



(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)



1-0023942

(51)⁷ C07D 403/14; A61P 29/00; A61P
37/00; A61K 31/4155; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2015-04697

(22) 16/05/2014

(86) PCT/US2014/038388 16/05/2014

(87) WO2014/186706 20/11/2014

(30) 61/824,683 17/05/2013 US

(45) 25/06/2020 387

(43) 25/07/2016 340A

(73) INCYTE CORPORATION (US)

1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, Delaware 19803, United States of America

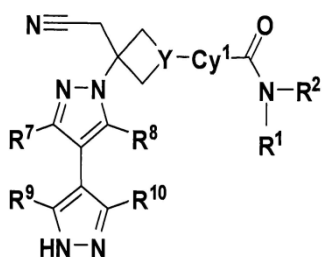
(72) LI, Yun-Long (US); ZHUO, Jincong (US); QIAN, Ding-Quan (CN); MEI, Song

(CN); CAO, Ganfeng (CN); PAN, Yongchun (US); LI, Qun (CN); JIA, Zhongjiang (US)

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

(54) HỢP CHẤT BIPYRAZOL, MUỐI, CHẾ PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY, QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ MUỐI CỦA NÓ VÀ PHƯƠNG PHÁP ỨC CHẾ IN VITRO HOẠT TÍNH CỦA JANUS KINAZA 1 (JAK1)

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



I

hoặc muối được dụng của hợp chất này, cũng như chế phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất và chế phẩm này được sử dụng để ức chế hoạt tính của Janus kinaza (JAK) và hữu ích trong việc điều trị các bệnh liên quan đến hoạt tính của JAK bao gồm, ví dụ như, rối loạn viêm, rối loạn tự miễn, bệnh ung thư, và các loại bệnh khác.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất dẫn xuất của bipyrazol, cũng như chế phẩm chứa hợp chất này và phương pháp sử dụng, điều biến hoạt tính của Janus kinaza (JAK) và hữu ích trong việc điều trị bệnh liên quan đến hoạt tính của JAK bao gồm, ví dụ như, rối loạn viêm, rối loạn tự miễn, bệnh ung thư, và các loại bệnh khác.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các protein kinaza (PKs) điều hòa các quá trình sinh học khác nhau bao gồm sự sinh trưởng tế bào, sự sống sót tế bào, sự biệt hóa tế bào, sự tạo cơ quan, sự tạo hình, sự phát triển của mạch máu mới, sự sửa chữa mô, và sự tái tạo mô, trong nhiều quá trình khác. Các protein kinaza cũng đóng các vai trò chuyên biệt trong một loạt các loại bệnh ở người bao gồm bệnh ung thư. Các xytokin, các polypeptit hoặc glycoprotein trọng lượng phân tử thấp, điều hòa nhiều con đường liên quan đến đáp ứng viêm của vật chủ kèm theo sự nhiễm trùng máu. Các xytokin ảnh hưởng đến sự biệt hóa, sự tăng sinh và sự hoạt hóa tế bào, và có thể điều biến cả đáp ứng tiền viêm và đáp ứng kháng viêm để cho phép vật chủ phản ứng thích hợp với các mầm bệnh. Sự truyền tín hiệu của một số lượng lớn các xytokin liên quan đến họ Janus kinaza (JAKs) thuộc protein tyrosin kinaza và các yếu tố dẫn truyền tín hiệu và các yếu tố hoạt hóa phiên mã (STATs). Có bốn loại JAK ở động vật có vú được biết đến là: JAK1 (Janus kinaza-1), JAK2, JAK3 (còn được gọi là Janus kinaza, bạch cầu; JAKL; và L-JAK), và TYK2 (protein-tyrosin kinaza 2).

Các đáp ứng viêm và đáp ứng miễn dịch do xytokin kích thích góp phần vào sinh bệnh học của các bệnh: các bệnh lý như suy giảm miễn dịch kết hợp trầm trọng (SCID) phát sinh từ sự ức chế hệ miễn dịch, trong khi đáp ứng viêm/miễn dịch không thích hợp hoặc quá mức góp phần vào sinh bệnh học của các bệnh tự miễn dịch (ví dụ như, bệnh hen, bệnh luput ban đỏ hệ thống, bệnh viêm tuyến giáp, bệnh viêm cơ tim), và các bệnh lý như xơ cứng bì và viêm xương khớp (Ortmann, R. A., T. Cheng, *et al.* (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Sự thiếu hụt trong biểu hiện của các JAK thì liên quan đến nhiều trạng thái bệnh. Ví dụ như, chuột Jak1-/- bị ức chế sinh trưởng lúc sinh, không bú được, và chết ngay sau khi sinh (Rodig, S. J., M. A. Meraz, *et al.* (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Phôi chuột Jak2-/- ở tình trạng thiếu máu và chết khoảng chừng 12,5 ngày sau giao hợp do thiếu sự tạo hồng cầu biệt hóa.

Con đường JAK/STAT, và đặc biệt là cả bốn loại JAK, được cho là đóng vai trò trong sinh bệnh học của đáp ứng bệnh hen, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh viêm cuống phổi, và các bệnh viêm liên quan khác của đường hô hấp dưới. Nhiều loại xytokin truyền tín hiệu thông qua các JAK có liên quan đến các bệnh/các tình trạng viêm đường hô hấp trên, như các loại có ảnh hưởng đến mũi và xoang (*ví dụ như*, viêm mũi và viêm xoang) dù thông thường có các phản ứng dị ứng hoặc không. Con đường JAK/STAT cũng có liên quan đến các bệnh/các tình trạng viêm của mắt và đáp ứng dị ứng mãn tính.

Sự hoạt hóa của JAK/STAT trong các bệnh ung thư có thể xảy ra bởi sự kích thích xytokin (*ví dụ như* IL-6 hoặc GM-CSF) hoặc bởi sự giảm các chất ức chế nội sinh của tín hiệu JAK như SOCS (chất ức chế hoặc tín hiệu xytokin) hoặc PIAS (chất ức chế protein của STAT hoạt hóa) (Boudny, V., và Kovarik, J., *Neoplasms*. 49:349-355, 2002). Sự hoạt hóa của dòng tín hiệu STAT, cũng như dòng tín hiệu cuối dòng phản ứng thuộc các con đường khác của các JAK (*ví dụ như*, Akt), có mối tương quan với tiên lượng xấu ở nhiều loại bệnh ung thư (Bowman, T., *et al.* *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Mức tăng cao của các xytokin tuần hoàn truyền tín hiệu thông qua JAK/STAT đóng vai trò là nguyên nhân của chứng suy mòn và/hoặc mệt mỏi mãn tính. Như vậy, sự ức chế JAK có thể có lợi cho các bệnh nhân ung thư do các nguyên nhân vượt ra khỏi hoạt tính chống khối u tiềm năng.

JAK2 tyrosin kinaza có thể có lợi cho các bệnh nhân mắc các rối loạn tăng sinh tủy, *ví dụ như*, đa hồng cầu nguyên phát (PV), tăng tiểu cầu tiên phát (ET), dị sản tủy xương kèm theo bệnh xơ hóa tủy xương (MMM) (Levin, *et al.*, *Cancer Cell*, Tập 7, 2005: 387-397). Sự ức chế JAK2V617F kinaza làm giảm sự tăng sinh của các tế bào tạo máu, đề xuất JAK2 là một đích tiềm năng để ức chế dược lý học ở các bệnh nhân mắc PV, ET, và MMM.

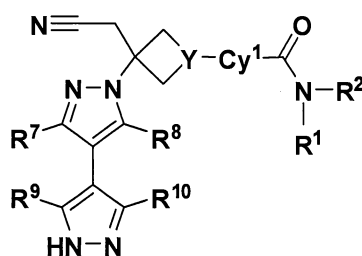
Sự ức chế các JAK có thể có lợi cho các bệnh nhân mắc các rối loạn miễn dịch da như bệnh vẩy nến, và mẩn cảm da. Tình trạng kéo dài của bệnh vẩy nến được cho là

phụ thuộc vào một số xytokin viêm ngoài các yếu tố sinh trưởng và các chemokin khác nhau (JCI, 113:1664-1675), nhiều yếu tố trong số này truyền tín hiệu thông qua các JAK (*Adv Pharmacol.* 2000;47:113-74).

Như vậy, các tác nhân mới hoặc được cải thiện mà ức chế các kinaza như các JAK liên tục cần thiết để phát triển các loại dược phẩm mới và hữu hiệu hơn nhằm mục đích tăng thêm hoặc ngăn chặn các con đường miễn dịch và con đường viêm (như các tác nhân ức chế miễn dịch đối với các tình trạng cấy ghép cơ quan), cũng như các tác nhân để ngăn ngừa và điều trị các bệnh tự miễn dịch, các bệnh liên quan đến tình trạng đáp ứng viêm quá mức (*ví dụ như*, chàm), dị ứng, bệnh ung thư (*ví dụ như*, tuyến tiền liệt, bệnh bạch cầu, đa u tủy), và một vài phản ứng miễn dịch (*ví dụ như*, nổi mẩn da hoặc viêm da tiếp xúc hoặc tiêu chảy) do các phương pháp điều trị khác gây ra. Các hợp chất theo sáng chế, cũng như các chế phẩm chứa hợp chất này và các phương pháp được mô tả ở đây hướng theo các nhu cầu này và các mục đích khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để đáp ứng các nhu cầu nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất, không kể những đối tượng khác, các hợp chất có Công thức I:



I

và các muối dược dụng của nó; trong đó Y, Cy¹, R¹, R², R⁷, R⁸, R⁹, và R¹⁰ được xác định như dưới đây.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm bao gồm hợp chất có Công thức I, hoặc muối dược dụng của nó, và chất mang dược dụng.

Sáng chế đề xuất quy trình điều chế muối của hợp chất theo sáng chế với axit phosphoric.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp in vitro điều biến hoạt tính của JAK1 bao gồm bước cho JAK1 tiếp xúc với hợp chất có Công thức I, hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến hoạt tính hoặc sự biểu hiện kinaza bất thường ở bệnh nhân bằng cách cấp cho bệnh nhân một lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có Công thức I, hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh tự miễn, bệnh ung thư, rối loạn tăng sinh tủy, hội chứng rối loạn sinh tủy (MDS), bệnh viêm, bệnh tiêu xương, hoặc tình trạng thái ghép cơ quan ở bệnh nhân có nhu cầu cần điều trị, bao gồm bước cấp cho bệnh nhân này một lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có Công thức I, hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng mô tả các hợp chất có Công thức I, hoặc các muối dược dụng của nó, như được mô tả ở đây để sử dụng trong việc điều trị các bệnh tự miễn dịch, bệnh ung thư, các rối loạn tăng sinh tủy, các hội chứng rối loạn sinh tủy (MDS), các bệnh viêm, bệnh tiêu xương, hoặc tình trạng thái ghép cơ quan.

Sáng chế còn mô tả hợp chất có Công thức I như được mô tả ở đây, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc điều biến JAK1.

Sáng chế cũng mô tả cách sử dụng các hợp chất có Công thức I như được mô tả ở đây, hoặc các muối dược dụng của nó, để bào chế các loại thuốc sử dụng trong các phương pháp điều biến JAK1.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 14.

Fig. 2 thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 15.

Fig. 3 thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 16.

Fig. 4A thể hiện các đặc trưng của giản đồ nhiệt DSC của muối thuộc Ví dụ 17.

Fig. 4B thể hiện các đặc trưng về dữ liệu TGA của muối thuộc Ví dụ 17.

Fig. 4C thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 17.

Fig. 5A thể hiện các đặc trưng của giản đồ nhiệt DSC của muối thuộc Ví dụ 18.

Fig. 5B thể hiện các đặc trưng về dữ liệu TGA của muối thuộc Ví dụ 18.

Fig. 5C thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 18.

Fig. 6 thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 19.

Fig. 7A thể hiện các đặc trưng của giản đồ nhiệt DSC của muối thuộc Ví dụ 20.

Fig. 7B thể hiện các đặc trưng về dữ liệu TGA của muối thuộc Ví dụ 20.

Fig. 7C thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 20.

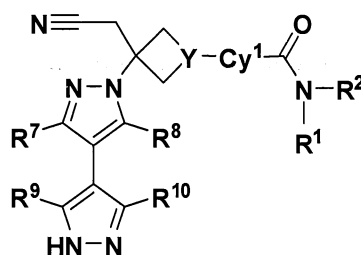
Fig. 8A thể hiện các đặc trưng của giản đồ nhiệt DSC của muối thuộc Ví dụ 21.

Fig. 8B thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 21.

Fig. 9 thể hiện các đặc trưng của giản đồ XRPD của muối thuộc Ví dụ 22.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất, *không kể những đối tượng khác*, hợp chất có Công thức I:



I

hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

Cy¹ là phenyl, pyridyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, hoặc pyridazinyl, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3, hoặc 4 nhóm độc lập được chọn từ R³, R⁴, R⁵, và R⁶;

Y là N hoặc CH;

R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₇ xycloalkyl, C₃₋₇ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, heteroxycloalkyl có 4-7 cạnh, heteroxycloalkyl-C₁₋₃ alkyl có 4-7 cạnh, phenyl, phenyl-C₁₋₃ alkyl, heteroaryl có 5-6 cạnh hoặc heteroaryl-C₁₋₃ alkyl có 5-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, C₁₋₃ alkyl, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), -N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)NH(C₁₋₃ alkyl), -C(=O)NH₂, -C(=O)O(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₃₋₆ xycloalkyl), -C(=O)(C₃₋₆ xycloalkyl), và -C(=O)(C₁₋₃ alkyl);

R^2 là H hoặc C_{1-3} alkyl; trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, -OH, -O(C_{1-3} alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), và -N(C_{1-3} alkyl)₂; hoặc

R^1 và R^2 , cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng heteroxycloalkyl có 4, 5 hoặc 6 cạnh, mà tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ F, Cl, -OH, -O(C_{1-3} alkyl), -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), -N(C_{1-3} alkyl)₂, -CH₂CN, và -CH₂OH;

R^3 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -O(C_{1-3} floalkyl);

R^4 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^5 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^6 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^7 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, -NR^{17a}R^{17b}, -NHC(=O)R^{17b}, -C(=O)NR^{17a}R^{17b}, -NHS(=O)₂R^{17b}, hoặc -S(=O)₂NR^{17a}R^{17b}, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, Cl, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, OH, -OCH₃, và -OCF₃, -OCHF₂, và -OCH₂F;

R^8 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, hoặc C_{1-3} haloalkyl;

R^9 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), hoặc -N(C_{1-3} alkyl)₂, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R^{10} là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), hoặc -N(C_{1-3} alkyl)₂, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

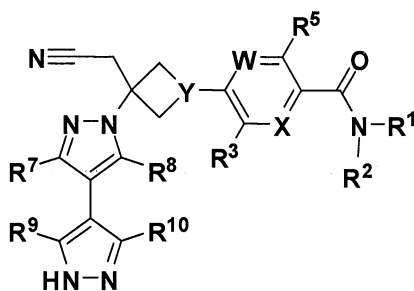
R^{17} là C_{1-6} alkyl, phenyl hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3 hoặc 4 nhóm thế R^{27} được chọn một cách độc lập;

R^{17a} là H hoặc C_{1-3} alkyl;

R^{17b} là C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, OH, -OCH₃, và -OCF₃, -OCHF₂, và -OCH₂F; và

mỗi R^{27} được chọn một cách độc lập từ halo, -OH, NO₂, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} haloalkyl, xyano- C_{1-3} alkyl, HO- C_{1-3} alkyl, CF₃- C_{1-3} hydroxyalkyl, C_{1-3} alkoxy- C_{1-3} alkyl, C_{3-7} xycloalkyl, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} haloalkoxy, H₂N-, (C_{1-3} alkyl)NH-, (C_{1-3} alkyl)₂N-, HS-, C_{1-3} alkyl-S-, C_{1-3} alkyl-S(=O)-, C_{1-3} alkyl-S(=O)₂-, carbamyl, C_{1-3} alkylcarbamyl, di(C_{1-3} alkyl)carbamyl, carboxy, C_{1-3} alkyl-C(=O)-, C_{1-4} alkoxy-C(=O)-, C_{1-3} alkyl-C(=O)O-, C_{1-3} alkyl-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-S(=O)₂NH-, H₂N-SO₂-, C_{1-3} alkyl-NH-S(=O)₂-, (C_{1-3} alkyl)₂N-S(=O)₂-, H₂N-S(=O)₂NH-, C_{1-3} alkyl-NHS(=O)₂NH-, (C_{1-3} alkyl)₂N-S(=O)₂NH-, H₂N-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-NHC(=O)NH-, và (C_{1-3} alkyl)₂N-C(=O)NH-.

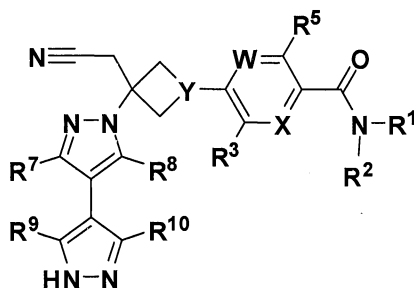
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức Ia:



Ia

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức Ia:



Ia

hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

X là N hoặc CR⁴;

W là N hoặc CR⁶;

Y là N hoặc CH;

R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, heteroxycloalkyl có từ 4-6 cạnh, hoặc heteroxycloalkyl-C₁₋₃ alkyl có từ 4-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, C₁₋₃ alkyl, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), -N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)NH(C₁₋₃ alkyl), -C(=O)NH₂, -C(=O)O(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₃₋₆ xycloalkyl), -C(=O)(C₃₋₆ xycloalkyl), và -C(=O)(C₁₋₃ alkyl);

R² là H hoặc C₁₋₃ alkyl; trong đó C₁₋₃ alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), và -N(C₁₋₃ alkyl)₂; hoặc

R¹ và R², cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng heteroxycloalkyl có 4, 5 hoặc 6 cạnh, mà tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), -N(C₁₋₃ alkyl)₂, và -CH₂CN;

R³ là H, F, Cl, -CN, C₁₋₃ alkyl, -OCF₃, -CF₃, hoặc -O(C₁₋₃ alkyl);

R⁴ là H, F, Cl, -CN, C₁₋₃ alkyl, hoặc -O(C₁₋₃ alkyl);

R⁵ là H, F, Cl, -CN, C₁₋₃ alkyl, hoặc -O(C₁₋₃ alkyl);

R⁶ là H, F, Cl, -CN, hoặc C₁₋₃ alkyl;

R⁷ là H, F, Cl, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, -NR¹⁷R^{17a}, -NHC(=O)R^{17b}, -C(=O)NR^{17a}R^{17b}, -NHS(=O)₂R^{17b}, hoặc -S(=O)₂NR^{17a}R^{17b}, trong đó C₁₋₃ alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, Cl, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R⁸ là H, F, Cl, C₁₋₃ alkyl, hoặc C₁₋₃ haloalkyl;

R⁹ là H, F, Cl, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), hoặc -N(C₁₋₃ alkyl)₂, trong đó C₁₋₃ alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R^{10} là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), hoặc -N(C_{1-3} alkyl)₂, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R^{17} là C_{1-6} alkyl, phenyl hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3 hoặc 4 nhóm thế độc lập được chọn từ R^{27} ;

R^{17a} là H hoặc C_{1-3} alkyl;

R^{17b} là C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH và

mỗi R^{27} là độc lập được chọn từ halo, -OH, NO₂, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} haloalkyl, xyano- C_{1-3} alkyl, HO- C_{1-3} alkyl, CF₃- C_{1-3} hydroxyalkyl, C_{1-3} alkoxy- C_{1-3} alkyl, C_{3-7} xycloalkyl, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} haloalkoxy, H₂N-, (C_{1-3} alkyl)NH-, (C_{1-3} alkyl)₂N-, HS-, C_{1-3} alkyl-S-, C_{1-3} alkyl-S(=O)-, C_{1-3} alkyl-S(=O)₂-, carbamyl, C_{1-3} alkylcarbamyl, di(C_{1-3} alkyl)carbamyl, carboxy, C_{1-3} alkyl-C(=O)-, C_{1-4} alkoxy-C(=O)-, C_{1-3} alkyl-C(=O)O-, C_{1-3} alkyl-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-S(=O)₂NH-, H₂N-SO₂-, C_{1-3} alkyl-NH-S(=O)₂-, (C_{1-3} alkyl)₂N-S(=O)₂-, H₂N-S(=O)₂NH-, C_{1-3} alkyl-NHS(=O)₂NH-, (C_{1-3} alkyl)₂N-S(=O)₂NH-, H₂N-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-NHC(=O)NH-, và (C_{1-3} alkyl)₂N-C(=O)NH-.

Theo một số phương án:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, -CF₃, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^6 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc HO-CH₂-;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, Y là N.

Theo một số phương án, Y là CH.

Theo một số phương án, X là N.

Theo một số phương án, X là CR^4 .

Theo một số phương án, R^4 là H hoặc F.

Theo một số phương án, R^4 là H.

Theo một số phương án, R^4 là F.

Theo một số phương án, W là N.

Theo một số phương án, W là CR^6 .

Theo một số phương án, R^6 là H, F, hoặc Cl.

Theo một số phương án, R^6 là H hoặc F.

Theo một số phương án, R^6 là H.

Theo một số phương án, R^6 là F.

Theo một số phương án, R^3 là H hoặc F.

Theo một số phương án, R^5 là H hoặc F.

Theo một số phương án, R^2 là H hoặc metyl.

Theo một số phương án, R^2 là H.

Theo một số phương án, R^2 là metyl.

Theo một số phương án, R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl.

Theo một số phương án, R^1 là isopropyl, etyl, 1-metylpropyl, 2,2,2-triflo-1-metyletyl, 1-xyclopropyletyl, xyclopropyl, 1-triflometylxcyclopropyl, 1-xyclopropyl-2,2,2-trifloetyl, 2,2,2-trifloetyl, hoặc 2,2-difloetyl.

Theo một số phương án, R^1 là isopropyl, etyl, 1-metylpropyl, hoặc 2,2,2-triflo-1-metyletyl.

Theo một số phương án, R^1 là isopropyl

Theo một số phương án, R^1 là etyl.

Theo một số phương án, R^1 là 1-metylpropyl.

Theo một số phương án, R^1 là 2,2,2-triflo-1-metyletyl.

Theo một số phương án, R^7 là H, metyl, etyl, hoặc HO-CH_2- .

Theo một số phương án, R^7 là H.

Theo một số phương án, R^7 là metyl.

Theo một số phương án, R^8 là H hoặc metyl.

Theo một số phương án, R^8 là H.

Theo một số phương án, R^9 là H, metyl hoặc etyl.

Theo một số phương án, R^9 là H.

Theo một số phương án, R^9 là metyl.

Theo một số phương án, R^{10} là H, metyl, etyl, hoặc HO-CH_2- .

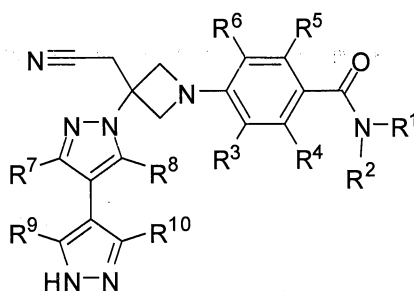
Theo một số phương án, R^{10} là H.

Theo một số phương án, R^{10} là metyl.

Theo một số phương án, R^{10} là etyl.

Theo một số phương án, R^{10} là HO-CH_2- .

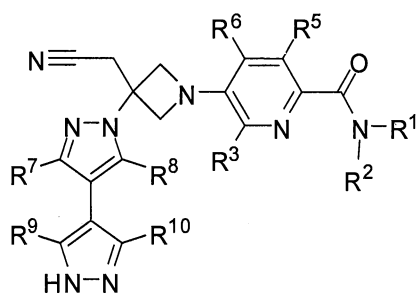
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức II:



II

hoặc muối được dụng của nó.

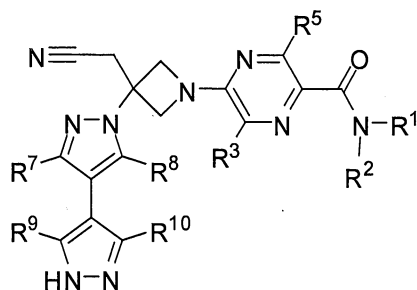
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức III:



III

hoặc muối được dụng của nó.

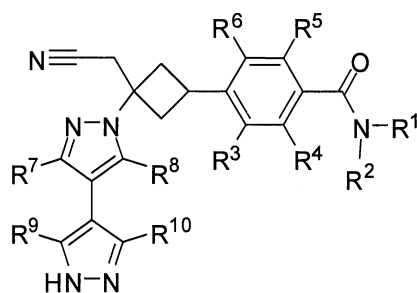
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IV:



IV

hoặc muối được dụng của nó.

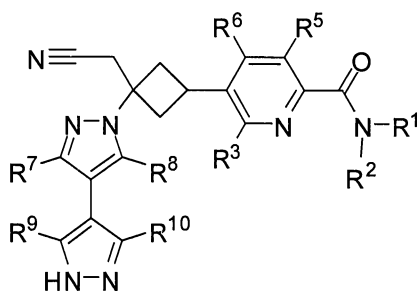
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IIa:



IIa

hoặc muối được dụng của nó.

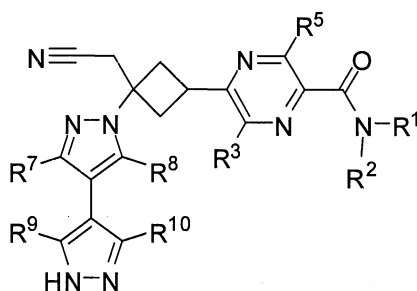
Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IIIa:



IIIa

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IVa:



IVa

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức Ia, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là N hoặc CR⁴;

W là N hoặc CR⁶;

Y là N hoặc CH;

R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, hoặc C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, trong đó C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, và C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, -CF₃, và metyl;

R² là H hoặc metyl;

R³ là H, F, hoặc Cl;

R⁴ là H hoặc F;

R⁵ là H hoặc F;

R⁶ là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc HO-CH_2- ;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc HO-CH_2- .

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức II, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-\text{CF}_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^6 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc HO-CH_2- ;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc HO-CH_2- .

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức III, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-\text{CF}_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IV, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^5 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IIa, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^6 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IIIa, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, hợp chất là hợp chất có Công thức IVa, trong đó:

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^5 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc $HO-CH_2-$.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylbenzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-[3-(1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)-3-(xyanometyl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3,3'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-etyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-{3-(xyanometyl)-3-[3'-(hydroxymetyl)-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất 4-{3-(xyanometyl)-3-[3'-(hydroxymetyl)-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất muối được chọn từ:

muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

muối của axit clohydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

muối của axit bromhydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid; và

muối của axit sulfuric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid.

Theo một số phương án, muối là muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, muối là loại muối có tỷ lệ cân bằng hóa học là 1:1 của 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid với axit phosphoric. Theo một số phương án, muối ở dạng kết tinh. Theo một số phương án, về cơ bản là muối được tách ra.

Theo một số phương án, muối là muối của axit clohydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, muối là muối có tỷ lệ cân bằng hóa học là 1:1 của 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid với axit clohydric.

Theo một số phương án, muối ở dạng kết tinh. Theo một số phương án, về cơ bản là muối được tách ra.

Theo một số phương án, muối là muối của axit bromhydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, muối là muối có tỷ lệ cân bằng hóa học là 1:1 của 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid với axit bromhydric. Theo một số phương án, muối ở dạng kết tinh. Theo một số phương án, về cơ bản là muối được tách ra.

Theo một số phương án, muối là muối của axit sulfuric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, muối là muối có tỷ lệ cân bằng hóa học là 1:1 của 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid với axit sulfuric. Theo một số phương án, muối ở dạng kết tinh. Theo một số phương án, về cơ bản là muối được tách ra.

Theo một số phương án, muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC có pic thu nhiệt tại khoảng 228°C. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 4A. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có ít nhất một pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 6,8°, khoảng 16,5°, khoảng 19,8°, khoảng 20,7°, và khoảng 23,6°. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có ít nhất hai pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 6,8°, khoảng 16,5°, khoảng 19,8°, khoảng 20,7°, và khoảng 23,6°. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có ít nhất ba pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 6,8°, khoảng 16,5°, khoảng 19,8°, khoảng 20,7°, và khoảng 23,6°. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có ít nhất bốn pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 6,8°, khoảng 16,5°, khoảng 19,8°, khoảng 20,7°, và khoảng 23,6°. Theo một số phương án, muối của axit phosphoric có mẫu XRPD về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 4C.

Theo một số phương án, muối của axit clohydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC có pic thu nhiệt tại khoảng 213°C. Theo một số phương án, muối của axit clohydric này có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 5A. Theo một số phương án, muối của axit clohydric này có ít nhất một pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 12,1°, khoảng 13,7°, khoảng 14,8°, khoảng 15,5°, khoảng 16,6°, khoảng 17,1°, khoảng 19,7°, khoảng 20,4°, khoảng 20,8°, khoảng 23,9°, khoảng 24,7°, khoảng 25,1°, khoảng 25,7°, khoảng 27,4°, và khoảng 28,3°. Theo một số phương án, muối của axit clohydric này có ít nhất hai pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 12,1°, khoảng 13,7°, khoảng 14,8°, khoảng 15,5°, khoảng 16,6°, khoảng 17,1°, khoảng 19,7°, khoảng 20,4°, khoảng 20,8°, khoảng 23,9°, khoảng 24,7°, khoảng 25,1°, khoảng 25,7°, khoảng 27,4°, và khoảng 28,3°. Theo một số phương án, muối của axit clohydric có ít nhất ba pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 12,1°, khoảng 13,7°, khoảng 14,8°, khoảng 15,5°, khoảng 16,6°, khoảng 17,1°, khoảng 19,7°, khoảng 20,4°, khoảng 20,8°, khoảng 23,9°, khoảng 24,7°, khoảng 25,1°, khoảng 25,7°, khoảng 27,4°, và khoảng 28,3°. Theo một số phương án, muối của axit clohydric có ít nhất bốn pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 12,1°, khoảng 13,7°, khoảng 14,8°, khoảng 15,5°, khoảng 16,6°, khoảng 17,1°, khoảng 19,7°, khoảng 20,4°, khoảng 20,8°, khoảng 23,9°, khoảng 24,7°, khoảng 25,1°, khoảng 25,7°, khoảng 27,4°, và khoảng 28,3°. Theo một số phương án, muối của axit clohydric có mẫu XRPD về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 5C.

Theo một số phương án, muối của axit bromhydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC có pic thu nhiệt tại khoảng 203°C. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 7A. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có ít nhất một pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 14,4°, khoảng 17,1°, khoảng 20,2°, khoảng 21,1°, khoảng 22,8°, khoảng 23,5°, khoảng 24,9°, khoảng 26,6°, khoảng 27,1°, và khoảng 28,2°. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có tối thiểu hai pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 14,4°, khoảng 17,1°, khoảng 20,2°, khoảng 21,1°,

khoảng 22,8°, khoảng 23,5°, khoảng 24,9°, khoảng 26,6°, khoảng 27,1°, và khoảng 28,2°. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có ít nhất ba pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 14,4°, khoảng 17,1°, khoảng 20,2°, khoảng 21,1°, khoảng 22,8°, khoảng 23,5°, khoảng 24,9°, khoảng 26,6°, khoảng 27,1°, và khoảng 28,2°. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có ít nhất bốn pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,0°, khoảng 14,4°, khoảng 17,1°, khoảng 20,2°, khoảng 21,1°, khoảng 22,8°, khoảng 23,5°, khoảng 24,9°, khoảng 26,6°, khoảng 27,1°, và khoảng 28,2°. Theo một số phương án, muối của axit bromhydric này có mẫu XRPD về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 7C.

Theo một số phương án, muối của axit sulfuric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC có pic thu nhiệt tại khoảng 259°C. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này được đặc trưng bởi biểu đồ nhiệt DSC có ba pic thu nhiệt tại khoảng 136°C, khoảng 147°C, và khoảng 259°C. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 8A. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có ít nhất một pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,3°, khoảng 14,7°, khoảng 9,9°, khoảng 19,0°, khoảng 19,6°, khoảng 21,3°, và khoảng 24,6°. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có ít nhất hai pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,3°, khoảng 14,7°, khoảng 9,9°, khoảng 19,0°, khoảng 19,6°, khoảng 21,3°, và khoảng 24,6°. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có ít nhất ba pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng 7,3°, khoảng 14,7°, khoảng 9,9°, khoảng 19,0°, khoảng 19,6°, khoảng 21,3°, và khoảng 24,6°. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có ít nhất bốn pic XRPD, dưới dạng góc 2-theta, được chọn từ khoảng được chọn từ khoảng 7,3°, khoảng 14,7°, khoảng 9,9°, khoảng 19,0°, khoảng 19,6°, khoảng 21,3°, và khoảng 24,6°. Theo một số phương án, muối của axit sulfuric này có mẫu XRPD về cơ bản như được thể hiện trong Fig. 8B.

Các dạng tinh thể khác nhau có thể có các loại lưới tinh thể khác nhau (ví dụ như, các ô đơn vị) và, thông thường do đó, có các tính chất vật lý khác nhau. Các dạng muối khác nhau có thể được nhận dạng bằng các phương pháp biểu thị đặc điểm ở trạng thái rắn như theo phương pháp nhiễu xạ bột tia X (XRPD). Các phương pháp biểu thị đặc điểm khác như phân tích nhiệt lượng quét vi sai (differential scanning calorimetry -

DSC), kỹ thuật phân tích trọng lượng nhiệt (thermogravimetric analysis - TGA), hấp thụ hơi nước động lực học (dynamic vapor sorption - DVS), và các phương pháp khác tương tự còn giúp nhận dạng hình dạng cũng như giúp xác định tính ổn định và hàm lượng dung môi/nước.

Mẫu XRPD theo các ảnh phản xạ (các pic) điển hình được coi là dấu lằn ngón có dạng tinh thể đặc thù. Một điều được biết rõ ràng là cường độ tương đối của các pic XRPD có thể khác nhau nhiều phụ thuộc vào, *không kể những phương pháp khác*, kỹ thuật điều chế mẫu, sự phân bố cỡ tinh thể, nhiều bộ lọc khác nhau được sử dụng, quy trình ghép mẫu, và công cụ cụ thể được sử dụng. Trong một số ví dụ, các pic mới có thể được quan sát hoặc các pic hiện tại có thể biến mất, phụ thuộc vào kiểu công cụ hoặc sự cài đặt. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “pic” dùng để chỉ ảnh phản xạ có cường độ/chiều cao tương đối là ít nhất khoảng 4% cường độ/chiều cao của pic lớn nhất. Ngoài ra, sự khác nhau về công cụ và các yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến các giá trị 2-theta. Vì vậy, các giá trị phân bố pic, như các giá trị được báo cáo ở đây, có thể thay đổi bằng cách cộng hoặc trừ khoảng $0,2^\circ$ (2-theta), và thuật ngữ “về cơ bản” và “khoảng” như được sử dụng trong ngữ cảnh về XRPD ở đây có nghĩa là để bao gồm những giá trị biến thiên được đề cập ở trên.

Theo cùng một cách, các số ghi nhiệt độ liên quan đến DSC, TGA, hoặc các thí nghiệm nhiệt khác có thể thay đổi khoảng $\pm 3^\circ\text{C}$ phụ thuộc vào công cụ, sự cài đặt cụ thể, sự chuẩn bị mẫu, v.v... Do đó, hình dạng tinh thể được báo cáo ở đây có biểu đồ nhiệt DSC “về cơ bản” như được thể hiện trong một Fig. bất kỳ trong số các Fig. hoặc thuật ngữ “khoảng” được hiểu là chứa giá trị biến thiên như vậy.

Theo một số phương án, các muối được mô tả ở đây về cơ bản được tách ra. Thuật ngữ “về cơ bản được tách ra” có nghĩa là hợp chất ít nhất một phần hoặc về cơ bản được tách khỏi môi trường mà trong đó nó được tạo thành hoặc được phát hiện ra. Sự tách một phần có thể bao gồm, ví dụ như, chế phẩm được làm giàu trong các muối được mô tả ở đây. Sự tách đáng kể có thể bao gồm các chế phẩm chứa ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% theo khối lượng của các muối được mô tả ở đây, hoặc muối của chế phẩm này. Các phương pháp tách riêng các hợp chất và các muối của chúng là phổ biến trong lĩnh vực này.

Cần nhận thức rõ rằng một số điểm đặc trưng theo sáng chế, mà, để rõ ràng, được mô tả trong ngữ cảnh của các phương án riêng rẽ, cũng có thể được đề xuất ở dạng kết hợp theo một phương án đơn lẻ (trong khi các phương án được dự định là ở dạng kết hợp như thể là được viết ở dạng phụ thuộc nhiều lớp). Ngược lại, nhiều điểm đặc trưng khác nhau theo sáng chế mà, để cho ngắn gọn, được mô tả trong ngữ cảnh của một phương án đơn lẻ, cũng có thể được đề xuất riêng rẽ hoặc dưới dạng tiểu kết hợp thích hợp bất kỳ.

Ở nhiều chỗ trong bản mô tả sáng chế này, các nhóm thế của các hợp chất theo sáng chế được bộc lộ trong các nhóm hoặc trong các khoảng. Có một mục đích cụ thể là sáng chế bao gồm mỗi và từng dạng tiểu kết hợp riêng lẻ trong số các thành viên của các nhóm và các khoảng này. Ví dụ như, thuật ngữ “C₁₋₆ alkyl” được nhằm mục đích cụ thể là bộc lộ riêng lẻ metyl, etyl, C₃ alkyl, C₄ alkyl, C₅ alkyl, và C₆ alkyl.

