enzym đã biết là histon deaxetylaza. Chất ức chế HDAC cụ thể bao gồm MS275, SAHA, FK228 (trước đây là FR901228), Trichostatin A và hợp chất được bộc lộ trong US 6,552,065, cụ thể, N-hydroxy-3-[4-[[[2-(2-metyl-1H-indol-3-yl)-etyl]-amino]metyl]phenyl]-2E-2-propenamit, hoặc muối dược dụng của nó và N-hydroxy-3-[4-[(2-hydroxyetyl){2-(1H-indol-3-yl)etyl]-amino]metyl]phenyl]-2E-2-propenamit, hoặc muối dược dụng của nó, đặc biệt là muối lactat.

Các phương pháp phá hủy tế bào khối u là để chỉ các phương pháp như chiếu xạ ion hóa. Thuật ngữ "chiếu xạ ion hóa" nêu trên và sau đây có nghĩa là phương pháp chiếu xạ ion hóa ở dạng tia điện từ (như tia X và tia gamma) hoặc các hạt (như hạt alpha và beta). Chiếu xạ ion hóa được đề xuất là, nhưng không hạn chế ở, liệu pháp chiếu xạ và đã biết trong lĩnh vực này. Xem Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles and Practice of Oncology, Devita et al., Eds., 4th Edition, Vol. 1, trang 248-275 (1993).

Thuật ngữ "chất ức chế S-adenosylmetionin decarboxylaza" như được sử dụng trong đây bao gồm, nhưng không hạn chế ở hợp chất được bộc lộ trong US 5,461,076.

"Hợp chất hóa trị khác" khác bao gồm, nhưng không giới hạn ở, alkaloit thực vật, hợp chất hocmon và chất đối kháng; chất điều hòa đáp ứng sinh học, tốt hơn là lymphokin hoặc interferon; oligonucleotit đối nghĩa hoặc dẫn xuất oligonucleotit; shRNA hoặc siRNA; hoặc hợp chất đa dạng khác hoặc hợp chất có cơ chế tác dụng khác hoặc chưa biết rõ.

Cấu trúc của hợp chất hoạt động được xác định bởi Số mã, tên thông thường hoặc tên thương mại có thể được xem từ sách của bản trích yếu chuẩn "The Merck Index" hoặc từ dữ liệu, ví dụ các Patent quốc tế (ví dụ, IMS World Publications).

Không có tài liệu viện dẫn nào trong bản mô tả được hiểu là các tài liệu viện dẫn và tham khảo là tình trạng kỹ thuật của sáng chế mà ảnh hưởng bất lợi đến khả năng bảo hộ của sáng chế.

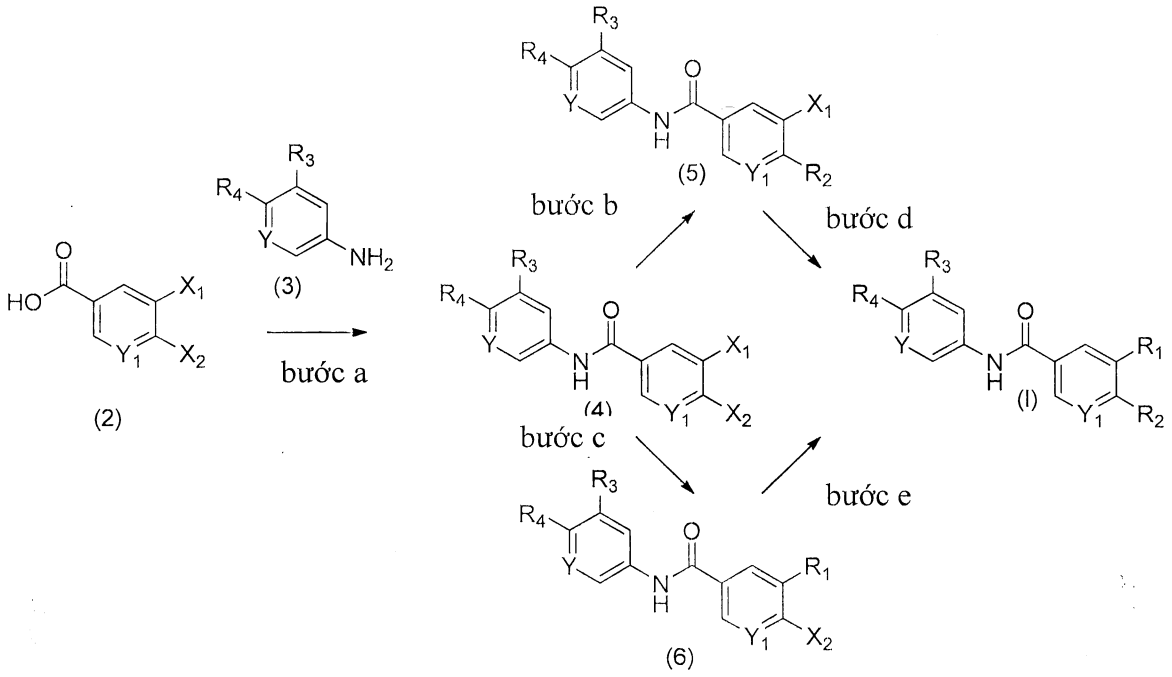
Quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế

Sáng chế cũng bao gồm các quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế. Trong các phản ứng được mô tả, có thể cần thiết bảo vệ các nhóm chức, ví dụ nhóm hydroxy, amino, imino, thio hoặc carboxy, trong đó mong muốn trong sản phẩm cuối cùng, để tránh sự tham gia ngoài mong muốn của chúng vào các phản ứng. Các nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng phù hợp với thực hành chuẩn, ví dụ, xem T.W. Greene và P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley và Sons, 1991.

Khi nhiệt độ được đưa ra, thuật ngữ "khoảng" đã được đưa vào, với các độ lệch nhỏ với trị số đưa ra, ví dụ các khoảng biến thiên ±10 %, là có thể chấp nhận được. Tất cả các phản ứng có thể xảy ra trong sự có mặt của một hoặc nhiều chất pha loãng và/hoặc dung môi. Nguyên liệu bắt đầu có thể được sử dụng với các lượng đẳng mol; cách khác, hợp chất có thể được sử dụng dư, ví dụ để làm dung môi hoặc để chuyển dịch cân bằng hoặc để làm tăng tốc độ phản ứng. Các chất hỗ trợ phản ứng, như axit, bazơ hoặc chất xúc tác có thể được bổ sung vào với các lượng thích hợp, như đã biết trong lĩnh vực này, đòi hỏi bởi phản ứng và lần lượt với các quy trình thông thường đã biết.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bởi quy trình như trong Sơ đồ phản ứng I sau:

Sơ đồ phản ứng I:



trong đó Y, Y1, R_1, R_2, R_3 và R_4 như được xác định trong công thức (I) trong phần Mô tả chi tiết sáng chế và X_1 và X_2 là nguyên tử halogen, X_1 có thể được chọn từ clo, brom, hoặc iod và X_2 có thể được chọn từ clo hoặc flo.

Bước a: Hợp chất có công thức (4) có thể được điều chế bằng cách cho phản ứng axit clorua từ hợp chất có công thức (2) với hợp chất có công thức (3) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ tetrahydrofuran, hoặc tương tự), và bazơ hữu cơ (ví dụ diisopropyletylamin, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra từ khoảng 0°C đến khoảng nhiệt độ phòng và có thể cần đến khoảng 2 giờ để hoàn thành.

Axit clorua của hợp chất có công thức (2) có thể được điều chế bằng tác nhân clo hóa (ví dụ thionyl clorua, hoặc oxalyl clorua, hoặc tương tự) trong sự có mặt của chất xúc tác (ví dụ dimetylformamit, hoặc tương tự) và dung môi thích hợp (ví dụ toluen, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng nhiệt độ phòng hoặc bằng cách gia nhiệt đến khoảng 85°C và có thể xảy ra trong khoảng 2 đến khi hoàn thành.

Bước b: Hợp chất có công thức (5) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (4) phản ứng với R_2-H trong đó R_2 là như xác định trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế, trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ 2-propanol, hoặc dimetyl sulfoxit, hoặc tương tự), và bazơ hữu cơ thích hợp (ví dụ diisopropyletylamin, hoặc trietylamin, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng 90°C

đến khoảng 140°C và có thể xảy ra trong khoảng 30 phút đến khoảng 72 giờ đến khi hoàn thành.

Bước c: Hợp chất có công thức (6) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (4), X_1 tốt hơn là brom hoặc iod, phản ứng với R_1-Z_1, trong đó R_1 là như xác định trong đây, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (Phản ứng Suzuki), trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ dimetoxyetan, hoặc hỗn hợp chứa dimetoxyetan và nước, hoặc tương tự), bazơ vô cơ thích hợp (ví dụ natri cacbonat, hoặc tương tự), và chất xúc tác paladi (ví dụ bis(triphenylphosphin)paladi(II) diclorua, hoặc phức 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferroxen-paladi(II)diclorua diclometan, hoặc tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0), hoặc tương tự) và tùy chọn đồng dung môi (ví dụ, etanol, hoặc tương tự. Phản ứng xảy ra từ khoảng 80°C đến khoảng 130°C và có thể mất từ khoảng 20 phút đến khoảng 18 giờ để hoàn thành.

Cách khác, bước c có thể xảy ra bằng cách cho hợp chất có công thức (4), X1 tốt hơn là brom hoặc iod, phản ứng với R_1-Z_2, trong đó R_1 như xác định trong đây, Z_2 tốt hơn là thuốc thử trialkylstannyl (phản ứng Stille), trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ dimetyl sulfoxit, hoặc tương tự), và chất xúc tác paladi (ví dụ tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0). Phản ứng xảy ra ở khoảng 140°C và có thể cần đến khoảng 18 giờ để hoàn thành.

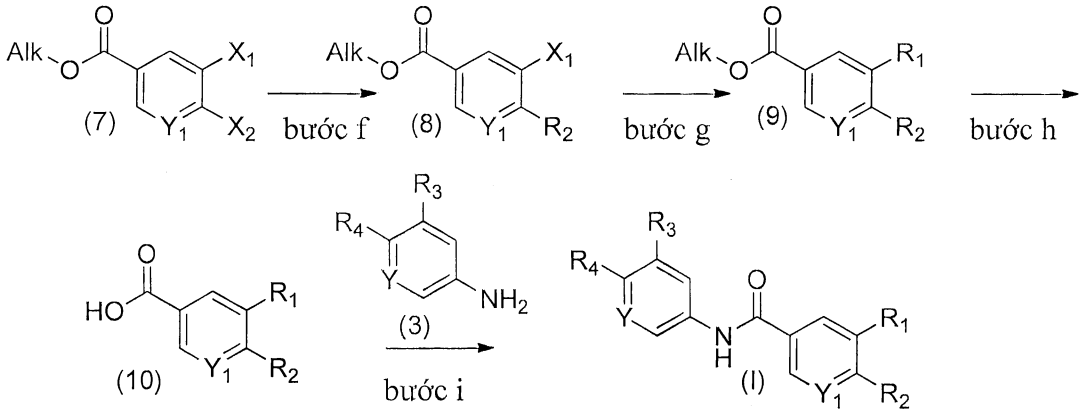
Bước d: Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (5), X_1 tốt hơn là brom hoặc iod, phản ứng với R_1-Z_1, trong đó R_1 là như xác định trong đây, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (Phản ứng Suzuki), trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ dimetoxyetan, hoặc hỗn hợp chứa dimetoxyetan và nước, hoặc tương tự), bazơ vô cơ (ví dụ natri cacbonat, hoặc tương tự), và chất xúc tác paladi (ví dụ bis(triphenylphosphin)paladi(II) diclorua, hoặc phức 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferroxen-paladi(II)diclorua diclometan, hoặc tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0), hoặc tương tự) và tùy chọn đồng dung môi (ví dụ, etanol, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng 80-130°C và có thể cần đến khoảng 20 phút đến 2 giờ để hoàn thành.

Bước e: Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (6) phản ứng với R_2-H trong đó R_2 là như xác định trong đây, trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ 2-propanol, hoặc dimetyl sulfoxit, hoặc tương tự),

bazơ hữu cơ (ví dụ diisopropyletylamin, hoặc trietylamin, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng 90-140°C và có thể cần đến từ khoảng 30 phút đến 72 giờ để hoàn thành.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách xử lý theo Sơ đồ phản ứng II sau:

Sơ đồ phản ứng II:



trong đó Y, Y1, R_1, R_2, R_3 và R_4 như được xác định trong công thức (I) trong phần Mô tả chi tiết sáng chế và X_1 và X_2 là nguyên tử halogen, X_1 cụ thể clo, brom, hoặc iod, X_2 cụ thể clo hoặc flo và Alk là mạch alkyl ngắn cụ thể là metyl.

Bước f: Hợp chất có công thức (8) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (7) phản ứng với R_2-H trong đó R_2 là như xác định trong đây, tương tự như Bước b

Bước g: Hợp chất có công thức (9) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (8), X_1 tốt hơn là brom hoặc iod, phản ứng với R_1-Z_1, trong đó R_1 là như xác định trong đây, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (phản ứng Suzuki), tương tự như Bước d.

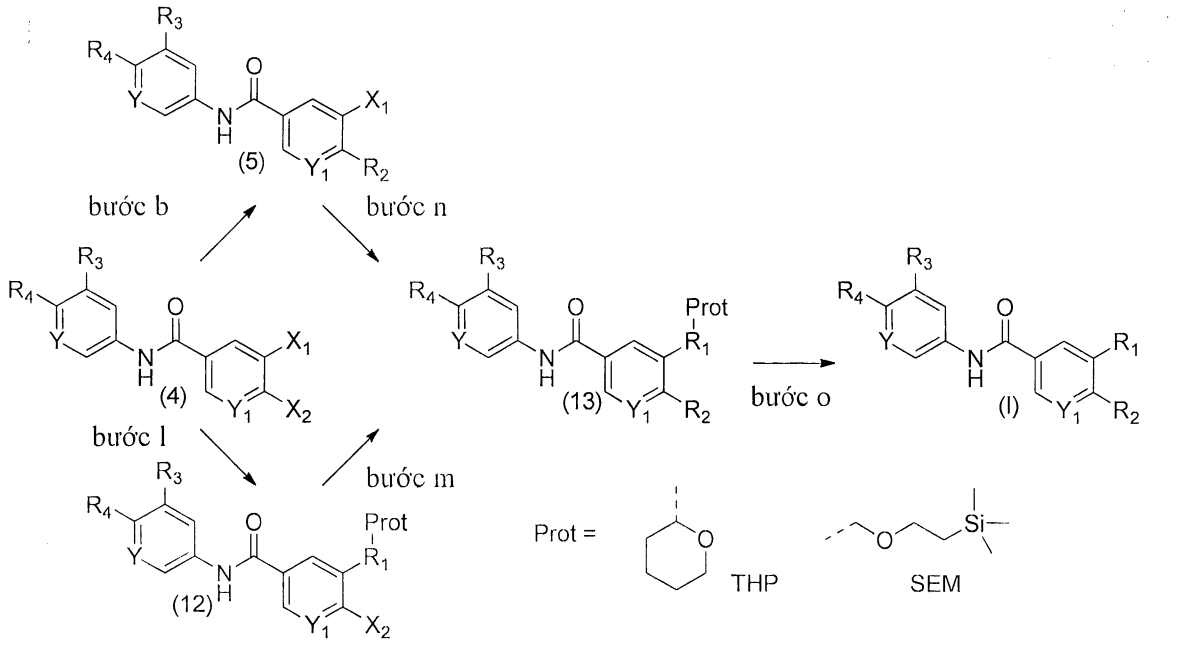
Bước h: Hợp chất có công thức (10) có thể được điều chế bằng cách thủy phân este của hợp chất có công thức (9) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ nước, hoặc tương tự), bazơ vô cơ (ví dụ natri hydroxit, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng và có thể cần đến khoảng 2 giờ để hoàn thành.

Bước i: Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (10) phản ứng với hợp chất có công thức (3) trong sự có mặt của thuốc

thử kết hợp (như 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua và hydroxybenzotriazol, hoặc tương tự), bazơ thích hợp (như N-metylmorpholin, diisopropyletylamin, hoặc tương tự) và dung môi thích hợp (như diclometan, dimetylformamit, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng và có thể cần đến khoảng 12 giờ để hoàn thành.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách xử lý theo Sơ đồ phản ứng III sau:

Sơ đồ phản ứng III:



trong đó Y, Y_1, R_1, R_2, R_3 và R_4 như được xác định trong công thức (I) trong phần Mô tả chi tiết sáng chế và X_1 và X_2 là nguyên tử halogen, X_1 cụ thể clo, brom, hoặc iod, X_2 cụ thể clo hoặc flo, Prot là nhóm bảo vệ, cụ thể là tetrahydro-2H-pyran-2-yl (THP) hoặc 2-(trimetylsilyl)etoxy]metyl (SEM) trong đó R_1 là pyrazol với NH tự do.

Bước l: Hợp chất có công thức (12) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (4) phản ứng với Prot-R_1-Z_1 trong đó R_1 là như xác định trong đây, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (Phản ứng Suzuki), Prot cụ thể là THP hoặc SEM, tương tự như Bước c.

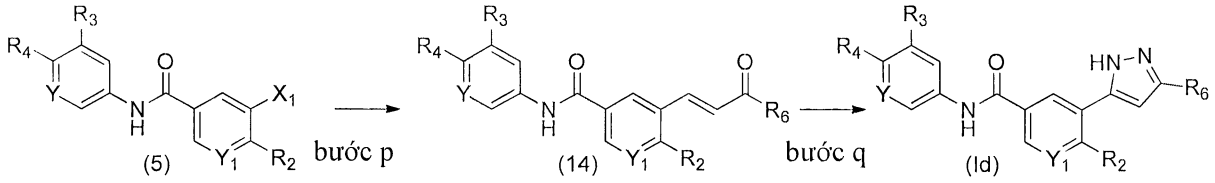
Bước m: Hợp chất có công thức (13) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (12) phản ứng với R_2-H trong đó R_2 là như xác định trong đây, tương tự như Bước e.

Bước n: Hợp chất có công thức (13) có thể được điều chế bằng cách cho phản ứng hợp chất có công thức (5) với Prot-R_1-Z_1 trong đó R_1 là như xác định trong đây, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (Phản ứng Suzuki), Prot cụ thể là THP hoặc SEM, tương tự như Bước d.

Bước o: Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (13) phản ứng với tác nhân loại nhóm bảo vệ (ví dụ tetra-n-butylamoni florua, hoặc axit trifloaxetic, hoặc axit clohydric, hoặc tương tự) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ tetrahydrofuran, hoặc diclometan, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng hoặc đến khoảng 80°C và có thể cần đến khoảng từ 2 đến 24 giờ để hoàn thành.

Hợp chất có công thức (I), trong đó R_1 là pyrazol được thé bởi nhóm R_6, có thể được điều chế bằng cách xử lý theo Sơ đồ phản ứng sau IV:

Sơ đồ phản ứng IV:



trong đó Y, Y_1, R_2, R_3, R_4 và R_6 như được xác định trong công thức (I) trong phần Mô tả chi tiết sáng chế và X_1 là nguyên tử halogen, cụ thể brom, hoặc iod, và R_6 là alkyl thấp, cụ thể metyl.

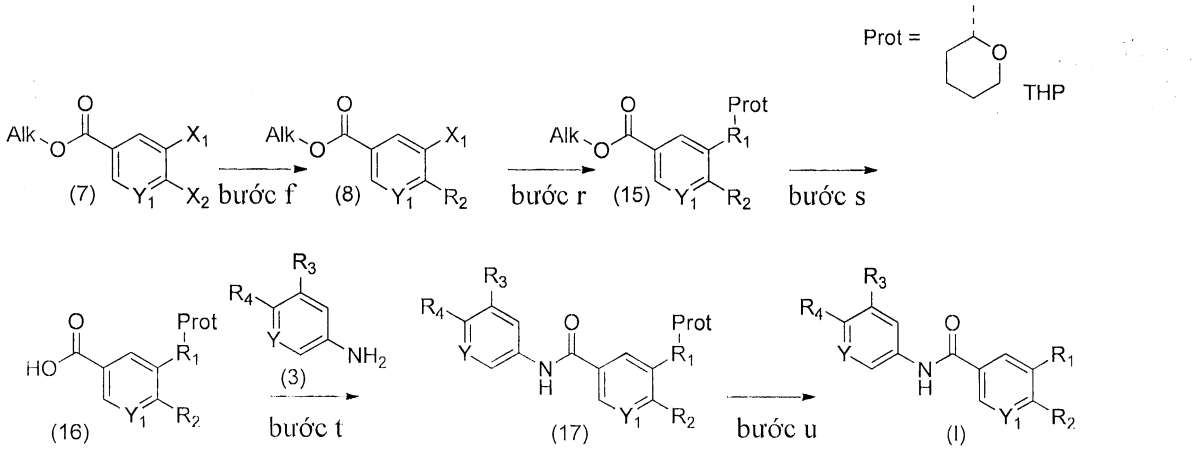
Bước p: Hợp chất có công thức (14) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (5) phản ứng với alkylvinylketon (ví dụ metylvinylketon, hoặc tương tự) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ dimetylformamit, hoặc tương tự), bazơ hữu cơ (ví dụ trietylamin, hoặc tương tự), và chất xúc tác paladi (ví dụ tri-o-tolylphosphin-paladi diaxetat, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng 130°C và có thể cần đến 16 giờ để hoàn thành.

Bước q: Hợp chất có công thức (Id) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (14) bằng cách cho phản ứng phản ứng với hydrazua được bảo vệ

(ví dụ hydrazua của axit toluen-4-sulfonic, hoặc tương tự) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ etanol, hoặc tương tự), Phản ứng xảy ra ở khoảng 80°C và có thể cần đến 2 giờ để hoàn thành. Sau đó, nhóm bảo vệ được loại *in situ* với muối của rượu (ví dụ natri metoxyde, hoặc tương tự). Việc loại nhóm bảo vệ xảy ra ở khoảng 80°C và có thể cần đến 48 giờ để hoàn thành.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách xử lý theo Sơ đồ phản ứng sau V:

Sơ đồ phản ứng V:



trong đó Y, Y1, R_1, R_2, R_3 và R_4 như được xác định trong công thức (I) trong phần Mô tả chi tiết sáng chế, X_1 và X_2 là nguyên tử halogen, X_1 cụ thể là clo, brom, hoặc iod, X_2 cụ thể là clo hoặc flo và Alk là mạch alkyl ngắn cụ thể là metyl, Prot là nhóm bảo vệ, cụ thể là tetrahydro-2H-pyran-2-yl (THP) khi R_1 là pyrazol với NH tự do.

Bước r: Hợp chất có công thức (15) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (8), X1 tốt hơn là brom hoặc iod, phản ứng với Prot-R_1-Z_1, trong đó R_1 là như xác định trong đây, Prot cụ thể là tetrahydro-2H-pyran-2-yl (THP) trong đó R_1 là pyrazol với NH tự do, Z_1 tốt hơn là axit hoặc este boronic (Phản ứng Suzuki), tương tự như Bước d.

Bước s: Hợp chất có công thức (16) có thể được điều chế bằng cách thủy phân este hợp chất có công thức (15) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ nước và metanol, hoặc tương tự), bazơ vô cơ (ví dụ natri hydroxit, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng và có thể cần đến khoảng 14 giờ để hoàn thành.

Bước t: Hợp chất có công thức (17) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất (16) phản ứng với hợp chất có công thức (3) trong sự có mặt của thuốc thử kết hợp (như 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua và hydroxybenzotriazol, hoặc tương tự), bazơ thích hợp (như N-metylmorpholin, hoặc tương tự) và dung môi thích hợp (như tetrahydrofuran, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở khoảng 25°C-65°C và có thể cần đến khoảng 2 ngày để hoàn thành.

Bước u: Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (17) phản ứng với tác nhân loại nhóm bảo vệ (ví dụ axit clohydric, hoặc tương tự) trong sự có mặt của dung môi thích hợp (ví dụ tetrahydrofuran và metanol, hoặc tương tự). Phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng khoảng 2 giờ để hoàn thành.

Ví dụ chi tiết về quy trình tổng hợp hợp chất có công thức (I) có thể tìm thấy trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, dưới đây.

Quy trình khác để tạo ra hợp chất theo sáng chế

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế ở dạng dược dụng muối cộng axit bằng cách cho phản ứng dạng bazơ tự do của hợp chất này với axit dược dụng vô cơ hoặc hữu cơ. Cách khác, muối cộng bazơ dược dụng của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách cho phản ứng dạng axit tự do của hợp chất này với bazơ dược dụng vô cơ hoặc hữu cơ.

Hợp chất có công thức (I) cũng có thể được biến đổi bằng cách gắn các nhóm chức thích hợp để làm tăng đặc tính chọn lọc sinh học. Sự biến đổi kiểu này đã được biết rõ trong lĩnh vực và bao gồm các biến đổi làm tăng tính thấm vào hệ sinh học (ví dụ máu, hệ bạch huyết, hệ thần kinh trung ương, tinh hoàn), làm tăng sinh khả dụng, làm tăng độ tan để đi vào đường dùng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ tiêm, truyền), thay đổi sự chuyển hóa và/hoặc thay đổi tốc độ bài tiết. Ví dụ về kiểu biến đổi này bao gồm nhưng không giới hạn ở este hóa, ví dụ với polyetylen glycol, tạo dẫn xuất với phần tử thế pivaloyloxy hoặc axit béo, chuyển hóa thành carbamat, hydroxyl hóa nhân thơm và thế dị nguyên tử trong vòng thơm. Khi hợp chất có công thức (I), và/hoặc N-oxit, tautome và/hoặc muối của nó (tốt hơn là dược dụng) được đề cập, nó sẽ bao gồm công thức biến đổi này, trong khi tốt hơn là hợp chất có công thức (I), N-oxit của nó, tautome của nó và/hoặc muối của nó.

Cách khác, các dạng muối của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng muối của nguyên liệu bắt đầu hoặc các chất trung gian. Xét theo mối quan hệ gần giữa hợp chất mới có công thức (I) ở dạng tự do và công thức ở dạng muối của chúng, bao gồm các muối có thể được sử dụng làm chất trung gian, ví dụ khi tinh chế hoặc xác định hợp chất mới, bất kỳ sự đề cập đến các hợp chất hoặc hợp chất có công thức (I) trên đây và sau đây sẽ được hiểu là đề cập đến hợp chất ở dạng tự do và/hoặc cũng đề cập đến một hoặc nhiều muối của nó, là thích hợp và có lợi, cũng như đến một hoặc nhiều solvat, ví dụ hydrat.

