



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

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

(11)



1-0027922

(51)<sup>7</sup> C07D 401/14; C07D 413/14; A61K  
31/506; A61P 31/04

(13) B

(21) 1-2017-00785

(22) 05/08/2015

(86) PCT/IB2015/055951 05/08/2015

(87) WO 2016/020864 11/02/2016

(30) 62/033,679 06/08/2014 US

(45) 25/04/2021 397

(43) 25/05/2017 350A

(73) NOVARTIS AG (CH)

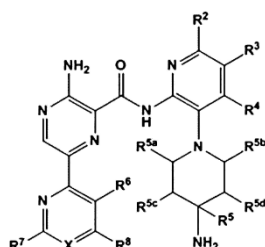
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland

(72) LUZZIO, Michael Joseph (US); PAPILLON, Julien (FR); VISSER, Michael Scott (US).

(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) HỢP CHẤT CÓ TÁC DỤNG ỨC CHẾ PROTEIN KINAZA C VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức II:



(II)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó, các phần tử thể như được xác định trong bản mô tả. Ngoài ra, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này hoặc muối dược dụng của nó.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến hợp chất, cụ thể là hợp chất có tác dụng ức chế protein kinaza C và các tautome và các chất đồng phân lập thể của chúng, và các muối được dụng của chúng, chế phẩm chứa hợp chất này cùng với các chất mang được dụng, và các hợp chất này, một mình hoặc kết hợp với ít nhất một chất có hiệu quả điều trị bệnh bổ sung, để sử dụng trong phòng hoặc điều trị bệnh ung thư. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến được phẩm chứa hợp chất này.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

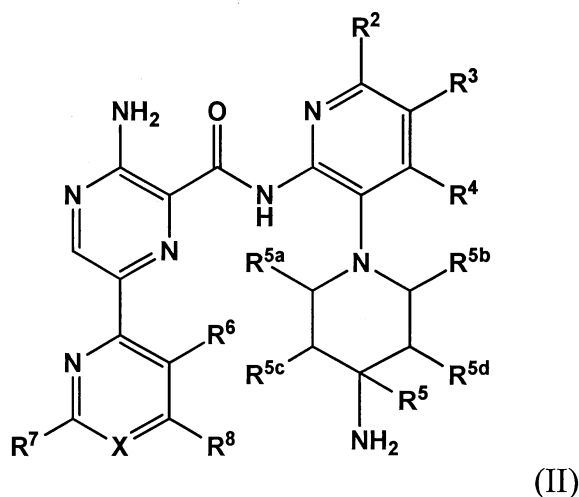
Bệnh ung thư hắc mạc là bệnh ung thư ác tính về mặt nguyên phát phổ biến nhất ở người trưởng thành. Các chất ức chế protein kinaza nhất định được mô tả trong các công bố đơn sáng chế quốc tế số WO 02/38561 và WO 2008/106692. Một chất ức chế protein kinaza C (PKC: protein kinaza C), sotrastaurin, đã được chứng minh là có hoạt động kháng các isotyp PKC nhất định và hiện nay mới chỉ được chứng minh là ức chế chọn lọc sự sinh trưởng của các tế bào ung thư hắc mạc mang các đột biến GNAQ bằng cách nhắm đích các con đường PKC/ERK1/2 và PKC/NF- $\kappa$ B (xem, X. Wu, et al trong Mol. Cancer Ther., Vol. 11, các trang 1905-1914, 2012). Thử nghiệm lâm sàng nghiên cứu việc sử dụng sotrastaurin để điều trị các bệnh nhân có bệnh ung thư hắc mạc đang có những tiến triển. Tuy nhiên, vẫn tồn tại nhu cầu chưa được đáp ứng là tạo ra các chất ức chế PKC thế hệ tiếp theo để điều trị bệnh ung thư hắc mạc mà có hiệu quả được cải thiện ở các lượng liều dùng thấp hơn để thu được sự suy thoái khối u, hiệu lực, hoạt tính hERG, sự hấp thụ, khả năng dung nạp qua đường dạ dày-ruột, và tính chọn lọc kinaza được cải thiện.

Bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL) đại diện cho nhánh phụ (subtype) phổ biến nhất của bệnh ung thư lympho ác tính và dị thể về biểu hiện hình thái, sinh học và lâm sàng. Chất ức chế PKC, sotrastaurin (AEB071), đã được chứng minh là ức chế chọn lọc sự sinh trưởng của các tế bào DLBCL mang đột biến CD79 (xem T. Naylor, et al trong Cancer Res., Vol. 71(7), 2643-2653, 2011). Ngoài ra,

nghiên cứu này cũng gợi ý rằng sotrastaurin thể hiện tác động hiệp đồng quan trọng khi kết hợp với chất ức chế mTor, everolimus (Afinitor<sup>TM</sup>). Thử nghiệm lâm sàng nghiên cứu việc sử dụng sotrastaurin để điều trị cho các bệnh nhân mắc DLBCL mang đột biến CD79 đang có những tiến triển. Tuy nhiên, vẫn tồn tại nhu cầu chưa được đáp ứng về việc đưa ra các chất ức chế PKC thế hệ tiếp theo để điều trị DLBCL có hiệu quả được cải thiện với lượng liều dùng thấp hơn để đạt được sự suy thoái khối u, hiệu lực, đặc tính dược động học, sự hấp thụ, khả năng dung nạp qua đường dạ dày-ruột và tính chọn lọc kinaza được cải thiện.

### Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (II):



hoặc muối dược dụng của nó,

trong đó:

X là N hoặc CR;

mỗi R, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> và R<sup>4</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, halo, hydroxy (-OH), C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> haloalkyl hoặc C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng hydroxy, halo, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

R<sup>5</sup> là H, <sup>2</sup>H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>F, CHF<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

mỗi R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc etylen;

mỗi  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  độc lập là H,  $^2H$ , F, -OH,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu -CH<sub>2</sub>-O-, metylen, hoặc etylen;

mỗi  $R^6$ ,  $R^7$  và  $R^8$  độc lập được chọn từ H,  $^2H$ , halo,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $C_{1-3}$  alkoxy, hoặc  $C_{1-3}$  haloalkoxy; hoặc

trong đó  $R^6$  và  $R^8$  tùy ý tạo thành vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic no một phần với vòng heteroaryl, vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ:  $^2H$ , halo,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S.

Theo phương án được ưu tiên,

X là N hoặc CR;

mỗi R,  $R^2$ ,  $R^3$  và  $R^4$  độc lập là H,  $^2H$ , halo, hydroxy (-OH),  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl hoặc  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng một đến hai trong số hydroxy, halo,  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $C_{1-3}$  haloalkoxy;

$R^5$  là -H,  $^2H$ , CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>F, CHF<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>-O- $C_{1-3}$  alkyl hoặc CH<sub>2</sub>-O- $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $C_{1-3}$  haloalkoxy;

mỗi  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  độc lập là H,  $^2H$ ,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc etylen;

mỗi  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  độc lập là H,  $^2H$ , F, -OH,  $C_{1-3}$  alkyl, hoặc  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu -CH<sub>2</sub>-O-, metylen, hoặc etylen; và

mỗi  $R^6$ ,  $R^7$  và  $R^8$  độc lập được chọn từ H,  $^2H$ , halo,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S,  $C_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $C_{1-3}$  alkoxy, hoặc  $C_{1-3}$  haloalkoxy; hoặc

trong đó  $R^6$  và  $R^8$  tùy ý tạo thành vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic no một phần với vòng heteroaryl, vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic đã nêu



tùy ý được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ:  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (II) hoặc muối được dụng của nó và ít nhất một chất mang hoặc tá được dụng.

Hợp chất theo sáng chế hữu ích để điều trị các rối loạn liên quan đến protein kinaza C, cụ thể là các rối loạn liên quan đến các dạng đồng phân alpha và/hoặc theta ( $\text{PKC}\alpha/\theta$ ) của protein kinaza C.

Do đó, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (II) hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, bao gồm, ví dụ, bệnh ung thư hắc tố, bệnh ung thư hắc mạc, bệnh ung thư lympho, bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL) và các bệnh ung thư kháng ibrutinib.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (II) hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong điều trị các rối loạn liên quan đến miễn dịch, được chọn từ bệnh tự miễn, phản ứng dị ứng và thải ghép mô.

### Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là đồ thị biểu thị hợp chất theo ví dụ 2 giảm tăng sinh khối u ở các mảnh dị ghép bệnh ung thư hắc mạc 92.1 theo phương thức phụ thuộc liều, khi so sánh với sotrastaurin.

Fig. 2 là đồ thị biểu thị hợp chất theo ví dụ 9 giảm tăng sinh khối u ở các mảnh dị ghép bệnh ung thư hắc mạc 92.1 theo phương thức phụ thuộc liều, khi so sánh với sotrastaurin.

Fig. 3 là đồ thị mô tả sự giảm thể tích khối u theo thời gian sau khi sử dụng hợp chất theo ví dụ 9 và ví dụ 10, khi so sánh với chất dẫn thuốc.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Cụm từ "alkyl" dùng để chỉ nhóm alkyl không chứa các nguyên tử khác loại. Do đó, cụm từ này bao gồm nhóm alkyl mạch thẳng như là metyl, etyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, heptyl, octyl, nonyl, dexyl, undexyl, dodexyl và tương tự. Cụm từ này cũng bao gồm các chất đồng phân mạch nhánh của nhóm alkyl mạch thẳng, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm sau được đề xuất làm ví dụ:  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,

-CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -C(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), và các nhóm khác. Cụm từ này cũng bao gồm nhóm alkyl vòng như là xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl, và xyclooctyl và các vòng này được thể bằng nhóm alkyl mạch thẳng và nhóm alkyl mạch nhánh như được định nghĩa ở trên. Do đó, thuật ngữ “nhóm C<sub>1-12</sub> alkyl” bao gồm nhóm alkyl bậc một, nhóm alkyl bậc hai, và nhóm alkyl bậc ba. Các nhóm alkyl này bao gồm nhóm alkyl mạch thẳng và nhóm alkyl mạch nhánh và nhóm alkyl vòng có 1 đến 12 nguyên tử cacbon.

Như được sử dụng ở đây, "C<sub>1-6</sub>alkyl" bao gồm cả nhóm alkyl mạch thẳng hoặc nhóm alkyl mạch nhánh được thể hoặc không được thể có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Ví dụ đại diện cho nhóm C<sub>1-6</sub>alkyl bao gồm, ví dụ, metyl, etyl, propyl, isopropyl, *n*-butyl, tert-butyl, neopentyl, triflometyl, pentaflöetyl và tương tự. Nhóm C<sub>1-6</sub>alkyl có thể được thể, như là bằng nhóm halo, nhóm hydroxy, nhóm amino, nhóm nitro và/hoặc nhóm xyano, và tương tự. Ví dụ đại diện cho C<sub>1-3</sub> haloalkyl và C<sub>1-3</sub> hydroxyalkyl bao gồm clometyl, triclometyl, triflometyl, flometyl, flöetyl, cloetyl, hydroxymetyl, hydroxyetyl, và tương tự. Các gốc C<sub>1-3</sub> alkyl được thể thích hợp khác bao gồm, ví dụ, aralkyl, aminoalkyl, aminoaralkyl, carbonylaminoalkyl, alkylcarbonylaminoalkyl, arylcarbonylaminoalkyl, aralkylcarbonylaminoalkyl, aminoalkoxyalkyl và arylaminoalkyl.

Như được sử dụng ở đây, "C<sub>1-6</sub> alkoxy" dùng để chỉ gốc RO-, trong đó R là C<sub>1-6</sub> alkyl. Ví dụ đại diện cho nhóm C<sub>1-6</sub> alkoxy bao gồm metoxy, etoxy, *t*-butoxy, triflometoxy và tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "halogen" hoặc "halo" dùng để chỉ nhóm clo, nhóm bromo, nhóm flo và nhóm iodo. "Haloalkyl" dùng để chỉ gốc C<sub>1-3</sub> alkyl được thể bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen. Thuật ngữ "haloalkoxy" dùng để chỉ gốc C<sub>1-3</sub> alkoxy được thể bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen. Hydroxy dùng để chỉ nhóm -OH.

"Amino" ở đây dùng để chỉ nhóm -NH<sub>2</sub>. Thuật ngữ "C<sub>1-3</sub> alkylamino" ở đây dùng để chỉ nhóm -NRR' trong đó mỗi R và R' độc lập được chọn từ hydro hoặc C<sub>1-3</sub>

alkyl. Thuật ngữ "arylamino" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-NRR'$  trong đó R là  $C_{6-10}$  aryl, bao gồm phenyl, và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl, hoặc  $C_{6-10}$  aryl, bao gồm phenyl. Thuật ngữ "aralkylamino" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-NRR'$  trong đó R là aralkyl và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl, aryl, bao gồm phenyl, hoặc aralkyl.

Thuật ngữ "alkoxyalkyl" dùng để chỉ nhóm  $-alk_1-O-alk_2$  trong đó  $alk_1$  là  $C_{1-3}$  alkyl, và  $alk_2$  là  $C_{1-3}$  alkyl. Thuật ngữ "aryloxyalkyl" dùng để chỉ nhóm  $-C_{1-3}$  alkyl-O-aryl, trong đó aryl là  $C_{6-10}$  aryl, bao gồm phenyl. Thuật ngữ "aralkoxyalkyl" dùng để chỉ nhóm -alkylenyl-O-aralkyl, trong đó aralkyl này là aralkyl mạch ngắn hơn.

Thuật ngữ "aminocarbonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-C(O)-NH_2$ . "Aminocarbonyl được thế" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-CO-NHR-$  hoặc  $-C(O)-NRR'$  trong đó R là  $C_{1-3}$  alkyl hoặc  $C_{6-10}$  aryl và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl hoặc  $C_{6-10}$  aryl. Theo một số phương án, R và R', cùng với nguyên tử N được gắn kèm với chúng có thể cùng nhau tạo thành nhóm "heteroxycloalkylcarbonyl". Thuật ngữ "carboxyamido" còn dùng để chỉ nhóm  $-CONH_2$ . Thuật ngữ "carboxyamit được thế" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-CO-NHR-$  hoặc  $-CO-NRR'$  trong đó R là  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{6-10}$  aryl và/hoặc heteroxycyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxycyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2H$ , halo, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl, và  $C_{1-3}$  haloalkoxy và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{6-10}$  aryl và/hoặc heteroxycyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxycyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2H$ , halo, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl, và  $C_{1-3}$  haloalkoxy. Thuật ngữ "arylamino" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-C(O)-NRR'$  trong đó R là aryl và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl hoặc aryl. Thuật ngữ "aralkylaminocarbonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-C(O)-NRR'$  trong đó R là aralkyl và R' là hydro,  $C_{1-3}$  alkyl, aryl, phenyl hoặc aralkyl.

