



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



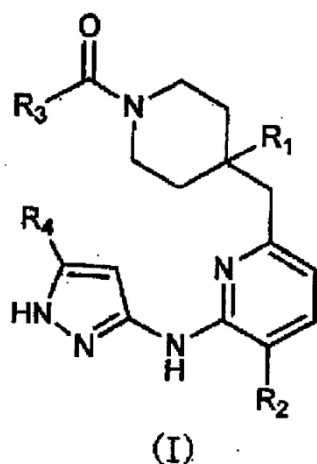
1-0026232

(51)⁷ C07D 401/14; C07D 413/14; A61P 1/04; (13) B
A61P 1/16; A61P 1/18; A61P 11/00;
A61P 13/08; A61P 13/10; A61P 13/12;
A61P 15/00; A61P 17/00; A61P 19/00;
A61P 21/00; A61P 25/00; A61P 35/00;
A61P 35/02; A61P 43/00; A61K 31/337;
A61K 31/4545

-
- (21) 1-2014-03116 (22) 27/02/2013
(86) PCT/JP2013/055064 27/02/2013 (87) WO2013/129443 06/09/2013
(30) 2012-043303 29/02/2012 JP; 2012-186534 27/08/2012 JP
(45) 25/11/2020 392 (43) 25/12/2014 321A
(73) Taiho Pharmaceutical Co., Ltd. (JP)
1-27, Kandanishiki-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 101-8444, Japan
(72) SUGIMOTO, Tetsuya (JP); TAKAHASHI, Hidekazu (JP); MITSUYA, Morihiro
(JP); MASUKO, Norio (JP); SOOTOME, Hiroshi (JP).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)
-

(54) HỢP CHẤT PIPERIDIN HOẶC MUỐI CỦA CHÚNG, DƯỢC PHẨM CHỨA
CHỨNG, THUỐC CHỐNG KHỐI U CHỨA CHÚNG VÀ THUỐC TĂNG CƯỜNG
TÁC DỤNG CHỐNG KHỐI U CỦA CHẤT CHỦ VẬN VI CẤU TRÚC HÌNH
ỔNG CHỨA CHÚNG

(57) Sáng chế đề xuất hợp chất có tác dụng ức chế chọn lọc aurora A tốt và có thể dùng làm thuốc chống ung thư có thể dùng qua đường miệng. Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất thuốc để tăng cường tác dụng chống khối u của chất chủ vận vì cấu trúc hình ống, bao gồm thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan. Sáng chế đề xuất hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) hoặc muối của nó:



trong đó:

R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$, hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C_1-C_6 alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R_2 là nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1-C_6 alkoxy;

R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 3 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1-C_6 alkyl, nhóm C_1-C_6 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1-C_6 alkyl; và

R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C_1-C_6 alkyl, hoặc nhóm C_3-C_6 xycloalkyl, hoặc R_5 và R_6 tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm dị vòng bão hoà chứa nitơ có từ 3 đến 6 cạnh.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất piperidin mới có hoạt tính ức chế aurora A kinaza hoặc muối của nó. Hợp chất này và muối của nó là hữu hiệu để điều trị bệnh ung thư. Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa chúng, thuốc chống khối u và thuốc tăng cường tác dụng chống khối u của chất chủ vận vi cấu trúc hình ống chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Aurora A là thành phần thuộc họ serin-threonin kinaza, và tham gia rộng rãi vào, ví dụ, sự tạo thành và trưởng thành của thể trung tâm, động học thoi, và sự sắp thẳng hàng nhiễm sắc thể trong pha giảm phân (pha M) của chu trình tế bào, bằng cách đó điều tiết tiến trình giảm phân (Tài liệu phi sáng chế 1). Cho đến nay, sự biểu hiện quá mức và/hoặc khuếch đại của aurora A đã được xác nhận ở nhiều loại caxinom (tài liệu phi sáng chế 2). Ngoài ra, do sự ức chế aurora A kinaza trong tế bào ung thư không chỉ làm kết thúc quá trình giảm phân, mà còn gây ra sự chết tế bào, aurora A là một trong số các phân tử đích quan trọng trong điều trị bệnh ung thư.

Trong khi đó, các thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống điển hình là taxan và vinca alkaloid được sử dụng rộng rãi làm các thuốc chủ yếu trong hoá trị liệu ung thư. Tuy nhiên, thường không thu được hiệu quả trị liệu liên tục và thỏa đáng do sự mất đáp ứng với các thuốc hoặc trở nên kháng thuốc. Do đó, có nhu cầu lâm sàng đối với sự phát triển thuốc tăng cường tác dụng chống khối u của các thuốc taxan có do thuốc này có triển vọng trong việc đạt được các cơ hội trị liệu hữu

hiệu hơn. Tác dụng gây độc tế bào của thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan đòi hỏi sự hoạt hoá của điểm kiểm soát lắp ráp thoi trong chu trình tế bào, và có báo cáo rằng tế bào ung thư có hoạt tính điểm kiểm soát lắp ráp thoi giảm có độ nhạy giảm đối với các thuốc chống ung thư chứa taxan (Tài liệu phi sáng chế 3). Ngoài ra, cũng đã biết rằng dòng tế bào biểu hiện quá mức aurora A trở nên kháng paclitaxel (Tài liệu phi sáng chế 4) và sự ức chế aurora A làm cho paclitaxel hoặc docetaxel có hoạt tính (Tài liệu phi sáng chế 5). Trong khi đó, đã có báo cáo rằng mặc dù aurora B, là kiểu phụ của nó, có hoạt tính trong pha giảm phân (pha M) của chu trình tế bào với aurora A, sự ức chế aurora B làm giảm hoạt tính điểm kiểm soát lắp ráp thoi (Tài liệu phi sáng chế 6). Do đó, đã gợi ý rằng sự ức chế aurora B có thể làm giảm hiệu lực của thuốc chứa taxan. Ngoài ra, aurora C được biểu hiện ở mức cao trong, ví dụ, tế bào tinh hoàn hoặc tế bào mầm, và kết quả phân tích bộ gen người đã chỉ ra rằng aurora C là quan trọng trong sự sinh tinh (Tài liệu phi sáng chế 7). Đã biết là aurora C đóng vai trò hỗ trợ cho chức năng của aurora B trong quá trình phân chia tế bào (Tài liệu phi sáng chế 8). Tương tự sự ức chế aurora B, sự ức chế aurora C gây ra hiện tượng lệch bội lẻ (tính phi chỉnh bội) ở tế bào, dẫn đến biểu lộ kiểu hình cực kỳ khác với kiểu hình được bộc lộ do sự ức chế aurora A, và khiến cho hiệu lực của thuốc chứa taxan không đạt được như mong đợi. Hơn nữa, ảnh hưởng lên hệ sinh sản không thể bỏ qua được, và vì vậy, mong muốn rằng thuốc phải không có hoạt tính ức chế aurora C.

Theo như phần trên đây, mong đợi rằng bằng cách sử dụng thuốc ức chế chọn lọc aurora A kinaza kết hợp với thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan, thuốc này sẽ làm cho thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan có hoạt tính chống khối u một cách hiệu quả, bằng cách đó cho phép tạo ra hiệu quả trị liệu cao hơn.

Ngoài ra, có báo cáo về việc hoạt tính kết thúc chu trình tế bào do paclitaxel gây ra được kéo dài trong vài ngày ở mô hình khối u chuột nhắt trong đó có cấy ghép dòng tế bào ung thư người (Tài liệu phi sáng chế 9). Do đó, một thuốc để

dùng qua đường miệng được xem là đáng mong muốn khi chất ức chế aurora A được dùng đồng thời, do nó cho phép tiếp xúc liên tục.

Cho đến nay, đã có báo cáo về việc dẫn xuất aminopyridin biểu lộ hoạt tính ức chế đối với aurora A có thể được dùng qua đường miệng (Tài liệu Sáng chế 1). Tuy nhiên, mặc dù tài liệu Sáng chế 1 mô tả hoạt tính ức chế đối với aurora A và đối với sự tăng sinh tế bào in vitro, không hề tìm thấy mô tả bất kỳ liên quan đến việc đánh giá khi dùng hợp chất nêu trên qua đường miệng.

Tài liệu JP2011-514309 A (MSD Kabushiki Kaisha) bộc lộ các chất dẫn xuất aminopyridin khác nhau, đồng thời chỉ ra rằng các chất dẫn xuất này có hoạt tính ức chế chọn lọc Aurora. Các chất dẫn xuất này có độ hấp thụ qua đường miệng thấp, do đó khó có thể kết hợp các chất dẫn xuất này dưới dạng hoạt chất vào chế phẩm dùng qua đường miệng, do không có hiệu quả lâm sàng được mong đợi từ việc dùng qua đường miệng.

Tài liệu WO 2008/026769 A1 (Banyu Pharmaceutical Co., LTD.) thuộc cùng họ sáng chế với tài liệu JP2011-514309 A nêu trên.

Các tài liệu WO 2010/111050 A1 (Banyu pharmaceutical Co., LTD.), WO 2010/111056 A1 (Banyu pharmaceutical Co., LTD.), JP 2009-530330 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), JP 2009-506040 A (Smithkline Beecham Corp.), JP 2009-510107 A (Miikana Therapeutics Inc.), JP 2009-504771 A (Vertex Pharmaceuticals Inc.) và JP 2008-540390 A (Chroma Therapeutics LTD.) mô tả các hợp chất có hoạt tính ức chế chọn lọc Aurora. Các hợp chất này không được thể nguyên tử halogen hoặc nhóm C₁-C₆ alkoxy ở vị trí 3 thuộc vòng pyridin.

Danh mục tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

[Tài liệu sáng chế 1] WO2009/104802

Tài liệu phi sáng chế

[Tài liệu phi sáng chế 1] Nat. Rev. Drug Discov., 8, pp. 547 to 566 (2009)

[Tài liệu phi sáng chế 2] Cancer Treat. Rev., 34, pp. 175 to 182 (2008)

[Tài liệu phi sáng chế 3] Mol. Cancer Ther., 5, pp. 2963 to 2969 (2006)

[Tài liệu phi sáng chế 4] Cancer Cell, 3, pp. 51 to 62 (2003)

[Tài liệu phi sáng chế 5] Cancer Res., 65, pp. 2899 to 2905 (2005)

[Tài liệu phi sáng chế 6] Mol. Cancer Ther., 8, pp. 2046 to 2056 (2009)

[Tài liệu phi sáng chế 7] Nature Genet. 39: pp. 661 to 665, 2007

[Tài liệu phi sáng chế 8] Genes Cells 10: pp. 617 to 626, 2005

[Tài liệu phi sáng chế 9] Cancer Res., 71, pp. 4608 to 4616 (2011)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

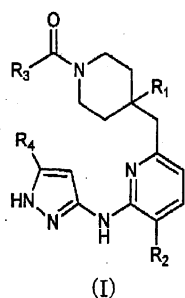
Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

Do đó, mục tiêu của sáng chế là đề xuất hợp chất mới có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A tốt và có thể dùng làm thuốc chống ung thư có thể dùng qua đường miệng. Ngoài ra, một mục tiêu của sáng chế là đề xuất thuốc mới tăng cường tác dụng chống khối u của các thuốc hướng đích vì cấu trúc hình ống chứa chất chống ung thư có nguồn gốc taxan.

Cách thức giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã thực hiện nghiên cứu chuyên sâu để giải quyết các mục tiêu nêu trên. Kết quả là, các tác giả đã phát hiện ra rằng hợp chất piperidin mang phần tử thể đặc hiệu trên vòng pyridin có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A tốt và có tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư, và có thể dùng qua đường miệng. Họ cũng phát hiện ra rằng hợp chất piperidin như vậy làm tăng đáng kể hiệu lực chống khối u của các thuốc hướng đích vì cấu trúc hình ống chứa chất chống ung thư có nguồn gốc taxan, bằng cách đó sáng chế được tạo ra.

Cụ thể là, sáng chế đề cập đến hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) hoặc muối của nó:



trong đó:

R₁ là nhóm carboxyl, -C(=O)NR₅R₆, hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C₁-C₆ alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R₂ là nguyên tử halogen hoặc nhóm C₁-C₆ alkoxy;

R₃ là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 3 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C₁-C₆ alkyl, nhóm C₁-C₆ alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R₄ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C₁-C₆ alkyl; và

R₅ và R₆ là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C₁-C₆ alkyl, hoặc nhóm C₃-C₆ xycloalkyl, hoặc R₅ và R₆ tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tạo thành nhóm dị vòng bão hòa chứa nguyên tử nitơ có từ 3 đến 6 cạnh.

Sáng chế cũng đề cập đến thuốc chứa hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

Sáng chế cũng đề cập đến chế phẩm có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A, thuốc chống khối u, hoặc thuốc tăng cường hiệu lực chống khối u của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống, chứa hợp chất piperidin có công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

Bản mô tả cũng bộc lộ việc sử dụng hợp chất piperidin có công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó để sản xuất chế phẩm có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A, thuốc chống khối u, hoặc thuốc tăng cường hiệu lực chống khối u của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất piperidin có công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó để ức chế chọn lọc aurora A, điều trị bệnh ung thư, hoặc tăng cường hiệu lực chống ung thư của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống.

Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp ức chế chọn lọc aurora A, điều trị bệnh ung thư, hoặc tăng cường hiệu lực chống khối u của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống, bao gồm bước sử dụng hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó với lượng hữu hiệu.

Sáng chế cũng đề cập đến thuốc trị liệu ung thư chứa hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó và thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống; chế phẩm chứa hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó và thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống để điều trị bệnh ung thư. Bản mô tả cũng bộc lộ việc sử dụng chế phẩm chứa hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó và thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống để sản xuất thuốc điều trị bệnh ung thư; và phương pháp điều trị bệnh ung thư, bao gồm bước sử dụng liều hữu hiệu hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) nêu trên hoặc muối của nó đồng thời với liều hữu hiệu thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm nêu trên, chế phẩm có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A, thuốc chống khối u, hoặc thuốc tăng cường tác dụng chống khối u của chất chủ vận vi cấu trúc hình ống để dùng qua đường miệng. Hợp chất nêu trên hoặc muối của nó là hữu hiệu để ức chế chọn lọc aurora A, điều trị bệnh ung thư, hoặc tăng cường tác dụng chống khối u của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống bằng cách dùng qua đường miệng.

Hiệu quả của sáng chế

Hợp chất (I) theo sáng chế hoặc muối của nó thể hiện hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A và hoạt tính ức chế sự tăng sinh tế bào ung thư tuyệt vời, và có thể dùng qua đường miệng. Hợp chất (I) theo sáng chế hoặc muối của nó là hữu hiệu không chỉ để làm thuốc chống khối u, mà còn để dùng kết hợp với thuốc hướng đích vì cấu trúc hình ống chứa chất chống ung thư có nguồn gốc taxan.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong hợp chất (I) theo sáng chế, việc lựa chọn R_2 là quan trọng về mặt hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A, khả năng hấp thụ qua đường miệng, hoạt tính chống khối u bằng cách dùng qua đường miệng, và tăng cường tác dụng chống khối u của thuốc hướng đích vì cấu trúc hình ống chứa chất chống ung thư có nguồn gốc taxan. Hợp chất theo sáng chế được đặc trưng ở chỗ R_2 là nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1 - C_6 alkoxy.

Trong bản mô tả sáng chế, "nhóm C_1 - C_6 alkyl" là nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 6 nguyên tử cacbon, và ví dụ cụ thể của nó bao gồm nhóm metyl, nhóm etyl, nhóm n-propyl, nhóm isopropyl, nhóm n-butyl, nhóm isobutyl, nhóm sec-butyl, nhóm tert-butyl, nhóm pentyl, và nhóm hexyl. Nhóm C_1 - C_6 alkyl tốt hơn là nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 4 nguyên tử cacbon (nhóm C_1 - C_4 alkyl).

Trong bản mô tả sáng chế, "nhóm oxadiazolyl" dùng để chỉ nhóm 1,2,4-oxadiazolyl hoặc nhóm 1,3,4-oxadiazolyl. Vòng oxadiazolyl tốt hơn là không được thế hoặc được thế bằng nhóm C_1 - C_4 alkyl hoặc nhóm triflometyl, và vòng oxadiazolyl tốt hơn nữa là không được thế hoặc được thế bằng nhóm metyl hoặc nhóm triflometyl.

Trong bản mô tả sáng chế, ví dụ về "nguyên tử halogen" bao gồm nguyên tử flo, nguyên tử clo, nguyên tử brom, và nguyên tử iot.

Trong bản mô tả sáng chế, "nhóm C₁-C₆ alkoxy" là nhóm alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 6 nguyên tử cacbon, và ví dụ cụ thể của nó bao gồm nhóm metoxy, nhóm etoxy, nhóm n-propoxy, nhóm isopropoxy, nhóm n-butoxy, nhóm isobutoxy, nhóm t-butoxy, nhóm pentoxy, và nhóm hexoxy. Nhóm C₁-C₆ alkoxy tốt hơn là nhóm alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 4 nguyên tử cacbon (nhóm C₁-C₄ alkoxy).

Trong bản mô tả sáng chế, "nhóm C₃-C₆ xycloalkyl" dùng để chỉ nhóm xycloalkyl vòng đơn có 3 đến 6 nguyên tử cacbon, và ví dụ cụ thể của nó bao gồm nhóm xyclopropyl, nhóm xyclobutyl, nhóm xyclopentyl, và nhóm xyclohexyl. Nhóm C₃-C₆ xycloalkyl tốt hơn là nhóm xyclopropyl hoặc nhóm xyclobutyl.

Trong bản mô tả sáng chế, cụm từ "R₅ và R₆ tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tạo thành nhóm dị vòng bão hoà chứa nitơ có 3 đến 6 cạnh" có nghĩa là R₅ và R₆ tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào (tức là, -NR₅R₆) tạo thành nhóm dị vòng bão hoà có từ 3 đến 6 cạnh còn chứa từ 0 đến 2 nguyên tử nitơ và/hoặc nguyên tử oxy thuộc vòng này. Ví dụ cụ thể về nhóm dị vòng bão hoà chứa nitơ có từ 3 đến 6 cạnh tùy ý được tạo ra bao gồm nhóm azetidinyl, nhóm pyrrolidinyl, nhóm piperidinyl, nhóm piperazinyl, nhóm morpholinyl, và nhóm isoxazolidinyl.

Trong công thức chung (I), R₁ tốt hơn là nhóm carboxyl, -C(=O)NR₅R₆ (trong đó, R₅ và R₆ là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C₁-C₆ alkyl, hoặc nhóm C₃-C₆ xycloalkyl, hoặc R₅ và R₆ cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tùy ý tạo thành nhóm azetidinyl, nhóm pyrrolidinyl, hoặc nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C₁-C₆ alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế.