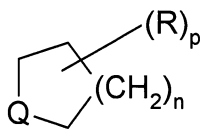
Ở nhiều chỗ trong bản mô tả sáng chế này, các nhóm thế liên kết được mô tả. Trong trường hợp cấu trúc rõ ràng cần đến nhóm liên kết, các biến Markush liệt kê cho nhóm đó được hiểu là các nhóm liên kết. Ví dụ như, nếu cấu trúc cần đến nhóm liên kết và sự xác định nhóm Markush cho biến đó liệt kê “alkyl” hoặc “aryl” thì cần phải hiểu rằng “alkyl” hoặc “aryl” đại diện cho nhóm alkylen hoặc nhóm arylen liên kết, theo thứ tự tương ứng.

Ở nhiều chỗ trong bản mô tả sáng chế này, các vòng được mô tả (ví dụ như, “vòng piperidin”). Trừ khi có quy định khác, các vòng này có thể được gắn với phần còn lại của phân tử tại cạnh vòng bất kỳ khi được cho phép về mặt hóa trị. Ví dụ như, thuật ngữ “vòng 2H-tetrahydropyran” có thể dùng để chỉ vòng 2H-tetrahydropyran -2-yl, 2H-tetrahydropyran -3-yl, 2H-tetrahydropyran-4-yl, v.v.

Thuật ngữ “n-cạnh” trong đó n là số nguyên điển hình mô tả số lượng các nguyên tử tạo thành vòng ở gốc trong đó số lượng các nguyên tử tạo thành vòng là n. Ví dụ như, 2H-tetrahydropyran là một ví dụ về vòng heteroxycloalkyl 6 cạnh, 1H-1,2,4-triazol là một ví dụ về vòng heteroaryl 5 cạnh, pyridin là một ví dụ về vòng heteroaryl 6 cạnh, và 1,2,3,4-tetrahydro-naphtalen là một ví dụ về nhóm xycloalkyl 10 cạnh.

Đối với các hợp chất theo sáng chế trong đó một biến xuất hiện nhiều hơn một lần, mỗi biến có thể là gốc khác nhau độc lập được chọn từ nhóm xác định đặc điểm biến này. Ví dụ như, trong trường hợp cấu trúc được mô tả có hai nhóm R mà đồng thời

có mặt trên cùng một hợp chất, hai nhóm R này có thể đại diện cho các gốc khác nhau độc lập được chọn từ nhóm được xác định cho R. Trong một ví dụ khác, khi nhóm thế bội tùy ý được chỉ định dưới dạng:



thì cần phải hiểu rằng nhóm thế R có thể xuất hiện p tần số trên vòng, và R có thể là gốc khác nhau với mỗi lần xuất hiện. Cần phải hiểu rằng mỗi nhóm R có thể thay thế nguyên tử hydro bất kỳ được gắn với nguyên tử trên vòng, bao gồm một hoặc cả hai nguyên tử hydro $(CH_2)_n$. Thêm nữa, trong ví dụ trên, biến Q cần được xác định để bao gồm các nguyên tử hydro, như khi Q được cho biết là CH_2 , NH, v.v, nhóm thế di động bất kỳ như R trong ví dụ trên, có thể thay thế hydro của biến Q này cũng như hydro trong thành phần không phải biến khác bất kỳ của vòng.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ “tùy ý được thế” có nghĩa là được thế hoặc không được thế. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “được thế” có nghĩa là nguyên tử hydro được tách loại và được thay thế bởi một nhóm thế. Cần phải hiểu rằng sự thế tại một nguyên tử xác định được giới hạn bởi hóa trị.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ C_{n-m} alkyl”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ nhóm hydrocacbon bão hòa mà có thể là ở dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có n đến m nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, nhóm alkyl chứa 1 đến 6, 1 đến 4 hoặc 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về các gốc alkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các nhóm hóa học như metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, *sec*-butyl, *tert*-butyl, n-pentyl, 2-metyl-1-butyl, 3-pentyl, n-hexyl, 1,2,2-trimetylpropyl, và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkylen”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ nhóm liên kết alkyl hóa trị hai, nhóm này có thể là mạch nhánh hoặc mạch thẳng, trong trường hợp hai nhóm thế có thể được gắn ở vị trí bất kỳ trong nhóm liên kết alkylen. Các ví dụ về các nhóm alkylen bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etan-1,2-diyl, propan-1,3-diyl, propan-1,2-diyl, và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, “C_{n-m} alkenyl” dùng để chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon và có n đến m nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, gốc alkenyl chứa 2 đến 3 nguyên tử cacbon. Các nhóm alkenyl minh họa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etenyl, *n*-propenyl, isopropenyl, *n*-butenyl, *sec*-butenyl, và các nhóm tương tự.

Như được sử dụng ở đây, “C_{n-m} alkynyl” dùng để chỉ nhóm alkyl có một hoặc nhiều liên kết ba cacbon-cacbon và có n đến m nguyên tử cacbon. Các nhóm alkynyl minh họa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, etynyl, propyn-1-yl, propyn-2-yl, và các nhóm tương tự. Theo một số phương án, gốc alkynyl chứa 2 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “C₁₋₃ alkoxy”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ một nhóm có công thức -O-alkyl, trong đó nhóm alkyl có 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Các nhóm alkoxy minh họa bao gồm metoxy, etoxy, và propoxy (ví dụ như, *n*-propoxy và isopropoxy).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “CF₃-C₁₋₃ hydroxyalkyl” dùng để chỉ nhóm C₁₋₃ alkyl được thế bởi một nhóm CF₃ và một nhóm OH.

Các nhóm C₁₋₃ trong (C₁₋₃ alkyl)₂N-, (C₁₋₃ alkyl)₂N-S(=O)₂NH-, và (C₁₋₃ alkyl)₂N-C(=O)NH- có thể là giống nhau hoặc khác nhau.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “carboxy” dùng để chỉ một nhóm có công thức -C(=O)OH.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “carbamyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -C(=O)-NH₂.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “C₁₋₃ alkylcarbamyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -C(=O)-NH(alkyl), trong đó nhóm alkyl có 1 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “di(C₁₋₃-alkyl)carbamyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -C(=O)N(alkyl)₂, trong đó hai nhóm alkyl này mỗi nhóm có, độc lập, 1 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “HO-C_{n-m}-alkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -alkylen-OH, trong đó nhóm alkylen nêu trên có n đến m nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, nhóm alkylen này có 1 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “C_{o-p} alkoxy-C_{n-m}-alkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -alkylen-O-alkyl, trong đó nhóm alkylen nêu trên có n đến m nguyên tử cacbon và nhóm alkyl nêu trên có o đến p nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, các nhóm alkyl và alkylen này mỗi nhóm độc lập có 1 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, “halo” hoặc “halogen”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, bao gồm flo, clo, brom, và iot. Theo một số phương án, nhóm halo này là flo hoặc clo.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “C_{n-m} haloalkyl”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ nhóm C_{n-m} alkyl có tối đa {2(n đến m)+1} nguyên tử halogen mà có thể hoặc giống nhau hoặc khác nhau. Theo một số phương án, các nguyên tử halogen này là các nguyên tử flo. Theo một số phương án, nhóm alkyl có 1-6 hoặc 1-3 nguyên tử cacbon. Các nhóm haloalkyl minh họa bao gồm CF₃, C₂F₅, CHF₂, CCl₃, CHCl₂, C₂Cl₅, và các nhóm tương tự. Theo một số phương án, nhóm haloalkyl này là nhóm floalkyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “C₁₋₃ floalkyl” dùng để chỉ nhóm C₁₋₃ alkyl mà có thể một phần hoặc hoàn toàn được thế bởi các nguyên tử flo.

Như được sử dụng ở đây, “C_{n-m} haloalkoxy” dùng để chỉ một nhóm có công thức -O-haloalkyl có n đến m nguyên tử cacbon. Nhóm haloalkoxy minh họa là OCF₃. Theo một số phương án, nhóm haloalkoxy này chỉ được flo hóa. Theo một số phương án, nhóm alkyl có 1 đến 6 hoặc 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xyano-C_{n-m} alkyl” dùng để chỉ C_{n-m} alkyl được thế bởi nhóm xyano. Theo một số phương án, nhóm alkyl này có 1 đến 3 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, sự xuất hiện của thuật ngữ “đơn vòng” trước tên của gốc chỉ ra rằng gốc này có một vòng duy nhất.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “phenylalkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -alkylen-phenyl. Theo một số phương án, phenylalkyl là phenyl-C₁₋₃ alkyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xycloalkyl”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ gốc hydrocacbon dạng vòng không thơm, mà có thể tùy ý chứa một hoặc nhiều nhóm alkenylen như là một phần của cấu

trúc vòng. Các nhóm xycloalkyl có thể bao gồm các hệ vòng đơn vòng hoặc đa vòng (ví dụ như, có 2, 3 hoặc 4 vòng ngưng tụ, vòng xoắn hoặc có liên kết cầu nối). Cũng được bao gồm trong phần xác định đặc điểm của xycloalkyl là các gốc mà có một hoặc nhiều vòng thơm được ngưng tụ (tức là, có liên kết chung với) với vòng xycloalkyl, ví dụ như, các dẫn xuất benzo của xyclopentan, xyclopenten, xyclohexan, và các chất tương tự. Một hoặc nhiều nguyên tử cacbon tạo vòng của nhóm xycloalkyl có thể được oxy hóa để tạo thành các liên kết cacbonyl. Theo một số phương án, xycloalkyl là xycloalkyl có 3-7 cạnh, ở dạng đơn vòng hoặc hai vòng. Theo một số phương án, xycloalkyl là xycloalkyl đơn vòng có 3-6 hoặc 3-7 cạnh. Các nhóm xycloalkyl dùng làm ví dụ minh họa bao gồm 1,2,3,4-tetrahydro-naphtalen, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, xyclopentenyl, xyclohexenyl, xyclohexadienyl, xycloheptatrienyl, norbornyl, norpiny, norcarnyl, adamantyl, và các gốc tương tự. Theo một số phương án, nhóm xycloalkyl là xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, hoặc xyclohexyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xycloalkylalkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức –alkylen-xycloalkyl. Theo một số phương án, xycloalkylalkyl là C_{3-7} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó phần xycloalkyl này là đơn vòng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “heteroaryl”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ gốc hydrocacbon thơm đơn vòng hoặc đa vòng (ví dụ như, có 2, 3 hoặc 4 vòng ngưng tụ), có một hoặc nhiều cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh và oxy. Theo một số phương án, heteroaryl là heteroaryl có 5-6 cạnh, ở dạng đơn vòng hoặc hai vòng, bao gồm 1 đến 5 nguyên tử cacbon và 1, 2, 3, hoặc 4 cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh, và oxy. Khi nhóm heteroaryl chứa nhiều hơn một cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại, các nguyên tử khác loại này có thể là giống nhau hoặc khác nhau. Các nhóm heteroaryl minh họa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, pyridin, pyrimidin, pyrazin, pyridazin, pyrol, pyrazol, azolyl, oxazol, thiazol, imidazol, furan, thiophen, hoặc các nhóm tương tự.

Heteroaryl vòng 5 cạnh là heteroaryl với một vòng có năm nguyên tử trên vòng trong đó một hoặc nhiều (ví dụ như, 1, 2, hoặc 3) nguyên tử trên vòng độc lập được chọn từ N, O, và S. Các heteroaryl vòng 5 cạnh minh họa là thienyl, furyl, pyrrolyl, imidazolyl, thiazolyl, oxazolyl, pyrazolyl, isothiazolyl, isoxazolyl, 1,2,3-triazolyl,

tetrazolyl, 1,2,3-thiadiazolyl, 1,2,3-oxadiazolyl, 1,2,4-triazolyl, 1,2,4-thiadiazolyl, 1,2,4-oxadiazolyl, 1,3,4-triazolyl, 1,3,4-thiadiazolyl, và 1,3,4-oxadiazolyl.

Heteroaryl vòng 6 cạnh là heteroaryl với một vòng có sáu nguyên tử trên vòng trong đó một hoặc nhiều (ví dụ như, 1, 2, hoặc 3) nguyên tử trên vòng độc lập được chọn từ N, O, và S. Các heteroaryl vòng 6 cạnh minh họa là pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, triazinyl và pyridazinyl.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “heteroarylalkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức –alkylen-heteroaryl. Theo một số phương án, heteroarylalkyl là heteroaryl- C_{1-3} alkyl có 5-6 cạnh, trong đó phần heteroaryl là đơn vòng, bao gồm 1 đến 5 nguyên tử cacbon và 1, 2, 3, hoặc 4 cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh và oxy.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “heteroxycloalkyl”, được sử dụng riêng rẽ hoặc ở dạng kết hợp với các thuật ngữ khác, dùng để chỉ hệ vòng không thơm, mà có thể tùy ý chứa một hoặc nhiều nhóm alkenylen hoặc alkynylen như là một phần của cấu trúc vòng, và có ít nhất một cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh và oxy. Khi các nhóm heteroxycloalkyl chứa nhiều hơn một nguyên tử khác loại, các nguyên tử khác loại này có thể là giống nhau hoặc khác nhau. Các nhóm heteroxycloalkyl có thể bao gồm đơn vòng hoặc đa vòng (ví dụ như, có 2, 3 hoặc 4 vòng ngưng tụ, vòng xoắn hoặc có liên kết cầu nối) các hệ vòng. Cũng được bao gồm trong phần xác định đặc điểm của heteroxycloalkyl là các gốc mà có một hoặc nhiều vòng thơm được ngưng tụ (tức là, có liên kết chung với) với vòng không thơm, ví dụ như, 1,2,3,4-tetrahydro-quinolin và vòng tương tự. Các nguyên tử cacbon hoặc các nguyên tử khác loại trong (các) vòng của nhóm heteroxycloalkyl có thể được oxy hóa để tạo thành nhóm cacbonyl, hoặc sulfonyl (hoặc liên kết đã oxy hóa khác) hoặc nguyên tử ni-tơ có thể được tạo cấu trúc bậc bốn. Theo một số phương án, heteroxycloalkyl là heteroxycloalkyl có 4-7 cạnh, ở dạng đơn vòng, bao gồm 2-6 nguyên tử cacbon và 1, 2, 3, hoặc 4 cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh, và oxy. Các ví dụ về các nhóm heteroxycloalkyl bao gồm azetidin, azepan, pyrrolidin, piperidin, piperazin, morpholin, thiomorpholin, pyran, và vòng 2-oxo-1,3-oxazolidin.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “heteroxycloalkylalkyl” dùng để chỉ một nhóm có công thức -alkylen-heteroxycloalkyl. Theo một số phương án,

heteroxycloalkylalkyl là heteroxycloalkyl- C_{1-3} alkyl có 4-7 cạnh, trong đó phần heteroxycloalkyl là ở dạng đơn vòng, bao gồm 2-6 nguyên tử cacbon và 1, 2, 3, hoặc 4 cạnh vòng chứa nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ ni-tơ, lưu huỳnh và oxy.

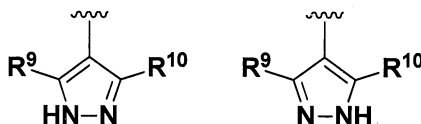
Các hợp chất được mô tả ở đây có thể là không đối xứng (ví dụ như, có một hoặc nhiều trung tâm bất đối xứng). Tất cả các chất đồng phân lập thể, như các chất đồng phân đối ảnh và các chất đồng phân không đối quang, được nhắm tới trừ khi được nêu khác đi. Các hợp chất theo sáng chế mà chứa các nguyên tử cacbon được thể theo kiểu không đối xứng có thể được tách ra dưới các dạng triệt quang hoặc có hoạt tính quang học. Các phương pháp mô tả cách thức điều chế các dạng có hoạt tính quang học từ các vật liệu khởi đầu không có hoạt tính quang học được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này, như bằng cách phân giải các hỗn hợp triệt quang hoặc bằng cách tổng hợp lập thể chọn lọc. Nhiều chất đồng phân hình học của các olefin, các liên kết đôi $C=N$, và các dạng liên kết tương tự cũng có thể có mặt trong các hợp chất được mô tả ở đây, và tất cả các chất đồng phân ổn định này được dự tính trong sáng chế. Các chất đồng phân hình học dạng *cis* và *trans* của các hợp chất theo sáng chế được mô tả và có thể được tách ra dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc dưới dạng các dạng đồng phân riêng biệt.

Sự phân giải các hỗn hợp triệt quang của các hợp chất có thể được thực hiện bởi phương pháp bất kỳ trong số rất nhiều phương pháp được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này. Một phương pháp minh họa bao gồm sự tái kết tinh phân đoạn bằng cách sử dụng axit phân giải bất đối là axit hữu cơ tạo muối, có hoạt tính quang học. Các tác nhân phân giải thích hợp dùng cho các phương pháp tái kết tinh phân đoạn là, ví dụ như, các axit có hoạt tính quang học, như các dạng D và L của axit tactric, axit diaxetyltactric, axit dibenzoyltactric, axit mandelic, axit malic, axit lactic hoặc nhiều axit camphorsulfonic có hoạt tính quang học khác nhau như axit β -camphorsulfonic. Các tác nhân phân giải khác thích hợp đối với các phương pháp kết tinh phân đoạn bao gồm các dạng tinh khiết đồng phân lập thể của α -metylbenzylamin (ví dụ như, các dạng *S* và *R*, hoặc các dạng tinh khiết đồng phân không đối quang), 2-phenylglyxinol, norephedrin, ephedrin, N-metylephedrin, xyclohexyletylamin, 1,2-diaminoxyclohexan, và các chất tương tự.

Sự phân giải các hỗn hợp triệt quang cũng có thể được thực hiện bằng cách rửa giải trên cột được nhồi tác nhân phân giải có hoạt tính quang học (ví dụ như,

dinitrobenzoylphenylglyxin). Chế phẩm dung môi rửa giải thích hợp có thể được xác định bởi một chuyên gia có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các hợp chất theo sáng chế cũng bao gồm các dạng hỗn biến. Các dạng hỗn biến do sự trao đổi của liên kết đơn bởi một liên kết đôi gần kề cùng với sự chuyển vị proton đồng thời. Các dạng hỗn biến bao gồm các chất hỗn biến di biến proton mà là những trạng thái proton đồng phân có cùng công thức thực nghiệm và điện tích toàn phần. Các chất hỗn biến di biến proton minh họa bao gồm các cặp xeton - enol, các cặp amit - axit imidic, các cặp lactam - lactim, các cặp enamín - imin, và các dạng hình vành khuyên trong đó proton có thể chiếm hai hoặc nhiều vị trí trong hệ dị vòng, ví dụ như, 1H- và 3H-imidazol, 1H-, 2H- và 4H- 1,2,4-triazol, 1H- và 2H- isoindol, và 1H- và 2H-pyrazol. Các dạng hỗn biến có thể là ở trạng thái cân bằng hoặc được bao quanh không gian thành một hình dạng bằng sự thích hợp. Ví dụ như, sẽ cần công nhận rằng vòng pyrazol sau đây có thể tạo thành hai chất hỗn biến:



Sáng chế dự định rằng phần yêu cầu bảo hộ bao gồm cả hai chất hỗn biến.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử có mặt trong các chất trung gian hoặc các hợp chất cuối cùng. Các chất đồng vị bao gồm những nguyên tử có số hiệu nguyên tử giống nhau nhưng số khối nguyên tử khác nhau. Ví dụ như, các chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri. Theo một số phương án, 1, 2, hoặc 3 nhóm CH₂ trong vòng azetidin có Công thức I được thay thế bởi nhóm CHD hoặc CD₂. Theo một số phương án, 1, 2, hoặc 3 nhóm CH₂ hoặc CH trong vòng piperidin có Công thức I được thay thế tương ứng bởi nhóm CHD, CD₂ hoặc CD, theo thứ tự. Theo một số phương án, 1, 2, 3, 4, hoặc 5 nhóm CH₂ hoặc CH trong vòng piperidin có Công thức I được thay thế tương ứng bởi nhóm CHD, CD₂ hoặc CD, theo thứ tự.

Thuật ngữ, “hợp chất,” như được sử dụng ở đây có nghĩa là bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể, các chất đồng phân hình học, các chất hỗn biến, và các chất đồng vị thuộc các cấu trúc đã được mô tả. Ngoài ra, các hợp chất ở đây được xác định theo tên hoặc cấu trúc dưới dạng một dạng hỗn biến cụ thể được dự định là bao gồm các dạng hỗn biến khác trừ khi có quy định khác.

Tất cả các hợp chất, và các muối được dụng của nó, có thể được tìm thấy cùng với các chất khác như nước và các dung môi (ví dụ như, các hydrat và các solvat) hoặc có thể được tách ra.

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối của chúng, về cơ bản được tách ra. Thuật ngữ “về cơ bản được tách ra” có nghĩa là hợp chất ít nhất một phần hoặc về cơ bản được tách khỏi môi trường trong đó nó được tạo thành hoặc được phát hiện ra. Sự tách một phần có thể bao gồm, ví dụ như, chế phẩm được làm giàu trong các hợp chất theo sáng chế. Sự tách đáng kể có thể bao gồm các chế phẩm chứa ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, ít nhất khoảng 97%, hoặc ít nhất khoảng 99% theo khối lượng của các hợp chất theo sáng chế, hoặc muối của chúng. Các phương pháp tách riêng các hợp chất và các muối của chúng là phổ biến trong lĩnh vực này.

Cụm từ “được dụng” được sử dụng ở đây dùng để chỉ các hợp chất, các vật liệu, các chế phẩm, và/hoặc các dạng liều lượng mà, trong phạm vi đánh giá y khoa hợp lý, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với các mô của người và động vật mà không gây độc tính quá mức, sự kích thích, đáp ứng dị ứng, hoặc vấn đề hay biến chứng khác, tương xứng với một tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý.

Các cụm từ diễn đạt, “nhiệt độ môi trường” và “nhiệt độ trong phòng,” như được sử dụng ở đây, được hiểu trong lĩnh vực kỹ thuật này, và nhìn chung dùng để chỉ nhiệt độ, *ví dụ như* nhiệt độ phản ứng, tức là khoảng nhiệt độ của phòng trong đó phản ứng được thực hiện, ví dụ như, nhiệt độ từ khoảng 20°C đến khoảng 30°C.

Sáng chế cũng bao gồm các muối được dụng của các hợp chất được mô tả ở đây. Như được sử dụng ở đây, “các muối được dụng” dùng để chỉ các dẫn xuất của các hợp chất đã được bộc lộ trong đó hợp chất gốc được cải biến bằng cách chuyển đổi gốc axit hoặc bazơ hiện tại thành dạng muối của nó. Các ví dụ về các muối được dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các muối của axit hữu cơ hoặc vô cơ của các gốc có tính chất bazơ như các amin; các muối kiềm hoặc muối hữu cơ của các gốc có tính chất axit như các axit cacboxylic; và các chất tương tự. Các muối được dụng theo sáng chế bao gồm các muối không độc của hợp chất gốc được tạo thành, ví dụ như, từ các axit hữu cơ hoặc vô cơ không độc. Các muối được dụng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc mà chứa gốc có tính bazơ hoặc axit theo các phương pháp hóa học thông thường.

Nhìn chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho các dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với một lượng cân bằng hóa học của axit hoặc bazơ thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp của hai loại này; nhìn chung, môi trường không chứa nước như ête, etyl axetat, các loại rượu cồn (ví dụ như, metanol, etanol, iso-propanol, hoặc butanol) hoặc axetonitril (ACN) được ưu tiên. Danh sách các loại muối thích hợp được tìm thấy trong *Remington's Pharmaceutical Sciences*, xuất bản lần thứ 17, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, trang 1418 và *Journal of Pharmaceutical Science*, 66, 2 (1977), mỗi tài liệu này toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, các hợp chất được mô tả ở đây bao gồm các dạng N-oxit.

Sự tổng hợp

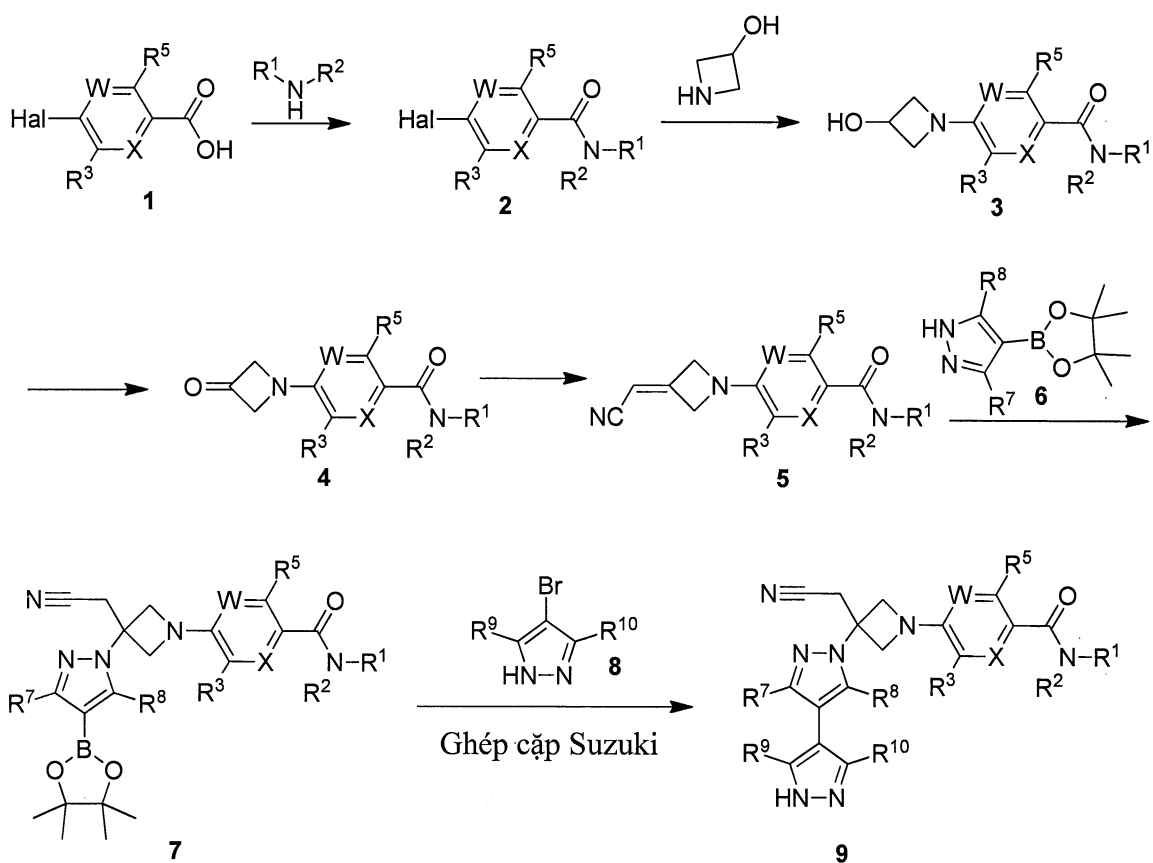
Các hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối của chúng, có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp kỹ thuật tổng hợp hữu cơ đã biết và có thể được tổng hợp theo cách thức bất kỳ trong số rất nhiều con đường tổng hợp có thể có, như các con đường trong các Sơ đồ dưới đây. Các phản ứng để điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể được thực hiện trong các dung môi thích hợp mà có thể dễ dàng được lựa chọn bởi một chuyên gia có trình độ trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các dung môi thích hợp có thể về cơ bản là không có tính phản ứng với các vật liệu khởi đầu (các chất phản ứng), các chất trung gian, hoặc các sản phẩm ở các nhiệt độ mà tại đó các phản ứng được thực hiện, ví dụ như, các nhiệt độ mà có thể nằm trong khoảng từ nhiệt độ kết đông của dung môi đến nhiệt độ sôi của dung môi. Một phản ứng xác định có thể được thực hiện trong một dung môi hoặc hỗn hợp của nhiều hơn một dung môi. Phụ thuộc vào bước phản ứng cụ thể, các dung môi thích hợp cho một bước phản ứng cụ thể có thể được lựa chọn bởi chuyên gia trong lĩnh vực này.

Việc điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể đòi hỏi quá trình bảo vệ và khử bảo vệ các nhóm hóa học khác nhau. Sự cần thiết của quá trình bảo vệ và khử bảo vệ, và việc lựa chọn các nhóm bảo vệ thích hợp, có thể dễ dàng được xác định bởi một chuyên gia có trình độ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Hóa học về các nhóm bảo vệ có thể được tìm thấy, ví dụ như, trong tài liệu của Wuts và Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, xuất bản lần thứ tư, John Wiley & Sons: New Jersey, (2007), toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các phản ứng có thể được giám sát theo một phương pháp phù hợp bất kỳ được biết đến trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ như, sự tạo thành sản phẩm có thể được giám sát theo phương pháp quang phổ, như quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân (ví dụ như, ^1H hoặc ^{13}C), quang phổ hồng ngoại, đo quang phổ (ví dụ như, quang phổ hiển thị UV), đo khối phổ, hoặc theo các phương pháp sắc ký như sắc ký lỏng cao áp (HPLC) hoặc sắc ký lớp mỏng (TLC).

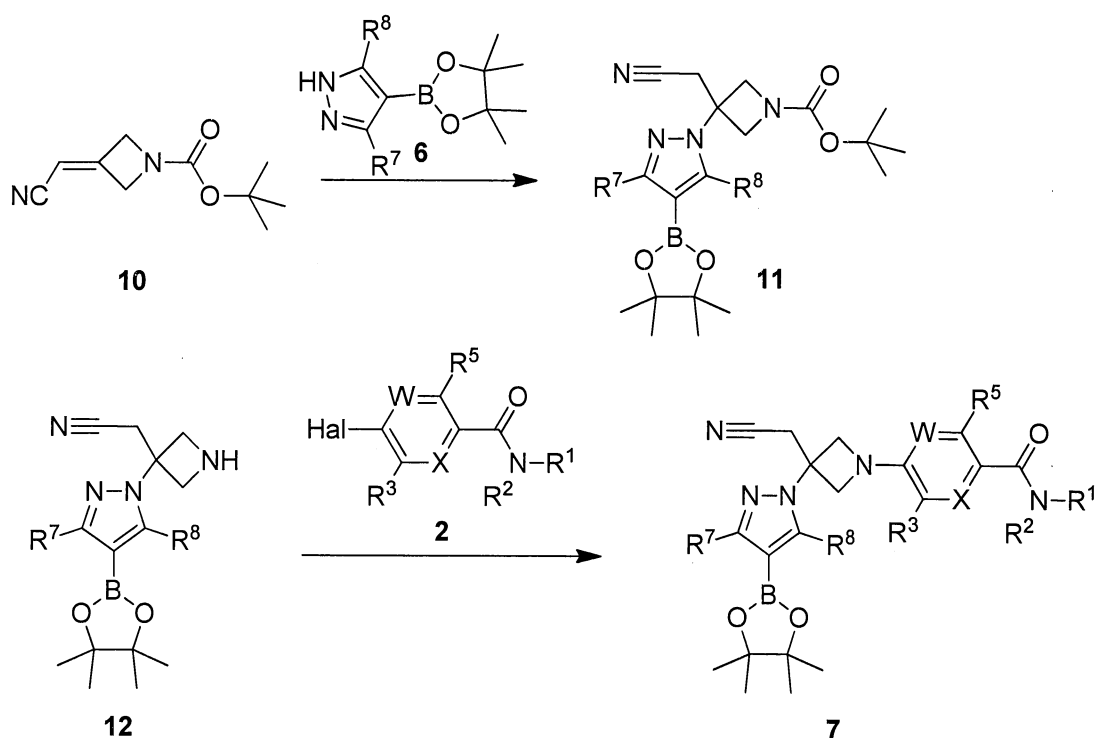
Các hợp chất có Công thức I có thể được tổng hợp theo các quy trình tương tự như các quy trình trong các Sơ đồ dưới đây. Một loạt các dẫn xuất bi-pyrazol **9** có thể được điều chế theo các phương pháp được tóm tắt trong Sơ đồ 1. Axit thơm **1** có thể được chuyển hóa thuận lợi thành amit tương ứng **2** bằng cách sử dụng thuốc thử ghép cặp amit như BOP, PyOP, HATU, HBTU, EDC, hoặc CDI. Sự thay thế của nhóm rời chuyển Hal (Hal có thể là halogen, OTs hoặc OTf) trong **2** bằng 3-hydroxyazetidin để tạo thành hợp chất **3** có thể đạt được dưới các điều kiện nhiệt trong dung môi phù hợp như, nhưng không giới hạn ở, DMSO, dioxan, DMF, hoặc NMP với sự có mặt của một bazơ như kali cacbonat, xêsi cacbonat, hoặc natri cacbonat; hoặc dưới các điều kiện phản ứng aryl hóa-N kiểu Ullmann được xúc tác bởi đồng bằng cách sử dụng đồng(I) iodua và kali cacbonat; hoặc dưới các điều kiện phản ứng tạo liên kết C-N được xúc tác bởi paladi bằng cách sử dụng xanthpos, BINAP, hoặc $\text{P}(\text{o-Tol})_3$ làm phối tử và kali cacbonat hoặc xêsi cacbonat làm bazơ. α,β -Nitril chưa bão hòa **5** có thể thu được bằng phản ứng Wittig của diethyl xyanometylphosphonat với xeton **4** mà có thể được điều chế bằng phản ứng oxy hóa Swern của hợp chất **3**. Phản ứng cộng Michael của hợp chất **6** với α,β -nitril chưa bão hòa **5** có thể tạo ra hợp chất este boronic **7**. Phản ứng ghép cặp Suzuki của este boronic **7** với pyrazol halogenua phù hợp **8** có thể tạo ra dẫn xuất bi-pyrazol tương ứng **9**.

Sơ đồ 1



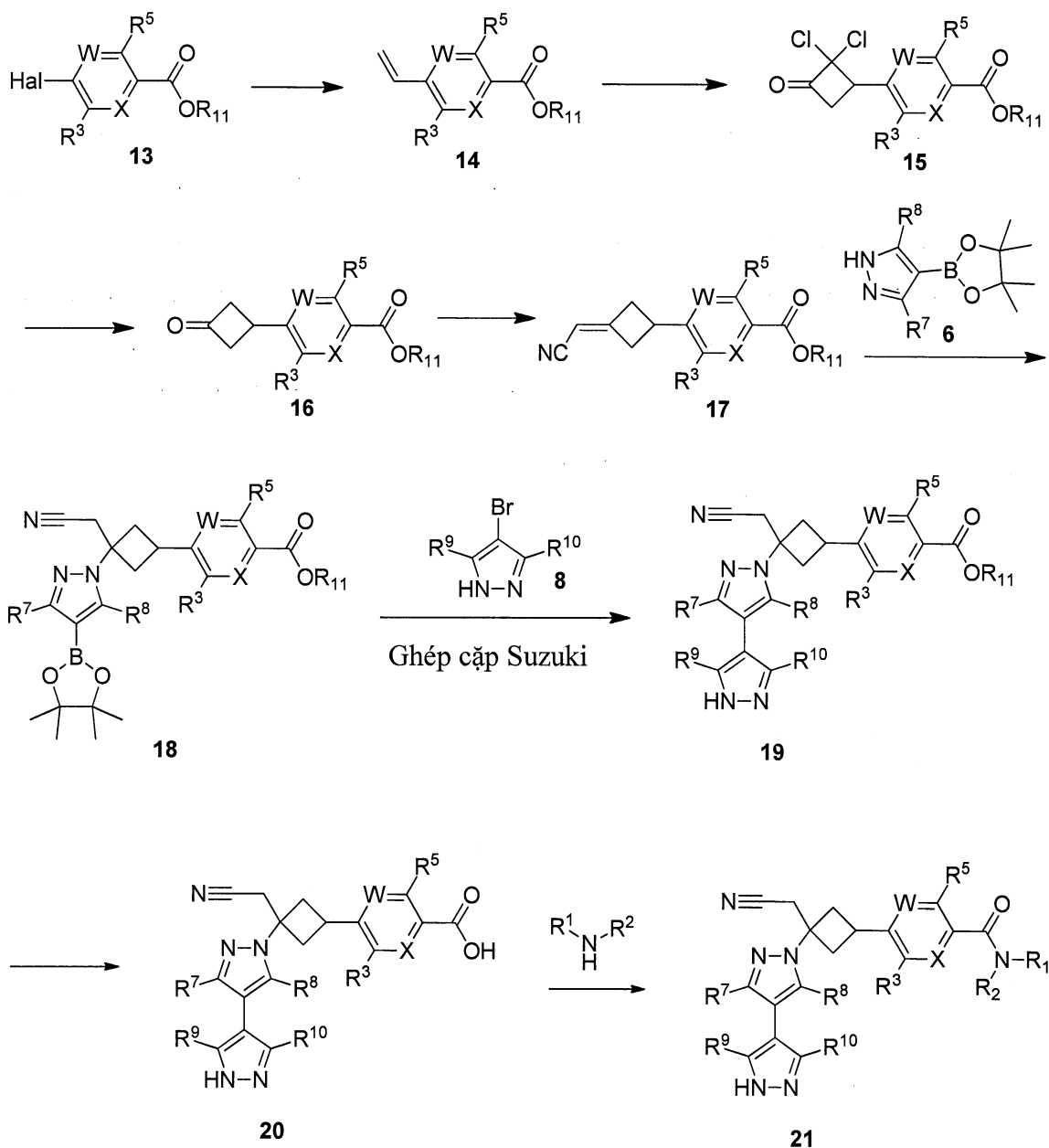
Một loạt các các dẫn xuất este boronic **7** có thể được điều chế theo các quy trình được tóm tắt trong Sơ đồ 2. Phản ứng cộng Michael của hợp chất **6** với α,β -nitril chưa bão hòa **10** có thể tạo ra hợp chất este boronic **11**. Sự tách loại nhóm Boc có thể đạt được dưới các điều kiện axit để tạo ra amin tương ứng **12**. Sự thay thế của nhóm rời chuyển Hal trong **2** bởi **12** có thể tạo ra este boronic **7** dưới các điều kiện nhiệt trong dung môi phù hợp như, nhưng không giới hạn ở, axetonitril, DMSO, dioxan, DMF, hoặc NMP với sự có mặt của bazơ như kali cacbonat, xêsi cacbonat, natri cacbonat, bazơ hunig hoặc DBU.