Thuật ngữ "aminosulfonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-SO_2-NH_2$ . "Aminosulfonyl được thế" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-SO_2-NHR-$  hoặc  $-SO_2-NRR'$  trong đó R là  $C_{1-3}$  alkyl hoặc  $C_{6-10}$  aryl và R' là hydro hoặc  $C_{1-3}$  alkyl hoặc  $C_{6-10}$  aryl. Thuật ngữ "sulfonamido" dùng để chỉ nhóm  $-SONH_2$ . Thuật ngữ "sulfonamit được thế" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-SO-NHR-$  hoặc  $-SO-NRR'$ , trong đó R là  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{6-10}$  aryl và/hoặc heteroxycyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N,

O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2\text{H}$ , halo, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl, và  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy và R' là hydro hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{6-10}$  aryl và/hoặc heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2\text{H}$ , halo, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl, và  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy. Thuật ngữ "aralkylaminosulfonylaryl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-\text{aryl-S(O)}_2\text{-NH-aralkyl}$ .

Thuật ngữ "carbonyl" dùng để chỉ nhóm hóa trị hai  $-\text{C(O)-}$ . "Carboxy" dùng để chỉ  $-\text{C(=O)-OH}$ . "Alkoxycarbonyl" dùng để chỉ este  $-\text{C(=O)-OR}$  trong đó R là  $\text{C}_{1-3}$  alkyl. "Xycloalkyloxycarbonyl" dùng để chỉ  $-\text{C(=O)-OR}$  trong đó R là xycloalkyl. Thuật ngữ "aryloxycarbonyl" dùng để chỉ  $-\text{C(=O)-OR}$  trong đó R là aryl. Thuật ngữ "heteroxyclyloxycarbonyl" dùng để chỉ  $-\text{C(=O)-OR}$  trong đó R là heteroxyclyl.

Thuật ngữ "aralkoxycarbonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-(\text{C=O})\text{-O-aralkyl}$ , trong đó aralkyl này là  $\text{araC}_{1-3}$  alkyl.

Thuật ngữ "sulfonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-\text{SO}_2-$ . Thuật ngữ "sulfanyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-\text{S}-$ . "Alkylsulfonyl" dùng để chỉ sulfonyl được thế có cấu trúc  $-\text{SO}_2\text{R}-$ , trong đó R là  $\text{C}_{1-3}$  alkyl. "Alkylsulfanyl" dùng để chỉ sulfanyl được thế có cấu trúc  $-\text{SR}-$  trong đó R là  $\text{C}_{1-3}$  alkyl. Do đó, nhóm alkylsulfonyl và alkylsulfanyl mạch ngắn điển hình được sử dụng trong các hợp chất theo sáng chế bao gồm, ví dụ, metylsulfonyl và metylsulfanyl (nghĩa là, trong đó R là metyl), etylsulfonyl và etylsulfanyl (nghĩa là, trong đó R là etyl), propylsulfonyl và propylsulfanyl (nghĩa là, trong đó R là propyl), và tương tự. Thuật ngữ "arylsulfonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-\text{SO}_2\text{-aryl}$ . Thuật ngữ "aralkylsulfonyl" ở đây dùng để chỉ nhóm  $-\text{SO}_2\text{-aralkyl}$ , trong đó aralkyl này là  $\text{araC}_{1-3}$  alkyl. Thuật ngữ "sulfonamido" ở đây dùng để chỉ  $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ .

Ngoài ra, thuật ngữ "amido" dùng để chỉ  $-\text{C(=O)NH}_2$  và "carbonylamino" dùng để chỉ nhóm hóa trị hai  $-\text{NH-C(=O)-}$  trong đó nguyên tử hydro của nitơ amit của nhóm carbonylamino có thể được thế  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{6-10}$  aryl, aralkyl và/hoặc heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2\text{H}$ , halo, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl, và  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy. Các nhóm này bao gồm các gốc như là các este carbamat

(-NH-C(O)-O-R) và các amit carbamat -NH-C(O)-R, trong đó R là C<sub>1-3</sub> alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, C<sub>3-8</sub> xycloalkyl, hoặc C<sub>6-10</sub> aryl, bao gồm phenyl, aralkyl và/hoặc heteroxycyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxycyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H, <sup>2</sup>H, halo, CN, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> haloalkyl, và C<sub>1-3</sub> haloalkoxy.

Thuật ngữ "C<sub>3-8</sub> xycloalkyl" dùng để chỉ phần tử thế C<sub>3-8</sub> alkyl carboxyclic hoặc dị vòng, đơn vòng hoặc đa vòng. Phần tử thế xycloalkyl điển hình có mạch chính (nghĩa là, vòng) gồm từ 3 đến 8 nguyên tử trong đó mỗi nguyên tử của vòng là cacbon hoặc nguyên tử khác loại. Thuật ngữ "heteroxycloalkyl" ở đây dùng để chỉ phần tử thế xycloalkyl có từ 1 đến 5, và điển hình hơn là có từ 1 đến 4 các nguyên tử khác loại trong cấu trúc vòng. Các nguyên tử khác loại thích hợp được sử dụng trong các hợp chất theo sáng chế là nitơ, oxy, và lưu huỳnh. Các gốc heteroxycloalkyl làm ví dụ minh họa bao gồm, ví dụ, morpholino, piperazinyl, piperidinyl và tương tự. Các nhóm carboxycloalkyl là các nhóm xycloalkyl trong đó tất cả các nguyên tử của vòng là cacbon. Khi được sử dụng để mô tả về phần tử thế xycloalkyl, thuật ngữ "đa vòng" ở đây dùng để chỉ các cấu trúc vòng alkyl được ngưng tụ và không được ngưng tụ. Thuật ngữ "carbobixyclic hoặc carbobixicyl" dùng để chỉ vòng carboxyclic no, hoặc không no một phần được ngưng tụ với vòng aryl, vòng carboxyclic, vòng dị vòng hoặc vòng heteroaryl khác. Nhóm xycloalkyl này được thế hoặc không được thế.

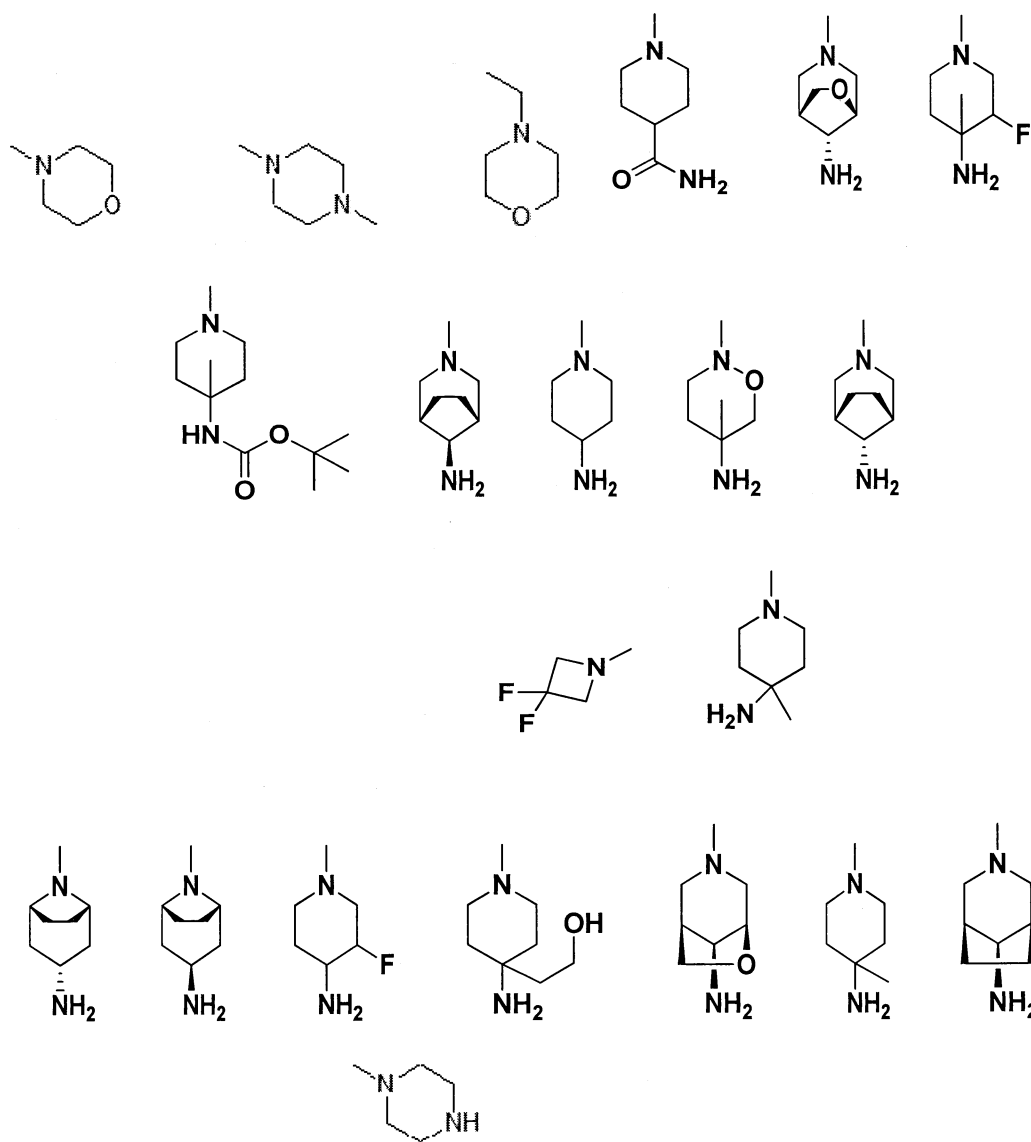
Thuật ngữ "dị vòng được thế" hoặc "nhóm dị vòng" hoặc "heteroxycyl", như được sử dụng ở đây, dùng để chỉ vòng 3 hoặc 4 cạnh chứa nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy, và lưu huỳnh hoặc vòng 5, 6 hoặc 7 cạnh chứa từ một đến ba nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh; trong đó vòng 5 cạnh có 0-1 liên kết đôi và vòng 6 cạnh và vòng 7 cạnh có 0-1 liên kết đôi hoặc các vòng ngưng tụ có 0-2 liên kết đôi; trong đó nguyên tử nitơ và lưu huỳnh có thể tùy ý được oxi hóa; trong đó, các nguyên tử khác loại nitơ và lưu huỳnh này có thể tùy ý được bậc bốn hóa; và bao gồm nhóm hai vòng bất kỳ trong đó vòng bất kỳ trong số các vòng dị vòng nêu trên được ngưng tụ với vòng benzen hoặc vòng dị vòng 5 hoặc 6 cạnh khác độc lập được xác định ở trên và được dùng để chỉ vòng heterobixyclic hoặc nhóm heterobixicyl. Nhóm heterocyl này không được thế hoặc được thế bằng 1 đến

3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2\text{H}$ , halo, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl, và  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy.

Do đó, thuật ngữ "dị vòng" bao gồm các vòng mà trong đó nitơ là nguyên tử khác loại cũng như các vòng no một phần và no hoàn toàn. Các dị vòng đại diện bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, ví dụ: piperidiny, piperaziny, 1,2-oxazinan, 2-oxopiperaziny, 2-oxopiperidiny, N-metyl piperaziny, và morpholiny, mỗi dị vòng này tùy ý được thế.

Các gốc dị vòng có thể không được thế hoặc được thế một lần hoặc được thế hai lần bằng nhiều loại phần tử thế khác nhau độc lập được chọn từ hydroxy, halo, oxo ( $\text{C}=\text{O}$ ), alkylimino ( $\text{RN}=\text{}$ , trong đó R là nhóm  $\text{C}_{1-3}$  alkyl hoặc nhóm  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy), amino,  $\text{C}_{1-3}$  alkylamino,  $\text{C}_{1-3}$  dialkylamino, acylaminoalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl, xycloalkyl hoặc  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl.

Nhóm dị vòng (heteroxyclyl) này có thể được gắn ở nhiều vị trí khác nhau là điều dễ hiểu đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực hóa hữu cơ và hóa y học kết hợp áp dụng sáng chế này. Ví dụ đại diện cho nhóm heteroxyclyl, nhóm heterobixyclyl và nhóm heteroxyclyl được thế được sử dụng theo sáng chế được liệt kê dưới đây:



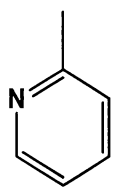
Thuật ngữ "C<sub>6-10</sub> aryl" dùng để chỉ nhóm vòng thơm đơn vòng hoặc đa vòng tùy ý được thể có từ 6 đến 10 hoặc có từ 3 đến 14 nguyên tử cacbon hoặc nguyên tử khác loại trong mạch chính, và bao gồm nhóm aryl carboxyclic và nhóm aryl heteroxyclic. Các nhóm aryl carboxyclic là nhóm C<sub>6-10</sub> aryl trong đó tất cả các nguyên tử vòng trong vòng thơm này là cacbon. Các gốc C<sub>6-10</sub> aryl đại diện được sử dụng làm phần tử thể trong các hợp chất theo sáng chế bao gồm phenyl, naphtyl, isonaphtyl và tương tự.

"Aralkyl" dùng để chỉ nhóm C<sub>1-3</sub> alkyl hoặc C<sub>1-6</sub> alkyl được thể bằng nhóm C<sub>6-10</sub> aryl. Điển hình là, nhóm aralkyl được sử dụng trong các hợp chất theo sáng chế có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon được kết hợp bên trong thành phần alkyl của nhóm aralkyl này. Nhóm aralkyl thích hợp được sử dụng trong các hợp chất theo sáng chế bao gồm, ví dụ, benzyl, picolyl, và tương tự.