Trong công thức chung (I), R₁ tốt hơn nữa là nhóm carboxyl, -C(=O)NR₅R₆ (trong đó, R₅ và R₆ là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm metyl, nhóm xyclopropyl, hoặc nhóm xyclobutyl, hoặc R₅ và R₆ cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tạo thành nhóm azetidinyl, nhóm

pyrrolidinyl, hoặc nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế.

Như được chứng minh trong phần ví dụ dưới đây, quan trọng là R_2 trong công thức chung (I) phải là nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1-C_6 alkoxy để có được hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A, khả năng hấp thụ qua đường miệng, hoạt tính chống khối u bằng cách dùng qua đường miệng, và tăng cường tác dụng chống khối u của thuốc hướng đích vì cấu trúc hình ống chứa chất chống ung thư có nguồn gốc taxan. R_2 tốt hơn là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm C_1-C_4 alkoxy, tốt hơn nữa là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm metoxy.

Trong công thức chung (I), R_3 tốt hơn là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 3 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1-C_4 alkyl, nhóm C_1-C_4 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế, tốt hơn nữa là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ các phần tử thế nêu trên. R_3 còn tốt hơn nữa là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm methyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế.

Trong công thức chung (I), R_4 tốt hơn là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1-C_4 alkyl, và tốt hơn nữa là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl.

Trong hợp chất theo sáng chế, tốt hơn là, R_1 là nhóm carboxyl, -C(=O)NR₅R₆ (trong đó, R₅ và R₆ là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C_1-C_4 alkyl, hoặc nhóm C_3-C_6 xycloalkyl, hoặc R₅ và R₆ cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tùy ý tạo thành nhóm azetidiny, nhóm pyrrolidinyl, hoặc nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C_1-C_4 alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm C_1-C_4 alkoxy; R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1-C_4 alkyl, nhóm C_1-C_4 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1-C_4 alkyl.

Ngoài ra, để làm hợp chất theo sáng chế, hợp chất trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm methyl, nhóm xyclopropyl, hoặc nhóm xyclobutyl, hoặc R_5 và R_6 cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào là nhóm azetidiny, nhóm pyrrolidinyl, hoặc nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm metoxy; R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm methyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl là được ưu tiên.

Ngoài ra, hợp chất trong đó R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl, hoặc R_5 và R_6 cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào là nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm 1,2,4-oxadiazolyl hoặc nhóm 1,3,4-oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm metoxy; R_3 là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm methyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl là được ưu tiên hơn.

Hơn nữa, hợp chất trong đó R_1 là nhóm carboxyl hoặc nhóm 1,2,4-oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo; R_3 là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo và nguyên tử clo làm phần tử thế; và R_4 là nhóm methyl được đặc biệt ưu tiên.

Các hợp chất sau đây có thể được nêu làm ví dụ về các hợp chất được ưu tiên cụ thể theo sáng chế.

axit 1-(2,3-điclobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-methyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)methyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 1)

axit 1-(2-flo-3-triflometylbenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 2)

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 10)

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-metoxi-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 11)

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 12)

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 13)

1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N-metyl piperidin-4-carboxyamid (hợp chất 14)

1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N,N-dimetyl piperidin-4-carboxyamid (hợp chất 16)

azetidin-1-yl(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-yl)metanon (hợp chất 19)

(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-yl)(isoxazolidin-2-yl)metanon (hợp chất 21)

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 22)

(2,3-điclophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 23)

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 24)

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 28)

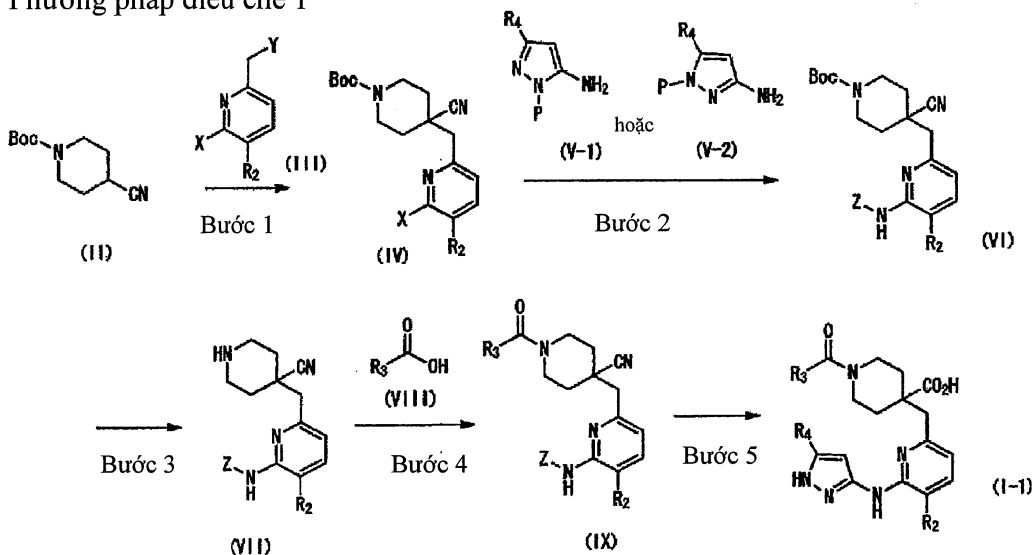
(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(3-metyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 29)

Tiếp theo, phương pháp điều chế điển hình hợp chất (I) theo sáng chế được minh họa dưới đây.

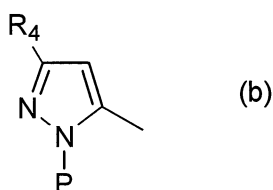
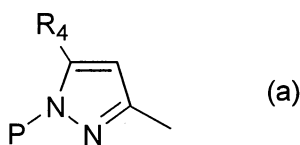
Hợp chất (I) theo sáng chế có thể được điều chế bằng phương pháp điều chế dưới đây, phương pháp được chỉ ra trong phần ví dụ chẳng hạn. Tuy nhiên, phương pháp điều chế hợp chất (I) theo sáng chế không chỉ giới hạn ở các ví dụ phản ứng này. Nguyên liệu thô cần thiết để tổng hợp hợp chất theo sáng chế có thể thu được ở dạng các sản phẩm thương mại hoặc được sản xuất một cách dễ dàng bởi các phương pháp sản xuất được mô tả trong các tài liệu đã biết chẳng hạn.

Trong số các hợp chất (I) theo sáng chế, hợp chất (I-1), trong đó R_1 là nhóm carboxyl, có thể được điều chế, ví dụ, bằng phương pháp điều chế 1 sau đây.

Phương pháp điều chế 1



trong đó, X và Y mỗi nhóm là nhóm rời chuyển; P là nguyên tử hydro hoặc nhóm bảo vệ; và Z có công thức chung (a) hoặc (b):



và R₂, R₃, và R₄ là như đã xác định ở trên.

Trong phương pháp điều chế 1 nêu trên, ví dụ về nhóm rời chuyển được biểu thị bởi X hoặc Y bao gồm nguyên tử halogen, và tốt hơn là nguyên tử brom. Ví dụ về nhóm bảo vệ được biểu thị bởi P bao gồm nhóm tert-butyl, nhóm metoxy methyl, nhóm [(2-trimethylsilyl)ethoxy]methyl, và nhóm benzyl, và tốt hơn là nhóm tert-butyl.

(Bước 1)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (IV) bằng cách cho hợp chất (II) phản ứng với bazơ, và tiếp theo phản ứng với hợp chất (III). Ví dụ về hợp chất (III) được sử dụng trong bước này bao gồm 6-bromo-2-bromomethyl-5-flopyridin, 6-bromo-2-clomethyl-5-flopyridin, 2-bromomethyl-6-clo-5-flopyridin, 2-bromomethyl-5,6-điclopyridin, và 6-bromo-2-bromomethyl-5-metoxypyridin, và tốt hơn là 6-bromo-2-bromomethyl-5-flopyridin. Hợp chất (III) có thể thu được ở dạng sản phẩm thương mại hoặc được điều chế theo phương pháp công khai đã biết.

Lượng hợp chất (III) được sử dụng trong bước này là từ 0,1 đến 10 đương lượng, tốt hơn là 0,8 đến 2 đương lượng so với một đương lượng hợp chất (II). Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ -90°C đến 100°C, tốt hơn là từ -78°C đến 0°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5

đến 10 giờ. Ví dụ về bazơ bao gồm lithi diisopropylamin và lithi hexametyldisilazit, và bazơ này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 1,5 đương lượng. Dung môi được sử dụng trong phản ứng này không bị giới hạn cụ thể ở miễn là nó không gây trở ngại cho phản ứng, và ví dụ về dung môi này bao gồm tetrahydrofuran, 2-metyltetrahydrofuran, diethyl ete, 1,2-đimetoxyetan, và toluen. Các dung môi này có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng hỗn hợp của nó.

Hợp chất (IV) thu được ở trên có thể được tham gia bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng các phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 2)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (VI) bằng phản ứng cặp đôi giữa hợp chất (IV) và hợp chất (V). Ví dụ về hợp chất (V) được sử dụng trong bước này (hợp chất (V-1) hoặc hợp chất (V-2)) bao gồm 1-tert-butyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-amin, 1-tert-butyl-1H-pyrazol-5-amin, 1-{[2-(trimetylsilyl)etoxy]metyl}-1H-pyrazol-3-amin, và 5-metyl-1-{[2-(trimetylsilyl)etoxy]metyl}-1H-pyrazol-3-amin. Hợp chất (V) có thể thu được ở dạng sản phẩm thương mại hoặc được điều chế theo phương pháp công khai đã biết.

Lượng hợp chất (V) được sử dụng trong bước này nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 đương lượng, tốt hơn là từ 0,8 đến 2 đương lượng so với một đương lượng hợp chất (IV). Ví dụ về chất xúc tác được sử dụng bao gồm chất xúc tác kim loại như tris(benzylidenaxeton)đipaladium và paladi axetat, và chất xúc tác này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 5 đương lượng, tốt hơn là từ 0,005 đến 0,1 đương lượng so với một đương lượng hợp chất (IV). Ví dụ về phối tử dùng cho chất xúc tác kim loại nêu trên bao gồm 4,5-bis(điphenylphosphin)-9,9-đimetylxanten và 2,2'-bisđiphenylphosphin-1,1'-

binaphthyl, và các phối tử này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 5 đương lượng, tốt hơn là 0,005 đến 0,2 đương lượng so với một đương lượng hợp chất (IV). Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0°C đến 200°C, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 130°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 20 giờ. Ví dụ về bazơ bao gồm bazơ vô cơ như kali phosphat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, và natri tert-butoxit, và amin hữu cơ như trimetylamin, diisopropyletylamin, và pyridin, và các bazơ này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 3 đương lượng. Dung môi được sử dụng trong phản ứng này không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không gây trở ngại cho phản ứng, và ví dụ về các dung môi này bao gồm toluen, tetrahydrofuran, đioxan, N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylaxetamit, N-metylpyrrolidin-2-on, tert-butanol, và rượu tert-amyl. Các dung môi này có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng hỗn hợp của nó.

Hợp chất (VI) thu được ở trên có thể được tham gia bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 3)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (VII) bằng cách loại bỏ nhóm tert-butoxycarbonyl, là nhóm bảo vệ cho hợp chất (VI), với sự có mặt của axit. Liên quan đến các điều kiện phản ứng được sử dụng trong bước này, bước này có thể được thực hiện theo phương pháp được mô tả trong tài liệu (Protective Groups in Organic Synthesis, của T. W. Greene, John Wiley & Sons, Inc. (1981)) hoặc phương pháp tương đương với phương pháp nêu trên. Ví dụ về axit được sử dụng bao gồm axit trifloaxetic, axit clohydric, axit sulfuric, axit metansulfonic, và axit toluen sulfonic, và axit có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Nhiệt độ phản ứng nằm

trong khoảng từ 0°C đến 200°C, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 100°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 20 giờ. Dung môi được sử dụng trong phản ứng này không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không gây trở ngại cho phản ứng, và ví dụ về các dung môi này bao gồm cloroform, axetonitril, toluen, tetrahydrofuran, dioxan, nước, và axit axetic. Các dung môi này có thể được sử dụng một mình hoặc ở dạng hỗn hợp của nó.

Hợp chất (VII) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 4)

Bước này là phản ứng nhằm thu được hợp chất (IX) bằng phản ứng ngưng tụ loại nước giữa hợp chất (VII) và hợp chất (VIII). Ví dụ về hợp chất (VIII) được sử dụng trong bước này bao gồm axit 2-flo-3-clobenzoic và axit 2,3-điclobenzoic. Hợp chất (VIII) có thể thu được ở dạng sản phẩm thương mại hoặc được điều chế theo phương pháp công khai đã biết. Trong bước này, bằng cách sử dụng các chất ngưng tụ thường được sử dụng, có thể thu được hợp chất (IX) theo phương pháp công khai đã biết. Ví dụ về chất ngưng tụ bao gồm N,N'-đixyclohexylcarbodiimide (DCC), N,N'-diisopropylcarbodiimide (DIC), 1-ethyl-3-(3-đimethylaminopropyl)-carbodiimide hydroclorua (WSC), diphenylphosphoryl azit (DPPA), (benzotriazol-1-yl-oxy) trisđimethylaminophosphoni hexaflophosphat (BOP), (benzotriazol-1-yl-oxy) tripyrrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBOP), (7-azabenzotriazol-1-yloxy) trispyrrolidinophosphoni phosphat (PyAOP), bromotrispyrrolidinophosphoni hexaflophosphat (BroP), clotris(pyrrolidin-1-yl)phosphoni hexaflophosphat (PyCroP), 3-(diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on (DEPBT), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU), và 4-(5,6-đimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-metylmorpholin hydroclorua (DMTMM). Ví dụ về chất phụ gia được sử dụng trong bước này bao gồm 1-hydroxybenzotriazol

(HOBt), 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt), và N-hydroxysuccinimit (HOSu). Chất phụ gia này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Nếu cần thiết, bazơ như trimetylamin, trietylamin, tripropylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, pyridin, 4-(N,N-đimetylamin)pyridin, lutidin, và colidin có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Dung môi không bị giới hạn cụ thể ở, và ví dụ, nước, metanol, etanol, 2-propanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, toluen, metylen clorua, cloroform, axetonitril, N,N-đimetylformamit, và N,N-đimetylaxetamit, đimetyl sulfoxit có thể được sử dụng. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ -30 đến 200°C, tốt hơn là từ 0 đến 50°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 24 giờ.

Hợp chất (IX) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng a phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

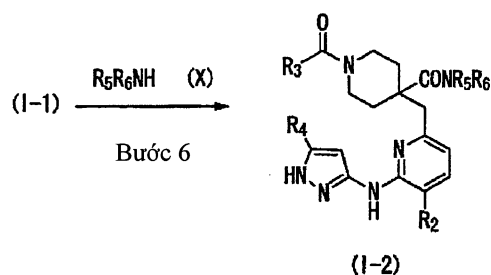
(Bước 5)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (I-1) bằng cách thực hiện đồng thời thủy phân nhóm xyano của hợp chất (IX) và loại bỏ nhóm bảo vệ (P) của phần tử thế Z trong các điều kiện axit. Ví dụ về axit được sử dụng bao gồm axit clohydric, axit sulfuric, axit metansulfonic, axit toluen sulfonic, và axit trifloaxetic. Các axit này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ nhiệt độ phòng đến 200°C, tốt hơn là từ 60°C đến 130°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 20 giờ. Dung môi được sử dụng trong phản ứng này không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không gây trở ngại cho phản ứng, và ví dụ về dung môi bao gồm dioxan, nước, axit axetic, toluen, tetrahydrofuran, và 2-propanol. Các dung môi này có thể được

sử dụng một mình hoặc ở dạng hỗn hợp của nó. Hợp chất (I-1) thu được ở trên có thể được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

Trong số các hợp chất có công thức chung (I), hợp chất (I-2), trong đó R_1 là $-C(=O)NR_5R_6$, có thể được điều chế bằng, ví dụ, phương pháp điều chế 2 sau đây.

Phương pháp điều chế 2



trong đó, R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , và R_6 là như đã xác định ở trên.

(Bước 6)

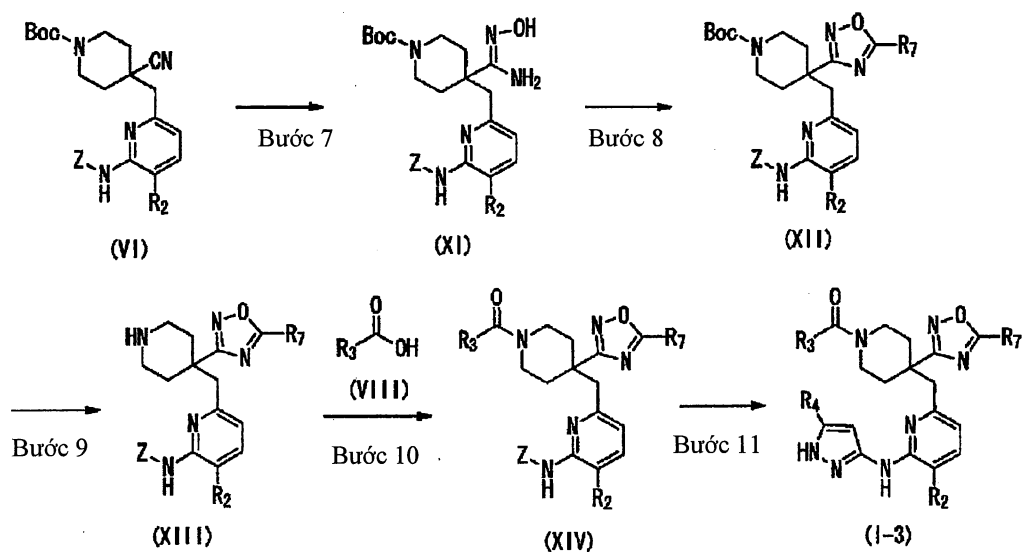
Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (I-2) bằng phản ứng ngưng tụ loại nước giữa hợp chất (I-1) thu được theo phương pháp điều chế 1 và hợp chất (X). Ví dụ về hợp chất (X) được sử dụng trong bước này bao gồm amin như metylamin, dimetylamin, amoni clorua, xyclopropylamin, và pyrrolidin cũng như muối của nó. Hợp chất (X) có thể thu được ở dạng sản phẩm thương mại hoặc được điều chế theo phương pháp công khai đã biết. Trong bước này, bằng cách sử dụng các chất ngưng tụ thường được sử dụng, hợp chất (I-2) có thể thu được theo phương pháp công khai đã biết. Ví dụ về chất ngưng tụ bao gồm N,N'-đixyclohexylcarbodiimit (DCC), N,N'-diisopropylcarbodiimit(DIC), 1-etyl-3-(3-đimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (WSC), diphenylphosphoryl azit (DPPA), (benzotriazol-1-yl-oxy)trisdimetylaminophosphi hexaflophosphat

(BOP), (benzotriazol-1-yl-oxy)tripyrrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBOP), (7-azabenzotriazol-1-yloxy)trispyrrolidinophosphoni phosphat (PyAOP), bromotrispyrrolidinophosphoni hexaflophosphat (BroP), clotris(pyrrolidin-1-yl)phosphoni hexaflophosphat (PyCroP), 3-(diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on (DEPBT), O-(benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU), và 4-(5,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-metylmorpholin hydroclorua (DMTMM). Ví dụ về chất phụ gia được sử dụng trong bước này bao gồm 1-hydroxybenzotriazol (HOBt), 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt), và N-hydroxysuccinimit (HOSu). Các chất phụ gia này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Nếu cần thiết, bazơ như trimetylamin, trietylamin, tripropylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, pyridin, 4-(N,N-dimetylamin)pyridin, lutidin, và colidin có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Dung môi không bị giới hạn cụ thể ở, và ví dụ là, nước, metanol, etanol, 2-propanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, toluen, metylen clorua, cloroform, axetonitril, N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylaxetamit, và dimetyl sulfoxit có thể được sử dụng. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ -30°C đến 200°C, tốt hơn là từ 0°C đến 50°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 24 giờ.