Muối được tạo thành, ví dụ, là muối cộng axit, tốt hơn là với axit hữu cơ hoặc vô cơ, từ hợp chất có công thức (I) với nguyên tử nitơ bazơ, đặc biệt là muối dược dụng. Axit vô cơ thích hợp là, ví dụ, axit halogenic, như axit clohydric, axit sulfuric, hoặc axit phosphoric. Các axit vô cơ thích hợp là, ví dụ, axit carboxylic, axit phosphonic, axit sulfonic hoặc axit sulfamic, ví dụ axit axetic, axit propionic, axit octanoic, axit decanoic, axit dodecanoic, axit glycolic, axit lactic, axit fumaric, axit sucxinic, axit malonic, axit adipic, axit pimelic, axit suberic, axit azelaic, axit malic, axit tartric, axit xitric, axit amin, như axit glutamic hoặc axit aspartic, axit maleic, axit hydroxymaleic, axit metylmaleic, axit xyclohexancarboxylic, axit adamantancarboxylic, axit benzoic, axit salicylic, axit 4-aminosalicylic, axit phtalic, axit phenylaxetic, axit mandelic, axit xinnamic, axit metan- hoặc etan-sulfonic, axit 2-hydroxyetansulfonic, axit etan-1,2-disulfonic, axit benzensulfonic, axit 4-toluensulfonic, axit 2-naphtalensulfonic, axit 1,5-naphtalen-disulfonic, axit 2- hoặc 3-metylbenzensulfonic, axit metylsulfuric, axit etylsulfuric, axit dodexylsulfuric, axit N-xyclohexylsulfamic, axit N-metyl-, N-etyl- hoặc N-propyl-sulfamic, hoặc các axit proton hữu cơ khác, như axit ascorbic. Muối thông thường có thể được chuyển hóa thành hợp chất tự do, ví dụ bằng cách xử lý với hợp chất bazơ thích hợp, ví dụ với cacbonat của kim loại kiềm, hydrocacbonat của kim loại kiềm, hoặc hydroxit của kim loại kiềm, đặc trưng kali cacbonat hoặc natri hydroxit.

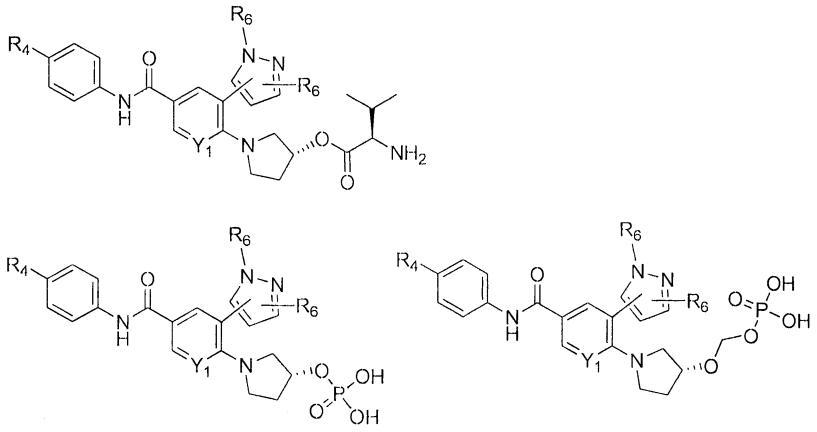
Với mục đích tách hoặc tinh chế, cũng có thể sử dụng các muối không dược dụng, ví dụ picrat hoặc perclorat. Để sử dụng điều trị, chỉ sử dụng muối dược dụng hoặc hợp chất tự do (khi có thể ở dạng dược phẩm), và do đó chúng được ưu tiên.

Dạng axit tự do hoặc bazơ tự do của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế lần lượt từ cộng bazơ hoặc muối cộng axit tương ứng muối. Ví dụ hợp chất theo

sáng chế ở dạng muối cộng axit có thể được chuyển hóa thành bazơ tự do tương ứng bằng cách xử lý với bazơ thích hợp (ví dụ, dung dịch amoni hydroxit, natri hydroxit, và tương tự). Hợp chất theo sáng chế ở dạng muối cộng bazơ có thể được chuyển hóa thành axit tự do tương ứng bằng cách xử lý với axit thích hợp (ví dụ, axit clohydric, etc.).

Hợp chất theo sáng chế ở dạng không oxit hóa có thể được điều chế từ N-oxit của hợp chất theo sáng chế bằng cách xử lý với tác nhân khử (ví dụ, lưu huỳnh, lưu huỳnh dioxit, triphenyl phosphin, liti borohydrua, natri borohydrua, phosphorus triclorua, tribromit, hoặc tương tự) trong dung môi hữu cơ trơ thích hợp (ví dụ axetonitril, etanol, dung dịch dioxan, hoặc tương tự) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 80°C.

Dẫn xuất tiền chất của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết với các chuyên gia trong lĩnh vực này (ví dụ, chi tiết hơn xem Saulniermg, Langley DR, Kadow JF, Senter PD, Knipe JO, Tun MM, Vyas DM và Doyle TW (1994) Synthesis of etoposide phosphat, BMY-4048 1: a watersoluble clinically active prodrug of etoposide. Bioorg Med Chem Lett 4:2567-2572; và Rautio J, Kumpulainen H, Heimbach T, Oliyai R, Oh D, Järvinen T và Savolainen J (2008); Prodrugs: design và clinical applications. Nat Rev Drug Discov. 7:255-70). Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể tạo ra phosphat este của nhóm hydroxyl. Cụ thể hơn, hợp chất theo sáng chế có thể tạo ra tiền chất như nêu sau:



Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế có thể là tiền chất của hợp chất khác theo sáng chế. Để minh họa, hợp chất ví dụ 36 là tiền chất của hợp chất ví dụ 37 và hợp chất ví dụ 37 là chất chuyển hóa tiềm năng của hợp chất ví dụ 36.

Dẫn xuất được bảo vệ của hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra bởi các phương pháp đã biết với các chuyên gia trong lĩnh vực này. Nếu một hoặc nhiều nhóm chức khác, ví dụ carboxy, hydroxy, amino, sulfhydryl hoặc tương tự hoặc là cần được bảo vệ trong nguyên liệu bắt đầu như được mô tả trong đây hoặc tiền chất khác, do chúng không nên tham gia vào phản ứng hoặc gây cản trở phản ứng, thì đó là các nhóm thường được sử dụng trong tổng hợp hợp chất peptit, và cũng thuộc cephalosporin và penixilin, cũng như các dẫn xuất axit nucleic và đường. Nhóm bảo vệ là các nhóm nhóm như vậy sẽ không còn có mặt trong hợp chất cuối cùng khi chúng được loại bỏ, trong khi các nhóm vẫn là phần tử thế không phải là nhóm bảo vệ khi sử dụng trong đây là các nhóm được bổ sung ở giai đoạn nguyên liệu bắt đầu hoặc chất trung gian và được loại bỏ để thu được hợp chất cuối cùng. Cũng trong trường hợp chuyển hóa hợp chất có công thức (I) thành hợp chất khác có công thức (I), các nhóm bảo vệ có thể được đưa vào và loại đi, nếu hữu dụng hoặc cần thiết. Các nhóm bảo vệ đã có mặt trong tiền chất và sẽ bảo vệ các nhóm chức có liên quan chống lại các phản ứng thứ cấp không mong muốn, như axyl hóa, ete hóa, este hóa, oxy hóa, phản ứng phân hủy bởi dung môi, và các phản ứng tương tự. Một đặc điểm của nhóm bảo vệ là chúng có thể thích hợp dễ dàng để rời ra, tức là không có phản ứng thứ cấp không mong muốn, đặc trưng bằng cách phân hủy axeto, phân hủy proton, dung môi phân hủy, khử, phân hủy bằng ánh sáng hoặc cũng có thể bằng hoạt tính enzym, ví dụ trong các điều kiện tương tự như điều kiện sinh lý, và chúng sẽ không có mặt trong sản phẩm cuối cùng. Các chuyên gia biết rõ, hoặc có thể sắp xếp, các nhóm bảo vệ thích hợp với các phản ứng nêu trên và sau đây.

Việc bảo vệ của các nhóm chức như vậy bởi nhóm bảo vệ, bản thân các nhóm bảo vệ, và phản ứng loại chúng được mô tả ví dụ trong các công trình tham khảo chuẩn, như J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London và New York 1973, in T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross và J. Meienhofer), Academic Press, London và New York 1981, trong "Methoden der organischen Chemie" (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke và H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, peptits, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, và Basel 1982, và trong Jochen

Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrat: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of carbohydrat: monosaccarit and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế thuận tiện, hoặc được tạo ra trong quy trình theo sáng chế, như solvat (ví dụ, hydrat). Hydrat của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế thuận tiện bằng cách kết tinh lại từ hỗn hợp dung môi nước/hữu cơ, sử dụng dung môi hữu cơ như dioxin, tetrahydrofuran hoặc metanol.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dạng đồng phân lập thể riêng biệt của chúng bằng cách cho hỗn hợp raxemic của hợp chất này phản ứng với tác nhân phân giải quang hoạt để tạo ra cặp hợp chất đồng phân không đối quang, tách các chất đồng phân không đối quang và thu hồi đồng phân tinh khiết về mặt quang học đồng phân đối ảnh. Khi việc phân giải đồng phân đối ảnh có thể thực hiện bằng các dẫn xuất chất đồng phân không đối quang đồng hóa trị của hợp chất theo sáng chế, ưu tiên các phức phân ly được (ví dụ, muối tinh thể chất đồng phân không đối quang). Chất đồng phân không đối quang có đặc điểm vật lý khác biệt (ví dụ, điểm nóng chảy, điểm sôi, độ hòa tan, tính phản ứng v.v.) và có thể được tách dễ dàng bằng cách sử dụng lợi điểm về các khác biệt này. Các hỗn hợp đồng phân không đối quang ví dụ có thể được tách thành các chất đồng phân không đối quang riêng lẻ bằng cách kết tinh phân đoạn, sắc ký, phân bố dung môi, và các quy trình tương tự. Việc tách này có thể diễn ra hoặc ở mức hợp chất bắt đầu hoặc trong chính hợp chất có công thức (I). Đồng phân đối ảnh có thể được tách thông qua việc tạo muối chất đồng phân không đối quang, ví dụ bằng cách tạo muối với axit bất đối không có đồng phân đối ảnh, hoặc bằng phương pháp sắc ký, ví dụ bằng HPLC, sử dụng cơ chất sắc ký với phối tử khảm. chất đồng phân đối ảnh tinh khiết quang học sau đó được thu hồi, cùng với tác nhân phân giải, bằng phương pháp thực hành bất kỳ mà không gây ra sự raxemic hóa. Mô tả chi tiết hơn về các kỹ thuật có thể áp dụng để phân giải các đồng phân lập thể của hợp chất từ hỗn hợp raxemic của chúng có thể tìm thấy trong Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, “Enantiomers, Racemates and Resolutions”, John Wiley And Sons, Inc., 1981.

Tóm lại, hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bởi quy trình, bao gồm:

(a) quy trình có sơ đồ phản ứng I-V; và

(b) tùy chọn chuyển hóa hợp chất theo sáng chế thàn muối dược dụng;

(c) tùy chọn chuyển hóa dạng muối của hợp chất theo sáng chế thành dạng không phải muối;

(d) tùy chọn chuyển hóa dạng không oxit hóa của hợp chất theo sáng chế thành N-oxit dược dụng;

(e) tùy chọn chuyển hóa dạng N-oxit của hợp chất theo sáng chế thành dạng không oxit hóa của nó;

(f) tùy chọn phân giải đồng phân riêng biệt của hợp chất theo sáng chế từ hỗn hợp các đồng phân;

(g) tùy chọn chuyển hóa hợp chất không tạo dẫn xuất theo sáng chế thành dẫn xuất tiền chất dược dụng; và

(h) tùy chọn chuyển hóa dẫn xuất tiền chất của hợp chất theo sáng chế thành dạng không tạo dẫn xuất của nó.

Insofar là một sản phẩm của nguyên liệu bắt đầu nguyên liệu không được mô tả cụ thể, hợp chất này được biết là hoặc có thể được điều chế tương tự như phương pháp đã biết trong lĩnh vực này hoặc như được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế sau đây.

Các chuyên gia trong lĩnh vực này sẽ hiểu rõ rằng các dạng biến đổi nêu trên chỉ là phương pháp điều chế đại diện cho hợp chất theo sáng chế, và mặt khác các phương pháp đã biết có thể được sử dụng tương tự.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các Ví dụ sau minh họa sáng chế mà không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Trong các Ví dụ được nêu, nhiệt độ được đưa ra ở độ Celsius. Trừ khi được nêu rõ khác, các phản ứng xảy ra ở nhiệt độ phòng. Hơn nữa, nếu không nêu khác, các điều kiện HPLC phân tích là như sau:

Điều kiện 1: UPLC-MS, cột Acquity BEH C18, 1,7µm, 2,1 x 50mm, lò sấy ở 40°C, dung môi rửa giải: A = nước + 0,1% axit formic và B = MeCN + 0,1% axit formic, gradient từ 20% đến 100% B trong 4,3 phút, dòng 0,7mL/phút, phát hiện UV/VIS (DAD), ESI (+/-),

Điều kiện 2: LC-MS, cột Ascentis® Express C18 2,7µM 2,1 x 30 mm, 50°C, dung môi rửa giải: A = nước + axit formic 0,05% + amoni axetat 3,75mM và B = MeCN + axit formic 0,04%, gradient từ 5% đến 95% B trong 3,7 phút, dòng từ 1,2mL/phút đến 1,4mL/phút trong 3,7 phút, phát hiện UV/VIS (DAD), ESI (+/-).

Điều kiện 3: UPLC-MS, cột Acquity HSS T3, 1,8 µm, 2,1 x 50 mm, lò ở 50°C, dung môi rửa giải: A = nước + axit formic 0,05% + amoni axetat 3,75mM và B = MeCN + axit formic 0,04%, gradient nằm trong khoảng từ 2% đến 98% B trong 1,40 phút, sau đó 98% B trong 0,75 phút, dòng 1,2mL/phút, phát hiện UV/VIS (DAD), ESI (+/-),

Điều kiện 4: HPLC, cột Chromolith® Performance, RP-18e, 100 x 4,6 mm + cột nhồi sẵn 5 x 4,6mm ở RT, dung dịch rửa giải: A = nước + axit formic 0.1% và B = MeCN + axit formic 0,1%, gradient nằm trong khoảng từ 2% đếm 100% B trong 8 phút, thì 100 % B trong 2 phút, dòng 2,0mL/phút, phát hiện UV/VIS (DAD).

Điều kiện 5: HPLC, cột CC125/4 Nucleosil® 100-3 C18HD, 4.0 x 125 mm, dung môi rửa giải: A = nước + TFA 0,1% và B = MeCN + TFA 0,1%, gradient từ 2% đến 100% B trong 7 phút, sau đó 100% B trong 2 phút và cuối cùng 100% đến 2% B trong 1 phút, dòng 1,0mL/phút, phát hiện UV 215 nm.

Điều kiện 6: tương tự điều kiện như Điều kiện 3, lò sấy ở 60°C thay vì 50°C.

Điều kiện 7: HPLC, cột Eclipse XDB C18, 5µm, 4,6 x 150 mm, lò sấy ở 25°C, dung môi rửa giải: A = nước + H3PO4 0,1% và B = MeCN, gradient từ 10% đến 95% B trong 17 phút, dòng 1,0mL/phút, phát hiện UV/VIS (DAD) 210 nm.

Điều kiện 8: LC-MS, cột Poroshell® 120 SB-C18, 3,0 x 50 mm, 2,7µm, dung môi rửa giải: A = nước + TFA 0,1% và B = MeCN + TFA 0,1%, gradient từ 5% B đến 0,5 phút, 5% đến 95% B trong 6,5 phút, 95% B trong 3 phút, từ 95% đến 5% B trong 0,1 phút, 5% B trong 2 phút, dòng 0,8mL/phút, UV/VIS (DAD), ESI (+).

Hơn nữa, nếu không nêu rõ, điều kiện HPLC điều chế như sau:

Điều kiện 9: HPLC điều chế, Cột: XBridge C18 30 x 100mm, 5µM; tốc độ dòng 30mL/phút; pha động: A = nước + axit formic 0,1%; B = MeCN; gradient biến thiên, từ khi bắt đầu % B đến % B kết thúc, và thời gian chạy như được nêu rõ trong các Ví dụ.

Điều kiện 10: hệ HPLC điều chế Gilson, cột SunFire™ prep C18 OBD, 5µm 30 x 100mm, dung môi rửa giải: A = nước + TFA 0,1 % và B = MeCN, gradient 5% B trong 2 phút, sau đó từ 5% đến 100% B trong 20 phút và 100% B cuối cùng trong 3 phút, dòng 30mL/phút, phát hiện UV/VIS.

SFC đối xứng điều chế được tiến hành sử dụng hệ sau: Waters SFC THAR$_1$00; tốc độ dòng 100mL/phút; pha động: A = siêu tới hạn CO2; B = MeOH; gradient biến thiên, thời gian chạy từ % B bắt đầu đến % B cuối cùng và cột như nêu trong Ví dụ. Chi tiết về cột:

Cột DEAP: cột Dietyl amino (250 x 30mm, 5µm, 60 Å), Princeton

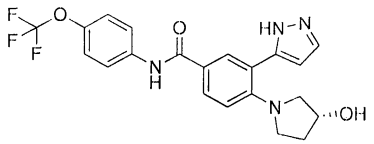
Cột Diol: cột Diol (250 x 30 mm, 5µm, 60 Å), Princeton

Hồng ngoại 1H-NMR được ghi lại trên 300 MHz, hoặc 400 MHz NMR quang phổ kế như đã nêu. Các đỉnh có ý nghĩa được lập bảng theo trật tự: nhiều vạch (s, vạch đơn; d, vạch kép; t, vạch ba; q, vạch bốn; m, nhiều vạch; br. s, vạch đơn, rộng) và số lượng proton.

Trong các Ví dụ sau, các cách viết tắt được sử dụng như sau: aq. (nước); DAD (cảm biến ma trận diot); DCM (diclometan); DIPEA (diisopropyl-etylamin); DMF (N,N-dimetylformamit); DME (dimetoxyetan); DMSO (dimetyl sulfoxit); dppf (1,1'-bis(diphenylphosphino)ferroxen); eq. (đương lượng); ESI (ion hóa tia electron); EtOAc (etyl axetat); EtOH (etanol); Et2O (ete dietylic); h (giờ); HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao); HV (điều kiện chân không cao); iPrOH (isopropanol); iPr2O (ete diisopropyl); LC (sắc ký lỏng); M (mol); MeCN (axetonitril); MeOH (metanol); MeTHF (2-metyltetrahydrofuran); min (phút); mL (mililit); MP (độ rỗng lớn); MPLC (sắc ký lỏng áp lực trung bình); MS (quang phổi khối lượng); MW (vi sóng); n-BuLi (n-butylliti); NMM (N-metylmorpholin); NMP (N-metylpyrolidinon); NMR (cộng hưởng từ hạt nhân); PL (polystyren); PPh3 (triphenylphosphin); PTFE (polytetrafluoretylen); RM (hỗn hợp phản ứng); RT (nhiệt độ phòng); sat. (bão hòa); sec (giây); SFC (sắc ký lỏng siêu tới hạn); Si-Thiol (silica gel biến đổi 3-mercaptopropyl); SPE (chiết pha rắn); TBAF (tetra-n-butylamoni florua); TBME (ete metyl tert-butyl); TFA (axit trifloaxetic); THF (tetrahydrofuran); t_R (thời gian lưu); UPLC (sắc ký lỏng siêu hiệu năng) và UV (bức xạ tử ngoại).

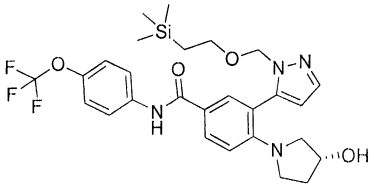
Ví dụ 1

(R)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)benzamit



(R)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)-3-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)benzamit (Bước 1.1, 149mg, 0,2mmol) được bổ sung vào ống MW, vật này được đậy kín và sục rửa bằng gargon. Dung dịch TBAF 1M trong THF (2,98 mL, 2,98mmol) sau đó được bổ sung và RM được khuấy ở 80°C trong 3 ngày. RM được pha loãng với EtOAc (40mL), rửa bằng $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột DEAP, từ 25% đến 30% trong 6 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,98 phút, m/z = 433,3 [M+H]+, m/z = 431,3 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,75 (br, s, 1H) 1,86 (br, s, 1H) 2,70 - 2,79 (m, 1H) 3,03 - 3,19 (m, 2H) 3,19 - 3,28 (m, 1H) 4,20 (br, s, 1H) 4,73 - 4,92 (m, 1H) 6,34 (d, J = 11,00 Hz, 1H) 6,73 - 6,94 (m, 1H) 7,32 (d, J = 8,80 Hz, 2H) 7,65 (d, J = 104,42 Hz, 1H) 7,81 - 7,96 (m, 4H) 10,10 (s, 1H) 12,88 (d, J = 81,67 Hz, 1H).

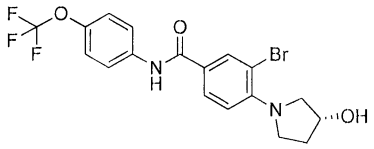
Bước 1.1: (R)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)-3-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)benzamit



Huyền phù chứa (R)-3-brom-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)benzamit (Bước 1.2, 100mg, 0,225mmol), 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol (146mg, 0,45mmol), Pd(PPh3)2Cl2 (17,34mg, 0,025mmol) và Na_2CO_3 (119mg, 1,123mmol) trong hỗn hợp chứa nước (272µL), DME (953µL) và EtOH (136µL) được đưa vào

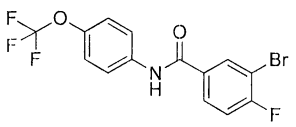
chiếu xạ MW ở 125°C trong 20 phút. RM được pha loãng với THF (3mL), xử lý với Si-Thiol (Silicycle, 1,44mmol/g, 94mg, 0.135mmol), lọc và dịch lọc được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (cột RediSep® Silica gel, 4g, xyclohexan/EtOAc từ 40% đến 100% EtOAc) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất dầu màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 3,28 phút, m/z = 563,2 [M+H]+, m/z = 561,2 [M-H]-.

Bước 1.2: (R)-3-brom-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)benzamit



Hỗn hợp chứa -brom-4-flo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)benzamit (Bước 1.3, 100mg, 0,264mmol), (R)-pyrolidin-3-ol (46,1mg, 0,529mmol) và TEA (147µL, 1,058mmol) trong DMSO (199µL) được khuấy ở 90°C trong 16 giờ. RM được pha loãng với TBME/EtOAc (1:1) (30mL), rửa bằng HCl 0,5M (3 x 5mL) và nước muối (5mL) và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 4g, xyclohexan/EtOAc-EtOH + NH4OH 0,1% (8:2), từ 30% đến 80% EtOAc-EtOH + NH4OH 0,1% (8:2)) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng đục. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 2,83 phút, m/z = 444,9/446,9 [M+H]+, m/z = 443,0/445,0 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,80 - 1,92 (m, 1H) 1,92 - 2,04 (m, 1H) 3,24 - 3,30 (m, 1H), 3,36 - 3,46 (m, 1H) 3,60 - 3,72 (m, 1H) 3,81 (dd, J = 10,51, 4,65 Hz, 1H) 4,36 (d, J = 2,69 Hz, 1H) 4,97 (d, J = 3,42 Hz, 1H) 6,93 (d, J = 8,80 Hz, 1H) 7,34 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,80 - 7,90 (m, 3H) 8,14 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 10,19 (s, 1H).

Bước 1.3: 3-brom-4-flo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)benzamit

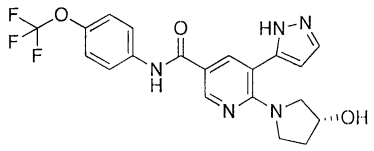


$SOCl_2$ (2,92 mL, 40,0mmol) và DMF (0,5mL) được nhỏ từng giọt vào huyền phù chứa axit 3-brom-4-flobenzoic (1,752g, 8mmol) trong toluen (20mL) và RM được

khuấy ở 80°C trong 1 giờ, dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được pha loãng với THF (15mL). DIPEA (2,79mL, 16,00mmol) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C, xử lý với dung dịch 4-triflometoxyanilin (1,181mL, 8,80mmol) trong THF (5mL) và khuấy trong 1 giờ. RM được xử lý với dung dịch HCl 1M (50mL), và chiết bằng TBME. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng dung dịch HCl 1M, dung dịch NaOH 1M và nước muối, sấy khô trên MgSO4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được kết tinh từ n-heptan/DCM để thu được để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 3,18 phút, m/z = 377,9/379,9 [M+H]+, m/z = 375,9/377,9 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 7,38 (d, J = 8,6 Hz, 2H) 7,56 (t, J = 8,7 Hz, 1H) 7,87 (d, J = 9,0 Hz, 2H) 8,00 - 8,06 (m, 1H) 8,32 (dd, J = 6,6, 2,2 Hz, 1H) 10,50 (s, 1H).

Ví dụ 2

(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-3-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit

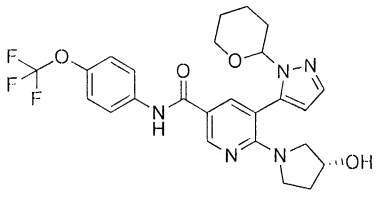


Hỗn hợp chứa DME (570µL), nước (163µL) và EtOH (81µL) được bổ sung vào hỗn hợp chứa (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.2, 60mg, 0,134mmol), axit (1H-pyrazol-3-yl)boronic (45,1mg, 0,403mmol) Pd(PPh3)2Cl2 (9,44mg, 0,013mmol), Na_2CO_3 (42,8mg, 0,403mmol) trong ống MW. Ống này được đậy kín, tháo ra/sục rửa 3 lần bằng argon và RM được đưa vào chiếu xạ MW ở 120°C trong 10 phút. Bổ sung thêm axit (1H-pyrazol-3-yl)boronic (45,1mg, 0,403mmol) được bổ sung và RM được đưa vào chiếu xạ MW ở 120°C trong 30 phút, pha loãng với THF (1mL) và xử lý với Si-Thiol (Silicycle 1,27mmol/g, 52,9mg, 0,067mmol), lọc và dịch lọc được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 9, 15% trong 0,2 phút sau đó 15% đến 45% trong 14 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng.