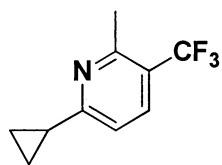
Thuật ngữ “heteroaryl” dùng để chỉ hệ vòng carboxyclic 5-10 cạnh, bao gồm các hệ vòng ngưng tụ, có 1 đến 4 nguyên tử khác loại trong đó mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: O, N và S. Heteroaryl đã nêu có thể tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế. Thuật ngữ “heteroaryl” ở đây cũng dùng để chỉ nhóm  $C_{6-10}$  aryl có từ 1 đến 4 các nguyên tử khác loại làm các nguyên tử vòng của vòng thơm với các nguyên tử vòng còn lại là các nguyên tử cacbon. Phần tử thế đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, halo, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl, và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl, và  $C_{1-3}$  haloalkoxy. Nhóm heteroaryl đại diện bao gồm, ví dụ, các nhóm heteroaryl được biểu thị dưới đây. Các heteroaryl đại diện bao gồm, ví dụ, imidazolyl, pyridinyl (cũng đề cập đến aspyridyl), pyrazinyl, azetidiny, thiazolyl, triazolyl, benzimidazolyl, benzothiazolyl, thiazolyl, thiazolidinyl, isothiazolyl, isothiazolidinyl, indolyl, quinoliny, isoquinoliny, azetidiny, N-metylazetidiny, pyrimidinyl, pyridazinyl, oxazolyl, oxazolidinyl, isoxazolyl, isoazolidinyl, benzimidazolyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, furyl, thienyl, triazolyl, benzothienyl diazapinyl, pyryl, pyrolinyl, pyrrolidinyl, pyrazolyl, pyrazolinyl, pyrazolidinyl, imidazolyl, imidazoliny, imidazolidinyl và benzoxazolyl. Heteroaryl này không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2H$ , halo,  $C_{2-3}$  alkynyl,  $C_{2-3}$  alkenyl, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl,  $CONH_2$ ,  $CONHC_{1-3}$  alkyl,  $CONHC_{6-10}$  aryl,  $SO_2NH_2$ ,  $SO_2NHC_{1-3}$  alkyl,  $SO_2NHC_{6-10}$  aryl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm: H,  $^2H$ , halo, CN,  $C_{1-3}$  alkyl,  $C_{1-3}$  alkoxy,  $C_{1-3}$  haloalkyl, và  $C_{1-3}$  haloalkoxy.

Ngoài ra, nhóm heteroaryl này có thể được thế và được gắn ở nhiều vị trí khác nhau là điều dễ hiểu đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực hóa hữu cơ và hóa y học áp dụng sáng chế này. Ví dụ đại diện cho nhóm heteroaryl và nhóm heteroaryl được thế được sử dụng theo sáng chế được liệt kê dưới đây:

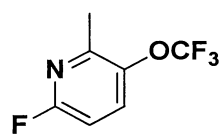




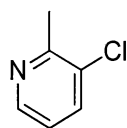
,



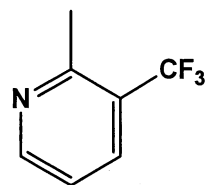
,



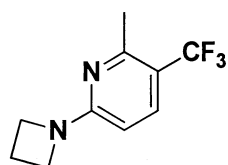
,



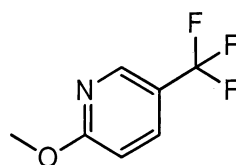
,



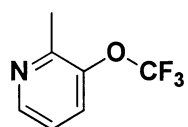
,



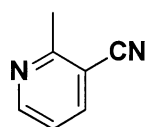
,



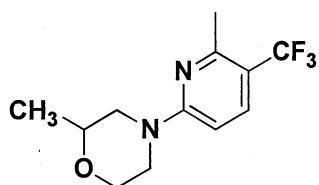
,



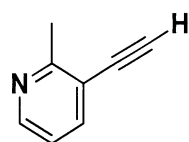
,



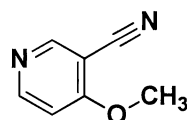
,



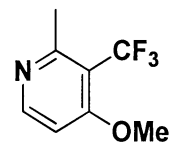
,



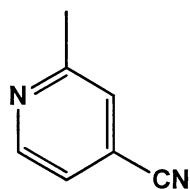
,



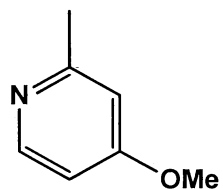
,



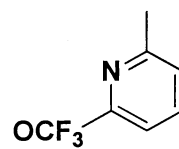
,



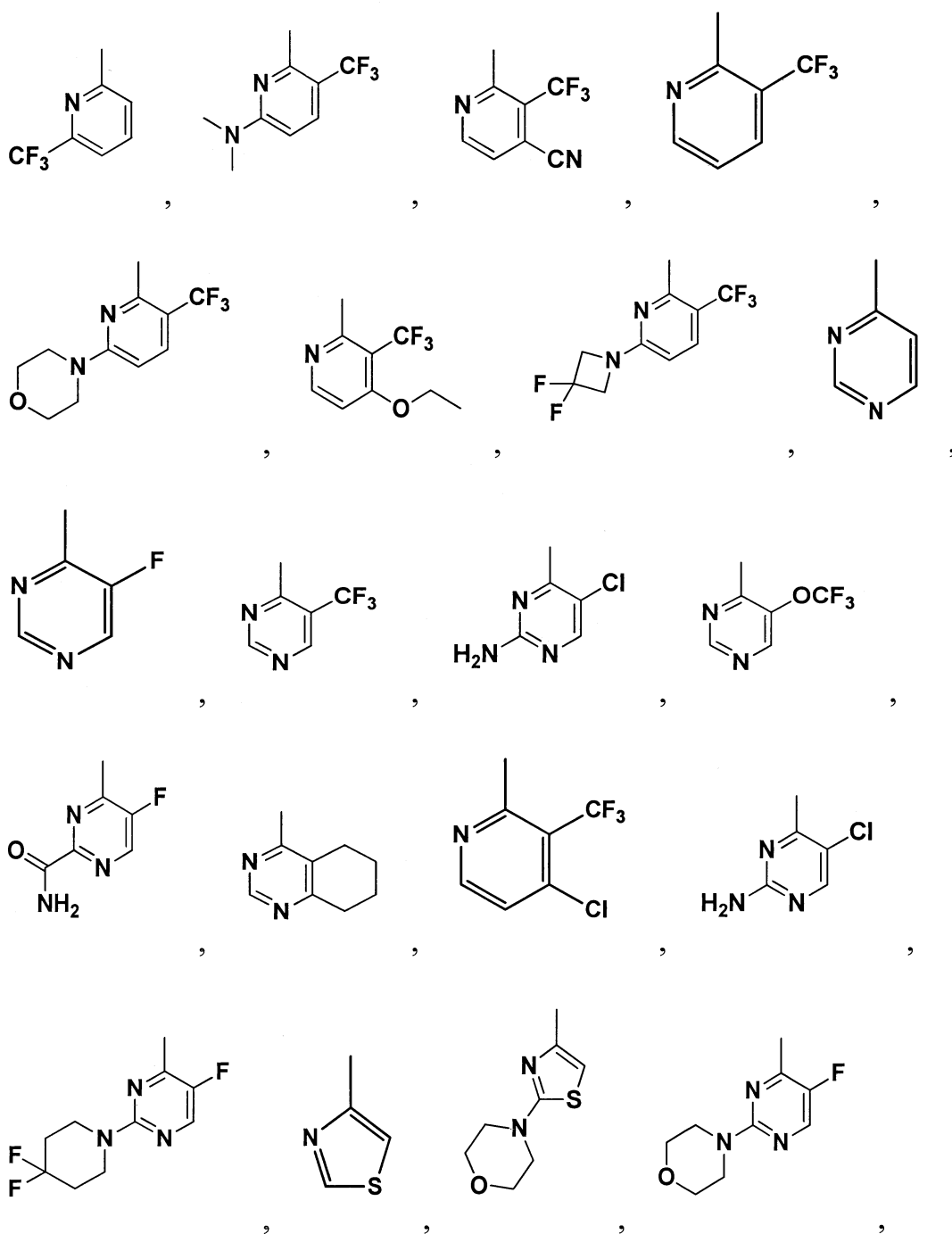
,

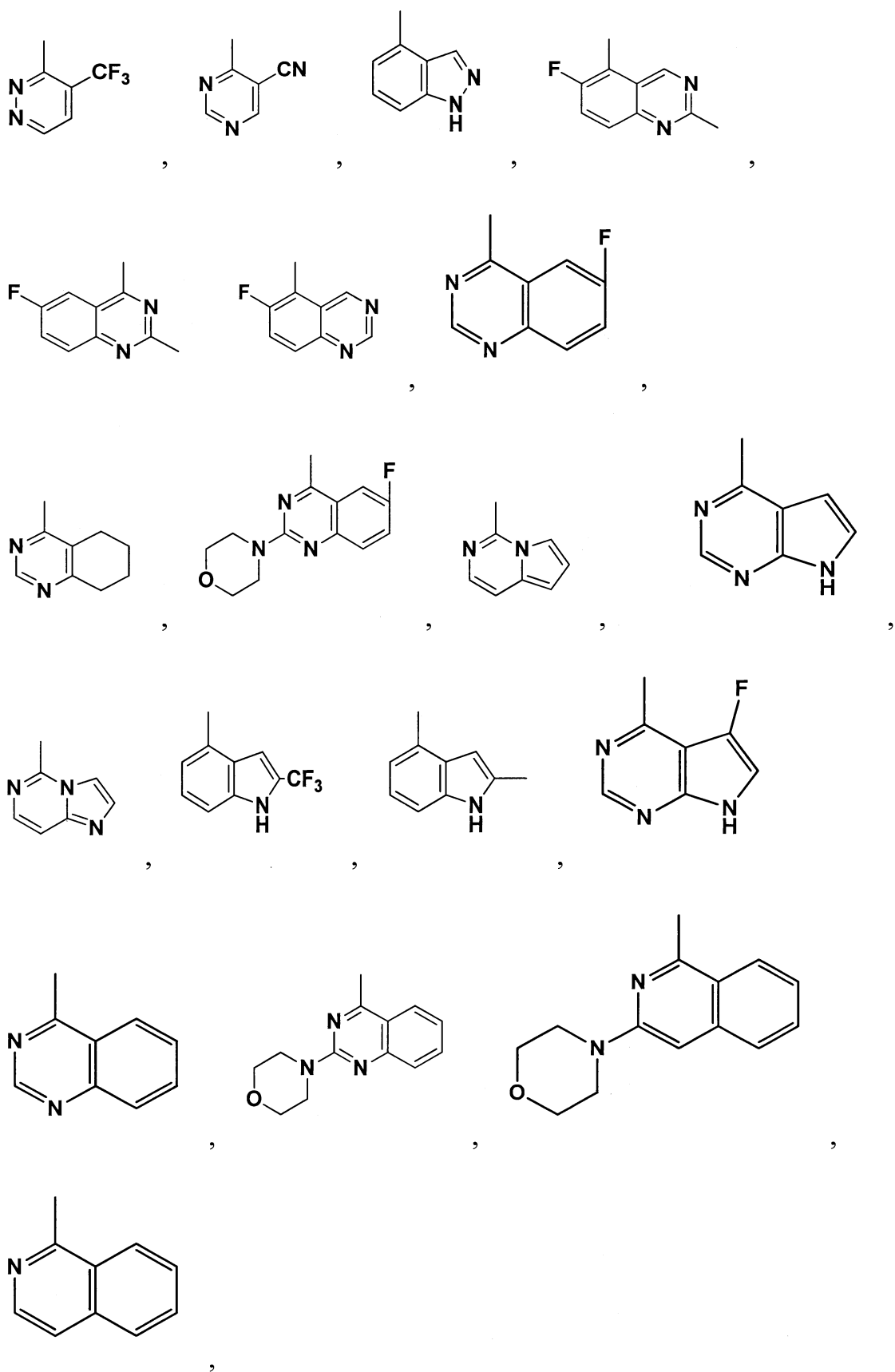


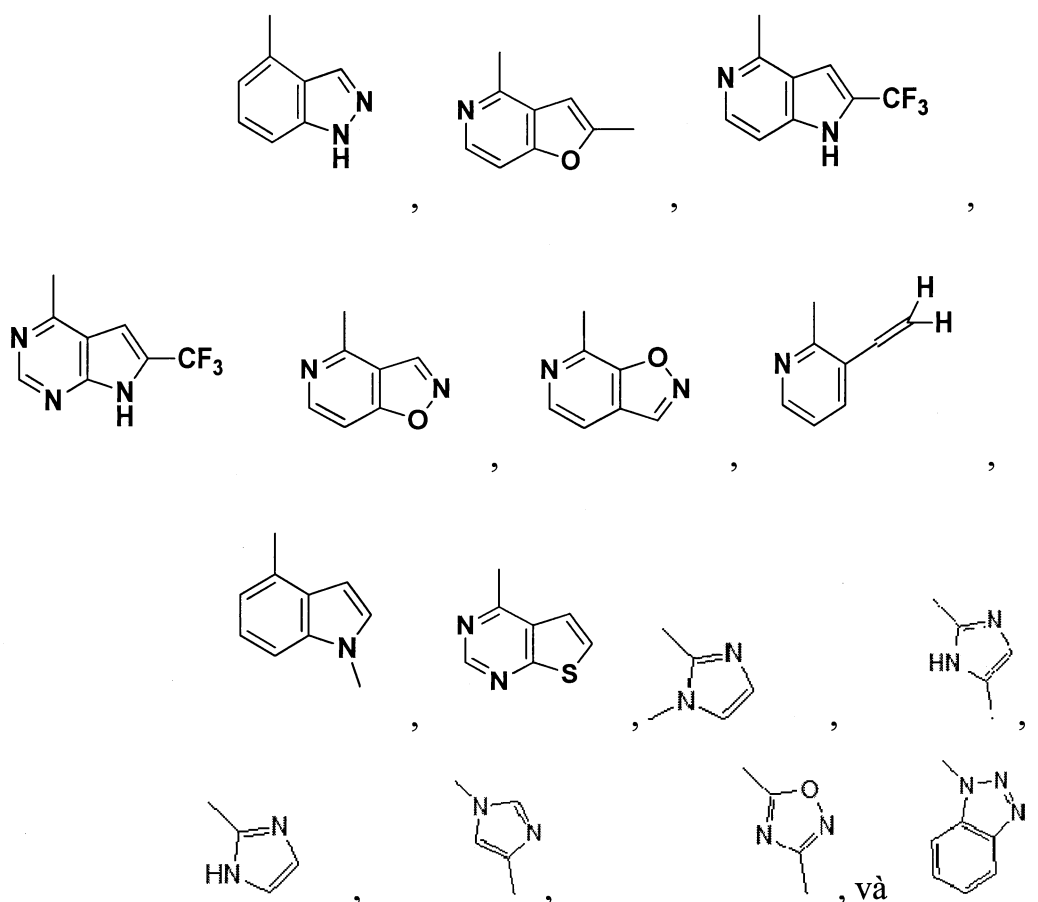
,



,







"Tùy ý được thế" hoặc "được thế" dùng để chỉ sự thay thế của một hoặc nhiều nguyên tử hydro bằng gốc có hóa trị một hoặc gốc có hóa trị hai. Nhóm thế thích hợp bao gồm, ví dụ, H,  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{2-3}$  alkynyl,  $\text{C}_{2-3}$  alkenyl, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl,  $\text{CONH}_2$ ,  $\text{CONHC}_{1-3}$  alkyl,  $\text{CONHC}_{6-10}$  aryl,  $\text{SO}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{SO}_2\text{NHC}_{1-3}$  alkyl,  $\text{SO}_2\text{NHC}_{6-10}$  aryl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, heteroxyclyl đã nêu tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế trong đó mỗi phần tử thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H,  $^2\text{H}$ , halo, CN,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl, và  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy; và tương tự.