Hợp chất (I-2) thu được ở trên có thể được tách và được tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

Trong số các hợp chất có công thức chung (I), hợp chất (I-3), trong đó R₁ là 1,2,4-oxadiazol được thế bằng R₇, có thể được điều chế bằng, ví dụ, phương pháp điều chế 3 sau đây.

Phương pháp điều chế 3



trong đó, R_7 là nhóm $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl hoặc nhóm triflometyl; R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 , và Z là như đã xác định ở trên.

(Bước 7)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XI) bằng cách chuyển hóa nhóm xiano trong hợp chất (VI), thu được dưới dạng hợp chất trung gian trong quá trình điều chế trong phương pháp điều chế 1, thành amidoxim. Các phản ứng được sử dụng trong bước này có thể được thực hiện bằng, ví dụ, các phương pháp được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO2005/026123, Công bố đơn quốc tế số WO2008/117175, Công bố đơn quốc tế số WO2008/156721, hoặc theo phương pháp tương đương với các phương pháp này. Ví dụ, các phản ứng có thể được thực hiện bằng cách cho hợp chất (VI) phản ứng với hydroxylamin trong dung môi rượu như etanol và 2-propanol. Nếu cần thiết, bazơ có thể được sử dụng, và ví dụ về bazơ này bao gồm amin hữu cơ như trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, và pyridin và muối vô cơ như natri bicacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri metoxit, natri etoxit, và kali tert-butoxit.

Hydroxylamin có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 100 đương lượng, tốt hơn là từ 1 đến 10 đương lượng. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C, tốt hơn là từ 50 đến 100°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 20 giờ.

Hợp chất (XI) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 8)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XII) bằng cách chuyển hóa nhóm amidoxim trong hợp chất (XI) thành vòng 1,2,4-oxadiazol. Các phản ứng được sử dụng trong bước này có thể được thực hiện bằng, ví dụ, các phương pháp được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO2005/026123, Công bố đơn quốc tế số WO2008/117175, Công bố đơn quốc tế số WO2008/156721, hoặc theo phương pháp tương đương với các phương pháp này. Ví dụ, các phản ứng có thể được thực hiện bằng cách cho hợp chất (XI) phản ứng với anhydrua axetic, axetyl clorua, trietyl orthoformat, và trietyl orthoaxetat trong dung môi như toluen, cloroform, axit axetic, N,N-dimetylformamit, N-metylpyrrolidin-2-on, và pyridin. Nếu cần thiết, bazơ có thể được sử dụng, và ví dụ về bazơ này bao gồm trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, và pyridin. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C, tốt hơn là từ 50°C đến 100°C. Thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 20 giờ.

Hợp chất (XII) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 9)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XIII) bằng cách loại bỏ nhóm tert-butoxycarbonyl, là nhóm bảo vệ đối với hợp chất (XII), với sự có mặt của axit. Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự như phương pháp được sử dụng trong bước 3 nêu trên hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 3.

Hợp chất (XIII) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 10)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XIV) bằng phản ứng ngưng tụ loại nước giữa hợp chất (XIII) và hợp chất (VIII). Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự với phương pháp trong bước 4 nêu trên hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 4.

Hợp chất (XIV) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

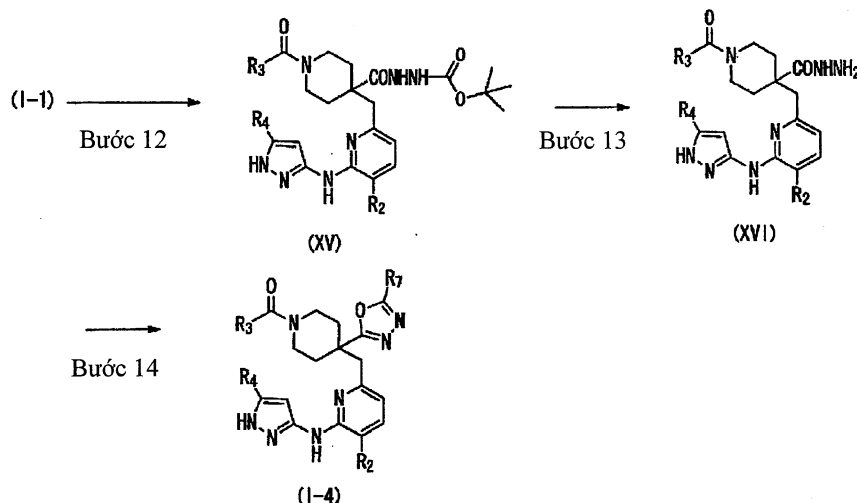
(Bước 11)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (I-3) bằng cách loại bỏ nhóm bảo vệ (P) của phần tử thế Z trong hợp chất (XIV) với sự có mặt của axit. Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự với phương pháp được sử dụng trong bước 5 nêu trên hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 5.

Hợp chất (I-3) thu được ở trên có thể được tách và được tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

Trong số các hợp chất có công thức chung (I), hợp chất (I-4), trong đó R_1 là 1,3,4-oxadiazol được thế bằng R_7 , có thể được điều chế bằng, ví dụ, phương pháp điều chế 4 sau đây.

Phương pháp điều chế 4



trong đó, R_7 là nhóm C_1 - C_6 alkyl hoặc nhóm triflometyl; R_2 , R_3 , và R_4 là như đã xác định ở trên.

(Bước 12)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XV) bằng phản ứng ngưng tụ loại nước giữa hợp chất (I-1) thu được bằng phương pháp điều chế 1 và tert-butoxycarbonyl hydrazit. Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự với phương pháp trong bước 4 nêu trên hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 4.

Hợp chất (XV) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 13)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (XVI) bằng cách loại bỏ nhóm tert-butoxycarbonyl, là nhóm bảo vệ đối với hợp chất (XV), với sự có mặt của axit. Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự với phương pháp được sử dụng trong bước nêu trên 3 hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 3.

Hợp chất (XVI) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

(Bước 14)

Bước này là phương pháp điều chế hợp chất (I-4) bằng cách chuyển hóa nhóm axyl hydrazit trong hợp chất (XVI) thành vòng 1,3,4-oxadiazol. Bước này có thể được thực hiện bằng phương pháp tương tự với phương pháp được sử dụng trong bước nêu trên 8 hoặc phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong bước 8.

Hợp chất (I-4) thu được ở trên có thể được tham gia vào bước tiếp theo với điều kiện được hoặc không được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế công khai đã biết như cô đặc, cô đặc trong điều kiện áp suất thấp, kết tinh, chiết bằng dung môi, kết tủa lại, và sắc ký.

Khi hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng phân như chất đồng phân quang học, các chất đồng phân lập thể, các chất đồng phân vị trí, và chất đồng phân quay quang, hợp chất theo sáng chế cũng bao gồm hỗn hợp gồm chất đồng phân bất kỳ. Ví dụ, khi tồn tại các chất đồng phân quang học của hợp chất theo sáng chế, hợp chất theo sáng chế cũng bao hàm các chất đồng phân quang học được tách từ các dạng racemic. Các chất đồng phân này có thể thu được riêng rẽ ở dạng đơn chất bằng kỹ thuật tổng hợp hoặc kỹ thuật tách đã biết (như cô đặc, chiết bằng dung môi, sắc ký cột, và kết tinh lại).

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là tinh thể, và dạng tinh thể đơn cũng như hỗn hợp đa hình được bao hàm bởi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó. Tinh thể có thể được tạo ra bằng cách thực hiện kết tinh có áp dụng phương pháp kết tinh đã biết. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là solvat (như hydrat) hoặc không solvat, và cả hai đều được bao hàm bởi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó. Hợp chất được đánh dấu với, ví dụ, đồng vị (ví dụ, ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{35}S , và ^{125}I) cũng được bao hàm bởi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó.

Muối của hợp chất theo sáng chế dùng để chỉ muối thông thường được sử dụng trong lĩnh vực hóa hữu cơ, và ví dụ về muối này bao gồm các muối như, khi hợp chất có một nhóm carboxyl, muối cộng bazơ của nhóm carboxyl này, và khi hợp chất có một nhóm amino hoặc nhóm bazơ dị vòng, muối cộng axit của nhóm amino này hoặc nhóm bazơ dị vòng này.

Ví dụ về muối cộng bazơ bao gồm muối kim loại kiềm như muối natri và muối kali; muối kim loại kiềm thổ như muối canxi và muối magie; muối amoni; và muối amin hữu cơ như muối trimetylamin, muối trietylamin, muối đixyclohexylamin, muối etanolamin, muối dietanolamin, muối trietanolamin, muối procain, và muối N,N'-đibenzyletylendiamin.

Ví dụ về muối cộng axit bao gồm muối axit vô cơ như hydroclorua, sulfat, nitrat, phosphat, và perchlorat; muối axit hữu cơ như axetat, format, maleat, fumarat, tartrat, xitrat, ascorbat, và trifloaxetat; và sulfonat như metansulfonat, isethionat, benzensulfonat, và p-toluensulfonat.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A tuyệt vời, và cụ thể là, có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A cực mạnh so với hoạt tính ức chế aurora B và aurora C, và vì vậy có thể dùng làm chế phẩm có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A. Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó thể hiện tác dụng chống khối u tuyệt vời, và vì vậy có thể dùng làm thuốc chống khối u. Mặc dù các bệnh ung thư được điều trị không chỉ giới hạn cụ thể, ví

dự về các bệnh này bao gồm ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư tá tràng, ung thư ruột kết, ung thư trực tràng, ung thư gan, ung thư túi mật và ống mật, ung thư đường mật, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư cổ tử cung, ung thư tử cung, ung thư thận, ung thư bàng quang, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, sácôm xương và mô mềm, ung thư máu, đa u tuỷ, ung thư da, khối u não, u trung biểu mô, và ung thư máu. Tốt hơn là, ung thư được điều trị là ung thư máu như U lympho tế bào B, ung thư bạch cầu lympho mạn tính, u lympho tế bào T ngoại biên, hội chứng loạn sản tủy, bệnh bạch cầu tuỷ cấp tính, ung thư bạch cầu lympho cấp tính, và đa u tuỷ, ung thư dạ dày, ung thư vú, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư buồng trứng, ung thư phổi, và ung thư ruột kết. Ngoài ra, thuốc theo sáng chế có thể được dùng cho người và động vật không phải người.

Ngoài ra, do hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A tuyệt vời, khi hợp chất này được sử dụng kết hợp với thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống, nó tăng cường tác dụng chống khối u của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống. Do đó, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể dùng làm chế phẩm tăng cường tác dụng chống khối u đối với thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống. Chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó và chất chủ vận vi cấu trúc hình ống có thể dùng làm thuốc chống khối u (thuốc điều trị bệnh ung thư). Việc sử dụng phối hợp hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó và thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống có thể dùng làm phương pháp điều trị bệnh ung thư. Ví dụ về thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống bao gồm thuốc làm ổn định vi cấu trúc hình ống như thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan và thuốc chống ung thư có nguồn gốc epothilon, và tốt hơn là, thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống là thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan. Ví dụ về thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan bao gồm paclitaxel, docetaxel, và cabazitaxel, và tốt hơn là, thuốc chống ung thư có nguồn gốc taxan là paclitaxel. Ví dụ về thuốc chống ung thư có nguồn gốc epothilon bao gồm epothilon B và

epothilon D. Chất tăng cường tác dụng chống khối u theo sáng chế có thể được dùng ở thời điểm bất kỳ, nghĩa là, trước, hoặc sau khi, hoặc đồng thời với việc sử dụng thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống. Tốt hơn là, chất tăng cường tác dụng chống khối u theo sáng chế có thể được dùng ở cùng thời điểm, hoặc trong vòng bốn giờ trước hoặc sau khi dùng thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống. Khi chất tăng cường tác dụng chống khối u theo sáng chế được dùng riêng rẽ hoặc đồng thời với chất chủ vận vi cấu trúc hình ống, ví dụ, chất tăng cường tác dụng chống khối u có thể được dùng với lượng sao cho lượng của ít nhất một hợp phần được chọn từ các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 mol, tốt hơn là 0,05 đến 50 mol, tốt hơn nữa là từ 0,1 đến 20 mol so với một mol thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống. Mặc dù bệnh ung thư được điều trị không bị giới hạn cụ thể, ví dụ về bệnh này bao gồm ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư tá tràng, ung thư ruột kết, ung thư trực tràng, ung thư gan, ung thư túi mật và ống mật, ung thư đường mật, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư cổ tử cung, ung thư tử cung, ung thư thận, ung thư bàng quang, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, sụn xương và mô mềm, ung thư máu, đa u tủy, ung thư da, khối u não, u trung biểu mô, và ung thư máu. Tốt hơn là, bệnh ung thư được điều trị là ung thư máu như u lympho tế bào B, ung thư bạch cầu lympho mạn tính, u lympho tế bào T ngoại biên, hội chứng loạn sản tủy, bệnh bạch cầu tủy cấp, ung thư bạch cầu lympho cấp tính, và đa u tủy, ung thư cổ tử cung, ung thư dạ dày, ung thư vú, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư buồng trứng, ung thư phổi, và ung thư ruột kết. Ngoài ra, thuốc theo sáng chế có thể được dùng cho người và động vật khác không phải người.

Ngoài ra, theo sáng chế, có thể kết hợp một hợp phần được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó, là thành phần hoạt tính của chất tăng cường tác dụng chống khối u nêu trên, với thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống để bào chế thuốc chống ung thư được kết hợp với chất tăng cường tác

dụng chống khối u. Trong trường hợp này, thuốc chống ung thư có thể được dùng ở dạng công thức phối chế chứa tổng lượng hoạt chất bao gồm thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống và hợp phần được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó ở dạng bào chế đơn lẻ, theo một cách khác, thuốc chống ung thư có thể được bào chế ở dạng bào chế riêng biệt, mỗi dạng bào chế chứa các hoạt chất này, theo một cách khác, thuốc chống ung thư có thể được bào chế ở dạng kit.

Khi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được sử dụng ở dạng thuốc, chất mang có thể được trộn nếu cần để bào chế được phẩm. Các dạng liều khác nhau có thể được lựa chọn theo mục đích phòng ngừa hoặc điều trị. Ví dụ, thuốc bất kỳ trong số các thuốc dùng qua đường miệng, thuốc tiêm, thuốc đạn, thuốc mỡ, và cao dán có thể dùng làm dạng liều như vậy. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có khả năng hấp thụ tốt khi dùng qua đường miệng và có hoạt tính chống khối u tốt nhờ dùng qua đường miệng. Vì những lý do nêu trên, tốt hơn là thuốc dùng qua đường miệng được lựa chọn. Mỗi dạng liều này có thể được bào chế bằng các phương pháp bào chế thuốc đã biết công khai và thường được sử dụng bởi các người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Các dạng chất mang hữu cơ hoặc vô cơ khác nhau thường được dùng làm nguyên liệu được dụng được sử dụng để làm chất mang được dụng, và chất mang được dụng được trộn trong chế phẩm rắn ở dạng tá dược, chất kết dính, chất làm phân rã, chất làm trơn, và chất tạo màu chẳng hạn, hoặc trong chế phẩm lỏng ở dạng dung môi, chất trợ tan, chất tạo hỗn dịch, chất đẳng trương, chất đệm, và chất làm dịu. Ngoài ra, chất hỗ trợ dùng để bào chế thuốc như chất bảo quản, chất chống oxy hoá, chất tạo màu, chất tạo ngọt, và chất làm ổn định cũng có thể được sử dụng nếu cần.

Khi chế phẩm rắn dùng qua đường miệng được bào chế, tá dược, và nếu cần thiết, ví dụ, tá dược, chất kết dính, chất làm phân rã, chất làm trơn, chất tạo màu, và thuốc giảm nhẹ được thêm vào hợp chất theo sáng chế, và sau đó, ví dụ,

viên nén, viên nén có vỏ bọc, cốm, bột, và viên nang có thể được tạo ra theo quy trình thông thường. Khi thuốc tiêm được bào chế, ví dụ, chất điều chỉnh độ pH, chất đệm, chất làm ổn định, chất đẳng trương, và thuốc gây tê cục bộ được thêm vào hợp chất theo sáng chế, và thuốc tiêm dưới da, tiêm bắp, và trong tĩnh mạch có thể được tạo ra theo quy trình thông thường.

Lượng hợp chất theo sáng chế được kết hợp vào mỗi dạng đơn vị liều lượng trong số các dạng đơn vị liều nêu trên không cố định mà phụ thuộc vào, ví dụ, các triệu chứng của bệnh nhân mà dùng hợp chất này, và phụ thuộc vào dạng liều của hợp chất. Tuy nhiên, nói chung, lượng trên một dạng đơn vị liều mong muốn nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1000mg đối với thuốc dùng qua đường miệng, mong muốn nằm trong khoảng từ 0,01 đến 500mg đối với thuốc tiêm, và mong muốn nằm trong khoảng từ 1 đến 1000mg đối với thuốc đạn.