Sơ đồ 2



Một loạt các dẫn xuất bi-pyrazol **21** có thể được điều chế theo các phương pháp được tóm tắt trong Sơ đồ 3. Các este thơm halo **13** có thể được biến đổi thành các alken tương ứng **14** bằng phản ứng ghép cặp Suzuki của các este thơm halo **13** với các este vinyl boronic. Các alken **14** có thể được phản ứng với các xeten được thể thích hợp (như dichloroxeten) dưới các điều kiện phản ứng cộng xyclo 2+2 để thu được các dicloxylobutanon **15**. Dưới các điều kiện khử (như kẽm trong axit axetic dưới các điều kiện nhiệt) các dicloxylobutanon **15** có thể được biến đổi thành các xyclobutanon **16**. Các α,β -nitril chưa bão hòa **17** có thể được tạo thành bằng phản ứng của các xyclobutanon **16** với thuốc thử Horner-Wadsworth-Emmons. Các este boronic **6** có thể được phản ứng với các α,β -nitril chưa bão hòa **17** trong các điều kiện phản ứng cộng Michael với sự có mặt của các chất ghép cặp để thu được các hợp chất **18**. Phản ứng ghép cặp Suzuki của các este boronic **18** với các pyrazol halogenua phù hợp **8** có thể tạo ra các bi-pyrazol tương ứng **19**. Sự thủy phân các este **19** dưới các điều kiện bazơ có thể tạo ra các axit **20**. Các amit **21** có thể được tổng hợp bằng cách ghép cặp các axit **20** với các amin được thể thích hợp bằng cách sử dụng các thuốc thử ghép cặp amit như BOP, PyBop, HATU, HBTU, EDC, hoặc CDI.

Sơ đồ 3



Các quá trình

Sáng chế đề xuất quá trình tạo các muối được mô tả ở đây bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với một axit được chọn từ axit phosphoric, axit clohydric, axit bromhydric, và axit sulfuric để tạo thành muối của chúng. Theo một số phương án, quá trình này cần dùng từ khoảng 0,55 đến 1,5 đương lượng axit trên đương lượng của 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid.

Theo một số phương án, quá trình này bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-

[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với axit phosphoric trong thành phần dung môi ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ trong phòng để tạo thành muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, nhiệt độ là từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C. Theo một số phương án, nhiệt độ là khoảng 45°C đến khoảng 55°C. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm etanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm axetonitril. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm metanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm metanol và isopropanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm metanol, isopropanol, và *n*-heptan. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng và bước lọc để tách muối ra. Theo một số phương án, quá trình này bao gồm thêm bước loại bỏ phần dung môi để tạo thành hỗn hợp cô đặc trước bước lọc nói trên. Theo một số phương án, phần dung môi được tách loại bằng cách chưng cất.

Sáng chế còn đề xuất quá trình tạo muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với axit phosphoric trong thành phần dung môi bao gồm metanol và isopropanol ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C tạo thành hỗn hợp bao gồm muối của axit phosphoric là muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước bổ sung *n*-heptan vào hỗn hợp ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C để tạo thành hỗn hợp thứ hai. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ từ khoảng 45°C đến khoảng 55°C. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng 50°C.

Theo một số phương án, sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, bao gồm:

(a) hòa tan muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid trong metanol ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C để tạo thành hỗn hợp thứ nhất;

(b) bổ sung n-heptan vào hỗn hợp thứ nhất này ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C để tạo thành hỗn hợp thứ hai; và

(c) làm nguội hỗn hợp thứ hai này để tạo thành muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid.

Theo một số phương án, quá trình theo phương án nêu trên còn bao gồm thêm bước chưng cất ít nhất một phần metanol từ hỗn hợp thứ nhất này trước bước (b). Theo một số phương án, quá trình theo phương án nêu trên còn bao gồm thêm bước chưng cất ít nhất một phần metanol và/hoặc n-heptan từ hỗn hợp thứ hai này trước bước (c). Theo một số phương án, các bước (a) và (b) được thực hiện ở nhiệt độ từ khoảng 45°C đến khoảng 55°C. Theo một số phương án, các bước (a) và (b) được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng 50°C.

Theo một số phương án, quá trình này bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với axit clohydric trong thành phần dung môi ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ trong phòng để tạo thành muối của axit clohydric với 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng nhiệt độ trong phòng. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm 2-butanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol và isopropylaxetat. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước lọc để tách muối ra. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước rửa muối đã được tách ra bằng methyl *tert*-butyl ête.

Theo một số phương án, quá trình này bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với axit bromhydric trong thành phần

dung môi ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ trong phòng để tạo thành muối của axit bromhydric với 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng nhiệt độ trong phòng. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol và nước. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước lọc để tách muối ra. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước rửa muối đã được tách ra bằng metyl *tert*-butyl ête.

Theo một số phương án, quá trình này bao gồm bước cho hợp chất 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid phản ứng với axit sulfuric trong thành phần dung môi để tạo thành muối của axit sulfuric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng nhiệt độ trong phòng. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước lọc để tách muối ra. Theo một số phương án, quá trình phản ứng này được thực hiện ở nhiệt độ vào khoảng 60°C. Theo một số phương án, thành phần dung môi bao gồm isopropanol và nước. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước làm nguội hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng và bước lọc để tách muối ra. Theo một số phương án, quá trình này còn bao gồm thêm bước rửa muối đã được tách ra bằng metyl *tert*-butyl ête.

Phương pháp

Các hợp chất theo sáng chế là các chất ức chế JAK, và phần lớn các hợp chất theo sáng chế, là các chất ức chế chọn lọc JAK1. Chất ức chế chọn lọc JAK1 là hợp chất mà ức chế hoạt tính JAK1 ưu tiên so với các Janus kinaza khác. Ví dụ như, các hợp chất theo sáng chế ưu tiên ức chế JAK1 so với một hoặc nhiều trong số JAK2, JAK3, và TYK2. Theo một số phương án, các hợp chất ức chế JAK1 ưu tiên so với JAK2 (ví dụ như, có tỷ lệ IC₅₀ JAK1/JAK2 >1). Theo một số phương án, các hợp chất có tính chọn lọc cao hơn khoảng gấp 10 lần đối với JAK1 so với JAK2. Theo một số phương án, các hợp chất có tính chọn lọc cao hơn khoảng 3 lần, khoảng 5 lần, khoảng 10 lần, khoảng

15 lần, hoặc khoảng 20 lần đối với JAK1 so với JAK2 như được tính toán bằng cách đo giá trị IC_{50} tại nồng độ ATP 1 mM (ví dụ như, xem Ví dụ A).

JAK1 đóng vai trò trung tâm trong một số con đường truyền tín hiệu của xytokin và yếu tố tăng trưởng mà, khi bị rối loạn điều hòa, có thể dẫn đến hoặc góp phần vào các tình trạng bệnh. Ví dụ như, các mức IL-6 tăng cao ở bệnh viêm khớp dạng thấp, là bệnh mà trong đó đã có đề xuất là có các tác dụng bất lợi (Fonesca, J.E. et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Do các tín hiệu IL-6, ít nhất một phần, qua JAK1, chống lại IL-6 một cách trực tiếp hoặc gián tiếp thông qua sự ức chế JAK1 được kỳ vọng là mang lại lợi ích lâm sàng (Guschin, D., N., et al *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, J. S., et al. *Lancet* 371:987, 2008). Ngoài ra, trong một số bệnh ung thư JAK1 bị đột biến dẫn đến sự sinh trưởng và sự sống sót của tế bào khối u không mong muốn cấu thành trong cơ thể (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*.106:9414-8, 2009; Flex E., et al. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). Trong các bệnh tự miễn dịch và các bệnh ung thư khác, các mức xytokin viêm trong hệ thống cơ thể tăng cao mà hoạt hóa JAK1 cũng có thể góp phần vào bệnh và/hoặc các triệu chứng kèm theo. Vì vậy, các bệnh nhân mắc các bệnh này có thể có lợi từ việc ức chế JAK1. Các chất ức chế chọn lọc của JAK1 có thể có hiệu lực đồng thời tránh các tác dụng không cần thiết và không mong muốn có thể xảy ra do ức chế các JAK kinaza khác.

Các chất ức chế chọn lọc của JAK1, so với các JAK kinaza khác, có thể có nhiều lợi thế điều trị hơn các chất ức chế chọn lọc kém hơn. Về tính chọn lọc đối với JAK2, một số xytokin và yếu tố tăng trưởng quan trọng truyền tín hiệu thông qua JAK2 bao gồm, ví dụ như, erythropoietin (Epo) và thrombopoietin (Tpo) (Parganas E, et al. *Cell*. 93:385-95, 1998). Epo là yếu tố tăng trưởng then chốt để sản xuất các tế bào hồng cầu; do đó thiếu tín hiệu phụ thuộc Epo có thể dẫn đến làm giảm số lượng tế bào hồng cầu và gây bệnh thiếu máu (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Tpo, một ví dụ khác về yếu tố tăng trưởng phụ thuộc JAK2, đóng vai trò trung tâm trong việc kiểm soát sự tăng sinh và trưởng thành của các tế bào nhân khổng lồ (megakaryocytes) – các tế bào mà từ đó sản xuất ra các tiểu huyết cầu (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Như vậy, sự truyền tín hiệu Tpo bị giảm sẽ làm giảm số lượng tế bào nhân khổng lồ (megakaryocytopenia) và làm giảm tổng số tiểu huyết cầu tuần hoàn (giảm tiểu cầu). Điều này có thể dẫn đến hiện tượng chảy máu không mong muốn và/hoặc không thể kiểm soát. Sự ức chế các JAK khác, như JAK3 và Tyk2 giảm dần, cũng có thể là điều

mong đợi do những người thiếu biến thể chức năng của các kinaza này đã được chứng minh là mắc nhiều chứng bệnh như suy giảm miễn dịch kết hợp trầm trọng hoặc hội chứng globulin miễn dịch cao E (Minegishi, Y, et al. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P, et al. Nature. 377:65-8, 1995). Vì vậy chất ức chế JAK1 với ái lực giảm đối với các JAK khác sẽ có những lợi ích đáng kể so với một chất ức chế chọn lọc kém hơn về vấn đề làm giảm các tác dụng phụ có liên quan đến sự ức chế miễn dịch, bệnh thiếu máu và giảm tiểu cầu.

Một khía cạnh khác của sáng chế mô tả các phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn liên quan đến JAK ở một đối tượng (ví dụ như, bệnh nhân) bằng cách cấp cho đối tượng cần điều trị một lượng hữu hiệu điều trị hoặc liều lượng của hợp chất theo sáng chế hoặc được phẩm chứa hợp chất này. Bệnh liên quan đến JAK có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ mà trực tiếp hoặc gián tiếp liên quan đến sự biểu hiện hoặc hoạt tính của JAK, bao gồm sự biểu hiện quá mức và/hoặc các mức hoạt tính bất thường. Bệnh liên quan đến JAK cũng có thể bao gồm bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bất kỳ mà có thể được ngăn ngừa, cải thiện hoặc cứu chữa bằng cách điều biến hoạt tính JAK.

Các ví dụ về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh liên quan đến hệ miễn dịch bao gồm, ví dụ như, tình trạng thái ghép cơ quan (ví dụ như, tình trạng thái ghép mô và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ).

Các ví dụ khác về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh tự miễn dịch như đa xơ cứng, viêm khớp dạng thấp, bệnh viêm khớp trẻ em, bệnh viêm khớp vảy nến, bệnh tiểu đường týp I, bệnh luput, bệnh vảy nến, bệnh viêm đường ruột, bệnh viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, chứng nhược cơ năng, bệnh thận globulin miễn dịch, bệnh viêm cơ tim, các rối loạn tuyến giáp tự miễn, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD), và các bệnh khác tương tự. Theo một số phương án, bệnh tự miễn dịch là một loại rối loạn da bóng nước tự miễn như bệnh pemphigut thông thường (PV) hoặc bệnh bullous pemphigoid (BP) (bọng nước dạng pemphigut).

Các ví dụ khác về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các tình trạng bệnh dị ứng như bệnh hen, bệnh dị ứng thực phẩm, bệnh viêm da dạng chàm, viêm da tiếp xúc, viêm da dị ứng (chàm dị ứng), và viêm mũi. Các ví dụ khác về các bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh do virus như bệnh do virus Epstein Barr (EBV), bệnh do virus

viêm gan B, bệnh do virus viêm gan C, HIV, HTLV 1, bệnh do virus Varicella-Zoster (VZV) và bệnh sùi mào gà do virus papilloma ở người (HPV).

Các ví dụ khác về bệnh liên quan đến JAK bao gồm các bệnh liên quan đến thoái hóa sụn, ví dụ như, bệnh viêm khớp gút, bệnh viêm khớp nhiễm trùng hoặc nhiễm khuẩn, bệnh viêm khớp phản ứng, hội chứng loạn dưỡng giao cảm phản xạ, hội chứng đau khu vực phức tạp (algodystrophy), hội chứng Tietze, viêm khớp sụn sườn, viêm xương khớp biến dạng địa phương, bệnh Mseleni, bệnh Handigodu, thoái hóa do đau cơ xơ, bệnh luput ban đỏ hệ thống, xơ cứng bì, hoặc bệnh viêm cột sống dính khớp.

Các ví dụ khác về bệnh liên quan đến JAK bao gồm dị tật bẩm sinh sụn, bao gồm hủy sụn di truyền, loạn sản sụn, và giả loạn sản sụn (ví dụ như, tật tai nhỏ, enotia, và chứng loạn sinh sụn xương).

Các ví dụ khác về các bệnh hoặc các tình trạng liên quan đến JAK bao gồm các rối loạn da như bệnh vảy nến (ví dụ như, bệnh da vảy nến), viêm da dị ứng, nổi mẩn da, kích ứng da, mẩn cảm da (ví dụ như, viêm da tiếp xúc hoặc viêm da tiếp xúc dị ứng). Ví dụ như, một số chất bao gồm một số dược phẩm khi được bôi khu trú có thể dẫn đến mẩn cảm da. Theo một số phương án, việc dùng cùng lúc hoặc dùng theo thứ tự kế tiếp ít nhất một chất ức chế JAK theo sáng chế cùng với tác nhân gây kích ứng không mong muốn có thể là hữu ích trong việc điều trị tình trạng kích ứng hoặc viêm da không mong muốn như vậy. Theo một số phương án, rối loạn da được điều trị bằng cách bôi khu trú ít nhất một chất ức chế JAK theo sáng chế.

Theo các phương án khác, bệnh liên quan đến JAK là bệnh ung thư bao gồm các bệnh được đặc trưng bởi các khối u rắn (ví dụ như, tuyến tiền liệt bệnh ung thư, bệnh ung thư thận, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi, các bệnh ung thư thuộc vùng đầu và cổ, bệnh ung thư tuyến giáp, u nguyên bào đệm, sacôm Kaposi, bệnh Castleman, sacôm cơ trơn tử cung, khối u ác tính v.v), các bệnh ung thư máu (ví dụ như, u lym-phô, bệnh bạch cầu như bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), bệnh bạch cầu nguyên bào tủy cấp tính (AML) hoặc đa u tủy), và bệnh ung thư da như u lympho tế bào T ở da (CTCL) và u lympho tế bào B ở da. Các loại bệnh u lympho tế bào T ở da (CTCLs) minh họa bao gồm rối loạn Sezary và u sùi dạng nấm.

Theo một số phương án, các chất ức chế JAK được mô tả ở đây, hoặc ở dạng kết hợp với các chất ức chế JAK khác, như các chất được báo cáo trong Đơn Patent Mỹ số seri 11/637,545, toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn, có thể được sử dụng để điều trị các bệnh ung thư liên quan đến tình trạng viêm. Theo một số phương án, bệnh ung thư này liên quan đến bệnh viêm đường ruột. Theo một số phương án, bệnh viêm đường ruột là bệnh viêm loét đại tràng. Theo một số phương án, bệnh viêm đường ruột là bệnh Crohn. Theo một số phương án, bệnh ung thư liên quan đến tình trạng viêm này là bệnh ung thư liên quan đến bệnh viêm ruột kết. Theo một số phương án, bệnh ung thư liên quan đến tình trạng viêm này là bệnh ung thư ruột kết hoặc bệnh ung thư đại trực tràng. Theo một số phương án, bệnh ung thư là bệnh ung thư dạ dày, khối u thần kinh nội tiết dạ dày, u mô đệm đường tiêu hóa (GIST), ung thư tuyến, bệnh ung thư ruột non, hoặc bệnh ung thư ruột thẳng.

Các bệnh liên quan đến JAK có thể còn bao gồm thêm các bệnh được đặc trưng bởi sự biểu hiện của: các thể đột biến JAK2 như các thể đột biến có ít nhất một sự đột biến trong miền giả-kinaza (*ví dụ như*, JAK2V617F); các thể đột biến JAK2 có ít nhất một sự đột biến nằm ngoài miền giả-kinaza; các thể đột biến JAK1; các thể đột biến JAK3; các thể đột biến thụ thể erythropoietin (EPOR); hoặc sự biểu hiện được khử điều hòa của CRLF2.

Các bệnh liên quan đến JAK có thể còn bao gồm thêm các rối loạn tăng sinh tủy (MPDs) như đa hồng cầu nguyên phát (PV), tăng tiểu cầu tiên phát (ET), bệnh xơ hóa tủy xương kèm theo dị sản tủy xương (MMM), xơ hóa tủy xương sơ khởi (PMF), bệnh bạch cầu nguyên bào tủy mãn tính (CML), bệnh bạch cầu đơn nhân mãn tính (CMML), hội chứng tăng bạch cầu ái toan (HES), bệnh tương bào hệ thống (SMCD), và các bệnh tương tự. Theo một số phương án, rối loạn tăng sinh tủy là bệnh xơ hóa tủy xương (*ví dụ như*, xơ hóa tủy xương sơ khởi (PMF) hoặc bệnh xơ hóa tủy xương tiến triển sau đa hồng cầu nguyên phát/tăng tiểu cầu tiên phát (Post-PV/ET MF)). Theo một số phương án, rối loạn tăng sinh tủy là bệnh xơ hóa tủy xương tiến triển sau tăng tiểu cầu tiên phát (Post-ET MF). Theo một số phương án, rối loạn tăng sinh tủy là bệnh xơ hóa tủy xương tiến triển sau đa hồng cầu nguyên phát (Post-PV MF).

Theo một số phương án, các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng thêm để điều trị hội chứng rối loạn sinh tủy (MDS) ở bệnh nhân có nhu cầu cần

điều trị. Theo một số phương án, bệnh nhân này là phụ thuộc vào sự truyền tế bào hồng cầu.

Như được sử dụng ở đây, các hội chứng rối loạn sinh tủy được dự định là bao gồm các rối loạn tạo huyết dị tính và vô tính được đặc trưng bởi sự tạo huyết không hiệu quả ở một hoặc nhiều dòng tế bào tủy chính. Các hội chứng rối loạn sinh tủy là liên quan đến chứng suy tủy xương, bệnh giảm sút tế bào hồng huyết cầu ngoại vi, và khuynh hướng tiến triển thành bệnh bạch cầu tủy bào cấp tính (AML). Ngoài ra, các bất thường về di truyền tế bào vô tính có thể được phát hiện trong khoảng 50% các trường hợp mắc MDS. Vào năm 1997, Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization - WHO) kết hợp với Hội Bệnh máu (Society for Hematopathology - SH) và Hiệp hội Bệnh máu Châu Âu (European Association of Hematopathology - EAHP) đề xuất các dạng phân loại mới đối với các khối u máu (Harris, et al., *J Clin Oncol* 1999;17:3835-3849; Vardiman, et al., *Blood* 2002;100:2292-2302). Đối với MDS, WHO sử dụng không chỉ các tiêu chuẩn hình thái học từ sự phân loại của Pháp – Mỹ - Anh (FAB) mà còn kết hợp cả các đặc điểm di truyền học, sinh học và lâm sàng có sẵn để xác định các nhóm phụ của MDS (Bennett, et al., *Br J Haematol* 1982;51:189-199). Vào năm 2008, sự phân loại của WHO về MDS (Bảng 1) còn được làm cho tinh tế hơn nhằm cho phép phân nhóm phụ chính xác và liên quan đến tiên lượng về chứng loạn sản đơn dòng bằng cách kết hợp các thông tin khoa học và lâm sàng mới (Vardiman, et al., *Blood* 2009;114:937-951; Swerdlow, et al., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Xuất bản lần thứ tư. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103; Bunning và Germing, “Các hội chứng rối loạn sinh tủy/khối u” ở Chương 5, Swerdlow, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (xuất bản lần thứ tư): Lyon, France: IARC Press;2008:88-103).

Bảng 1. Phân loại của WHO năm 2008 cho Hội chứng rối loạn sinh tủy do đột biến De Novo

Kiểu phân nhóm phụ	Thể bệnh máu	Các yếu tố về tủy xương
Giảm tế bào dai dẳng loạn sản đơn dòng (RCUD)	Giảm một dòng duy nhất hoặc hai dòng tế bào máu ngoại vi	Chứng loạn sản $\geq 10\%$ của 1 dòng tế bào, $< 5\%$ nguyên bào
Thiếu máu dai dẳng tăng nguyên hồng cầu sắt vòng (RARS)	Bệnh thiếu máu, không có nguyên bào	$\geq 15\%$ của tế bào tiền thân hồng cầu có tăng nguyên hồng cầu sắt vòng, chỉ chứng loạn sản hồng cầu, $< 5\%$ nguyên bào
Giảm tế bào dai dẳng có rối loạn nhiều dòng tế bào	Giảm sút tế bào hồng huyết cầu, $< 1 \times 10^9/L$ bạch cầu đơn nhân	Chứng loạn sản $\geq 10\%$ các tế bào ở ≥ 2 các dòng tế bào tạo huyết, $\pm 15\%$ nguyên hồng cầu sắt vòng, $< 5\%$ nguyên bào
Thiếu máu dai dẳng có tăng quá mức tế bào non (blast)-1 (RAEB-1)	Giảm sút tế bào hồng huyết cầu, $\leq 2\%$ đến 4% nguyên bào, $< 1 \times 10^9/L$ bạch cầu đơn nhân	Chứng loạn sản đơn dòng hoặc nhiều dòng tế bào, Không có tế bào que Auer, 5% đến 9% nguyên bào
Thiếu máu dai dẳng có tăng quá mức tế bào non (blast)-2 (RAEB-2)	Giảm sút tế bào hồng huyết cầu, $\leq 5\%$ đến 19% nguyên bào, $< 1 \times 10^9/L$ bạch cầu đơn nhân	Chứng loạn sản đơn dòng hoặc nhiều dòng tế bào, $\pm$ Tế bào que Auer, 10% đến 19% nguyên bào
Hội chứng rối loạn sinh tủy, chưa được xếp loại (MDS-U)	Giảm sút tế bào hồng huyết cầu	Chứng loạn sản đơn dòng hoặc không có chứng loạn sản nhưng có di truyền học tế bào MDS đặc trưng, $< 5\%$ nguyên bào

Kiểu phân nhóm phụ	Thể bệnh máu	Các yếu tố về tủy xương
MDS liên quan đến del(5q) đã cô lập	Bệnh thiếu máu, tiểu huyết cầu bình thường hoặc tăng	Tạo hồng cầu đơn dòng tế bào. Del(5q) được cô lập, < 5% nguyên bào

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là giảm tế bào dai đẳng loạn sản đơn dòng (RCUD).

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là thiếu máu dai đẳng tăng nguyên hồng cầu sắt vòng (RARS).

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là giảm tế bào dai đẳng có rối loạn nhiều dòng tế bào.

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là thiếu máu dai đẳng có tăng quá mức tế bào non (blast)-1 (RAEB-1).

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là thiếu máu dai đẳng có tăng quá mức tế bào non (blast)-2 (RAEB-2).

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là hội chứng rối loạn sinh tủy, chưa được xếp loại (MDS-U).

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy là hội chứng rối loạn sinh tủy liên quan đến del(5q) đã cô lập.

Theo một số phương án, hội chứng rối loạn sinh tủy kháng lại các tác nhân kích thích tạo hồng cầu.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị bệnh vảy nến hoặc các rối loạn da khác bằng cách dùng dạng bào chế khu trú chứa hợp chất theo sáng chế.

Theo một số phương án, các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể được sử dụng để điều trị chứng tăng huyết áp động mạch phổi.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị tác dụng phụ ngoài da của các dược phẩm khác bằng cách sử dụng hợp chất theo sáng chế. Ví dụ như, rất nhiều tác nhân dược phẩm dẫn đến các phản ứng dị ứng không mong muốn mà có thể biểu hiện ở dạng

phát ban dạng mụn trứng cá hoặc bệnh viêm da có liên quan. Các tác nhân được phẩm minh họa mà có các tác dụng không mong muốn như vậy bao gồm các loại thuốc chống ung thư như gefitinib, xetuximab, erlotinib, và các loại thuốc tương tự. Các hợp chất theo sáng chế có thể được cấp toàn thân hoặc khu trú (ví dụ như, tập trung vào vùng lân cận bị viêm da) ở dạng kết hợp với (ví dụ như, cùng lúc hoặc theo thứ tự kế tiếp) tác nhân được phẩm có tác dụng phụ da liễu không mong muốn. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được cấp khu trú cùng với một hoặc nhiều được phẩm khác, trong đó các được phẩm khác khi được bôi khu trú không có mặt hợp chất theo sáng chế dẫn đến viêm da tiếp xúc, mẫn cảm do tiếp xúc dị ứng, hoặc rối loạn da tương tự. Do đó, các chế phẩm của sáng chế bao gồm các dạng bào chế dùng khu trú chứa hợp chất theo sáng chế và tác nhân được phẩm khác nữa mà có thể dẫn đến viêm da, các rối loạn da, hoặc các tác dụng phụ liên quan.

Các bệnh liên quan đến JAK khác nữa bao gồm viêm và các bệnh do viêm. Các bệnh do viêm minh họa bao gồm bệnh sarcoid, các bệnh viêm mắt (*ví dụ như*, viêm mống mắt, viêm màng mạch nhỏ, viêm củng mạc, bệnh viêm màng kết, hoặc bệnh liên quan), các bệnh viêm của đường hô hấp (*ví dụ như*, đường hô hấp trên bao gồm mũi và xoang như viêm mũi hoặc viêm xoang hoặc đường hô hấp dưới bao gồm bệnh viêm cuống phổi, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, và bệnh khác tương tự), bệnh cơ do viêm như bệnh viêm cơ tim, và các bệnh viêm khác. Theo một số phương án, bệnh viêm của mắt là bệnh viêm mí mắt.

Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị các chấn thương thiếu máu cục bộ-tái tưới máu hoặc bệnh hoặc tình trạng liên quan đến trường hợp viêm thiếu máu cục bộ như đột quỵ hoặc ngừng tim. Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị tình trạng bệnh dẫn truyền endotoxin (ví dụ như, các biến chứng sau khi phẫu thuật bắc cầu hoặc các tình trạng nội độc tố mãn tính góp phần gây suy tim mãn tính). Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị chứng chán ăn, chứng suy mòn, hoặc mệt mỏi như là các chứng bệnh do hoặc liên quan đến bệnh ung thư. Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị chứng tái hẹp, bệnh viêm cứng bì, hoặc chứng xơ hóa. Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị các tình trạng liên quan đến sự giảm oxy-huyết hoặc mô tế bào hình sao như, ví dụ như, vồng mạc tiểu đường, bệnh ung thư, hoặc thoái hóa thần kinh. Xem, ví dụ như,

Dudley, A.C. et al. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 và Sriram, K. et al. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 02/03/2004, cả hai tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn. Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể được sử dụng để điều trị bệnh Alzheimer.

Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị các bệnh viêm khác như hội chứng đáp ứng viêm toàn thân (SIRS) và sốc nhiễm trùng.

Các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị bệnh gút và tăng kích cỡ tuyến tiền liệt do, ví dụ như, phì đại tuyến tiền liệt lành tính hoặc u xơ tiền liệt tuyến.

Các bệnh liên quan đến JAK khác nữa bao gồm các bệnh tiêu xương như chứng loãng xương, viêm xương khớp. Bệnh tiêu xương cũng có thể là liên quan đến các tình trạng khác như mất cân bằng hormon và/hoặc liệu pháp hormon, bệnh tự miễn (ví dụ như bệnh sarcoid xương), hoặc bệnh ung thư (ví dụ như u tủy). Mức giảm của bệnh tiêu xương do các chất ức chế JAK có thể là khoảng 10%, khoảng 20%, khoảng 30%, khoảng 40%, khoảng 50%, khoảng 60%, khoảng 70%, khoảng 80%, hoặc khoảng 90%.

Theo một số phương án, các chất ức chế JAK được mô tả ở đây có thể còn được sử dụng để điều trị rối loạn mắt khô. Như được sử dụng ở đây, “rối loạn mắt khô” nhằm mục đích bao gồm các trạng thái bệnh được tóm tắt trong một báo cáo chính thức gần đây tại Hội thảo về bệnh Khô mắt (Dry Eye Workshop - DEWS), trong đó đã định nghĩa bệnh khô mắt là “một bệnh đa yếu tố do những giọt nước mắt và bề mặt nhãn cầu mà dẫn đến các triệu chứng khó chịu, rối loạn thị giác, và không ổn định màng nước mắt kèm theo sự tổn hại tiềm tàng có thể xảy ra với bề mặt nhãn cầu. Bệnh khô mắt được đi kèm với sự tăng độ thấm thấu của màng nước mắt và tình trạng viêm bề mặt nhãn cầu.” Lemp, “Định nghĩa và Phân loại Bệnh Khô mắt: Báo cáo của Tiểu ban Định nghĩa và Phân loại thuộc Hội thảo về Bệnh khô mắt quốc tế”, *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 Tháng Tư, 2007, toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, rối loạn mắt khô được chọn từ mắt khô do thiếu hụt lượng dịch nước mắt (ADDE) hoặc rối loạn mắt khô do nước mắt bay hơi, hoặc các dạng kết hợp thích hợp của các tình trạng này. Theo một số phương án, rối loạn mắt khô là dạng khô mắt hội chứng Sjogren (SSDE). Theo một số phương án, rối loạn mắt khô không phải dạng khô mắt hội chứng Sjogren (NSSDE).

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh viêm màng kết, viêm màng mạch nhỏ (bao gồm viêm màng mạch nhỏ mãn tính), viêm màng mạch, viêm võng mạc, viêm thể mi, viêm màng cứng, viêm thượng củng mạc, hoặc viêm móng mắt; điều trị tình trạng viêm hoặc đau liên quan đến ghép giác mạc, LASIK (bào mòn giác mạc bằng laze), cắt giác mạc chiết quang, hoặc LASEK (gọt giác mạc dưới lớp biểu mô bằng laze); ức chế sự mất thị lực liên quan đến ghép giác mạc, LASIK, cắt giác mạc chiết quang, hoặc LASEK; hoặc ức chế tình trạng thải ghép cơ quan ở bệnh nhân có nhu cầu cần điều trị, bao gồm bước cấp cho bệnh nhân một lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế, hoặc ở dạng kết hợp với các chất ức chế JAK khác, như các chất được báo cáo trong Đơn Patent Mỹ số seri 11/637,545, toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn, có thể được sử dụng để điều trị rối loạn chức năng hô hấp hoặc sự suy yếu liên quan đến nhiễm virus, như bệnh cúm và bệnh SARS.

Theo một số phương án, sáng chế mô tả hợp chất có Công thức I, muối dược dụng của nó, như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án ở tài liệu này, để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn bất kỳ được mô tả ở đây. Theo một số phương án, sáng chế mô tả cách sử dụng hợp chất có Công thức I như được mô tả theo phương án bất kỳ trong số các phương án ở tài liệu này, để bào chế được phẩm dùng trong phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn bất kỳ được mô tả ở đây.

Theo một số phương án, sáng chế mô tả hợp chất có Công thức I như được mô tả ở đây, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong phương pháp điều biến JAK1. Theo một số phương án, sáng chế cũng mô tả cách sử dụng hợp chất có Công thức I như được mô tả ở đây, hoặc muối dược dụng của nó, để bào chế được phẩm dùng trong phương pháp điều biến JAK1.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “cho tiếp xúc” dùng để chỉ mang các gốc đã được chỉ định lại với nhau trong hệ *in vitro* hoặc hệ *in vivo*. Ví dụ như, “cho tiếp xúc” JAK với hợp chất theo sáng chế bao gồm bước cấp hợp chất theo sáng chế cho một đối tượng hoặc bệnh nhân, như con người, có JAK, cũng như, ví dụ, đưa hợp chất theo sáng chế vào trong một mẫu chứa chế phẩm tế bào hoặc chế phẩm tinh chế chứa JAK.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” hoặc “bệnh nhân,” có thể được sử dụng hoán đổi lẫn nhau, dùng để chỉ loài động vật bất kỳ, bao gồm động vật có vú,

tốt hơn là chuột nhắt, chuột đồng, các loài động vật gặm nhấm khác, thỏ, chó, mèo, lợn, bò, cừu, ngựa, hoặc bộ động vật linh trưởng, và tốt nhất là con người.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ “lượng hữu hiệu điều trị” dùng để chỉ lượng hợp chất hoạt tính hoặc tác nhân được phẩm mà biểu hiện đáp ứng sinh học hoặc y học đang được tìm thấy ở mô, cơ thể, động vật, cá thể hoặc con người bởi một nhà nghiên cứu, bác sĩ thú y, dược sĩ hoặc bác sĩ lâm sàng khác. Theo một số phương án, lượng hữu hiệu điều trị này là khoảng 5 mg đến khoảng 1000 mg, hoặc khoảng 10 mg đến khoảng 500 mg.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị” hoặc “cách điều trị” dùng để chỉ một hoặc nhiều mục đích bao gồm (1) ngăn ngừa bệnh; ví dụ như, ngăn ngừa bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở một đối tượng có thể dễ mắc phải bệnh, tình trạng hoặc rối loạn nhưng vẫn chưa trải qua trạng thái bệnh đó hoặc biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh; (2) ức chế bệnh; ví dụ như, ức chế bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở một đối tượng đang trải qua hoặc đang biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, kìm hãm sự tiến triển thêm nữa của bệnh lý và/hoặc triệu chứng học); và (3) cải thiện bệnh; ví dụ như, cải thiện bệnh, tình trạng hoặc rối loạn ở một đối tượng đang trải qua hoặc đang biểu hiện bệnh lý hoặc triệu chứng của bệnh, tình trạng hoặc rối loạn (tức là, đảo ngược bệnh lý và/hoặc triệu chứng học) như làm giảm mức độ nghiêm trọng của bệnh.

Các liệu pháp kết hợp

Các phương pháp được mô tả ở đây có thể còn bao gồm thêm bước cấp một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung. Một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung có thể được cấp cho bệnh nhân cùng lúc hoặc theo thứ tự kế tiếp.

Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm thêm bước cấp tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ các IMiD, chất kháng IL-6, chất kháng TNF- α , chất hypomethyl hóa, và chất điều biến đáp ứng sinh học (BRM).

Nhìn chung, BRM là chất được sản xuất từ các sinh vật sống để điều trị bệnh, mà có thể một cách tự nhiên trong cơ thể hoặc được điều chế trong phòng thí nghiệm. Các ví dụ về các BRM bao gồm IL-2, interferon, nhiều loại yếu tố kích thích dòng khác nhau (CSF, GM-CSF, G-CSF), các kháng thể đơn dòng như abciximab, etanercept, infliximab, rituximab, trastuzumab, và ascorbat liều lượng cao.

Theo một số phương án, chất kháng TNF- α là infliximab, và etanercept.

Theo một số phương án, chất hypomethyl hóa là chất ức chế ADN methyltransferaza. Theo một số phương án, chất ức chế ADN methyltransferaza được chọn từ 5 azaxytidin và dexitabin.

Nhìn chung, các IMiD là ở dạng các chất điều hòa miễn dịch. Theo một số phương án, IMiD được chọn từ thalidomit, lenalidomit, pomalidomit, CC-11006, và CC-10015.

Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm thêm bước cấp tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ globulin kháng thymoxyt (tế bào tuyến ức), yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt của người tái tổ hợp (G CSF), bạch cầu hạt - bạch cầu đơn nhân CSF (GM-CSF), tác nhân kích thích tạo hồng cầu (ESA), và xyclosporin.

Theo một số phương án, phương pháp còn bao gồm thêm bước cấp chất ức chế JAK bổ sung cho bệnh nhân. Theo một số phương án, chất ức chế JAK bổ sung này là tofacitinib hoặc ruxolitinib.