Ngay cả chính nhóm thế cũng có thể được thế. Nhóm được thế cho nhóm thế này có thể là carboxyl, halo; nitro, amino, xyano, hydroxy,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy, aminocarbonyl, -SR, thioamido,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{SO}_2\text{R}$  hoặc  $\text{C}_{3-8}$  xycloalkyl, trong đó, R điển hình là hydro, hydroxyl hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkyl.

Khi phần tử thế được thế chứa nhóm mạch thẳng, sự thay thế có thể xảy ra bên trong mạch này (ví dụ, 2-hydroxypropyl, 2-aminobutyl, và tương tự) hoặc ở cuối mạch này (ví dụ, 2-hydroxyetyl, 3-xyanopropyl, và tương tự). Phần tử thế được thế có thể ở

dạng mạch thẳng, mạch nhánh hoặc các dạng sắp xếp dạng vòng của các nguyên tử khác loại hoặc nguyên tử cacbon được liên kết cộng hóa trị.

Thuật ngữ “ $^2\text{H}$ ” dùng để chỉ đồng vị nặng của hydro mà còn được đề cập đến là đoteri (D). Được hiểu rằng, các định nghĩa nêu trên không được chủ định để bao gồm các kiểu thay thế không được phép (ví dụ, một metyl được thế bằng năm nhóm flo hoặc một nguyên tử halogen được thế bằng một nguyên tử halogen khác). Các kiểu thay thế không được phép này đã được biết rõ đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc các tautome của chúng, cũng như các muối được dụng của nó, các este, các chất chuyển hóa và các tiền được chất của bất kỳ chất nào trong số chúng, có thể chứa nguyên tử cacbon được thế không đối xứng. Nguyên tử cacbon được thế không đối xứng này có thể dẫn đến việc các hợp chất theo sáng chế tồn tại ở các dạng chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và các dạng chất đồng phân lập thể khác có thể được xác định, về mặt hóa lập thể tuyệt đối, như là ở dạng (R) hoặc dạng (S). Kết quả là, tất cả các chất đồng phân, các chất đồng phân lập thể riêng lẻ có thể này ở các dạng tinh khiết quang của chúng, hỗn hợp chứa chúng, các hỗn hợp raxemic (hoặc "các raxemat"), hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang, cũng như chất đồng phân không đối quang đơn của các hợp chất theo sáng chế được bao gồm trong sáng chế. Các thuật ngữ cấu hình "S" và cấu hình "R", như được sử dụng ở đây, là như được xác định theo IUPAC 1974 RECOMMENDATIONS FOR SECTION E, FUNDAMENTAL STEREOCHEMISTRY, *Pure Appl. Chem.* 45:13-30 (1976). Các thuật ngữ  $\alpha$  và  $\beta$  được sử dụng đối với các vị trí trên vòng của các hợp chất xyclic. Chiều  $\alpha$  của mặt phẳng tham chiếu là chiều mà phần tử thế được ưu tiên nằm ở vị trí được đánh số nhỏ hơn. Các phần tử thế nằm trên chiều ngược lại của mặt phẳng tham chiếu này được chỉ định là thuật ngữ mô tả  $\beta$ . Lưu ý rằng việc xác định này khác với khi áp dụng với các hợp chất lập thể nói chung dạng vòng, trong đó " $\alpha$ " có nghĩa là "dưới mặt phẳng" và biểu thị cấu hình tuyệt đối. Các thuật ngữ cấu hình  $\alpha$  và cấu hình  $\beta$ , như được sử dụng ở đây, như được xác định theo đoạn 203 của tài liệu CHEMICAL ABSTRACTS INDEX GUIDE-APPENDIX IV (1987).

Theo phương án khác, hợp chất hoặc chất đồng phân lập thể, tautome, hoặc muối được dụng của nó được chọn từ: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-

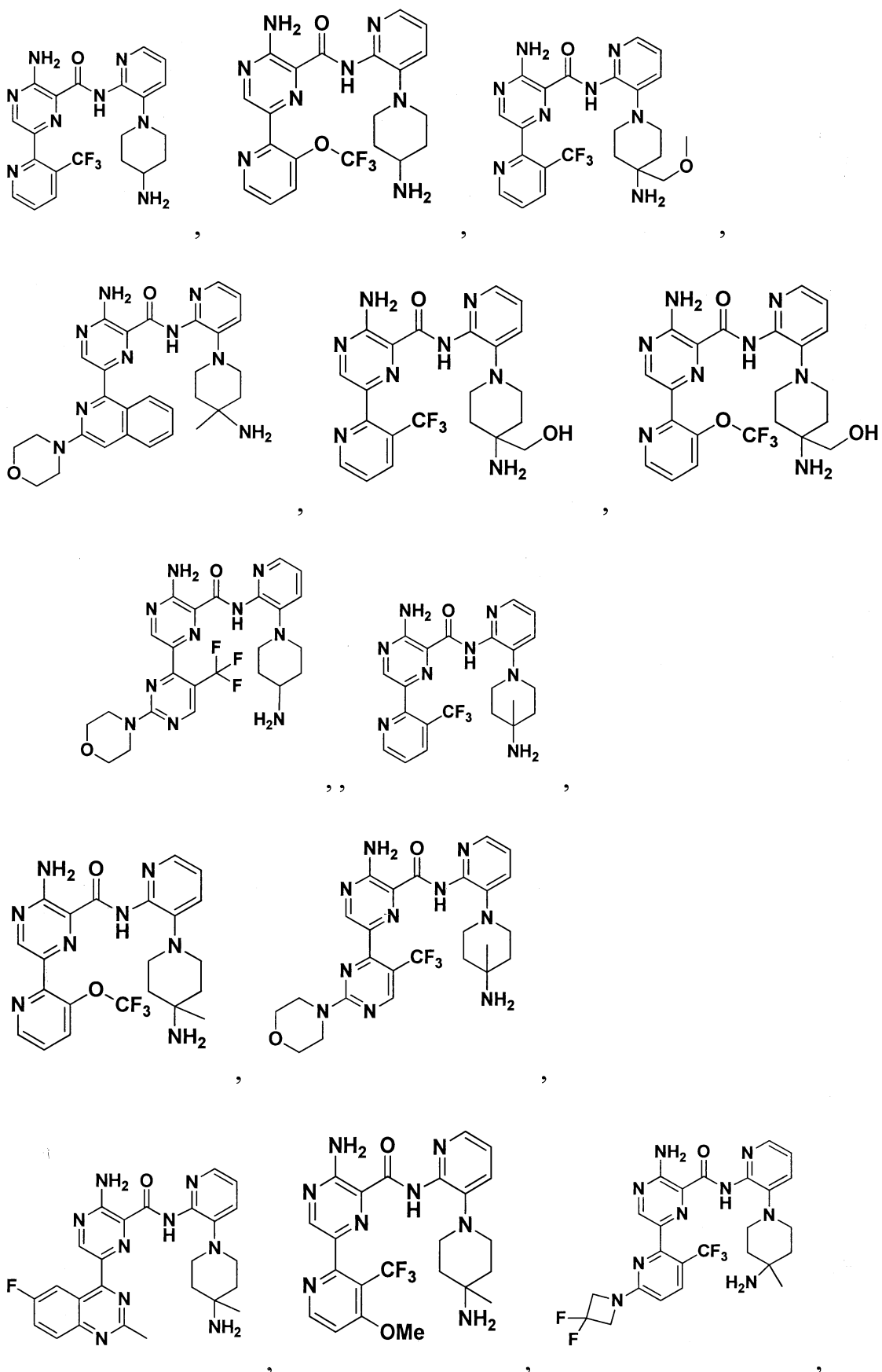
aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino thiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-metoxxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-metoxxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-etylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3.2.1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-etylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-

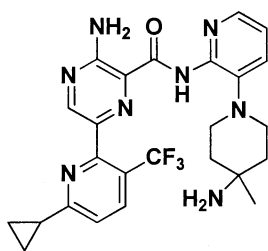
carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-((1S,5R,8S)-8-amino-6-oxa-3-azabixyclo[3.2.1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5,6,7,8-tetrahydroquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-((1R,5S,8S)-8-amino-3-azabixyclo[3.2.1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-metoxylethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-floquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3,6-bis(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, ( $\pm$ ) 3-amino-N-(3-((cis)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(3,6-dihydro-2H-pyran-4-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-floisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholinopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-cloisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(azetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-

yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(4,4-diflopiperidin-1-yl)-5-flopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-etyl piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 4-(5-amino-6-((3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)carbamoyl)pyrazin-2-yl)-5-flopyrimidin-2-carboxamit, , 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-amino-5-clopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-clo-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit và 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

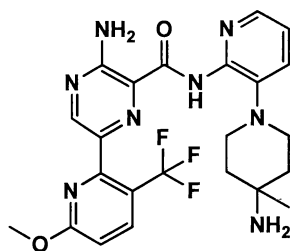
Theo phương án khác, hợp chất hoặc chất đồng phân lập thể, tautome, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:



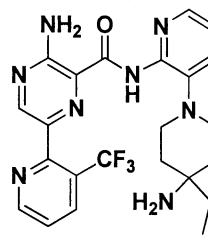




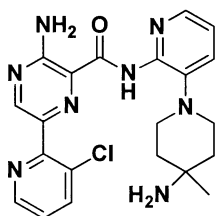
,



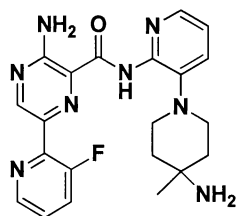
,



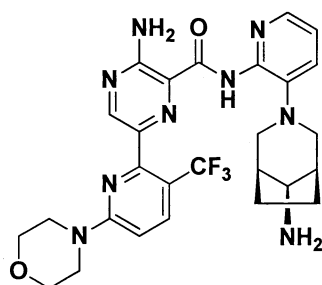
,



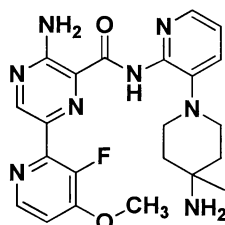
,



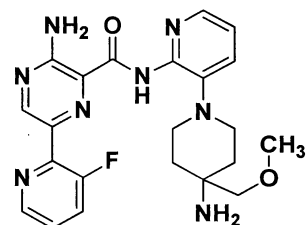
,



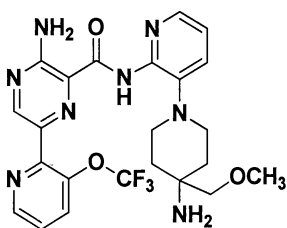
,



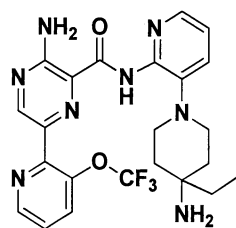
,



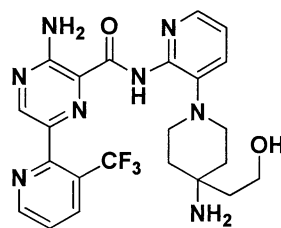
,



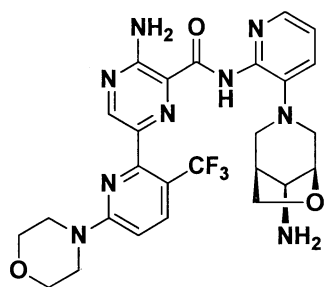
,,



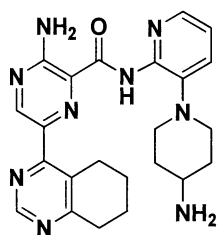
,



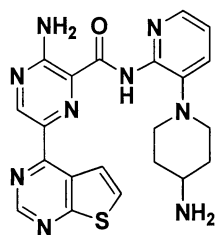
,



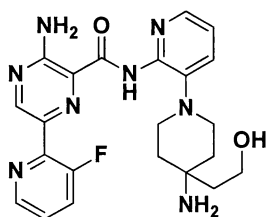
,



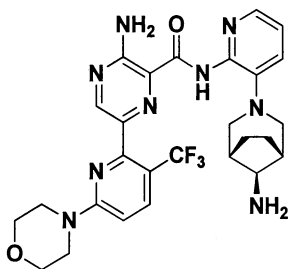
,



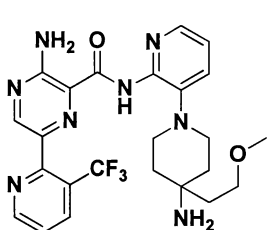
,



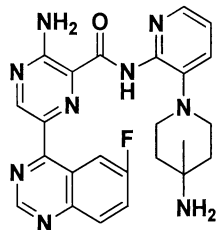
,



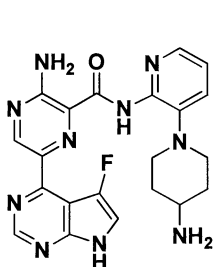
,



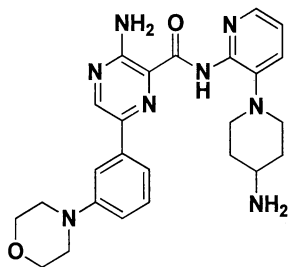
,



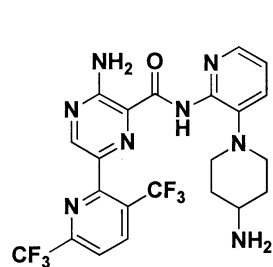
,



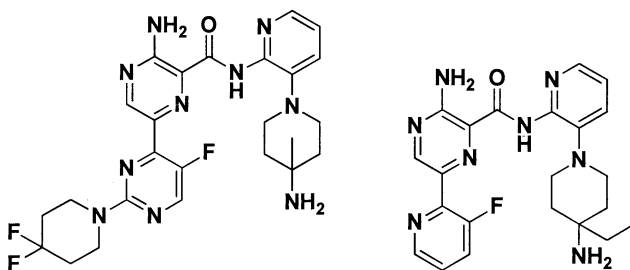
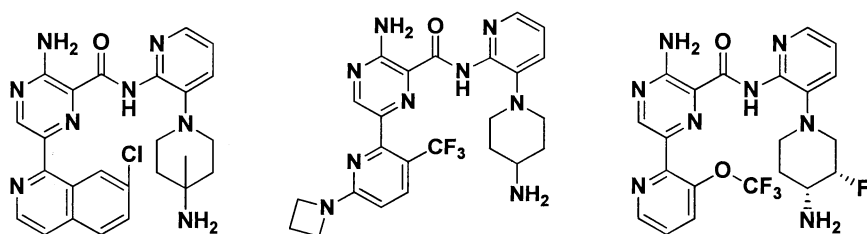
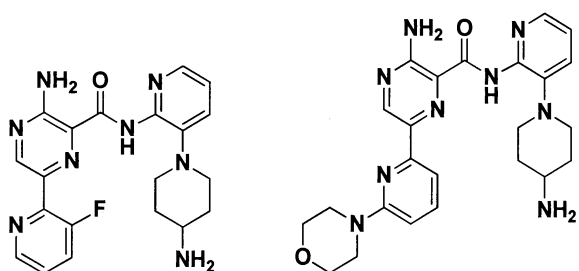
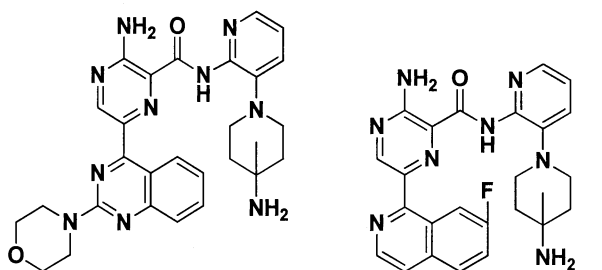
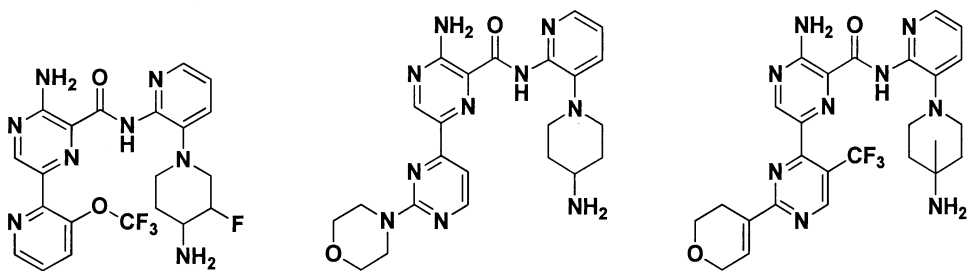
,

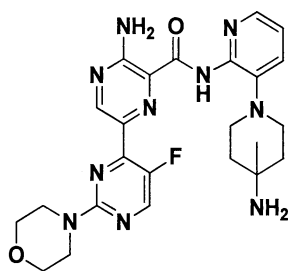


,

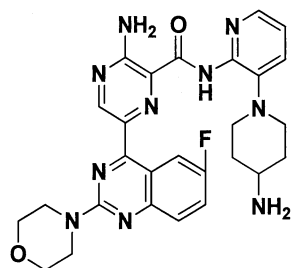


,



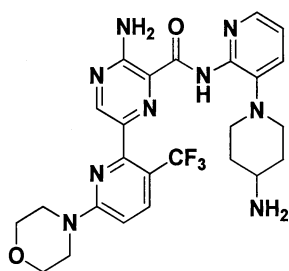


, , ,

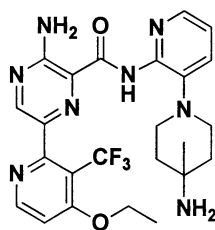


,

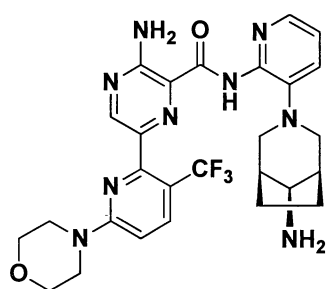
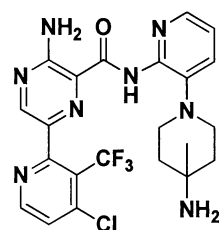
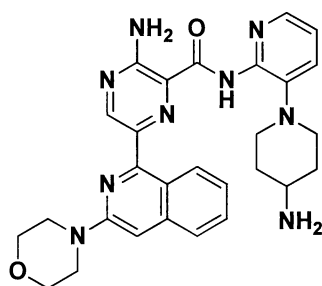
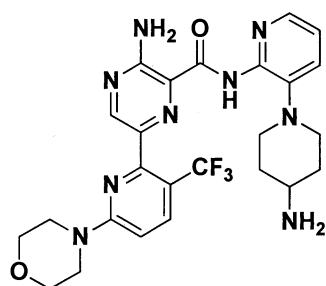
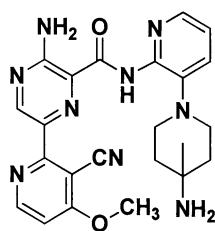
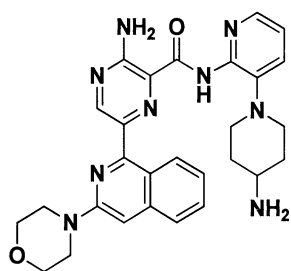
, ,

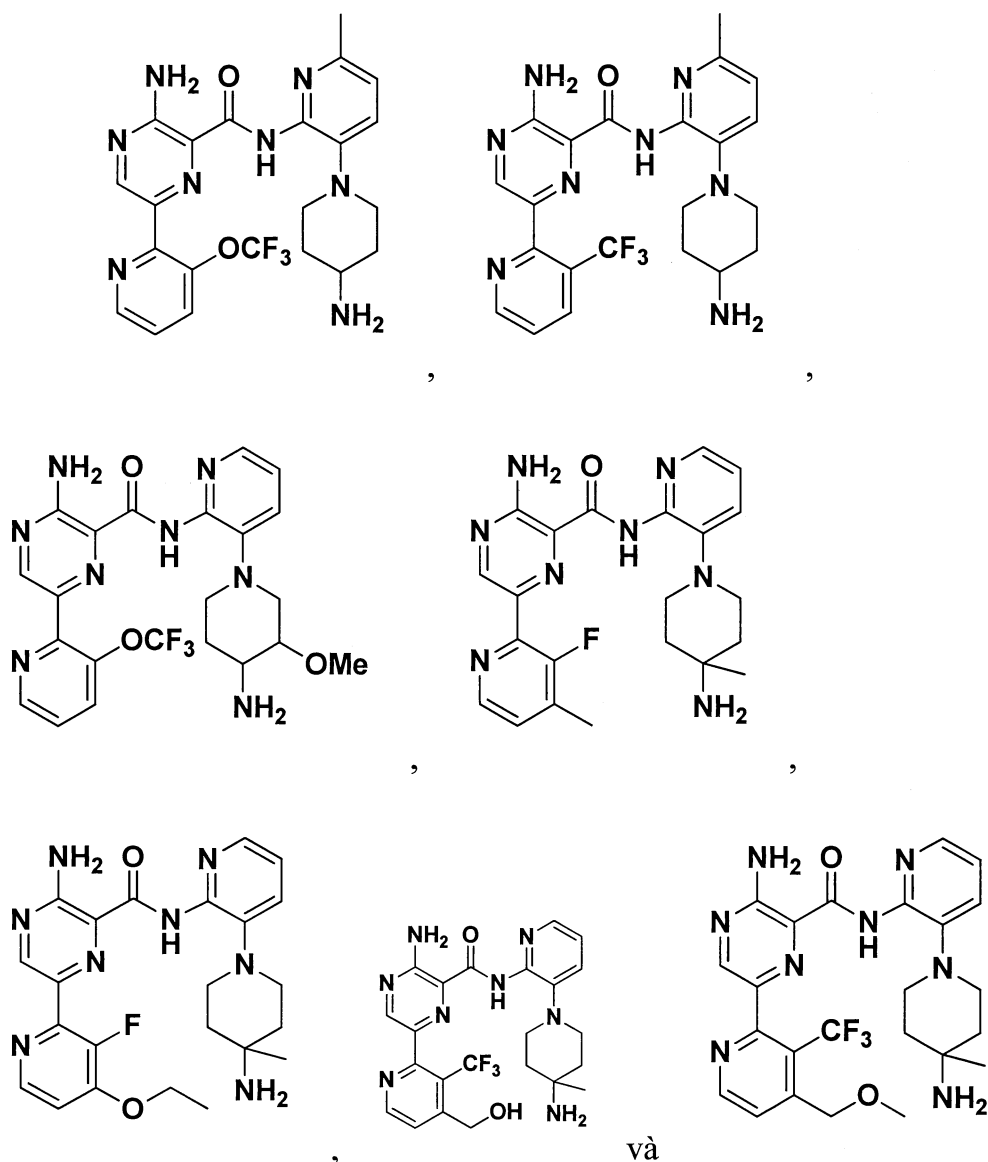


,

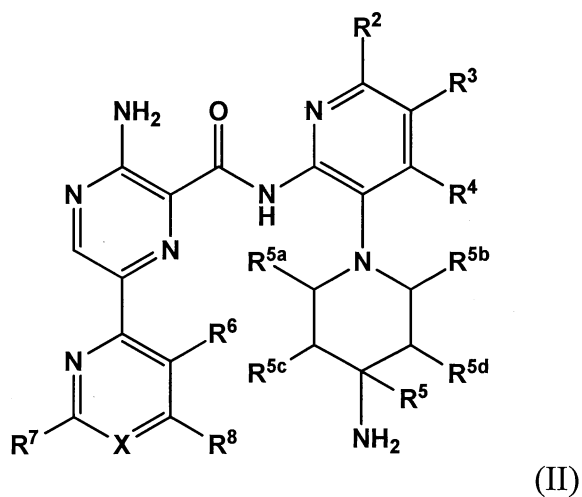


,





Sáng chế đề xuất các hợp chất, các tautome, các chất đồng phân lập thể của chúng hoặc các muối được dụng của chúng hoặc các este có các gốc tăng cường độ tan của chúng có công thức (II) ở trên:



Theo phương án riêng biệt, các hợp chất, các tautome, các chất đồng phân lập thể của chúng hoặc các muối được dụng của chúng hoặc các gốc tăng cường độ tan của chúng có công thức (II),

trong đó:

X là CR;

mỗi  $R^2$ ,  $R^3$  và  $R^4$  là H;

$R^5$  độc lập là H,  $CH_3$ ,  $CH_2F$ ,  $CHF_2$ ,  $CF_3$ ,  $CH_2OH$ ,  $CH_2-O-C_{1-3}$  alkyl

mỗi  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  là H hoặc  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc etylen;

Mỗi  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  độc lập là H, F,  $C_{1-3}$  alkyl, hoặc  $C_{1-3}$  alkoxy hoặc  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu  $-CH_2-O-$ , metylen, hoặc etylen; và

Mỗi  $R^6$  và  $R^7$  độc lập được chọn từ H, halo,  $C_{1-3}$  haloalkyl,  $C_{1-3}$  haloalkoxy,  $C_{3-7}$  xycloalkyl, morpholino, piperinyl và piperazinyl.

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

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-metoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-etyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;



3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-metoxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

(±)3-amino-N-(3-((cis)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-clo-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit; và

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

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

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(etoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(etoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-((diflometoxy)metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-metoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flo-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit; và

3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

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

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5,6,7,8-tetrahydroquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-floquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-floisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-cloisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit; và

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit.