Ngoài ra, liều dùng hằng ngày của thuốc có dạng liều nêu trên thay đổi tùy thuộc vào, ví dụ, các triệu chứng, thể trọng, tuổi, hoặc giới tính của bệnh nhân, và vì vậy không thể được xác định chung cho mọi người. Tuy nhiên, liều dùng hằng ngày của hợp chất theo sáng chế đối với người trưởng thành bình thường (cân nặng 50kg) có thể nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5000mg, tốt hơn là từ 0,1 đến 1000mg, và thuốc này tốt hơn là được dùng một ngày một lần hoặc phân liều khoảng hai hoặc ba lần một ngày.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế được mô tả cụ thể bằng các ví dụ và các ví dụ thử nghiệm. Tuy nhiên, sáng chế không chỉ giới hạn ở các ví dụ này.

Đối với các chất phản ứng khác nhau được sử dụng trong phần ví dụ, các sản phẩm thương mại được sử dụng trừ khi có chỉ dẫn khác. Đối với sắc ký cột trên silicagel, Purif-Pack (R) SI do Schott Moritex Corporation sản xuất, cột KP-Sil (R) được nhồi sẵn silic oxit do Biotage sản xuất, hoặc cột HP-Sil (R) được nhồi

sản silic oxit do Biotage sản xuất được sử dụng. Đối với sắc ký cột silicagel cơ bản, Purif-Pack (R) NH do Schott Moritex Corporation sản xuất hoặc cột KP-NH (R) được nhồi sẵn do Biotage sản xuất được sử dụng. Đối với sắc ký điều chế lớp mỏng, Kieselgel TM60F254, Art. 5744 do Merck sản xuất hoặc đĩa 60F254 silicagel NH₂ do Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Sản xuất được sử dụng. Phổ NMR được xác định bằng quang phổ kế loại AL400 (400 MHz; JEOL, Ltd.), Mercury 400 (400 MHz; Agilent Technologies, Inc.), hoặc quang phổ kế loại Inova 400 (400MHz; Agilent Technologies, Inc.) có lắp đầu dò OMNMR (Protasis) bằng cách sử dụng tetrametylsilan làm chất chuẩn nội khi nó được chứa trong dung môi được đơteri hóa, hoặc bằng cách sử dụng dung môi NMR làm chất chuẩn nội trong trường hợp bất kỳ khác, và tất cả các trị số δ được biểu thị dưới dạng phần triệu. Các phản ứng trong lò vi sóng được tiến hành bằng cách sử dụng Initiator 8 do Biotage sản xuất.

Ngoài ra, đối với phổ LCMS, ACQUITY SQD (bốn cực) do Waters Corporation sản xuất được sử dụng.

Các chữ viết tắt có nghĩa sau đây.

s: Vạch đơn

d: Vạch đôi

t: Vạch ba

dd: Vạch đôi của vạch đôi

m: Đa vạch

br: rộng

brs: vạch đơn rộng

DMSO- d_6 : đimetyl sulfoxit đã được đơteri hoá

CDCl₃: cloroform đã được đơteri hoá

CD₃OD: methanol đã được đơteri hoá

Xantphos: 4,5-bis(điphenylphosphin)-9,9-dimetylxanten

Pd₂(dba)₃: tris(đibenzylidenaxeton)đipaladium (0)

K₃PO₄: trikali phosphat

MsOH: axit mesylic

AIBN: azobisisobutyronitril

HPMC: hydroxypropylmetylxenluloza

Ví dụ 1

Tổng hợp axit 1-(2,3-điclobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất 1)

(Bước a) Tổng hợp tert-butyl 4-((6-bromo-5-flopyridin-2-yl)metyl)-4-xyanopiperidin-1-carboxylat

Hòa tan N-Boc-4-xyanopiperidin (5,35g, 25,4mmol) trong 100ml tetrahydrofuran. Sau khi làm lạnh hỗn hợp thu được đến -78°C, dung dịch chứa phức hợp lithi diisopropylamit/tetrahydrofuran trong xyclohexan (1,5M, 16,5ml, 24,8mmol) được bổ sung đồng thời giữ nhiệt độ bên trong ở hoặc dưới -70°C. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở -78°C trong 20 phút. Bổ sung 10ml dung dịch chứa 2-bromo-6-(bromometyl)-3-flopyridin trong THF (6,28g, 23,4mmol) vào hỗn hợp phản ứng thu được, được đồng thời giữ nhiệt độ bên trong ở hoặc dưới -70°C, sau đó khuấy ở -78°C trong 20 phút. Bổ sung hỗn hợp gồm axit clohydric (5M, 4,95ml, 24,8mmol) và 95ml dung dịch nước amoni clorua bão hoà vào dung dịch phản ứng này, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng và tiếp theo chiết bằng etyl axetat. Dịch chiết thu được được rửa bằng nước muối bão hoà và được làm khô trên natri sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn tựa hắc ín được hòa tan trong 6ml etyl axetat, và 50ml heptan được bổ sung từng

giọt trong khi khuấy. Tiếp theo các hạt tinh thể được thêm vào, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. 50ml heptan được bổ sung tiếp từng giọt vào huyền phù màu vàng nhạt thu được, sau đó khuấy qua đêm. Chất rắn thu được được thu hồi bằng cách lọc và được rửa bằng dung dịch chứa etyl axetat trong heptan, và sau đó được làm khô trong điều kiện áp suất thấp, nhờ đó thu được sản phẩm nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng nhò (7,10g, 17,8mmol) (hiệu suất 76%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,45 (1H, t, $J=8,1$ Hz), 7,31 (1H, dd, $J=8,1, 3,5$ Hz), 4,16 (2H, br), 3,09-2,93 (2H, m), 3,04 (2H, s), 1,95-1,84 (2H, m), 1,68-1,57 (2H, m), 1,48 (9H, s); ESI-MS m/z 298, 300 (MH^+).

(Bước b) Tổng hợp tert-butyl 4-((6-(1-tert-butyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)methyl)-4-xyanopiperidin-1-carboxylat

Hợp chất (6,37g, 16,0mmol) thu được ở bước a nêu trên, 5-amino-1-t-butyl-3-methylpyrazol (2,42g, 15,8mmol), xantphos (65,9mg, 114 μmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (51,1mg, 55,8 μmol), và K_3PO_4 (3,63g, 17,1mmol) được đưa vào bình phản ứng, và 50ml toluen được bổ sung sau cùng, sau đó loại khí và thay bằng argon. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 110°C trong tám giờ, sau đó bổ sung 200ml etyl axetat ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp thu được được rửa bằng nước và nước muối bão hoà và làm khô trên natri sulfat, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần còn lại được hòa tan trong 10ml etyl axetat, và 40ml heptan được bổ sung trong khi khuấy ở 75°C, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Chất rắn tạo thành được thu hồi bằng cách lọc và rửa bằng 15% etyl axetat/heptan, và sau đó được làm khô trong điều kiện áp suất thấp, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (4,15g, 8,81mmol) ở dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 56%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,26 (1H, dd, $J=10,7, 8,0$ Hz), 6,74 (1H, dd, $J=8,0, 3,2$ Hz), 6,23-6,15 (2H, m), 4,19-3,92 (2H, m), 3,09-2,92 (2H, m), 2,85 (2H, s), 2,26

(3H, s), 1,95-1,86 (2H, m), 1,64 (9H, s), 1,58-1,48 (2H, m), 1,46 (9H, s); ESI-MS m/z 471 (MH⁺).

(Bước c) Tổng hợp 4-((6-(1-tert-butyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)metyl)-piperidin-4-cacbonitril

Hợp chất (4,11 g, 8,73mmol) thu được ở bước b nêu trên được hòa tan trong THF (33ml), MsOH (7,0ml) được bổ sung vào hỗn hợp này trong bể nước. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong hai giờ, và toàn bộ hỗn hợp thu được được đổ vào trong 160ml nước. Dung dịch nước thu được được rửa bằng 50ml isopropyl ete, và 21,5ml dung dịch natri hydroxit 5M được bổ sung, sau đó chiết bằng etyl axetat. Dung dịch etyl axetat thu được được rửa bằng nước muối bão hoà, và tiếp theo được làm khô trên natri sulfat khan. Sau khi lọc, dịch lọc được cô, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,09g, 8,34mmol) (hiệu suất 96%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

¹H-NMR (CDCl₃) δ : 7,22 (1H, dd, J=10,6, 8,0 Hz), 6,71 (1H, dd, J=8,0, 3,2 Hz), 6,25-6,16 (2H, m), 3,02-2,95 (2H, m), 2,91-2,84 (2H, m), 2,83 (2H, s), 2,21 (3H, s), 1,90-1,83 (2H, m), 1,61 (9H, s), 1,59-1,49 (2H, m); ESI-MS m/z 371 (MH⁺).

(Bước d) Tổng hợp 4-((6-(1-tert-butyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)metyl)-1-(2,3-điclobenzoyl)piperidin-4-cacbonitril

Bổ sung axit 2,3-điclobenzoic (2,05g, 10,8mmol), và 1-hydroxybenzotriazol monohydrat (1,80g, 13,3mmol), 25ml axetonitril vào hỗn hợp gồm hợp chất thu được ở bước c nêu trên (3,65g, 9,85mmol), và tiếp theo WSC hydroclorua (2,05g, 10,7mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tiếp theo, 30ml dung dịch natri hydroxit 1M được bổ sung, sau đó khuấy trong 15 phút. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat. Lớp etyl axetat tạo thành được rửa lần lượt bằng nước, dung dịch axit clohydric 1M, nước, và nước muối bão hoà. Dung dịch etyl axetat thu

được rửa bằng natri sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (5,55g) ở dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 100%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 543, 545 (MH^+).

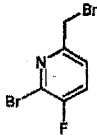
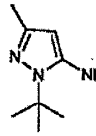
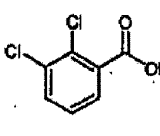
(Bước e) Tổng hợp hợp chất 1

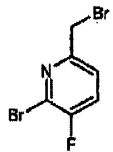
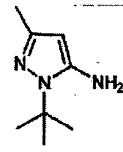
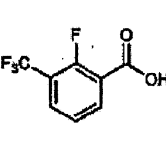
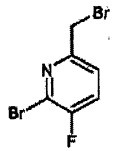
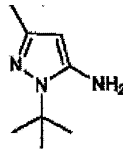
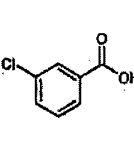
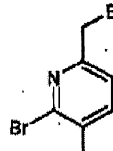
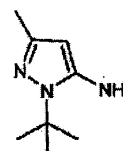
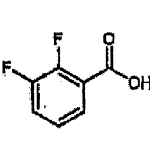
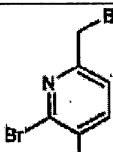
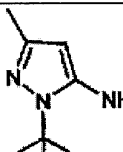
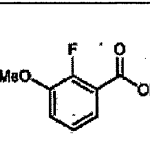
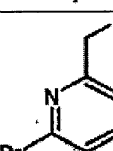
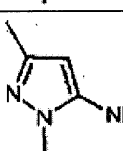
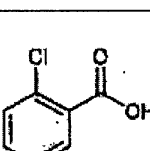
Hòa tan hợp chất thu được ở bước d nêu trên (524mg, 0,964mmol) trong 3ml 1,4-dioxan, và tiếp theo 3ml axit clohydric 5M được thêm vào. Dung dịch thu được được gia nhiệt ở $150^{\circ}C$ trong 10 phút trong thiết bị phản ứng vi sóng. Hỗn hợp phản ứng thu được được cô trong điều kiện áp suất thấp, và phần cặn thu được được hòa tan trong cloroform, sau đó rửa bằng nước muối bão hoà. Dung dịch cloroform thu được được làm khô trên natri sulfat khan, được lọc, và tiếp theo được cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = từ 100/0 đến 90/10), và chất rắn thu được được kết tủa lại trong etanol-etyl axetat, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (290mg, 0,573mmol) ở dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 59%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong bảng 9.

Ví dụ 2 đến 13

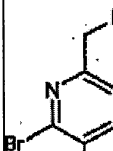
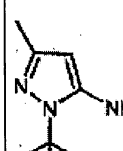
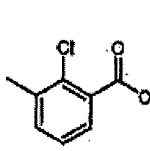
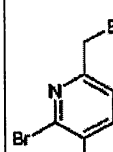
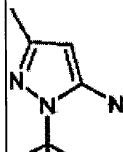
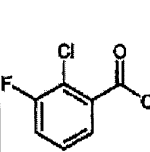
Bằng cách sử dụng nguyên liệu thô được liệt kê trong các bảng từ 1 đến 3, các hợp chất ở các ví dụ từ 2 đến 13 được tổng hợp theo phương pháp nêu trong ví dụ 1. Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

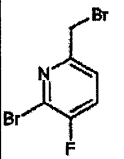
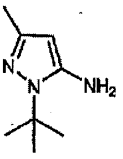
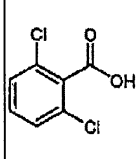
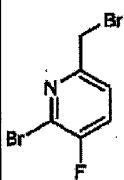
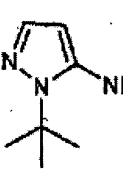
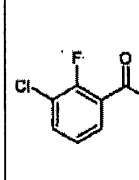
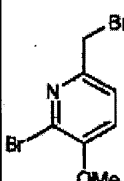
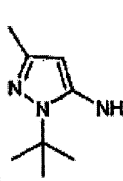
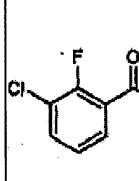
Bảng 1

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 1	Nguyên liệu thô 2	Nguyên liệu thô 3
1	Axit 1-(2,3-điclobenzoyl)-4-((5-fluor-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino) pyridin-2-yl)metyl)-piperidin-4-carboxylic (hợp chất 1)			

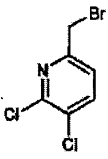
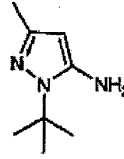
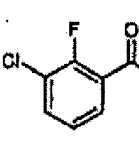
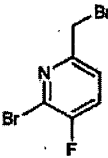
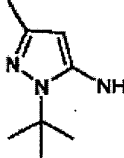
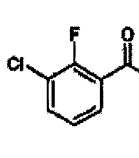
2	Axit 1-(2-flo-3-trifluoromethylbenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 2)			
3	Axit 1-(3-clobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 3)			
4	Axit 1-(2,3-điflobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 4)			
5	Axit 1-(2-flo-3-metoxibenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 5)			
6	Axit 1-(2-clobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 6)			

Bảng 2

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 1	Nguyên liệu thô 2	Nguyên liệu thô 3
7	Axit 1-(2-clo-3-metylbenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 7)			
8	Axit 1-(2-clo-3-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 8)			

9	Axit 1-(2,6-điclobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 9)			
10	Axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 10)			
	Axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-metoxi-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 11)			

Bảng 3

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 1	Nguyên liệu thô 2	Nguyên liệu thô 3
12	Axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 12)			
13	Axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (hợp chất 13)			

Ví dụ 14

Tổng hợp 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)-N-metylpiperidin-4-carboxamit (Hợp chất 14)

Bổ sung 0,05ml trietylamin vào hỗn hợp gồm hợp chất 13 (50mg, 0,1mmol) nhận được trong ví dụ 13, 1-etyl-3-(3-đimetylaminopropyl)carbodiimit

hydroclorua (40mg, 0,21mmol), 1-hydroxybenzotriazol monohydrat (30mg, 0,22mmol), metylamin hydroclorua (25mg, 0,37mmol), và 1ml dimetylformamit, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 13 giờ. Nước được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng thu được, sau đó chiết bằng etyl axetat. Dịch chiết thu được được làm khô trên magie sulfat khan, được lọc, và tiếp theo được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng HPLC, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (41mg, 0,082mmol) ở dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 82%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

Ví dụ từ 15 đến 21

Trong các ví dụ từ 15 đến 21, bằng cách sử dụng nguyên liệu thô được chỉ rõ trong các bảng từ 4 đến 5, các hợp chất được tổng hợp bằng phương pháp nêu trong ví dụ 14. Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

Bảng 4

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 4
14	1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N-metylpiperidin-4-carboxyamid (hợp chất 14)	Metylamin hydroclorua
15	1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxyamid (hợp chất 15)	Amoni clorua
16	1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N,N-dimetylpiperidin-4-carboxyamid (hợp chất 16)	Dimetylamin
17	1-(3-clo-2-flobenzoyl)-N-xyclopropyl-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxyamid (hợp chất 17)	Xyclopropylamin

18	1-(3-clo-2-flobenzoyl)-N-xyclobutyl-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxyamid (hợp chất 18)	Xyclobutylamin
19	azetidin-1-yl(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-yl)metanon (hợp chất 19)	Azetidin hydroclorua

Bảng 5

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 4
20	(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-piperidin-4-yl)(pyrolidin-1-yl)metanon (hợp chất 20)	Pyrolidin
21	(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-piperidin-4-yl)(isoxazolidin-2-yl) metanon (hợp chất 21)	Isoxazolidin hydroclorua

Ví dụ 22

Tổng hợp (3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (Hợp chất 22)

(Bước a) Tổng hợp tert-butyl4-((6-(1-tert-butyl-3-metyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)metyl)-4-(N'-hydroxycarbamimidoyl)piperidin-1-carboxylat

Hòa tan hợp chất nhận được trong ví dụ 1 (Bước b) (50g) trong 530ml ethanol ở 60°C. Dung dịch thu được được điều chỉnh trở lại nhiệt độ trong phòng và 65ml dung dịch nước hydroxylamin 50% được bổ sung, sau đó khuấy ở 60°C trong 46 giờ. Dung dịch phản ứng tạo thành được bổ sung vào nước cất, sau đó chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước cất và nước muối bão hòa. Dung dịch thu được được làm khô trên natri sulfat và tiếp theo được cô trong điều kiện áp suất thấp, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (53g, 106mmol) (hiệu suất 100%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 504 (MH⁺).

(Bước b) Tổng hợp tert-butyl4-((6-(1-tert-butyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)methyl)-4-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-carboxylat

Hợp chất (53g, 106mmol) thu được ở bước a nêu trên được tạo huyền phù trong 525ml toluen, và 10ml axetic anhydrua được bổ sung, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ và 20 phút, và tiếp theo khuấy ở 100°C trong 16 giờ. 175ml dung dịch nước amoniac, 500ml nước cất, và 500ml etyl axetat được bổ sung lần lượt vào dung dịch phản ứng thu được trong chậu đá, sau đó rửa bằng nước muối bão hoà. Lớp nước thu được được chiết bằng etyl axetat, và lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước muối bão hoà và làm khô trên natri sulfat, và tiếp theo được cô trong điều kiện áp suất thấp, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (58g) ở dạng sản phẩm thô đã được tinh chế. Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 528(MH⁺).