Một hoặc nhiều tác nhân được phẩm bổ sung như, ví dụ như, các chất hóa trị liệu, các chất chống viêm, steroid, các chất ức chế miễn dịch, cũng như các các chất ức chế PI3K δ , mTor, Bcr-Abl, Flt-3, RAF và FAK kinaza như, ví dụ như, các chất được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO 2006/056399, toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn, hoặc các chất khác có thể được sử dụng ở dạng kết hợp với các hợp chất được mô tả ở đây để điều trị các bệnh liên quan đến JAK, các rối loạn hoặc các tình trạng. Một hoặc nhiều tác nhân được phẩm bổ sung có thể được cấp cho bệnh nhân cùng lúc hoặc theo thứ tự kế tiếp.

Các chất hóa trị liệu minh họa bao gồm các chất ức chế proteosom (*ví dụ như*, bortezomib), thalidomit, revlimid, và các chất gây hại cho ADN như melphalan, doxorubixin, xyclophosphamit, vincristin, etoposit, carmustin, và các chất tương tự.

Steroid minh họa bao gồm corticosteroid như dexametason hoặc prednison.

Các chất ức chế Bcr-Abl minh họa bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của nó, thuộc giống và loài được bộc lộ trong Đơn Patent Mỹ số 5,521,184, Công bố đơn quốc tế số WO 04/005281, và Đơn Patent Mỹ số seri 60/578,491, tất cả các tài liệu này toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các chất ức chế Flt-3 phù hợp minh họa bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 03/037347, WO 03/099771, và WO 04/046120, tất cả các tài liệu này toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Các chất ức chế RAF phù hợp minh họa bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 00/09495 và WO 05/028444, cả hai tài liệu này được đưa toàn bộ vào đây bằng cách viện dẫn.

Các chất ức chế FAK phù hợp minh họa bao gồm các hợp chất, và các muối được dụng của chúng, như được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595, và WO 01/014402, tất cả các tài liệu này toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, một hoặc nhiều trong số các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều chất ức chế kinaza khác bao gồm imatinib, đặc biệt là trong việc điều trị cho các bệnh nhân kháng imatinib hoặc chất ức chế kinaza khác.

Theo một số phương án, chất hóa trị liệu phù hợp có thể được chọn từ các chất chống chuyển hóa, các chất ức chế topoisomeraza 1, chất tương tự platin, các taxan, các anthracyclin, và các chất ức chế EGFR, và các dạng kết hợp của chúng.

Theo một số phương án, các chất chống chuyển hóa bao gồm capecitabin, gemcitabin, và fluoraxil (5-FU).

Theo một số phương án, các taxan bao gồm paclitaxel, Abraxane® (các hạt liên kết protein paclitaxel dùng cho hỗn dịch tiêm), và Taxotere® (docetaxel).

Theo một số phương án, chất tương tự platin bao gồm oxaliplatin, xisplatin, và carboplatin.

Theo một số phương án, các chất ức chế topoisomeraza 1 bao gồm irinotecan và topotecan.

Theo một số phương án, các anthracyclin bao gồm doxorubicin hoặc các dạng bào chế liposom của doxorubicin.

Theo một số phương án, chất hóa trị liệu là FOLFIRINOX (5-FU, lecovorin, irinotecan và oxaliplatin). Theo một số phương án, chất hóa trị liệu là gemxitabin và Abraxane® (các hạt liên kết protein paclitaxel dùng cho hỗn dịch tiêm).

Theo một số phương án, một hoặc nhiều chất ức chế JAK theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng kết hợp với chất hóa trị liệu trong việc điều trị bệnh ung thư, như đa u tủy, và có thể cải thiện mức đáp ứng điều trị so với mức đáp ứng khi dùng chất hóa trị liệu một mình, mà không làm tăng thêm các tác dụng độc hại của thuốc. Các ví dụ về tác nhân được phẩm bổ sung được sử dụng trong việc điều trị bệnh đa u tủy, ví dụ như, có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, melphalan, melphalan cộng với prednison [MP], doxorubixin, dexametason, và Velcade (bortezomib). Các tác nhân bổ sung thêm nữa được sử dụng trong việc điều trị bệnh đa u tủy bao gồm các chất ức chế Bcr-Abl, Flt-3, RAF và FAK kinaza. Các hiệu ứng cộng hoặc hiệu ứng đồng vận là những kết quả mong đợi của việc kết hợp chất ức chế JAK theo sáng chế với một chất bổ sung. Hơn nữa, khả năng kháng các tế bào đa u tủy đối với các tác nhân như dexametason có thể hồi phục khi điều trị bằng chất ức chế JAK theo sáng chế. Các tác nhân này có thể được kết hợp với các hợp chất theo sáng chế ở dạng liều lượng đơn hoặc liên tục, hoặc các chất này có thể được cấp cùng lúc hoặc theo thứ tự kế tiếp dưới các dạng liều lượng riêng biệt.

Theo một số phương án, corticosteroid như dexametason được cấp cho bệnh nhân ở dạng kết hợp với ít nhất một chất ức chế JAK trong đó dexametason được cấp theo kiểu gián đoạn chứ không phải liên tục.

Theo một số phương án khác nữa, các dạng kết hợp của một hoặc nhiều chất ức chế JAK theo sáng chế với các tác nhân trị liệu khác có thể được cấp cho bệnh nhân trước khi, trong khi, và/hoặc sau khi cấy ghép tủy xương hoặc cấy ghép tế bào gốc.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là fluoxinolon axetonit (Retisert®), hoặc rimexolon (AL-2178, Vexol, Alcon).

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là cyclosporin (Restasis®).

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là corticosteroid. Theo một số phương án, corticosteroid là triamxinolon, dexametason, fluoxinolon, cortison, prednisolon, hoặc flumetholon.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ Dehydrex™ (Holles Labs), Civamit (Opko), natri hyaluronat (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), xyclosporin (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosteron, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), ecabet natri (Senju-Ista), gefarnat (Santen), axit 15-(s)-hydroxyeicosatetraenoic (15(S)-HETE), xevilemin, doxyxycyclin (ALTY-0501, Alacrity), minoxycyclin, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), xyclosporin A (Nova22007, Novagali), oxytetraxycyclin (Duramycin, MOL1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihydroxy-5-[6-[(3-iotphenyl)metylamino]purin-9-yl]-N-metyloxolan-2-carbamyl, Can-Fite Biopharma), voclosporin (LX212 hoặc LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (chất tương tự resolvin tổng hợp, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazon (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophtalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritin (Senju), rebamipit (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (Đại học Pennsylvania và Đại học Temple), pilocarpin, tacrolimus, pimecrolimus (AMS981, Novartis), loteprednol etabonat, rituximab, diquafosol tetranatri (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), dehydroepiandrosteron, anakinra, efalizumab, mycophenolat natri, etanercept (Embrel®), hydroxycloquin, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemxitabin, oxaliplatin, L-asparaginaza, hoặc thalidomit.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là tác nhân chống tạo mạch, chất chủ vận tiết axetylcholin, chất điều biến thụ thể TRP-1, chất phong bế kênh canxi, chất kích thích bài tiết dịch nhầy, chất kích thích MUC1, chất ức chế calcineurin, corticosteroid, chất chủ vận thụ thể P2Y2, chất chủ vận thụ thể muscarinic, chất ức chế mTOR, chất ức chế JAK khác, chất ức chế Bcr-Abl kinaza, chất ức chế Flt-3 kinaza, chất ức chế RAF kinaza, và chất ức chế FAK kinaza như, ví dụ như, các chất ức chế được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO 2006/056399, toàn bộ được đưa vào đây bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là dẫn xuất của tetraxycyclin (ví dụ như, minoxycyclin hoặc doxycyclin). Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung gắn kết với FKBP12.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là tác nhân alkyl hóa hoặc tác nhân tạo liên kết ngang ADN; tác nhân kháng chất chuyển hóa/khử methyl (ví dụ như, 5-flouraxil, capecitabin hoặc azacitidin); liệu pháp kháng hormon (ví dụ như, các chất đối kháng thụ thể hormon, các SERM (chất điều biến đặc hiệu thụ thể estrogen), hoặc chất

ức chế aromataza); chất ức chế nguyên phân (ví dụ như vincristin hoặc paclitaxel); chất ức chế topoisomeraza (I hoặc II) (ví dụ như mitoxantron và irinotecan); các chất gây cái chết của tế bào theo chương trình (ví dụ như ABT-737); liệu pháp axit nucleic (ví dụ như các antisense hoặc ARNi); các phối tử thụ thể hạt nhân (ví dụ như, các chất chủ vận và/hoặc các chất đối kháng: tất cả-trans axit retinoic hoặc bexaroten); các chất nhắm đích biểu sinh như các chất ức chế histon deacetylaza (ví dụ như vorinostat), các chất hypomethyl hóa (ví dụ như dexamethasone); các chất điều hòa tính ổn định của protein như các chất ức chế Hsp90, các phân tử liên hợp hoặc khử liên hợp như ubiquitin và/hoặc ubiquitin; hoặc chất ức chế EGFR (erlotinib).

Theo một số phương án, (các) tác nhân trị liệu bổ sung là các loại thuốc nhỏ mắt làm giảm đau (còn được gọi là “nước mắt nhân tạo”), mà bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các chế phẩm chứa rượu polyvinyl, hydroxypropyl methylxenluloza, glycerin, polyetylen glycol (ví dụ như PEG400), hoặc carboxymethyl xenluloza. Nước mắt nhân tạo có thể hỗ trợ trong việc điều trị bệnh mắt khô bằng cách điều tiết dung tích làm ẩm và bôi trơn đang bị giảm của màng nước mắt. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung là thuốc tiêu nhầy, như N-acetyl-cysteine, mà có thể tương tác với các mucoprotein và, vì vậy, làm giảm độ nhớt của màng nước mắt.

Theo một số phương án, tác nhân trị liệu bổ sung bao gồm thuốc kháng sinh, thuốc kháng virus, thuốc kháng nấm, thuốc gây mê, các chất chống viêm bao gồm các chất chống viêm loại steroid và không phải loại steroid, và các chất chống dị ứng. Các ví dụ về các loại thuốc phù hợp bao gồm các aminoglycosit như amikacin, gentamycin, tobramycin, streptomycin, netilmycin, và kanamycin; các floquinolon như ciprofloxacin, norfloxacin, ofloxacin, trovafloxacin, lomefloxacin, levofloxacin, và enoxacin; naphthylidine; các sulfonamid; polymyxin; chloramphenicol; neomycin; paramomycin; colistimethate; bacitracin; vancomycin; các tetracyclin; rifampin và các dẫn xuất của nó (các “rifampin”); cycloserin; các beta-lactam; các cephalosporin; amphotericin; fluconazole; flucytosine; natamycin; miconazole; ketoconazole; corticosteroid; diclofenac; flurbiprofen; ketorolac; suprofen; cromolyn; lodoxamine; levocabastin; naphazoline; antazolin; pheniramine; hoặc thuốc kháng sinh azalid.

Các dạng bào chế dược phẩm và các dạng liều lượng

Khi được sử dụng làm dược phẩm, các hợp chất theo sáng chế có thể được cấp ở dạng các chế phẩm dược. Các chế phẩm này có thể được bào chế theo cách đã biết rõ trong lĩnh vực dược phẩm, và có thể được cấp theo nhiều đường dùng khác nhau, phụ thuộc vào mục đích mong đợi là điều trị khu trú hoặc toàn thân và vào vùng cần điều trị. Phương thức sử dụng có thể là dùng khu trú (bao gồm thẩm thấu qua da, biểu bì, trong mắt và qua màng nhầy niêm mạc bao gồm cấp qua mũi, trong âm đạo và trực tràng), qua phổi (ví dụ, bằng cách xông hít hoặc bơm các chất bột hoặc các sol khí, bao gồm cách dùng qua ống phun; trong khí quản hoặc trong mũi), dùng qua đường uống hoặc đường ngoài tiêu hóa. Phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dùng trong tĩnh mạch, trong động mạch, dưới da, trong phúc mạc, trong cơ hoặc tiêm hoặc truyền; hoặc trong sọ, ví dụ, dùng trong tủy mạc hoặc trong tâm thất. Phương thức dùng ngoài đường tiêu hóa có thể là ở dạng liều bolus duy nhất, hoặc có thể, ví dụ, bằng bơm truyền dịch liên tục. Các chế phẩm dược và các dạng bào chế để dùng khu trú có thể bao gồm các miếng dán, các loại thuốc mỡ, các loại nước rửa, các loại kem bôi, các loại gel, các loại thuốc nhỏ giọt, các loại thuốc đạn, các loại thuốc phun, các loại thuốc dạng lỏng và các loại thuốc dạng bột. Các chất mang dược phẩm thông thường, các chất nền dạng nước, dạng bột hoặc dạng dầu, các chất làm đặc và chất tương tự có thể là cần thiết hoặc mong muốn.

Sáng chế cũng bao gồm các chế phẩm dược mà chứa, dưới dạng hoạt chất, hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó, kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng (các tá dược). Theo một số phương án, chế phẩm này thích hợp để dùng khu trú. Trong quá trình bào chế các chế phẩm theo sáng chế, hoạt chất này thường được trộn với tá dược, được pha với tá dược hoặc được chứa trong một chất mang ở dạng, ví dụ, viên nang, bao nhỏ, gói giấy, hoặc loại vật chứa khác. Khi dùng tá dược làm chất hòa tan, thì tá dược này có thể là chất rắn, chất bán rắn, hoặc chất lỏng, mà hoạt động với vai trò là chất dẫn thuốc, chất mang hoặc môi trường cho hoạt chất này. Vì vậy, các chế phẩm này có thể là ở dạng các viên nén, viên tròn, dạng bột, viên ngậm, các bao nhỏ, viên con nhộng, cốm ngọt, hỗn dịch, nhũ dịch, dung dịch, sirô, thuốc phun (ở dạng rắn hoặc trong môi trường lỏng), các loại thuốc mỡ chứa, ví dụ, tối đa 10% theo khối lượng của hợp chất hoạt tính, các viên nang gelatin dạng mềm và cứng, các loại thuốc đạn, các dung dịch tiêm vô trùng, và các loại thuốc dạng bột đóng gói vô trùng.

Khi điều chế một dạng bào chế, hợp chất hoạt tính này có thể được nghiền để đạt cỡ các hạt thích hợp trước khi kết hợp với các thành phần khác. Nếu hợp chất hoạt tính về cơ bản là không hòa tan được, thì có thể nghiền hợp chất này đến khi đạt cỡ hạt nhỏ hơn 200 mesh. Nếu hợp chất hoạt tính về cơ bản là tan được trong nước, thì cỡ hạt có thể được điều chỉnh bằng cách nghiền để đạt được độ phân bố về cơ bản là đồng nhất trong dạng bào chế, ví dụ khoảng 40 mesh.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được nghiền bằng cách sử dụng các quy trình nghiền đã biết như nghiền ướt để đạt được cỡ hạt thích hợp cho dạng bào chế viên nén và cho các dạng bào chế khác. Các dạng chế phẩm được phân chia mịn (hạt nano) từ các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế bởi các quá trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ, xem Công bố Đơn quốc tế số WO 2002/000196.

Một số ví dụ về các tá dược thích hợp bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, tinh bột, nhựa cây keo, canxi phosphat, các anginat, nhựa tragacan, gelatin, canxi silicat, xenluloza vi tinh thể, polyvinylpyrrolidon, xenluloza, nước, sirô, và metyl xenluloza. Các dạng bào chế này có thể còn bao gồm: các chất bôi trơn như là bột tan, magiê stearat, và dầu khoáng; các chất thấm ướt; các chất nhũ hóa và các chất huyền phù; các chất bảo quản như là các chất metyl- và propylhydroxy-benzoat; các chất tạo ngọt; và các chất tạo hương vị. Các chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để mang lại khả năng phóng thích nhanh, phóng thích kéo dài hoặc phóng thích chậm hoạt chất này sau khi cấp cho bệnh nhân bằng cách sử dụng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, chế phẩm được bao gồm xenluloza vi tinh thể đã silic hóa (silicified microcrystalline cellulose - SMCC) và ít nhất một hợp chất được mô tả trong tài liệu này, hoặc muối được dụng của nó. Theo một số phương án, xenluloza vi tinh thể đã silic hóa này bao gồm khoảng 98% xenluloza vi tinh thể và khoảng 2% silic dioxid khối lượng/khối lượng.

Theo một số phương án, chế phẩm là loại chế phẩm phóng thích kéo dài bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong tài liệu này, hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một chất mang được dụng. Theo một số phương án, chế phẩm bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong tài liệu này, hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một thành phần được chọn từ xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat, hydroxypropyl

metylxenluloza, và polyetylen oxit. Theo một số phương án, chế phẩm này bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong tài liệu này, hoặc muối được dụng của nó, và xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat, và hydroxypropyl metylxenluloza. Theo một số phương án, chế phẩm bao gồm ít nhất một hợp chất được mô tả trong tài liệu này, hoặc muối được dụng của nó, và xenluloza vi tinh thể, lactoza monohydrat, và polyetylen oxit. Theo một số phương án, chế phẩm còn bao gồm magiê stearat hoặc silic dioxit. Theo một số phương án, xenluloza vi tinh thể này là Avicel PH102™. Theo một số phương án, lactoza monohydrat là Fast-flo 316™. Theo một số phương án, hydroxypropyl metylxenluloza là hydroxypropyl metylxenluloza 2208 K4M (ví dụ, Methocel K4 M Premier™) và/hoặc hydroxypropyl metylxenluloza 2208 K100LV (ví dụ, Methocel K00LV™). Theo một số phương án, polyetylen oxit là polyetylen oxit WSR 1105 (ví dụ, Polyox WSR 1105™).

Theo một số phương án, quá trình tạo viên ẩm được sử dụng để sản xuất chế phẩm này. Theo một số phương án, quá trình tạo viên khô được sử dụng để sản xuất chế phẩm này.

Những chế phẩm này có thể được bào chế dưới dạng liều lượng đơn vị, mỗi liều lượng chứa từ khoảng 1 đến khoảng 1000 mg, từ khoảng 1 mg đến khoảng 100 mg, từ 1 mg đến khoảng 50 mg, và từ khoảng 1 mg tới 10 mg hoạt chất. Tốt hơn là, liều lượng từ khoảng 1 mg đến khoảng 50 mg hoặc khoảng 1 mg đến khoảng 10 mg hoạt chất. Theo một số phương án, mỗi liều lượng bao gồm khoảng 10 mg hoạt chất. Theo một số phương án, mỗi liều lượng bao gồm khoảng 50 mg hoạt chất. Theo một số phương án, mỗi liều lượng bao gồm khoảng 25 mg hoạt chất. Thuật ngữ "các dạng liều lượng đơn vị" dùng để chỉ các đơn vị vật lý rời rạc thích hợp dùng làm các liều đơn nhất cho các đối tượng là con người và các loài động vật có vú khác, mỗi đơn vị chứa một lượng định trước hợp chất hoạt tính đã được tính để mang lại hiệu quả trị liệu mong muốn, kết hợp với một loại tá được thích hợp.

Theo một số phương án, các chế phẩm này bao gồm từ khoảng 1 đến khoảng 1000 mg, từ khoảng 1 mg đến khoảng 100 mg, từ 1 mg đến khoảng 50 mg, và từ khoảng 1 mg tới 10 mg hoạt chất. Tốt hơn nếu, các chế phẩm này bao gồm từ khoảng 1 mg đến khoảng 50 mg hoặc khoảng 1 mg đến khoảng 10 mg hoạt chất. Một người trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ đánh giá được rằng các hợp chất hoặc các chế phẩm

chứa khoảng 1 mg đến khoảng 10 mg, khoảng 1 mg đến khoảng 20 mg, khoảng 1 mg đến khoảng 25 mg, khoảng 1 mg đến khoảng 50 mg hoạt chất.

Hợp chất hoạt tính này có thể hiệu quả trên một khoảng liều lượng rộng và thông thường được dùng với lượng hữu hiệu được lý. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng lượng hợp chất thực tế được dùng thông thường sẽ được xác định bởi bác sỹ, theo các trường hợp liên quan, bao gồm tình trạng cần điều trị, đường dùng thuốc được chọn, hợp chất thực tế được dùng, tuổi tác, thể trọng, và đáp ứng của từng bệnh nhân, tính nghiêm trọng của các triệu chứng ở bệnh nhân, và yếu tố tương tự.

Để bào chế các chế phẩm dạng rắn như các viên nén, hoạt chất chính được trộn với tá dược để tạo thành chế phẩm bào chế sơ bộ dạng rắn chứa hỗn hợp đồng nhất của hợp chất theo sáng chế. Khi đề cập đến các chế phẩm bào chế sơ bộ này ở dạng đồng nhất, hoạt chất thường được phân tán đều khắp chế phẩm để chế phẩm có thể được phân chia dễ dàng thành các dạng liều lượng đơn vị hiệu quả như nhau như viên nén, viên tròn và viên nang. Sau đó, chế phẩm bào chế sơ bộ dạng rắn này được chia thành các dạng liều lượng đơn vị của dạng chế phẩm được mô tả ở trên chứa từ, ví dụ, khoảng 0,1 đến khoảng 1000 mg hoạt chất theo sáng chế.

Các dạng viên nén hoặc viên tròn theo sáng chế có thể được bao hoặc theo cách khác được trộn để tạo thành dạng liều lượng đem lại lợi ích tác dụng kéo dài. Ví dụ, viên nén hoặc viên tròn có thể bao gồm thành phần liều lượng bên trong và liều lượng bên ngoài, thành phần liều lượng bên ngoài ở dạng vỏ bao toàn bộ thành phần liều lượng bên trong. Hai thành phần này có thể được phân tách bởi lớp ruột dùng để chống lại sự phân rã trong dạ dày và cho phép thành phần liều lượng bên trong đi qua nguyên vẹn vào trong tá tràng hoặc để làm chậm quá trình phóng thích thuốc. Nhiều loại vật liệu khác nhau có thể được sử dụng cho các lớp ruột hoặc các lớp vỏ bọc như vậy, các vật liệu này bao gồm một số axit polyme và các hỗn hợp của các axit polyme với các vật liệu như nhựa cánh kiến, rượu xetyl, và xenluloza axetat.

Các chế phẩm dạng lỏng trong đó các hợp chất và các chế phẩm theo sáng chế có thể được dùng kết hợp qua đường uống hoặc đường tiêm bao gồm các dung dịch nước, các dạng sirô có hương vị thích hợp, các hỗn dịch dạng nước hoặc dầu, và các nhũ dịch được tạo hương cùng với các loại dầu thực phẩm như dầu hạt bông, dầu vừng, dầu dừa, hoặc dầu lạc, cũng như cồn ngọt và các chất dẫn được phẩm tương tự.

Các chế phẩm dùng để xông hít hoặc bơm bao gồm các dạng dung dịch và các hỗn dịch trong các dung môi hữu cơ hoặc nước, được dụng, hoặc các hỗn hợp của chúng, và các loại chế phẩm dạng bột. Các chế phẩm dạng lỏng hoặc rắn có thể chứa các tá dược được dụng thích hợp như được mô tả ở trên. Theo một số phương án, những chế phẩm này được dùng qua đường uống hoặc đường hô hấp qua mũi mang lại tác dụng khu trú hoặc toàn thân. Các chế phẩm có thể được phun bằng cách dùng các khí trơ. Các dung dịch được phun có thể được hít trực tiếp từ dụng cụ tạo khí dung hoặc dụng cụ tạo khí dung có thể được gắn vào nút gạc của mặt nạ, hoặc máy thở áp lực cưỡng bức gián đoạn. Các chế phẩm dạng dung dịch, hỗn dịch, hoặc dạng bột có thể được dùng qua đường uống hoặc qua đường mũi từ các dụng cụ cung cấp dạng bào chế theo cách thích hợp.

Các dạng bào chế dùng khu trú có thể bao gồm một hoặc nhiều chất mang thông thường. Theo một số phương án, các loại thuốc mỡ có thể chứa nước và một hoặc nhiều chất mang kỵ nước được chọn từ, ví dụ, parafin dạng lỏng, ête polyoxyetylen alkyl, propylen glycol, vazolin trắng, và các chất tương tự. Các chế phẩm chất mang trong các loại kem bôi có thể là trên cơ sở nước kết hợp với glyxerin và một hoặc nhiều thành phần khác, ví dụ glyxerinmonostearat, PEG-glyxerinmonostearat và cetylstearyl. Các loại gel có thể được bào chế bằng cách sử dụng rượu isopropyl và nước, kết hợp theo cách phù hợp với các thành phần khác như, ví dụ, glyxerin, hydroxyetyl xenluloza, và các chất tương tự. Theo một số phương án, các dạng bào chế dùng khu trú chứa ít nhất khoảng 0,1, ít nhất khoảng 0,25, ít nhất khoảng 0,5, ít nhất khoảng 1, ít nhất khoảng 2, hoặc ít nhất khoảng 5% theo khối lượng hợp chất theo sáng chế. Các dạng bào chế dùng khu trú này có thể được đóng gói phù hợp trong các dạng ống loại, ví dụ, 100 g mà tùy ý được kèm theo các chỉ dẫn sử dụng để điều trị dạng biểu hiện chọn lọc, ví dụ, bệnh vẩy nến hoặc tình trạng da khác.

Lượng hợp chất hoặc chế phẩm được cấp cho một bệnh nhân sẽ rất khác nhau phụ thuộc vào loại chế phẩm nào đang được dùng, mục đích của việc dùng thuốc, như mục đích phòng bệnh hoặc trị liệu, tình trạng của bệnh nhân, phương thức dùng thuốc, và các yếu tố tương tự. Trong các ứng dụng điều trị, các chế phẩm có thể được cấp cho bệnh nhân đã mắc bệnh với một lượng đủ để cứu chữa hoặc ít nhất là ngăn chặn một phần các dấu hiệu bệnh và các biến chứng của bệnh. Các liều dùng hữu hiệu sẽ phụ thuộc vào tình trạng bệnh được điều trị cũng như qua đánh giá của thầy thuốc điều trị

phụ thuộc vào các yếu tố như tính nghiêm trọng của bệnh, tuổi tác, thể trọng và tình trạng tổng thể của bệnh nhân, và các yếu tố tương tự.

Các chế phẩm được cấp cho một bệnh nhân có thể ở các dạng dược phẩm được mô tả ở trên. Những chế phẩm này có thể được vô trùng bởi các kỹ thuật vô trùng thông thường, hoặc có thể được lọc vô trùng. Các dung dịch nước có thể được đóng gói để sử dụng như, hoặc được làm đông khô, chế phẩm đông khô được kết hợp với chất mang chứa nước vô trùng trước khi sử dụng. Độ pH của các chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế thông thường sẽ nằm trong khoảng 3 đến 11, tốt hơn là từ 5 đến 9 và tốt nhất là từ 7 đến 8. Cần phải hiểu rằng việc sử dụng các tá dược, các chất mang, hoặc các chất ổn định nêu trên sẽ mang lại dạng bào chế là các muối dược phẩm.

Liều lượng điều trị của hợp chất theo sáng chế có thể khác nhau theo, ví dụ, cách sử dụng cụ thể đối với mục đích điều trị, phương thức sử dụng hợp chất, sức khỏe và tình trạng của bệnh nhân, và đánh giá của bác sĩ kê đơn. Tỷ lệ và nồng độ của hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm có thể khác nhau phụ thuộc vào một số yếu tố bao gồm liều lượng, các đặc tính hóa học (ví dụ, tính kỵ nước), và đường dùng thuốc. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được cung cấp trong dung dịch đệm sinh lý dạng nước chứa khoảng 0,1 đến khoảng 10% khối lượng/thể tích hợp chất để dùng ngoài đường tiêu hóa. Một số khoảng liều lượng thông thường là từ khoảng 1 µg/kg đến khoảng 1 g/kg thể trọng trên một ngày. Theo một số phương án, khoảng liều lượng là từ khoảng 0,01 mg/kg đến khoảng 100 mg/kg thể trọng trên một ngày. Liều lượng có thể phụ thuộc vào các biến số như kiểu và mức độ tiến triển bệnh hoặc rối loạn, tình trạng sức khỏe tổng thể của từng bệnh nhân, hiệu quả sinh học tương ứng của hợp chất được chọn, dạng bào chế của tá dược, và đường dùng thuốc. Các liều dùng hữu hiệu có thể được suy ra từ các đường cong đáp ứng liều bắt nguồn từ các hệ *in vitro* hoặc các hệ thử nghiệm mô hình động vật.

Các hợp chất theo sáng chế có thể còn bao gồm một hoặc nhiều tác nhân dược phẩm bổ sung như chất hóa trị liệu, steroid, hợp chất kháng viêm, hoặc chất ức chế miễn dịch, các ví dụ về các chất này đã được liệt kê ở phần trên.

Theo một số phương án, hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, được dùng làm chế phẩm nhãn khoa. Do đó, theo một số phương án, các phương pháp bao gồm việc sử dụng hợp chất, hoặc muối dược dụng của nó, và chất mang dùng được cho mắt. Theo

một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là chế phẩm dạng lỏng, chế phẩm dạng bán rắn, chế phẩm dạng tra, màng bao phim, các vi hạt hoặc các hạt nano.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là chế phẩm dạng lỏng. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là chế phẩm dạng bán rắn. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là một chế phẩm dùng khu trú. Các chế phẩm dùng khu trú bao gồm, nhưng không giới hạn ở các chế phẩm dạng lỏng và bán rắn. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là chế phẩm dùng khu trú. Theo một số phương án, chế phẩm dùng khu trú bao gồm dung dịch nước, hỗn dịch chứa nước, thuốc mỡ hoặc gel. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa được dùng khu trú ở phía trước của mắt, dưới mi mắt trên, trên mi mắt dưới và trong túi cùng. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa được vô trùng. Quá trình vô trùng có thể được thực hiện bởi các kỹ thuật đã biết như phương pháp lọc vô trùng dung dịch hoặc phương pháp gia nhiệt dung dịch trong ống ampun dùng ngay. Các chế phẩm nhãn khoa theo sáng chế có thể còn bao gồm thêm các tá dược thích hợp để bào chế các dạng bào chế dùng cho mắt. Các ví dụ về các tá dược này là các chất bảo quản, các chất đệm, các chất tạo chelat, các chất chống oxy hóa và các muối điều hòa áp suất thẩm thấu.

Khi được sử dụng trong tài liệu này, thuật ngữ “chất mang dùng được cho mắt” dùng để chỉ vật liệu bất kỳ có thể chứa và phóng thích chế phẩm, hoặc muối dược dụng của nó, và phù hợp dùng cho mắt. Theo một số phương án, chất mang dùng được cho mắt này không chỉ là nước hoặc dung dịch hoặc huyền phù chứa nước, mà còn bao gồm các loại dầu như các loại dùng để bào chế thuốc mỡ và các chất nền polyme như được sử dụng trong các loại thuốc tra mắt. Theo một số phương án, chế phẩm có thể là hỗn dịch chứa nước chứa hợp chất này, hoặc muối dược dụng của nó. Các chế phẩm nhãn khoa dạng lỏng, bao gồm cả các loại thuốc mỡ và các hỗn dịch, có thể có độ nhớt thích hợp đối với đường dùng thuốc chọn lọc. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa có độ nhớt nằm trong khoảng từ khoảng 1000 đến khoảng 30000 xentipoasơ.

Theo một số phương án, các chế phẩm nhãn khoa có thể còn bao gồm một hoặc nhiều hợp chất hoạt tính bề mặt, các tá dược, các chất đệm, các chất chống oxy hóa, các chất điều hòa trương lực, các chất bảo quản (ví dụ, EDTA, BAK (benzalkoni clorua), natri clorit, natri perborat, polyquard-1), các chất làm đặc hoặc các chất điều chỉnh độ nhớt (ví dụ, carboxymetyl xenluloza, hydroxymetyl xenluloza, rượu polyvinyl, polyetylen glycol, glycol 400, propylen glycol hydroxymetyl xenluloza, hydroxypropyl-

guar, axit hyaluronic, và hydroxypropyl xenluloza) và chất tương tự. Các chất phụ gia trong dạng bào chế này có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, natri clorua, natri bicarbonat, axit sorbic, metyl paraben, propyl paraben, clohexidin, dầu castor, và natri perborat.

Các chế phẩm nhãn khoa dạng nước (dung dịch hoặc các hỗn dịch) nhìn chung không chứa các thành phần gây hại về mặt sinh lý hoặc gây hại cho mắt. Theo một số phương án, nước tinh khiết hoặc nước khử ion được sử dụng trong chế phẩm. Độ pH có thể được điều chỉnh bằng cách bổ sung các axit, bazơ hoặc chất đệm điều chỉnh pH dùng được trong sinh lý học và nhãn khoa nằm trong khoảng từ khoảng 5,0 đến 8,5. Các ví dụ về các axit dùng được cho mắt bao gồm axit axetic, boric, xitric, lactic, phosphoric, clohydric, và các axit tương tự, và các ví dụ về các bazơ dùng được cho mắt bao gồm natri hydroxit, natri phosphat, natri borat, natri xitrat, natri axetat, natri lactat, trometamin, trishydroxymetylamino-metan, và các bazơ tương tự. Các muối và các chất đệm bao gồm xitrat/dextroza, natri bicarbonat, amoni clorua và các hỗn hợp của các axit và bazơ nêu trên.

Theo một số phương án, các phương pháp bao gồm bước tạo hoặc cung cấp dạng bào chế phóng thích chậm chứa tác nhân trị liệu tiếp xúc với bề mặt ngoài của mắt. Dạng bào chế phóng thích chậm dùng để chỉ nguồn tác nhân trị liệu mà không bị loại bỏ nhanh chóng bởi nước mắt hoặc các cơ chế làm sạch mắt khác. Điều này cho phép tác nhân trị liệu với các nồng độ cao được kéo dài và duy trì được có mặt trong dịch lỏng trên bề mặt ngoài của mắt với một lần dùng duy nhất. Không bị ràng buộc bởi lý thuyết bất kỳ, quá trình hấp thụ và thẩm thấu được cho là có thể phụ thuộc vào cả nồng độ thuốc hòa tan và khoảng thời gian tiếp xúc của mô bên ngoài với thuốc chứa dịch lỏng. Khi thuốc bị loại bỏ bằng cách làm sạch dịch lỏng trong mắt và/hoặc quá trình hấp thụ trong mô mắt, thì cần cung cấp thêm nhiều thuốc hơn vào dịch lỏng ở mắt được bổ sung, ví dụ được hòa tan, từ dạng bào chế phóng thích chậm này. Do đó, việc sử dụng dạng bào chế phóng thích chậm có thể tạo điều kiện dễ dàng hơn cho việc tải nạp của mô mắt đối với nhiều tác nhân trị liệu không hòa tan. Theo một số phương án, dạng bào chế phóng thích chậm này có thể duy trì trong tối đa tám giờ trở lên. Theo một số phương án, các dạng bào chế phóng thích chậm nhãn khoa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các hỗn dịch polyme trong nước, thuốc mỡ, và các thuốc tra dạng rắn.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là một thuốc mỡ hoặc gel. Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là chất dẫn thuốc trên cơ sở dầu. Theo một số phương án, chế phẩm bao gồm dầu mỡ hoặc bazơ lanolin mà được bổ sung hoạt chất vào đó, thông thường là 0,1 đến 2%, và các tá dược. Các bazơ thông thường có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dầu khoáng, mỡ khoáng và các dạng kết hợp của chúng. Theo một số phương án, thuốc mỡ được tra vào dưới dạng một dải nhỏ trên mi mắt dưới.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là thuốc tra mắt. Theo một số phương án, thuốc tra mắt trợ về mặt sinh học, xốp, có thể ăn mòn sinh học, có tính nhớt đàn hồi, ổn định với sự vô trùng sau khi tiếp xúc với các tác nhân trị liệu, chống lại các trường hợp lây nhiễm do vi khuẩn có trong không khí, có thể ăn mòn sinh học, tương thích về mặt sinh học, và/hoặc có tính nhớt đàn hồi. Theo một số phương án, thuốc tra bao gồm chất nền dùng được cho mắt, ví dụ, chất nền polyme. Chất nền này điển hình là polyme và nhìn chung tác nhân trị liệu được phân tán trong đó hoặc được liên kết với chất nền polyme. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu có thể được phóng thích chậm ra khỏi chất nền thông qua quá trình hòa tan hoặc quá trình thủy phân liên kết đồng hóa trị. Theo một số phương án, chất polyme là có tính ăn mòn sinh học (hòa tan được) và tỷ lệ hòa tan của nó có thể kiểm soát tốc độ phóng thích tác nhân trị liệu phân tán trong đó. Theo một phương án khác, chất nền polyme là polyme phân hủy sinh học mà phân hủy như là bằng quá trình thủy phân để nhờ đó phóng thích tác nhân trị liệu được gắn kết vào đó hoặc được phân tán trong đó. Theo các phương án khác, chất nền và tác nhân trị liệu có thể được bao phủ bởi một lớp vỏ polyme bổ sung để kiểm soát thêm sự phóng thích chế phẩm. Theo một số phương án, thuốc tra bao gồm polyme phân hủy sinh học như polycaprolacton (PCL), copolyme etylen/vinyl axetat (EVA), polyalkyl xyanoacrylat, polyuretan, nylon, hoặc poly (dl-lactit-co-glycolit) (PLGA), hoặc copolyme của chất bất kỳ trong số các chất nêu trên. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu được phân tán trong vật liệu nền hoặc được phân tán trong chế phẩm monome được sử dụng để tạo vật liệu nền trước quá trình polyme hóa. Theo một số phương án, lượng tác nhân trị liệu là từ khoảng 0,1 đến khoảng 50%, hoặc từ khoảng 2 đến khoảng 20%. Theo các phương án khác nữa, chất nền polyme có tính phân hủy sinh học hoặc ăn mòn sinh học được sử dụng do đó thuốc tra sử dụng không bị loại bỏ. Khi polyme bị phân hủy sinh học và ăn mòn sinh học được phân rã hoặc hòa tan, tác nhân trị liệu được phóng thích.