Cách khác, hợp chất Ví dụ 2 được điều chế bằng cách xử lý huyền phù chứa 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.1, 68,3g, 132mmol) trong DCM (1L) với TFA (305 mL, 3959mmol) ở RT trong 5,5 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (2 L), rửa bằng dung dịch bão hòa $NaHCO_3$ (3 x 500mL) và nước muối (2 x 500mL), và sấy khô trên Na_2SO_4. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được tạo huyền phù trong DCM (300mL) và khuấy ở RT trong 15 phút. Nguyên liệu tinh thể được lọc, rửa bằng DCM (200mL), sấy khô trong điều kiện áp suất giảm, hòa tan trong MeOH (500mL) và xử lý với Si-Thiol (Biotage, 10,0g, 13mmol) trong 15 giờ ở 30°C. Hỗn hợp được lọc và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Silica gel, 2 kg, DCM/MeOH 95:5) và kết tinh từ MeCN để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng.

Số liệu phân tích của hợp chất Ví dụ 2: HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5.37 phút, HPLC bất đối(CHIRALPAK® AD-H, 250 x 4.6 mm, dung môi rửa giải: EtOH/MeCN (98:2), 0,5mL/phút, UV 210 nm) t_R = 9,62 phút, UPLC-MS (điều kiện 1) t_R = 1,9 phút, m/z = 434,1/435,1 [M+H]+, m/z = 432,1/433,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 - 1,76 (m, 1H) 1,76 - 1,87 (m, 1H) 2,97 (d, J=11,37 Hz, 1H) 3,19 - 3,29 (m, 2H) 3,34 - 3,48 (m, 1H) 4,10 - 4,23 (m, 1H) 4,89 (br, s, 1H) 6,40 (s, 1H) 7,33 (d, J=8,70 Hz, 2H) 7,58/7,82 (br, s, 1H) 7,89 (d, J=8,70 Hz, 2H) 8,06 (s, 1H) 8,77 (s, 1H) 10,21 (s, 1H) 12,88/13,07 (br, s, 1H).

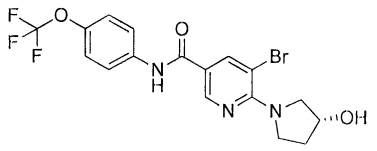
Bước 2.1: 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Este pinacol của axit 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-boronic (59,9g, 214,4mmol), K_3PO_4 (105,7g, 498,1mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (9,6g, 8,30mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2,2, 74g, 165,8mmol) trong toluen (740mL)

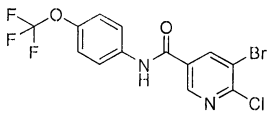
và khuấy ở 110°C trong 2,5 giờ trong điều kiện argon. Hỗn hợp sau đó được pha loãng với EtOAc (2 L), rửa bằng nước (2 x 1 L) và sấy khô trên Na_2SO_4. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và cắn thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Silica gel, 2kg, DCM/MeOH 95:5). Nguyên liệu thu được được hòa tan trong hỗn hợp chứa MeOH (500mL) và THF (800mL) và được xử lý với Si-Thiol (Biotage, 15g, 19,5mmol) ở RT trong 17 giờ. Hỗn hợp được lọc và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được kết tinh từ MeOH để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,99 phút, UPLC-MS (Điều kiện 6) m/z = 518,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,42 (br, s, 3H) 1,63 - 1,98 (m, 4H) 2,20 - 2,37 (m, 1H) 2,71 - 2,94 (m, 1H) 3,21 (d, J=6,65 Hz, 3H) 3,32 - 3,51 (m, 1H) 3,69 - 3,92 (m, 1H) 4,08 - 4,24 (m, 1H) 4,75 - 4,88 (m, 1H) 4,89 - 5,17 (m, 1H) 6,29 - 6,49 (m, 1H) 7,32 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,59 (s, 1H) 7,78 - 8,10 (m, 3H) 8,80 (t, J=2,54 Hz, 1H) 10,05 - 10,28 (m, 1H).

Bước 2.2: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



(R)-pyrolidin-3-ol (17,1 ml, 211,2mmol) và DIPEA (67,6 ml, 387,6mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa 5-brom-6-clo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.3, 69,6g, 175,9mmol) trong iPrOH (120mL) và khuấy ở 140°C trong 1 giờ. Hỗn hợp được pha loãng với EtOAc (1L), rửa bằng HCl 1N (2 x 200mL), dung dịch bão hòa của $NaHCO_3$ (200mL) và nước muối (2 x 200mL) và sấy khô trên Na_2SO_4. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và sản phẩm được kết tinh từ EtOAc/iPr2O để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,58 phút, UPLC-MS (Điều kiện 6) m/z = 446,0/448,0 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,78 - 2,01 (m, 2H) 3,55 (d, J=11,34 Hz, 1H) 3,64 - 3,76 (m, 1H) 3,79 - 3,91 (m, 2H) 4,33 (br, s, 1H) 4,97 (d, J=3,13 Hz, 1H) 7,33 (d, J=9,38 Hz, 2H) 7,83 (d, J=8,99 Hz, 2H) 8,30 - 8,36 (m, 1H) 8,66 (d, J=2,35 Hz, 1H) 10,20 (s, 1H).

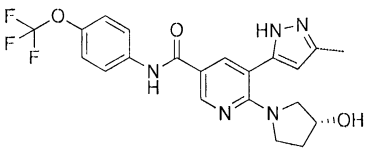
Bước 2.3: 5-brom-6-clo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Dung dịch đã khuấy chứa axit 5-brom-6-clo-nicotinic(375g, 1,586 mol) và DMF (37mL) trong toluen (3,1 L) được xử lý từng giọt với $SOCl_2$ (347 mL, 4,758mol) ở RT và sau đó khuấy ở 85°C trong 2,5 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong THF (3,1L), làm lạnh đến -25°C, đầu tiên được xử lý đầu tiên bằng DIPEA (543 mL, 3,172 mol) và sau đó bổ sung từng giọt dung dịch chứa 4-(triflometoxy)anilin (295g, 1,665 mol) trong THF (3,1L), Sau 30 phút ở 10°C, dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong TBME (4 L), rửa bằng HCl 1N (2 x 1), dung dịch bão hòa chứa $NaHCO_3$ (1 L) và nước muối (2 x 200mL) và sấy khô trên Na_2SO_4. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và sản phẩm được kết tinh từ EtOAc/n-heptan để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn kết tinh màu be. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,25 phút, m/z = 393/395/397 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 7,40 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,86 (d, J=8,60 Hz, 2H) 8,73 (d, J=2,20 Hz, 1H) 8,92 (d, J=2,20 Hz, 1H) 10,69 (s, 1H).

Ví dụ 3

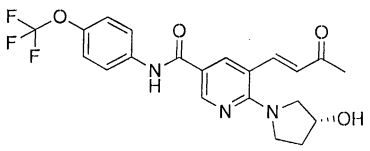
(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



(R,E)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(3-oxobut-1-en-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 3.1, 50mg, 0,091mmol) và hydrazua của axit toluen-4-sulfonic (34,5mg. 0,181mmol) và EtOH (302µL) được bổ sung vào ống MW, được đậy kín và khuấy ở 80°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến RT, NaOMe (17,15mg, 0,318mmol) được bổ sung và RM được khuấy ở 80°C trong 48 giờ Aq. RM được axit hóa bằng dung dịch axit formic, lọc qua phễu lọc màng 0,2µM PTFE và tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 9, từ 20% đến 50% trong 18 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 2,08 phút, m/z =

448,0 [M+H]+, m/z = 446,0 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,68 - 1,79 (m, 1H) 1,78 - 1,90 (m, 1H) 2,29 (br, s, 3H) 2,98 (d, J=11,74 Hz, 1H) 3,25 - 3,37 (m, 2H) 3,40 - 3,53 (m, 1H) 4,21 (br, s, 1H) 4,83 (br, s, 1H) 6,13 (s, 1H) 7,33 (d, J=8,31 Hz, 2H) 7,86 (d, 2H) 8,01 (br, s, 1H) 8,71 (br, s, 1H) 10,15 (s, 1H) 12,57 (br, s, 1H).

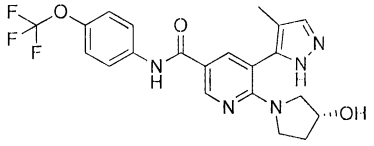
Bước 3.1: (R,E)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(3-oxobut-1-en-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



(R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2,2, 250mg, 0,560mmol), Pd(OAc)2 (3,77mg, 0,017mmol), tri-o-tolylphosphin (20,46mg, 0,067mmol), but-3-en-2-on (55,1µL, 0,672mmol) và TEA (102µL, 0,728mmol) được bổ sung vào ống nghiệm MW, được đậy kín và xịt rửa bằng argon, DMF (1,87mL) được bổ sung và RM được khuấy ở 130°C trong 6 giờ, sau đó bổ sung thêm but-3-en-2-on (22,96µL, 0,280mmol) sau đó được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở 130°C trong 16 giờ. RM được rót vào trong nước (25mL) và chiết bằng DCM (3 x 20mL). Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên $MgSO_4$ và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 12g, xyclohexan/EtOAc-EtOH + NH_4OH 0,1% (9:1) từ 40% đến 75% EtOAc-EtOH + NH4OH 0,1% (9:1)). Các phần chứa sản phẩm tinh khiết được gộp lại và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn cất đòng sôi với xylen và được nghiền trong xyclohexan để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 2,39 phút, m/z = 436,0 [M+H]+, m/z = 434,0 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,82 - 1,91 (m, 1H) 1,91 - 2,00 (m, 1H) 2,35 (s, 3H) 3,43 (d, J = 11,25 Hz, 1H) 3,59 - 3,67 (m, 1H) 3,78 - 3,88 (m, 2H) 4,34 (br, s, 1H) 4,99 (d, J = 3,18 Hz, 1H) 6,61 (d, J = 15,89 Hz, 1H) 7,36 (d, J = 8,31 Hz, 2H) 7,81 - 7,93 (m, J = 16,14, 9,29 Hz, 3H) 8,29 (d, J = 2,20 Hz, 1H) 8,71 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 10,21 (s, 1H).

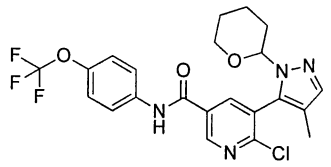
Ví dụ 4

(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(4-metyl-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



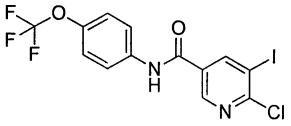
DIPEA (43,9µL, 0,252mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-5-(4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 4.1, 55mg, 0114mmol) và (R)-pyrolidin-3-ol (11,96mg, 0,137mmol) trong iPrOH (114µL) trong ống nghiệm, được đậy kín và gia nhiệt ở 140°C trong 18 giờ. Sau khi làm mát đến RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, EtOAc/MeOH 98:2) để thu được 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit là bọt màu trắng đục. Chất trung gian này (39mg, 0,073mmol) được hòa tan trong DCM (0,8mL), xử lý với TFA (0,262 mL, 3,4mmol) và khuấy ở RT trong 3 giờ. RM được rót vào trong 25mL Na_2CO_3 10% và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH từ 2% đến 10% MeOH) để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,46 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,92 phút, m/z = 448,4 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,81 (m, 2H) 1,86 (s, 3H) 2,78 - 2,97 (m, 1H) 3,07 - 3,41 (m, 3H) 4,18 (br, s, 1H) 4,81 (br, s, 1H) 7,32 (d, J = 8,60 Hz, 2H) 7,58 (br, s, 1H) 7,85 (d, J = 9,38 Hz, 2H) 7,93 (br, s, 1H) 8,73 (br, s, 1H) 10,14 (s, 1H) 12,63 (br, s, 1H).

Bước 4.1: 6-clo-5-(4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



K_3PO_4 (127mg, 0,6mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-5-iod-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 4.2, 89mg, 0,2mmol) và 4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (58,4mg, 0,2mmol) trong dioxan (1mL)trong ống nghiệm được sục rửa với argon, gia nhiệt đến 110°C và sau đó PdCl2(dppf) (7,32mg, 0,01mmol) được bổ sung. Ống này được đậy kín và RM được khuấy trong điều kiện argon ở 110°C trong 18 giờ. RM được làm lạnh đến RT, hòa tan trong EtOAc và rửa bằng nước muối. Pha hữu cơ được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm, và phần cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, n-heptan/EtOAc từ 50% đến 100% EtOAc) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất bọ màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,24 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,22 phút, m/z = 481,2 [M+H]+.

Bước 4.2: 6-clo-5-iod-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit

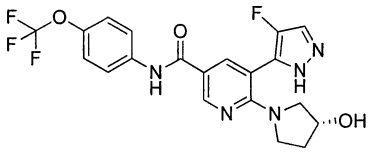


DMF (0,13mL) và $SOCl_2$ (0,734 mL, 10,05mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa axit 6-clo-5-iodnicotinic (1,00g, 3,35mmol) và 4-(triflometoxy)anilin (0,623mg, 3,52mmol) trong toluen (7mL) và RM được khuấy ở 80°C trong 1 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và trong điều kiện argon phần cắn được hòa tan trong THF (7,00mL) và DIPEA (1,17 mL, 6,7mmol), làm lạnh đến -15°C xử lý từng giọt với dung dịch 4-(triflometoxy)anilin (0,476 mL, 3,52mmol) trong THF (7,00mL) và khuấy ở RT trong 1 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn xử lý với dung dịch HCl 1N (30mL) và chiết bằng TBME (100mL). Dịch chiết gộp lại được rửa bằng dung dịch bão hòa Na_2CO_3 (30mL) và nước muối (30mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm cho đến khi bắt đầu kết tinh. Sản phẩm được nghiền với n-heptan, lọc và sấy khô để thu được

hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,36 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,23 phút, m/z = 441,1 [M-H]-.

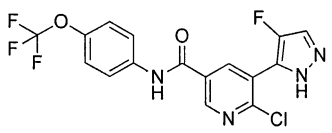
Ví dụ 5

(R)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



DIPEA (71,9µL, 0,412mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 5.1, 75mg, 0,187mmol) và (R)-pyrolidin-3-ol (19,97mg, 0,225mmol) trong iPrOH (187µL) trong ống nghiệm được đậy kín và gia nhiệt ở 140°C trong 1 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH từ 2% đến 10% MeOH) để thu được hợp chất theo tiêu đề là bọt màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,73 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,93 phút, m/z = 452,4 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,95 (m, 2H) 3,00 (d, J = 11,34 Hz, 1H) 3,18 - 3,51 (m, 3H) 4,22 (br, s, 1H) 4,86 (br, s, 1H) 7,32 (d, J = 8,60 Hz, 2H) 7,77 - 8,11 (m, 4H) 8,76 (br, s, 1H) 10,17 (s, 1H) 12,90 (br, s, 1H).

Bước 5.1: 6-clo-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl) nicotinamit

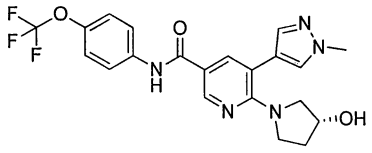


Pd(Ph3P)4 (17,33mg, 0,015mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-5-iod-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 4,2, 133mg, 0,3mmol) và 4-flo-5-(tributylstannyl)-1H-pyrazol (101mg, 0,270mmol) trong DMSO (1mL) trong ống nghiệm trong điều kiện argon. Ống này được đậy kín và dung dịch RM được gia nhiệt ở 100°C trong 18 giờ. Sau khi làm mát đến RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa

bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, n-heptan/EtOAc từ 10% đến 50% EtOAc) để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,5 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,05 phút, m/z = 399,2 [M-H]-.

Ví dụ 6

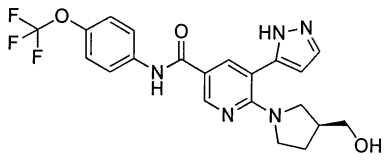
(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-metyl-1H-pyrazol-4-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.2, 60mg, 0,134mmol), 1-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (42mg, 0,202mmol), Pd(PPh3)2Cl2 (9,44mg, 0,013mmol), Na_2CO_3 (42,8mg, 0,403mmol), DME (570µL), nước (163µL) và EtOH (81µL) trong ống MW được đậy kín, đổ ra/xịt rửa bằng argon và đưa vào chiếu xạ MW ở 120°C trong 10 phút. RM được pha loãng với THF (1mL), xử lý với Si-Thiol (Silicycle, 1,44mmol/g, 46,7mg, 0,067mmol), lọc và dịch lọc được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 9, 25% trong 0,2 phút sau đó từ 15% đến 45% trong 14 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. LC-MS (Điều kiện 2) t_R = 1,61 phút, m/z = 448,2/449,2 [M+H]+, m/z = 446,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,71 - 1,80 (m, 1H) 1,81 - 1,91 (m, 1H) 2,98 (d, J = 11,25 Hz, 1H) 3,25 - 3,39 (m,,2 H) 3,44 - 3,53 (m, 1H) 3,89 (s, 3H) 4,22 (s, 1H) 4,84 (s, 1H) 7,34 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,53 (s, 1H) 7,84 (d, J = 5,38 Hz, 2H) 7,86 - 7,88 (m, 1H) 7,94 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 8,67 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 10,14 (s, 1H).

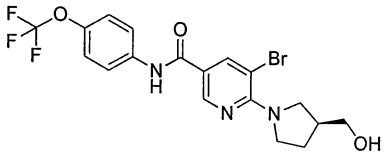
Ví dụ 7

(S)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách của Ví dụ 2 sử dụng (S)-5-brom-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl) nicotinamit (Bước 7.1) và axit (1H-pyrazol-3-yl)boronicto thu được chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 1,89 phút, m/z = 448,0 [M+H]+, m/z = 446,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,48 - 1,64 (m, 1H) 1,77 - 1,90 (m, 1H) 2,15 - 2,28 (m, 1H) 3,03 (dd, J = 11,25, 6,85 Hz, 1H) 3,22 (br, s, 2H) 3,25 - 3,31 (m, 2H) 3,34 - 3,39 (m, 1H) 4,62 (br, s, 1H) 6,39 (br, s, 1H) 7,34 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,51 - 7,84 (m, 1H) 7,83 - 7,90 (m, 2H) 8,03 (s, 1H) 8,68 - 8,79 (m, 1H) 10,19 (s, 1H) 12,87 - 13,12 (m, 1H).

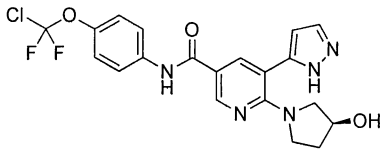
Bước 7.1: (S)-5-brom-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa 5-brom-6-clo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.3, 500mg, 1,264mmol), (S)-beta-prolinol hydroclorua (226mg, 1,643mmol), DIPEA (662µL, 3,79mmol) và iPrOH (1,945mL) trong ống nghiệm kín được đưa vào chiếu xạ MW ở 140°C trong 60 phút. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được xử lý với dung dịch HCl 0,5M (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng HCl 0,5M (10mL) và nước, sấy khô trên MgSO4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm được nghiền với xyclohexan, lọc và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R = 2,76 phút, m/z = 460,0/462,0 [M+H]+, m/z = 458,0/460,0 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,59 - 1,76 (m, 1H) 1,92 - 2,04 (m, 1H) 2,26 - 2,44 (m, 1H) 3,37 - 3,50 (m, 2H) 3,56 (dd, J = 11,00, 7,34 Hz, 1H) 3,67 - 3,85 (m, 3H) 4,71 (br, s, 1H) 7,35 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,85 (d, 1H) 8,34 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 8,68 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 10,21 (s, 1H).

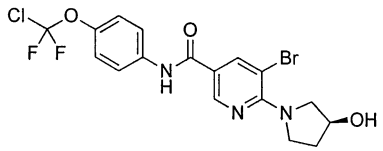
Ví dụ 8

(S)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



K_3PO_4 (41,3mg, 0,195mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (S)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 8.1, 30mg, 0,067mmol) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (36,2mg, 0,13mmol) trong toluen (0,32mL) trong ống nghiệm được sục rửa với argon. $Pd(PPh_3)_4$ (3,75mg, 0,032mmol) được bổ sung. Ống này được đậy kín và gia nhiệt ở 110°C trong 18 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH từ 2% đến 5% MeOH) để thu được N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((S)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit, một phần trong đó (21mg, 0,039mmol) được hòa tan trong DCM (0,5mL), xử lý với TFA (0,141mL, 1,82mmol) và khuấy ở RT trong 3 giờ. RM được rót vào trong dung dịch Na_2CO_3 10% (10mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH từ 2% đến 5% MeOH) để thu được hợp chất theo tiêu đề. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,49 phút, HPLC bất đối (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4,6 mm, dung môi rửa giải: n-heptan/EtOH/MeOH (85:10:5), 1mL/phút, UV DAD, t_R = 13,32 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,92 phút, m/z = 450,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 – 1,76 (m, 1H) 1,77 – 1,92 (m, 1H) 2,86 - 2.97 (m, 1H) 3,18 – 3,35 (m, 2H) 3,34 - 3,47 (m, 1H) 4,10 - 4,24 (m, 1H) 4,66 - 4,93 (m, 1H) 6,28 - 6,42 (m, 1H) 7,31 (d, J = 8,99 Hz, 2H) 7,85 (d, J = 8,99 Hz, 3H) 7,96 - 8,05 (m, 1H) 8,64 - 8,81 (m, 1H) 10,17 (s, 1H) 12,80 - 13,14 (m, 1H).

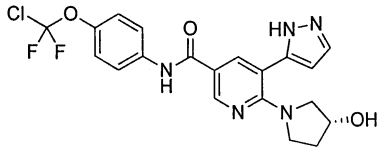
Bước 8.1: (S)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



DIPEA (190µL, 1,1mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 5-brom-6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 9.3, 206mg, 0.5mmol) và (S)-pyrolidin-3-ol (52,3mg, 0,6mmol) trong iPrOH (500µL) trong ống nghiệm, được đậy kín và gia nhiệt ở 140°C trong 1 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng dung dịch HCl 0,5M và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, n-heptan/EtOAc từ 20 đến 100% EtOAc) để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột tinh thể màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,59 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,17 phút, m/z = 462,0/464,1 [M+H]+.

Ví dụ 9

(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2, 100mg, 0,216mmol) và 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol (215mg, 0,663mmol), Pd(PPh3)2Cl2 (17mg, 0.024mmol), Na_2CO_3 (115mg, 1,081mmol), DME (917µL), nước (262µL) và EtOH (131µL) trong ống MW được đậy kín, hút chân không/xịt rửa 3 lần với argon và đưa vào chiếu xạ MW ở 125°C trong 20 phút. RM được pha loãng với 2mL DME, khuấy với Si-Thiol (Silicycle 1,44mmol/g, 90mg, 0,130mmol) trong 3 giờ. Hỗn hợp này được ly tâm và phần nổi bề mặt được lọc qua phễu lọc PTFE 0,45µm và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 12g, xyclohexan/EtOAc từ 40% đến 100% EtOAc) để thu được chất trung gian được bảo vệ là chất dầu không màu. Etylen diamin (96µL, 1,428mmol) và TBAF 1M trong THF

(1,428mL, 1,428mmol) sau đó được bổ sung vào và RM được khuấy ở 80-85°C trong 5 ngày. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (40mL), rửa 3 lần bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn, cắn này được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột DEAP, từ 25% đến 30% trong 6 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng.

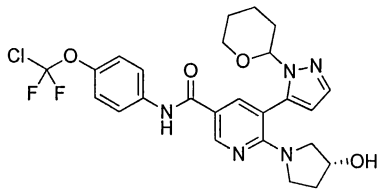
Cách khác, hợp chất Ví dụ 9 được điều chế bằng cách bổ sung TFA (168 mL, 2182mmol) vào dung dịch chứa N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 9.1, 31,3g, 54,6mmol) trong DCM (600mL). Hỗn hợp được khuấy ở RT trong 2,5 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (1,5L), rửa bằng dung dịch bão hòa $NaHCO_3$ (3 x 500mL) và nước muối (500mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tạo huyền phù trong DCM (300mL), khuấy ở RT trong 15 phút, lọc, rửa bằng DCM (200mL), sấy khô và tinh chế bằng sắc ký (Silica gel, 1 kg, DCM/MeOH 95:5). Phần cắn được hòa tan trong MeOH (500mL) và xử lý với Si-Thiol (Biotage, 5,0g, 6,5mmol) trong 16 giờ ở 25°C. Nhựa được lọc ra, dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được kết tinh từ MeCN để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng.

Cách khác, hợp chất Ví dụ 9 được điều chế bằng cách bổ sung từng giọt dung dịch HCl (7,7mL 6M) vào dung dịch chứa N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 9.1, 3,8g, 7,12mmol) trong MeOH (20mL) và THF (10mL) và làm mát (dưới 35°C). Hỗn hợp được khuấy ở 22°C trong 2 giờ và sau đó được bổ sung vào (10°C) NaOH 1,2M lạnh (22mL). Trong khi bổ sung, nhiệt độ được giữ dưới 30°C và độ pH được giữ trong khoảng 9-10. RM sau đó được khuấy trong 30 phút ở 30°C. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm, cho đến khi hợp chất mong muốn kết tủa. Chất kết tủa được lọc và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu vàng.

Số liệu phân tích của hợp chất ví dụ 9: HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,54 phút, HPLC bất đối (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4.6 mm, dung môi rửa giải: n-heptan/EtOH/MeOH (85:10:5), 1mL/phút, UV 210 nm) t_R = 10,17 phút, UPLC-MS

(điều kiện 3) t_R = 0,93 phút, m/z = 450,3 [M+H]+, m/z = 494,1 [M+axit formic-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 - 1,76 (m, 1H) 1,76 - 1,87 (m, 1H) 2,93 (d, J=11,73 Hz, 1H) 3,19 - 3,29 (m, 2H) 3,35 - 3,51 (m, 1H) 4,10 - 4,25 (m, 1H) 4,89 (br, s, 1H) 6,41 (br, s, 1H) 7,33 (d, J=8,50 Hz, 2H) 7,57/7,83 (br, s, 1H) 7,90 (d, J=8,50 Hz, 2H) 8,07 (br, s, 1H) 8,77 (br, s, 1H) 10,23 (s, 1H) 12,97/13,15 (br, s, 1H).