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

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit; và

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "các muối được dụng của nó" dùng để chỉ các muối kim loại kiềm thổ hoặc các muối axit không độc của các hợp chất theo sáng

chế. Các muối này có thể được điều chế tại chỗ (*in situ*) trong suốt quá trình phân tách và tinh sạch cuối cùng các hợp chất có các công thức (I), (Ia), (II) hoặc (III), hoặc bằng cách cho các nhóm chức axit hoặc nhóm chức bazơ phản ứng riêng lẻ tương ứng với bazơ hoặc axit hữu cơ hoặc vô cơ thích hợp. Các muối đại diện bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các muối sau: muối axetat, adipat, alginat, xitrat, aspartat, benzoat, benzenesulfonat, bisulfat, butyrat, camphorat, camphorsulfonat, digluconat, xyclopentanpropionat, dodexylsulfat, etansulfonat, glucoheptanoat, glyxerophosphat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, fumarat, clohydric, hydrobromua, hydroiodua, 2-hydroxyetansulfonat, lactat, maleat, metansulfonat, nicotinat, 2-naphtalensulfonat, oxalat, pamoat, pectinat, persulfat, 3-phenylproionat, picrat, pivalat, propionat, succinat, sulfat, tartrat, thioxyanat, p-toluensulfonat và undecanoat. Cũng vậy, nhóm chứa nitơ có tính bazơ có thể được bậc bốn hóa bằng các chất như là các halogenua của các alkyl mạch ngắn, như là metyl, etyl, propyl, và butyl clorua, bromua, và iodua; dialkyl sulfat như dimetyl sulfat, dietyl sulfat, dibutyl sulfat, và diamyl sulfat, các halogenua của alkyl mạch dài như là dexyl, lauryl, myristyl và stearyl clorua, bromua và iodua, các halogenua của aralkyl như benzyl bromua và phenetyl bromua, và các nhóm khác. Nhờ đó có thể thu được các sản phẩm có thể phân tán hoặc tan được trong dầu hoặc trong nước.

Các ví dụ về các axit có thể được sử dụng để tạo ra các muối cộng axit được dùng bao gồm các axit vô cơ như là axit clohydric, axit sulfuric và axit phosphoric và các axit hữu cơ như là axit oxalic, axit maleic, axit metansulfonic, axit succinic và axit xitric. Các muối cộng có tính bazơ có thể được điều chế *tại chỗ* trong suốt quá trình phân tách và tinh sạch cuối cùng các hợp chất có công thức (I), hoặc riêng lẻ là bằng cách cho các gốc axit carboxylic phản ứng với bazơ thích hợp như là hydroxit, carbonat hoặc bicarbonat của cation kim loại được dùng hoặc với amoniac, hoặc amin hữu cơ bậc một, bậc hai hoặc bậc ba. Các muối được dùng của nó bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các cation có nguồn gốc từ các muối kim loại kiềm và kim loại kiềm thổ, như là muối natri, muối lithi, muối kali, muối canxi, muối magie, muối nhôm và tương tự, cũng như amoni không độc, amoni bậc bốn, và các cation amin, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở amoni, tetrametylamoni, tetraetylamoni, metylamin, dimetylamin, trimetylamin, trietylamin, etylamin, và tương tự. Các amin hữu cơ đại

diện khác hữu ích để bào chế muối cộng bazơ bao gồm dietylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin và tương tự.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "este được dùng" dùng để chỉ các este, thủy phân *in vivo* và bao gồm các este được bẻ gãy nhanh chóng trong cơ thể người để lại hợp chất gốc hoặc muối của nó. Nhóm este thích hợp bao gồm, ví dụ, các nhóm este được dẫn xuất từ các axit carboxylic ưa béo, cụ thể là axit alkanoic, axit alkenoic, axit xycloalkanoic và axit alkanedioic, trong đó mỗi gốc alkyl hoặc alkenyl có ưu điểm là có không nhiều hơn 6 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về các este cụ thể bao gồm các fomat, axetat, propionat, butyrat, acrylat và etylsuccinat.

Thuật ngữ "các tiền dược chất được dùng" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ các tiền dược chất của các hợp chất theo sáng chế, nằm trong năng lực đánh giá y học, thích hợp để sử dụng để tiếp xúc với các mô của người và các động vật ở bậc thấp hơn mà không gây độc, kích thích, đáp ứng dị ứng quá mức, và tương tự, cân xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý, và ứng dụng được chủ định của chúng có hiệu quả, cũng như các dạng ion lưỡng tính, nếu có thể, của các hợp chất theo sáng chế. Thuật ngữ "tiền dược chất" dùng để chỉ các hợp chất dễ dàng được chuyển hóa *in vivo* để tạo ra hợp chất gốc có công thức nêu trên, ví dụ, bằng cách thủy phân trong máu. Bàn luận kỹ lưỡng được đưa ra bởi T. Higuchi và V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14 của A.C.S. Symposium Series, và bởi Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

Dễ hiểu với người có hiểu biết trong lĩnh vực này rằng các hợp chất theo sáng chế hoặc các tautome của chúng, các tiền dược chất và các chất đồng phân lập thể, cũng như các este, các muối được dùng của chúng và các tiền dược chất của chất bất kỳ trong số chúng, có thể được xử lý *in vivo* qua quy trình trao đổi chất trong tế bào hoặc trong cơ thể người hoặc động vật để tạo ra các sản phẩm trao đổi chất. Thuật ngữ "chất trao đổi" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ công thức của chất dẫn xuất bất kỳ được tạo ra trong đối tượng sau khi sử dụng hợp chất gốc. Các chất dẫn xuất này có thể được tạo ra từ hợp chất gốc bằng nhiều quy trình chuyển hóa hóa sinh ở đối tượng như là, ví dụ, oxi hóa, khử, thủy phân, hoặc liên hợp và bao gồm, ví dụ, các oxit và các chất dẫn xuất được metyl hóa. Các sản phẩm trao đổi chất có thể được nhận diện bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã được biết đến trong lĩnh vực này. Xem, ví

dụ, Bertolini, G. et al., *J. Med. Chem.* 40:2011-2016 (1997); Shan, D. et al., *J. Pharm. Sci.* 86(7):765-767; Bagshawe K., *Drug Dev. Res.* 34:220-230 (1995); Bodor, N., *Advances in Drug Res.* 13:224-331 (1984); Bundgaard, H., *Design of Prodrugs* (Elsevier Press 1985); và Larsen, I. K., *Design and Application of Prodrugs, Drug Design and Development* (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991).

Các hợp chất theo sáng chế hữu ích trong điều trị các rối loạn liên quan đến protein kinaza C ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị. Việc điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất có hiệu quả với hoạt tính PKC ở đối tượng. Các chất ức chế PKC hữu ích trong thực tế sử dụng sáng chế có thể ức chế một số dạng đồng đẳng của PKC, cụ thể chúng có thể ức chế chọn lọc các dạng đồng đẳng của PKC đặc hiệu (ví dụ, chất ức chế PKC chọn lọc hoặc isozym-chất ức chế PKC chọn lọc). Chất ức chế PKC có khả năng để ức chế chọn lọc các dạng đồng đẳng của PKC được chọn từ các dạng đồng đẳng cổ điển của PKC ( $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\gamma$ ) và các dạng đồng đẳng mới của PKC ( $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ ,  $\theta$ ) hoặc các dạng đồng đẳng không điển hình ( $\zeta$ ,  $\iota$ ), tốt hơn là được chọn từ các dạng đồng đẳng  $\alpha$ ,  $\beta$  (các dạng đồng đẳng  $\beta_1$  và  $\beta_2$ ) và  $\theta$  của PKC. Các chất ức chế PKC được ưu tiên có khả năng ức chế chọn lọc các dạng đồng đẳng  $\alpha$  và  $\theta$  của PKC. Các chất ức chế PKC thích hợp bao gồm các chất dẫn xuất maleimit, như là các hợp chất được mô tả trong các patent US số 5,545,636; 5,668,152; 5,672,681; 5,698,578; 5,710,145; 6,645,970; 7,220,774; 7,235,555; công bố US số 2008/0318975; các Patent Châu Âu số 0776895 B1; 0817627 B1; 1449529 B1; 1337527 B1; và công bố đơn PCT số WO03/082859; và WO07/006,533. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chất ức chế PKC" dùng để chỉ chất ức chế protein kinaza C có thể là có độ bao phủ rộng (nhiều phân nhóm) hoặc chọn lọc đối với một hoặc một số đồng đẳng của PKC. Thuật ngữ PKC nói chung là dùng để chỉ toàn bộ nhóm các dạng đồng đẳng: các dạng đồng đẳng thông thường:  $\alpha$ ,  $\beta$ , và  $\gamma$ , các dạng đồng đẳng mới:  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\eta$ , và  $\theta$ , và các dạng đồng đẳng không điển hình:  $\zeta$ , và  $\iota$ . Thuật ngữ "chất ức chế PKC chọn lọc" dùng để chỉ chất ức chế PKC sở hữu mức độ chọn lọc ít nhất là gấp khoảng 20 lần đối với một hoặc nhiều dạng đồng đẳng của PKC khi so sánh với các dạng đồng đẳng khác của PKC. Tốt hơn là, mức độ chọn lọc ít nhất là gấp khoảng 100 lần, tốt hơn nữa là gấp khoảng 500 lần, tốt nhất là gấp khoảng 1.000 lần hoặc gấp khoảng 2.000 lần.

Thuật ngữ "chất ức chế chọn lọc PKC alpha/theta", "chất ức chế chọn lọc PKC  $\alpha/\theta$ " dùng để chỉ chất ức chế protein kinaza C chọn lọc hơn đối với dạng đồng đẳng alpha và/hoặc dạng đồng đẳng theta của PKC nhiều hơn so với các dạng đồng đẳng đã được bộc lộ khác của PKC. Ví dụ, PKC alpha hoặc PKC alpha và theta, hơn các dạng đồng đẳng PCK đã được đặt tên khác ít nhất là khoảng 20 lần (tốt hơn nếu ít nhất là khoảng 100 lần, tốt hơn nữa nếu ít nhất là khoảng 500 lần, tốt nhất là gấp khoảng 1.000 lần hoặc gấp khoảng 2.000 lần).

Điều hòa biệt hóa GSK3 $\beta$  bằng các đồng vị protein kinaza C đã được mô tả bởi Goode, et al trong bài công bố trên J. Biol. Chem., Vol. 267, pp 16878-16882 (1992). Gần đây hơn, điều hòa đôi GSK3 $\alpha/\beta$  bằng đồng vị protein kinaza C alpha và Akt đã được mô tả để thúc đẩy hoạt hóa Integrin  $\alpha_{11b}/\beta_3$  do thrombin và thúc đẩy tiết hạt trong các tiểu cầu bởi Moore, et al trong bài công bố trên J. Biol. Chem., Vol. 288, pp 3918-3928 (2013).

Hợp chất theo sáng chế hữu ích trong điều trị các rối loạn liên quan đến protein kinaza, cụ thể là các rối loạn liên quan đến protein kinaza C alpha, theta (PKC $\alpha/\theta$ ) ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để điều trị bệnh ung thư hoặc sự tăng trưởng khối u liên quan đến PKC $\alpha/\theta$  ở đối tượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong điều trị các rối loạn liên quan đến tự miễn, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các bệnh tự miễn, phản ứng dị ứng và thải ghép mô, ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất để sử dụng trong điều trị các khối u rắn ác tính ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng. Ngoài vai trò tiềm năng trong điều trị ung thư và các bệnh tăng sinh tủy, các hợp chất theo sáng chế có thể hữu ích để kiểm soát sự lan rộng của các tế bào miễn dịch trong các tình trạng bệnh học khác như là các bệnh tự miễn, phản ứng dị ứng và trong các hội chứng thải ghép tạng. Chất ức chế PKC chọn lọc theo sáng chế được hỗ trợ thêm rằng nó sẽ có hiệu quả trong việc điều trị các rối loạn liên quan đến tự miễn được đưa ra bởi tài liệu gần đây rằng sotrastaurin

đại diện nhóm hợp chất mới gồm các chất ức chế miễn dịch tác động hoạt hóa tế bào T sớm (Evenou, et al, "The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics," Vol. 330 pp. 792-801, 2009).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế để điều trị bệnh ung thư, các khối u ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị các khối u rắn ác tính ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư hắc mạc, bao gồm bệnh ung thư hắc mạc mang các đột biến GNAQ hoặc GNA11 ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị bệnh ung thư lympho, bao gồm bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL), ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong phương pháp điều trị các bệnh ung thư kháng ibrutinib ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự sinh trưởng khối u ở đối tượng. PKC là sản phẩm đầu ra từ Tyrosin Kinaza Bruton của các bệnh ung thư lympho tế bào B và các bệnh ung thư về máu và các chất ức chế PCK theo sáng chế được ủng hộ rằng sẽ có hiệu quả trong điều trị các bệnh và các bệnh ung thư kháng ibrutinib. Woyach, et al đã mô tả và xác định một số đột biến cụ thể có thể dẫn đến chứng kháng ibrutinib trong bài báo trên, J. New England Medicine, DOI: 10.1056/NEJMoa1400029, 2014.