Theo các phương án khác nữa, thuốc tra mắt bao gồm polyme, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các polyme được mô tả trong tài liệu của Wagh, et al., “Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems”, *Asian J. Pharm.*, các trang 12-17 (Tháng 01/2008), được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, thuốc tra mắt bao gồm polyme được chọn từ polyvinylpyrrolidon (PVP), acrylat hoặc metacrylat polyme hoặc copolyme (ví dụ, họ các polyme Eudragit® từ hãng Rohm hoặc Degussa), hydroxymetyl xenluloza, axit polyacrylic, các dendrime poly(amidoamin), poly(dimetyl siloxan), polyetylen oxit, poly(lactit-co-glycolit), poly(2-hydroxyethylmetacrylat), poly(rượu vinyl), hoặc poly(propylen fumarat). Theo một số phương án, thuốc tra mắt bao gồm Gelfoam® R. Theo một số phương án, thuốc tra mắt là axit polyacrylic trong thể liên hợp xystein-450 kDa.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa là ở dạng màng nhãn khoa. Các polyme thích hợp cho các màng này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các polymer được mô tả trong tài liệu của Wagh, et al. (*ibid*), Theo một số phương án, màng này là một thấu kính tiếp xúc mềm, như là màng được làm từ các copolyme của N,N-diethylacrylamit và axit metacrylic được liên kết chéo với etylenglycol dimetacrylat.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa bao gồm các hạt vi cầu hoặc các hạt nanô. Theo một số phương án, các hạt vi cầu này bao gồm gelatin. Theo một số phương án, các hạt vi cầu này được tiêm vào phần sau của mắt, trong không gian của màng mạch, trong củng mạc, trong mắt hoặc dưới võng mạc. Theo một số phương án, các hạt vi cầu này hoặc các hạt nanô chứa polyme bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các loại hạt được mô tả trong tài liệu của Wagh, et al. (*ibid*), được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, polyme là chitosan, axit polycarboxylic như axit polyacrylic, các hạt albumin, các este của axit hyaluronic, các axit polyitaconic, poly(butyl)xyanoacrylat, polycaprolacton, poly(isobutyl)caprolacton, poly(axit lactic-co-axit glycolic), hoặc poly(axit lactic). Theo một số phương án, các hạt vi cầu hoặc các hạt nanô này bao gồm các hạt lipid rắn.

Theo một số phương án, chế phẩm nhãn khoa bao gồm một loại nhựa trao đổi ion. Theo một số phương án, nhựa trao đổi ion này là zeolit vô cơ hoặc nhựa hữu cơ nhân tạo. Theo một số phương án, nhựa trao đổi ion này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, những loại được mô tả trong tài liệu của Wagh, et al. (*ibid*), được đưa vào đây

toàn bộ bằng cách viện dẫn. Theo một số phương án, nhựa trao đổi ion này là axit polyacrylic trung hòa một phần.

Theo một số phương án, chế phẩm nhân khoa là ở dạng hỗn dịch polyme trong nước. Theo một số phương án, tác nhân trị liệu hoặc chất tạo huyền phù polyme trong môi trường chứa nước. Theo một số phương án, các hỗn dịch polyme trong nước này có thể được bào chế để chúng có thể duy trì độ nhớt tương tự hoặc gần như tương tự độ nhớt trong mắt mà chúng đã có trước khi đưa vào mắt. Theo một số phương án, các hỗn dịch polyme trong nước này có thể được bào chế để có khả năng gelatin hóa tăng sau khi tiếp xúc với dịch nước mắt.

Các hợp chất được đánh dấu và các phương pháp thử nghiệm

Một khía cạnh khác theo sáng chế liên quan tới các hợp chất được đánh dấu theo sáng chế (đánh dấu phóng xạ, đánh dấu huỳnh quang, v.v) mà sẽ hữu ích trong không chỉ trong các kỹ thuật hình ảnh mà còn trong các thử nghiệm, cả *in vitro* và *in vivo*, dùng để định vị và định lượng JAK trong các mẫu mô, bao gồm con người, và để nhận dạng các phối tử JAK bằng cách ức chế sự gắn kết của hợp chất được đánh dấu. Do đó, sáng chế bao gồm các thử nghiệm JAK chứa các hợp chất được đánh dấu này.

Sáng chế còn bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế. Hợp chất “đồng vị” hoặc “được đánh dấu phóng xạ” là hợp chất theo sáng chế trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế hoặc được thế bằng một nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối nguyên tử thường thấy trong tự nhiên (*tức là*, xuất hiện trong tự nhiên). Các nuclit phóng xạ thích hợp mà có thể được đưa vào trong hợp chất theo sáng chế bao gồm nhưng không giới hạn ở ^3H (cũng được viết là T cho Triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I và ^{131}I . Nuclit phóng xạ mà được đưa vào trong các hợp chất được đánh dấu phóng xạ tức thời sẽ phụ thuộc vào việc áp dụng cụ thể hợp chất được đánh dấu phóng xạ đó. Ví dụ, trong các thử nghiệm cạnh tranh và thử nghiệm được đánh dấu JAK *in vitro*, các hợp chất mà đưa ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S vào hoặc nhìn chung là sẽ hữu ích nhất. Với các ứng dụng hình ảnh phóng xạ ^{11}C , ^{18}F , ^{125}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{131}I , ^{75}Br , ^{76}Br hoặc ^{77}Br nhìn chung là hữu ích nhất.

Cần phải hiểu rằng hợp chất “được đánh dấu bức xạ” hoặc “hợp chất được đánh dấu” là hợp chất đã được kết hợp với ít nhất một nuclit phóng xạ. Theo một số phương

án nuclit phóng xạ này được chọn từ nhóm bao gồm ^3H , ^{14}C , ^{125}I , ^{35}S và ^{82}Br . Theo một số phương án, hợp chất này kết hợp với 1, 2, hoặc 3 nguyên tử đoteri.

Sáng chế có thể còn bao gồm các phương pháp tổng hợp để đưa các đồng vị phóng xạ vào các hợp chất theo sáng chế. Các phương pháp tổng hợp để đưa các đồng vị phóng xạ vào các hợp chất hữu cơ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, và một người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng nhận biết các phương pháp có thể áp dụng được cho các hợp chất theo sáng chế.

Hợp chất được đánh dấu theo sáng chế có thể được sử dụng trong thử nghiệm sàng lọc để xác định/đánh giá các hợp chất. Ví dụ, hợp chất vừa mới được tổng hợp hoặc nhận dạng (*tức là*, hợp chất thử nghiệm) mà được đánh dấu có thể được đánh giá về khả năng gắn kết của nó với JAK bằng cách kiểm soát sự thay đổi nồng độ của hợp chất này khi tiếp xúc với JAK đó, thông qua việc theo dõi sự đánh dấu. Ví dụ, hợp chất thử nghiệm (được đánh dấu) có thể được đánh giá về khả năng làm giảm mức gắn kết của nó với một hợp chất khác mà được biết là gắn kết với JAK (*tức là*, hợp chất chuẩn). Do đó, khả năng cạnh tranh của hợp chất thử nghiệm với hợp chất chuẩn để gắn kết với JAK liên quan trực tiếp đến ái lực liên kết của hợp chất này. Ngược lại, trong một số thử nghiệm sàng lọc khác, hợp chất chuẩn được đánh dấu và các hợp chất thử nghiệm không được đánh dấu. Do đó, nồng độ của hợp chất chuẩn được đánh dấu được giám sát để đánh giá sự cạnh tranh giữa hợp chất chuẩn và hợp chất thử nghiệm, và theo đó ái lực liên kết tương đối của hợp chất thử nghiệm được xác định.

Các bộ kit

Sáng chế cũng bao gồm các bộ kit được phẩm hữu ích, ví dụ, trong điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh hoặc các rối loạn liên quan đến JAK, như bệnh ung thư, bộ kit này bao gồm một hoặc nhiều vật chứa chứa được phẩm bao gồm một lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế. Các bộ kit đó có thể còn bao gồm, nếu cần thiết, một hoặc nhiều thành phần trong bộ kit được phẩm thông thường khác nhau, như, ví dụ, các vật chứa với một hoặc nhiều chất mang được dụng, các vật chứa bổ sung, v.v, mà sẽ dễ dàng đánh giá được bởi các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các chỉ dẫn sử dụng, hoặc ở dạng đặt vào trong bộ kit hoặc ở dạng dán nhãn, cho biết hàm lượng của các thành phần được dùng, hướng dẫn dùng thuốc, và/hoặc hướng dẫn dùng kết hợp các thành phần, cũng có thể có trong bộ kit.

Sáng chế sẽ mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ cụ thể. Các ví dụ sau đây nhằm mục đích minh họa, và không dự định giới hạn sáng chế theo bất kỳ cách thức nào. Các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ dễ dàng nhận biết một loạt các thông số không quan trọng mà có thể được thay đổi hoặc điều chỉnh để về cơ bản mang lại những kết quả tương tự. Các hợp chất trong các ví dụ này đã được phát hiện là các chất ức chế JAK theo ít nhất một thử nghiệm được mô tả trong tài liệu này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các quy trình thí nghiệm cho các hợp chất theo sáng chế được đề xuất dưới đây. Quá trình tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS) điều chế truy cập mở đối với một số hợp chất đã được điều chế được thực hiện trên các hệ thống phân đoạn trực tiếp khối lượng của hãng Waters. Thông số thiết bị cơ bản được cài đặt, các quy trình chạy, và phần mềm điều khiển cho quá trình vận hành các hệ thống này đã được mô tả chi tiết trong tài liệu. *Xem ví dụ "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, J. Combi. Chem., 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, J. Combi. Chem., 5, 670 (2003); và "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 6, 874-883 (2004).* Các hợp chất đã tách riêng thông thường được phân tích bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (liquid chromatography mass spectrometry - LCMS) cho độ tinh khiết phụ thuộc các điều kiện sau: Thiết bị; Agilent 1100 series, LC/MSD, số cột: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 µm, 2,1 x 5,0 mm, Các chất đệm: pha động A: TFA 0,025% trong nước và pha động B: TFA 0,025% trong axetonitril; gradien của pha động B 2% đến 80% trong 3 phút với tốc độ dòng 1,5 mL/phút.

Một số hợp chất đã điều chế cũng được phân tách với tỷ lệ định lượng điều chế bằng phương pháp sắc ký lỏng pha đảo hiệu năng cao (reverse-phase high performance liquid chromatography - RP-HPLC) với đầu dò MS hoặc sắc ký cột nhanh (silica gel) như được chỉ ra trong các ví dụ. Các điều kiện của cột sắc ký lỏng pha đảo hiệu năng cao (RP-HPLC) điều chế thông thường là như sau:

Quá trình tinh chế tại độ pH = 2: cột Waters Sunfire™ C₁₈ 5 µm, 19 x 100 mm, rửa giải với pha động A: TFA 0,1% (axit trifloaxetic) trong nước và pha động B:

axetonitril; tốc độ dòng là 30 mL/phút, gradien phân tách được tối ưu hóa cho từng hợp chất bằng cách sử dụng quy trình tối ưu hóa phương pháp cụ thể cho hợp chất như được mô tả trong tài liệu [xem "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Tốc độ dòng thông thường sử dụng cho cột 30 x 100 mm là 60 mL/phút.

Quá trình tinh chế tại pH = 10: cột Waters XBridge C₁₈ 5 um, 19 x 100 mm, rửa giải với pha động A: NH₄OH 0,15% trong nước và pha động B: axetonitril; tốc độ dòng là 30 mL/phút, gradien phân tách được tối ưu hóa cho từng hợp chất bằng cách sử dụng quy trình tối ưu hóa phương pháp cụ thể cho hợp chất như được mô tả trong tài liệu [xem "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Tốc độ dòng thông thường sử dụng cho cột 30 x 100 mm là 60 mL/phút.

Một số hợp chất đã điều chế cũng được phân tích qua phương pháp phân tích nhiệt quét vi sai (Differential Scanning Calorimetry - DSC). Các điều kiện đối với thiết bị DSC thông thường như sau:

Thiết bị phân tích nhiệt quét vi sai TA, Model Q200 có bộ phận bơm mẫu tự động. Các điều kiện chung: 30 - 350°C tại tốc độ 10°C/phút; chảo và nắp mẫu nhôm Tzero; tốc độ khí nitơ là 50 mL/phút.

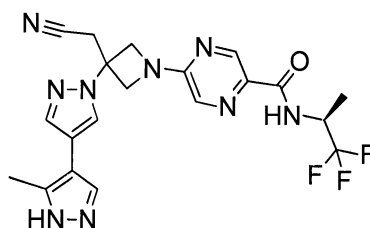
Một số hợp chất đã điều chế cũng được phân tích qua phương pháp phân tích nhiệt trọng (Thermogravimetric Analysis - TGA). Các điều kiện thiết bị TGA thông thường là như sau:

Thiết bị phân tích nhiệt trọng TA, Model Q500. Các điều kiện chung của phương pháp: độ biến đổi từ 20°C đến 600°C tại tốc độ 20°C/phút; nitơ được làm sạch, tốc độ dòng khí là 40 mL/phút cân bằng với tốc độ làm sạch; tốc độ làm sạch mẫu là 60 mL/phút; chảo mẫu bằng bạch kim.

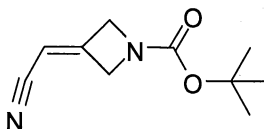
Một số hợp chất đã điều chế cũng được phân tích bằng phương pháp nhiễu xạ bột tia X (X-Ray Power Diffraction - XRPD). Các điều kiện của thiết bị XRPD thông thường là như sau:

Thiết bị đo nhiễu xạ bột tia X (XRPD) Rigaku MiniFlex. Các quy trình thí nghiệm chung: Bức xạ tia X từ kim loại Đồng tại 1,054056Å với lớp lọc tia K β ; Bột tia X ở 30 KV, 15 mA; bột mẫu được phân tán trên giá đỡ mẫu có giá trị nền đặt tại không. Các điều kiện đo chung: Góc bắt đầu – 3 độ; Góc kết thúc – 45 độ; Mẫu – 0,02 độ; Tốc độ quét – 2 độ/phút.

Ví dụ 1. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

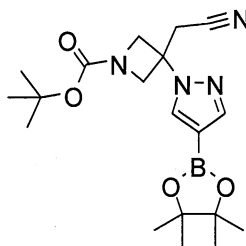


Bước 1: tert-Butyl 3-(xyanometylen)azetidin-1-carboxylat



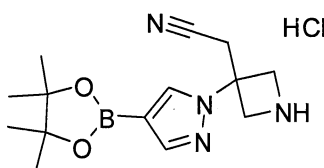
Cho từng giọt dung dịch diethyl xyanometylphosphonat (5,20 mL, 32,2 mmol) trong tetrahydrofuran (39 mL) vào dung dịch kali tert-butoxit 1,0 M trong tetrahydrofuran (30,7 mL, 30,7 mmol) ở 0°C. Làm ấm phản ứng đến nhiệt độ trong phòng và sau đó làm lạnh xuống 0°C. Cho dung dịch *tert*-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (5,0 g, 0,029 mol, từ Aldrich) trong tetrahydrofuran (8 mL) vào hỗn hợp phản ứng này. Làm ấm hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Sau khi dập tắt phản ứng bằng nước, chiết hỗn hợp này bằng etyl axetat (EtOAc). Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại bằng nước muối, làm khan qua MgSO₄, và làm bay hơi ở áp suất thấp. Tinh chế hỗn hợp thô bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (0 - 70%) để thu được sản phẩm mong muốn (5,40 g, 95%). Giá trị LCMS tính được cho C₁₀H₁₄N₂O₂Na (M+Na)⁺: khối lượng/điện tích = 217,1; giá trị căn cứ: 217,1

Bước 2: tert-Butyl 3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-carboxylat



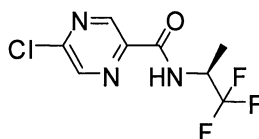
Gia nhiệt hỗn hợp chứa 4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol (0,990 g, 5,10 mmol), *tert*-butyl 3-(xyanometylen)azetidin-1-carboxylat (1,00 g, 5,15 mmol) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (0,38 mL, 2,6 mmol) trong axetonitril (20 mL) ở 60°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội hỗn hợp, loại bỏ dung môi ở áp suất thấp. Tinh chế phân cực bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với ethyl axetat trong hexan (0-60%) thu được sản phẩm mong muốn (1,68 g, 84,8%). Giá trị LCMS được tính cho $C_{15}H_{22}BN_4O_4$ ($M-55$)⁺: khối lượng/điện tích = 333,2; giá trị căn cứ: 333,1.

Bước 3: {3-[4-(4,4,5,5-Tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril hydroclorua



Cho HCl 4,0 N trong 1,4-dioxan (2,0 mL) vào dung dịch *tert*-butyl 3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-carboxylat (1,68 g, 4,33 mmol) trong metylen clorua (10 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó cô đặc ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm mong muốn là muối của HCl được sử dụng trực tiếp trong phản ứng ở bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Giá trị LCMS được tính cho $C_{14}H_{22}BN_4O_2$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 289,2; giá trị căn cứ: 289,1.

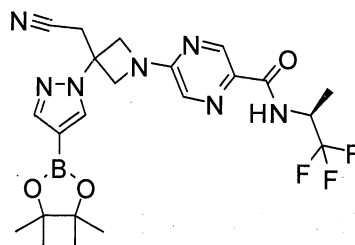
*Bước 4: 5-Clo-N-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit*



Cho *N,N*-Diisopropyletylamin (1,3 mL, 7,5 mmol) vào hỗn hợp gồm axit 5-cloropyrazin-2-carboxylic (0,40 g, 2,5 mmol), *N,N,N',N'*-tetrametyl-*O*-(7-

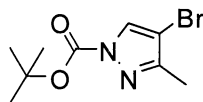
azabenzotriazol-1-yl)uronium hexaflophosphat (1,0 g, 2,8 mmol) và (2*S*)-1,1,1-triflopropan-2-amin (0,28 g, 2,5 mmol) trong metylen clorua (10 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Tiến hành các thao tác tách và tinh chế cho hỗn hợp phản ứng với dung dịch NaHCO₃ bão hòa, và chiết bằng etyl axetat. Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại bằng nước muối, làm khan qua MgSO₄, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với etyl axetat trong hexan (0-15%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,47 g, 73%). Giá trị LCMS được tính cho C₈H₈ClF₃N₃O (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 254,0; giá trị căn cứ: 253,9.

*Bước 5: 5-{3-(Xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit*



Gia nhiệt hỗn hợp gồm 5-Clo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit (254 mg, 1,00 mmol), muối của {3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril với axit HCL (325 mg, 1,00 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (401 μ L, 2,30 mmol) trong 1,4-dioxan (5,0 mL) ở 100°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, cô đặc hỗn hợp này ở áp suất thấp. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (gradient: 20-80%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,49 g, 97%). Giá trị LCMS được tính cho C₂₂H₂₈BF₃N₇O₃ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 506,2; giá trị căn cứ: 506,1.

*Bước 6: tert-Butyl 4-brom-3-metyl-1*H*-pyrazol-1-carboxylat*



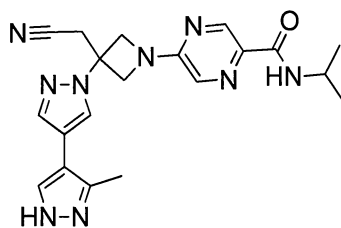
Khuấy hỗn hợp gồm 4-brom-3-metyl-1*H*-pyrazol (0,2 g, 1 mmol), di-*tert*-butyldicarbonat (0,30 g, 1,4 mmol), 4-dimetylaminopyridin (0,02 g, 0,1 mmol) và trietylamin (0,26 mL, 1,9 mmol) trong axetonitril (2 mL) qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, và tinh chế bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (0-15%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,32 g).

Giá trị LCMS được tính cho $C_5H_6BrN_2O_2$ (M-55)⁺: khối lượng/điện tích = 205,0; giá trị căn cứ: 204,9.

Bước 7: 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

Khuấy hỗn hợp gồm 5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit (27,0 mg, 0,0533 mmol), *tert*-butyl 4-brom-3-metyl-1H-pyrazol-1-carboxylat (15 mg, 0,059 mmol), tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (3,1 mg, 0,0027 mmol) và natri carbonat (17,0 mg, 0,160 mmol) trong 1,4-dioxan (1,6 mL) và nước (0,8 mL) trong môi trường khí nitơ qua đêm ở 100°C. Lọc hỗn hợp phản ứng, và tinh chế bằng RP-HPLC (dưới điều kiện độ pH = 2) để tạo ra sản phẩm mong muốn là muối TFA. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8,73 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 8,18 (d, *J* = 0,6 Hz, 1H), 7,98 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H), 7,91 – 7,79 (m, 2H), 4,84 (m, 1H), 4,81 (d, *J* = 10,2 Hz, 2H), 4,60 (d, *J* = 10,2 Hz, 2H), 3,59 (s, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,43 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho C₂₀H₂₁F₃N₉O (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 460,2; giá trị căn cứ: 460,0.

Ví dụ 2. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit trifloaxetat



Bước 1: 5-Clo-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit

Cho *N,N*-Diisopropyletylamin (2,6 mL, 15 mmol) vào hỗn hợp gồm axit 5-cloropyrazin-2-carboxylic (0,80 g, 5,0 mmol), benzotriazol-1-yloxytris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat (2,46 g, 5,56 mmol) và 2-propanamin (0,47 mL, 5,6 mmol) trong metylen clorua (20 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Thực hiện các thao tác tách và tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa, và chiết bằng etyl axetat. Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại bằng nước muối, làm khan qua MgSO₄, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong

hexan (0-15%) để tạo ra sản phẩm mong muốn. Giá trị LCMS được tính cho $C_8H_{11}ClN_3O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 200,1; giá trị căn cứ: 200,1.

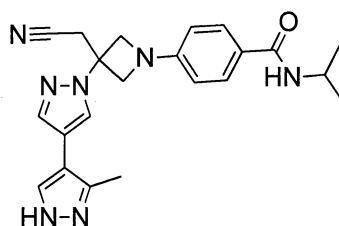
Bước 2: 5-{3-(Xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit

Gia nhiệt hỗn hợp gồm 5-Clo-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit (200 mg, 1,00 mmol), muối của HCl và {3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril (325 mg, 1,00 mmol, từ Ví dụ 1, bước 3) và *N,N*-diisopropyletylamin (401 μ L, 2,30 mmol) trong 1,4-dioxan (5,0 mL) ở 100°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, cô đặc hỗn hợp này ở áp suất thấp. Tinh chế phân cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (gradient: 20-80%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,26 g, 58%). Giá trị LCMS được tính cho $C_{22}H_{31}BN_7O_3$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 452,3; giá trị căn cứ: 452,2.

Bước 3: 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

Hỗn hợp gồm *tert*-butyl 4-brom-3-metyl-1H-pyrazol-1-carboxylat (15,7 mg, 0,0600 mmol), 5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit (25,8 mg, 0,0571 mmol), phức của [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopalađi(II) với diclometan (tỷ lệ 1:1) (2,3 mg, 0,0028 mmol) và kali phosphat (0,036 g, 0,17 mmol) trong dioxan (0,5 mL) và nước (0,2 mL) trong một lọ phản ứng được đóng kín và loại khí. Gia nhiệt hỗn hợp này ở 110 °C trong 3 giờ. Sau khi làm nguội, pha loãng hỗn hợp này với metanol, lọc và tinh chế bằng RP-HPLC (điều kiện pH = 2) để tạo ra sản phẩm mong muốn là muối TFA. Giá trị LCMS được tính cho $C_{20}H_{24}N_9O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 406,2; giá trị căn cứ: 406,1.

Ví dụ 3. 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-*N*-isopropylbenzamid trifloaxetat



Bước 1: Etyl 4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)benzoat

Gia nhiệt hỗn hợp gồm etyl 4-flobenzoat (0,841 g, 5,00 mmol, của hãng Aldrich), azetidin-3-ol hydroclorua (0,438 g, 4,00 mmol, của hãng Aldrich) và kali carbonat (1,38 g, 9,98 mmol) trong dimetyl sulfoxit (4 mL) ở 180°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, pha loãng hỗn hợp này với etyl axetat (50 mL), và rửa với nước và nước muối. Làm khô lớp hữu cơ qua MgSO₄, lọc, và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với etyl axetat trong hexan (0-50%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,643, 72,6%). Giá trị LCMS được tính cho C₁₂H₁₆NO₃ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 222,1; giá trị căn cứ: 222,1.

Bước 2: Axit 4-(3-Hydroxyazetidin-1-yl)benzoic

Khuấy hỗn hợp gồm 1-[4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)phenyl]-2-methoxyetanon (1,33 g, 6,00 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (504 mg, 12,0 mmol) trong nước (4 mL), metanol (3 mL) và THF (6 mL) qua đêm ở 40°C. Trung hòa hỗn hợp này bằng dung dịch axit HCl 3N (~4 mL) đến giá trị pH khoảng bằng 7, chiết bằng etyl axetat. Làm khô các lớp hữu cơ đã được gộp lại qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm thô (1,10 g, 94,9%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. Giá trị LCMS được tính cho C₁₀H₁₂NO₃ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 194,1; giá trị căn cứ: 194,1.

Bước 3: 4-(3-Hydroxyazetidin-1-yl)-N-isopropylbenzamid

Cho Benzotriazol-1-yloxytris(dimetylamino)phosphoni hexaflorophosphat (4,64 g, 10,5 mmol, của hãng Aldrich) vào hỗn hợp gồm axit 4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)benzoic (1,93 g, 10,0 mmol), 2-propanamin (4,26 mL, 50,0 mmol) và N,N-diisopropyletylamin (3,88 g, 30,0 mmol) trong diclometylen (10 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, và pha loãng với diclometan. Rửa hỗn hợp này bằng dung dịch NaHCO₃ và nước muối, làm khô qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (gradien: 0-50%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (2,21 g, 94,3%). Giá trị LCMS được tính cho C₁₃H₁₉N₂O₂ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 235,1; giá trị căn cứ: 235,1.

Bước 4: N-Isopropyl-4-(3-oxoazetidin-1-yl)benzamid

Cho từng giọt dimetyl sulfoxit (1,71 mL, 24,1 mmol) vào dung dịch đã được làm lạnh (-78°C) chứa oxalyl clorua (1,05 mL, 12,4 mmol) trong diclometylen (20 mL). Khuấy hỗn hợp này ở -78°C trong 10 phút. Sau đó thêm huyền phù của 4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-*N*-isopropylbenzamid (1,72 g, 7,34 mmol) trong diclometylen (20 mL) vào hỗn hợp đó. Khuấy hỗn hợp này ở -78°C trong 1 giờ, và sau đó thêm trietylamin (7,04 mL, 50,5 mmol) vào. Khuấy hỗn hợp này ở -78°C trong 1,5 giờ nữa. Rửa hỗn hợp này bằng *dung dịch* NaHCO₃ và nước muối, làm khô qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Rửa các chất kết tủa bằng ete và thu gom bằng cách lọc để tạo ra sản phẩm mong muốn (1,32 g, 77%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. Giá trị LCMS được tính cho C₁₃H₁₇N₂O₂ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 233,1; giá trị căn cứ: 233,1.

Bước 5: 4-[3-(Xyanometylen)azetidin-1-yl]-N-isopropylbenzamid

Cho từng giọt dung dịch dietyl xyanometylphosphonat (1,20 mL, 7,43 mmol, của hãng Aldrich) trong tetrahydrofuran (10 mL) vào dung dịch đã được làm lạnh (ở -6 đến 0°C) chứa kali tert-butoxit 1,0 M trong tetrahydrofuran (7,10 mL, 7,10 mmol) trong khoảng thời gian là 10 phút và tại nhiệt độ -6 đến 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng ở -6°C thêm lần nữa. Sau đó thêm dung dịch *N*-isopropyl-4-(3-oxoazetidin-1-yl)benzamid (1,30 g, 5,60 mmol) trong tetrahydrofuran (10 mL) vào hỗn hợp phản ứng trong khoảng thời gian là 10 phút. Trong suốt khoảng thời gian này nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng nằm trong khoảng -5 đến 0°C. Để ấm hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua miếng đệm silica gel và rửa với etyl axetat. Cô đặc phần dịch lọc, và xử lý phần cặn với ete. Thu gom các chất kết tủa được tạo ra bằng cách lọc để thu được 0,60 g sản phẩm mong muốn. Cô đặc chất lỏng gốc này ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (gradient: 30-80%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (0,21 g). Sản phẩm tổng có khối lượng 0,81 g (57%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,91 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,74 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,53 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 5,88 (p, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4,77 – 4,67 (m, 2H), 4,62 (dt, *J* = 5,1, 2,6 Hz, 2H), 4,06 (m, 1H), 1,12 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho C₁₅H₁₈N₃O (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 256,1; giá trị căn cứ: 256,1.

Bước 6: 4-{3-(Xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-

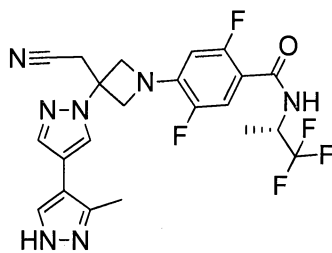
pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylbenzamid

Gia nhiệt hỗn hợp gồm 4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (2,98 g, 15,3 mmol), 4-[3-(xyanometylen)azetidin-1-yl]-N-isopropylbenzamid (4,00 g, 15,7 mmol) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (1,17 g, 7,68 mmol) trong rượu isopropyl (10 mL) ở 70°C trong 1 giờ. Làm lạnh hỗn hợp này xuống 35°C. Thêm 30 ml metyl *tert*-butyl ête (MTBE) vào chất huyền phù này, và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Thu gom các chất kết tủa được tạo ra bằng cách lọc, rửa với MTBE, và sấy ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm mong muốn (6,2 g 89,8%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,35 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,52 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,40 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 4,20 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 4,05 (m, 1H), 3,65 (s, 2H), 1,24 (s, 12H), 1,12 (d, *J* = 6,6 Hz, 6H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho C₂₄H₃₃BN₅O₃ (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 450,3; giá trị căn cứ: 450,3.

Bước 7: 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylbenzamid trifloaxetat

Hỗn hợp gồm *tert*-butyl 4-brom-3-metyl-1H-pyrazol-1-carboxylat (15,7 mg, 0,0600 mmol), 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylbenzamid (25,7 mg, 0,0571 mmol), kali phosphat (36,4 mg, 0,171 mmol) và hợp phức gồm [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopalađi(II) với diclometan (tỷ lệ 1:1) (2,33 mg, 0,00286 mmol) trong dioxan (0,5 mL) và nước (0,2 mL) trong lọ phản ứng được đóng kín và được loại khí. Gia nhiệt hỗn hợp này ở 110°C trong 3 giờ. Sau khi làm nguội, pha loãng hỗn hợp này với metanol, lọc và tinh chế bằng RP-HPLC (trong điều kiện độ pH = 2) để tạo ra sản phẩm mong muốn là muối TFA. Giá trị LCMS được tính cho C₂₂H₂₆N₇O (M+1)⁺: khối lượng/điện tích = 404,2; giá trị căn cứ: 404,1.

Ví dụ 4. 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid trifloaxetat



Bước 1: 2,4,5-Triflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Cho *N,N*-dimetylformamit (40 μ L) vào dung dịch axit 2,4,5-triflobenzoic (5,00 g, 28,4 mmol) trong axetonitril (50 mL) tiếp đó thêm oxalyl clorua (3,60 mL, 42,6 mmol) vào. Sau 90 phút, loại bỏ các chất dễ bay hơi ở điều kiện áp suất thấp. Làm bay hơi đồng thời phần cặn với axetonitril (50 mL). Sau đó hòa tan phần cặn trong metylen clorua (50 mL). Cho từng giọt dung dịch này vào trong hỗn hợp đã được làm lạnh (trong bể đá) chứa (2S)-1,1,1-triflopropan-2-amin hydroclorua (5,52 g, 36,9 mmol) (của hãng Synquest, lượng dư đồng phân đối ảnh 98%) trong toluen (100 mL) và dung dịch natri hydroxit 0,5 M (142 mL, 71,0 mmol). Sau khi thêm vào, lấy bể đá này ra, và để ấm hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng. Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm. Tách lớp hữu cơ ra. Chiết lớp nước bằng metylen clorua (50 mL). Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại với nước muối 20% (75 mL) và nước (2 x 75 mL), làm khan qua MgSO_4 , lọc và cô đặc ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm mong muốn (6,49 g, 84%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,01 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,92 – 7,50 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, $J = 7,0$ Hz, 3H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{F}_6\text{NO}$ ($\text{M}+1$) $^+$: khối lượng/điện tích = 272,0; giá trị căn cứ: 272,0.

Bước 2: 2,5-Diflo-4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Khuấy hỗn hợp gồm 2,4,5-triflo-*N*-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (6,39 g, 23,6 mmol), azetidin-3-ol hydroclorua (3,19 g, 28,3 mmol) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (8,81 mL, 58,9 mmol) trong axetonitril (25 mL) ở 80°C trong 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng với EtOAc (75 mL) và rửa với HCl 1N (50 mL), NaHCO_3 1N (60 mL), nước muối 20% (50 mL) và nước (75 mL). Chiết lớp nước bằng EtOAc (100 mL). Gộp lớp hữu cơ lại, làm khan qua MgSO_4 , lọc và cô đặc ở áp suất thấp tạo ra sản phẩm mong muốn (7,59 g, 91,8%). ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,38 (dd, $J = 8,9, 1,9$ Hz, 1H), 7,27 (dd, $J = 12,8, 6,5$ Hz, 1H), 6,38 (dd, $J = 12,3, 7,5$ Hz, 1H), 5,71 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,74 (dp, $J = 15,3, 7,6$ Hz, 1H), 4,62 – 4,46 (m, 1H),

4,30 – 4,15 (m, 2H), 3,71 (m, 2H), 1,29 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho $C_{13}H_{14}F_5N_2O_2$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 325,1; giá trị căn cứ: 325,1.

Bước 3: 2,5-Diflo-4-(3-oxoazetidin-1-yl)-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Cho iodobenzen diacetat (9,40 g, 29,2 mmol) và gốc tự do 2,2,6,6-tetrametyl-1-piperidinyloxy (1,82 g, 11,7 mmol) (TEMPO) vào dung dịch 2,5-diflo-4-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (7,57 g, 23,3 mmol) trong metylen clorua (93 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Pha loãng hỗn hợp này với EtOAc (100 mL), rửa với $NaHCO_3$ 0,5N (2x80 mL), nước muối 20% (100 mL) và nước (100 mL). Chiết lớp nước bằng etyl axetat (75 mL). Gộp các phần chiết hữu cơ lại, làm khan qua $MgSO_4$, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat 0% đến 5% trong metylen clorua để tạo ra sản phẩm thô mà được kết tinh từ MTBE (50 mL) và heptan (100 mL) để tạo ra sản phẩm mong muốn (5,44g, 72%) ở dạng chất rắn không màu. 1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 8,52 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,36 (dd, $J = 12,5, 6,5$ Hz, 1H), 6,63 (dd, $J = 12,1, 7,6$ Hz, 1H), 4,90 (d, $J = 2,1$ Hz, 4H), 4,86 – 4,68 (m, 1H), 1,31 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho $C_{13}H_{12}F_5N_2O_2$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 323,1; giá trị căn cứ: 323,0.

Bước 4: 4-[3-(Xyanometylen)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Cho từng giọt diethyl xyanometylphosphonat (1,95 mL, 11,8 mmol) vào dung dịch được làm lạnh (bằng bể đá) chứa kali tert-butoxit 1,0 M trong THF (11,8 mL, 11,8 mmol) mà được pha loãng với tetrahydrofuran (12 mL). Lấy bể đá ra và làm ấm phản ứng đến nhiệt độ trong phòng, và khuấy trong 90 phút. Làm lạnh dung dịch phản ứng lần nữa bằng bể đá. Sau đó cho dung dịch đã được điều chế ở trên vào dung dịch đã được làm lạnh hơn 12 phút (bằng bể đá) chứa 2,5-diflo-4-(3-oxoazetidin-1-yl)-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (4,00 g, 12,4 mmol) trong tetrahydrofuran (50 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút. Lấy bể đá ra, và khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, sau đó dập tắt phản ứng bằng cách thêm nước muối 20% (75 mL) và etyl axetat (75 mL). Tách lớp hữu cơ ra. Chiết lớp nước bằng etyl axetat (50 mL). Làm khô các lớp hữu cơ đã được gộp lại qua $MgSO_4$, lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel với etyl axetat trong

hexan (0% đến 30%) để tạo ra sản phẩm mong muốn (2,6g). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,59 – 8,37 (m, 1H), 7,33 (dd, $J = 12,5, 6,4$ Hz, 1H), 6,59 (dd, $J = 12,0, 7,4$ Hz, 1H), 5,88 (m, 1H), 4,94 – 4,75 (m, 4H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{F}_5\text{N}_3\text{O}$ ($\text{M}+1$) $^+$: khối lượng/điện tích = 346,1; giá trị căn cứ: 346,1.