Bước 9.1: N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



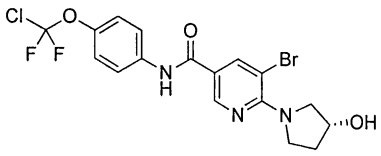
1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (29,6g, 102mmol), K_3PO_4 (51,6g, 236mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (4,55g, 3,93mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2, 36,4g, 79mmol) trong toluen (360mL) trong điều kiện argon và hỗn hợp được khuấy ở 110°C trong 4 giờ. RM được rót vào trong nước muối (500mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 1L). Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (500mL), sấy khô trên Na_2SO_4, và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký (cột silica gel, 1,5 kg, DCM/MeOH 95:5) để thu được bọt màu vàng đậm, được hòa tan trong MeOH/DCM (1L tỷ lệ 3:1) và xử lý với Si-Thiol (Biotage, 35g, 45,5mmol) trong 17 giờ ở 30°C. Nhựa được lọc ra, và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm, cho đến khi hợp chất mong muốn kết tinh. Sản phẩm được lọc rửa bằng MeOH và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề.

Cách khác, hợp chất ở Bước 9.1 được điều chế bằng cách bổ sung 4-(clodiflometoxy)anilin (16,6g, 84,9mmol), NMM (21,7g, 212,1mmol), hydroxybenzotriazol hydrat (HOBt,H2O, 11,9g, 77,77mmol) và 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (EDCI,HCl, 20,9g, 109,0mmol) vào dung dịch chứa axit 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinic (Bước 9,4, 29,83g, 70,7mmol) trong THF (271mL). Hỗn hợp được khuấy trong 1,5 giờ ở 25°C và sau đó ở 65°C trong 16 giờ. Sau khi làm mát

RM đến 35°C, bổ sung thêm EDCI.HCl (13,3g, 69,4mmol) và RM được khuấy trong 1,5 giờ ở 35°C sau đó lại ở 65°C trong 16 giờ. Sau khi làm mát RM đến 35°C, nước (150mL) được bổ sung, THF được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm, EtOAc (180mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở 35°C trong 1 giờ. Hai lớp được tách và pha nước sau đó được chiết bằng EtOAc (60mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (90mL), nước muối (90mL). Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được chất rắn màu nâu được tinh chế bằng sắc ký cột (Silica gel, DCM/MeOH tỷ lệ 40:1 đến 20:1) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu vàng.

Số liệu phân tích của hợp chất ở Bước 9.1: HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,12 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,06 phút, m/z = 533,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,36 - 2,02 (m, 7 H) 2,23 - 2,38 (m, 1H) 3,08 - 3,29 (m, 2H) 3,32 - 3,52 (m, 2H) 3,73 - 3,93 (m, 1H) 4,13 - 4,25 (m, 1H) 4,80 - 4,90 (m, 1H) 4,95 - 5,17 (m, 1H) 6,33 - 6,50 (m, 1H) 7,33 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,61 (d, J=1,56 Hz, 1H) 7,86 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,97 - 8,11 (m, 1H) 8,82 (s, 1H) 10,13 - 10,25 (m, 1H).

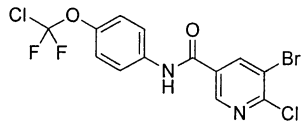
Bước 9.2: (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



(R)-pyrolidin-3-ol (9,55g, 109,6mmol) và DIPEA (35,1 ml, 201,3mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa 5-brom-6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 9.3, 37,7g, 91,5mmol) trong iPrOH (65mL) và khuấy ở 140°C trong 1 giờ. EtOAc (700mL) được bổ sung và dung dịch này được rửa bằng HCl 1N (2 x 200mL), $NaHCO_3$ bão hòa (200mL) và nước muối (2 x 200mL), sấy khô trên Na_2SO_4, và dung dịch này được cô trong điều kiện áp suất giảm cho đến khi bắt đầu kết tinh. n-heptan (1L) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở RT trong 30 phút, lọc và rửa bằng iPr2O (500mL) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,68 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,10 phút, m/z = 462,2/464,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,78 - 2,01 (m, 2H) 3,55 (d, J=11,34 Hz, 1H) 3,66 - 3,75 (m, 1H) 3,79 - 3,93 (m, 2H) 4,34 (br, s, 1H) 4,98 (d, =3,13 Hz, 1H) 7,32 (d,

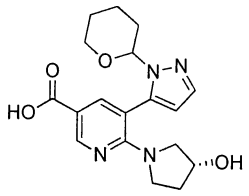
J=8,99 Hz, 2H) 7,84 (d, J=8,99 Hz, 2H) 8,33 (d, J=1,96 Hz, 1H) 8,66 (d, J=1,96 Hz, 1H) 10,21 (s, 1H).

Bước 9.3: 5-brom-6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)nicotinamit



DMF (2,55 mL, 33,0mmol) và $SOCl_2$ (24,08 ml, 330mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa axit 5-brom-6-clo-nicotinic (26g, 110mmol) trong toluen (220mL) và RM được khuấy ở 80°C trong 1 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong THF (220mL) và làm lạnh đến -16°C. DIPEA (38,4mL, 220mmol) được bổ sung, sau đó bổ sung từng giọt dung dịch 4-(clodiflometoxy)anilin (22,35g, 115mmol) trong THF (220mL) trong 15 phút. Huyền phù được khuấy trong 1 giờ ở RT. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong TBME (700mL), rửa bằng HCl 1N (2 x 200mL), $NaHCO_3$ bão hòa (200mL) và nước muối (2 x 200mL), sấy khô trên Na_2SO_4, và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm được kết tinh từ EtOAc - n-heptan để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn tinh thể trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 7,77 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,24 phút, m/z = 409,1/411,1/413,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 7,38 (d, =8,99 Hz, 2H) 7,85 (d, =8,99 Hz, 2H) 8,72 (br, s, 1H) 8,92 (br, s, 1H) 10,68 (s, 1H).

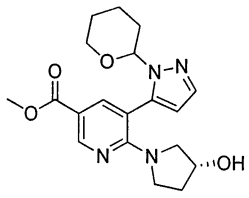
Bước 9.4: Axit 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinic



Dung dịch NaOH (180mL, 2,6M) được bổ sung vào dung dịch chứa metyl 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinat (Bước 9.5, 111g, 299mmol) trong MeOH (270mL) và RM được khuấy ở RT trong 14 giờ. MeOH được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn nước

được xử lý với nước muối (90mL), chiết bằng MeTHF hai lần (540 mL + 360mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (90mL). MeTHF được bổ sung vào các lớp nước gộp lại, hỗn hợp hai pha được làm lạnh đến 0°C và axit hóa (độ pH = 4-4,5) với dung dịch HCl (18%) và chiết bằng MeTHF. Phần chiết hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được kết tinh lại từ EtOAc/TBME (1:1) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 7) t_R = 4,74 phút, LC-MS (Điều kiện 8) t_R = 3,37 phút, m/z = 359,0 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,44 (br, s, 2H), 1,51 (d, J=11,54 Hz, 2H), 1,64 - 1,86 (m, 4H), 1,90 (br, s, 1H), 2,31 (d, J=9,29 Hz, 1H), 2,77 (br, s, 1H), 3,10 (br, s, 1H), 3,21 (d, J=8,78 Hz, 2H), 3,27 - 3,51 (m, 4H), 3,87 (d, J=11,54 Hz, 1H), 4,16 (br, s, 1H), 4,75 - 4,93 (m, 1H), 5,04 (br, s, 1H), 6,35 (d, J=17,32 Hz, 1H), 7,51 - 7,64 (m, 1H), 7,64 - 7,82 (m, 1H), 8,67 (d, J=2,26 Hz, 1H), 12,58 (br, s, 1H).

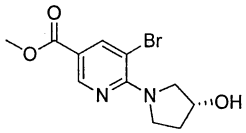
Bước 9.5: Metyl 6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinat



Hỗn hợp chứa (R)-metyl 5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinat (Bước 9.6, 90g, 299mmol), este pinacol của axit 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-boronic (103,9g, 373,6mmol), K_3PO_4 (126,9g, 597,7mmol), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (6,29g, 8,97mmol) trong toluen (900mL) được khuấy ở 92°C và trong 16 giờ. Sau khi làm mát hỗn hợp đến RT, dung dịch được rửa bằng nước (450mL), dung dịch $NaHCO_3$ 5% (430mL) và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn, cắn này được sử dụng mà ko cần tinh chế thêm ở bước tiếp theo. HPLC (Điều kiện 7) t_R = 6,929 phút, LC-MS (Điều kiện 8) t_R = 4,30 phút, m/z = 373,0 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,19 - 1,28 (m, 1H), 1,35 - 1,63 (m, 4H), 1,63 - 1,86 (m, 3H), 1,89 (br, s, 1H), 2,12 - 2,39 (m, 1H), 3,11 (br, s, 1H), 3,18 - 3,48 (m, 4H), 3,78 (s, 4H), 3,88 (d, J=11,54 Hz, 1H), 4,08 - 4,24 (m, 1H), 4,86 (dd, J=18,20, 2,89 Hz, 1H), 5,02

(d, J=8,28 Hz, 1H), 6,39 (br, s, 1H), 7,58 (d, J=1,25 Hz, 1H), 7,78 (br, s, 1H), 8,69 (t, J=2,01 Hz, 1H).

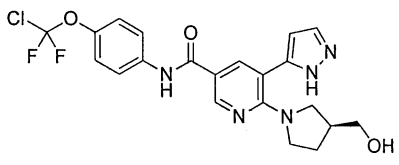
Bước 9.6: (R)-metyl 5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinat



DIPEA (105,3g, 142,2mL, 814,4mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa metyl-5-brom-6-chroronicotinat (85g, 339,5mmol) và (R)-pyrolidin-3-ol (54,2g, 441,2mmol) trong isopropyl axetat và RM được khuấy ở 70°C trong 14 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được phần cắn được hòa tan trong toluen (850mL), rửa bằng nước (127mL) và nước muối (127mL) và được cô trong điều kiện áp suất giảm cho đến khi bắt đầu kết tủa. n-heptan (340mL) được bổ sung từ từ vào hỗn hợp được khuấy ở 22°C, sau đó được làm mát đến 0°C và sản phẩm được lọc, rửa bằng hỗn hợp toluen/n-heptan (1:1,5) và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu vàng. HPLC (Điều kiện 7) t_R = 8,54 phút, LC-MS (Điều kiện 8) t_R = 4,62 phút, m/z = 300,9/302,9 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,77 - 1,99 (m, 2H), 3,57 (d, J=11,54 Hz, 1H), 3,72 (ddd, J=11,11, 7,97, 3,26 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,81 -3,90 (m, 2H), 4,26 - 4,39 (m, 1H), 4,99 (br, s, 1H), 8,11 (d, J=2,01 Hz, 1H), 8,56 (d, J=1,76 Hz, 1H).

Ví dụ 10

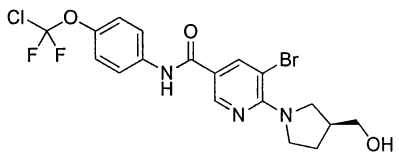
(S)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (S)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 10.1, 119mg, 0,25mmol), 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (139mg, 0,5mmol), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (0,018g, 0,025mmol),Na_2CO_3 (0,106g, 1,000mmol), DME (1,061mL), nước (0,303mL) và EtOH (0,152mL) được bổ sung vào ống nghiệm

MW được đậy kín, hút chân không/xịt rửa 3 lần bằng argon sau đó đưa vào chiếu xạ MW ở 125°C trong 20 phút. RM được pha loãng với DME (2mL) và khuấy qua đêm với Si-Thiol (Silicycle 1,43mmol/g, 0,105g, 0,150mmol). Hỗn hợp này được ly tâm và phần nổi bề mặt được lọc qua phễu lọc PTFE 0,45µm và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 12g, xyclohexan/EtOAc từ 20% đến 90% EtOAc) để thu được chất trung gian được bảo vệ được xử lý với hỗn hợp chứa DCM (2,5mL) và TFA (0,963mL, 12,50mmol) và khuấy ở RT trong 2 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn xử lý với dung dịch NH3 7N trong MeOH (2mL, 14mmol). Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột DEAP, đẳng thành phần pha động 28% trong 9 phút) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất dầu màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 1) t_R =1,87 phút, m/z = 464,1 [M+H]+, m/z = 462,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,49 - 1,65 (m, 1H) 1,75 - 1,97 (m, 1H) 2,14 - 2,30 (m, 1H) 3,04 (dd, J = 11,37, 6,97 Hz, 1H) 3,14 - 3,26 (m, 2H) 3,26 - 3,29 (m, 1H) 3,35 - 3,46 (m, 2H) 4,60 (t, J = 5,14 Hz, 1H) 6,39 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 7,33 (d, J = 9,05 Hz, 2H) 7,76 (br, s, 1H) 7,84 - 7,94 (m, 2H) 8,04 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 8,74 (s, 1H) 10,18 (s, 1H) 12,87 (br, s, 1H).

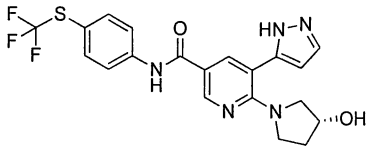
Bước 10.1: (S)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 9.3) và (S)-1-pyrolidin-3-yl-metanol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,82 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,14 phút, m/z = 476,2/478,3 [M+H]+.

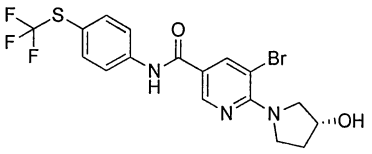
Ví dụ 11

(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



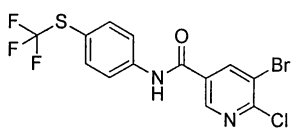
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 9 sử dụng (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit (Bước 11.1) và 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol để thu được chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,97 phút, m/z = 450,2 [M+H]+, m/z = 448,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,78 (m, 1H) 1,78 - 1,88 (m, 1H) 2,94 (d, J = 11,92 Hz, 1H) 3,19 - 3,34 (m, 2H) 3,38 - 3,50 (m, 1H) 4,20 (br, s, 1H) 4,81 - 4,93 (m, 1H) 6,33 - 6,45 (m, 1H) 7,83 (m, J = 113,40, 8,20 Hz, 3H) 7,93 (d, J = 8,66 Hz, 2H) 7,99 - 8,08 (m, 1H) 8,70 - 8,81 (m, 1H) 10,30 (s, 1H) 12,90 - 13,16 (m, 1H).

Bước 11.1: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



DIPEA (73µL, 0,42mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 5-brom-6-clo-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit (Bước 11.2, 123mg, 0,3mmol) và (R)-pyrolidin-3-ol (31.4mg, 0,36mmol) trong iPrOH (300µL) trong ống nghiệm, được đậy kín và gia nhiệt ở 140°C trong 1 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được pha loãng với EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được nghiền với iPr2O, lọc và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột tinh thể màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,9 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,21 phút, m/z = 464,1 [M+H]+.

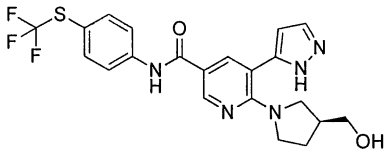
Bước 11.2: 5-brom-6-clo-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



DMF (0,12mL) được bổ sung, sau đó bổ sung từ từ $SOCl_2$ (0,73 mL, 10mmol) vào hỗn hợp chứa axit 5-brom-6-clo-nicotinic(473mg, 2mmol) trong toluen (5mL), và RM sau đó được khuấy ở 80°C trong 1 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, toluen được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong THF (0,4mL). DIPEA (0,7mL, 4mmol) được bổ sung và dung dịch được làm lạnh đến 0°C trong điều kiện nitơ. 4-triflometylsulfanyl-anilin (438mg, 2,2mmol) trong THF (1mL) sau đó được bổ sung từng giọt và RM được khuấy ở 0°C trong 2 giờ. RM được pha loãng với TBME (50mL), xử lý với HCl 1M và chiết bằng TBME. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng dung dịch NaOH 1M và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và sản phẩm được kết tinh từ TBME/n-hexan để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột tinh thể màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,63 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,33 phút, m/z = 411,1 [M+H]+.

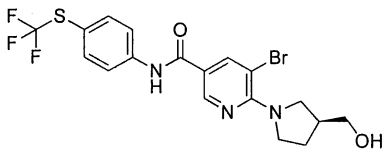
Ví dụ 12

(S)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 10 sử dụng (S)-5-brom-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-N-(4-((triflometyl)thio) phenyl)nicotinamit (Bước 12.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu vàng xám. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,99 phút, m/z = 464,2 [M+H]+, m/z = 462,2 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) d ppm 1,48 - 1,64 (m, 1H) 1,76 - 1,93 (m, 1H) 2,15 - 2,27 (m, 1H) 3,04 (dd, J = 11,49, 7,09 Hz, 1H) 3,18 - 3,26 (m, 2H) 3,27 - 3,29 (m, 1H) 3,32 - 3,41 (m, 2H) 4,60 (br, s, 1H) 6,39 (d, J = 1,71 Hz, 1H) 7,67 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,80 (br, s, 1H) 7,87 - 7,99 (m, 2H) 8,04 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 8,74 (br, s, 1H) 10,28 (s, 1H) 12,76 - 13,20 (m, 1H).

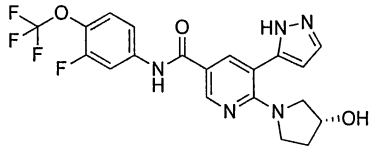
Bước 12.1: (S)-5-brom-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



DIPEA (4,89 mL, 28,0mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 5-brom-6-clo-N-(4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit (Bước 11.2, 2,88g, 7,0mmol) và (S)-1-pyrolidin-3-yl-metanol (1,156, 8,40mmol) trong iPrOH (7,0mL)trong ống nghiệm, được đậy kín và sau đó gia nhiệt ở 140°C trong 1 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng dung dịch HCl 0,5M và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được nghiền với iPr_2O, lọc và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột tinh thể màu be. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,17 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,20 phút, m/z = 476,2/478,2 [M+H]+.

Ví dụ 13

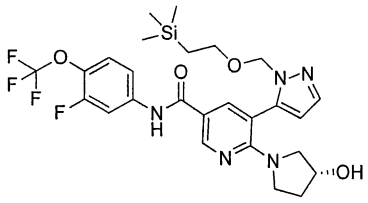
(R)-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (R)-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 13.1, 64mg, 0,11mmol), etylen diamin (37,2µL, 0,55mmol) và TBAF 1M trong THF (1,651 mL, 1,651mmol) trong ống MW được đậy kín và khuấy ở 80-85°C trong 20 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (40mL), rửa 3 lần bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột Diol, đẳng thành phần pha động 27%) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,95 phút, m/z = 452,3 [M+H]+, m/z = 450,3 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,78 (m, 1H) 1,78 - 1,89 (m, 1H) 2,95 (d, J = 11,74 Hz, 1H) 3,29 (br, s, 2H) 3,37 - 3,49 (m, 1H) 4,20 (br, s, 1H) 4,83 (br, s, 1H) 6,35 - 6,42 (m, 1H) 7,52 (t, J =

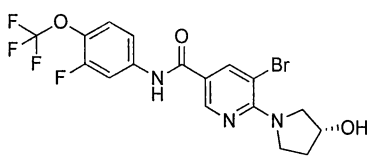
9,05 Hz, 1H) 7,62 (d, J = 9,29 Hz, 1H) 7,74 (br, s, 1H) 7,98 (dd, J = 13,20, 2,20 Hz, 1H) 8,02 (d, J = 2,20 Hz, 1H) 8,74 (d, J = 1,71 Hz, 1H) 10,31 (br, s, 1H) 12,95 (br, s, 1H).

Bước 13.1: (R)-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (R)-5-brom-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 13.2, 100mg, 0,215mmol), 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol (104mg, 0,321mmol), Pd(PPh3)2Cl2 (15,2mg, 0,022mmol), Na_2CO_3 (91mg, 0,862mmol), DME (914µL), nước (261µL) và EtOH (131µL) trong ống MW được đậy kín, hút chân không/xịt rửa 3 lần với argon và đưa vào chiếu xạ MW ở 125°C trong 20 phút. RM được pha loãng với DME (3mL), sau đó khuấy qua đêm với Si-Thiol (Silicycle 1,44mmol/g, 90mg, 0,129mmol). Hỗn hợp này được ly tâm và phần nổi bề mặt được lọc qua phễu lọc PTFE 0,45µm và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn which được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột DEAP, từ 15% đến 20% trong 6 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là chất dầu trong suốt màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,28 phút, m/z = 581,2 [M+H]+, m/z = 580,4 [M-H]-.

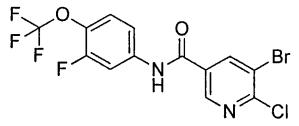
Bước 13.2: (R)-5-brom-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước

13.3) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,82 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,17 phút, m/z = 464,1 [M+H]+.

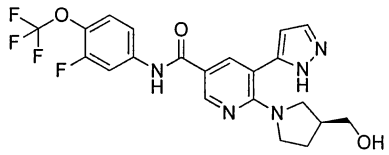
Bước 13.3: 5-brom-6-clo-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinicvà 3-flo-4-triflometoxy-anilin để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,43 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,29 phút, m/z = 413 [M-H]-.

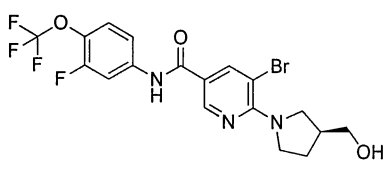
Ví dụ 14

(S)-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 10 sử dụng (S)-5-brom-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 14.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu vàng xám. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,96 phút, m/z = 466,2 [M+H]+, m/z = 464,2 [M-H]-, 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) d ppm 2,77 (s, 3H) 3,38 - 3,61 (m, 4H) 4,61 (br, s, 1H) 6,47 (s, 1H) 7,68 (d, J = 8,56 Hz, 2H) 7,83 (br, s, 1H) 7,93 (d, J = 8,80 Hz, 2H) 8,15 (br, s, 1H) 8,71 (br, s, 1H) 10,36 (s, 1H) 12,83 - 13,15 (m, 1H).

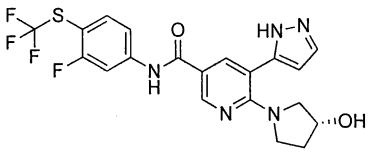
Bước 14.1: (S)-5-brom-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)-6-(3-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(3-flo-4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 13.3) và (S)-1-pyrolidin-3-yl-metanol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục, HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,99 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,18 phút, m/z = 478,1/480,1 [M+H]+.

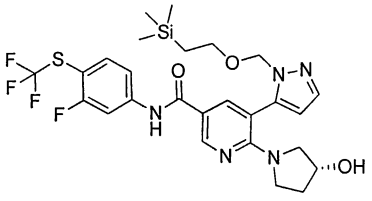
Ví dụ 15

(R)-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 13 sử dụng (R)-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 15.1) để thu được chất rắn màu trắng đục. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,00 phút, m/z = 468,3 [M+H]+, m/z = 466,1 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,68 - 1,78 (m, 1H) 1,79 - 1,89 (m, 1H) 2,96 (d, J = 11,74 Hz, 1H) 3,24 - 3,30 (m, 2H) 3,40 - 3,49 (m, 1H) 4,20 (d, J = 2,20 Hz, 1H) 4,84 (br, s, 1H) 6,38 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 7,66 - 7,78 (m, 3H) 7,98 (dd, J = 11,98, 1,96 Hz, 1H) 8,03 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 8,75 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 10,24 - 10,72 (m, 1H) 12,59 - 13,22 (m, 1H).

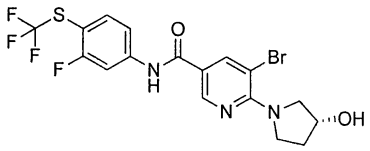
Bước 15.1: (R)-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 13.1 sử dụng (R)-5-brom-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 15.2) và 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol để thu được nhựa

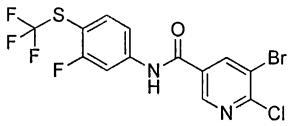
màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,33 phút, m/z = 598,4 [M+H]+, m/z = 596,5 [M-H]-.

Bước 15.2: (R)-5-brom-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit (Bước 15.3) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,11 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,23 phút, m/z = 480,1 [M+H]+.

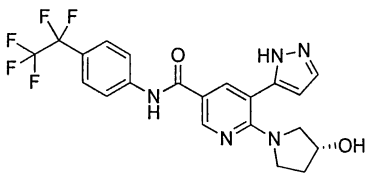
Bước 15.3: 5-brom-6-clo-N-(3-flo-4-((triflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinicvà 3-flo-4-triflometylsulfanyl-anilin để thu được chất rắn tinh thể màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,71 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,34 phút, m/z = 429 [M-H]-.

Ví dụ 16

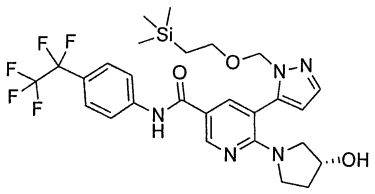
(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetyl)phenyl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa (R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetyl)phenyl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 16.1, 68mg,

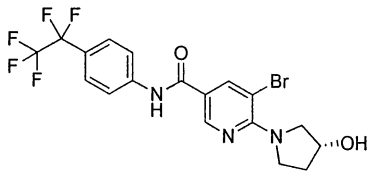
0,114mmol) và etylen damien (38,4µL, 0,569mmol) trong ống MW và đậy kín trong điều kiện argon TBAF 1M trong THF (1,707 mL, 1,707mmol) được bổ sung và RM được khuấy ở 80°C trong 20 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (40mL), rửa 3 lần bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột Diol, đẳng thành phần pha động 27% trong 9 phút) để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng đục. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,98 phút, m/z = 468,2 [M+H]+, m/z = 466,2 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,68 - 1,78 (m, 1H) 1,83 (dd, J = 8,80, 4,40 Hz, 1H) 2,96 (d, J = 11,74 Hz, 1H) 3,19 - 3,29 (m, 2H) 3,40 - 3,50 (m, 1H) 4,20 (br, s, 1H) 4,83 (br, s, 1H) 6,39 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 7,65 (d, J = 8,80 Hz, 2H) 7,77 (br, s, 1H) 8,02 (d, J = 9,05 Hz, 2H) 8,05 (d, J = 2,45 Hz, 1H) 8,76 (d, J = 2,20 Hz, 1H) 10,33 (s, 1H) 12,91 (br, s, 1H).