(Bước c) Tổng hợp N-(1-tert-butyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-3-flo-6-((4-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-4-yl)methyl)pyridin-2-amin

Hòa tan hợp chất thu được ở bước b nêu trên (57g) trong 210ml axetonitril, và 27ml axit mesylic được bổ sung vào trong chậu đá, sau đó khuấy trong chậu đá trong một giờ, và tiếp theo ở nhiệt độ trong phòng trong 17 giờ. Dung dịch phản ứng thu được được bổ sung vào 500ml nước cất trong chậu đá, sau đó rửa bằng 500ml diisopropyl ete. 100ml dung dịch natri hydroxit 5M được bổ sung vào lớp nước thu được trong chậu đá, và lớp nước được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước muối bão hoà và làm khô trên natri sulfat, và tiếp theo được cô trong điều kiện áp suất thấp, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (44g, 102mmol) (hiệu suất 91%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 428(MH⁺).

(Bước d) Tổng hợp 4-((6-(1-tert-butyl-3-methyl-1H-pyrazol-5-ylamino)-5-flopyridin-2-yl)methyl)-4-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)(3-clo-2-flophenyl)metanon

Hoà tan hợp chất thu được ở bước c nêu trên (44g), axit 3-clo-2-flobenzoic (20g), và 1-hydroxybenzotriazol monohydrat (21g) trong 343ml axetonitril, và trong chậu đá, 1-etyl-3-(3-đimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (22g) được bổ sung, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 giờ. Dung dịch natri hydroxit 1M (500ml) được bổ sung vào dung dịch phản ứng tạo thành, sau đó chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước cất, dung dịch axit clohydric 1M, nước cất, và nước muối bão hoà, và tiếp theo làm khô trên natri sulfat và được cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần cặn thu được được kết tinh từ heptan-etyl axetat, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (52g, 89mmol) (hiệu suất 86%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 584,586 (MH^+).

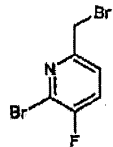
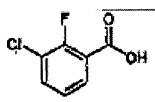
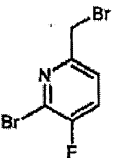
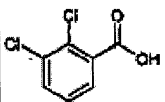
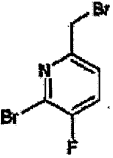
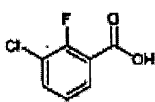
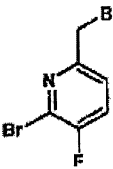
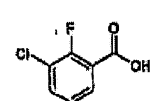
(Bước e) Tổng hợp Hợp chất 22

Hòa tan hợp chất thu được ở bước d nêu trên (2,94g, 5,03mmol) trong 30ml dung dịch axit clohydric 5M và 20ml 2-propanol, sau đó gia nhiệt ở 100°C trong hai giờ. Dung dịch phản ứng thu được được làm lạnh trên đá, và tiếp theo nước và dung dịch natri hydroxit 5M được bổ sung vào để điều chỉnh độ pH đến xấp xỉ 8, sau đó chiết bằng etyl axetat. Dịch chiết thu được được rửa bằng nước và nước muối bão hoà, và tiếp theo làm khô trên natri sulfat và được cô trong điều kiện áp suất thấp. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = 100/0 đến 95/5), nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,26g, 4,28mmol) (hiệu suất 85%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

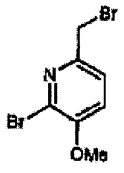
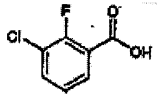
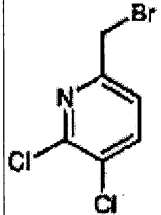
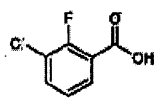
Ví dụ từ 23 đến 27

Trong các ví dụ từ 23 đến 27, bằng cách sử dụng nguyên liệu thô được chỉ rõ trong các bảng từ 6 đến 7, các hợp chất được tổng hợp bằng phương pháp nêu trong Ví dụ 22. Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

Bảng 6

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 5	Nguyên liệu thô 6	Nguyên liệu thô 7
22	(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 22)			Axetic anhyđrit
23	(2,3-điclophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 23)			Axetic anhyđrit
24	(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)-4-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 24)			Trietyl orthoformat
25	(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-(triflometyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon (hợp chất 25)			Trifloaxetic anhyđrit

Bảng 7

Ví dụ	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 5	Nguyên liệu thô 6	Nguyên liệu thô 7
26	(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-metoxi-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)-metanon (hợp chất 26)			Axetic anhydrit
27	(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)-metanon (hợp chất 27)			Axetic anhydrit

Ví dụ 28

Tổng hợp (3-clo-2-flophenyl)(4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)piperidin-1-yl)metanon (Hợp chất 28)

(Bước a) Tổng hợp tert-butyl 2-(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-cacbonyl) hydrazin carboxylat

Hợp chất 13 (62mg, 0,13mmol) nhận được trong ví dụ 13, tert-butoxycacbonyl hydrazit (25mg, 0,19mmol), và 1-hydroxybenzotriazol monohydrat (30mg, 0,22mmol) được hoà tan trong 3ml dimetylformamit, và (1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (41mg, 0,22mmol) được bổ sung, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong ba giờ. Nước được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng thu được, và hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat và sau đó làm khô trên magie sulfat khan. Hỗn hợp thu được được lọc và được cô, và phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = 100/0 đến 95/5), nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (70mg, 0,12mmol) (hiệu suất 92%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 604, 606(MH⁺).

(Bước b) Tổng hợp Hợp chất 28

Hòa tan hợp chất thu được ở bước a nêu trên (70mg, 0,12mmol) trong 4ml cloroform, và 2ml axit trifloaxetic được bổ sung, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong ba giờ. Hỗn hợp phản ứng thu được được cô, và cloroform và dung dịch nước natri bicacbonat bão hoà được bổ sung vào phần cặn để tách pha. Lớp cloroform được làm khô trên magie sulfat khan, được lọc, và được cô. Bổ sung 4ml toluen và 0,5ml ortho etyl axetat vào phần cặn thu được, sau đó khuấy trong khi gia nhiệt ở 110°C trong hai giờ. Bổ sung nước vào dung dịch phản ứng thu được ở nhiệt độ trong phòng, sau đó chiết bằng etyl axetat. Dịch chiết thu được được làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = 100/0 đến 90/10), nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (39mg, 0,077mmol) (hiệu suất 64%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

Ví dụ 29

Tổng hợp (3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(3-metyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)piperidin-1-yl)metanon (Hợp chất 29)

Bổ sung diisopropyletylamin (0,07ml) vào hỗn hợp gồm hợp chất 13 nhận được trong ví dụ 13 (49mg, 0,10mmol), 1-etyl-3-(3-đimetylaminopropyl)-carbodiimide hydroclorua (38mg, 0,20mmol), 1-hydroxybenzotriazol monohydrat (27mg, 0,20mmol), axetamidoxim (15mg, 0,20mmol), và đimetylformamit (1ml), sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong bảy giờ. Bổ sung nước vào hỗn hợp phản ứng thu được, sau đó chiết bằng etyl axetat. Dịch chiết thu được được làm khô trên natri sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Bổ sung 1,4-dioxan (1ml) vào sản phẩm thô thu được, và hỗn hợp thu được được chiếu xạ ở 120°C trong sáu giờ trong khi khuấy bằng cách sử dụng thiết bị phản ứng vi sóng

(Biotage Initiator 8). Sau khi cô đặc, phần cặn thu được được tinh chế bằng HPLC, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (29mg, 0,055mmol) ở dạng chất rắn màu cam nhạt (hiệu suất 55%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong các bảng từ 9 đến 17.

Ví dụ so sánh 1

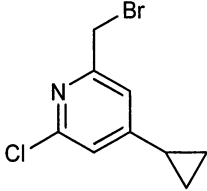
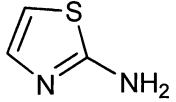
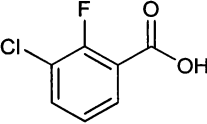
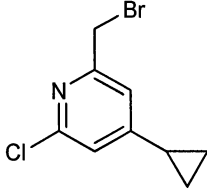
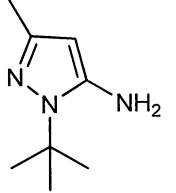
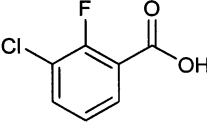
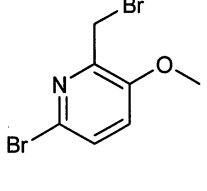
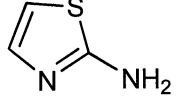
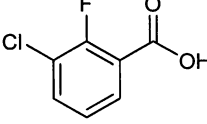
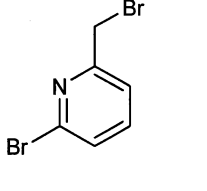
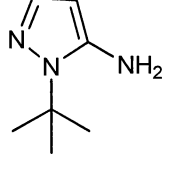
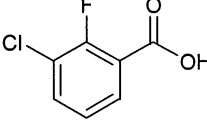
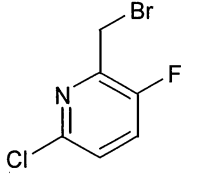
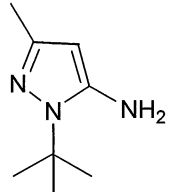
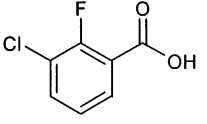
Tổng hợp 5-(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((6-(1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)methyl)piperidin-4-yl)-1,3,4-oxadiazol-2(3H)-on (Hợp chất so sánh 1)

Hợp chất so sánh 1 được tổng hợp như sau theo phương pháp được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO2009/104802. Bổ sung dung dịch axit clohydric 5M (40ml) và 2-propanol (40ml) vào 5-(4-((6-((1-tert-butyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyridin-2-yl)methyl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-(3H)-on (4,45g, 8,03mmol), sau đó khuấy ở 100°C trong bốn giờ. Bổ sung dung dịch natri hydroxit 5M (40ml) vào hỗn hợp phản ứng thu được, và dung dịch thu được được tách riêng và được chiết bằng cloroform. Dịch chiết cloroform thu được được làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = 100/0 đến 95/5), và tiếp theo được rửa trong etyl axetat đồng thời khuấy, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,63g, 3,29mmol) ở dạng chất rắn màu cam nhạt (hiệu suất 41%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong bảng 18.

Các ví dụ so sánh từ 2 đến 5 và 7

Ví dụ so sánh từ 2 đến 5 và 7, bằng cách sử dụng nguyên liệu thô được chỉ rõ trong bảng 8, các hợp chất được tổng hợp theo phương pháp tương đương với phương pháp được sử dụng trong Ví dụ 1. Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong bảng 18.

Bảng 8

Ví dụ so sánh	Tên hợp chất	Nguyên liệu thô 8	Nguyên liệu thô 9	Nguyên liệu thô 10
2	axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((4-xyclopropyl-6-(thiazol-2-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 2)			
3	axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((4-xyclopropyl-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 3)			
4	axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((3-metoxi-6-(thiazol-2-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 4)			
5	axit 4-((6-(1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 5)			
7	axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((3-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 7)			

Ví dụ so sánh 6

Tổng hợp axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-xyano-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic (Hợp chất so sánh 6)

(Bước a) Tổng hợp tert-butyl 4-etyl 4-((5-bromo-6-clopyridin-2-yl)metyl)piperidin-1,4-dicarboxylat

Hòa tan 3-bromo-2-clo-6-metylpyridin (880mg, 4,26mmol) trong 21ml cacbon tetraclorea, và N-bromosuccinimit (682 mg, 3,83mmol) và AIBN (70mg, 0,426 mmol) được bổ sung, sau đó khuấy ở 90°C trong một giờ. Dung dịch phản ứng thu được được cô, và phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol = 100/0 đến 95/5), nhờ đó thu được 3-bromo-6-(bromometyl)-2-clopyridin ở dạng sản phẩm thô đã tinh chế.

Hòa tan etyl N-Boc piperidin carboxylat (1,16ml, 4,72mmol) trong 18ml tetrahydrofuran, và dung dịch chứa phức hợp lithi diisopropylamit/tetrahydrofuran trong xyclohexan (1,5M, 3,3ml, 4,96mmol) được bổ sung ở -78°C, sau đó khuấy trong 40 phút. Tiếp theo, 2ml dung dịch chứa 3-bromo-6-(bromometyl)-2-clopyridin trong tetrahydrofuran thu được ở trên được bổ sung vào từng giọt, sau đó khuấy tiếp trong 10 phút. Bổ sung dung dịch nước amoni clorua bão hoà vào dung dịch phản ứng thu được, và dung dịch được gia nhiệt, và dung dịch được làm phân bố giữa nước và etyl axetat. Lớp etyl axetat tạo thành được rửa bằng nước muối bão hoà và làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (hexan/etyl axetat = 95/5 đến 65/35), nhờ đó hợp chất nêu ở đề mục này (592mg, 1,28mmol) thu được (hiệu suất 27%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 461, 463, 465 (MH⁺).

(Bước b) Tổng hợp etyl 4-((5-bromo-6-clopyridin-2-yl)metyl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-carboxylat

Hòa tan hợp chất (590mg, 1,28mmol) thu được ở bước a nêu trên trong 5ml cloroform, và 2mL axit trifloaxetic được bổ sung, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Dung dịch phản ứng thu được được cô và được hoà tan trong 5ml DMF. Tiếp theo, 1H-benzo[b][1,2,3]-triazol-1-yl 3-clo-2-flobenzoat (411mg, 1,41mmol) và N,N-diisopropyletylamin (0,45ml, 2.56 mmol) được bổ sung ở 0°C, sau đó khuấy trong 15 phút. Nước được bổ sung, và Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat. Lớp etyl axetat tạo thành được rửa bằng nước và nước muối bão hoà, và làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (hexan/etyl axetat = 90/10 đến 50/50), nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (581mg, 1,13mmol) (hiệu suất 88%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 517, 519, 521 (MH⁺).

(Bước c) Tổng hợp axit 4-((5-bromo-6-clopyridin-2-yl)metyl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-carboxylic

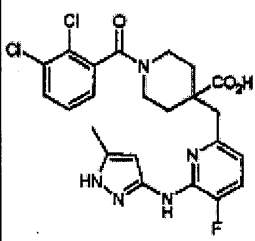
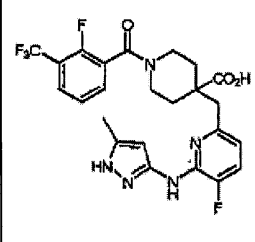
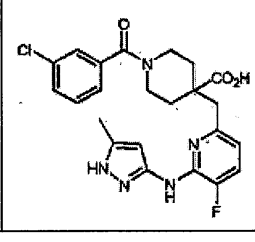
Hòa tan hợp chất thu được ở bước b nêu trên (310mg, 0,598mmol) trong 6ml etanol, và 5M natri hydroxit (0,96ml) được bổ sung, sau đó khuấy ở 80°C trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng thu được được pha loãng bằng nước, và dung dịch axit clohydric 5M được bổ sung để điều chỉnh độ pH bằng 1, sau đó chiết bằng etyl axetat. Lớp etyl axetat tạo thành được rửa bằng nước và nước muối bão hoà, và làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (hexan/etyl axetat = 30/70 đến 0/100 → cloroform/metanol = 100/0 đến 90/10), nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (259mg, 0,526 mmol) (hiệu suất 88%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra dưới đây.

ESI-MS m/z 489, 491, 493 (MH⁺).

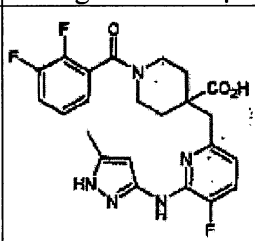
(Bước d) Tổng hợp Hợp chất so sánh 6

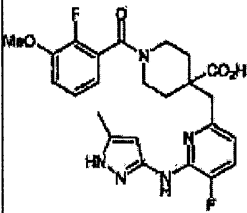
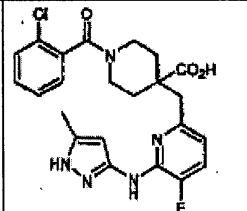
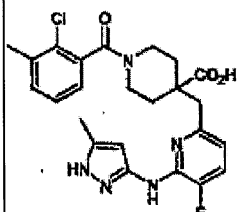
Bổ sung 1ml N-methylpyrrolidon vào hợp chất thu được ở bước c nêu trên (80mg, 0,163mmol) và đồng xyanua (16mg, 0,180mmol), và hỗn hợp thu được được chiếu xạ ở 195°C trong 40 phút đồng thời khuấy bằng cách sử dụng thiết bị phản ứng vi sóng (Biotage Initiator 8). Dung dịch phản ứng thu được được pha loãng bằng nước và dung dịch axit clohydric 1M được bổ sung, sau đó chiết bằng ethyl axetat. Lớp ethyl axetat tạo thành được rửa bằng nước và nước muối bão hòa, và làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (hexan/ethyl axetat = 50/50 đến 0/100 → cloroform/metanol = 100/0 đến 90/10), nhờ đó thu được axit 4-((5-xyano-6-clopyridin-2-yl)metyl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-carboxylic (9mg) ở dạng sản phẩm thô đã được tinh chế. Bổ sung 0,2ml đioxan vào hỗn hợp gồm sản phẩm thô đã được tinh chế thu được ở bước này (9mg), 5-amino-1-tert-butyl-3-methylpyrazol (3,5mg, 0,022mmol), xantphos (2,4mg, 0,0041mmol), Pd₂(dba)₃ (2,0mg, 0,0023mmol), và kali phosphat (8,7mg, 0,041mmol), sau đó khuấy ở 100°C trong 3,5 giờ. Dung dịch phản ứng thu được được pha loãng bằng nước và được chiết bằng ethyl axetat. Lớp ethyl axetat tạo thành được rửa bằng nước và nước muối bão hòa, và làm khô trên magie sulfat khan, và tiếp theo được lọc và được cô. Phần cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký cột trên silicagel (hexan/ethyl axetat = 25/75 đến 0/100 → cloroform/metanol = 100/0 đến 90/10), nhờ đó thu được 4-((6-(1-tert-butyl-5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-5-xyanopyridin-2-yl)metyl)-1-yl)-1-(3-clo-2-flobenzoyl)piperidin-4-axit carboxylic (4mg) ở dạng sản phẩm thô. Sản phẩm thô thu được (4mg) được hòa tan trong 0,5ml axit trifloaxetic và 0,05ml anisol, sau đó khuấy đồng thời gia nhiệt ở 85°C trong một giờ. Sau khi cô đặc, phần cặn thu được được tinh chế bằng HPLC pha đảo, nhờ đó thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1mg, 0,002mmol) (hiệu suất 1%). Các trị số đặc tính vật lý được chỉ ra trong bảng 18.