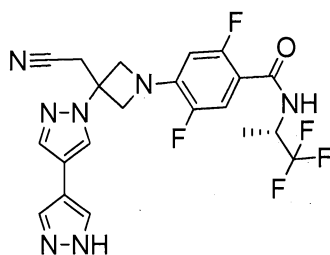
Bước 5: 4-{3-(Xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit

Gia nhiệt hỗn hợp gồm 4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (1,00 g, 5,15 mmol), 4-[3-(xyanometylen)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit (1,78 g, 5,15 mmol) và 1,8-diazabixyclo[5.4.0]undec-7-en (0,31 mL, 2,1 mmol) trong axetonitril (20,2 mL) ở 50°C qua đêm. Sau khi làm nguội, loại bỏ dung môi ở áp suất thấp. Phần cặn được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BF}_5\text{N}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+1$) $^+$: khối lượng/điện tích = 540,2; giá trị căn cứ: 540,1.

Bước 6: 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit trifloaxetat

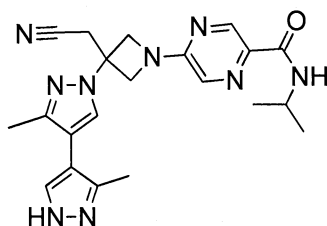
Khuấy hỗn hợp gồm 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit (28,8 mg, 0,0533 mmol), *tert*-butyl 4-brom-5-metyl-1H-pyrazol-1-carboxylat (15 mg, 0,059 mmol), tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (3,1 mg, 0,0027 mmol) và natri carbonat (17,0 mg, 0,160 mmol) trong 1,4-dioxan (1,6 mL) và nước (0,8 mL) trong môi trường nitơ qua đêm ở 100°C. Chiết hỗn hợp phản ứng bằng etyl axetat. Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại bằng nước muối, làm khan qua MgSO_4 , lọc và cô đặc ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng RP-HPLC (điều kiện độ pH = 2) để tạo ra sản phẩm mong muốn dưới dạng muối TFA. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}$ ($\text{M}+1$) $^+$: khối lượng/điện tích = 494,2; giá trị căn cứ: 494,0.

Ví dụ 5. 4-[3-(1H,1'H-4,4'-Bipyrazol-1-yl)-3-(xyanometyl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit trifloaxetat



Hợp chất này được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tương tự như các quy trình được mô tả cho quá trình tổng hợp theo Ví dụ 4, Bước 6 bắt đầu từ 4-brom-1*H*-pyrazol và 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamidit. Giá trị LCMS được tính cho $C_{21}H_{19}F_5N_7O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 480,2; giá trị căn cứ: 480,0.

Ví dụ 6. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3,3'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamidit trifloaxetat



*Bước 1: tert-Butyl 3-(xyanometyl)-3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-carboxylat*

Gia nhiệt hỗn hợp gồm 3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol (1,06 g, 5,10 mmol), *tert*-butyl 3-(xyanometylen)azetidin-1-carboxylat (1,00 g, 5,15 mmol) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (0,38 mL, 2,6 mmol) trong axetonitril (20 mL) ở 60°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, loại bỏ dung môi ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (0-60%) để tạo ra sản phẩm mong muốn. Giá trị LCMS được tính cho $C_{16}H_{24}BN_4O_4$ ($M-55$)⁺: khối lượng/điện tích = 347,2; giá trị căn cứ: 347,1.

*Bước 2: {3-[3-Metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril hydroclorua*

Cho HCl 4,0 N trong dioxan (3 mL) vào dung dịch *tert*-butyl 3-(xyanometyl)-3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-carboxylat trong metylen clorua (10 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ

trong phòng. Cô đặc hỗn hợp này ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm thô dưới dạng muối của HCl. Giá trị LCMS được tính cho $C_{15}H_{24}BN_4O_2$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 303,2; giá trị căn cứ: 303,1.

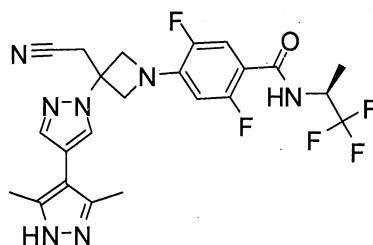
Bước 3: 5-{3-(Xyanometyl)-3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit

Gia nhiệt hỗn hợp gồm muối của {3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-3-yl}axetonitril và HCl (0,43 g, 1,3 mmol), 5-Clo-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit (0,24 g, 1,2 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (0,63 mL, 3,6 mmol) trong rượu *tert*-butyl (12 mL, 120 mmol) ở 100°C trong 4 giờ. Sau khi làm nguội, loại bỏ dung môi ở áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột nhanh trên cột silica gel rửa giải với etyl axetat trong hexan (0-60%) để tạo ra sản phẩm mong muốn. Giá trị LCMS được tính cho $C_{23}H_{33}BN_7O_3$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 466,3; giá trị căn cứ: 466,2.

Bước 4: 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3,3'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

Hợp chất này được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tương tự như các quy trình được mô tả cho sự tổng hợp theo Ví dụ 4, Bước 6 bắt đầu từ 4-brom-3-metyl-1H-pyrazol và 5-{3-(xyanometyl)-3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit. Giá trị LCMS được tính cho $C_{21}H_{26}N_9O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 420,2; giá trị căn cứ: 420,1.

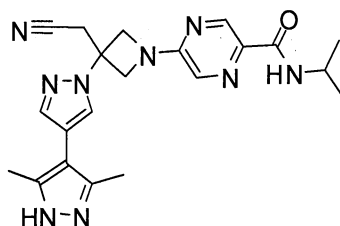
Ví dụ 7. 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid



Xối rửa hỗn hợp gồm 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (329 mg, 0,610 mmol, từ Ví dụ 4, bước 5), 4-brom-3,5-dimetyl-1H-pyrazol (206 mg, 1,18 mmol), tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (110 mg, 0,098

mmol) và natri carbonat (320 mg, 3,0 mmol) trong 1,4-dioxan (10 mL)/nước (5 mL) bằng nitor và khuấy hỗn hợp này ở 110°C trong 1 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng với EtOAc, rửa với nước và nước muối, cô đặc hỗn hợp. Tinh chế phân cận lần đầu bằng silica gel (rửa giải bằng EtOAc 0-100%/hexan tiếp theo là bằng methanol 10%/diclometan), và sau đó phân tích bằng LCMS điều chế (cột XBridge C18, rửa giải với gradien axetonitril/nước chứa amoni hydroxit 0,1%, với tốc độ dòng là 60 mL/phút) để tạo sản phẩm mong muốn (30 mg, 9,7%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,17 (1H, s), 8,45 (1H, d, *J* = 8,0 Hz), 8,10 (1H, s), 7,70 (1H, s), 7,34 (1H, m), 6,61 (1H, s), 4,77 (1H, m), 4,62 (2H, d, *J* = 9,0 Hz), 4,39 (1H, d, *J* = 9,0 Hz), 3,64 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,31 (6H, d, *J* = 7,0 Hz) ppm. Giá trị LCMS được tính cho C₂₃H₂₃F₅N₇O (M+H)⁺: khối lượng/điện tích = 508,2; giá trị căn cứ: 508,0.

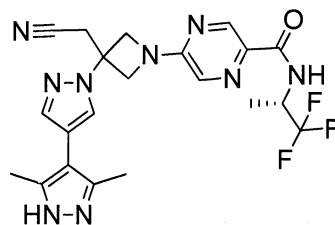
Ví dụ 8. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit



Xối rửa hỗn hợp gồm 5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit (256 mg, 0,567 mmol, từ Ví dụ 2, bước 2), 4-brom-3,5-dimetyl-1H-pyrazol (119 mg, 0,681 mmol), dixyclohexyl(2',4',6'-triisopropylbiphenyl-2-yl)phosphin - (2'-aminobiphenyl-2-yl)(cloro)paladi (1:1) (67 mg, 0,085 mmol) và xesi carbonat (550 mg, 1,7 mmol) trong 1,4-dioxan (2 mL)/nước (1 mL) với nitor trong ba lần. Gia nhiệt phản ứng tới 53°C trong 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp này với EtOAc, rửa với nước muối, cô đặc. Tinh chế phân cận thu được lần đầu trên silica gel (rửa giải với EtOAc 0-100%/hexan tiếp theo là với methanol 10%/diclometan), và sau đó phân tích bằng LCMS điều chế (Cột XBridge C18, rửa giải với gradien axetonitril/nước chứa amoni hydroxit 0,1% , ở tốc độ dòng là 60 mL/phút) để tạo sản phẩm mong muốn (0,1 g, 40%). ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,64 (1H, d, *J* = 1,5 Hz), 8,12(1H, s), 8,06 (1H, d, *J* = 8,0 Hz), 7,96 (1H, d, *J* = 1,0 Hz), 7,71 (1H, s), 4,72 (2H, d, *J* = 9,5 Hz), 4,49 (1H, d, *J* = 9,5 Hz), 4,08 (1H, m), 3,68 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,16 (6H, d, *J* = 6,5 Hz) ppm. Giá trị LCMS được

tính cho $C_{21}H_{26}N_9O$ ($M+H$)⁺: khối lượng/điện tích = 420,2; giá trị căn cứ: 420,0.

Ví dụ 9. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit trifloaxetat



Bước 1. [3-(3',5'-Dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-3-yl]axetonitril hydroclorua

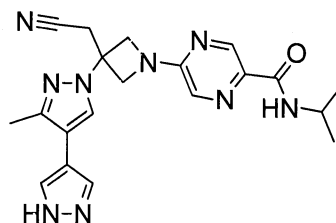
Xôi rửa hỗn hợp gồm *tert*-butyl 3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-carboxylat (381 mg, 0,981 mmol, từ ví dụ 1, bước 2), 4-brom-3,5-dimetyl-1H-pyrazol (206 mg, 1,18 mmol), tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (110 mg, 0,098 mmol) và natri carbonat (310 mg, 2,9 mmol) trong 1,4-dioxan (10 mL) và nước (5 mL) với N₂ và khuấy hỗn hợp ở 110°C trong 2 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng, pha loãng với EtOAc, sau đó rửa với nước. Cô đặc lớp hữu cơ và tinh chế trên silica gel (rửa giải với EtOAc 0-100%/hexan tiếp theo là với MeOH 0-10%/diclometan) để tạo *tert*-butyl 3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-carboxylat (90 mg, 26%). Giá trị LCMS được tính cho $C_{18}H_{25}N_6O_2$ ($M+H$)⁺: khối lượng/điện tích = 357,2; giá trị căn cứ: 357,2. Chất trung gian này được xử lý với hydro clorua 4,0 M trong dioxan (1,2 mL, 4,9 mmol) trong metylen clorua (1 mL) ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp này được tách loại chất bay hơi đến trạng thái khô để tạo sản phẩm mong muốn. Giá trị LCMS được tính cho $C_{13}H_{17}N_6$ ($M+H$)⁺: khối lượng/điện tích = 257,1; giá trị căn cứ: 257,1.

Bước 2. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

Gia nhiệt hỗn hợp gồm [3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-3-yl]axetonitril hydroclorua (13 mg, 0,039 mmol), 5-Clo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit (11 mg, 0,043 mmol, từ Ví dụ 1, bước 4) và *N,N*-diisopropyletylamin (28 μ L, 0,16 mmol) trong rượu *tert*-butyl (1 mL) ở 100°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, pha loãng hỗn hợp này với MeOH và tinh chế hỗn hợp bằng LCMS điều chế (điều kiện độ pH=2) để tạo sản phẩm mong muốn dạng muối TFA (4,1

mg, 22%). Giá trị LCMS được tính cho $C_{21}H_{23}F_3N_9O$ ($M+H$)⁺: khối lượng/điện tích = 474,2; giá trị căn cứ: 474,0.

Ví dụ 10. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3-metyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit trifloaxetat



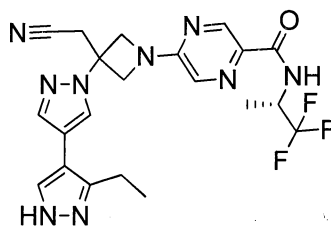
Bước 1: tert-Butyl 4-bromo -1H-pyrazol-1-carboxylat

Hợp chất này được điều chế bằng cách sử dụng quy trình tương tự như các quy trình được mô tả cho sự tổng hợp theo Ví dụ 1, Bước 6 bắt đầu từ 4-brom-1*H*-pyrazol. Giá trị LCMS được tính cho $C_4H_4BrN_2O_2$ ($M-55$)⁺: khối lượng/điện tích = 191,0; giá trị căn cứ: 190,9

Bước 2: 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit trifloaxetat

Hợp chất này được điều chế dưới dạng muối TFA bằng cách sử dụng quy trình tương tự như các quy trình được mô tả cho sự tổng hợp theo Ví dụ 4, Bước 6 bắt đầu từ *tert*-butyl 4-brom-1*H*-pyrazol-1-carboxylat và 5-{3-(xyanometyl)-3-[3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-*N*-isopropylpyrazin-2-carboxamit. Giá trị LCMS được tính cho $C_{20}H_{24}N_9O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 406,2; giá trị căn cứ: 406,1.

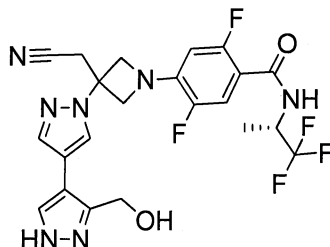
Ví dụ 11. 5-[3-(Xyanometyl)-3-(3'-etyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit trifloaxetat



Hợp chất này được điều chế dưới dạng muối TFA bằng cách sử dụng quy trình tương tự được mô tả cho sự tổng hợp theo Ví dụ 4, Bước 6 bắt đầu từ 5-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1*H*-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-*N*-

[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit (Ví dụ 1, Bước 5) và 4-brom-3-etyl-1H-pyrazol. Giá trị LCMS được tính cho $C_{21}H_{23}F_3N_9O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 474,2; giá trị căn cứ: 474,0.

Ví dụ 12. 4-{3-(Xyanometyl)-3-[3'-(hydroxymetyl)-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid trifloaxetat



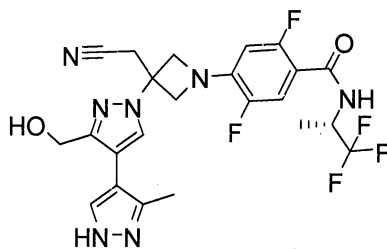
Bước 1: (4-brom-1H-pyrazol-5-yl)metanol

Cho Natri tetrahydroborat (0,13 g, 3,4 mmol) vào dung dịch 4-brom-1H-pyrazol-5-cacbandehit (0,30 g, 1,7 mmol, của hãng Maybridge) trong tetrahydrofuran (5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 50°C trong 1 giờ. Dập tắt hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hòa, và chiết bằng etyl axetat (3 x 20 mL). Rửa các lớp hữu cơ đã được gộp lại bằng nước muối, làm khan qua $MgSO_4$, lọc và cô đặc ở áp suất thấp để tạo ra sản phẩm thô mà được sử dụng trực tiếp trong phản ứng ở bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. Giá trị LCMS được tính cho $C_4H_6BrN_2O$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 177,0; giá trị căn cứ: 176,9.

Bước 2: 4-{3-(Xyanometyl)-3-[3'-(hydroxymetyl)-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid trifloaxetat

Hợp chất này được điều chế dưới dạng muối TFA bằng cách sử dụng quy trình tương tự như các quy trình được mô tả cho sự tổng hợp theo Ví dụ 4, Bước 6 bắt đầu từ 4-{3-(xyanometyl)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid và (4-brom-1H-pyrazol-3-yl)metanol. Giá trị LCMS được tính cho $C_{22}H_{21}F_5N_7O_2$ ($M+1$)⁺: khối lượng/điện tích = 510,2; giá trị căn cứ: 510,0.

Ví dụ 13. 4-{3-(Xyanometyl)-3-[3-(hydroxymetyl)-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid



Bước 1. Etyl 4-brom-1-{3-(xyanometyl)-1-[2,5-diflo-4-({[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]amino}carbonyl)phenyl]azetidin-3-yl}-1H-pyrazol-3-carboxylat

Cho vào lọ vi sóng các chất gồm rượu isopropyl (10 mL), etyl 4-brom-1H-pyrazol-3-carboxylat (của hãng ChemBridge) (788 mg, 3,60 mmol), 1,8-diazabixclo[5.4.0]undec-7-en (48,9 μ L, 0,327 mmol) và 4-[3-(xyanometylen)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (từ ví dụ 4 bước 4, 1,13 g, 3,27 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở 80°C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, loại bỏ dung môi *trong chân không*. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột nhanh (rửa giải với etyl axetat 0-35% trong hexan) để tạo sản phẩm mong muốn dạng bột trắng. ^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8,61 (s, 1H), 8,47 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,34 (dd, $J = 12,5$ và $6,3$ Hz, 1H), 6,62 (dd, $J = 11,9$ và $7,3$ Hz, 1H), 4,76 (dt, $J = 15,5$ và $7,8$ Hz, 1H), 4,61 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H), 4,39 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 4,32 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,68 (s, 2H), 1,31 (m, 6H) ppm. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{BrF}_5\text{N}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: khối lượng/điện tích = 564,1; giá trị căn cứ: 563,8.

Bước 2. Etyl 1-{3-(xyanometyl)-1-[2,5-diflo-4-({[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]amino}carbonyl)phenyl]azetidin-3-yl}-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-3-carboxylat

Nạp vào lọ vi sóng các chất gồm rượu *tert*-butyl (1,2 mL), và nước (1,2 mL), xesi florua (683 mg, 4,50 mmol), etyl 4-brom-1-{3-(xyanometyl)-1-[2,5-diflo-4-({[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]amino}carbonyl)phenyl]azetidin-3-yl}-1H-pyrazol-3-carboxylat (725 mg, 1,28 mmol) và 3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-pyrazol (401 mg, 1,93 mmol), tiếp theo là Pd-127 (49 mg, 0,064 mmol) (của hãng Johnson Mathew). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 85°C trong 48 giờ. Làm nguội phản ứng tới nhiệt độ trong phòng, pha loãng với nước và etyl axetat. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 , cô đặc. Tinh chế phân cận thu được bằng sắc ký cột nhanh (rửa giải với etyl axetat 30-100% trong hexan) để tạo sản phẩm mong muốn dạng dầu. Giá trị LCMS được tính cho $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: khối

lượng/điện tích = 566,2; giá trị căn cứ: 566,0.

Bước 3. 4-{3-(Xyanometyl)-3-[3-(hydroxymetyl)-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Cho lithi tetrahydroborat 2,0 M trong THF (0,12 mL, 0,25 mmol) vào dung dịch etyl 1-{3-(xyanometyl)-1-[2,5-diflo-4-({[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]amino}carbonyl)phenyl]azetidin-3-yl}-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-3-carboxylat (35 mg, 0,062 mmol) trong THF (0,5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Làm nguội phản ứng từ từ bằng nước. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Cô đặc lớp hữu cơ. Tinh chế phần cặn thu được bằng LCMS điều chế (Cột XBridge C18, rửa giải với gradien gồm axetonitril/nước chứa amoni hydroxit 0,1%, ở tốc độ dòng chảy là 60 mL/phút) để tạo sản phẩm mong muốn. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,79 – 7,68 (m, 2H), 7,61 (s, 1H), 6,65 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 4,99 – 4,89 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 4,60 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 4,45 (dd, *J* = 8,9 và 2,0 Hz, 2H), 3,38 (s, 2H), 2,34 (s, 3H), 1,41 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H). Giá trị LCMS được tính cho C₂₃H₂₃F₅N₇O₂ (M+H)⁺: khối lượng/điện tích = 524,2; giá trị căn cứ: 524,0.

Ví dụ 14. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 1)

Cho etanol (0,3 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (24,8 mg, 0,0489 mmol) và khuấy hỗn hợp này đến khi tạo thành dung dịch trong suốt. Thêm axit phosphoric trong isopropanol (0,064 mL, 1 M, 0,064 mmol, 1,3 đương lượng) vào hỗn hợp và khuấy hỗn hợp này trong 2 phút để tạo thành huyền phù đặc. Sau đó khuấy huyền phù đặc này liên tục qua đêm. Lọc hỗn hợp này, và rửa phần bánh lọc với metyl *tert*-butyl ete (MTBE). Làm khô trong không khí phần bánh lọc này để tạo ra muối trên tiêu đề (26,3 mg, 88,9%). Mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) được xác định cho muối của axit phosphoric và được minh họa trong Fig. 1. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

2-Theta	Chiều cao	H%
---------	-----------	----

6,848	841	64,7
8,225	135	10,4
11,778	214	16,5
12,854	378	29,1
13,577	543	41,7
14,741	157	12,1
15,967	589	45,3
16,557	1061	81,6
17,425	216	16,6
18,021	299	23
19,907	1139	87,6
20,791	1300	100
21,267	248	19,1
22,556	168	12,9
23,77	949	73
24,667	716	55,1
25,698	913	70,2
26,159	434	33,4
27,392	140	10,8
28,647	199	15,3
29,667	251	19,3
30,411	333	25,6
31,213	141	10,9
32,115	84	6,5
32,893	170	13,1
33,572	109	8,4
34,449	108	8,3
35,264	82	6,3
35,741	78	6
36,709	170	13,1
37,381	103	7,9

38,828	63	4,9
39,443	117	9
40,559	88	6,8
41,227	88	6,8
43,396	61	4,7
44,1	90	6,9

Ví dụ 15. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 2)

Cho axetonitril (0,3 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (24,6 mg, 0,0485 mmol) và khuấy hỗn hợp này đến khi thu được dung dịch trong suốt. Thêm axit phosphoric trong isopropanol (0,063 mL, 1 M, 0,063 mmol, 1,3 đương lượng) vào hỗn hợp trên và khuấy hỗn hợp này trong 2 giờ để tạo thành huyền phù đặc, sau đó khuấy liên tục huyền phù đặc này qua đêm. Lọc hỗn hợp này, và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề (26,27 mg, 89,5%). Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit phosphoric và được thể hiện trong Fig. 2. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 3 dưới đây.

Bảng 3

2-Theta	Chiều cao	H%
6,884	499	54,1
8,305	90	9,7
11,868	165	17,9
12,945	302	32,8
13,685	411	44,6
14,831	125	13,6
16,116	368	40
16,656	818	88,8

23942

17,528	184	19,9
18,135	278	30,1
20,003	845	91,7
20,898	921	100
21,335	178	19,3
22,409	139	15,1
22,701	135	14,6
23,894	711	77,2
24,796	535	58,1
25,821	778	84,4
26,266	245	26,6
27,483	122	13,2
28,742	160	17,4
29,761	208	22,6
30,539	237	25,7
31,331	111	12
32,176	55	5,9
33,026	134	14,5
33,714	88	9,5
34,542	69	7,5
35,263	60	6,5
35,829	48	5,3
36,838	108	11,8
37,369	64	7
38,956	53	5,8
39,631	89	9,7
40,7	75	8,2
41,298	71	7,7
43,504	54	5,9
44,228	76	8,3

Ví dụ 16. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 3)

Cho isopropanol (1,23 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (98,93 mg, 0,195 mmol) và khuấy hỗn hợp này đến khi thu được dung dịch trong suốt. Thêm axit phosphoric trong isopropanol (0,273 mL, 1 M, 0,273 mmol, 1,4 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp này trong 1 giờ tại 70°C để tạo thành huyền phù đặc. Sau đó làm nguội huyền phù đặc này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Lọc hỗn hợp này, và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề (109,1 mg, 92,4%). Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit phosphoric và được thể hiện trong Fig. 3. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 4 dưới đây.

Bảng 4

2-Theta	Chiều cao	H%
6,856	1268	100
8,237	133	10,5
11,765	209	16,5
12,859	343	27
13,596	472	37,2
14,74	127	10
15,931	403	31,8
16,569	912	72
17,425	177	13,9
17,964	80	6,3
18,495	117	9,2
19,926	876	69
20,783	865	68,2
21,274	197	15,6

22,561	152	12
23,727	634	50
24,637	370	29,2
25,706	443	35
26,157	290	22,9
27,597	117	9,3
28,627	120	9,5
29,682	151	11,9
30,389	186	14,6
31,186	103	8,1
32,128	55	4,3
32,872	98	7,7
33,483	72	5,7
34,435	87	6,8
35,257	42	3,3
35,742	56	4,4
36,667	95	7,5
37,413	84	6,7
39,574	56	4,4
41,182	60	4,8
44,124	64	5

Ví dụ 17. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 4)

Bước 1. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (dạng thô)

Cho dung dịch axit phosphoric 85% (119,65 g, 1037,8 mmol) trong isopropanol (120,0 mL) vào dung dịch trong suốt gồm 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-

4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (405,0 g, 798,1 mmol) trong metanol (520,0 mL) và isopropanol (2550,0 mL) ở 50°C trong hơn 18 phút để tạo thành huyền phù đặc. Khuấy huyền phù đặc thu được ở 50°C trong 1 giờ. Sau đó thêm *n*-Heptan (4050,0 mL) vào huyền phù đặc này trong 40 phút, đồng thời duy trì nhiệt độ bên trong huyền phù đặc khoảng 46 đến 53°C. Sau khi bổ sung *n*-heptan, làm nguội huyền phù đặc này từ từ đến nhiệt độ trong phòng và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 19 giờ. Sau đó thu gom các chất rắn bằng cách lọc, rửa với hỗn hợp gồm isopropanol và *n*-heptan (tỷ lệ 3 : 10 theo thể tích, 2 x 700 mL) tiếp theo là với *n*-heptan (3 x 550 mL), và làm khô trong chân không ở nhiệt độ trong phòng để tạo ra muối dạng thô của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (434,6 g, hiệu suất 89,9%).

*Bước 2. Muối của axit phosphoric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (được tinh chế)*

Cho muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (958,3 g, 1583 mmol) ở Bước 1 và metanol (MeOH, 9583,0 mL) vào một bình đáy tròn 22 L được trang bị cơ cấu khuấy ở trên đầu và có cặp nhiệt được bọc bằng Teflon ở nhiệt độ trong phòng. Gia nhiệt huyền phù đặc thu được tới 50°C để tạo dung dịch trong suốt, có màu cam nhạt. Lọc trong dung dịch này, chuyển lại vào bình 22L và gia nhiệt hồi lưu để chưng cất metanol (4793 g, 6090 mL) trong 70 phút. Sau đó thêm Isopropanol (7700 mL) vào bình trong 30 phút trong khi duy trì nhiệt độ dung dịch này khoảng 50 đến 65°C. Sau khi bổ sung isopropanol xong, thêm từng phần nhỏ *n*-heptan (14400 mL) vào trong khi duy trì chưng cất từ từ hỗn hợp dung môi (MeOH, IPA và *n*-heptan) trong 2,5 giờ. Chưng cất tổng số 10818 g (15000 mL) hỗn hợp dung môi. Làm nguội từ từ huyền phù đặc thu được đến nhiệt độ trong phòng, và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 17 giờ. Thu gom các chất rắn bằng cách lọc, rửa bằng hỗn hợp gồm isopropanol và *n*-heptan (tỷ lệ 1:5 theo thể tích, 3000 mL) rửa tiếp bằng *n*-heptan (3 x 4000 mL), và làm khô trong chân không ở nhiệt độ trong phòng để tạo ra hợp chất trên tiêu đề dạng bột tinh thể màu trắng nhạt (925,7 g, hiệu suất 96,6%).

Muối của axit phosphoric thể hiện ở dạng muối với tỷ lệ 1:1 theo phân tích ^1H NMR và độ kết tinh được xác nhận bằng XRPD. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 9,35 (br. s, 4H), 8,50 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,34 (dd, $J = 12,5, 6,4$ Hz, 1H), 6,61 (dd, $J = 12,0, 7,4$ Hz, 1H), 4,86 – 4,69 (m, 1H), 4,61 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,38 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,64 (s, 2H), 2,21 (s, 6H), 1,30 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ 162,8, 156,7 (d, $J_{\text{CF}} = 246,5$ Hz), 146,9 (d, $J_{\text{CF}} = 236,1$ Hz), 141,6 (dd, $J_{\text{CF}} = 13,0, 11,7$ Hz), 140,3, 138,3, 125,8 (q, $J_{\text{CF}} = 281,8$ Hz), 125,6, 117,2, 116,4 (dd, $J_{\text{CF}} = 22,3, 4,6$ Hz), 115,1, 111,3 (dd, $J_{\text{CF}} = 15,7, 5,8$ Hz), 107,7, 102,0 (dd, $J_{\text{CF}} = 29,5, 4,5$ Hz), 62,3, 57,7, 57,7, 45,8 (q, $J_{\text{CF}} = 30,5$ Hz), 27,0, 13,3 (d, $J_{\text{CF}} = 1,7$ Hz), 11,7. $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}$ (giá trị MW tính được 507,46); LCMS: (EI) khối lượng/điện tích 508,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$). DSC thể hiện pic nóng chảy mạnh ở khoảng 227,62°C (lúc bắt đầu ở 224,45°C) như được thể hiện trong Fig. 4A. Hợp chất trên tiêu đề thể hiện mức tồn thất khối lượng là 0,129% ở tối đa 200°C như được minh họa trong Fig. 4B. Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit phosphoric và được minh họa trong Fig. 4C. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 5 dưới đây.

Bảng 5

2-Theta	Chiều cao	H%
6,805	8160	100
7,278	56	0,7
8,164	230	2,8
11,065	68	0,8
11,685	1060	13
12,798	260	3,2
13,512	920	11,3
14,667	110	1,3
15,923	686	8,4
16,49	2186	26,8
17,022	236	2,9
17,292	111	1,4
17,991	137	1,7

18,448	703	8,6
19,827	1407	17,2
20,677	2119	26
21,236	199	2,4
22,079	275	3,4
22,421	406	5
23,592	2119	26
24,635	424	5,2
25,317	296	3,6
25,64	674	8,3
26,161	363	4,5
27,284	94	1,2
27,989	198	2,4
28,628	118	1,4
29,63	135	1,7
30,419	455	5,6
32,099	60	0,7
32,832	148	1,8
33,346	166	2
34,436	447	5,5
35,711	117	1,4
36,719	295	3,6
37,349	135	1,7
38,802	53	0,6
39,585	108	1,3
40,565	64	0,8
41,224	260	3,2
42,44	68	0,8

Ví dụ 18. Muối của axit clohydric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy

trình 1)

Cho 2-butanol (1,2 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (97,64 mg, 0,192 mmol) và khuấy hỗn hợp này trong 2 phút để tạo ra dung dịch trong suốt. Cho axit clohydric trong isopropanol/isopropylaxetat (0,29 mL, 1 M trong IPA/IPAc từ HCl 3,7 M trong IPAc, 0,29 mmol, 1,5 đương lượng) vào hỗn hợp phản ứng để tạo thành dung dịch trong suốt. Khuấy dung dịch này trong 6 phút để tạo thành huyền phù đặc. Sau đó khuấy huyền phù đặc này ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Sau đó lọc huyền phù đặc này và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong chân không phần bánh lọc này trong 12 giờ ở 45-50°C để tạo ra muối trên tiêu đề (97,8 mg, 93,4%). DSC thể hiện pic nóng chảy mạnh ở khoảng 213,07°C (lúc bắt đầu là ở 209,22°C) như được minh họa trong Fig. 5A. Hợp chất trên tiêu đề thể hiện mức tồn thất khối lượng là 4,635% ở tối đa khoảng 210°C như được minh họa trong Fig. 5B. Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit clohydric và được minh họa trong Fig. 5C. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 6 dưới đây.

Bảng 6

2-Theta	Chiều cao	H%
7,067	208	38
12,234	289	53
13,716	308	56,4
14,48	133	24,4
14,784	295	54
15,459	289	52,9
16,259	181	33,1
16,609	359	65,7
17,121	347	63,5
19,486	129	23,5
20,439	147	27
21,259	95	17,4
22,865	223	40,8

23,857	335	61,3
24,771	546	100
25,704	204	37,4
26,496	284	51,9
27,429	334	61,1
28,354	194	35,6
28,71	106	19,3
31,472	70	12,8
31,84	117	21,4
34,09	117	21,5
40,551	58	10,6
41,48	75	13,8
44,075	53	9,7

Ví dụ 19. Muối của axit clohydric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 2)

Cho isopropanol (0,5 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (52,12 mg, 0,103 mmol) và khuấy hỗn hợp này trong 3 phút để tạo dung dịch trong suốt. Sau đó cho axit clohydric trong isopropanol/isopropylaxetat (0,144 mL, 1 M trong IPA/IPAc từ HCl 3,7 M trong IPAc, 0,144 mmol, 1,4 đương lượng) vào, thu được dung dịch trong suốt. Khuấy dung dịch trong suốt này trong 6-8 phút để tạo thành huyền phù đặc. Sau đó khuấy huyền phù đặc này ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Sau khi lọc huyền phù đặc này và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề (51,2 mg, 91,6%). Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit clohydric và được minh họa trong Fig. 6. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 7 dưới đây.

Bảng 7

2-Theta	Chiều cao	H%
6,967	164	47,1

12,082	267	76,8
13,388	202	58
13,71	150	43,1
14,831	101	29,1
15,438	97	27,9
16,243	174	50,1
16,634	348	100
16,97	189	54,2
17,576	76	21,8
19,672	96	27,5
20,758	141	40,6
21,163	94	27,1
22,879	110	31,7
23,928	115	33
24,735	128	36,8
25,097	149	42,9
26,444	120	34,4
26,767	112	32,2
27,416	147	42,3
28,344	105	30,2
28,686	105	30,2
29,508	58	16,7
30,156	67	19,2
31,853	50	14,3
41,126	44	12,7

Ví dụ 20. Muối của axit bromhydric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid

Cho isopropanol (0,6 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (54,74 mg, 0,108 mmol) và khuấy hỗn hợp này trong 3 phút để tạo dung dịch trong suốt.

Cho axit bromhydric trong isopropanol/nước (0,151 mL, 1 M IPA/nước từ HBr 48% trong nước, 0,144 mmol, 1,4 đương lượng) vào, thu được dung dịch trong suốt, sau đó khuấy dung dịch này trong khoảng 8 phút để tạo thành huyền phù đặc. Khuấy huyền phù này ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Sau khi lọc huyền phù đặc này và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề (53,12 mg, 83,7%). DSC thể hiện pic nóng chảy mạnh ở khoảng 203,19°C (lúc bắt đầu ở 199,26°C) như được minh họa trong Fig. 7A. Hợp chất trên tiêu đề thể hiện chỉ tổn thất khối lượng nhỏ khi lên đến khoảng 100°C như được minh họa trong Fig. 7B. Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit bromhydric và được minh họa trong Fig. 7C. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 8 dưới đây.

Bảng 8

2-Theta	Chiều cao	H%
7,007	254	36,6
12,179	139	20,1
12,445	116	16,8
13,468	86	12,4
14,377	297	42,9
15,042	65	9,4
15,622	192	27,6
16,211	140	20,1
17,051	281	40,5
17,407	87	12,5
18,5	62	8,9
19,583	121	17,5
20,222	308	44,4
21,104	347	50
22,821	376	54,2
23,484	338	48,8
23,663	137	19,8

24,279	137	19,8
24,889	693	100
25,425	171	24,7
25,99	76	11
26,62	203	29,3
27,095	330	47,6
27,483	116	16,7
28,208	382	55,1
28,572	159	22,9
29,801	134	19,3
30,33	89	12,8
31,278	160	23
31,971	66	9,5
33,731	118	17,1
34,608	103	14,8
35,638	68	9,8
36,746	111	16
38,497	72	10,3
39,297	112	16,2
40,476	98	14,2
41,364	169	24,4
43,37	68	9,8
43,804	60	8,7

Ví dụ 21. Muối của axit sulfuric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (Quy trình 1)

Cho isopropanol (0,5 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid (47 mg, 0,103 mmol) và khuấy hỗn hợp này trong 3 phút để tạo dung dịch trong suốt. Cho axit sulfuric trong isopropanol (0,5 M trong IPA từ axit sulfuric 98%, 0,051 mmol, 0,55

đương lượng) vào, thu được dung dịch trong suốt, sau đó khuấy dung dịch này trong 6-8 phút để tạo thành huyền phù đặc. Sau đó khuấy huyền phù đặc này ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Tiếp theo, lọc huyền phù đặc này và rửa phần bánh lọc với MTBE. Làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề (18,84 mg, 33,6%). DSC thể hiện hai pic thu nhiệt ở 136,16°C và 146,97°C (lúc bắt đầu là ở 122,15°C) và một pic thu nhiệt mạnh ở 259,16°C (lúc bắt đầu là ở 255,09°C) như được minh họa trong Fig. 8A. Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit sulfuric và được minh họa trong Fig. 8B. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 9 dưới đây.

Bảng 9

2-Theta	Chiều cao	H%
3,742	151	18,4
7,322	228	27,7
9,892	93	11,3
12,57	74	9
13,642	56	6,8
14,713	341	41,4
16,307	81	9,8
17,412	60	7,3
18,978	125	15,2
19,628	823	100
20,982	73	8,9
21,256	212	25,8
22,041	66	8
24,625	691	84
25,902	66	8
26,529	123	15
27,083	174	21,1
28,18	175	21,2
30,706	91	11,1
32,369	53	6,4

34,766	96	11,6
38,298	50	6
38,663	74	9
42,485	48	5,8

Ví dụ 22. Muối của axit sulfuric và 4-[3-(Xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit (Quy trình 2)

Cho isopropanol (0,5 mL) vào 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1*H*,1'*H*-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-*N*-[(1*S*)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamit (27,91 mg, 0,055 mmol) để tạo dung dịch trong suốt. Cho axit sulfuric trong nước (1,0 M, 0,06 mmol, 1,09 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp thu được để tạo thành huyền phù đặc. Gia nhiệt huyền phù đặc này tới nhiệt độ trong phòng và khuấy liên tục qua đêm. Lọc hỗn hợp thu được và rửa phần bánh lọc với MTBE. Sau đó làm khô trong không khí phần bánh lọc để tạo ra muối trên tiêu đề. Mẫu XRPD được xác định cho muối của axit sulfuric và được minh họa trong Fig. 9. Danh sách các pic 2-theta được cung cấp trong Bảng 10 dưới đây.