Bước 16.1: (R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetyl)phenyl)-5-(1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



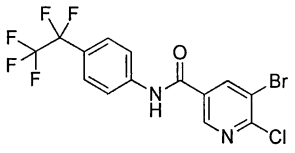
Hỗn hợp chứa (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetyl)phenyl)nicotinamit (Bước 16.2, 100mg, 0,208mmol), 5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-pyrazol (135mg, 0,416mmol), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (14,62mg, 0,021mmol), Na_2CO_3 (88mg, 0,833mmol), DME (883µL), nước (252µL) và EtOH (126µL) trong ống MW, được đậy kín, hút chân không/xịt rửa 3 lần với argon và đưa vào chiếu xạ MW ở 125°C trong 20 phút. RM được pha loãng với 3mL DME, sau đó khuấy qua đêm với Si-Thiol (Silicycle 1,44mmol/g, 87mg, 0,125mmol). Hỗn hợp này được ly tâm và phần nổi bề mặt được lọc qua phễu lọc PTFE 0,45µm và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng SFC điều chế (Cột Diol, từ 15% đến 20% trong 6 phút) để tạo ra hợp chất theo tiêu đề là nhựa trong suốt không màu. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,31 phút, m/z = 598,4 [M+H]+, m/z = 596,3 [M-H]-.

Bước 16.2: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetyl)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(perfloetyl)phenyl)nicotinamit (Bước 16.3) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,96 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,20 phút, m/z = 480,2 [M+H]+.

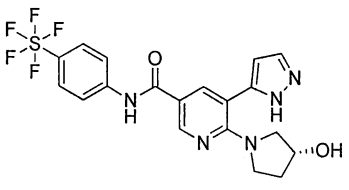
Bước 16.3: 5-brom-6-clo-N-(4-(perfloetyl)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinic và 4-pentafloetyl-anilin để thu được chất rắn tinh thể màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,61 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,32 phút, m/z = 429 [M-H]-.

Ví dụ 17

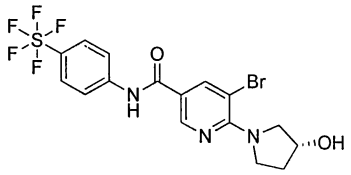
(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(pentaflosulfanyl)phenyl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(pentaflosulfanyl)phenyl)nicotinamit (Bước 17.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được chất rắn màu be. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,68 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,92 phút, m/z =

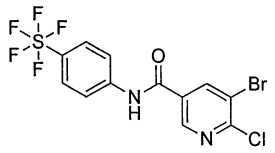
476,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,91 (m, 2H) 2,93 (d, J = 11,73 Hz, 1H) 3,19 - 3,34 (m, 2H) 3,36 - 3,49 (m, 1H) 4,12 - 4,24 (m, 1H) 4,81 (d, J = 3,13 Hz, 1H) 6,38 (s, 1H) 7,73 - 7,89 (m, 3H) 7,92 - 8,09 (m, 3H) 8,73 (d, J = 1,96 Hz, 1H) 10,37 (s, 1H) 12,82 - 13,17 (m, 1H).

Bước 17.1: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(pentaflosulfanyl)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(pentaflosulfanyl)phenyl)nicotinamit (Bước 17.2) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,16 phút, m/z = 490,1 [M+H]+.

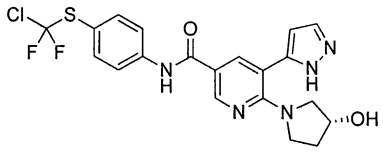
Bước 17.2: 5-brom-6-clo-N-(4-(pentaflosulfanyl)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinicvà 4-aminophenyllưu huỳnh pentaflorua để thu được chất rắn màu cam. HPLC (Điều kiện 4), t_R = 6,43 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3), t_R = 1,27 phút, m/z = 435,3/437,2 [M+H]+.

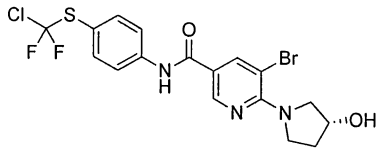
Ví dụ 18

(R)-N-(4-((clodiflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



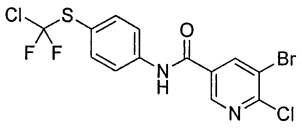
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-5-brom-N-(4-((clodiflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 18.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được chất rắn màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,94 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,99 phút, m/z = 466,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 - 1,88 (m, 2H) 2,86 - 2,99 (m, 1H) 3,19 - 3,33 (m, 2H) 3,36 - 3,51 (m, 1H) 4,13 - 4,23 (m, 1H) 4,76 - 4,90 (m, 1H) 6,31 - 6,42 (m, 1H) 7,65 (d, J = 8,21 Hz, 2H) 7,76 - 7,84 (m, 1H) 7,92 (d, J = 8,60 Hz, 2H) 7,98 - 8,08 (m, 1H) 8,66 - 8,82 (m, 1H) 10,28 (s, 1H) 12,82 - 13,14 (m, 1H).

Bước 18.1: (R)-5-brom-N-(4-((clodiflometyl)thio)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



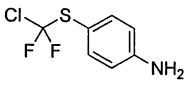
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-((clodiflometyl)thio)phenyl)nicotinamit (Bước 18.2) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,97 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,19 phút, m/z = 478,2/480,1 [M+H]+.

Bước 18.2: 5-brom-6-clo-N-(4-((clodiflometyl)thio)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinicvà 4-((clo-diflometyl)thio)anilin (Bước 18.3) để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,78 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,32 phút, m/z = 425 [M-H]-.

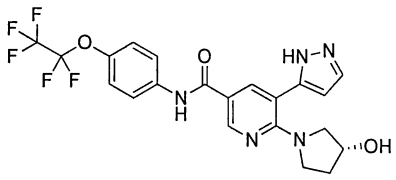
Bước 18.3: 4-((clodiflometyl)thio)anilin



Vào dung dịch chứa 4-nitrophenylclodiflometyl sulfide (điều chế như mô tả trong DE2845997, 627, 67,5g, 0,28 mol) trong etanol (270mL) và nước (68mL) khuấy ở 72°C được bổ sung HCl đặc (3,4 mL, 41,5mmol) và bột sắt (203g, 3,63 mol) thành 3 phần trong 10 phút. RM được khuấy ở 82°C trong 30 phút, lọc qua Celite® (EtOH), dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được chất dầu màu vàng, dầu này được hòa tan trong DCM và rửa bằng $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối. Pha hữu cơ được sấy khô trên MgSO4, lọc và dịch lọc được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô là chất dầu màu vàng, dầu này được chưng cất (b.p. 88-92°C, 0,9mmHg) và lọc qua Celite® để thu được hợp chất theo tiêu đề là dàu màu vàng xám. 1H-NMR (300 MHz, CDCl3) δ ppm 3,98 (br, s, 2H) 6,67 (dd, 2H) 7,43 (dd, 2H).

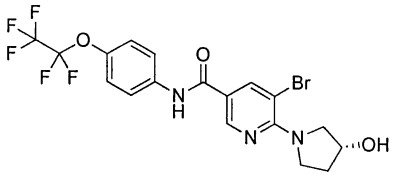
Ví dụ 19

(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetoxy)phenyl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



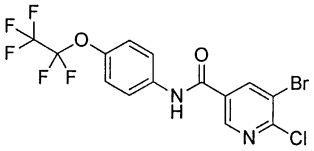
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 19.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được chất rắn màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,86 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,97 phút, m/z = 484,4 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,62 - 1,92 (m, 2H) 2,94 (d, J = 1,00 Hz, 1H) 3,18 - 3,34 (m, 2H) 3,37 - 3,51 (m, 1H) 4,13 - 4,22 (m, 1H) 4,70 - 4,91 (m, 1H) 6,37 (br, s, 1H) 7,31 (d, J = 8,99 Hz, 2H) 7,86 (m, J = 9,00 Hz, 3H) 8,01 (br, s, 1H) 8,65 - 8,83 (m, 1H) 10,17 (s, 1H) 12,84 - 13,11 (m, 1H).

Bước 19.1: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(perfloetoxy)phenyl) nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.2 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(perfloetoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 19.2) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,01 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,17 phút, m/z = 496,2 [M+H]+.

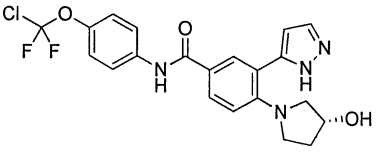
Bước 19.2: 5-brom-6-clo-N-(4-(perfloetoxy)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.3 sử dụng axit 5-brom-6-clo-nicotinic và 4-(perfloetoxy)anilin để thu được chất rắn kết tinh màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,73 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,30 phút, m/z = 443,1 [M-H]-.

Ví dụ 20

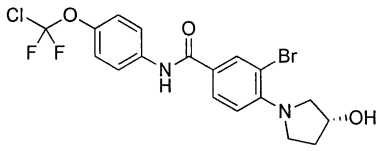
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)benzamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)benzamit (Bước 20.1) và este pinacol của axit 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-boronic để thu được chất rắn màu trắng đục. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,99 phút, m/z = 449,0 [M+H]+, m/z = 493,0 [M+axit formic-H]-; 1H NMR (400

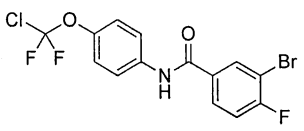
MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,79 (m, 1H) 1,80 - 1,92 (m, 1H) 2,72 (d, J=10,88 Hz, 1H) 3,03 - 3,18 (m, 2H) 3,19 - 3,30 (m, 1H) 4,19 (br, s, 1H) 4,77 - 4,92 (m, 1H) 6,22 - 6,42 (m, 1H) 6,76 - 6,93 (m, 1H) 7,31 (d, J=8,56 Hz, 2H) 7,45 - 7,81 (m, 1H) 7,83 - 7,95 (m, 4H) 10,12 (s, 1H) 12,71 - 13,12 (m, 1H).

Bước 20.1: (R)-3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)benzamit



Hỗn hợp chứa 3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-flobenzamit (1g, 2,53mmol), (R)-pyrolidin-3-ol (0,331g, 3,80mmol), TEA (0,706mL, 5,07mmol) và DMSO (2,53mL) được khuấy ở 90°C trong 20 giờ. RM được xử lý với HCl 0,5M (50mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng HCl 0,5M, dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa và nước muối, sấy khô trên $Na_2SO_4$and dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 40g, xyclohexan/EtOAc, từ 1% đến 4,5% EtOAc). Các phần chứa sản phẩm tinh khiết được kết hợp và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được nghiền trong điều kiện xyclohexan để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn vô định hình màu trắng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,15 phút, m/z = 462,9 [M+H]+, m/z = 460,9 [M-H]-; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,81 - 1,90 (m, 1H) 1,92 - 2,03 (m, 1H) 3,27 (dd, J=10,39, 1,10 Hz, 1H) 3,36 - 3,44 (m, 1H) 3,62 - 3,71 (m, 1H) 3,81 (dd, J=10,45, 4,71 Hz, 1H) 4,32 - 4,40 (m, 1H) 4,99 (d, J=3,42 Hz, 1H) 6,93 (d, J=8,80 Hz, 1H) 7,33 (d, J=9,05 Hz, 2H) 7,82 - 7,91 (m, 3H) 8,14 (d, J=2,20 Hz, 1H) 10,21 (s, 1H).

Bước 20.2: 3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-flobenzamit

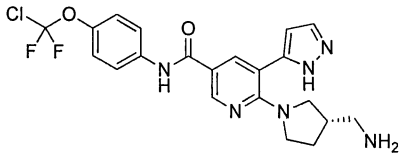


Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 1.3 sử dụng axit 3-brom-4-flobenzoic và 4-(clodiflometoxy)anilin để thu được

chất rắn màu trắng đục. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,25 phút, m/z = 394,0 [M+H]+, m/z = 391,9 [M-H]-; 1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 7,37 (d, J=9,17 Hz, 2H) 7,57 (t, J=8,68 Hz, 1H) 7,84 - 7,91 (m, 2H) 8,03 (ddd, J=8,62, 4,83, 2,32 Hz, 1H) 8,32 (dd, J=6,60, 2,20 Hz, 1H) 10,52 (s, 1H).

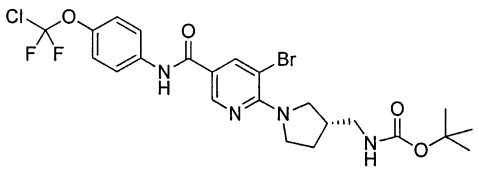
Ví dụ 21

(S)-6-(3-(Aminometyl)pyrolidin-1-yl)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (S)-tert-butyl ((1-(3-brom-5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-pyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl)metyl)carbamat (Bước 21.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,15 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,78 phút, m/z = 463,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,50 - 1,62 (m, 1H) 1,91 (d, J=6,26 Hz, 1H) 2,27 (s, 1H) 2,72 (d, J=7,04 Hz, 2H) 3,04 - 3,16 (m, 3H) 3,30 (br, s, 2H) 3,47 (dd, J=11,34, 7,04 Hz, 1H) 6,38 (d, J=1,96 Hz, 2H) 7,31 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,64 - 7,91 (m, 2H) 8,05 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,72 (d, J=1,95 Hz, 1H) 10,19 (s, 1H) 12,86 - 13,01 (m, 1H).

Bước 21.1: (S)-tert-butyl ((1-(3-brom-5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)-carbamoyl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl)metyl)carbamat

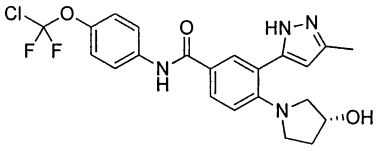


Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 8.1 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 9.3) và (R)-1-pyrolidin-3-ylmetyl-carbamic este tert-butyl của axit để thu được chất rắn kết

tinh. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,09 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,36 phút, m/z = 577,2 [M+H]+.

Ví dụ 22

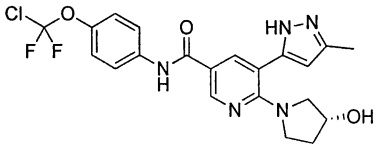
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-3-(3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)benzamit



3-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (Bước 23.1, 128mg, 0.329mmol), K_3PO_4 (140mg, 0.658mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (15,22mg, 0,013mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (R)-3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)benzamit (Bước 20.1, 80mg, 0,165mmol) trong toluen (1,5mL) trong điều kiện argon. và RM được gia nhiệt ở 110°C trong 2 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong DCM (4mL) và xử lý với TFA (0,507mL, 6,58mmol) và khuấy ở RT trong 2 giờ. RM được xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4, và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 10 – 20% đến 80% B trong 20 phút). Các phân đoạn chứa sản phẩm tinh khiết được tập trung lại, xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa và MeCN được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn nước được chiết bằng DCM và dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4, lọc và dịch lọc được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn, cắn này được kết tinh từ DCM/n-hexan để thu được hợp chất trong tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,41 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,03 phút, m/z = 463 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,78 (m, 1H) 1,84 (s, 1H) 2,16 - 2,30 (m, 3H) 2,74 (d, J=10,56 Hz, 1H) 3,04 - 3,33 (m, 3H) 4,14 - 4,23 (m, 1H) 4,76 - 4,87 (m, 1H) 6,07 (s, 1H) 6,73 - 6,86 (m, 1H) 7,29 (d, J=8,21 Hz, 2H) 7,78 - 7,90 (m, J=8,99 Hz, 4H) 10,07 (s, 1H) 12,34 - 12,56 (m, 1H).

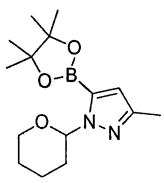
Ví dụ 23

(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(3-metyl-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



3-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (Bước 23.1, 150mg, 0,359mmol), K_3PO_4 (147mg, 0,692mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (15,98mg, 0,014mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2, 80mg, 0,173mmol) trong toluen (1,5mL) trong điều kiện argon và RM được khuấy ở 110°C trong 2 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong DCM (1,5mL), xử lý với TFA (0,533 mL, 6,92mmol) và khuấy ở RT trong 2 giờ. RM được xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4, và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g, DCM/MeOH từ 99:1 đến 92:8) và kết tinh từ DCM/n-hexan để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,92 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,94 phút, m/z = 464,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,89 (m, 2H) 2,19 - 2,31 (m, 3H) 2,98 (d, J=10,95 Hz, 1H) 3,24 - 3,35 (m, 2H) 3,39 - 3,52 (m, 1H) 4,16 - 4,25 (m, 1H) 4,80 - 4,90 (m, 1H) 6,11 - 6,17 (m, 1H) 7,32 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,87 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,97 - 8,06 (m, 1H) 8,66 - 8,78 (m, 1H) 10,16 (s, 1H) 12,51 - 12,70 (m, 1H).

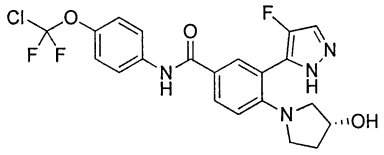
Bước 23.1: 3-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol



Hỗn hợp chứa 3-metylpyrazol (3,0g, 35,4mmol), 3,4-dihydro-2H-pyran (4,97mL, 53,2mmol) và TFA (0,02 mL, 0,260mmol) được khuấy ở 85°C trong 6 giờ trong điều kiện argon. RM được làm lạnh đến RT và NaH 60% trong dầu khoáng (0,061g, 1,524mmol) và RM được khuấy trong 10 phút. RM được tinh chế bằng cách chưng cất qua nhiều bầu cất để thu được 3-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol (b.p. 150-170°C/12mbar). Dung dịch n-BuLi trong n-hexan (3,38mL, 1,6M, 5,41mmol) được bổ sung từng giọt trong 10 phút vào dung dịch chứa 3-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol (1,0g, 5,41mmol) trong THF (12mL) ở -70°C trong điều kiện nitơ và RM được khuấy trong 10 phút và sau đó xử lý từng giọt với 2-metoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (0,898g, 5,69mmol) và khuấy ở -70°C trong 1 giờ. RM được để cho ấm đến RT, xử lý với n-hexan và sản phẩm được lọc, hòa tan trong nước (10mL) và axit hóa đến độ pH= 6 bằng axit xitric (10%). Nước được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn nước được chiết bằng EtOAc, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm theo tiêu đề là nhựa màu vàng. UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,56 phút, m/z = 211,2 [M+H]+.

Ví dụ 24

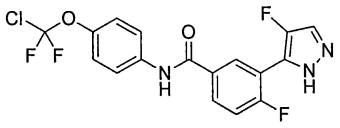
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-3-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-4-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)benzamit



Hỗn hợp chứa N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-flo-3-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)benzamit (Bước 24.1, 62mg, 0,147mmol), R-3-hydroxypyrolidin (0,031mL, 0,206mmol) và TEA (0,062mL, 0,442mmol) trong DMSO (0.5mL) được khuấy ở 100°C trong 16 giờ. RM được pha loãng với EtOAc (30mL), xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước (20mL) và nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 10). Các phần chứa sản phẩm tinh khiết được gộp lại, xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa và MeCN được loại trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn nước

được chiết bằng DCM và dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn được hòa tan trong DCM và xử lý với n-hexan để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,61 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,01 phút, m/z = 467,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,69 - 1,95 (m, 2H) 2,79 (d, J=10,56 Hz, 1H) 3,06 - 3,20 (m, 2H) 3,22 - 3,35 (m, 1H) 4,13 - 4,30 (m, 1H) 4,79 - 4,96 (m, 1H) 6,75 - 6,92 (m, 1H) 7,31 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,86 (m, J=9,38 Hz, 5 H) 10,11 (s, 1H) 12,67 - 13,12 (m, 1H).

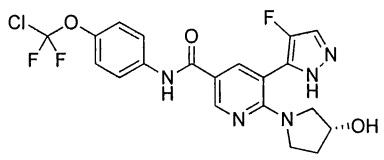
Bước 24.1: N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-flo-3-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)benzamit



Hỗn hợp chứa 3-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-4-flobenzamit (Bước 20.2, 200mg, 0,497mmol), 4-flo-5-(tributylstannyl)-1H-pyrazol (211mg, 0,472mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (28,7mg, 0,025mmol) trong DMSO (1,5mL) trong ống nghiệm kín được khuấy ở 100°C trong 20 giờ trong điều kiện argon. RM được pha loãng với EtOAc (30mL), xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước(20mL) và nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g, n-hexan/EtOAc 95:5 đến 6:4) thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 7,20 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,12 phút, m/z = 400,1 [M+H]+.

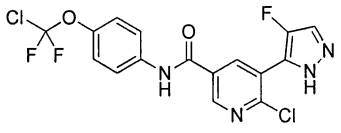
Ví dụ 25

(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



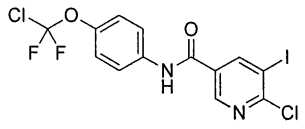
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 5 sử dụng 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 25.1) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được chất bột màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,89 phút, HPLC bất đối (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4,6mm, dung môi rửa giải: n-heptan/EtOH/MeOH (85:10:5), 1mL/phút, UV 210 nm) t_R = 9,34 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,96 phút, m/z = 468,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,92 (m, 2H) 3,00 (d, J=11,73 Hz, 1H) 3,19 - 3,33 (m, 2H) 3,43 (m, J=7,00 Hz, 1H) 4,22 (br, s, 1H) 4,87 (br, s, 1H) 7,31 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,85 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,90 - 8,10 (m, 2H) 8,77 (br, s, 1H) 10,18 (s, 1H) 12,83 - 13,19 (m, 1H).

Bước 25.1: 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 13.1 sử dụng 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-iodnicotinamit (Bước 25.2) và 4-flo-5-(tributylstannyl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,69 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,09 phút, m/z = 415 [M-H]-; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm.

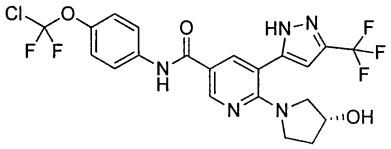
Bước 25.2: 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-iodnicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 11.2 sử dụng axit 6-clo-5-iodnicotinic và 4-(clodiflometoxy)anilin để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,47 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,26 phút, m/z = 456,8 [M-H]-.

Ví dụ 26

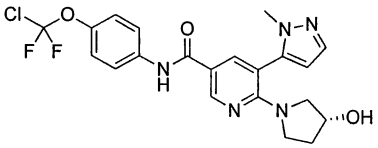
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(3-(triflometyl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



K_3PO_4 (135mg, 0,635mmol), axit 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-3-(triflometyl)-1H-pyrazol-5-ylboronic (112mg, 0,424mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (12,24mg, 10,59 µmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2, 100mg, 0,212mmol) trong toluen (2mL) và RM được khuấy ở 110°C trong 2 giờ trong điều kiện argon. RM được lọc qua Hyflo®, rửa bằng nước và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g, DCM/EtOH từ 99:1 đến 94:6). Chất trung gian thu được được hòa tan trong DCM (2mL), xử lý với TFA (0,462 mL, 5,99mmol) và khuấy trong 1 giờ ở RT. RM được pha loãng với EtOAc (20mL), xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 4g, DCM/EtOH từ 99:1 đến 9:1). Các phần chứa sản phẩm sạch được kết hợp và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được nghiền trong DCM/ n-hexan, lọc và sấy khô để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,545 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,10 phút, m/z = 518,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,71 - 1,95 (m, 2H) 2,94 (d, J=11,34 Hz, 1H) 3,24 (m, 2H) 3,44 (m, 1H) 4,17 - 4,32 (m, 1H) 4,91 (br, s, 1H) 6,88 (s, 1H) 7,34 (d, J=8,21 Hz, 2H) 7,86 (d, J=9,38 Hz, 2H) 8,12 (s, 1H) 8,81 (s, 1H) 10,17 (s, 1H) 13,94 (s, 1H).

Ví dụ 27

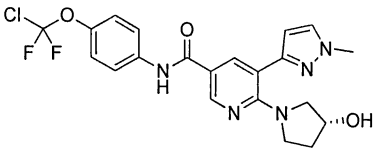
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 2.1 sử dụng (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2) và 1-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,25 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,98 phút, m/z = 464,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 - 1,89 (m, 2H) 2,87 - 3,00 (m, 1H) 3,09 - 3,29 (m, 3H) 3,59 (s, 3H) 4,19 (br, s, 1H) 4,87 (d, J=3,13 Hz, 1H) 6,39 (s, 1H) 7,27 - 7,36 (m, 2H) 7,50 (dd, J=1,76, 0,98 Hz, 1H) 7,78 - 7,88 (m, 2H) 8,00 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,78 (dd, J=2,35, 1,17 Hz, 1H) 10,15 (s, 1H).

Ví dụ 28

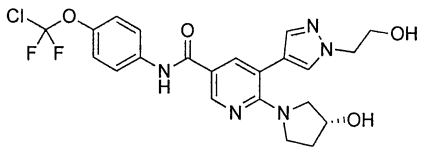
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-metyl-1H-pyrazol-3-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 2.1 sử dụng (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2) và 1-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,16 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,98 phút, m/z = 464 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,90 (m, 2H) 2,85 - 3,00 (m, 1H) 3,06 - 3,26 (m, 3H) 3,59 (s, 3H) 4,19 (br, s, 1H) 4,87 (d, J=2,74 Hz, 1H) 6,39 (s, 1H) 7,31 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,50 (dd, J=1,76, 0,98 Hz, 1H) 7,84 (d, J=8,60 Hz, 2H) 8,01 (d, J=2,74 Hz, 1H) 8,78 (dd, J=2,54, 0,98 Hz, 1H) 10,15 (s, 1H).