Bảng 9

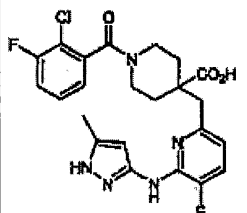
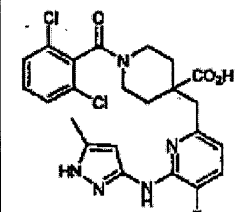
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 1		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 10,05 (1H, brs), 7,70-7,65 (1H, m), 7,59-7,54 (1H, m), 7,46-7,29 (2H, m), 6,72-6,68 (1H, m), 6,30-6,29 (1H, m), 4,23-4,18 (1H, m), 3,26-3,20 (1H, m), 3,09-2,95 (4H, m), 2,27-2,26 (3H, m), 2,05-2,00 (1H, m), 1,90-1,83 (1H, m), 1,67-1,49 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH^+).
Ví dụ 2		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 10,05 (1H, brs), 7,86 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 7,75 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 7,57 (1H, dd, $J=11,1, 8,2$ Hz), 7,48 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 6,70 (1H, dd, $J=8,2, 2,8$ Hz), 6,29 (1H, s), 4,20 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 3,36 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 3,11-2,98 (4H, m), 2,25 (3H, s), 2,02 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 1,91-1,87 (1H, m), 1,64-1,50 (2H, m); ESI-MS m/z 524 (MH^+).
Ví dụ 3		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,38-7,00 (5H, m), 6,70-6,58 (1H, m), 5,68 (1H, s), 4,60-4,45 (1H, m), 3,40-3,09 (4H, m), 3,04-2,89 (1H, m), 2,40-2,10 (2H, m), 2,24 (3H, s), 1,71-1,42 (2H, m); ESI-MS m/z 472, 474 (MH^+).

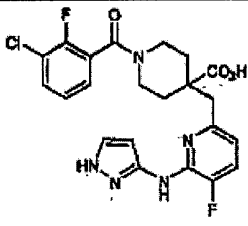
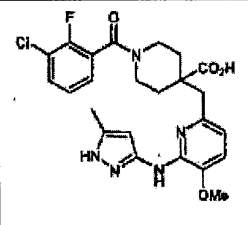
Bảng 10

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 4		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,30-6,95 (4H, m), 6,68-6,60 (1H, m), 5,69 (1H, s), 4,64-4,55 (1H, m), 3,42-3,15 (4H, m), 3,03-2,90 (1H, m), 2,50-2,30 (1H, m), 2,28-2,16 (1H, m), 2,23 (3H, s), 1,58-1,40 (2H, m); ESI-MS m/z 474 (MH^+).

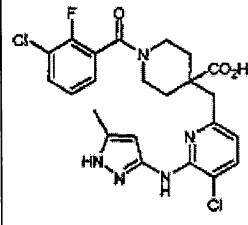
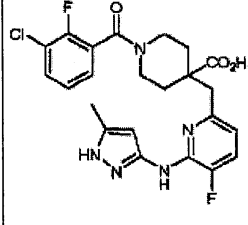
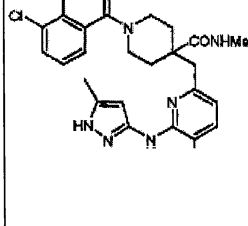
Ví dụ 5		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 9,23 (1H, brs), 7,73-7,65 (1H, m), 7,58-7,46 (2H, m), 7,23-7,13 (1H, m), 6,83-6,79 (1H, m), 6,60 (1H, s), 4,51-4,40 (1H, m), 4,17 (3H, s), 3,75-3,36 (1H, m), 3,52-3,30 (2H, m), 3,20 (2H, s), 2,46 (3H, s), 2,39-2,27 (1H, m), 2,23-2,12 (1H, m), 1,97-1,78 (2H, m), ESI-MS m/z 486 (MH^+).
Ví dụ 6		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,38-7,02 (4H, m), 6,68-6,59 (1H, m), 5,68 (1H, s), 4,66-4,56 (1H, m), 3,33-3,09 (4H, m), 3,03-2,91 (1H, m), 2,40-2,25 (1H, m), 2,24 (3H, s), 2,20-2,10 (1H, m), 1,62-1,40 (2H, m); ESI-MS m/z 472, 474 (MH^+).
Ví dụ 7		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 9,24 (1H, brs), 7,75-7,43 (4H, m), 6,87-6,79 (1H, m), 6,60 (1H, s), 4,54-4,41 (1H, m), 3,71-3,29 (3H, m), 3,20 (2H, s), 2,66 (3H, s), 2,46 (3H, s), 2,39-2,28 (1H, m), 2,22-2,12 (1H, m), 2,00-1,80 (2H, m); ESI-MS m/z 486, 488 (MH^+).

Bảng 11

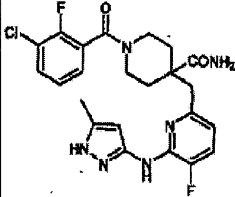
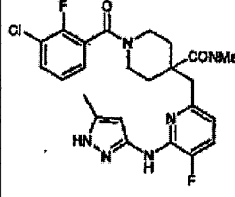
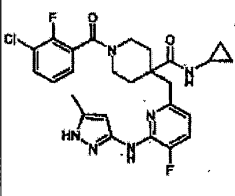
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 8		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 9,23 (1H, brs), 7,82-7,63 (3H, m), 7,60-7,48 (1H, m), 6,85-6,79 (1H, m), 6,66-6,56 (1H, m), 4,56-4,44 (1H, m), 3,72-3,29 (3H, m), 3,24-3,12 (2H, m), 2,47 (3H, s), 2,41-2,29 (1H, m), 2,24-2,12 (1H, m), 2,01-1,80 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH^+).
Ví dụ 9		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 9,23 (1H, brs), 7,89-7,63 (4H, m), 6,85-6,79 (1H, m), 6,61 (1H, s), 4,58-4,48 (1H, m), 3,72-3,30 (3H, m), 3,26-3,14 (2H, m), 2,47 (3H, s), 2,41-2,30 (1H, m), 2,27-2,16 (1H, m), 2,01-1,85 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH^+).

Ví dụ 10		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 9,07 (1H, brs), 7,65 (1H, td, $J=7,8$, 2,0 Hz), 7,49 (1H, d, $J=2,0$ Hz), 7,41-7,35 (2H, m), 7,29 (1H, t, $J=7,8$ Hz), 6,53-6,51 (2H, m), 4,19 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 3,34 (1H, d, $J=13,7$ Hz); 3,07-3,02 (2H, m), 2,90 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 2,87 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 2,03 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 1,88 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 1,61-1,48 (2H, m); ESI-MS m/z 476, 478 (MH^+).
Ví dụ 11		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 10,68 (1H, brs), 7,67 (1H, t, $J=7,6$ Hz), 7,51 (1H, d, $J=8,0$ Hz), 7,37 (1H, t, $J=6,7$ Hz), 7,30 (1H, t, $J=7,6$ Hz), 6,85 (1H, d, $J=8,0$ Hz), 6,14 (1H, s), 4,32-4,20 (1H, m), 3,97 (3H, s), 3,43-3,32 (1H, m), 3,15-2,96 (4H, m), 2,27 (3H, s), 2,12-2,03 (1H, m), 1,99-1,87 (1H, m), 1,70-1,45 (2H, m); ESI-MS m/z 502, 504 (MH^+).

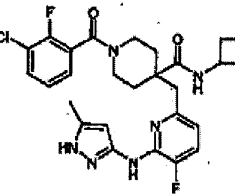
Bảng 12

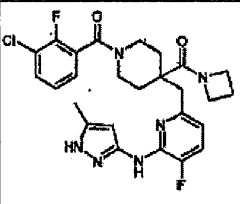
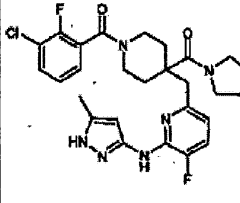
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 12		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,55 (1H, d, $J=8,7\text{Hz}$), 7,42-7,35 (1H, m), 7,34 (1H, s), 7,25-7,16 (2H, m), 6,70-6,61 (1H, m), 5,67 (1H, s), 4,61-4,53 (1H, m), 3,40-3,09 (4H, m), 3,05-2,94 (1H, m), 2,37-2,10 (2H, m), 2,25 (3H, s), 1,61-1,40 (2H, m); ESI-MS m/z 506, 508 (MH^+).
Ví dụ 13		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 10,13 (1H, brs), 7,68-7,64 (1H, m), 7,58 (1H, dd, $J=11,0$ Hz, 8,0 Hz), 7,38-7,35 (1H, m), 7,29 (1H, t, $J=8,0$ Hz), 6,73-6,70 (1H, m), 6,29 (1H, s), 4,21-4,18 (1H, m), 3,38-3,34 (1H, m), 3,09-2,99 (4H, m), 2,27 (3H, s), 2,03-1,99 (1H, m), 1,89-1,87 (1H, m), 1,63-1,49 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH^+).
Ví dụ 14		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 11,79 (1H, s), 8,68 (0,5H, s), 7,68-7,61 (2H, m), 7,36-7,27 (3H, m), 6,41 (1,5H, s), 4,06-4,01 (1H, m), 3,32 (3H, s), 3,30-3,28 (1H, m), 3,20-3,16 (1H, m), 3,09-3,03 (1H, m), 2,87-2,82 (2H, m), 2,13 (3H, s), 2,05-2,01 (1H, m), 1,91-1,87 (1H, m), 1,61-1,49 (2H, m); ESI-MS m/z 503, 505 (MH^+).

Bảng 13

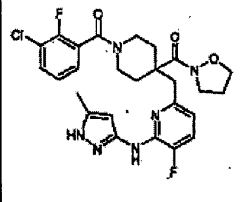
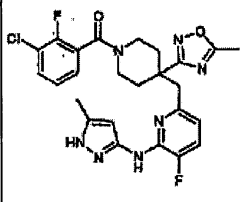
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 15		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 11,79 (1H, brs), 8,66 (0,5H, brs), 7,65 (1H, td, $J=7,7$, 1,6Hz), 7,37-7,26 (4H, m), 6,98 (1H, s), 6,48 (1H, brs), 6,41 (0,5H, brs), 4,09-4,04 (1H, m), 3,31-3,28 (1H, m), 3,21-3,18 (1H, m), 3,12-3,07 (1H, m), 2,86-2,83 (2H, m), 2,13 (3H, s), 2,06-2,03 (1H, m), 1,92-1,89 (1H, m), 1,61-1,48 (2H, m); ESI-MS m/z 489, 491 (MH $^+$).
Ví dụ 16		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 11,74 (1H, brs), 7,65 (1H, td, $J=7,7$, 1,6Hz), 7,37-7,26 (3H, m), 6,49-6,47 (1H, m), 6,17 (1H, brs), 4,13-4,10 (1H, m), 3,30-3,28 (1H, m), 3,15-2,86 (10H, m), 2,23-2,19 (1H, m), 2,15 (3H, s), 2,11-2,07 (1H, m), 1,66-1,50 (2H, m); ESI-MS m/z 517, 519 (MH $^+$).
Ví dụ 17		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 11,81 (1H, brs), 7,68-7,63 (2H, m), 7,38-7,26 (3H, m), 6,41 (1H, brs), 4,08-4,04 (1H, m), 3,29-3,27 (1H, m), 3,14-3,02 (2H, m), 2,84 (2H, brs), 2,51-2,46 (1H, m), 2,12 (3H, s), 2,09-2,05 (1H, m), 1,95-1,92 (1H, m), 1,60-1,47 (2H, m), 0,53-0,48 (2H, m), 0,34-0,31 (2H, m); ESI-MS m/z 529, 531 (MH $^+$).

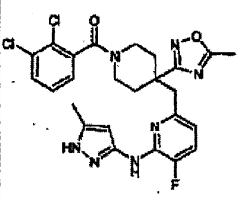
Bảng 14

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 18		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- D_6) δ : 11,80 (1H, brs), 8,67 (0,5H, brs), 7,71 (1H, d, $J=7,6$ Hz), 7,66 (1H, td, $J=7,6$, 1,5 Hz), 7,39-7,29 (2H, m), 7,28 (1H, t, $J=7,8$ Hz), 6,38 (1,5H, brs), 4,17-4,15 (1H, brm), 4,06-4,03 (1H, brm), 3,31-3,29 (1H, m), 3,19-3,16 (1H, m), 3,07-3,02 (1H, m), 2,83 (2H, brs), 2,13 (3H, s), 1,94-1,93 (1H, m), 2,07-2,05 (1H, m), 2,00-1,96 (2H, m), 1,87-1,78 (2H, m), 1,63-1,49 (4H, m); ESI-MS m/z 543, 545 (MH $^+$).

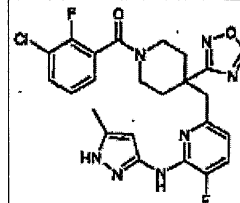
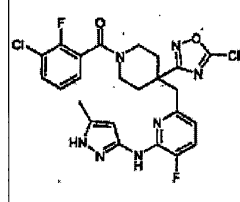
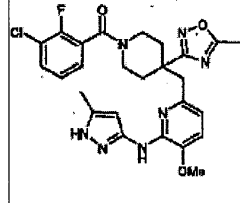
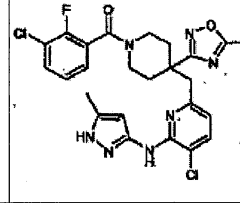
Ví dụ 19		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 8,99 (1H, brs), 7,66 (1H, td, $J=7,7, 1,5$ Hz), 7,42-7,35 (2H, m), 7,29 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 6,54-6,51 (1H, m), 6,27 (1H, brs), 4,14-4,10 (1H, m), 3,87-3,72 (4H, m), 3,36-3,34 (1H, m), 3,13-3,00 (2H, m), 2,82 (2H, s), 2,15 (3H, s), 2,08-2,02 (1H, m), 1,95-1,88 (3H, m), 1,56-1,45 (2H, m); ESI-MS m/z 529, 531 (MH^+).
Ví dụ 20		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ : 11,80 (1H, brs), 8,69 (1H, brs), 7,65 (1H, td, $J=7,7, 1,7$ Hz), 7,38-7,29 (2H, m), 7,29 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 6,57-6,36 (2H, m), 4,14-4,10 (1H, m), 3,34-3,27 (5H, m), 3,15-3,02 (2H, m), 2,87 (2H, brs), 2,26-2,22 (1H, m), 2,12-2,10 (1H, m), 2,15 (3H, s), 1,65-1,53 (6H, m); ESI-MS m/z 543, 545 (MH^+).

Bảng 15

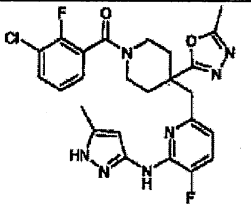
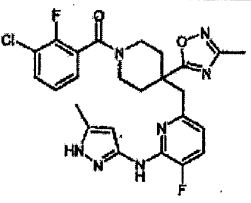
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 21		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,42 (1H, ddd, $J=8,0, 7,1, 1,7$ Hz), 7,23 (1H, brs), 7,17 (1H, dd, $J=10,5, 8,0$ Hz), 7,12 (1H, dd, $J=8,0, 7,1$ Hz), 7,07 (1H, brs), 6,53-6,50 (1H, m), 5,85 (1H, s), 4,48-4,45 (1H, m), 4,13-4,07 (2H, m), 3,84-3,73 (2H, m), 3,39-3,37 (2H, brm), 3,24-3,12 (2H, m), 3,03 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 2,52 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 2,37-2,29 (3H, m), 2,26 (3H, s), 1,67-1,42 (2H, m); ESI-MS m/z 545, 547 (MH^+).
Ví dụ 22		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,45 (1H, ddd, $J=8,2, 6,6, 1,3$ Hz), 7,34-7,15 (1H, m), 7,15 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 7,14 (1H, dd, $J=10,6, 8,1$ Hz), 7,03 (1H, brs), 6,42-6,31 (1H, m), 5,98 (1H, s), 4,63-4,52 (1H, m), 3,50-3,38 (1H, m), 3,17 (1H, brs), 3,10 (1H, d, $J=13,2$ Hz), 3,05 (1H, d, $J=13,2$ Hz), 3,02-2,89 (1H, m), 2,53-2,39 (1H, m), 2,51 (3H, s), 2,37-2,26 (1H, m), 2,31 (3H, s), 1,96-1,66 (2H, m); ESI-MS m/z 528, 530 (MH^+).

Ví dụ 23		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,50-7,47 (1H, m), 7,28-7,23 (1H, m), 7,16-7,08 (2H, m), 6,38-6,33 (1H, m), 6,04-5,99 (1H, m), 4,60 (1H, d, $J=13,9$ Hz), 3,37-3,29 (1H, m), 3,19-3,03 (3H, m), 3,01-2,91 (1H, m), 2,52-2,43 (4H, m), 2,32-2,27 (4H, m), 1,98-1,84 (2H, m); ESI-MS m/z 544, 546 (MH^+).
----------	---	--

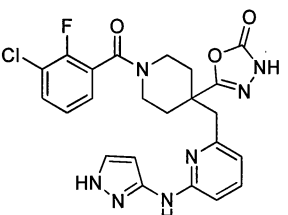
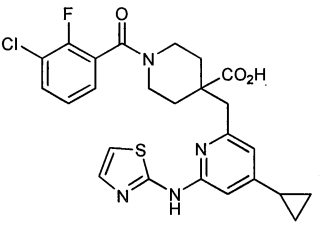
Bảng 16

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 24		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 8,73 (1H, s), 7,46 (1H, t, $J=7,5$ Hz), 7,32-7,10 (3H, m), 7,00 (1H, s), 6,37 (1H, brs), 5,92 (1H, s), 4,63-4,52 (1H, m), 3,52-3,40 (1H, m), 3,27-2,88 (4H, m), 2,54-2,43 (1H, m), 2,40-2,30 (1H, m), 2,31 (3H, s), 2,02-1,68 (2H, m); ESI-MS m/z 514, 516 (MH^+).
Ví dụ 25		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,46 (1H, ddd, $J=8,3, 6,7, 1,2$ Hz), 7,26-7,17 (2H, m), 7,16 (1H, t, $J=7,7$ Hz), 7,12 (1H, dd, $J=10,6, 8,0$ Hz), 6,28 (1H, dd, $J=7,0, 2,4$ Hz), 6,15 (1H, brs), 4,64-4,50 (1H, m), 3,60-3,43 (1H, m), 3,24-2,92 (4H, m), 2,56-2,45 (1H, m), 2,42-2,34 (1H, m), 2,32 (3H, s), 2,09-1,81 (2H, m); ESI-MS m/z 582, 584 (MH^+).
Ví dụ 26		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,44 (1H, ddd, $J=8,3, 6,5, 1,0$ Hz), 7,30-7,10 (3H, m), 6,86 (1H, d, $J=8,1$ Hz), 6,39 (1H, brs), 5,72 (1H, s), 3,49-3,35 (1H, m), 3,28-2,85 (2H, m), 3,06 (2H, s), 2,52 (3H, s), 2,49-2,39 (1H, m), 2,37-2,28 (1H, m), 2,27 (3H, s), 1,94-1,64 (2H, m); ESI-MS m/z 540, 542 (MH^+).
Ví dụ 27		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,50-7,39 (2H, m), 7,36-7,09 (2H, m), 6,42-6,30 (1H, m), 6,04-5,89 (1H, m), 4,61-4,50 (1H, m), 3,50-3,39 (1H, m), 3,29-2,88 (4H, m), 2,52-2,38 (4H, m), 2,36-2,20 (4H, m), 1,95-1,78 (2H, m); ESI-MS m/z 544, 546 (MH^+).