Hợp chất theo sáng chế hữu ích trong điều trị các rối loạn liên quan đến protein kinaza, cụ thể là các rối loạn liên quan đến protein kinaza C, (PKC $\alpha$ / $\theta$ ) ở đối tượng là người hoặc động vật được công nhận là cần điều trị bao gồm cho đối tượng này sử dụng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm tăng trưởng khối u liên quan đến rối loạn liên quan đến PKC $\alpha$ / $\theta$  ở đối tượng. Thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" của chất ức chế PKC dùng để chỉ lượng chất ức chế PKC sẽ dẫn đến đáp ứng y học hoặc đáp ứng sinh học ở đối tượng, ví dụ, giảm hoặc ức chế enzym hoặc hoạt động của protein, và/hoặc cải thiện các triệu chứng, giảm nhẹ các tình trạng, làm chậm hoặc trì hoãn tiến trình bệnh, hoặc phòng bệnh, v.v. Theo một phương án không giới hạn, thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" dùng để chỉ lượng chất ức chế PKC, khi cho đối tượng dùng, có hiệu quả để (1) ít nhất là phần nào làm giảm nhẹ, ức chế, phòng và/hoặc cải thiện tình trạng, hoặc rối loạn hoặc bệnh do hoặc liên quan đến hoạt tính của PKC, như là ví dụ, bệnh ung thư lympho tế bào B có quá trình truyền tín hiệu thụ thể tế bào B hoạt động mạn tính (ví dụ, bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa đột biến CD79) hoặc bệnh ung thư hắc mạc mang các đột biến GNAQ hoặc GNA11; và/hoặc có hiệu quả để (2) ít nhất là phần nào làm giảm kích thước (thể tích khối u) hoặc ức chế sự sinh trưởng thêm của các khối u (rắn hoặc lỏng). Theo một phương án không giới hạn khác, thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" dùng để chỉ lượng hợp chất theo sáng chế mà, khi được dùng cho đối tượng, tế bào, hoặc mô, hoặc vật liệu sinh học không thuộc tế bào, hoặc môi trường, có hiệu quả để ít nhất là phần nào làm giảm hoặc ức chế sự sinh trưởng bệnh ung thư lympho tế bào B có quy trình truyền tín hiệu thụ thể tế bào B hoạt động mạn tính (tốt hơn là, bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa mang đột biến CD79) hoặc bệnh ung thư hắc mạc mang các đột biến GNAQ hoặc GNA11.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "đối tượng" dùng để chỉ động vật. Điển hình là động vật này là động vật có vú. Đối tượng cũng dùng để chỉ, ví dụ, các loài linh trưởng (ví dụ, người, nam hoặc nữ), bò, cừu, dê, ngựa, chó, mèo, thỏ, chuột, cá, chim và tương tự. Theo các phương án cụ thể, đối tượng là linh trưởng. Theo các phương án khác, đối tượng này là người. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "ức chế", "sự ức chế" hoặc "quá trình ức chế" dùng để chỉ sự giảm hoặc ngăn chặn tình trạng, triệu chứng, hoặc rối loạn, hoặc bệnh đã biết, hoặc giảm đáng kể trong hoạt động cơ bản của một quá trình sinh học hoặc hoạt động sinh học. Như được sử dụng ở đây,

thuật ngữ "điều trị", "việc điều trị" hoặc "phép điều trị" bệnh hoặc rối loạn bất kỳ, dùng để chỉ (i) sự giảm nhẹ bệnh hoặc rối loạn (nghĩa là, làm chậm hoặc làm ngừng hoặc giảm sự phát triển bệnh hoặc ít nhất một trong số các triệu chứng lâm sàng của nó; (ii) làm dịu hoặc làm thuyên giảm ít nhất một tham số thể chất bao gồm các tham số thể chất có thể không thể nhận thấy rõ bởi bệnh nhân; (iii) để điều biến bệnh hoặc rối loạn, về mặt thể chất, (ví dụ, ổn định hóa triệu chứng có thể nhận rõ), về mặt sinh lý, (ví dụ, ổn định hóa tham số về thể chất), hoặc cả hai; hoặc (iv) ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát hoặc phát triển hoặc diễn tiến của bệnh hoặc rối loạn. Nói chung, thuật ngữ "việc điều trị" hoặc "điều trị" mô tả sự quản lý và chăm sóc bệnh nhân với mục đích chiến đấu chống lại bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn và bao gồm việc sử dụng chất ức chế PKC để ngăn ngừa sự khởi phát các triệu chứng hoặc các biến chứng, giảm nhẹ các triệu chứng hoặc các biến chứng, hoặc tiêu trừ bệnh, tình trạng hoặc rối loạn.

Hợp chất theo sáng chế hữu ích trong các rối loạn liên quan đến PKC, bao gồm các bệnh ung thư được bộc lộ ở đây, ở đối tượng là người hoặc động vật cần được điều trị bao gồm cho đối tượng này. Việc điều trị có thể bao gồm việc dùng một lượng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ngăn cản hoặc giảm sự tăng trưởng khối u ở đối tượng kết hợp với ít nhất một chất bổ sung để điều trị ung thư. Một số chất chống ung thư thích hợp để sử dụng làm các chất điều trị kết hợp được bao gồm để sử dụng trong theo sáng chế. Thực vậy, sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, việc sử dụng nhiều loại chất chống ung thư như là: chất cảm ứng quá trình chết theo chương trình; polynucleotit (ví dụ, các ribozym); các polypeptit (ví dụ, các enzym); dược chất; các chất bất chức sinh học; alkaloit; chất alkyl hóa; chất kháng sinh chống khối u; chất chống chuyển hóa; hormon; hợp chất platin; kháng thể đơn dòng được liên hợp với dược chất chống ung thư, độc tố và/hoặc nuclit phóng xạ; chất biến đổi đáp ứng sinh học (ví dụ, các interferon [ví dụ, IFN-a, v.v] và các interleukin [ví dụ, IL-2, v.v], v.v); chất thuộc liệu pháp miễn dịch đáp ứng; yếu tố tăng trưởng về tạo máu; chất cảm ứng biệt hóa tế bào khối u (ví dụ, axit retinoic tất cả ở dạng trans, v.v); chất phản ứng liệu pháp gen; các chất phản ứng và nucleotit liệu pháp đối nghĩa; các vaccin ngừa khối u; chất ức chế hình thành mạch mới, và tương tự. Vô số các ví dụ khác về các hợp chất hóa trị và các liệu pháp chống ung thư thích hợp để đồng sử dụng với các hợp chất theo sáng chế đã được biết đến bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này.

Theo các phương án được ưu tiên, các tác nhân chống ung thư được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế bao gồm các tác nhân cảm ứng hoặc kích thích quá trình chết theo chương trình. Các tác nhân cảm ứng quá trình chết theo chương trình bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tác nhân phóng xạ (ví dụ, W); các chất ức chế kinaza (ví dụ, chất ức chế kinaza thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì [EGFR], chất ức chế kinaza thụ thể yếu tố tăng trưởng mạch [VGFR], chất ức chế kinaza thụ thể yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi [FGFR], chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biến đổi từ tiểu cầu [PGFR] I, và các chất ức chế kinaza Bcr-Abl như là STI-571, Gleevec, và Glivec)); các phân tử đối nghĩa; các kháng thể [ví dụ, Herceptin và Rituxan]; các chất kháng estrogen [ví dụ, raloxifen và tamoxifen]; các chất kháng androgen [ví dụ, flutamat, bicalutamit, finasterit, aminoglutethamit, ketoconazol, và corticosteroid]; các chất ức chế xyclooxyaza 2 (COX-2) [ví dụ, xelecoxib, meloxicam, NS-398, và các dược chất kháng viêm không phải steroid (NSAID)]; và các dược chất hóa trị ung thư [ví dụ, irinotecan (Camptosar), CPT-11, fludarabin (Fludara), dacarbazin (DTIC), dexametason, mitoxantron, mylotarg, VP-16, xisplatin, 5-FU, doxorubicin, Taxoter hoặc taxol]; các phân tử truyền tín hiệu tế bào; xeromit và các xytokin; và staurosporin, và tương tự.

Theo các khía cạnh khác, sáng chế đề xuất các chế phẩm điều trị chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế kết hợp với chất mang dược dụng, và tùy ý với một hoặc nhiều chất bổ sung để điều trị ung thư, như được sử dụng phổ biến trong liệu pháp trị liệu ung thư.

Thuật ngữ "bệnh ung thư" dùng để chỉ các bệnh ung thư có thể được điều trị cách hữu ích bằng cách ức chế PKC, bao gồm, ví dụ, các bệnh ung thư thể rắn, như là các bệnh ung thư biểu mô (ví dụ, ở phổi, tuyến tụy, tuyến giáp, buồng trứng, bàng quang, vú, tuyến tiền liệt hoặc ruột kết), các bệnh ung thư hắc tố, các rối loạn về tủy (ví dụ, bệnh ung thư hắc mạc, bệnh bạch cầu dòng tủy, bệnh đa u tủy và bệnh tăng sinh nguyên bào tủy hồng cầu), các bệnh u tuyến (ví dụ, bệnh u tuyến đại tràng lông nhung) và các bệnh ung thư mô liên kết (ví dụ, bệnh ung thư mô liên kết ở xương).

"Chất ức chế PKC" được sử dụng ở đây dùng để chỉ hợp chất thể hiện  $IC_{50}$  liên quan đến hoạt động  $PKC\alpha/\theta$  ít hơn khoảng 100nM như được đo trong các thử nghiệm được mô tả dưới đây. Theo một số phương án, chất ức chế PKC có  $IC_{50}$  liên quan đến hoạt động  $PKC\alpha/\theta$  ít hơn khoảng 50nM như được đo trong các thử nghiệm được mô tả

dưới đây. Vẫn theo các phương án khác, chất ức chế PKC có  $IC_{50}$  liên quan đến hoạt động  $PKC\alpha/\theta$  ít hơn khoảng 10nM như được đo trong các thử nghiệm được mô tả dưới đây.

Hợp chất theo sáng chế hữu ích trong ức chế ít nhất là một dạng đồng phân của PKC ở đối tượng trong việc điều trị tình trạng sinh học do dạng đồng phân của PKC, bao gồm quá trình truyền tín hiệu dạng đồng đẳng của PKC, ở đối tượng. Việc ức chế hoặc điều trị này bao gồm bước sử dụng chế phẩm điều trị chứa ít nhất một hợp chất có công thức theo sáng chế có hiệu quả để ức chế dạng đồng phân của PKC ( $PKC\alpha$ ,  $PKC\theta$ ) hoặc quy trình truyền tín hiệu dạng đồng đẳng của PKC ở đối tượng. Chế phẩm điều trị này là hữu ích để điều trị cho các bệnh nhân có nhu cầu với các chất ức chế này (ví dụ, các bệnh nhân mắc bệnh ung thư do quy trình truyền tín hiệu PKC bất thường).

Hợp chất theo sáng chế ức chế ít nhất một serin/threonon kinaza được chọn từ  $PKC\alpha$  hoặc  $PKC\theta$  ở đối tượng, hoặc điều trị tình trạng sinh học do ít nhất một trong  $PKC\alpha$  hoặc  $PKC\theta$  gây ra. Việc ức chế hoặc điều trị này bao gồm bước sử dụng chế phẩm điều trị chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ức chế kinaza ở đối tượng. Các hợp chất điều trị này hữu ích để điều trị cho các bệnh nhân có nhu cầu đối với các chất ức chế này (ví dụ, các bệnh nhân mắc bệnh ung thư do quy trình truyền tín hiệu PKC bất thường).

Hợp chất theo sáng chế hữu ích để ức chế ít nhất một serin/threonon kinaza được chọn từ  $PKC\alpha$  hoặc  $PKC\theta$  ở đối tượng, hoặc điều trị tình trạng sinh học do ít nhất một trong  $PKC\alpha$  hoặc  $PKC\theta$  gây ra, bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng ít nhất một hợp chất theo sáng chế với lượng có hiệu quả để ức chế kinaza ở đối tượng. Các hợp chất điều trị này hữu ích để điều trị cho các bệnh nhân cần chất ức chế này (ví dụ, các bệnh nhân mắc ung thư do quá trình truyền tín hiệu thụ thể serin/threonin kinaza bất thường).

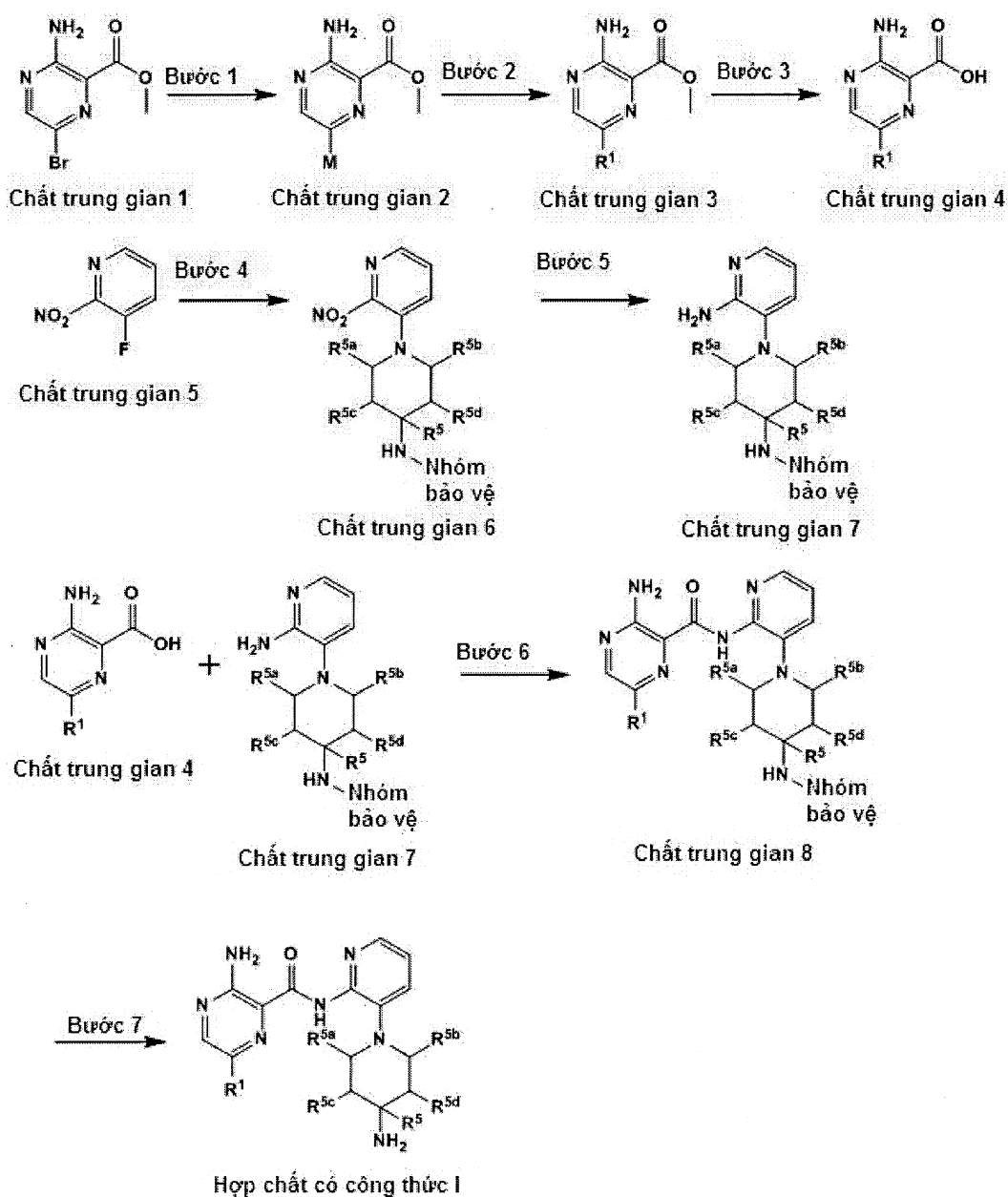
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến các quy trình điều chế các hợp chất theo sáng chế, và đến các chất trung gian trong quá trình tổng hợp hữu ích trong các quy trình này, như được mô tả chi tiết dưới đây.