Ví dụ 29

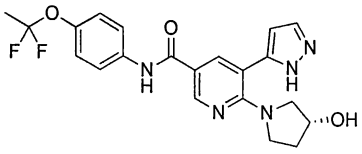
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(1-(2-hydroxyetyl)-1H-pyrazol-4-yl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



Na_2CO_3 2M (0,375 mL, 0,75mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (R)-5-brom-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 9.2, 116mg, 0,25mmol) và 1-(2-(tetrahydro-2H-pyran-2-yloxy)etyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (161mg, 0,5mmol) trong DME (1,0mL).trong điều kiện argon. PdCl2(dppf) (9,15mg, 0,013mmol) sau đó được bổ sung và hỗn hợp RM được khuấy ở 100°C trong 2 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được hòa tan trong DCM (1,4mL) làm lạnh đến 0°C, sau đó xử lý với TFA (0,77mL, 10mmol) và khuấy ở RT trong 3 giờ. RM được rót vào trong dung dịch Na_2CO_3 10% (15mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH, từ 2% đến 10% MeOH) để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,33 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,88 phút, m/z = 494 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,67 - 1,88 (m, 2H) 2,96 (d, J=11,73 Hz, 0 H) 3,24 - 3,37 (m, 2H) 3,41 - 3,53 (m, 1H) 3,75 (q, J=5,73 Hz, 2H) 4,04 - 4,25 (m, 4H) 4,81 (d, J=3,52 Hz, 1H) 4,86 - 4,94 (m, 1H) 7,31 (d, J=8,21 Hz, 2H) 7,53 - 7,59 (m, 1H) 7,79 - 7,89 (m, 3H) 7,93 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,65 (dd, J=2,35, 0,78 Hz, 1H) 10,15 (s, 1H).

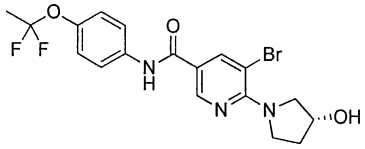
Ví dụ 30

(R)-N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



K_3PO_4 (113mg, 0.532mmol), 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (99mg, 0,355mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (10,24mg, 8,86µmol) được bổ sung vào dung dịch chứa (R)-5-brom-N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 30.1, 80mg, 0,177mmol) trong toluen (1.5mL) trong điều kiện áp suất argon. và RM được khuấy ở 110°C trong 1 giờ. RM được pha loãng với EtOAc (20mL) xử lý với dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa (20mL). và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (20mL), sấy khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g DCM/EtOH từ 97:3 đến 95:5) để thu được N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)-6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (66mg, 0,129mmol) được hòa tan trong DCM (1,5mL) và xử lý với TFA (0,546mL, 7,09mmol) và khuấy trong 2 giờ ở RT. RM được pha loãng với EtOAc (20mL), xử lý với dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa (25mL) và chiết bằng EtOAc (20mL). Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (20mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Điều kiện 10). Các phần chứa sản phẩm sạch được gộp lại, xử lý với 0,5g $NaHCO_3$ và MeCN được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn nước được chiết bằng DCM để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,42 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,82 phút, m/z = 430,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,68 - 1,87 (m, 2H) 1,93 (t, J=13,67 Hz, 3H) 2,94 (d, J=11,71 Hz, 1H) 3,15 - 3,33 (m, 2H) 3,38 - 3,48 (m, 1H) 4,19 (br, s, 1H) 6,37 (s, 1H) 7,15 (d, J=9,37 Hz, 2H) 7,65 - 7,83 (m, J=9,37 Hz, 3H) 8,03 (d, J=2,34 Hz, 1H) 8,73 (d, J=2,34 Hz, 1H).

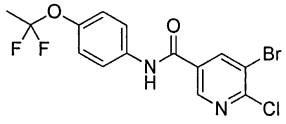
Bước 30.1: (R)-5-brom-N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



Hỗn hợp chứa 5-brom-6-clo-N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 30.2, 700mg, 1,752mmol), (R)-pyrolidin-3-ol (0,170mL, 2,102mmol) và DIPEA

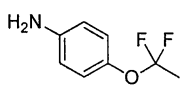
(0,673 mL, 3,85mmol) và iPrOH (2mL) trong ống nghiệm kín được gia nhiệt đến 120°C trong 1 giờ. RM được pha loãng với EtOAc (80mL), xử lý với axit xitric 10% (40mL; ~pH4) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (2 x 40mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn, cắn này được rửa bằng Et2O và n-hexan và tinh thể được sấy khô để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu be, HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,4 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,02 phút, m/z = 442,1/ 444,0 [M+H]+.

Bước 30.2: 5-brom-6-clo-N-(4-(1,1-difloetoxy)phenyl)nicotinamit



Oxalyl clorua (653µL, 7,46mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa axit 5-brom-6-clonicotinic (1,2g, 4,97mmol) và DMF (20µL, 0,258mmol) trong DCM (40mL) trong điều kiện áp suất nitơ và RM được khuấy trong 2 giờ ở RT. Dung môi được bốc hơi, phần cắn được hòa tan trong DCM (10mL) và bốc hơi lại đến khô. Phần cắn được hòa tan trong THF (30mL), DIPEA (1,737mL, 9,95mmol) được bổ sung và RM được làm lạnh đến -15°C. 4-(1,1-difloetoxy)anilin (Bước 30.3, 0,932g, 5,22mmol) trong THF (10mL) được bổ sung từng giọt trong khoảng thời gian 15 phút và RM được khuấy trong 1 giờ ở RT. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được pha loãng với EtOAc (100mL), xử lý với axit xitric 10% (60mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (50mL) và nước muối (2 x 50mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tạo huyền phù trong n-hexan, lọc và sấy khô để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu be. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 7,3 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,16 phút, m/z = 391/393 [M+H]+.

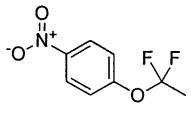
Bước 30.3: 4-(1,1-difloetoxy)anilin



Dung dịch chứa 1-(1,1-difloetoxy)-4-nitrobenzen (Bước 30.4, 2,95g, 13,94mmol) trong EtOH (100mL) được hydro hóa (Raney Ni 1,0g; 26,5 giờ ở RT).

RM được lọc qua Hyflo® và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô theo tiêu đề là chất dầu màu nâu. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 4,5 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,74 phút, m/z = 174,1 [M+H]+.

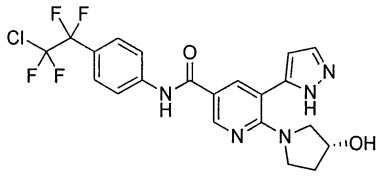
Bước 30.4: 1-(1,1-difloetoxy)-4-nitrobenzen



4-nitroaxetophenon (2,45g, 14,54mmol) và HF-pyridin (10,11 mL, 116mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa XeF_2 (4,92g, 29,1mmol) và DCM (50mL) trong ống nghiệm bằng nhựa và RM được khuấy ở RT trong 20 giờ. RM được bổ sung cẩn thận vào hỗn hợp đã khuấy chứa EtOAc (150mL) và $NaHCO_3$ bão hòa (250mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (2 x 100mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 40g, n-hexan/EtOAc (95:5)) để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất dầu màu vàng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 6,9 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,05 phút.

Ví dụ 31

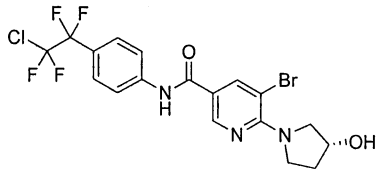
(R)-N-(4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-5-brom-N-(4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit (Bước 31.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,89 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,98 phút, m/z = 484,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,65 - 1,89 (m, 2H) 2,83 - 2,98 (m, 1H) 3,18 - 3,33 (m, 2H) 3,36 - 3,49 (m, 1H) 4,13 - 4,24 (m, 1H) 4,77 - 4,93

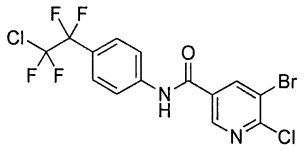
(m, 1H) 6,31 - 6,43 (m, 1H) 7,62 (d, J=8,59 Hz, 2H) 7,77 - 7,84 (m, 1H) 7,91 - 8,09 (m, 3H) 8,64 - 8,81 (m, 1H) 10,31 (s, 1H) 12,83 - 12,96 (m, 1H).

Bước 31.1: (R)-5-brom-N-(4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit



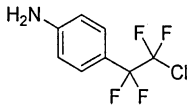
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 8.1 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)phenyl)nicotinamit (Bước 31.2) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được bột màu trắng. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,05 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,18 phút, m/z = 498 [M+H]+.

Bước 31.2: 5-brom-6-clo-N-(4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.3 sử dụng axit 5-brom-6-clonicotinic và 4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)anilin (Bước 31.3) để thu được bột tinh thể màu be. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6.77 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,31 phút, m/z = 444,8 [M+H]+.

Bước 31.3: 4-(2-clo-1,1,2,2-tetrafloetyl)anilin

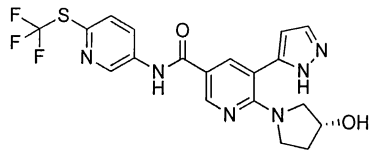


Ni(PPh3)4 (222mg, 0.2mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa anilin (745mg, 8mmol) và 1-clo-1,1,2,2-tetraflo-2-iodetan (1049mg, 4mmol) trong DMF (10mL) trong ống MW trong điều kiện argon. Ống này được đậy kín và RM được khuấy trong hai ngày ở 80°C. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong Et2O, rửa bằng $NaHCO_3$ 10% và nước muối, sấy khô trên MgSO4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột

RediSep® Silica gel, n-heptan/EtOAc, từ 0 đến 25% EtOAc) và được tinh chế thêm bằng sắc ký pha đảo nghịch (MPLC, cột Lichroprep® 15-25µm, dung môi rửa giải: nước + formic 0,1%/MeCN + axit formic 0,1%, MeCN građient từ 10 đến 50% + axit formic 0,1%). Các phần chứa sản phẩm sạch được gộp lại và MeCN được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được pha nước, pha nước này được trung hòa với $NaHCO_3$ và chiết bằng Et_2O. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên $MgSO_4$ và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất theo tiêu đề là dầu màu đỏ. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,48 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,04 phút, m/z = 269 [M+H]+.

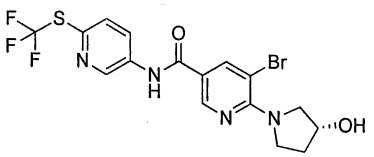
Ví dụ 32

(R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(6-((triflometyl)thio)pyridin-3-yl)nicotinamit



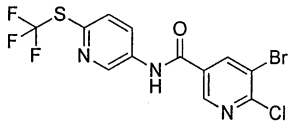
Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(6-((triflometyl)thio)pyridin-3-yl)nicotinamit (Bước 32.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,18 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,82 phút, m/z = 451,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,64 - 1,89 (m, 2H) 2,94 (d, J=11,73 Hz, 1H) 3,18 - 3,33 (m, 2H) 3,36 - 3,49 (m, 1H) 4,18 (br, s, 1H) 4,81 (d, J=3,13 Hz, 1H) 6,38 (s, 1H) 7,68 - 7,85 (m, 2H) 8,02 (d, J=1,95 Hz, 1H) 8,32 (dd, J=8,60, 2,35 Hz, 1H) 8,73 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,98 (d, J=2,35 Hz, 1H) 10,42 (s, 1H) 12,89 - 13,12 (m, 1H).

Bước 32.1: (R)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(6-((triflometyl)thio)pyridin-3-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 8.1 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(6-((triflometyl)thio)pyridin-3-yl)nicotinamit (Bước 32.2) và (R)-pyrolidin-3-ol để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,53 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,01 phút, m/z = 463,1 [M+H]+.

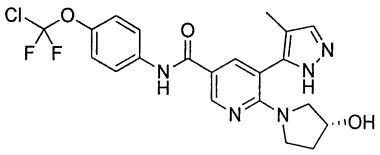
Bước 32.2: 5-brom-6-clo-N-(6-((triflometyl)thio)pyridin-3-yl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 9.3 sử dụng axit 5-brom-6-clonicotinic và 6-(triflometylthio)pyridin-3-amin để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,43 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,15 phút, m/z = 411.9 [M-H]-.

Ví dụ 33

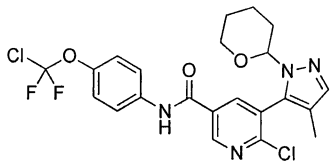
(R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(4-metyl-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



DIPEA (77µL, 0,44mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 33.1, 99mg, 0,2mmol) và (R)-pyrolidin-3-ol, 20,9mg, 0,24mmol) trong iPrOH (200µL) trong ống nghiệm, được đậy kín và hỗn hợp RM được khuấy ở 140°C trong 1,5 giờ. Sau khi làm lạnh ở RT, RM được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn được hòa tan trong DCM (1,1mL), làm mát đến 0°C, xử lý với TFA (0,616 mL, 8mmol) và khuấy ở RT trong 3 giờ. RM được rót vào trong dung dịch Na_2CO_3 10% (10mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, DCM/MeOH từ 2% đến 10% MeOH) để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột màu be, HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,79

phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,95 phút, m/z = 464 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,63 - 1,92 (m, 5 H) 2,81 - 2,96 (m, 1H) 3,05 - 3,41 (m, 3H) 4,17 (br, s, 1H) 4,81 (br, s, 1H) 7,30 (d, J=8,60 Hz, 2H) 7,58 (s, 1H) 7,79 - 8,02 (m, 3H) 8,73 (s, 1H) 10,15 (s, 1H) 12,58 - 12,85 (m, 1H).

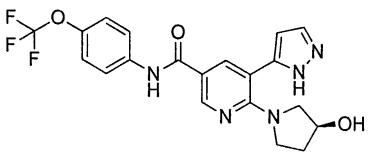
Bước 33.1: 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



K_3PO_4 (191mg, 0,9mmol) và $Pd(PPh_3)_4$ (17,33mg, 0,015mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-iodnicotinamit (Bước 25.2, 138mg, 0,3mmol) và 4-metyl-1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (131mg, 0,45mmol) trong toluen (1,5mL) trong điều kiện argon trong ống nghiệm, được đậy kín và gia nhiệt ở 110°C trong 18 giờ. RM được rót vào trong 20mL nước và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, n-heptan/EtOAc, từ 5 đến 50% EtOAc) và kết tinh từ n-heptan để thu được hợp chất theo tiêu đề là bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 6,8 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,26 phút, m/z = 495 [M-H]-.

Ví dụ 34

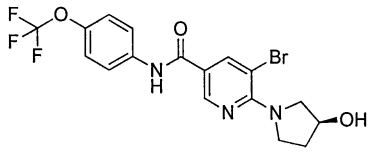
(S)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự như cách được mô tả trong Ví dụ 8 sử dụng (S)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 34.1) và 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-5-

(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol để thu được bột màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 4,42 phút, HPLC bất đối(CHIRALPAK® AD-H, 250 x 4,6 mm, dung môi rửa giải: EtOH/MeCN (98:2), 0,5mL/phút, UV 210 nm) t_R = 28,27 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 0,91 phút, m/z = 434,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,63 - 1,88 (m, 2H) 2,92 (d, J=11,73 Hz, 1H) 3,19 - 3,29 (m, 2H) 3,34 - 3,47 (m, 1H) 4,18 (br, s, 1H) 4,80 (d, J=3,13 Hz, 1H) 6,37 (s, 1H) 7,31 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,75 - 7,89 (m, 3H) 8,00 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,71 (d, J=2,35 Hz, 1H) 10,16 (s, 1H) 12,85 - 13,12 (m, 1H).

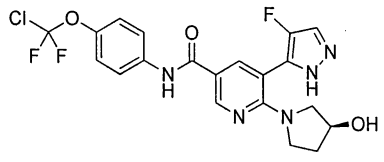
Bước 34.1: (S)-5-brom-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Bước 8.1 sử dụng 5-brom-6-clo-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.3) và (S)-pyrolidin-3-ol để thu được bột tinh thể màu trắng đục. HPLC (Điều kiện 4) t_R = 5,83 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,06 phút, m/z = 446,1 [M+H]+.

Ví dụ 35

(S)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)nicotinamit

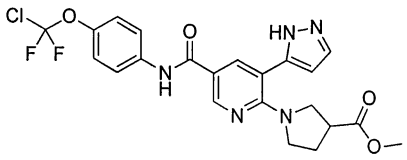


Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 5 sử dụng 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(4-flo-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 25.1) và (S)-3-pyrolidinol để thu được chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,69 phút, HPLC bất đối (CHIRALCEL® OD-H, 250 x 4,6 mm, dung môi rửa giải: n-heptan/EtOH/MeOH (85:10:5), 1mL/phút, UV 210 nm) t_R = 12,62 phút, UPLC-MS (Điều kiện 6) t_R = 0,97 phút, m/z = 468,2 [M+H]+; 1H-NMR

(400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,71 - 1,81 (m, 1H) 1,81 - 1,92 (m, 1H) 3,02 (d, J=11,34 Hz, 1H) 3,24 - 3,37 (m, 2H) 3,40 - 3,49 (m, 1H) 4,23 (br, s, 1H) 4,89 (br, s, 1H) 7,32 (d, J=9,4 Hz, 2H) 7,76 - 7,98 (m, J=9,00 Hz, 3H) 8,03 (d, J=2,35 Hz, 1H) 8,79 (d, J=2,35 Hz, 1H) 10,20 (br, s, 1H) 12,99 (br, s, 1H).

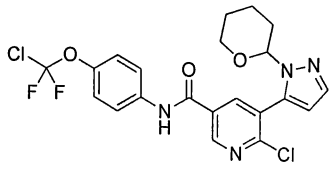
Ví dụ 36

Metyl 1-(5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-carboxylat



DIPEA (181µL, 1,035mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 36,1, 100mg, 0,207mmol), metyl-3-pyrolidin carboxylat hydroclorua (44,5mg, 0,269mmol) và iPrOH (414µL) trong ống nghiệm MW, được sục rửa với argon, đậy và khuấy ở 130°C trong 24 giờ. RM được pha loãng với EtOAc, xử lý với nước muối và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, n-heptan/EtOAc từ 40% đến 100% EtOAc) sau đó TLC điều chế (Silica gel, dung môi rửa giải EtOAc). Sự đông khô tiếp từ 1,4-dioxan thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu trắng nhẹ. UPLC-MS (Điều kiện 6) t_R = 1,09 phút, m/z = 492,1 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,90 - 2,02 (m, 1H) 2,02 - 2,14 (m, 1H) 3,06 - 3,20 (m, 1H) 3,23 - 3,48 (m, 4H) 3,61 (s, 3H) 6,35 - 6,48 (m, 1H) 7,34 (d, J=8,78 Hz, 2H) 7,79 - 7,90 (m, 1H) 7,89 (d, J=8,80 Hz, 2H) 8,03 - 8,13 (m, 1H) 8,70 - 8,83 (m, 1H) 10,26 (s, 1H).

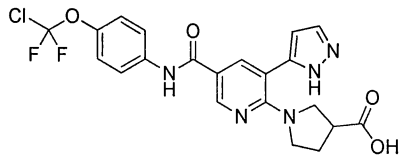
Bước 36.1: 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



Este pinacol của axit 1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-boronic (9,45g, 34,0mmol), Na_2CO_3 (39,2 mL, 78mmol) và PdCl2(dppf) (0,956g, 1,307mmol) được bổ sung vào 6-clo-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-5-iodnicotinamit (Bước 25.2, 12g, 26,1mmol) trong DME (160mL).Hỗn hợp được hút chân không/xịt rửa 3 lần bằng argon, và khuấy ở 80°C trong 22 giờ. RM được pha loãng với EtOAc (350mL), rửa bằng nước (4 x 150mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 850g, EtOAc/n-hexan (1:2)) và kết tinh từ iPr_2O/EtOAc để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 7,52 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,22 phút, m/z = 483/485 [M+H]+.

Ví dụ 37

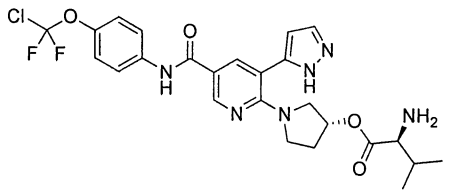
Axit 1-(5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-carboxylic



Dung dịch LiOH 1M (0,199 mL, 0,199mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa metyl 1-(5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-carboxylat (Ví dụ 36, 24,5mg, 0,05mmol) trong MeOH (0,5mL)/THF (1mL) và RM được khuấy ở RT trong 1 giờ 20. RM được xử lý với HCl 1M (4 eq.) và dung môi hữu cơ được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Pha nước được chiết hai lần với EtOAc và dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được cô trong điều kiện áp suất giảm đến thể tích 0,5mL. n-heptan được bổ sung và sản phẩm được lọc, rửa bằng n-heptan và sấy khô để thu được hợp chất theo tiêu đề là chất rắn màu be. UPLC-MS (Điều kiện 6) t_R = 0,96 phút, m/z = 478,3 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,86 - 2,12 (m, 2H) 2,90 - 3,09 (m, 1H) 3,17 - 3,54 (m, 4H) 6,41 (d, J=2,08 Hz, 1H) 7,34 (d, J=9,05 Hz, 2H) 7,66 - 7,83 (m, 1H) 7,88 (d, J=9,17 Hz, 2H) 8,06 (d, J=2,44 Hz, 1H) 8,70 - 8,84 (m, 1H) 10,23 (s, 1H) 12,90 (br, s, 1H).

Ví dụ 38

(S)-(R)-1-(5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl 2-amino-3-metylbutanoat

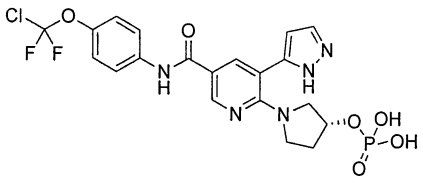


Boc-L-Valin (726mg, 3,34mmol) và DMAP (102mg, 0,836mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9, 800mg, 1,672mmol) trong DCM (20mL) và huyền phù được khuấy ở RT trong 30 phút. N,N'-diisopropyl carbodiimit (0,521mL, 3,34mmol) sau đó được bổ sung và dung dịch thu được được khuấy ở RT trong 19 giờ. RM được pha loãng với EtOAc (150mL), rửa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa (50mL) và nước muối (2 x 50mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tạo huyền phù trong EtOAc (5mL), khuấy ở RT, lọc và rửa bằng 10mL EtOAc. Dịch lọc được bốc hơi đến khô trong điều kiện áp suất giảm và chất trung gian thu được được hòa tan trong DCM (15mL), xử lý với TFA (4,09 mL, 53,0mmol) và được khuấy ở RT trong 92 giờ. Dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cắn được hòa tan trong EtOAc (150mL), rửa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa (50mL) và bằng nước (2 x 50mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được hòa tan trong MeOH (20mL), và xử lý với Si-Thiol (Biotage 1.3mmol/g, 1g). Silica gel (5 g) được bổ sung vào hỗn hợp, dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm, và phần cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột RediSep® Silica gel, 120g, DCM/MeOH 95:5) sau đó bằng SFC điều chế (Cột DEAP; đẳng thành phần pha động 25% trong 15 phút). Các phần chứa sản phẩm sạch được gộp lại và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn, cắn này được hòa tan trong hot MeOH (4mL) và lọc qua phễu lọc PTFE 0,45µm. Dịch lọc được chiếu âm trong 5 phút và huyền phù trắng thu được được khuấy trong 2 giờ ở RT, lọc, rửa bằng MeOH (1mL) và sấy khô để thu được sản phẩm theo tiêu đề là chất rắn màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,41 phút, UPLC-MS

(Điều kiện 3) t_R = 0,86 phút, m/z = 549,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 0,77 (d, J=6,65 Hz, 3H) 0,81 (d, J=6,65 Hz, 3H) 1,51 - 1,64 (m, 2H) 1,69 - 1,81 (m, 1H) 1,84 - 1,94 (m, 1H) 1,98 - 2,12 (m, 1H) 3,02 (d, J=5,08 Hz, 1H) 3,15 (d, J=12,90 Hz, 1H) 3,30 - 3,43 (m, 2H) 3,46 - 3,57 (m, 1H) 5,13 - 5,25 (m, 1H) 6,39 (br, s, 1H) 7,31 (d, J=8,21 Hz, 2H) 7,76 - 7,91 (m, 3H) 8,05 (s, 1H) 8,73 (br, s, 1H) 10,21 (s, 1H) 12,94 (br, s, 1H).

Ví dụ 39

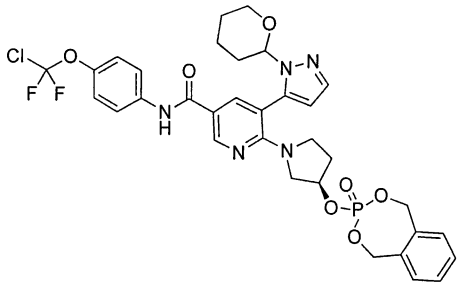
(R)-1-(5-((4-(clodiflometoxy)phenyl)carbamoyl)-3-(1H-pyrazol-5-yl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl dihydro phosphat



TFA (1,227mL, 15,93mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-((3-oxido-1,5-dihydrobenzo[e][1,3,2]dioxaphosphepin-3-yl)oxy)pyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 39.1, 620mg, 0,797mmol) trong DCM (10mL) và RM được khuấy trong 20 giờ ở RT. TFA bổ sung (500µL) được bổ sung và RM được khuấy thêm trong 4 giờ ở RT. RM được pha loãng với EtOAc (100mL), xử lý với dung dịch Na_2CO_3 bão hòa (70mL) và chiết bằng EtOAc (50mL). Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước muối (50mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được cắn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g DCM/EtOH từ 9:1 đến 4:6). Chất trung gian được hòa tan trong MeOH/THF (10mL tỷ lệ 1:1) và hydro hóa (60 mg Pd/C 5%, 0,1 bar, 22-25°C, 6,5 giờ). RM được lọc qua Hyflo® và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cắn được hòa tan trong MeOH/THF và được xử lý với hộp PL-Thiol MP SPE (StratoSpheres™). Nhựa được lọc ra và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm theo tiêu đề. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,50 phút, UPLC-MS (Điều kiện 6) t_R = 0,76 phút, m/z = 530,2 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,88 - 2,08 (m, 2H) 3,12 - 3,48 (m, 4H) 4,73 (br, s, 1H) 6,37 - 6,44

(m, 1H) 7,33 (d, J=8,99 Hz, 2H) 7,76 (s, 1H) 7,87 (d, J=8,99 Hz, 2H) 8,04 - 8,08 (m, 1H) 8,73 - 8,78 (m, 1H) 10,21 (s, 1H).