Bảng 17

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Trị số đặc tính vật lý
Ví dụ 28		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,46 (1H, ddd, $J=8,3, 6,7, 1,3$ Hz), 7,33-7,20 (2H, brm), 7,16 (1H, t, $J=7,5$ Hz), 7,14 (1H, dd, $J=10,6, 7,9$ Hz), 6,34 (1H, dd, $J=7,8, 2,1$ Hz), 6,07 (1H, s), 4,66-4,57 (1H, m), 3,53-3,45 (1H, m), 3,20 (1H, brs), 3,09 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 3,05 (1H, d, $J=13,4$ Hz), 3,00-2,84 (1H, m), 2,52-2,43 (1H, m), 2,43-2,34 (1H, m), 2,38 (3H, s), 2,32 (3H, s), 2,01-1,66 (2H, m); ESI-MS m/z 528, 530 (MH^+).
Ví dụ 29		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,45 (1H, ddd, $J=8,3, 6,7, 1,3$ Hz), 7,34-7,16 (2H, m), 7,14 (1H, t, $J=7,8$ Hz), 7,11 (1H, dd, $J=10,7, 7,8$ Hz), 6,34-6,20 (1H, m), 6,11 (1H, s), 4,66-4,50 (1H, m), 3,58-3,40 (1H, m), 3,20-3,02 (1H, m), 3,10 (2H, s), 3,01-2,88 (1H, m), 2,58-2,45 (1H, m), 2,43-2,30 (1H, m), 2,32 (3H, s), 2,26 (3H, s), 2,03-1,65 (2H, brm); ESI-MS m/z 528, 530 (MH^+).

Bảng 18

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Các trị số đặc tính vật lý
Ví dụ so sánh 1		$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,60 (1H, m), 7,55-7,20 (4H, m), 6,81 (1H, m), 6,58-6,20 (2H, m), 4,45 (1H, m), 3,48 (1H, m), 3,35-3,12 (2H, m), 3,04 (2H, s), 2,28 (1H, m), 2,15 (1H, m), 1,94-1,77 (2H, m); ESI-MS m/z 498, 500 (MH^+).
Ví dụ so sánh 2		$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-D_6) δ 7,68-7,60 (1H, m), 7,58-7,43 (1H, m), 7,40-7,00 (3H, m), 6,72 (1H, s), 6,50 (1H, s), 4,32-4,20 (1H, m), 3,38-3,28 (1H, m), 3,09-2,88 (3H, m), 2,13-1,40 (5H, m), 1,13-1,00 (2H, m), 0,84-0,65 (2H, m); ESI-MS m/z 515, 517 (MH^+).

Ví dụ so sánh 3		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ: 7,50-7,10 (3H, m), 6,55-6,41 (1H, m), 6,25 (1H, s), 5,70-5,50 (1H, m), 4,45-4,20 (1H, m), 3,40-3,09 (5H, m), 2,32-1,95 (5H, m), 1,85-1,20 (3H, m), 1,15-1,00 (2H, m), 0,87-0,65 (2H, m); ESI-MS m/z 512, 514 (MH ⁺).
Ví dụ so sánh 4		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ: 7,48 (1H, t, J=7,4 Hz), 7,24-7,16 (2H, m), 7,10 (1H, d, J=8,8 Hz), 6,99 (1H, s), 6,41 (1H, s), 6,19 (1H, brs), 4,73-4,55 (1H, m), 3,83 (3H, s), 3,58-3,44 (1H, m), 3,39-2,96 (4H, m), 2,49-2,14 (2H, m), 1,89-1,44 (2H, m); ESI-MS m/z 505, 507 (MH ⁺)
Ví dụ so sánh 5		¹ H-NMR (CD ₃ OD) δ: 7,90-7,85 (1H, m), 7,69 (1H, brs), 7,10-7,02 (1H, m), 6,95-6,87 (1H, m), 6,11 (1H, brs), 4,53-4,42 (1H, m), 3,55-3,45 (1H, m), 3,30-3,05 (4H, m), 2,33-2,26 (1H, m), 2,20-2,08 (1H, m), 1,80-1,58 (2H, m); ESI-MS m/z 458, 460 (MH ⁺).
Ví dụ so sánh 6		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ: 9,03 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,49 (1H, t, J=7,5 Hz), 7,31-7,24 (1H, m), 7,28 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,20 (1H, t, J=7,5 Hz), 6,14 (1H, s), 4,56-4,37 (1H, m), 3,50-3,41 (1H, m), 3,23 (2H, s), 3,11-2,90 (2H, m), 2,53 (3H, s), 2,36-2,26 (2H, m), 2,22-2,13 (2H, m), 1,80-1,46 (2H, m); ESI-MS m/z 497, 499 (MH ⁺).
Ví dụ so sánh 7		¹ H-NMR (CDCl ₃) δ: 7,55-7,42 (1H, m), 7,35-7,10 (3H, m), 6,57 (1H, dd, J=9.2, 2,9 Hz), 5,52 (1H, s), 4,50-4,40 (1H, m), 3,45-3,04 (5H, m), 2,26-2,19 (1H, m), 2,23 (3H, s), 2,15-2,05 (1H, m), 1,71-1,40 (2H, m); ESI-MS m/z 490, 492 (MH ⁺).

Ví dụ thử nghiệm 1: Đánh giá hoạt tính ức chế aurora A và aurora B

Hoạt tính ức chế của hợp chất thử nghiệm đối với aurora A và aurora B được xác định theo phương pháp sau đây. MLN8237 - đang trong quá trình phát triển lâm sàng làm chế phẩm có hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A - được sử dụng làm hợp chất đối chứng.

1) Tinh chế protein aurora A

ADN bộ mã hoá aurora A người có nhãn histidin được dung hợp ở đầu tận cùng N được cài xen vào vật truyền biểu hiện và protein này được biểu hiện ở mức cao trong chủng *E. coli* BL21-CodonPlus (DE3)-RIL. *E. coli* được thu nhận và hòa tan, và protein aurora A người đã được dung hợp nhãn histidin được chiết bằng cách hấp phụ vào cột chelat nikel và tiếp theo được rửa giải bằng imidazol từ cột này. Phân đoạn có hoạt tính được loại muối bằng cột loại muối, nhờ đó thu được enzym tinh khiết.

2) Xác định hoạt tính ức chế aurora A

Để thực hiện in vitro, phương pháp xác định hoạt tính ức chế của các hợp chất nêu trên đối với hoạt tính aurora A kinaza được thực hiện dựa vào phương pháp được mô tả trong JP-A-2008-81492. Ở bước thứ nhất của phương pháp xác định hoạt tính ức chế của hợp chất, hợp chất thử nghiệm được pha loãng theo dãy nồng độ bằng dimetyl sulfoxit (DMSO). Tiếp theo, protein aurora A người đã được tinh chế, FL-Peptide 21 (Caliper Life Sciences, Inc., nồng độ cuối là 100nM), ATP (nồng độ cuối là 5 μ M), và dung dịch chứa hợp chất theo sáng chế trong DMSO (nồng độ DMSO cuối là 5%) được bổ sung vào dung dịch đệm phản ứng [50mM dung dịch đệm axit Tris-clohydric (pH 7,4), 15mM magie axetat, và 0,2mM axit etylendiamin-N, N, N', N'-tetraaxetic (EDTA)]. Tiếp theo, Hỗn hợp thu được được ủ ở 25°C trong 50 phút để thực hiện các phản ứng kinaza. Tiếp theo, chất phản ứng gắn kết tiến triển (Progressive Binding Reagent) IMA-P (R) được pha loãng 500 lần bằng dung dịch đệm gắn kết tiến triển A (Progressive

Binding Buffer A) IMAF (R) (sản phẩm của Molecular Devices, LLC.) được bổ sung vào đó để kết thúc phản ứng kinaza. Sau khi để yên sản phẩm thu được trong bóng tối ở nhiệt độ trong phòng trong 120 phút, lượng phosphoryl hoá được xác định từ độ phân cực huỳnh quang được đo bởi PHERAstar (BMG LABTECH, chiều dài bước sóng kích thích là 485nm, chiều dài bước sóng phát hiện là 520nm). Tiếp theo, nồng độ của hợp chất mà ở đó phản ứng phosphoryl hoá có thể bị ức chế tới 50% được định nghĩa là trị số IC_{50} (nM), và các kết quả được chỉ ra trong bảng 19.

3) Xác định hoạt tính aurora B kinaza

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế in vitro của hợp chất thử nghiệm đối với hoạt tính aurora B kinaza được thực hiện theo cách tương tự như phương pháp trên đây đối với aurora A, và protein aurora B người tái tổ hợp tinh khiết được mua từ Carna Biosciences, Inc. Dung dịch đệm phản ứng có thành phần như sau: 20mM HEPES (pH 7,4), 2mM DTT, 0,01% Tween-20, magie clorua ở nồng độ cuối 1mM, và ATP ở nồng độ cuối 40 μ M, và thời gian ủ là 60 phút. Nồng độ của hợp chất mà ở đó phản ứng phosphoryl hoá có thể bị ức chế tới 50% được định nghĩa là trị số IC_{50} (nM) và các kết quả được chỉ ra trong bảng 19.

Bảng 19

Hợp chất nêu ở ví dụ số	Aurora A IC_{50} (nM)	Aurora B IC_{50} (nM)	Hợp chất nêu ở ví dụ số	Aurora A IC_{50} (nM)	Aurora B IC_{50} (nM)
1	0,4	140	19	1,0	680
2	0,5	340	22	0,7	380
11	0,6	930	24	0,5	190
12	0,4	260	28	0,7	450
13	0,4	180	29	0,8	390
14	0,9	460	Ví dụ so sánh 6	220	320
17	0,9	900	MLN8237	0,6	90

Kết quả là, đã xác nhận rằng các hợp chất theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế aurora A cao hơn và hoạt tính ức chế aurora B thấp hơn so với MLN8237, là hợp chất đối chứng, do đó có tính chọn lọc đối với aurora A. Ngược lại, hợp chất nêu trong ví dụ so sánh 6 không thể hiện cả hoạt tính ức chế aurora A cũng như tính chọn lọc đối với aurora A. Từ kết quả nêu trên, đã gợi ý rằng việc kết hợp phần tử thế đặc hiệu vào vị trí đặc hiệu (nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1-C_6 alkoxy ở R_2) trên vòng pyridin trong cấu tạo của hợp chất theo sáng chế có công thức chung (I) có thể tạo ra không chỉ hoạt tính ức chế aurora A cao, mà còn tạo ra tính chọn lọc đối với aurora A.

Ví dụ thử nghiệm 2: Đánh giá tác dụng ức chế đối với sự tăng sinh tế bào

Mỗi tế bào thuộc dòng tế bào ung thư dạ dày có nguồn gốc từ người SNU-16 được cấy chuyển một cách đều đặn trong môi trường RPMI-1640 chứa 10% huyết thanh bào thai bê (fetal bovine serum - FBS) và môi trường Eagle được cải biến bởi Dulbecco chứa 10% FBS (DMEM) để duy trì mật độ tế bào không lớn hơn 80%. Để bắt đầu thử nghiệm đối với hoạt tính ức chế sự tăng sinh tế bào, mỗi tế bào được tạo huyền phù trong môi trường nêu trên và được cấy vào mỗi lỗ của đĩa đáy bằng 96 lỗ (đĩa màu đen với đáy trong suốt) ở mật độ 2.500 hoặc 3.000 tế bào mỗi lỗ. Tiếp theo, các tế bào được nuôi cấy trong một ngày ở 37°C trong tủ ẩm chứa 5% khí cacbon đioxit. Ngày tiếp theo, hợp chất theo sáng chế và hợp chất đối chứng được hoà tan trong DMSO, và bằng cách sử dụng DMSO, các hợp chất thử nghiệm được pha loãng theo dãy nồng độ đến nồng độ bằng 200 lần nồng độ cuối. Dung dịch chứa các hợp chất thử nghiệm trong DMSO được pha loãng bằng môi trường được dùng để nuôi cấy, và tiếp theo được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa nuôi cấy tế bào ở nồng độ DMSO cuối là 0,5%. Các tế bào được nuôi cấy trong 72 giờ ở 37°C trong tủ ẩm chứa 5% khí cacbon đioxit. Các tế bào được đếm ở thời điểm bổ sung các hợp chất thử nghiệm và 72 giờ sau khi nuôi cấy bằng cách sử dụng kit phân tích khả năng sống sót của tế bào bằng độ phát quang (Luminescent

Cell Viability Assay kit) CellTiter-Glo (sản phẩm của Promega) dựa trên quy trình được đề xuất bởi Promega. Chất phản ứng được chứa trong kit này được bổ sung vào mỗi đĩa, sau đó khuấy, và các đĩa được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Ngay khi hoàn tất phản ứng, tín hiệu phát quang được đo bằng cách sử dụng thiết bị đọc vi đĩa.

Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh tế bào được tính toán từ công thức sau đây và nồng độ của hợp chất thử nghiệm mà ở đó sự tăng sinh tế bào bị ức chế 50% ($GI_{50}(nM)$) được xác định. Các kết quả được chỉ ra trong bảng 20.

$$\text{Tỷ lệ ức chế sự tăng sinh tế bào (\%)} = (C-T) / (C-C_0) \times 100$$

T: Tín hiệu phát quang trong một lỗ có bổ sung hợp chất thử nghiệm

C: Tín hiệu phát quang trong một lỗ không bổ sung hợp chất thử nghiệm

C₀: Tín hiệu phát quang trong một lỗ được đo trước khi bổ sung hợp chất

Bảng 20

Hợp chất nêu ở ví dụ số	GI_{50} (nM)
1	120
13	60
22	970

Kết quả là, hợp chất theo sáng chế thể hiện tác dụng ức chế sự tăng sinh tế bào, và được gợi ý là có thể dùng làm thuốc chống khối u.

Ví dụ thử nghiệm 3: Đánh giá độ hấp thụ khi dùng qua đường miệng

Hợp chất thử nghiệm được tạo hỗn dịch hoặc được hoà tan trong 0,5% HPMC và được dùng qua đường miệng cho chuột nhắt BALB/cA. Máu được rút từ đám rối tĩnh mạch sau ở mắt 0,5, 1, 2, 4, và 6 giờ sau khi dùng thuốc qua đường miệng để thu được huyết tương. Nồng độ hợp chất trong huyết tương thu được

được đo bằng LCMS và khả năng hấp thụ khi dùng qua đường miệng được đánh giá.

Kết quả là, sau khi dùng thuốc qua đường miệng, nồng độ hợp chất trong huyết tương thỏa đáng đối với các hợp chất ở ví dụ 1, 11, 12, 13, và 22, là các hợp chất theo sáng chế, cho thấy khả năng hấp thụ tốt khi dùng qua đường miệng. Trong khi đó, hợp chất ở các ví dụ so sánh từ 2 đến 5 và 7 không thể hiện khả năng hấp thụ thỏa đáng khi dùng qua đường miệng ($AUC_{0-6\text{giờ}}$ của các hợp chất này nhỏ hơn $1/8 AUC_{0-6\text{giờ}}$ của các hợp chất theo sáng chế). Do đó, khó có thể kết hợp các hợp chất này ở dạng hoạt chất vào các chế phẩm được dùng qua đường miệng, và vì vậy không có tác dụng lâm sàng nào được mong đợi khi dùng qua đường miệng. Từ những kết quả trên đây, đã phát hiện ra rằng việc kết hợp một nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1-C_6 alkoxy ở R_2 trên vòng pyridin trong công thức cấu tạo của hợp chất theo sáng chế được biểu thị bởi công thức chung (I) tạo ra khả năng hấp thụ cao khi dùng qua đường miệng.

Ví dụ thử nghiệm 4: Đánh giá tác dụng chống khối u (1)

Dòng tế bào ung thư cổ tử cung ở người được đưa luciferaza vào (Hela-Luc) được cấy dưới da vào chuột nhắt trụi lông, và khi thể tích của khối u đã được cấy ghép đạt đến từ 100 đến 200mm³, năm con chuột nhắt mỗi nhóm được nhóm lại thành nhóm chỉ dùng thuốc và nhóm dùng thuốc phối hợp theo phương pháp phân tầng ngẫu nhiên sao cho đạt được thể tích khối u đồng đều ở mỗi nhóm (ngày thứ 1). Ở các nhóm chỉ dùng thuốc, Nhóm 1: paclitaxel (30mg/kg) được dùng trong tĩnh mạch vào ngày 1, Nhóm 2: Hợp chất theo sáng chế (Hợp chất 1) (60mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3, và Nhóm 3: Hợp chất so sánh 1 (60mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3. Ở các nhóm dùng thuốc phối hợp, Nhóm 4: paclitaxel (30mg/kg) được dùng trong tĩnh mạch vào ngày 1 và Hợp chất 1 (60mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3, và Nhóm 5:

paclitaxel (30mg/kg) được dùng trong tĩnh mạch vào ngày 1 và Hợp chất so sánh 1 (60mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3. Để so sánh tác dụng chống khối u do việc dùng thuốc mang lại, đặt thể tích khối u ở thời điểm phân nhóm là 1, thể tích khối u tương ứng (relative tumor volume - RTV) được xác định theo công thức sau đây là tỷ lệ tăng sinh khối u.

$$RTV = (\text{Thể tích khối u vào ngày đo thể tích khối u}) / (\text{Thể tích khối u ở thời điểm phân nhóm})$$

Trong bảng 21, các trị số RTV trung bình của các nhóm đối chứng và các nhóm chỉ dùng thuốc (các nhóm 2 và 3) vào ngày thứ 23 sau khi phân nhóm được chỉ ra, và các trị số RTV trung bình của nhóm chỉ được dùng paclitaxel (Nhóm 1) và các nhóm dùng thuốc phối hợp (các nhóm 4 và 5) ở ngày thứ 23 và 46 sau khi phân nhóm được chỉ ra.