Bảng 10

2-Theta	Chiều cao	H%
4,843	191	22,5
7,313	218	25,8
9,856	116	13,7
12,556	95	11,2
13,61	57	6,8
14,703	361	42,6
15,261	64	7,5
16,309	147	17,3
18,941	149	17,6
19,611	847	100

20,952	113	13,3
21,242	241	28,4
21,708	100	11,8
24,609	620	73,2
26,513	130	15,3
27,026	126	14,8
28,19	167	19,7
30,659	86	10,1
32,346	60	7
34,711	108	12,7
38,597	82	9,7
41,082	55	6,4
42,435	43	5,1

Ví dụ A: Thử nghiệm JAK kinaza *in vitro*

Hợp chất trong tài liệu này đã được thử nghiệm về hoạt tính ức chế của đích JAK theo thử nghiệm *in vitro* sau đây được mô tả trong tài liệu của Park *et al.*, *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Vùng xúc tác của JAK1 (axit amin 837-1142), JAK2 (axit amin 828-1132) và JAK3 (axit amin 781-1124) ở người với đuôi His đầu cuối N được biểu hiện bằng cách sử dụng virus baculo trong các tế bào côn trùng và được tinh chế. Hoạt tính xúc tác của JAK1, JAK2 hoặc JAK3 được phân tích bằng cách đo khả năng phosphoryl hóa của peptit đã được biotinyl hóa. Peptit đã qua phosphoryl hóa được phát hiện bằng phương pháp huỳnh quang phân tích thời gian đồng nhất (homogenous time resolved fluorescence - HTRF). Các giá trị IC_{50} của các hợp chất được đo cho từng loại kinaza trong các phản ứng cỡ 40 microL mà chứa enzyme này, ATP và peptit 500 nM trong chất đệm Tris 50 mM (độ pH 7,8) với NaCl 100 mM, DTT 5 mM, và BSA 0,1 mg/mL (0,01%). Với những phép đo IC_{50} 1 mM, nồng độ ATP trong các phản ứng này là 1 mM. Các phản ứng được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và sau đó được kết thúc bằng 20 μ L dung dịch EDTA 45 mM, SA-APC 300 nM, Eu-Py20 6 nM trong chất đệm thử nghiệm (của hãng Perkin Elmer, Boston, MA). Sự gắn kết với kháng thể được đánh dấu Europi diễn ra trong 40 phút và tín hiệu HTRF được đo trên máy đọc

đĩa Fusion (của hãng Perkin Elmer, Boston, MA). Xem Bảng 11 để có dữ liệu liên quan đến các hợp chất trong các ví dụ.

Bảng 11. Dữ liệu IC₅₀ trong thử nghiệm JAK (ở nồng độ ATP 1 mM)

Ví dụ số	JAK1 IC ₅₀ (nM)*	JAK2 IC ₅₀ (nM)*	JAK2/ JAK1
1	+	++++	>10
2	+	++	>10
3	+	+++	>10
4	+	++	>10
5	++	+++	>10
6	+	+++	>10
7	+	++	>10
8	+	++	>10
9	+	++	>10
10	++	+++	
11	++	+++	
12	++	+++	
13	+	+++	>10
17	+	++	>10

* (+) nồng độ 300 nM hoặc thấp hơn; (++) nồng độ >300 nM đến 1000 nM ; (+++) nồng độ >1000 nM ; (++++) nồng độ >700 nM

Ví dụ B: Các thử nghiệm tế bào

Các dòng tế bào ung thư phụ thuộc vào các xytokin và do đó truyền tín hiệu JAK/STAT, để sinh trưởng, có thể được đặt vào đĩa với mật độ 6000 tế bào trên mỗi giếng (kiểu đĩa 96 giếng) trong RPMI 1640, FBS 10%, và xytokin thích hợp 1 nG/mL. Các hợp chất có thể được thêm vào các tế bào này trong DMSO/môi trường (nồng độ cuối cùng DMSO 0,2%) và được ủ trong 72 giờ ở 37°C, CO₂ 5%. Ảnh hưởng của hợp chất đến độ sống sót của tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp thử

nghiệm độ sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo (Promega) tiếp theo là bằng phương pháp định lượng bằng thiết bị TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Các ảnh hưởng nằm ngoài đích tiềm tàng của các hợp chất này được đo song song bằng cách sử dụng dòng tế bào dẫn truyền không phải JAK với có cùng một kết quả đọc thử nghiệm. Tất cả các thí nghiệm thường được thực hiện trùng lặp.

Các dòng tế bào nêu trên cũng có thể được sử dụng để khảo sát các ảnh hưởng của các hợp chất này đến khả năng phosphoryl hóa của các JAK kinaza hoặc các cơ chất tiềm tàng cuối dòng phản ứng như là các protein STAT, Akt, Shp2, hoặc Erk. Các thí nghiệm này có thể được thực hiện sau khi bỏ đói xytokin qua đêm, tiếp theo là quá trình ủ sơ bộ nhanh với hợp chất (trong 2 giờ hoặc ít hơn) và kích thích xytokin trong khoảng gần 1 giờ hoặc ít hơn. Sau đó, protein được chiết ra khỏi tế bào và được phân tích bằng các kỹ thuật tương tự như các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này bao gồm phương pháp lai thấm protein (Western blot) hoặc phương pháp ELISA bằng cách sử dụng các kháng thể mà có thể phân biệt giữa protein đã phosphoryl hóa và protein tổng số. Các thí nghiệm này có thể sử dụng các tế bào bình thường hoặc tế bào ung thư để đánh giá hoạt tính của các hợp chất này về tính sinh học liên quan đến độ sống sót của tế bào khối u hoặc về các thể trung gian gây bệnh viêm. Ví dụ, về các thể trung gian gây bệnh viêm, các xytokin như IL-6, IL-12, IL-23, hoặc IFN có thể được sử dụng để kích thích sự hoạt hóa JAK dẫn đến sự phosphoryl hóa (các) protein STAT và có khả năng dẫn đến các cấu hình phiên mã (được đánh giá bằng ma trận mảng hoặc kỹ thuật qPCR) hoặc sự sản xuất và/hoặc sự bài tiết các protein, như IL-17. Khả năng các hợp chất này ức chế các ảnh hưởng do xytokin gián tiếp gây ra có thể được đo bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các hợp chất trong tài liệu này cũng có thể được thử nghiệm trong các mô hình tế bào được thiết kế để đánh giá hiệu lực và hoạt tính của chúng chống lại các JAK đột biến, ví dụ, đột biến JAK2V617F được phát hiện trong các rối loạn tăng sinh tủy. Các thí nghiệm này thường sử dụng các tế bào phụ thuộc xytokin thuộc dòng huyết học (ví dụ BaF/3) mà các JAK kinaza kiểu dại hoặc đột biến được biểu hiện sai lệch trong đó (James, C., *et al. Nature* 434:1144-1148; Staerk, J., *et al. JBC* 280:41893-41899). Các chỉ tiêu của dòng phản ứng bao gồm các ảnh hưởng của các hợp chất này lên khả năng sống sót của tế bào, sự tăng sinh tế bào, và các protein JAK, STAT, Akt, hoặc Erk đã phosphoryl hóa.

Các hợp chất cụ thể trong tài liệu này có thể được đánh giá về hoạt tính của chúng ức chế sự tăng sinh tế bào T. Như vậy thử nghiệm có thể được xem xét là thử nghiệm tăng sinh tế bào được dẫn truyền bởi xytokin thứ hai (*tức là JAK*) và cũng là thử nghiệm đơn giản về sự ức chế miễn dịch hoặc ức chế sự hoạt hóa miễn dịch. Sau đây là tóm tắt ngắn gọn về cách thức thực hiện các thí nghiệm này. Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (Peripheral blood mononuclear cells - PBMCs) được điều chế từ các mẫu máu toàn phần ở người sử dụng phương pháp phân tách Ficoll Hypaque và các tế bào-T (phân đoạn 2000) có thể thu được từ các PBMC bằng cách rửa lắng. Các tế bào-T ở người mới được phân lập có thể được bảo quản trong môi trường nuôi cấy (RPMI 1640 có bổ sung huyết thanh bào thai bò 10%, penixilin 100 U/ml, 1 streptomycin 100 µg/m) với mật độ 2×10^6 tế bào/ml ở 37°C trong hơn 2 ngày. Để phân tích sự tăng sinh tế bào được kích thích bởi IL-2, trước tiên các Tế bào-T được xử lý với chất kích thích tế bào phân chia Phytohemagglutinin (PHA) với nồng độ cuối cùng là 10 µg/mL trong 72 giờ. Sau khi rửa một lần bằng PBS, trải các tế bào với mật độ 6000 tế bào/giếng vào các đĩa 96 giếng và xử lý các tế bào này bằng các hợp chất ở những nồng độ khác nhau trong môi trường nuôi cấy với sự có mặt của IL-2 100 U/mL ở người (mua từ hãng ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Ủ các đĩa này ở 37°C trong 72 giờ và đánh giá chỉ số tăng sinh tế bào bằng cách sử dụng thuốc thử phát quang CellTiter-Glo theo quy trình do nhà máy sản xuất hướng dẫn (hãng Promega; Madison, WI).

Ví dụ C: Hiệu quả chống khối u in vivo

Các hợp chất trong tài liệu này có thể được đánh giá trong các mô hình ghép khối u ngoại lai ở người ở những con chuột bị tổn thương miễn dịch. Ví dụ, biến thể gây khối u thuộc dòng tế bào u tương bào INA-6 có thể được sử dụng để cấy dưới da cho chuột SCID (Burger, R., *et al. Hematol J.* 2:42-53, 2001). Sau đó, những con mang khối u có thể được chọn ngẫu nhiên vào các nhóm điều trị bằng thuốc hoặc chất dẫn thuốc và các liều khác nhau của các hợp chất này có thể được cấp theo một số đường dùng thông thường bất kỳ bao gồm đường uống, tiêm qua màng bụng, hoặc truyền liên tục bằng cách sử dụng bơm cấy. Theo dõi sự phát triển của khối u theo thời gian bằng cách sử dụng thước kẹp. Ngoài ra, các mẫu khối u có thể được thu thập lại ở thời điểm bất kỳ sau khi bắt đầu điều trị để phân tích như được mô tả ở trên (Ví dụ B) nhằm đánh giá các ảnh hưởng của hợp chất đến hoạt tính JAK và các đường truyền tín hiệu cuối dòng phản ứng. Ngoài ra, tính chọn lọc (các) hợp chất có thể được đánh giá bằng cách sử dụng mô

hình ghép khối u ngoại lai được dẫn truyền bởi các kinaza đã biết khác (ví dụ Bcr-Abl) như mô hình khối u K562.

Ví dụ D: Thử nghiệm đáp ứng quá mẫn chậm do tiếp xúc da ở chuột

Các hợp chất trong tài liệu này cũng có thể được thử nghiệm về hiệu quả của chúng (về mặt ức chế các đích JAK) trong mô hình thử nghiệm quá mẫn chậm ở chuột được dẫn truyền bởi tế bào-T. Đáp ứng quá mẫn kiểu chậm do tiếp xúc da (delayed-type hypersensitivity - DTH) ở chuột được coi là mô hình hợp lý về viêm da tiếp xúc lâm sàng, và các rối loạn miễn dịch do tế bào bạch huyết T khác ở da, ví dụ như bệnh vẩy nến (*Immunol Today*. 1998 Jan;19(1):37-44). Đáp ứng DTH ở chuột có chung nhiều đặc điểm với bệnh vẩy nến, bao gồm sự thâm nhiễm hệ miễn dịch, sự gia tăng các xytokin gây viêm kèm theo, và sự tăng sinh quá mức tế bào sừng. Ngoài ra, nhiều loại tác nhân có hiệu quả trong việc điều trị bệnh vẩy nến lâm sàng cũng là các chất ức chế hữu hiệu trong đáp ứng DTH ở chuột (*Agents Actions*. 01/1993; 38(1-2):116-21).

Vào ngày thứ 0 và 1, chuột Balb/c được gây nhạy cảm bằng cách bôi khu trú, vào phần bụng được cạo nhẵn của chúng với kháng nguyên 2,4,dinitro-flobenzen (DNFB). Vào ngày thứ 5, tiến hành đo độ dày của tai những con chuột này bằng cách sử dụng vi kế kỹ thuật. Các kết quả đo này được ghi chép lại và được sử dụng làm đường cơ sở. Sau đó cả hai tai của những con vật này được cho chịu thử thách bằng cách bôi khu trú DNFB với lượng tổng 20 μL (10 μL trên loa tai trong và 10 μL trên loa tai ngoài) ở nồng độ 0,2%. Từ 24 đến 72 giờ sau quá trình thử thách, đo lại lần nữa độ dày của tai những con vật này. Việc điều trị bằng các hợp chất thử nghiệm được xem xét thông qua các pha gây nhạy cảm và pha thử thách (ngày -1 đến ngày 7) hoặc trước khi và thông qua pha thử thách (thông thường là vào chiều ngày 4 đến ngày 7). Việc điều trị bằng các hợp chất thử nghiệm (ở nồng độ khác nhau) được cấp theo cách hoặc toàn thân hoặc khu trú (bôi khu trú chất điều trị vào tai). Hiệu quả của các hợp chất thử nghiệm này được nhận biết ở sự giảm mức sưng tai so với trường hợp không điều trị. Các hợp chất làm giảm 20% hoặc hơn trở lên được coi là hiệu quả. Trong một số thí nghiệm, chuột được cho chịu thử thách nhưng không được gây nhạy cảm (đối chứng âm).

Hiệu quả ức chế (ức chế sự hoạt hóa các con đường JAK-STAT) của các hợp chất thử nghiệm có thể được khẳng định bằng phương pháp phân tích hóa mô miễn dịch. Sự hoạt hóa (các) con đường JAK-STAT dẫn đến sự hình thành và sự chuyển vị của các

yếu tố phiên mã chức năng. Ngoài ra, ảnh hưởng của các tế bào miễn dịch và sự tăng sinh gia tăng của các tế bào sừng cũng cần mang lại thay đổi về kiểu biểu hiện độc nhất ở tai mà có thể được khảo sát và định lượng. Những phần tai được cố định bằng Focmalin và gắn parafin (được thu lại sau pha thử thách trong mô hình DTH) phải chịu quá trình phân tích hóa mô miễn dịch bằng cách sử dụng kháng thể tương tác đặc hiệu với STAT3 đã phosphoryl hóa (dòng 58E12, của hãng Cell Signaling Technologies). Tai của những con chuột này được xử lý bằng các hợp chất thử nghiệm, chất dẫn thuốc, hoặc dexamethason (đánh giá điều trị hiệu lực lâm sàng với bệnh vẩy nến), hoặc không có bất kỳ sự điều trị nào, mô hình DTH để có các kết quả so sánh. Các hợp chất thử nghiệm và dexamethason có thể mang lại những thay đổi phiên mã tương tự nhau về cả mặt định lượng và định tính, và cả các hợp chất thử nghiệm và dexamethason có thể làm giảm số lượng các tế bào xâm nhập. Cả phương thức cấp theo cách toàn thân và khu trú các hợp chất thử nghiệm này có thể mang lại các hiệu quả ức chế, *tức là*, làm giảm số lượng tế bào thâm nhập và ức chế những thay đổi phiên mã.

Ví dụ E: Hoạt tính kháng viêm *in vivo*

Các hợp chất trong tài liệu này có thể được đánh giá trong các mô hình động vật gặm nhấm hoặc không gặm nhấm được thiết kế để sao chép đáp ứng viêm duy nhất hoặc phức hợp. Ví dụ, mô hình động vật gặm nhấm của bệnh viêm khớp có thể được sử dụng để đánh giá tiềm năng điều trị của các hợp chất này với liều dùng ngăn ngừa hoặc liều dùng điều trị. Những mô hình này bao gồm nhưng không giới hạn ở bệnh viêm khớp do collagen ở chuột nhắt hoặc chuột đồng, bệnh viêm khớp do tá dược ở chuột, và bệnh viêm khớp do kháng thể collagen. Các bệnh tự miễn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bệnh đa xơ cứng, tiểu đường tuýp I, viêm màng giữa và đáy mắt, viêm tuyến giáp, bệnh nhược cơ, các dạng bệnh thận liên quan globulin miễn dịch, viêm cơ tim, nhạy cảm đường thở (hen suyễn), luput, hoặc viêm kết tràng cũng có thể được sử dụng để đánh giá khả năng điều trị của các hợp chất trong tài liệu này. Những mô hình này đã được thiết lập hợp lý trong cộng đồng nghiên cứu và tương tự với các mô hình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này (Current Protocols in Immunology, Tập 3., Coligan, J.E. *et al*, Wiley Press.; *Methods in Molecular Biology*: Tập. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. and Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

Ví dụ F: Các mô hình động vật để điều trị bệnh khô mắt, viêm màng bồ đào, và viêm

kết mạc

Các tác nhân có thể được đánh giá trong một hoặc nhiều mô hình tiền lâm sàng của bệnh khô mắt đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, mô hình tuyến lệ dùng concanavalin A (ConA) ở thỏ, mô hình chuột dùng scopolamin (dưới da hoặc thẩm thấu qua da), mô hình tuyến lệ chuột dùng Botulinum, hoặc mô hình bất kỳ trong số các mô hình tự miễn tự phát của loài gặm nhấm mà dẫn đến rối loạn chức năng tuyến mắt (ví dụ NOD-SCID, MRL/lpr, hoặc NZB/NZW) (Barabino et al., *Experimental Eye Research* 2004, 79, 613-621 và Schrader et al., *Developmental Ophthalmology*, Karger 2008, 41, 298-312, mỗi tài liệu trong số những tài liệu này được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn). Các chỉ tiêu trong các mô hình này có thể bao gồm mô bệnh học của tuyến mắt và mắt (giác mạc, v.v) và có thể là thử nghiệm Schirmer cổ điển hoặc những phiên bản được cải biến của nó (Barabino et al.) đo lượng nước mắt tạo ra. Hoạt tính có thể được đánh giá bằng cách cấp theo liều lượng qua nhiều đường dùng (ví dụ toàn thân hoặc khu trú) mà có thể bắt đầu trước khi hoặc sau khi có mặt bệnh đo lường được.

Các tác nhân có thể được đánh giá trong một hoặc nhiều mô hình tiền lâm sàng của bệnh viêm màng bồ đào đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các mô hình này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các mô hình về bệnh viêm màng bồ đào tự miễn thực nghiệm (experimental autoimmune uveitis - EAU) và viêm màng bồ đào do endotoxin (endotoxin induced uveitis - EIU). Các thử nghiệm EAU có thể được thực hiện trên thỏ, chuột đồng, hoặc chuột nhắt và có thể bao gồm quá trình tạo miễn dịch thụ động hoặc chủ động. Ví dụ, kháng nguyên bất kỳ trong số các kháng nguyên võng mạc có thể được sử dụng để gây nhạy cảm cho các con vật với chất kháng nguyên thích hợp sau khi mà các con vật này có thể được cho thử thách qua mắt với cùng một kháng nguyên. Mô hình EIU thì có tính cấp tính hơn và bao gồm việc dùng khu trú hoặc toàn thân lipopolysaccharit với các liều lượng không gây chết. Các chỉ tiêu của cả hai mô hình EIU và EAU có thể đòi hỏi bước khám võng mạc, mô bệnh học trong số các yêu cầu khác. Các mô hình này được xem xét bởi Smith et al. (*Immunology and Cell Biology* 1998, 76, 497-512, được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn). Hoạt tính được đánh giá bằng cách cấp theo liều lượng qua nhiều đường dùng (ví dụ toàn thân hoặc khu trú) mà có thể bắt đầu trước khi hoặc sau khi có mặt bệnh đo lường được. Một số mô hình được liệt kê ở trên cũng có thể tiến triển thành viêm màng cứng mắt/viêm thượng củng mạc,

viêm màng mạch, viêm thể mi, hoặc viêm móng mắt và hiệu quả của những mô hình này rất hữu ích trong việc khảo sát hoạt tính tiềm năng của các hợp chất để điều trị triệu chứng cho những bệnh này.

Các tác nhân này cũng có thể được đánh giá trong một hoặc nhiều mô hình tiền lâm sàng của bệnh viêm kết mạc đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các mô hình này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các mô hình động vật gặm nhấm sử dụng chuột lang, chuột đồng, hoặc chuột nhắt. Các mô hình chuột lang bao gồm các mô hình sử dụng quá trình tạo miễn dịch chủ động hoặc thụ động và/hoặc các quy trình thử thách miễn dịch đối với các kháng nguyên như ovalbumin hoặc cỏ phấn hương (được xem xét trong tài liệu của Groneberg, D.A., et al., Allergy 2003, 58, 1101-1113, được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn). Các mô hình chuột đồng và chuột nhắt nhìn chung cũng có thiết kế tương tự như các mô hình ở chuột lang (cũng được xem xét bởi Groneberg). Hoạt tính cũng được đánh giá bằng cách cấp theo liều lượng qua nhiều đường dùng (ví dụ toàn thân hoặc khu trú) mà có thể bắt đầu trước khi hoặc sau khi có mặt bệnh đo lường được. Các chỉ tiêu đối với các nghiên cứu này có thể bao gồm, ví dụ, mô học, miễn dịch học, hóa sinh, hoặc phân tích phân tử các mô mắt như kết mạc.

Ví dụ G: Bảo vệ xương in vivo

Các hợp chất có thể được đánh giá trong nhiều mô hình tiền lâm sàng khác nhau của chứng thiếu xương, chứng loãng xương, hoặc chứng tiêu xương đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các loài động vật gặm nhấm bị cắt bỏ buồng trứng có thể được sử dụng để đánh giá khả năng các hợp chất này ảnh hưởng đến những biểu hiện và dấu hiệu của sự tái cấu trúc xương và/hoặc mật độ xương (W.S.S. Jee và W. Yao, J Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1(3), 193-207, được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn). Ngoài ra, mật độ và cấu trúc xương có thể được đánh giá ở các loài động vật gặm nhấm được xử lý bằng mẫu đối chứng hoặc hợp chất sáng chế trong các mô hình trị liệu (ví dụ glucocorticoid) do chứng thiếu xương (Yao, et al. Arthritis and Rheumatism, 2008, 58(6), 3485-3497; và *id.* 58(11), 1674-1686, cả hai tài liệu này được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn). Ngoài ra, hiệu quả của các hợp chất này đối với chứng tiêu xương và mật độ xương có thể được đánh giá trong các mô hình động vật gặm nhấm của chứng viêm khớp đã thảo luận ở trên (Ví dụ E). Các chỉ tiêu của tất cả các mô hình này có thể thay đổi nhưng thường bao gồm mô học và các phép đánh giá

bức xạ cũng như hóa mô miễn dịch và các dấu hiệu hóa sinh thích hợp về sự tái cấu trúc xương.

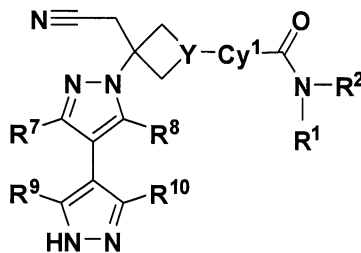
Ví dụ H: Mô hình chuột biến đổi gen S100A9

Đã có chứng minh từ trước rằng loài chuột biến đổi gen *S100A9* biểu hiện sự tích tụ tủy xương do MDSC đi kèm với sự phát triển của chứng thiếu tế bào máu đa dòng tiến triển và chứng loạn sản tế bào tương tự với MDS. Ngoài ra, sự trưởng thành cường bức sớm của MDSC theo cách điều trị bằng axit *tất cả là-trans-retinoic* hoặc gián đoạn protein điều chỉnh (DAP12) mang motif hoạt hóa thụ thể miễn dịch trên cơ sở tyrosin hoạt tính (liên kết - ITAM) trong sự truyền tín hiệu CD33 đã sửa chữa kiểu hình huyết học và giảm nhẹ bệnh. Hệ thống này có thể hữu ích khi thử nghiệm đánh giá các hiệu quả ức chế JAK1 lên bệnh tương tự MDS trong mô hình tiền lâm sàng. *J. Clin. Invest.*, 123(11):4595-4611 (2013), Theo đó, chất ức chế chọn lọc JAK1 được cấp theo liều lượng bằng ống thông qua miệng. Khả năng hợp chất này làm giảm nhẹ chứng thiếu tế bào máu và chứng loạn sản tế bào quan sát được trên chuột biến đổi gen *S100A9* được giám sát.

Nhiều nội dung cải biến khác nhau thuộc sáng chế, ngoài những nội dung được mô tả trong tài liệu này, sẽ trở nên sáng tỏ đối với các chuyên gia trong lĩnh vực này khi đọc phần mô tả nêu trên. Những nội dung cải biến này cũng được nhằm mục đích nằm trong phạm vi của phần yêu cầu bảo hộ kèm theo. Mỗi tài liệu tham khảo được trích dẫn trong sáng chế, bao gồm tất cả các patent, đơn patent, và các công bố đơn, được đưa vào đây toàn bộ bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



I

hoặc muối được dung của nó; trong đó:

Cy¹ là phenyl, pyridyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, hoặc pyridazinyl, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3, hoặc 4 nhóm độc lập được chọn từ R³, R⁴, R⁵, và R⁶;

Y là N hoặc CH;

R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₇ xycloalkyl, C₃₋₇ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, heteroxycloalkyl có 4-7 cạnh, heteroxycloalkyl-C₁₋₃ alkyl có 4-7 cạnh, phenyl, phenyl-C₁₋₃ alkyl, heteroaryl có 5-6 cạnh hoặc heteroaryl-C₁₋₃ alkyl có 5-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, C₁₋₃ alkyl, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), -N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)N(C₁₋₃ alkyl)₂, -C(=O)NH(C₁₋₃ alkyl), -C(=O)NH₂, -C(=O)O(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₁₋₃ alkyl), -S(=O)₂(C₃₋₆ xycloalkyl), -C(=O)(C₃₋₆ xycloalkyl), và -C(=O)(C₁₋₃ alkyl);

R² là H hoặc C₁₋₃ alkyl; trong đó C₁₋₃ alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), và -N(C₁₋₃ alkyl)₂; hoặc

R¹ và R², cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng heteroxycloalkyl có 4, 5 hoặc 6 cạnh, mà tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ F, Cl, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, -NH₂, -NH(C₁₋₃ alkyl), -N(C₁₋₃ alkyl)₂, -CH₂CN, và -CH₂OH;

R³ là H, F, Cl, -CN, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ floalkyl, -O(C₁₋₃ alkyl), hoặc -O(C₁₋₃ floalkyl);

R^4 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^5 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^6 là H, F, Cl, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} floalkyl, -O(C_{1-3} alkyl), hoặc -OC(C_{1-3} floalkyl);

R^7 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, -NR¹⁷R^{17a}, -NHC(=O)R^{17b}, -C(=O)NR^{17a}R^{17b}, -NHS(=O)₂R^{17b}, hoặc -S(=O)₂NR^{17a}R^{17b}, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, Cl, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, OH, -OCH₃, -OCF₃, -OCHF₂, và -OCH₂F;

R^8 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, hoặc C_{1-3} haloalkyl;

R^9 là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), hoặc -N(C_{1-3} alkyl)₂, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R^{10} là H, F, Cl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} haloalkyl, xyclopropyl, -CN, -NH₂, -NH(C_{1-3} alkyl), hoặc -N(C_{1-3} alkyl)₂, trong đó C_{1-3} alkyl nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, và OH;

R^{17} là C_{1-6} alkyl, phenyl hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh, mỗi phân tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3 hoặc 4 nhóm thế R^{27} được chọn một cách độc lập;

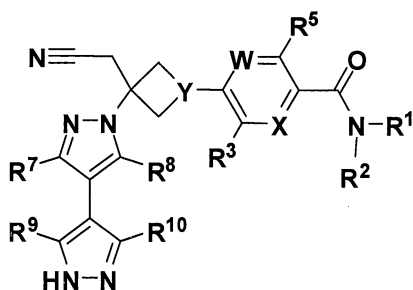
R^{17a} là H hoặc C_{1-3} alkyl;

R^{17b} là C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, OH, -OCH₃, và -OCF₃, -OCHF₂, và -OCH₂F; và

mỗi R^{27} được chọn một cách độc lập từ halo, -OH, NO₂, -CN, C_{1-3} alkyl, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} haloalkyl, xyano- C_{1-3} alkyl, HO- C_{1-3} alkyl, CF₃- C_{1-3} hydroxyalkyl, C_{1-3} alkoxy- C_{1-3} alkyl, C_{3-7} xycloalkyl, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} haloalkoxy, H₂N-, (C_{1-3} alkyl)NH-, (C_{1-3} alkyl)₂N-, HS-, C_{1-3} alkyl-S-, C_{1-3} alkyl-S(=O)-, C_{1-3} alkyl-S(=O)₂-, carbamyl, C_{1-3} alkylcarbamyl, di(C_{1-3} alkyl)carbamyl, carboxy, C_{1-3} alkyl-C(=O)-, C_{1-4} alkoxy-C(=O)-, C_{1-3} alkyl-C(=O)O-, C_{1-3} alkyl-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-

S(=O)₂NH-, H₂N-SO₂-, C₁₋₃ alkyl-NH-S(=O)₂-, (C₁₋₃ alkyl)₂N-S(=O)₂-, H₂N-S(=O)₂NH-, C₁₋₃ alkyl-NHS(=O)₂NH-, (C₁₋₃ alkyl)₂N-S(=O)₂NH-, H₂N-C(=O)NH-, C₁₋₃ alkyl-NHC(=O)NH-, và (C₁₋₃ alkyl)₂N-C(=O)NH-.

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



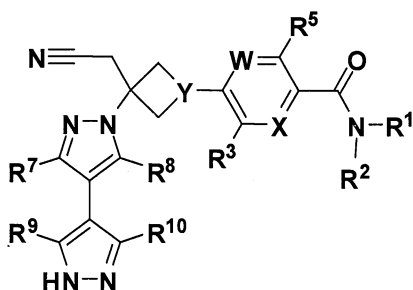
Ia

hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

X là N hoặc CR^4 ; và

W là N hoặc CR^6 .

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



Ia

hoặc muối được dụng của nó; trong đó:

X là N hoặc CR^4 ;

W là N hoặc CR^6 ;

Y là N hoặc CH;

R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, heteroxycloalkyl có từ 4-6 cạnh, hoặc heteroxycloalkyl-C₁₋₃ alkyl có 4-6 cạnh, mỗi phần tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn một cách độc lập từ flo, clo, C₁₋₃ alkyl, -OH, -O(C₁₋₃ alkyl), -CN, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -NH₂, -NH(C₁₋

3 alkyl), $-N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$, $-C(=O)N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$, $-C(=O)NH(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)O(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-S(=O)_2(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-S(=O)_2(C_{3-6} \text{ xycloalkyl})$, $-C(=O)(C_{3-6} \text{ xycloalkyl})$, và $-C(=O)(C_{1-3} \text{ alkyl})$;

R^2 là H hoặc $C_{1-3} \text{ alkyl}$; trong đó $C_{1-3} \text{ alkyl}$ nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, clo, $-OH$, $-O(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-CN$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, NH_2 , $-NH(C_{1-3} \text{ alkyl})$, và $-N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$; hoặc

R^1 và R^2 , cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng heteroxycloalkyl có 4, 5 hoặc 6 cạnh, mà tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-OH$, $-O(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-CN$, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, $C_{1-3} \text{ haloalkyl}$, $-NH_2$, $-NH(C_{1-3} \text{ alkyl})$, $-N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$, và $-CH_2CN$;

R^3 là H, F, Cl, $-CN$, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, $-OCF_3$, $-CF_3$, hoặc $-O(C_{1-3} \text{ alkyl})$;

R^4 là H, F, Cl, $-CN$, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, hoặc $-O(C_{1-3} \text{ alkyl})$;

R^5 là H, F, Cl, $-CN$, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, hoặc $-O(C_{1-3} \text{ alkyl})$;

R^6 là H, F, Cl, $-CN$, hoặc $C_{1-3} \text{ alkyl}$;

R^7 là H, F, Cl, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, $C_{1-3} \text{ haloalkyl}$, $-NR^{17}R^{17a}$, $-NHC(=O)R^{17b}$, $-C(=O)NR^{17a}R^{17b}$, $-NHS(=O)_2R^{17b}$, hoặc $-S(=O)_2NR^{17a}R^{17b}$, trong đó $C_{1-3} \text{ alkyl}$ nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, Cl, $-CN$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-NH_2$, và OH ;

R^8 là H, F, Cl, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, hoặc $C_{1-3} \text{ haloalkyl}$;

R^9 là H, F, Cl, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, $C_{1-3} \text{ haloalkyl}$, xyclopropyl, $-CN$, $-NH_2$, $-NH(C_{1-3} \text{ alkyl})$, hoặc $-N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$, trong đó $C_{1-3} \text{ alkyl}$ nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, $-CN$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-NH_2$, và OH ;

R^{10} là H, F, Cl, $C_{1-3} \text{ alkyl}$, $C_{1-3} \text{ haloalkyl}$, xyclopropyl, $-CN$, $-NH_2$, $-NH(C_{1-3} \text{ alkyl})$, hoặc $-N(C_{1-3} \text{ alkyl})_2$, trong đó $C_{1-3} \text{ alkyl}$ nêu trên tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, $-CN$, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-NH_2$, và OH ;

R^{17} là $C_{1-6} \text{ alkyl}$, phenyl hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh, mỗi phân tử trong tập hợp này tùy ý được thế bởi 1, 2, 3 hoặc 4 nhóm thế được chọn một cách độc lập từ R^{27} ;

R^{17a} là H hoặc $C_{1-3} \text{ alkyl}$;

R^{17b} là C_{1-3} alkyl tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế được chọn từ F, clo, -CN, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-NH_2$, và OH và

mỗi R^{27} được chọn một cách độc lập từ halo, -OH, NO_2 , -CN, C_{1-3} alkyl, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} haloalkyl, xyano- C_{1-3} alkyl, HO- C_{1-3} alkyl, CF_3 - C_{1-3} hydroxyalkyl, C_{1-3} alkoxy- C_{1-3} alkyl, C_{3-7} xycloalkyl, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} haloalkoxy, H_2N -, (C_{1-3} alkyl)NH-, (C_{1-3} alkyl) $_2$ N-, HS-, C_{1-3} alkyl-S-, C_{1-3} alkyl-S(=O)-, C_{1-3} alkyl-S(=O) $_2$ -, carbamyl, C_{1-3} alkylcarbamyl, di(C_{1-3} alkyl)carbamyl, carboxy, C_{1-3} alkyl-C(=O)-, C_{1-4} alkoxy-C(=O)-, C_{1-3} alkyl-C(=O)O-, C_{1-3} alkyl-C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-S(=O) $_2$ NH-, H_2N -SO $_2$ -, C_{1-3} alkyl-NH-S(=O) $_2$ -, (C_{1-3} alkyl) $_2$ N-S(=O) $_2$ -, H_2N -S(=O) $_2$ NH-, C_{1-3} alkyl-NHS(=O) $_2$ NH-, (C_{1-3} alkyl) $_2$ N-S(=O) $_2$ NH-, H_2N -C(=O)NH-, C_{1-3} alkyl-NHC(=O)NH-, và (C_{1-3} alkyl) $_2$ N-C(=O)NH-.

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

R^1 là C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl, trong đó C_{1-6} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, và C_{3-6} xycloalkyl- C_{1-3} alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, $-CF_3$, và metyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H, F, hoặc Cl;

R^4 là H hoặc F;

R^5 là H hoặc F;

R^6 là H hoặc F;

R^7 là H, metyl, etyl hoặc HO-CH $_2$ -;

R^8 là H hoặc metyl;

R^9 là H, metyl hoặc etyl; và

R^{10} là H, metyl, etyl hoặc HO-CH $_2$ -.

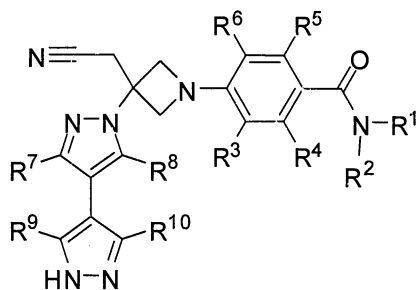
5. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 4, hoặc muối được dụng của nó, trong đó Y là N.

6. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 4, hoặc muối được dụng của nó, trong đó Y là CH.

7. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 6, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X là N.
8. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 6, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X là CR⁴.
9. Hợp chất theo điểm 8, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁴ là H hoặc F.
10. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 9, hoặc muối được dụng của nó, trong đó W là N.
11. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 9, hoặc muối được dụng của nó, trong đó W là CR⁶.
12. Hợp chất theo điểm 11, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁶ là H, F, hoặc Cl.
13. Hợp chất theo điểm 11, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁶ là H hoặc F.
14. Hợp chất theo điểm 11, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁶ là H.
15. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 14, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R³ là H hoặc F.
16. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 2 đến 15, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R⁵ là H hoặc F.
17. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R² là H hoặc methyl.
18. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R² là H.
19. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R¹ là C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ haloalkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, hoặc C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl, trong đó C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, và C₃₋₆ xycloalkyl-C₁₋₃ alkyl nêu trên, mỗi nhóm tùy ý được thế bởi 1, 2, hoặc 3 nhóm thế độc lập được chọn từ flo, -CF₃, và methyl.
20. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R¹ là isopropyl, etyl, 1-metylpropyl, 2,2,2-triflo-1-metyletyl, 1-

xyclopropyletyl, xyclopropyl, 1-triflometylxcyclopropyl, 1-xyclopropyl-2,2,2-trifloetyl, 2,2,2-trifloetyl, hoặc 2,2-difloetyl.