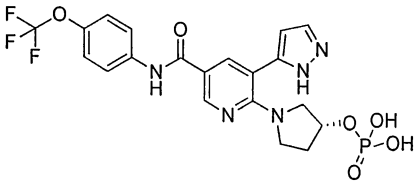
Bước 39.1: N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-((3-oxido-1,5-dihydrobenzo[e][1,3,2]dioxaphosphepin-3-yl)oxy)pyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit



N,N-dietyl-1,5-dihydrobenzo[e][1,3,2]dioxaphosphepin-3-amin (355mg, 1,483mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-((R)-3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)-1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Bước 9.1, 200mg, 0,371mmol) và tetrazol trong MeCN (8,240mL, 3,71mmol) trong ống nghiệm và RM được khuấy ở RT trong 3 giờ. RM được làm lạnh đến 5°C, xử lý với TEA (0,775 mL, 5,56mmol) và dung dịch H2O2 (0,379 mL, 3,71mmol) và được khuấy ở 0°C trong 30 phút sau đó 3 giờ ở RT. RM được dập tắt trong dung dịch Na2S2O3 10% (20mL) và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết gộp lại được rửa bằng nước (20mL) và nước muối (15mL), sấy khô trên Na_2SO_4 và dung môi được bốc hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Cột silica gel, 12g DCM/MeOH từ 98:2 đến 9:1) để thu được sản phẩm theo tiêu đề là bọt màu trắng. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 7,3 phút, UPLC-MS (Điều kiện 3) t_R = 1,18 phút, m/z = 716,3 [M+H]+.

Ví dụ 40

(R)-1-(3-(1H-pyrazol-5-yl)-5-((4-(triflometoxy)phenyl)carbamoyl)pyridin-2-yl)pyrolidin-3-yl dihydro phosphat



Hợp chất theo tiêu đề được điều chế theo cách tương tự với cách mô tả trong Ví dụ 39 sử dụng (R)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-3-yl)-N-(4-(triflometoxy)phenyl)nicotinamit (Bước 2.1) và N,N-dietyl-1,5-dihydrobenzo[e][1,3,2]dioxaphosphepin-3-amin để thu được chất rắn màu be. HPLC (Điều kiện 5) t_R = 5,3 phút, UPLC-MS (Điều kiện 6) t_R = 0,75 phút - m/z = 514,4 [M+H]+; 1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 1,88 - 2,07 (m, 2H) 3,21 - 3,49 (m, 4H) 4,66 - 4,76 (m, 1H) 6,41 (d, J=1,96 Hz, 1H) 7,02 - 7,15 (m, 1H) 7,34 (d, J=8,68 Hz, 2H) 7,77 (s, 1H) 7,87 (d, J=9,05 Hz, 2H) 8,06 (d, J=2,32 Hz, 1H) 8,75 (d, J=2,32 Hz, 1H) 10,21 (s, 1H).

Ví dụ 41

Chế phẩm hệ phân tán rắn

Chế phẩm hệ phân tán rắn có thể được điều chế với hợp chất theo sáng chế trong đó việc làm tăng tính tan của chúng là có lợi cho sinh khả dụng và/hoặc khả năng thấm.

Chế phẩm hệ phân tán rắn được bào chế bằng cách sử dụng hệ phân tán vô định hình của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9, xem Fig. 1) với tá dược được chọn từ PVP VA64 và Pharmacoat 603. Đầu tiên, dung dịch để phun sấy được điều chế bằng cách phối hợp (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9, 2,5g) với PVP VA 64 (3,75 gam) và Pharmacoat 603 (3,75g). Hỗn hợp chứa metylen clorua/etanol tỷ lệ 50/50 được bổ sung cho đến khi tất cả các thành phần được hòa tan khi nhìn thấy dung dịch trong không có hạt và vẩn (~200mL). Cách khác, hỗn hợp chứa metylen clorua/etanol tỷ lệ 50/50 có thể được thế bởi hỗn hợp axeton/etanol/nước (5:4:1). Việc phun sấy được tiến hành trên máy phun sấy mini B290 với nhiệt độ đường vào là 70oC, hút ở 85%, dòng nitơ ở 50mm Hg, ngảy từ 15% và vòi hút bụi bằng không khi để tạo ra 5,5 gam (55%). Hệ phân tán rắn phun sấy thu được chứa 23,6% lượng dược chất (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9), 37,5% PVP VA64 và 37,5% Pharmacoat 603. Hệ phân tán này là vô định hình với các giá trị nhiệt độ chuyển tiếp (Tg) là 117°C và chứa khoảng 1,4% nước như xác định bởi phân tích nhiệt trọng (TGA). Sự hòa tan của hệ phân tán rắn này ở độ pH = 1 sau khi độ pH tăng lên

đến 6,8 sau 30 phút thể hiện sự hòa tan hoàn toàn trong điều kiện axit. Hệ phân tán vẫn tan hoàn toàn sau khi độ pH được nâng lên đến độ pH trung hòa.

Hệ phân tán được tạo huyền phù trong nước muối đệm phosphat (PBS) ở nồng độ 3 mg/mL (là dược chất) trong 12 giờ ở nhiệt độ phòng. Không nhận thấy thấy có sự kết tinh, cỡ hạt D (0,9; đường kính của hạt trong đó 90% hạt thấp hơn chỉ số được đưa ra) là 14,134 với phân bố cỡ hạt hẹp và rất đồng nhất. Quan sát thấy dược chất này không kết tinh ra khỏi huyền phù và không thấy sự phân hủy hóa học (như đánh giá bởi UPLC). Huyền phù có độ tinh khiết hóa học là 99,4%, phù hợp với mức tinh khiết T0 của huyền phù và bản thân dược chất.

Đặc điểm tăng cường của chế phẩm hệ phân tán rắn của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) ở chó có thể được chứng minh bởi bảng thông số dược động học sau đây.

Kiểu chế phẩm	Hệ phân tán rắn	Huyền phù
Liều [mg/kg]	60	60
AUC [mM*h] (SD)	671,9	102,9
cMax [nM] (SD)	47127	7314
BAV* [%] (SD)	179,1	27,4
Tmax [h] (SD)	2,00	3,3
Thể tích sử dụng [ml/kg]	5	5
Khoảng tiếp xúc/ cMax	14,2	14,1

Chế phẩm hệ phân tán rắn của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit (Ví dụ 9) ở liều 60 mpk sẽ tiếp xúc gấp 6,5 lần so với huyền phù tinh thể (671,9μM so với 102,9μm).

Thử nghiệm

Tính ứng dụng của hợp chất theo sáng chế mô tả trong đây có thể được chứng minh bằng các thử nghiệm sau. Hợp chất theo sáng chế được đánh giá khả năng ức chế

hoạt tính ABL1 trong các thử nghiệm hóa sinh và BCR-ABL1 trong các thử nghiệm tế bào được mô tả sau đây. Hợp chất theo sáng chế còn được thử nghiệm và thể hiện là có hiệu quả *in vivo* sử dụng mô hình ghép KCL-22.

Thử nghiệm hóa sinh

Sự biểu hiện và tinh chế protein kinaza – biểu hiện và tinh chế ABL người được tiến hành bằng các quy trình tinh chế biểu hiện chuẩn. Protein ABL64-515 được tạo ra và sử dụng cho các thử nghiệm kinaza *in vitro*. Protein này được tạo ra bằng vectơ đồng biểu hiện mang các mảnh ADN của ABL1 (đồng phân 1a, với đuôi His6 tận cùng N sau đó là vị trí tách proteaza PreScission) và protein tyrosin phosphataza-1B người (các gốc 1-283, không gắn đuôi), sử dụng vectơ biểu hiện kép pCDF Duet-1 (Novagen). His-ABL được biểu hiện trong E.coli BL21 (DE3) và các protein ABL được tách bởi ái lực Ni trên cột Ni-NTA (Qiagen). Đuôi His được loại bằng proteaza PreScission (GE Healthcare) và ABL không phosphopryl hóa được tinh chế thêm trên cột Mono Q HR 10/10 (GE Healthcare, mono-phosphoryl hóa ABL khoảng 10-20% toàn bộ protein ABL) và cột loại trừ kích thước HiLoad 16/60 Superdex 200 (GE Healthcare). Các protein không phosphoryl hóa ABL64-515 được phân tích bằng phân tích quang phổ khối lượng và làm lạnh nhanh chóng từng phần và bảo quản ở –80°C. SRC (axit amin 83-535 hoặc Src83-535) được biểu hiện và tinh chế như mô tả (S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, P.W. Manley, W. Jahnke, D. Fabbro, J. Liebetanz, T. Meyer, c-Src crystal structure provides insights into c-Src activation. Structure 13 (2005) 861-871).

Thử nghiệm bức xạ ABL1 (64-515)

Để xác định hoạt tính ABL kinaza, thử nghiệm gắn kết bộ lọc bức xạ kế được sử dụng. Thử nghiệm được tiến hành bằng cách trộn 10µL hợp chất được pha loãng trước với với 10µL ATP (20µM ATP với 0,1µCi [γ-33P]-ATP) với peptit nhận phospho poly[Ala6Glu2LysHBr5Tyr1] = polyAEKY) trong Tris/HCl 20mM độ pH= 7,5, 1 mM DTT, MgCl2 10mM, Na3VO4 0,01mM, NaCl 50mM. 10µL enzym (nằm trong khoảng từ 5nM đến 20nM) được bổ sung vào để khởi động phản ứng. Việc ủ trước enzym với hợp chất (khi bắt đầu) được tiến hành bằng cách cho tiếp xúc enzym với hợp chất này trước khi bổ sung hỗn hợp cơ chất (ATP và/hoặc cơ chất peptit). Sau 15 phút ở nhiệt độ phòng, phản ứng được ngừng lại bằng cách bổ sung 50µL EDTA

125mM, và 33P gắn kết peptit được tách trên các đĩa lọc (PVDF hoặc MAIP; Millipore, Volketswil, Switzerland) đã được chuẩn bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đĩa lọc được rửa 3x bằng H3PO4 0,5%, sau đó bổ sung 30µL hỗn hợp phát sáng (Microscint, Perkin Elmer) vào mỗi lỗ và sau đó phân tích trong TopCount NXT máy đếm độ nháy (Perkin Elmer). Các kết quả được biểu hiện là giá trị IC_{50}. Giá trị K_m của ATP được xác định bằng cách thử nghiệm ABL kinaza với nồng độ ATP tăng dần và giữ cơ chất protein nhận ngoại sinh (poly-AEKY) ở nồng độ không đổi (ở mức khoảng 2 lần giá trị K_m của nó) và ngược lại. Giá trị K_m và V_{max} được tính toán theo Eadie-Hofstee như được mô tả (D. Fabbro, G. Fendrich, V. Guez, T. Meyer, P. Furet, J. Mestan, J.D. Griffin, P.W. Manley, S.W. Cowan-Jacob, Targeted therapy with imatinib: An exception or a rule? Handbook of Experimental Pharmacology 167, Inhibitors of Protein Kinases and Protein Phosphates (2005) 361-389). Số liệu được vẽ đồ thị là V so với V/S, trong đó V là tốc độ phản ứng ở nồng độ cơ chất đã nêu (S), và được chỉnh khớp với đường thẳng bằng phân tích hồi lưu tuyến tính, trong đó độ dốc của đường này tương ứng với $-K_m$ và Y-chắn là V_{max}.

Thử nghiệm Caliper ABL1 (64-515)

Tất cả các thử nghiệm được tiến hành trong đĩa vi chuẩn 384 lỗ. Mỗi đĩa thử nghiệm chứa các nồng độ pha loãng dần 8 lần đối với 40 hợp chất thử nghiệm, cũng như bốn nồng độ pha loãng dần 8 điểm chứa staurosporin là hợp chất đối chứng, thêm 16 đối chứng trên và 16 đối chứng dưới. Các bước ủ và xử lý chất lỏng được thực hiện trên buồng thao tác Thermo CatX được trang bị Innovadyne Nanodrop Express. Giữa các bước hút pipet, các đầu hút được rửa sạch trong các vòng rửa bằng đệm rửa.

Các đĩa thử nghiệm được chuẩn bị bằng cách bổ sung 50nL vào mỗi lỗ dung dịch hợp chất trong DMSO 90%. Phản ứng kinaza được bắt đầu bằng cách bổ sung dần dần 4,5µL vào mỗi lỗ dung dịch peptit/ATP (HEPES 50mM, độ pH= 7,5, DTT 1mM, BSA 0,02%, DMSO 0,6%, beta-glyxerophosphat 10mM, và natri orthovanadat 10µM, $MgCl_2$ 20mM, $MnCl_2$ 2mM, ATP 4µM, peptit 4µM (FITC-Ahx-EAIYAAPFAKKK-NH2)) và 4,5µL trong mỗi lỗ dung dịch enzym (50mM HEPES, độ pH= 7,5, DTT 1mM, BSA 0,02%, DMSO 0,6%, 10mM beta-glyxerophosphat, và natri orthovanadat 10µM, $MgCl_2$ 20mM, $MnCl_2$ 2mM, ABL 3,5nM (ABL(64-515), điều chế tại cơ sở từ E. coli)). Các phản ứng kinaza được ủ ở 30°C trong 60 phút và sau đó kết thúc bằng cách kết thúc bằng cách bổ sung 16µL mỗi lỗ dung dịch ngừng

(100 mM HEPES độ pH= 7,5, DMSO 5%, thuốc thử bao 0,1% Caliper, EDTA 10mM, và 0,015% Brij35). Các đĩa có phản ứng kinaza kết thúc được chuyển đến các buồng thao tác Caliper LC3000 để đọc. Các peptit phosphoryl hóa và không phosphoryl hóa được tách bằng kỹ thuật chuyển vị di động vi dòng Caliper. Ngắn gọn, các mẫu từ phản ứng kinaza đã kết thúc được áp dụng lên vi mạch. Chất phân tích được di chuyển qua vi mạch bằng dòng đệm không đổi và sự di chuyển của cơ chất peptit được kiểm tra bằng tín hiệu huỳnh quang của chất đánh dấu của nó. Peptit phosphoryl hóa (sản phẩm) và peptit không phosphoryl hóa (cơ chất) được phân tách trong trường điện từ theo tỷ số điện tích/khối lượng của chúng. Hoạt tính kinaza được tính toán từ các lượng phospho-peptit tạo ra. Giá trị IC_{50} được xác định từ phần trăm giá trị ức chế ở các nồng độ khác nhau bằng cách phân tích hồi lưu không tuyến tính.

Điều chế các dung dịch pha loãng của hợp chất: Hợp chất thử nghiệm được hòa tan trong DMSO (10mM) và chuyển vào trong các ống Matrix đáy phẳng 1,4mL hoặc đáy hình chữ V mang chất nền 2D đơn nhất. Dung dịch lưu trữ được bảo quản ở +2°C nếu không sử dụng ngay lập tức. Với quy trình thử nghiệm, các ống nghiệm được rã lạnh và xác định bằng máy quét nhờ đó tạo ra các tấm hoạt động sẽ hướng dẫn các bước thao tác tiếp theo.

Việc pha loãng hợp chất thực hiện trong các đĩa 96 lỗ. Định dạng này cho phép thử nghiệm tối đa 40 hợp chất thử nghiệm riêng biệt ở 8 nồng độ (các điểm riêng biệt) bao gồm 4 hợp chất đối chứng. Quy trình pha loãng bao gồm việc tạo ra "các đĩa pha loãng trước", "đĩa mẫu" và "đĩa thử nghiệm".

Các đĩa pha loãng trước: Các đĩa 96 lỗ polypropylen được sử dụng làm các đĩa pha loãng trước. Tổng cộng 4 đĩa pha loãng trước được chuẩn bị chứa 10 hợp chất thử nghiệm, mỗi hợp chất trên các vị trí trên đĩa A1-A10, một hợp chất chuẩn ở A11 và một đối chứng DMSO ở vị trí A12. Tất cả các bước pha loãng được thực hiện trên robot HamiltonSTAR.

Đĩa mẫu: 30µL các dung dịch pha loãng hợp chất riêng biệt bao gồm hợp chất chuẩn và đối chứng của 4 "đĩa pha loãng trước" được chuyển vào trong "đĩa mẫu chuẩn" 384 bao gồm các nồng độ sau 1'810, 362, 72.5, 54.6, 14.5, 2.9, 0.58 và 0.12µM, lần lượt trong 90% DMSO.

Đĩa thử nghiệm: Các "đĩa thử nghiệm" giống nhau sau đó được chuẩn bị bằng cách nhỏ pipet 50nL mỗi nồng độ loãng của hợp chất trong "đĩa mẫu chuẩn" vào trong "đĩa thử nghiệm" 384 lỗ bằng ống định lượng 384 rãnh HummingBird. Các đĩa được sử dụng trực tiếp cho thử nghiệm được tiến hành với tổng thể 9,05µL. Điều này dẫn đến nồng độ hợp chất cuối cùng là 10, 2,0, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 và 0,000128µM và nồng độ DMSO cuối cùng là 0,5% trong thử nghiệm này.

Thử nghiệm tế bào

Để đánh giá khả năng của hợp chất theo sáng chế để ức chế hoạt tính BCR-ABL1 trong các thử nghiệm tế bào, hợp chất được đánh giá khả năng ức chế chọn lọc khả năng tăng sinh của tế bào phụ thuộc vào sự biểu hiện BCR-ABL1 tương ứng với tế bào không phụ thuộc vào sự biểu hiện BCR-ABL1.

Dòng tế bào có nguồn gốc từ tủy xương chuột Ba/F3 được sử dụng để tạo ra mô hình dòng tế bào thích hợp. Tế bào Ba/F3 thu được từ German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ, Braunschweig và DSMZ No. ACC 300). Các tế bào Ba/F3 gốc phụ thuộc vào IL3 về sự phát triển và tồn tại và được sử dụng làm dòng tế bào đối chứng không phụ thuộc vào hoạt tính BCR-ABL1 về phát triển và tồn tại. Các tế bào này được gọi là Ba/F3-WT.

Để tạo ra các tế bào Ba/F3 phụ thuộc vào sự biểu hiện BCR-ABL1 về tăng trưởng và tồn tại, các tế bào Ba/F3 được thiết kế để biểu hiện BCR-ABL1 sử dụng sự di truyền tính trạng retrovirut bởi vectơ retrovirut cơ bản là MSCV chứa cát xét biểu hiện p210 BCR-ABL1. Khi tăng trưởng mà không có IL-3, sự tăng sinh của các tế bào này là phụ thuộc vào sự biểu hiện của BCR-ABL1. (Daley, G.Q. and Baltimore, D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myeloid leukemia-specific p210 BCR-ABL1 protein. PNAS 1988;85:9312-9316). Các tế bào này được gọi là Ba/F3-BCR-ABL-WT. Phương pháp tương tự được sử dụng để tạo ra tế bào Ba/F3 phụ thuộc vào biến thể BCR-ABL1 trong đó threonin 315 được thay thế bởi isoleuxin. Các tế bào này được gọi là Ba/F3-BCR-ABL-T315I.

Các tế bào Ba/F3-WT được duy trì trong môi trường RPMI1640 với L-glutamin, HEPES (Lonza), 10% FBS (Gibco) và 5ng/ml IL-3 (Calbiochem). Tế bào Ba/F3-BCR-ABL1-WT và tế bào Ba/F3-BCR-ABL1-T315I được duy trì trong môi trường RPMI1640 với L-glutamin, HEPES (Lonza) và 10% FBS (Gibco).

Thử nghiệm tăng sinh

Đối với mỗi dòng tế bào, mật độ tế bào được điều chỉnh đến 50 000 tế bào/mL và 50µL (2500 tế bào) bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm 384 lỗ.

Hợp chất thử nghiệm được tạo huyền phù trong DMSO ở nồng độ 10mM. Nồng độ pha loãng dần 3 lần của mỗi hợp chất với DMSO được thực hiện trong các đĩa 384 lỗ sử dụng ống phân tán lỏng Janus (PerkinElmer). Hợp chất được phân phối đến đĩa thử nghiệm chứa 2500 tế bào trong thể tích 50µL thông qua phân phối Acoustic từ ATS-100 (EDC). Đối với thử nghiệm tế bào Ba/F3-BCR-ABL1-WT, 2nL mỗi nồng độ pha loãng hợp chất được chuyển vào đĩa thử nghiệm đến nồng độ thử nghiệm cuối cùng là 0,4µM, 0,13µM, 0,044µM, 0,015µM, 0,005µM, 0,001µM, 0,00033µM, 0,00011µM, 0,000037µM, 0,000012µM. Đối với thử nghiệm tế bào Ba/F3-WT và Ba/F3-BCR-ABL1-T315I, 50nL mỗi nồng độ pha loãng hợp chất được chuyển vào đĩa thử nghiệm đến nồng độ thử nghiệm cuối cùng là 10µM, 3,33µM, 1,11µM, 0,37µM, 0,12µM, 0,041µM, 0,014µM, 0,0046µM, 0,0015µM, 0,00051µM.

Các tế bào được ủ ở 37°C trong môi trường được tạo ẩm với 5% cacbon dioxit trong 48 giờ. Dung dịch Britelite plus (Perkin Elmer) được pha chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất và 25µL được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm. Các đĩa được ủ trong 3-5 phút và phát hiện độ phát quang trên máy đọc đĩa EnVision Multimode (Perkin Elmer). Độ phát quang tương ứng với số tế bào trong mỗi lỗ. Do đó, hiệu quả của mỗi nồng độ ức chế có thể được tính và thu được giá trị IC_{50}.

Hợp chất theo sáng chế thể hiện giá trị IC_{50} nằm trong khoảng từ 0,1nM đến 12nM về sự ức chế hoạt tính Abl kinaza trong gắn kết phễu lọc bức xạ kế (Radio). Đối với chuyển dịch di động siêu lỏng (Caliper), giá trị IC_{50} có thể thấy nằm trong khoảng từ 0,1nM đến 10nM. Đối với thử nghiệm tăng sinh tế bào Ba/F3-BCR-ABL-WT và T315I, giá trị GI_{50} có thể được thấy lần lượt nằm trong khoảng từ 0,8nM đến 110nM và 13nM đến 4,2µM.

Bảng số liệu hóa sinh

Ví dụ	Bức xạ ABL1 (IC_{50}) (64-515) [µM]	Caliper ABL1 (IC_{50}) (64-515) [µM]	Ví dụ	Bức xạ ABL1 (IC_{50}) (64-515) [µM]	Caliper ABL1 (IC_{50}) (64-515) [µM]
1	< 0,003	0,0022	21	0,001	0,0013
2	0,004	0,001	22	0,006	< 0,00064
3	0,004	0,0007	23	0,007	0,0005
4	0,0034	0,0013	24	0,005	0,0004
5	0,007	0,0012	25	0,001	0,0007
6	0,003	0,0032	26	0,012	0,0104
7	< 0,003	0,0004	27	0,002	0,0011
8	0,0019	0,0004	28	0,0028	0,0019
9	0,0024	0,0003	29	0,009	0,0009
10	< 0,00013	0,0003	30	0,0004	0,0043
11	< 0,003	< 0,00013	31	0,001	0,0025
12	0,006	0,0005	32	0,003	0,013
13	0,01	0,0006	33	0,0060	0,0006
14	0,01	0,0009	34	0,0020	0,0041
15	0,011	0,0003	35		0,0004
16	0,012	< 0,00013	36		0,0021
17	0,003	0,0024	37		0,0005
18	0,002	0,0002	38	0,0040	0,0025
19	0,005	0,0018	39	0,0030	0,0013
20	0,0013	0,0004	40		0,0021

Bảng số liệu tăng sinh tế bào Ba/F3-BCR-ABL1-WT và T315I

Ví dụ	Ba/F3-BCR-ABL1-WT IC_{50} [µM]	Ba/F3-BCR-ABL1-T315I IC_{50} [µM]	Ví dụ	Ba/F3-BCR-ABL1-WT IC_{50} [µM]	Ba/F3-BCR-ABL1-T315I IC_{50} [µM]
2	0,0048	0,135	18	0,0015	0,032
3	0,0075	0,133	19	0,0135	0,236
4	0,0117	0,327	21	0,004	0,149
5	0,0081	0,134	23	0,0017	0,042
7	0,0060	0,132	24	0,0011	0,022
8	0,0022	0,065	25	0,0011	0,023
9	0,0015	0,035	26	0,0090	0,227
10	0,0019	0,044	28	0,0075	0,150
11	0,001	0,038	30	0,0318	0,715
12	0,0019	0,038	31	0,0041	0,133
13	0,0096	0,150	33	0,0015	0,032
14	0,0189	0,218	34	0,0150	0,212
15	0,0019	0,031	35	0,0008	0,013
16	0,0041	0,092	36	0,0019	0,071
17	0,0155	0,199			

Hiệu lực *in vivo* trong mô hình ghép KCL-22 – liệu pháp đơn trị

Hợp chất theo sáng chế được sử dụng qua đường miệng trong mô hình ghép KCL-22 của chuột trong 7 ngày. Chuột cái thiếu hụt miễn dịch 6-8 tuần tuổi mua từ Harlan (Indianapolis IN) được cấy dưới da tế bào 5x106 KCL-22 trong 50% matrigel (BD Biosciences, #354234) ở vùng lưng nách bên phải. Điều trị thuốc được bắt đầu khi thể tích khối u đạt mức trung bình 238 mm3 (10 ngày sau khi cấy khối u). Hợp chất theo sáng chế trong nước muối đệm phosphat được pha chế hằng tuần và sử dụng bằng ống thông qua miệng ở liều 3-30mg/kg hai lần hằng ngày (n=6 chuột với mỗi mức liều). Thể tích được xác định bằng cách đo bằng compa số hai lần mỗi tuần và tính toán bằng công thức chiều dài x chiều rộng 2 /2.

Hợp chất theo sáng chế thể hiện sự giảm bệnh có ý nghĩa thống kê. Ví dụ, liều (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit 3mg/kg hai lần hằng ngày (Ví dụ 9) khiến ức chế sự tăng trưởng khối u 45% so với chuột điều trị bằng tá dược, trong khi đó sự giảm bệnh quan sát được là 56%, 88% và 92% lần lượt ở các liều 7,5, 15 và 30mg/kg hai lần hằng ngày. Là đối chứng dương, nilotinib được dùng ở liều 75mg/kg hai lần hằng ngày gây ra sự giảm khối u 82% (Fig. 2).