Ngoài ra, tỷ lệ kiểm soát bệnh (disease control rate - DCR) được mô tả trong, ví dụ, J. Clin. Oncol., 29 (31), pp. 4129 to 4136, (2010) cũng được sử dụng làm chỉ số tác dụng chống khối u do việc dùng thuốc mang lại. DCR được định nghĩa là tỷ lệ giữa các cá thể trong đó RTV không vượt quá 1 vào ngày cuối cùng đo khối u thể tích (ngày 46). DCR thu được theo công thức sau đây và các kết quả được chỉ ra trong bảng 21.

$$DRC (\%) = [(\text{số cá thể trong đó RTV không vượt quá 1 ở ngày cuối cùng đo thể tích khối u}) / (\text{Số chuột nhất sống sót ở ngày cuối cùng})] \times 100$$

Trong khi đó, sự thay đổi thể trọng (body weight change - BWC) được sử dụng làm chỉ số tính độc toàn thân do việc dùng thuốc gây ra. BWC được tính toán theo công thức sau đây và các trị số BWC trung bình được chỉ ra trong bảng 21.

$$BWC (\%) = ((\text{Thể trọng của chuột nhất ở ngày đo thể trọng}) - (\text{Thể trọng của chuột nhất ở thời điểm phân nhóm})) / (\text{Thể trọng của chuột nhất ở thời điểm phân nhóm}) \times 100$$

Bảng 21

Nhóm	Ngày 23		Ngày 46		
	RTV	BWC	RTV	BWC	DCR
Đối chứng	15,66	11,3			
1. Paclitaxel	0,69	3,0	5,38	11,6	40%
2. Hợp chất 1	10,47	11,6			
3. Hợp chất so sánh 1	15,23	11,6			
4. Hợp chất 1/Paclitaxel	0,08	2,2	0,61	9,4	80%
5. Hợp chất so sánh 1/Paclitaxel [#]	0,29	-3,9	3,95	6,7	25%

[#] Một con chuột nhất chết trong số 5 con chuột nhất vào ngày 29

Kết quả là, so với nhóm chỉ được dùng paclitaxel (Nhóm 1), tác dụng chống khối u được tăng cường đáng kể ở nhóm được cho dùng phối hợp hợp chất theo sáng chế (Hợp chất 1) và paclitaxel (Nhóm 4) mà không làm gia tăng tính độc rõ rệt, điều này được chứng minh bởi, chẳng hạn, sự giảm thể trọng. Ngoài ra, từ các trị số RTV và DCR vào ngày 46 dùng thuốc, đã nhận thấy rằng tác dụng làm giảm khối u liên tục có thể được mong đợi từ việc sử dụng hợp chất 1. Trong khi đó, rõ ràng từ các trị số RTV và DCR vào ngày 23 và ngày 46 dùng thuốc, hợp chất so sánh 1 không tăng cường rõ rệt tác dụng chống khối u khi được dùng kết hợp với paclitaxel (Nhóm 5), so với nhóm chỉ được dùng paclitaxel (Nhóm 1).

Ví dụ thử nghiệm 5: Đánh giá tác dụng chống khối u (2)

Bằng phương pháp tương tự với phương pháp được sử dụng trong ví dụ thử nghiệm 4, dòng tế bào ung thư cổ tử cung ở người đã được đưa luciferaza vào (Hela-Luc) được cấy dưới da vào chuột nhất trụi lông, và năm con chuột nhất mỗi nhóm được nhóm lại thành nhóm chỉ dùng thuốc và nhóm dùng phối hợp theo

phương pháp phân tầng ngẫu nhiên (ngày 1). Ở các nhóm chỉ dùng thuốc, paclitaxel (20mg/kg) được dùng trong tĩnh mạch vào ngày 1. Ngoài ra, hợp chất 13 (30mg/kg) hoặc hợp chất 22 (100mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3. Ở các nhóm dùng thuốc phối hợp, paclitaxel (20mg/kg) được dùng trong tĩnh mạch vào ngày 1, và hợp chất 13 (30mg/kg) hoặc hợp chất 22 (60mg/kg) được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày vào ngày 2 và ngày 3. Các trị số RTV và BWC trung bình vào ngày thứ 11 sau khi phân nhóm được chỉ ra trong các bảng 22 và 23.

Bảng 22

Nhóm	Ngày 11	
	RTV	BWC
Đối chứng	7,24	7,2
Paclitaxel	2,90	5,4
Hợp chất 13	6,54	6,0
Hợp chất 13/Paclitaxel	0,72	4,2

Bảng 23

Nhóm	Ngày 11	
	RTV	BWC
Đối chứng	5,68	10,9
Paclitaxel	3,05	7,8
Hợp chất 22	4,66	6,9
Hợp chất 22/Paclitaxel	1,73	2,8

Kết quả là, so với nhóm chỉ được dùng paclitaxel, tác dụng chống khối u được tăng cường đáng kể ở nhóm được cho dùng phối hợp hợp chất 13 hoặc hợp chất 22, cả hai đều là các hợp chất theo sáng chế, và paclitaxel, mà không làm tăng rõ rệt tính độc, điều này được chứng minh bởi, chẳng hạn, sự giảm thể trọng.

Ví dụ thử nghiệm 6: Xác định hoạt tính aurora C kinaza

Hoạt tính ức chế của hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính aurora C kinaza được đo in vitro. Cụ thể là, bằng cách sử dụng thử nghiệm Off-chip Mobility Shift Assay, các phản ứng được tiến hành theo quy trình sau đây.

Bổ sung hợp chất theo sáng chế, ATP (nồng độ cuối 25 μ M), cơ chất (Kemptide, nồng độ cuối 1000 nM), magie (nồng độ cuối 5mM), và aurora C kinaza tinh khiết từ người vào dung dịch đệm phản ứng (20mM HEPES, 0,01% Triton X-100, 2mM DTT, pH 7,5), sau đó trộn. Tiếp theo, các phản ứng được để xảy ra ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Để thu được aurora C kinaza tinh khiết từ người, protein GST được dung hợp với đầu tận cùng N của aurora C kinaza với chiều dài đầy đủ, và protein thu được được biểu hiện bởi baculovirus. Protein đã dung hợp GST-aurora C được tinh chế bằng cách sắc ký trên glutathion sepharosa. Ngay khi phản ứng xảy ra hoàn toàn, dung dịch kết thúc phản ứng (QuickScout Screening Assist MSA; Carna Biosciences, Inc.) được bổ sung, và peptit cơ chất và peptit đã được phosphoryl hóa trong dung dịch phản ứng được tách và được định lượng bằng hệ thống LabChip 3000 (Carna Biosciences, Inc.). Phương pháp xác định hoạt tính ức chế in vitro của hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính aurora C kinaza được thực hiện theo phương pháp xác định hoạt tính ức chế đối với aurora A đã được mô tả trong Ví dụ thử nghiệm 1-2 trên đây, và nồng độ hợp chất mà tại đó phản ứng phosphoryl hoá có thể bị ức chế tới 50% được định nghĩa là trị số IC₅₀ (nM), hoạt tính ức chế thu được đối với aurora C kinaza được so với hoạt tính ức chế đối với aurora A thu được trong các ví dụ thử nghiệm 1-2 nêu trên.

Kết quả là, hoạt tính ức chế của hợp chất theo sáng chế đối với aurora C yếu hơn từ 80 đến 100 lần so với hoạt tính ức chế đối với aurora A, điều này cho thấy hoạt tính ức chế chọn lọc aurora A đáng kể của hợp chất theo sáng chế.

Ví dụ thử nghiệm 7: Ảnh hưởng của việc tăng cường tác dụng của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống (in vitro)

Các tế bào thuộc dòng tế bào ung thư dạ dày có nguồn gốc từ người OCUM-2M và dòng tế bào ung thư tử cung có nguồn gốc từ người HeLa được cấy chuyển đều đặn trong môi trường Eagle được cải biến bởi Dulbecco chứa 10% huyết thanh bào thai bê (FBS) (DMEM) ở mật độ tế bào không lớn hơn 80%. Để bắt đầu thử nghiệm hoạt tính ức chế tăng sinh tế bào, mỗi loại tế bào được tạo huyền phù trong môi trường nêu trên và được cấy vào mỗi lỗ của đĩa đáy bằng 96 lỗ (đĩa màu đen với đáy trong suốt) ở mật độ 2.500 hoặc 3.000 tế bào mỗi lỗ. Tiếp theo, các tế bào được nuôi cấy trong một ngày ở 37°C trong tủ ẩm chứa 5% khí cacbon đioxit. Ngày tiếp theo, dung dịch chứa các thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống được pha loãng theo dãy nồng độ (docetaxel, cabazitaxel, và epothilon B) được điều chế với DMSO (10 liều được điều chế cho mỗi thuốc ở nồng độ thử nghiệm nằm trong khoảng từ 0,03nM đến 1000nM), và dung dịch được pha loãng bằng môi trường này. Tiếp theo, các dung dịch thu được được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa nuôi cấy tế bào ở nồng độ DMSO cuối cùng là 0,1%. Ngoài ra, để xác nhận tác dụng phối hợp của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống và hợp chất theo sáng chế, hợp chất nêu trên được pha loãng bằng DMSO ở nồng độ cuối là 300nM (nồng độ DMSO cuối cùng là 0,1%), và tiếp theo được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa nuôi cấy tế bào. Để làm nhóm đối chứng so sánh, các lỗ mà mỗi lỗ chỉ chứa thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống hoặc chỉ chứa hợp chất theo sáng chế được điều chế riêng biệt và được nuôi cấy trong tủ ẩm chứa 5% khí cacbon đioxit ở 37°C trong 72 giờ. Các tế bào được đếm bằng cách sử dụng kit thử nghiệm độ sống sót tế bào dựa trên độ phát quang (CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay kit) (sản phẩm của Promega) theo quy trình được khuyến cáo bởi Promega. Chất phản ứng chứa trong kit được bổ sung vào mỗi đĩa, sau đó khuấy, và đĩa

được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Ngay khi phản ứng xảy ra hoàn toàn, tín hiệu phát quang được đo bằng cách sử dụng thiết bị đọc vi đĩa.

Tỷ lệ tăng sinh tế bào được tính toán từ công thức sau, và nồng độ của hợp chất thử nghiệm mà tại đó sự tăng sinh tế bào bị ức chế tới 50% ($IC_{50}(\mu M)$) được xác định.

$$\text{Tỷ lệ tăng sinh tế bào (\%)} = T/C \times 100$$

T: Tín hiệu phát quang trong một lỗ có bổ sung hợp chất thử nghiệm

C: Tín hiệu phát quang trong một lỗ không bổ sung hợp chất thử nghiệm

Hơn nữa, trị số IC_{50} của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống riêng rẽ (IC_{50} thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống) và trị số IC_{50} của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống khi dùng phối hợp chất chủ vận vi cấu trúc hình ống và hợp chất theo sáng chế (IC_{50} dùng phối hợp) được xác định. Trị số IC_{50} sau (trị số IC_{50} dùng phối hợp) được tính toán từ tỷ lệ ức chế sự tăng sinh tế bào (trị số đã chuyển đổi) ở nhóm dùng phối hợp, trong đó định nghĩa tỷ lệ tăng sinh tế bào của hợp chất theo sáng chế khi dùng riêng rẽ là 100%. Mức độ tăng cường tác dụng của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống bằng cách bổ sung hợp chất theo sáng chế được đánh giá bằng mức độ của trị số được tính toán từ công thức sau.

$$(\text{Mức độ tăng cường tác dụng khi dùng phối hợp}) = (\text{trị số } IC_{50} \text{ dùng phối hợp}) / (\text{trị số } IC_{50} \text{ thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống})$$

Việc đánh giá được thực hiện theo tiêu chí mà nhờ đó trị số lớn hơn 1 được đánh giá là có tác dụng tăng cường rõ rệt, trong khi trị số nhỏ hơn hoặc bằng 1 được đánh giá là có tác dụng tăng cường kém.

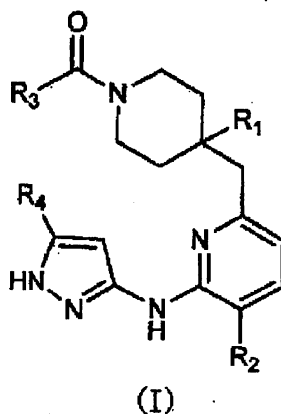
Kết quả là, bằng cách bổ sung hợp chất theo sáng chế vào các thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống như docetaxel, cabazitaxel, và epothilone B, thu được trị số lớn hơn 2 từ công thức nêu trên, chỉ ra rằng hợp chất theo sáng chế tăng cường

tác dụng ức chế của các chất chủ vận vi cấu trúc hình ống này đối với sự tăng sinh tế bào.

Như được chỉ ra ở trên, hợp chất theo sáng chế ức chế chọn lọc và tốt đối với aurora A, thể hiện tác dụng chống khối u tốt với khả năng hấp thụ tốt khi dùng qua đường miệng. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế được chỉ ra là có khả năng tăng cường tác dụng chống khối u rõ rệt của paclitaxel trong các thử nghiệm in vivo có sử dụng chuột nhắt trụi lông. Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế được chỉ ra là còn có khả năng tăng cường tác dụng ức chế của thuốc hướng đích vi cấu trúc hình ống khác ngoài paclitaxel đối với sự tăng sinh tế bào.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất piperidin được biểu thị bởi công thức chung (I) hoặc muối của nó:



trong đó:

R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$, hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C_1 - C_6 alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R_2 là nguyên tử halogen hoặc nhóm C_1 - C_6 alkoxy;

R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 3 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1 - C_6 alkyl, nhóm C_1 - C_6 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế;

R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1 - C_6 alkyl;

R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl, hoặc nhóm C_3 - C_6 xycloalkyl, hoặc R_5 và R_6 tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm dị vòng bão hoà chứa nitơ có từ 3 đến 6 cạnh.

2. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C_1 - C_6 alkyl, hoặc nhóm C_3 - C_6 xycloalkyl,

hoặc R_5 và R_6 tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm azetidiny, nhóm pyrolidiny, hoặc nhóm isoxazolidiny), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C_1 - C_6 alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế.

3. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 1 hoặc 2, trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm metyl, nhóm xyclopropyl, hoặc nhóm xyclobutyl, hoặc R_5 và R_6 cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm azetidiny, nhóm pyrolidiny, hoặc nhóm isoxazolidiny), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm metyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế.

4. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó, trong công thức chung (I), R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm C_1 - C_4 alkoxy, tốt hơn là R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo hoặc nhóm metoxy.

5. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó, trong công thức chung (I), R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1 - C_4 alkyl, nhóm C_1 - C_4 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế.

6. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó, trong công thức chung (I), R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm metyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế.

7. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó, trong công thức chung (I), R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1 - C_4 alkyl.

8. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm C_1 - C_4 alkyl, hoặc nhóm C_3 - C_6 xycloalkyl, hoặc R_5 và R_6 tùy ý cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm azetidiny, nhóm pyrrolidiny, hoặc nhóm isoxazolidiny), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm C_1 - C_4 alkyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm C_1 - C_4 alkoxy; R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử halogen, nhóm C_1 - C_4 alkyl, nhóm C_1 - C_4 alkoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C_1 - C_4 alkyl.

9. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 8, trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro, nhóm metyl, nhóm xyclopropyl, hoặc nhóm xyclobutyl, hoặc R_5 và R_6 cùng với nguyên tử nitơ mà R_5 và R_6 gắn vào tạo thành nhóm azetidiny, nhóm pyrrolidiny, hoặc nhóm isoxazolidiny), hoặc nhóm oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm metyl hoặc nhóm triflometyl làm phần tử thế; R_2 là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm metoxy; R_3 là nhóm phenyl tùy ý chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm metyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R_4 là nguyên tử hydro hoặc nhóm metyl.

10. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 9, trong đó, trong công thức chung (I), R_1 là nhóm carboxyl, $-C(=O)NR_5R_6$ (trong đó, R_5 và R_6 là giống nhau hoặc khác

nhau và mỗi nhóm là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl, hoặc R₅ và R₆ cùng với nguyên tử nitơ mà R₅ và R₆ gắn vào tạo thành nhóm isoxazolidinyl), hoặc nhóm 1,2,4-oxadiazolyl hoặc nhóm 1,3,4-oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl làm phần tử thế; R₂ là nguyên tử flo, nguyên tử clo, hoặc nhóm metoxy; R₃ là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nhóm methyl, nhóm metoxy, và nhóm triflometyl làm phần tử thế; và R₄ là nguyên tử hydro hoặc nhóm methyl.

11. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 10, trong đó, trong công thức chung (I), R₁ là nhóm carboxyl hoặc nhóm 1,2,4-oxadiazolyl tùy ý chứa nhóm methyl làm phần tử thế; R₂ là nguyên tử flo; R₃ là nhóm phenyl chứa từ 1 đến 2 nhóm giống nhau hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử flo và nguyên tử clo làm phần tử thế; và R₄ là nhóm methyl.

12. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó hợp chất này là hợp chất được chọn từ nhóm gồm các hợp chất sau:

axit 1-(2,3-điclobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

axit 1-(2-flo-3-triflometylbenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-metoxi-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-clo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

axit 1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)-pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-carboxylic;

1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N-metylpiperidin-4-carboxyamid;

1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-N,N-dimetylpiperidin-4-carboxyamid;

azetidin-1-yl(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-yl)metanon;

(1-(3-clo-2-flobenzoyl)-4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)piperidin-4-yl)(isoxazolidin-2-yl)metanon;

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon;

(2,3-điclophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon;

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(1,2,4-oxadiazol-3-yl)piperidin-1-yl)metanon;

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(5-metyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)piperidin-1-yl)metanon;

(3-clo-2-flophenyl)(4-((5-flo-6-(5-metyl-1H-pyrazol-3-ylamino)pyridin-2-yl)metyl)-4-(3-metyl-1,2,4-oxadiazol-5-yl)piperidin-1-yl)metanon

13. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 và chất mang dược dụng.

14. Thuốc chống khối u chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 làm hoạt chất.

15. Thuốc tăng cường tác dụng chống khối u của chất chủ vận vi cấu trúc hình ống, chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 làm hoạt chất.