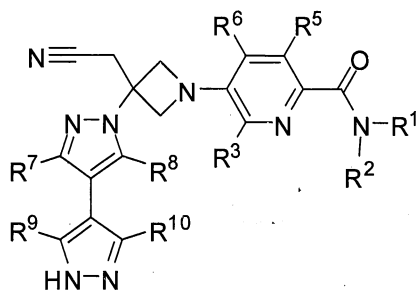
21. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 là isopropyl, etyl, 1-metylpropyl, hoặc 2,2,2-triflo-1-metyletyl.
22. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 21, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^7 là H, metyl, etyl, hoặc $HO-CH_2-$.
23. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 22, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^8 là H hoặc metyl.
24. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 22, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^8 là H.
25. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 24, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^9 là H, metyl hoặc etyl.
26. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 24, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^9 là H.
27. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 24, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^9 là metyl.
28. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^{10} là H, metyl, etyl, hoặc $HO-CH_2-$.
29. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^{10} là H.
30. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^{10} là metyl.
31. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^{10} là etyl.
32. Hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^{10} là $HO-CH_2-$.
33. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức II:



II

hoặc muối được dụng của nó.

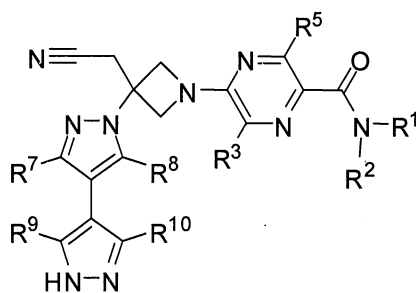
34. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức III:



III

hoặc muối được dụng của nó.

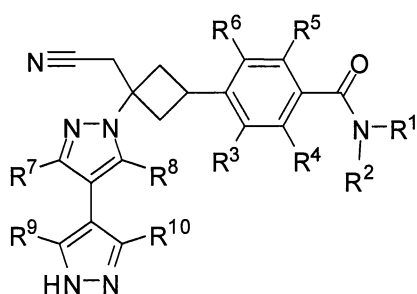
35. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức IV:



IV

hoặc muối được dụng của nó.

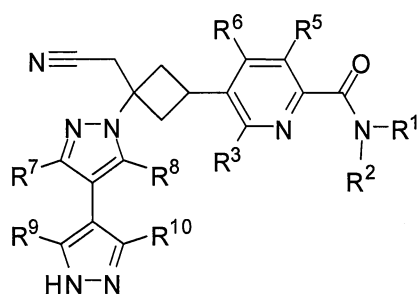
36. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức IIa:



IIa

hoặc muối được dụng của nó.

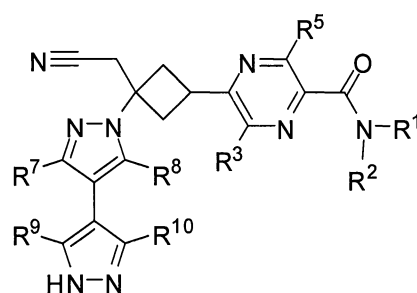
37. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức IIIa:



IIIa

hoặc muối được dụng của nó.

38. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức IVa:



IVa

hoặc muối được dụng của nó.

39. Hợp chất theo điểm 1 được chọn từ:

5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit;

4-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylbenzamid;

4-[3-(xyanometyl)-3-(3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

4-[3-(1H,1'H-4,4'-Bipyrazol-1-yl)-3-(xyanometyl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3,3'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit;

4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-isopropylpyrazin-2-carboxamit;

5-[3-(xyanometyl)-3-(3'-etyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]pyrazin-2-carboxamit;

4-{3-(xyanometyl)-3-[3'-(hydroxymetyl)-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid; và

4-{3-(xyanometyl)-3-[3-(hydroxymetyl)-3'-metyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl]azetidin-1-yl}-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

hoặc muối được dụng của nó.

40. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, hoặc muối được dụng của nó.

41. Muối được chọn từ:

muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

muối của axit clohydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid;

muối của axit bromhydric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid; và

muối của axit sulfuric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid.

42. Chế phẩm chứa hợp chất theo một điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 40 và chất mang dược dụng.

43. Quy trình điều chế muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid, bao gồm bước:

(a) hòa tan muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid trong metanol ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C để tạo thành hỗn hợp thứ nhất;

(b) bổ sung n-heptan vào hỗn hợp thứ nhất này ở nhiệt độ từ khoảng 40°C đến khoảng 70°C để tạo thành hỗn hợp thứ hai; và

(c) làm nguội hỗn hợp thứ hai này để tạo thành muối của axit phosphoric và 4-[3-(xyanometyl)-3-(3',5'-dimetyl-1H,1'H-4,4'-bipyrazol-1-yl)azetidin-1-yl]-2,5-diflo-N-[(1S)-2,2,2-triflo-1-metyletyl]benzamid.

44. Chế phẩm chứa muối theo điểm 41 và chất mang dược dụng.

45. Phương pháp ức chế *in vitro* hoạt tính JAK1 bao gồm bước cho JAK1 tiếp xúc với hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 40.

46. Phương pháp ức chế *in vitro* hoạt tính JAK1 bao gồm bước cho JAK1 tiếp xúc với muối theo điểm 41.

Fig. 1

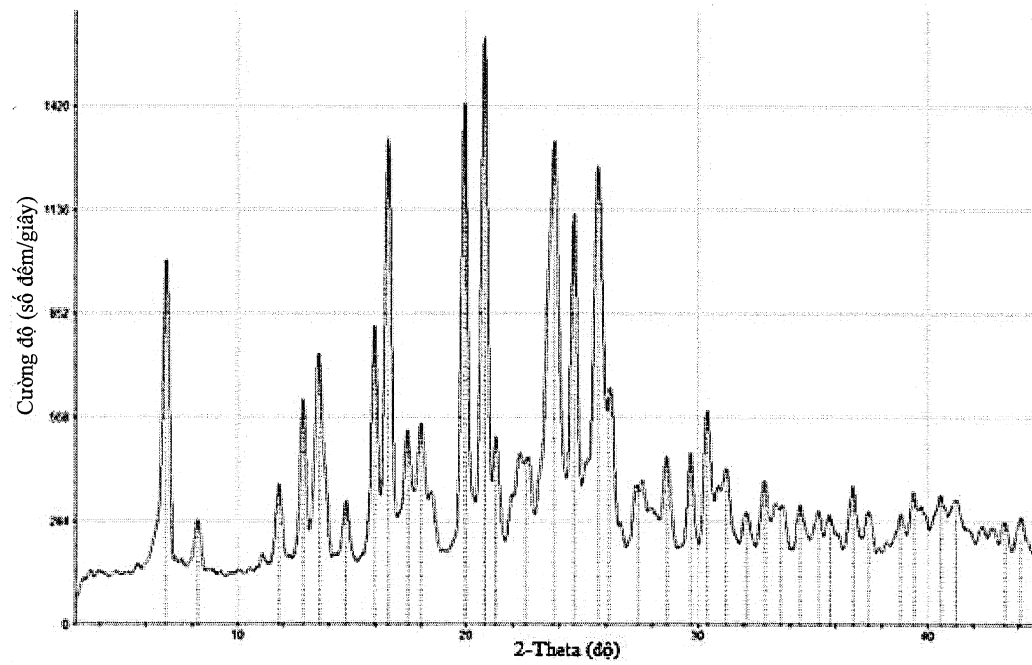


Fig. 2

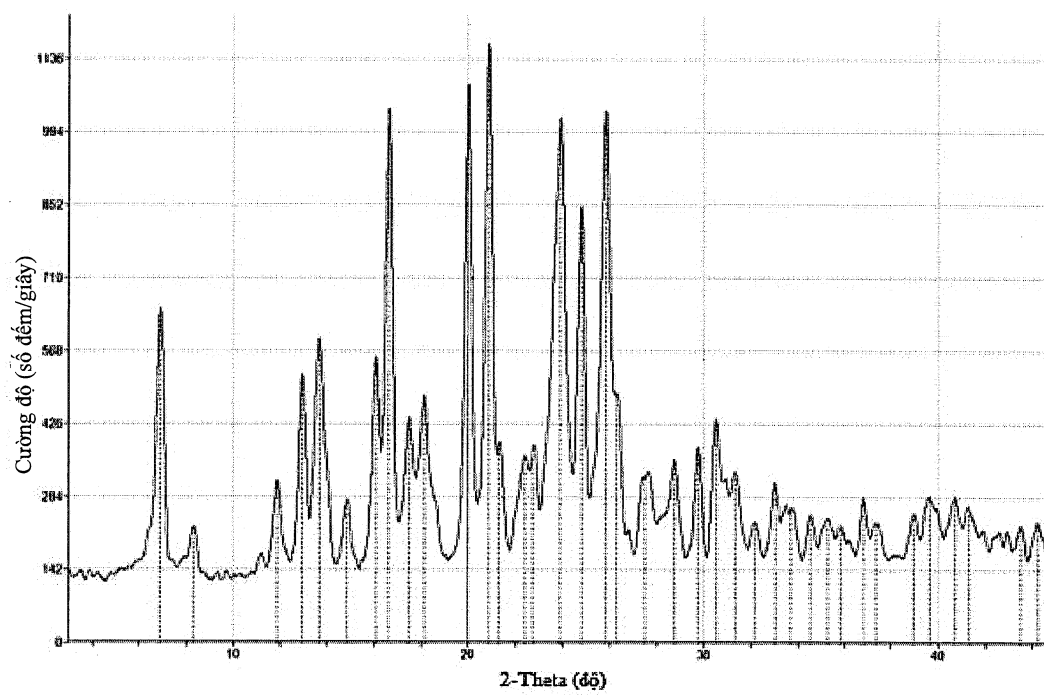


Fig. 3

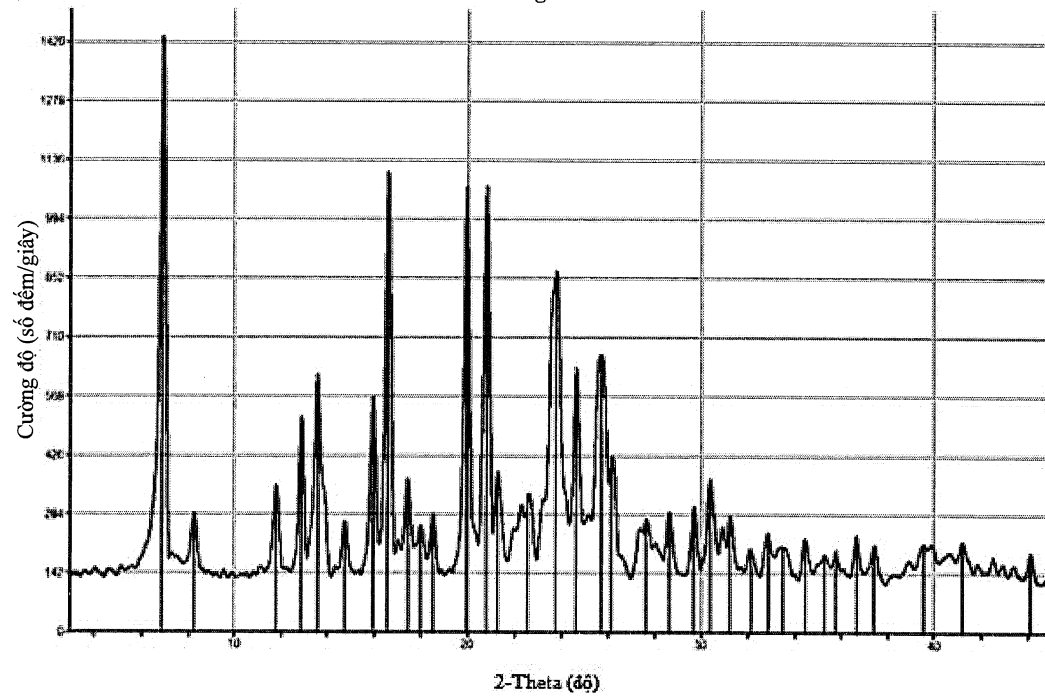


Fig. 4A

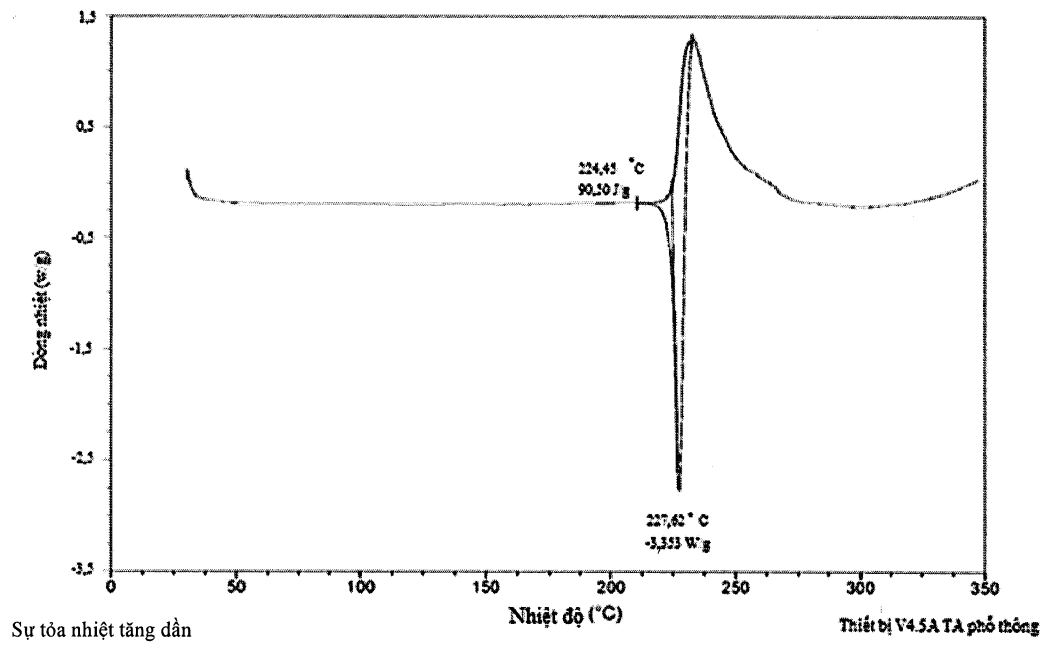


Fig. 4B

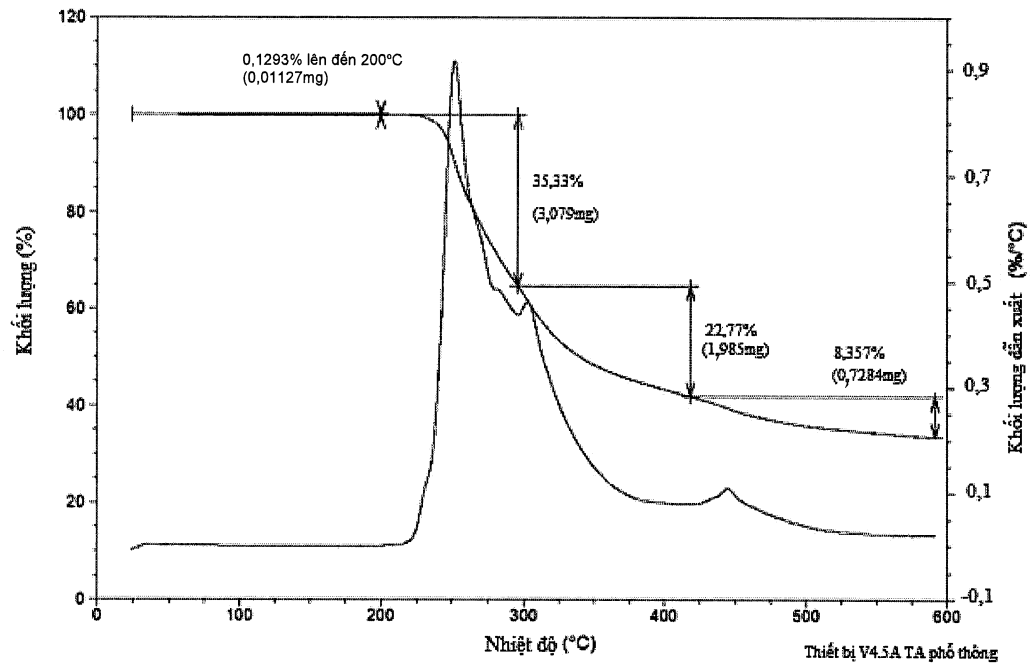


Fig. 4C

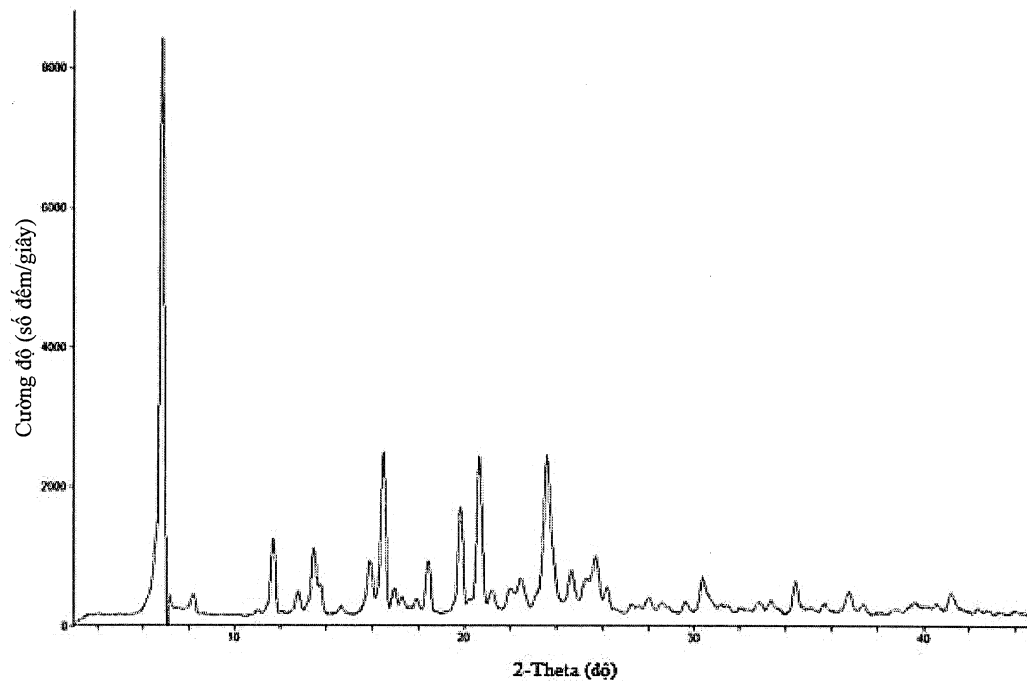


Fig. 5A

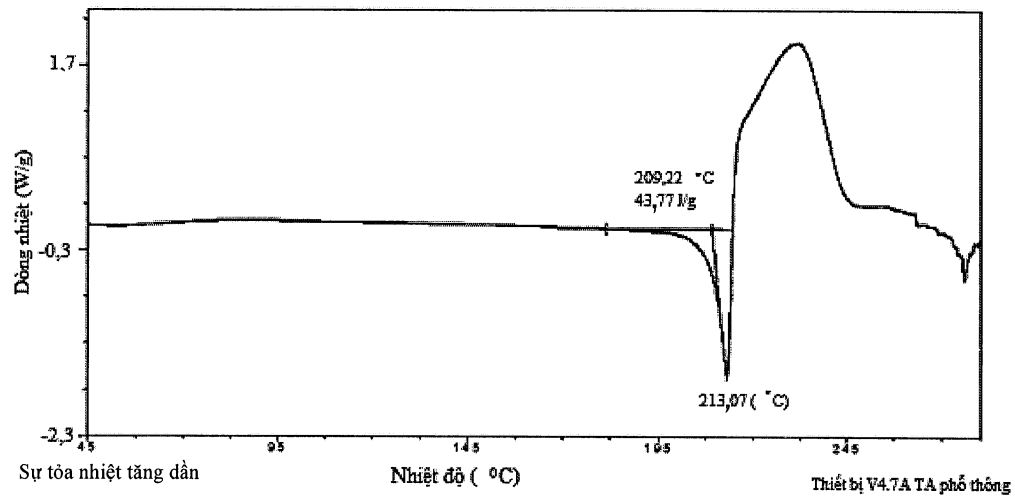


Fig. 5B

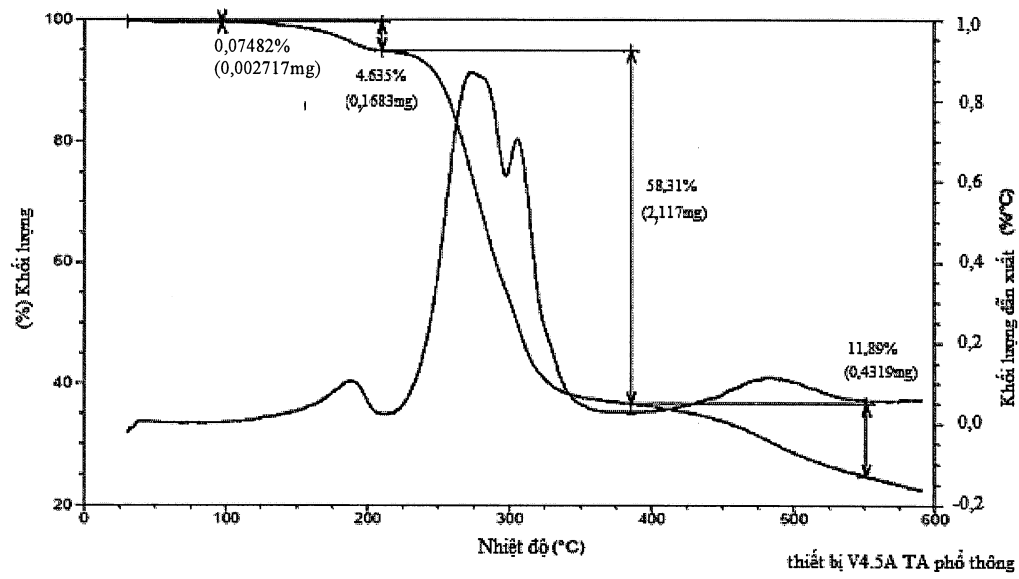


Fig. 5C

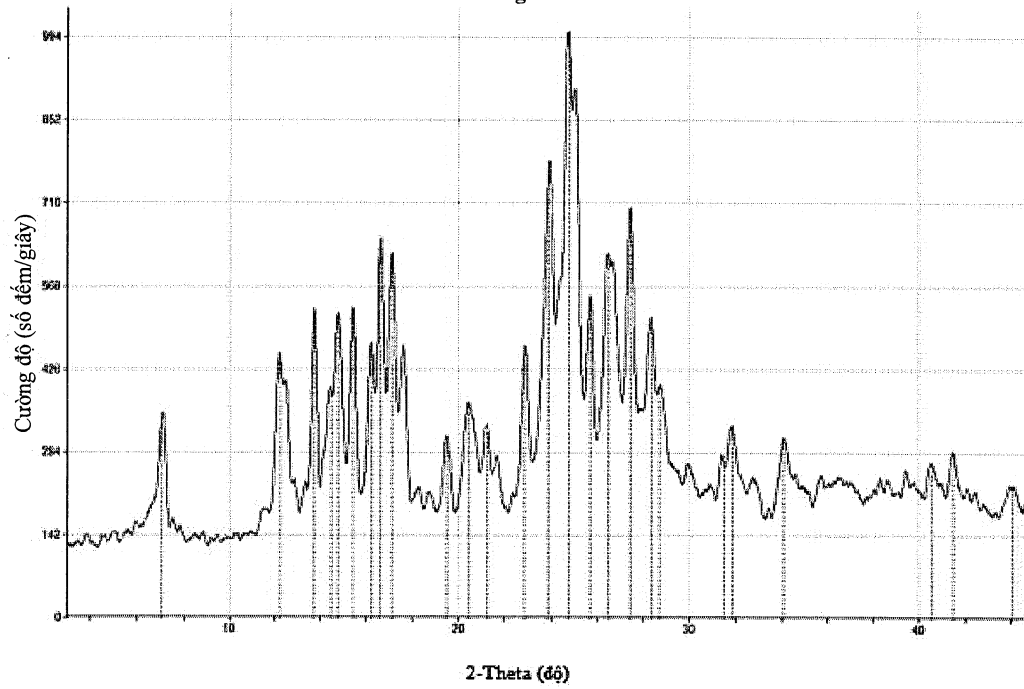


Fig. 6

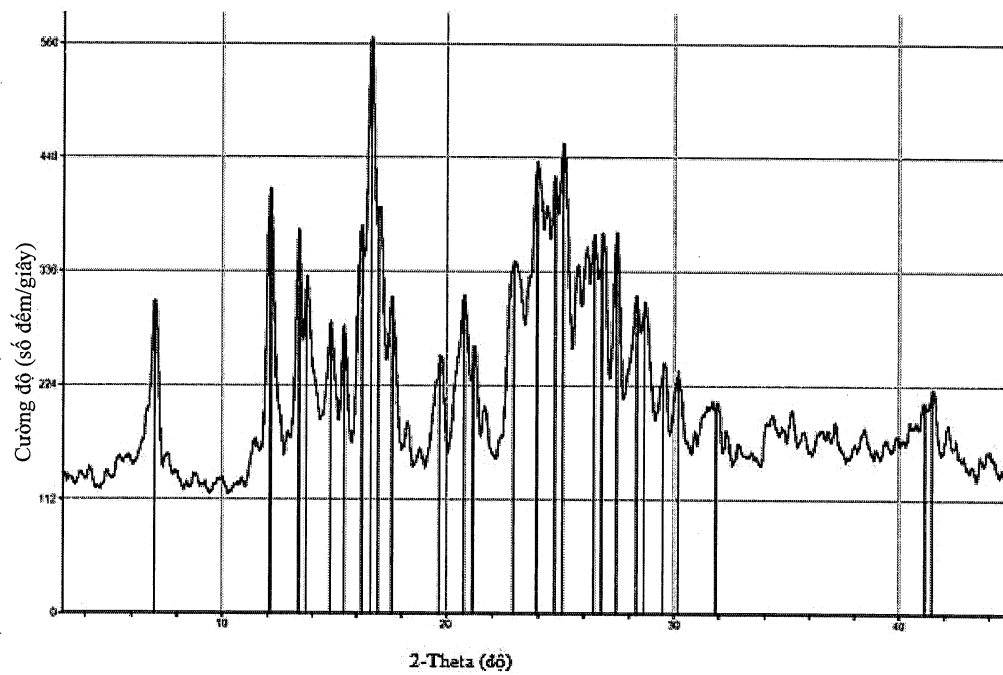


Fig. 7A

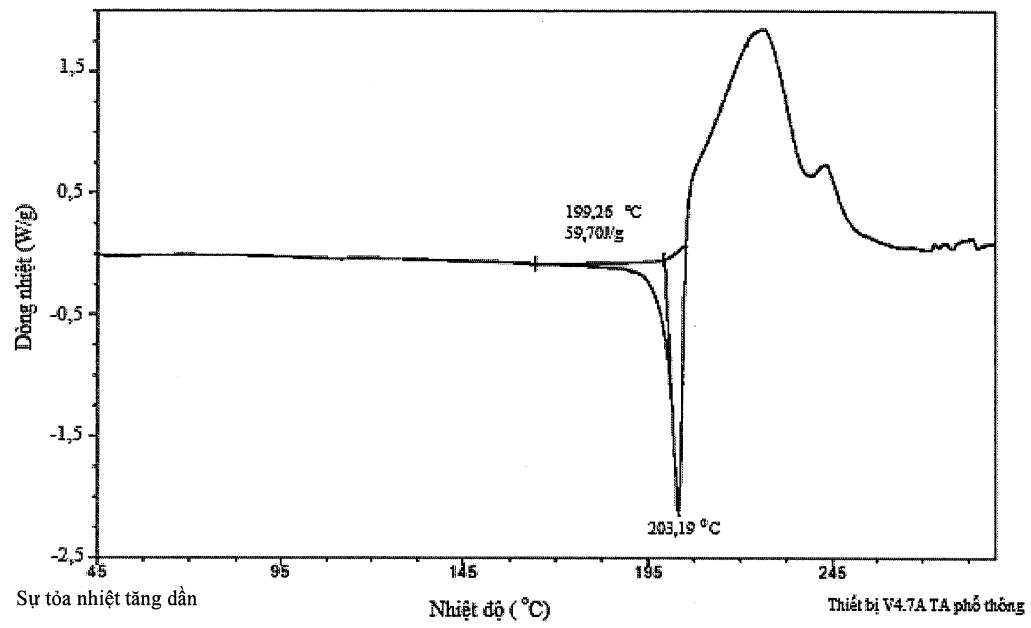


Fig. 7B

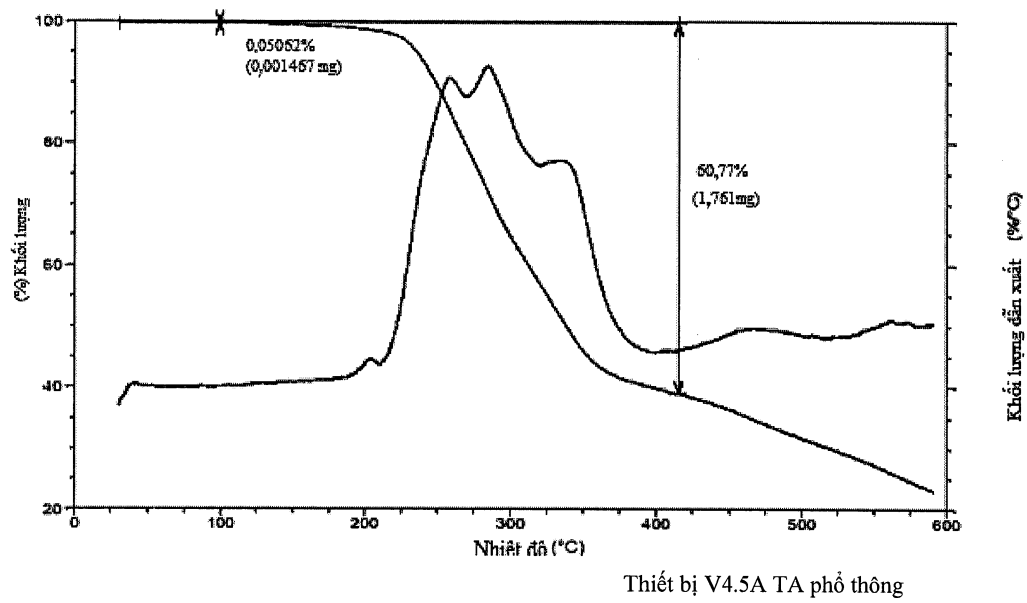


Fig. 7C

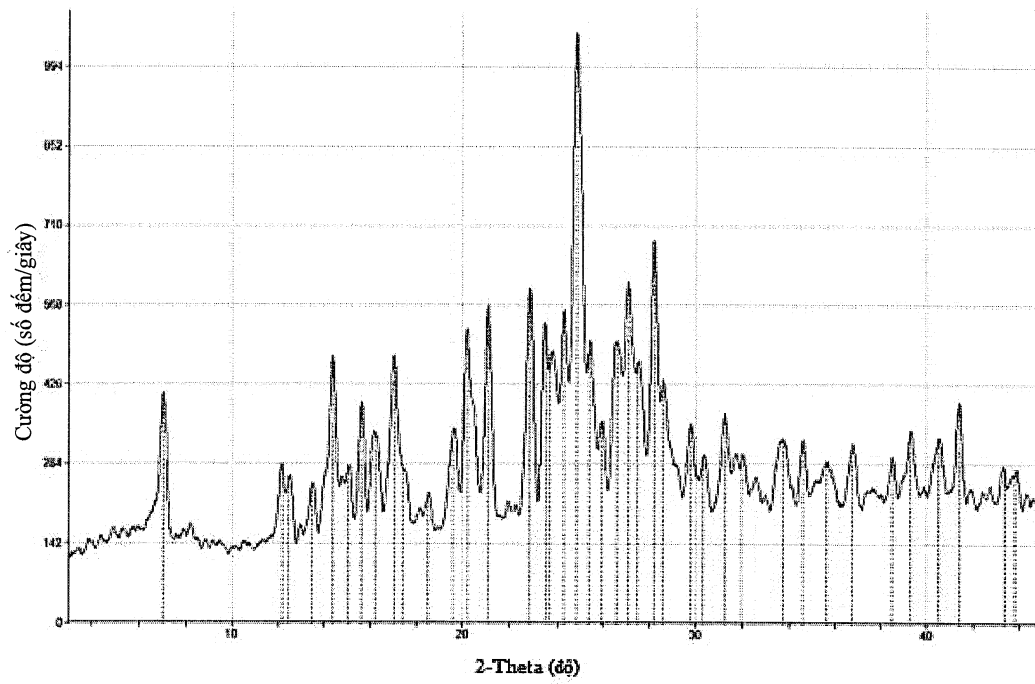


Fig. 8A

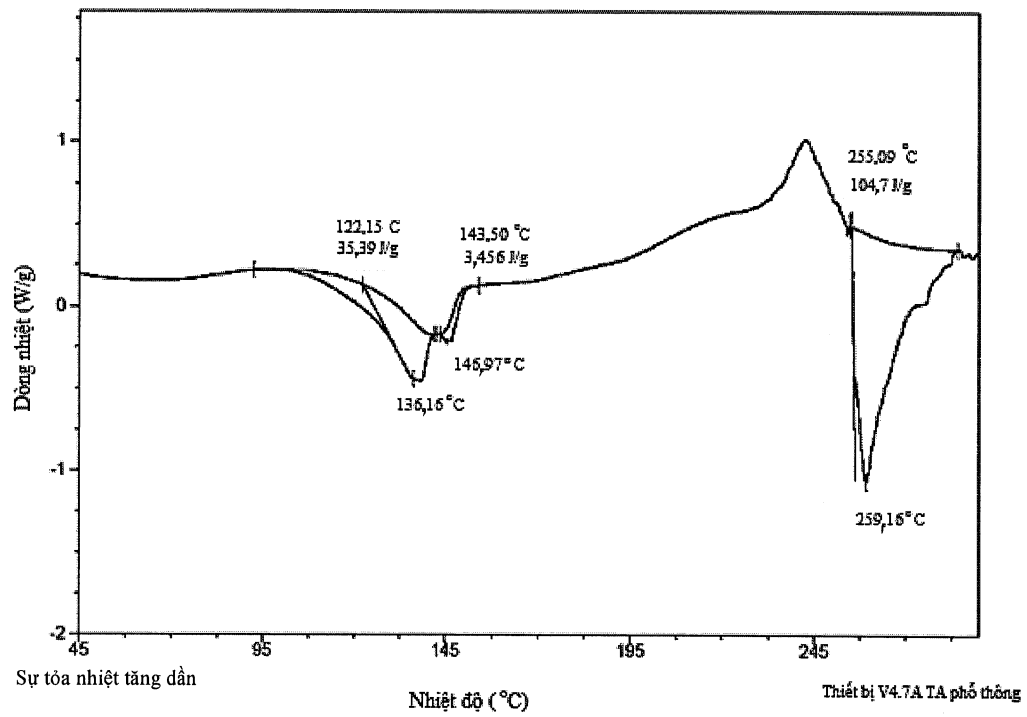


Fig. 8B

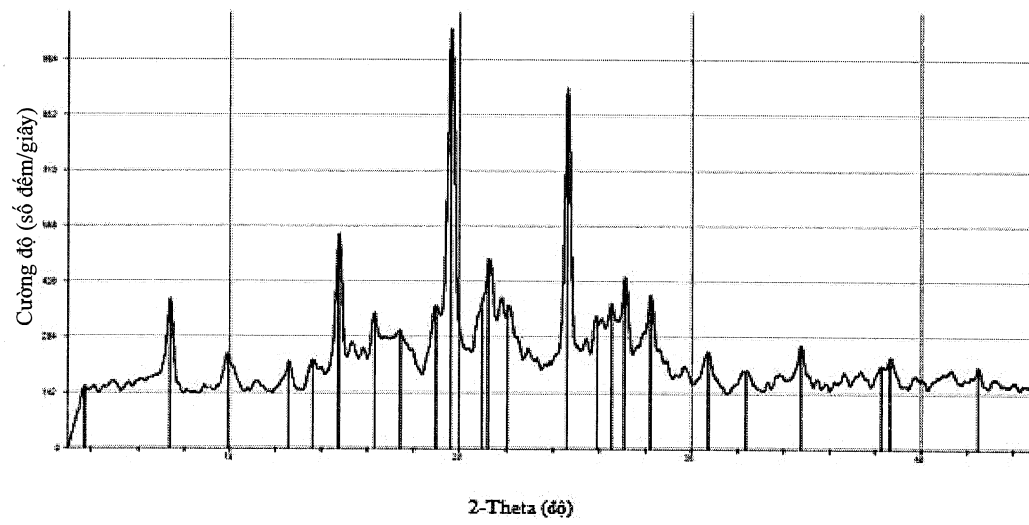


Fig. 9