Hiệu quả *in vivo* trong mô hình ghép KCL-22 – liệu pháp kép

Chuột cái thiếu hụt miễn dịch 6-8 tuần tuổi mua từ Harlan (Indianapolis IN) được cấy dưới da 2x106 tế bào KCL-22 trong matrigel 50% (BD Biosciences, #354234) trong vùng lưng nách bên phải. Việc điều trị bằng thuốc được bắt đầu khi thể tích khối u đạt mức trung bình là 189mm^3 (9 ngày sau khi cấy khối u). Hợp chất theo sáng chế trong dung dịch nước muối đệm phosphat được pha chế hằng tuần và dùng bằng ống thông qua miệng ở 30mg/kg hai lần hằng ngày, và dung dịch Nilotinib được sử dụng ở liều 75mg/kg hai lần hằng ngày. Động vật hoặc sử dụng đơn liệu pháp hoặc kết hợp cả hai đồng thời. Thể tích khối u được xác định bằng cách đo compa hai lần mỗi tuần và tính toán là chiều dài x chiều rộng 2 /2.

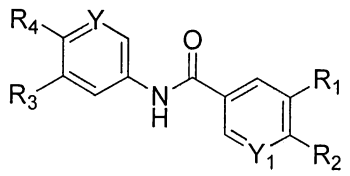
Động vật được điều trị bằng nilotinib đơn độc đạt tỷ lệ giảm khối u >84% sau khi điều trị hằng ngày 4 tuần, nhưng sau đó phần lớn các khối u tái phát đến >500mm^3. Động vật có khối u kháng nilotinib sau đó được điều trị hằng ngày hợp chất Ví dụ 9, và tiếp tục được kiểm tra đáp ứng khối u (Fig. 3).

Động vật được điều trị đồng thời bằng nilotinib và hợp chất Ví dụ 9 chứng minh sự giảm khối u hoàn toàn ở tất cả các động vật đến khi kết thúc nghiên cứu (Fig. 4).

Hiểu rằng Phần ví dụ thực hiện sáng chế và các phương án được mô tả trong đây chỉ nhằm mục đích minh họa và các điều chỉnh hoặc thay đổi khác nhau trong phạm vi của nó được gợi ý với các chuyên gia trong lĩnh vực và nằm trong phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

R_1 là pyrazolyl; trong đó pyrazolyl này không được thế hoặc được thế bởi từ 1 đến 2 nhóm R_6;

R_2 là pyrolidinyl; trong đó pyrolidinyl được thế bởi một nhóm R_7;

R_3 được chọn từ hydro và halo;

R_4 được chọn từ $-SF_5$ và $-Y_2-CF_2-Y_3$;

R_6 mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl;

R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl;

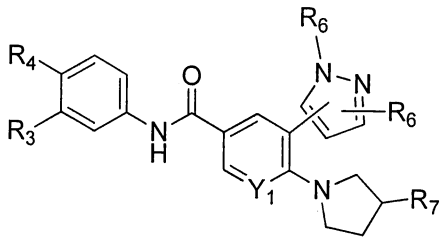
Y được chọn từ CH và N;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$; và

Y_3 được chọn từ hydro, clo, flo, metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc muối dược dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (Ib):



(Ib)

trong đó:

R_3 được chọn từ hydro và halo;

R_4 được chọn từ $-SF_5$ và $-Y_2-CF_2-Y_3$;

R_6 khi liên kết với nitơ của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, metyl, hydroxy-etyl, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; và R_6 khi liên kết với nguyên tử cacbon của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl;

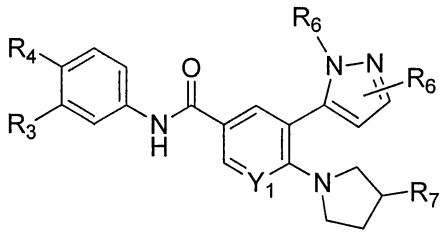
R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$;

Y_3 được chọn từ hydro, flo, clo, metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc muối dược dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 2 có công thức (Ic):



(Ic)

trong đó:

R_3 được chọn từ hydro và halo;

R_4 được chọn từ $-SF_5$ và $-Y_2-CF_2-Y_3$;

R_6 khi liên kết với nitơ của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, metyl, hydroxy-etyl, flo-etyl, etyl và xyclopropyl; và R_6 khi liên kết với nguyên tử cacbon của nhân pyrazolyl được chọn từ hydro, hydroxy, metyl, metoxy, xyano, triflometyl, hydroxy-metyl, halo, amino, flo-etyl, etyl và xyclopropyl;

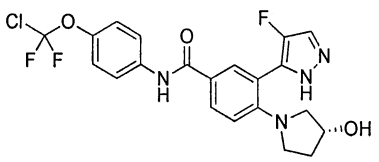
R_7 được chọn từ hydroxy, metyl, halo, metoxy, hydroxy-metyl, amino, metyl-amino, amino-metyl, triflometyl, 2-hydroxypropan-2-yl, metyl-cacbonyl-amino, dimetyl-amino, 2-amino-3-metylbutanoyl)oxy, carboxy, metoxy-cacbonyl, phosphonooxy, xyano và amino-cacbonyl;

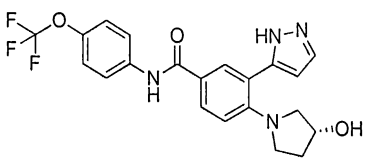
Y_1 được chọn từ CH và N;

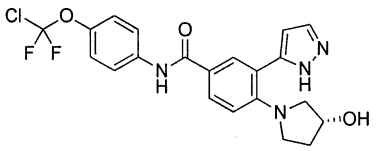
Y_2 được chọn từ CF_2, O và $S(O)_{0-2}$;

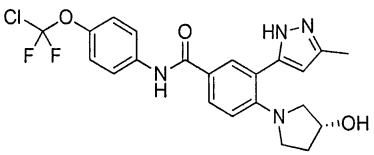
Y_3 được chọn từ hydro, flo, clo, metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc muối dược dụng của nó.

4. Hợp chất theo điểm 3, hoặc muối dược dụng của nó, được chọn từ:

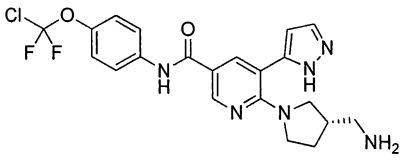


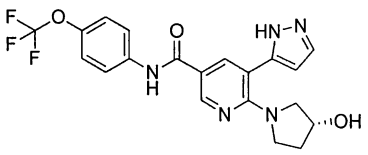


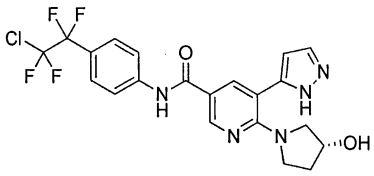


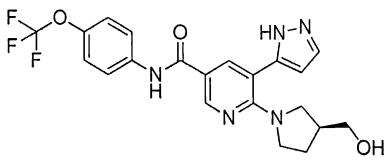


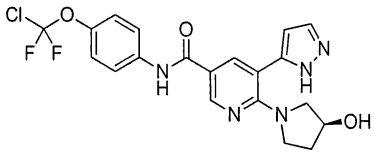
5. Hợp chất theo điểm 3, hoặc muối dược dụng của nó, được chọn từ:

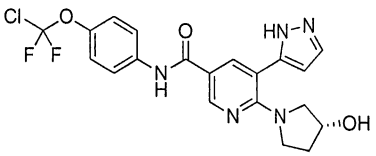


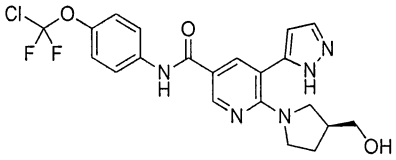


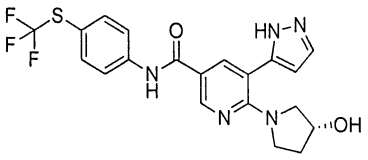


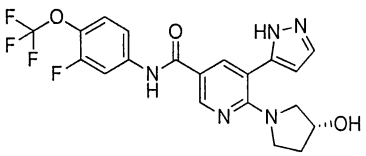


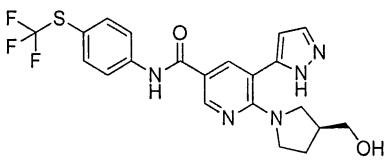


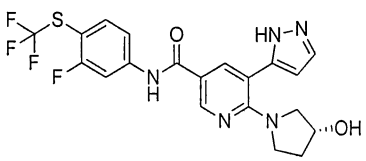


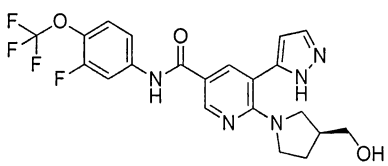


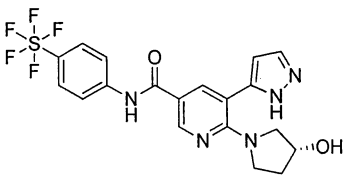


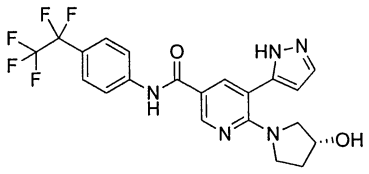


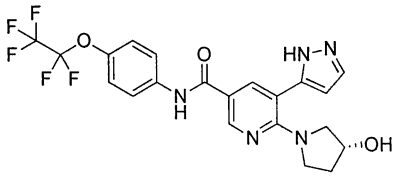


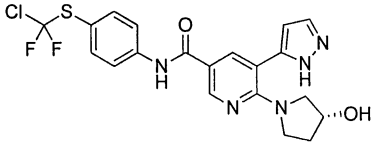


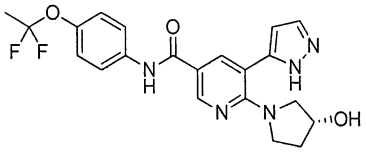


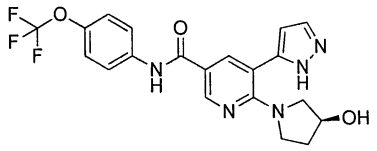


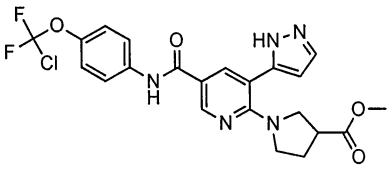


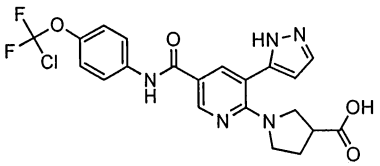


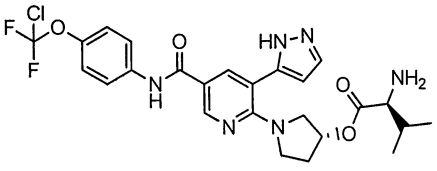


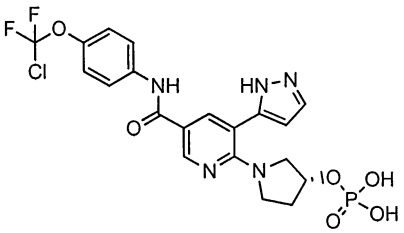


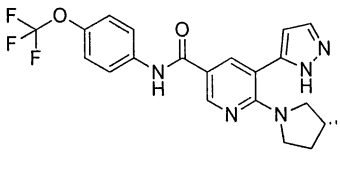




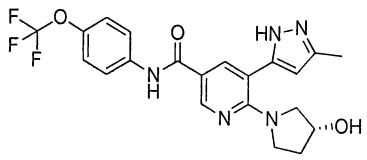


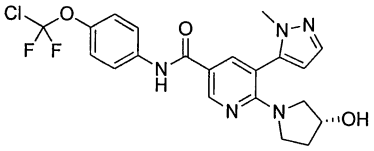


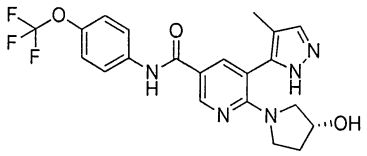


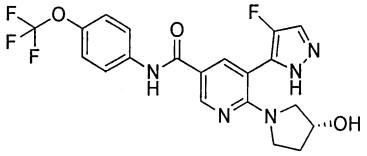


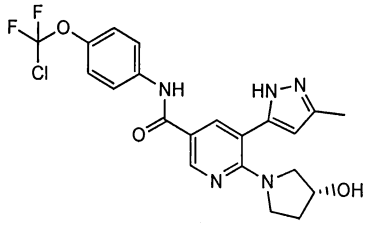
6. Hợp chất theo điểm 3, hoặc muối dược dụng của nó, được chọn từ:

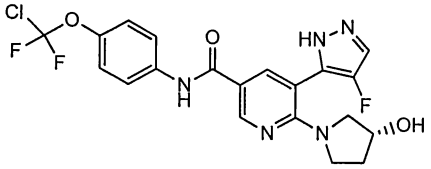


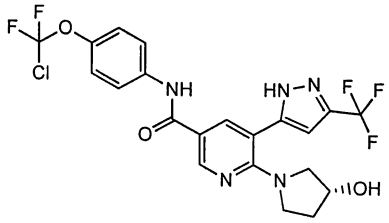


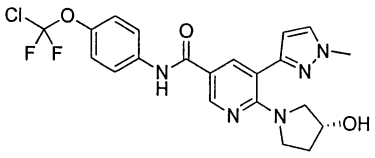


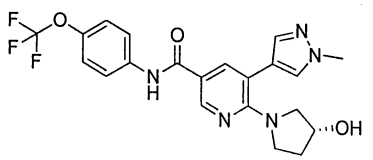


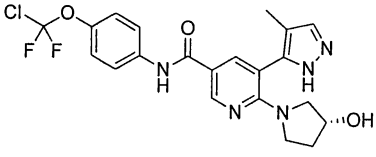




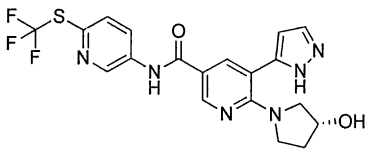




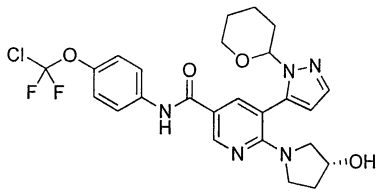


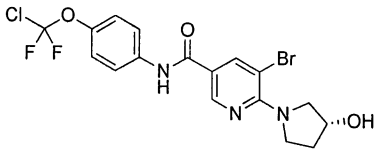


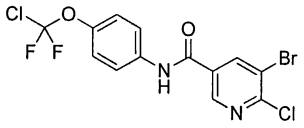
7. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối dược dụng của nó, là:

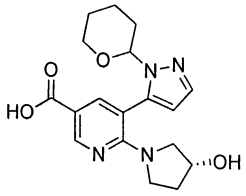


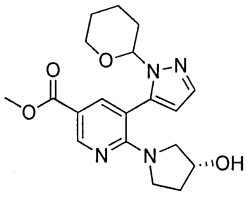
8. Hợp chất được chọn từ:

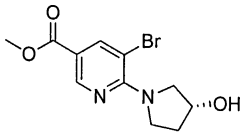


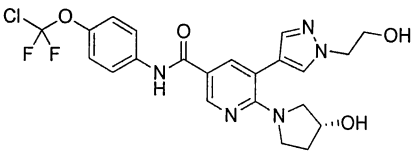












9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit hoặc muối dược dụng của nó.

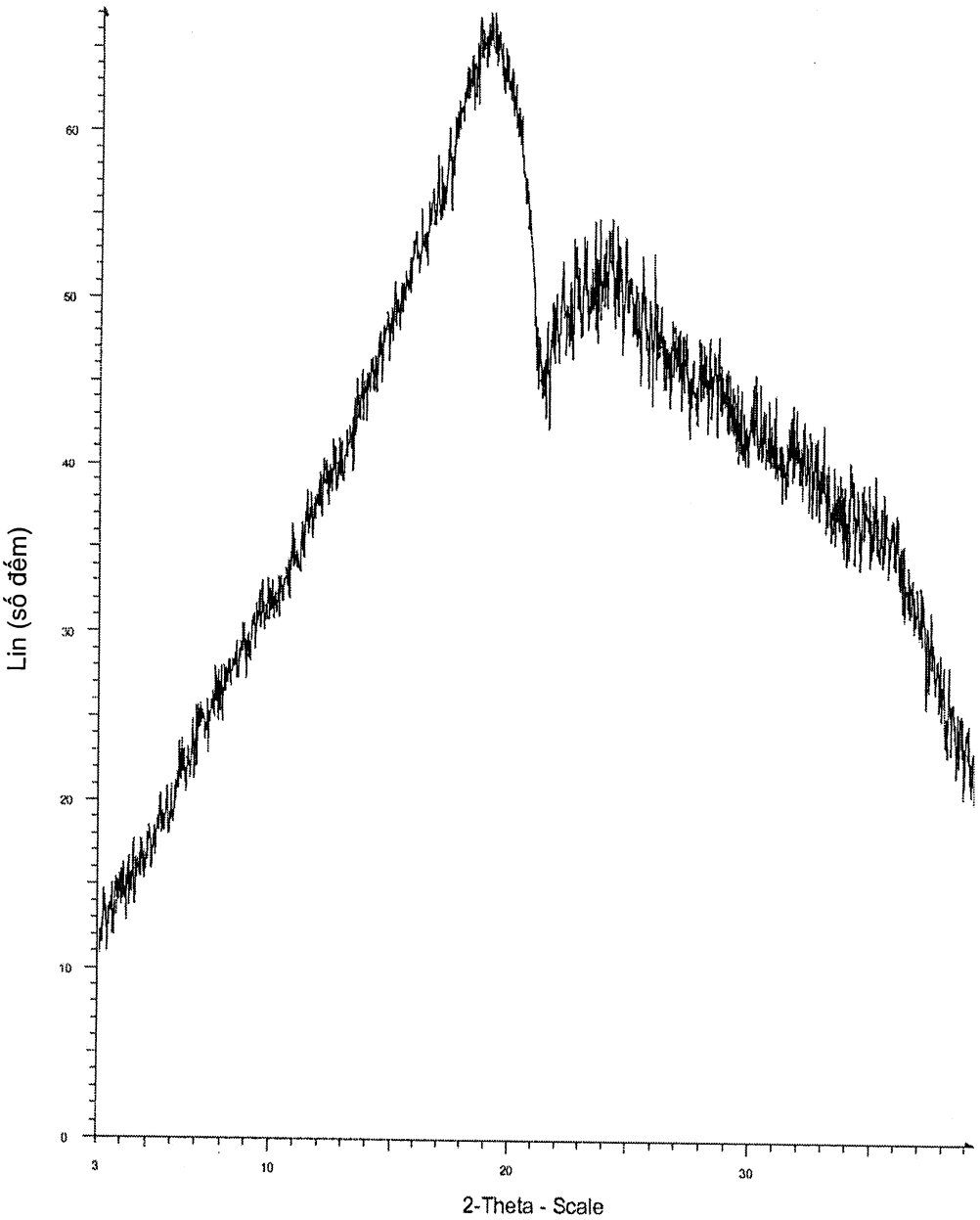
10. Dược phẩm chứa hệ phân tán vô định hình của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit và từ 1 đến 2 tá dược

được chọn từ polyvinyl pyrolidinon (PVP VA64) và hydroxyl propyl metyl xenluloza có độ nhớt thấp (Pharmacoat 603).

11. Dược phẩm theo điểm 10, trong đó phần trăm hydroxyl propyl metyl xenluloza có độ nhớt thấp (Pharmacoat 603) nằm trong khoảng từ 30% đến 45%, phần trăm của polyvinyl pyrolidinon (PVP VA64) là nằm trong khoảng từ 30% đến 45% và phần trăm của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit là nằm trong khoảng từ 20% đến 30%.

12. Dược phẩm theo điểm 11, trong đó phần trăm của hydroxyl propyl metyl xenluloza có độ nhớt thấp (Pharmacoat 603) là 37,5%, phần trăm của polyvinyl pyrolidinon (PVP VA64) là 37,5% và phần trăm của (R)-N-(4-(clodiflometoxy)phenyl)-6-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)-5-(1H-pyrazol-5-yl)nicotinamit là 25%.

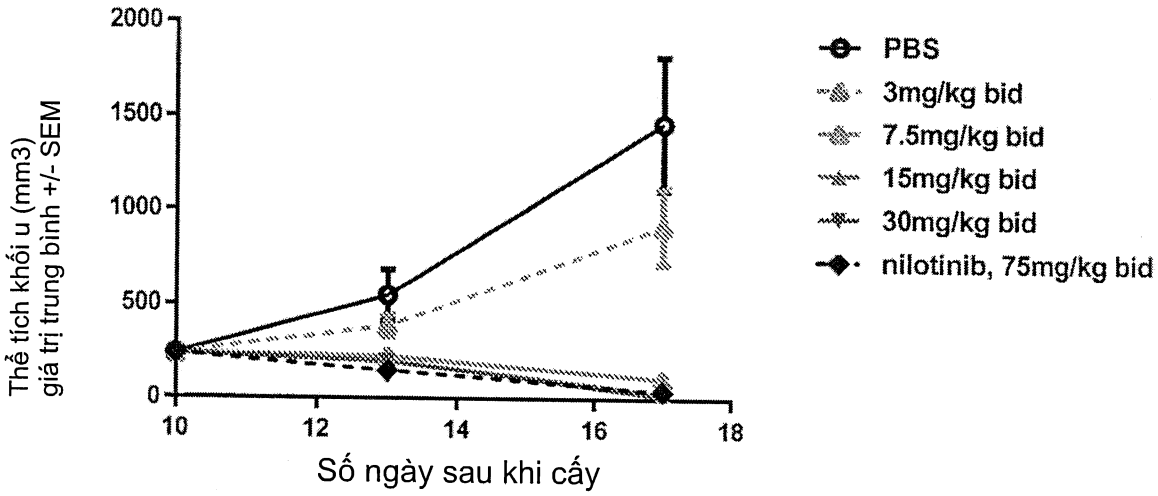
FIG. 1



Số liệu XRPD của hệ phân tán rắn hợp chất Ví dụ 9 vô định hình

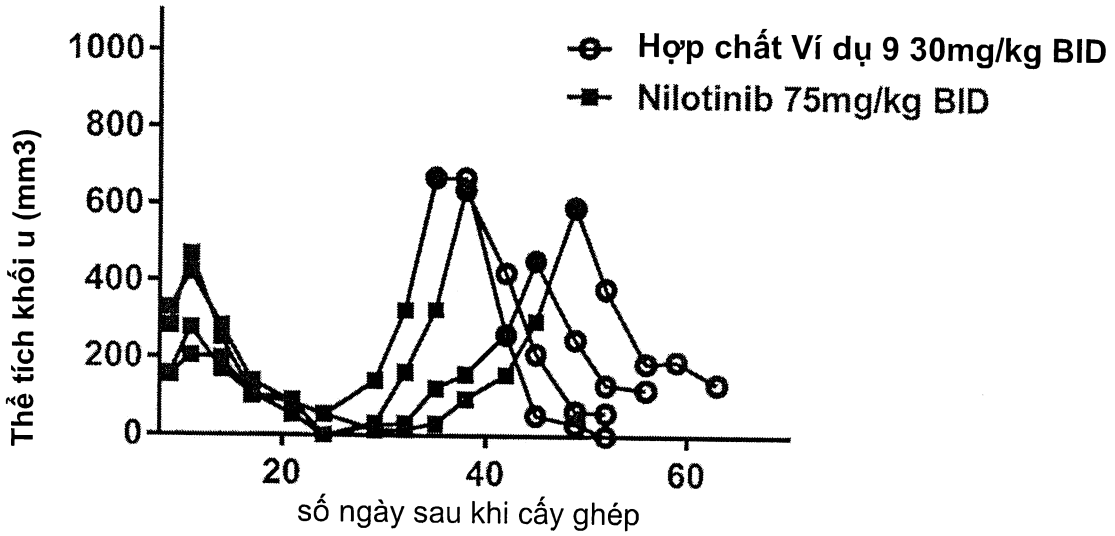
2/4

FIG. 2



Động vật với khối ghép KCL-22 dưới da nhận hợp chất Ví dụ 9 điều trị hằng ngày. Hoạt tính chống khối u phụ thuộc liều được chứng minh

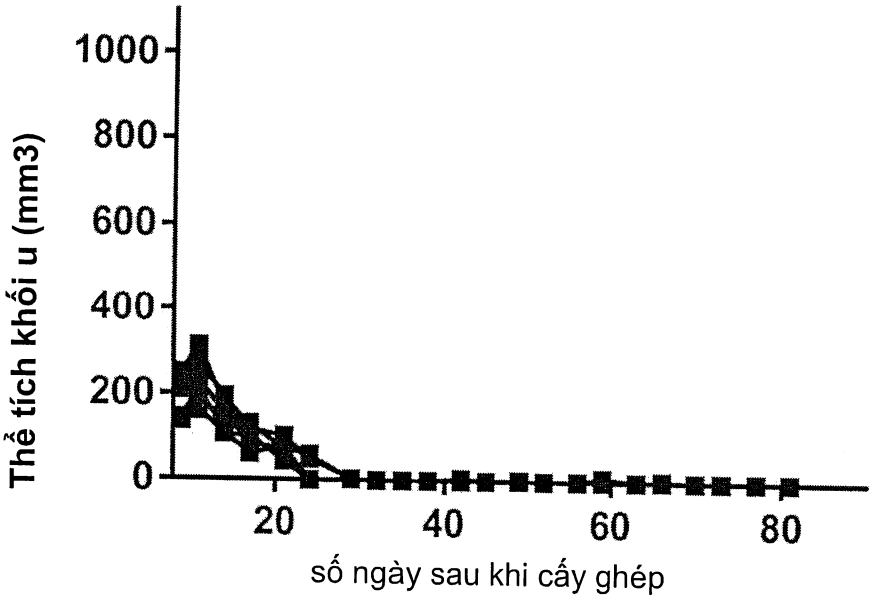
FIG. 3



Tế bào KCL-22 được tăng trưởng ở dạng khối ghép dưới da và bốn con vật được cho dùng liều 75mg/kg Nilotinib BID (2 lần một ngày). KHi các khối u thể hiện sự kháng với điều trị Nilotinib, liều dùng được thay đổi thành 30mg/kg hợp chất ví dụ 9 BID. Việc điều trị bằng sự kháng nilotinib bằng hợp chất Ví dụ 9 dẫn đến đẩy lùi khối u. Mỗi dòng thể hiện một con vật riêng biệt.

4/4

FIG. 4



Động vật với khối ghép dưới da KCL-22 được cho dùng hỗn hợp 30mg/kg hợp chất ví dụ 9 BID và 75mg/kg Nilotinib BID. Mỗi dòng thể hiện một con vật riêng biệt. Quan sát thấy sự đẩy lùi khối u hoàn toàn trong tất cả các động vật và được duy trì đến khi kết thúc nghiên cứu.