#### Các phương pháp tổng hợp

Có thể thu được các hợp chất theo sáng chế thông qua các quy trình đã được biết đến bởi người có hiểu biết trong lĩnh vực này (các phương pháp 1-6). Ví dụ, như được

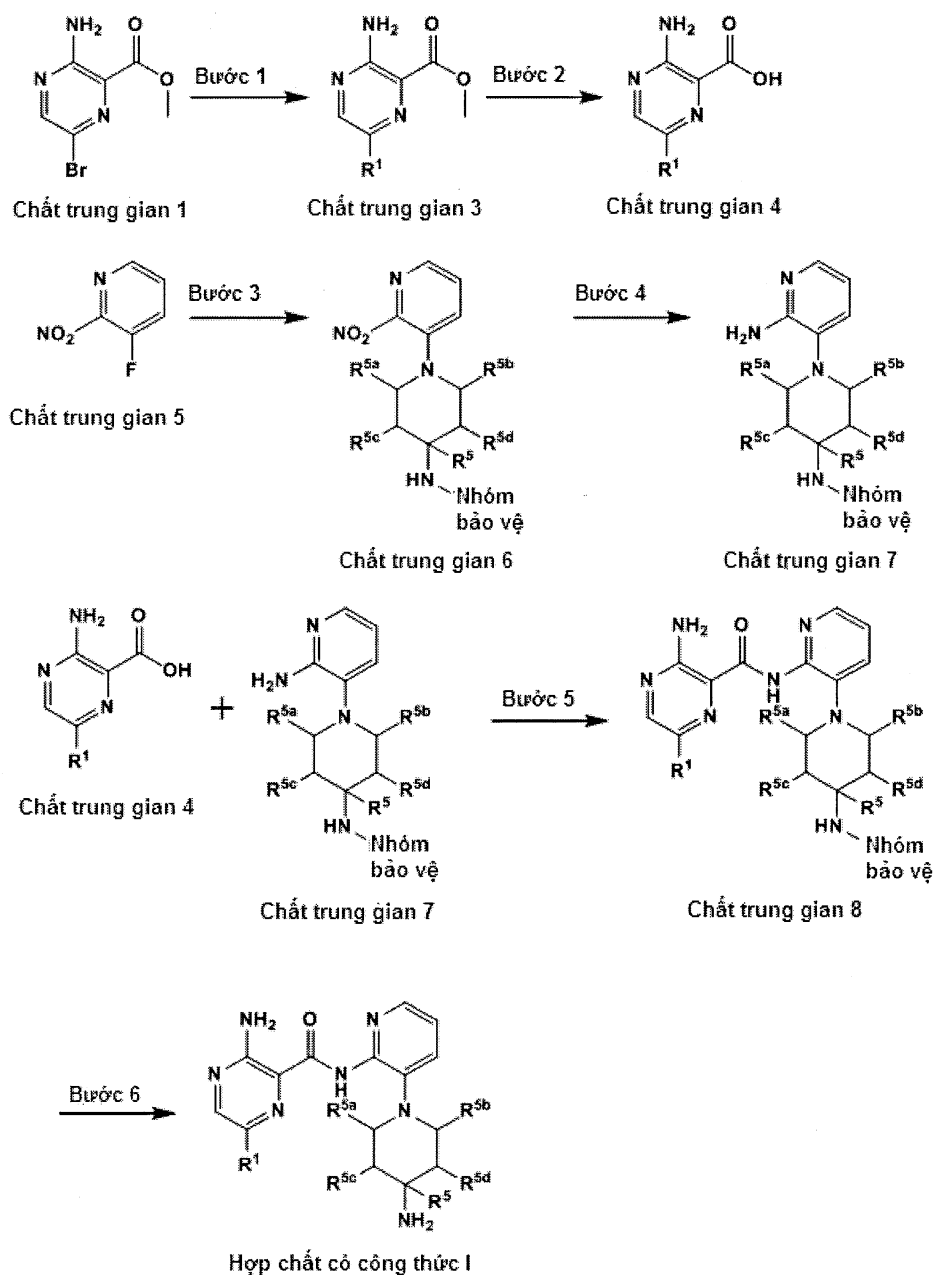
biểu thị trong sơ đồ 1 (phương pháp 1), axit 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylic có thể được điều chế từ methyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylat tương ứng của nó bắt đầu từ methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat. Hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ (ví dụ, tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate), sau đó được điều chế bắt đầu từ 3-fluoro-2-nitropyridin. Sau đó cho methyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylat phản ứng với hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ, sau đó, loại bỏ bảo vệ để tạo ra 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit.

Sơ đồ 1



Ngoài ra, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit, có thể được điều chế theo một quy trình tổng hợp ít hơn một bước, như được mô tả trong phương pháp 2 (sơ đồ 2). Ví dụ, như được biểu thị trong sơ đồ 2, axit 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylic có thể được điều chế từ metyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylat tương ứng của nó bắt đầu từ metyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat. Sau đó, điều chế hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ (ví dụ, tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate), bắt đầu từ 3-fluoro-2-nitropyridin. Sau đó, cho metyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylat phản ứng với hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ, sau đó, loại bỏ bảo vệ để tạo ra 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit.

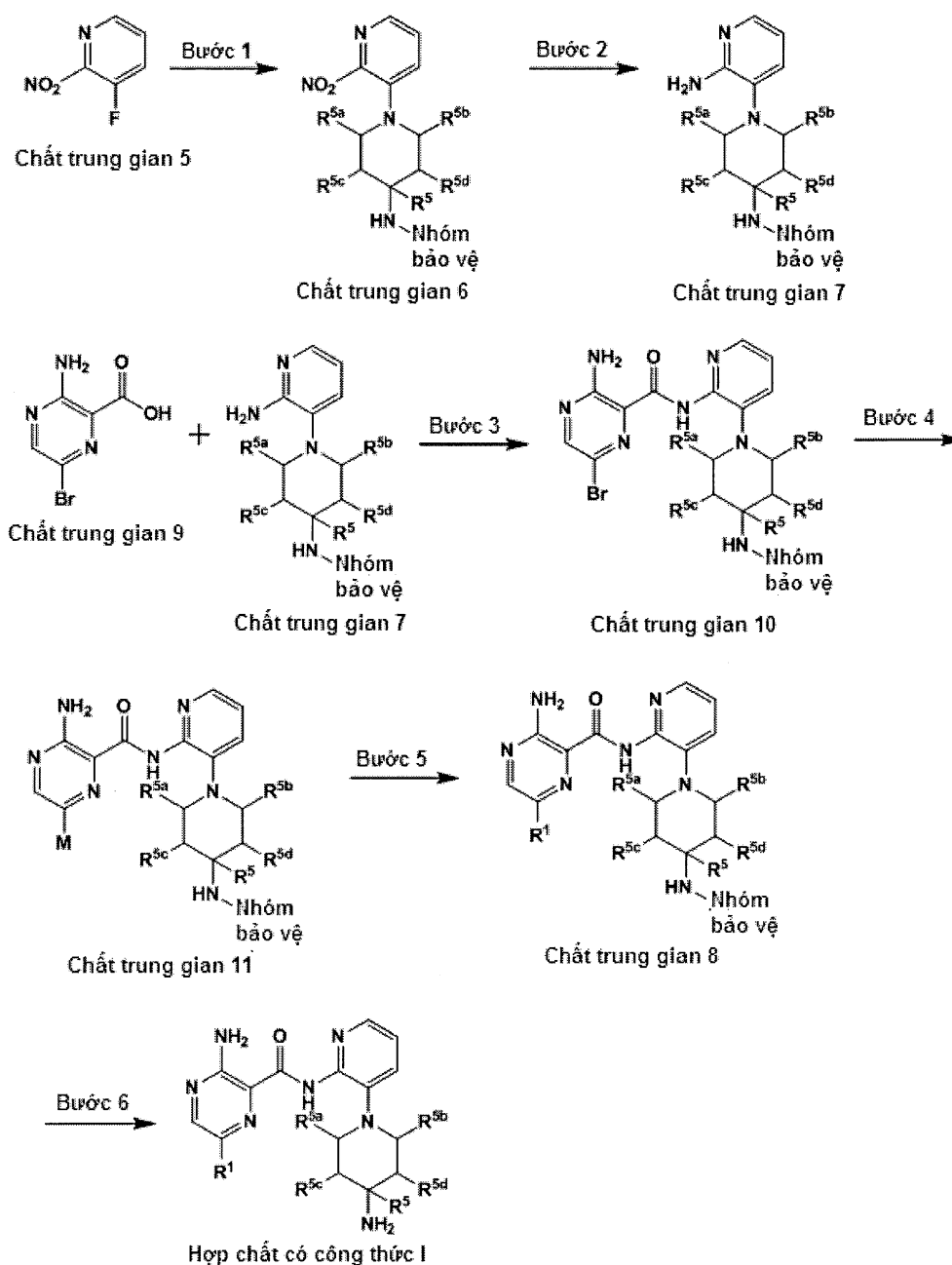
## Sơ đồ 2



Theo một phương thức khác, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit có thể thu được như được mô tả trong phương pháp 3 (sơ đồ 3). Ví dụ, bắt đầu từ 3-flo-2-nitropyridin, điều chế hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ. Sau đó cho hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ phản ứng với axit 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylic hoặc axit được bảo vệ (ví dụ, metyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat) để tạo ra 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-bromo-pyrazin-2-carboxamit. Chuyển hóa 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-bromo-

pyrazin-2-carboxamit theo hai bước thành 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit.

Sơ đồ 3

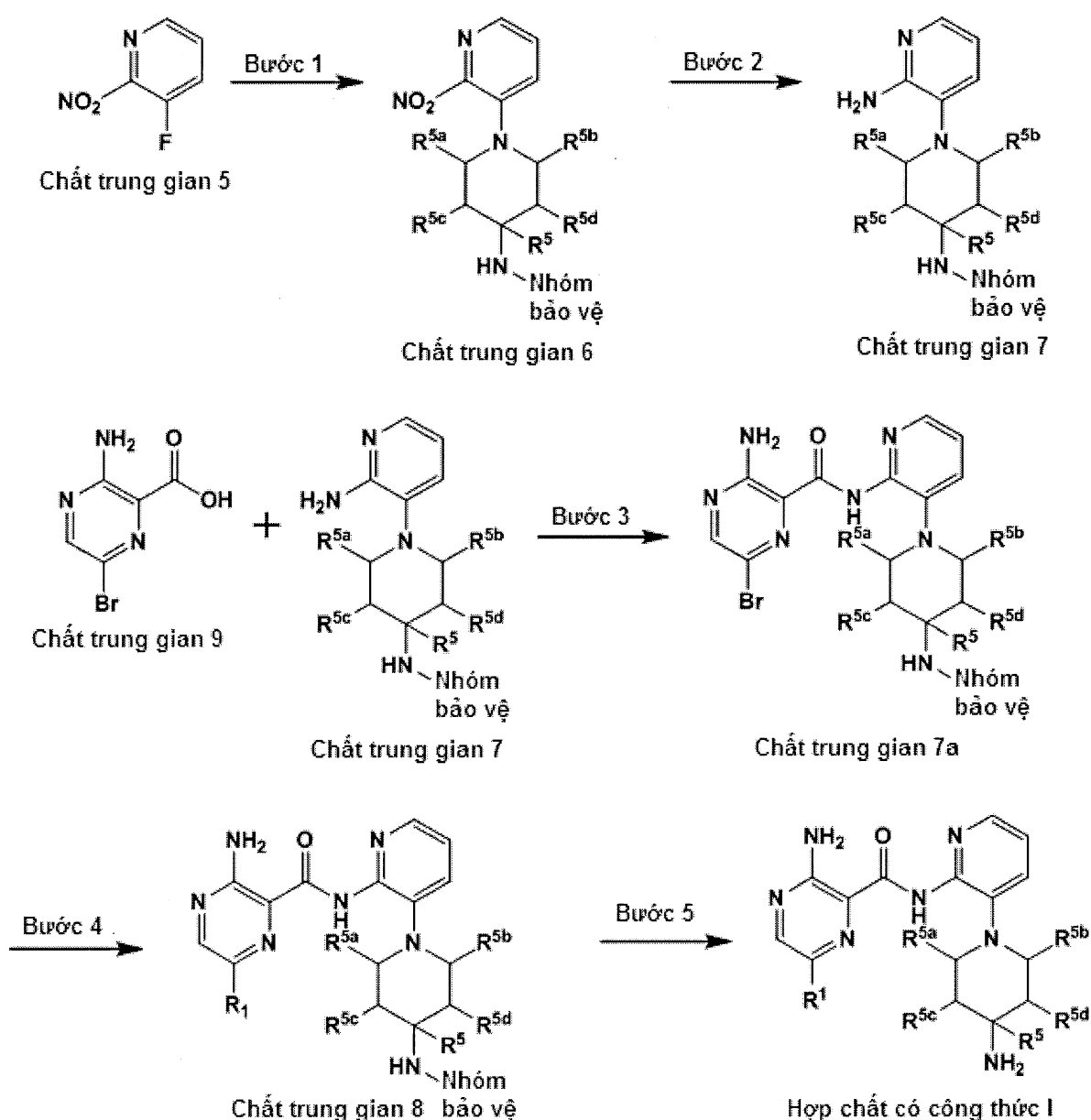


Theo một phương thức khác, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit có các công thức (I), (Ia), (II), hoặc (III) có thể thu được như được mô tả trong phương pháp 4 (sơ đồ 4). Ví dụ, bắt đầu từ 3-flo-2-nitropyridin, điều chế hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ. Sau đó, cho hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl) được bảo vệ này phản ứng với axit 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylic hoặc axit được bảo vệ (ví dụ, methyl 3-amino-6-



bromopyrazin-2-carboxylat) để tạo ra 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-bromo-pyrazin-2-carboxamit. Chuyển hóa 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-bromopyrazin-2-carboxamit theo ít bước hơn thành 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit có các công thức (I), (Ia), (II) hoặc (III).

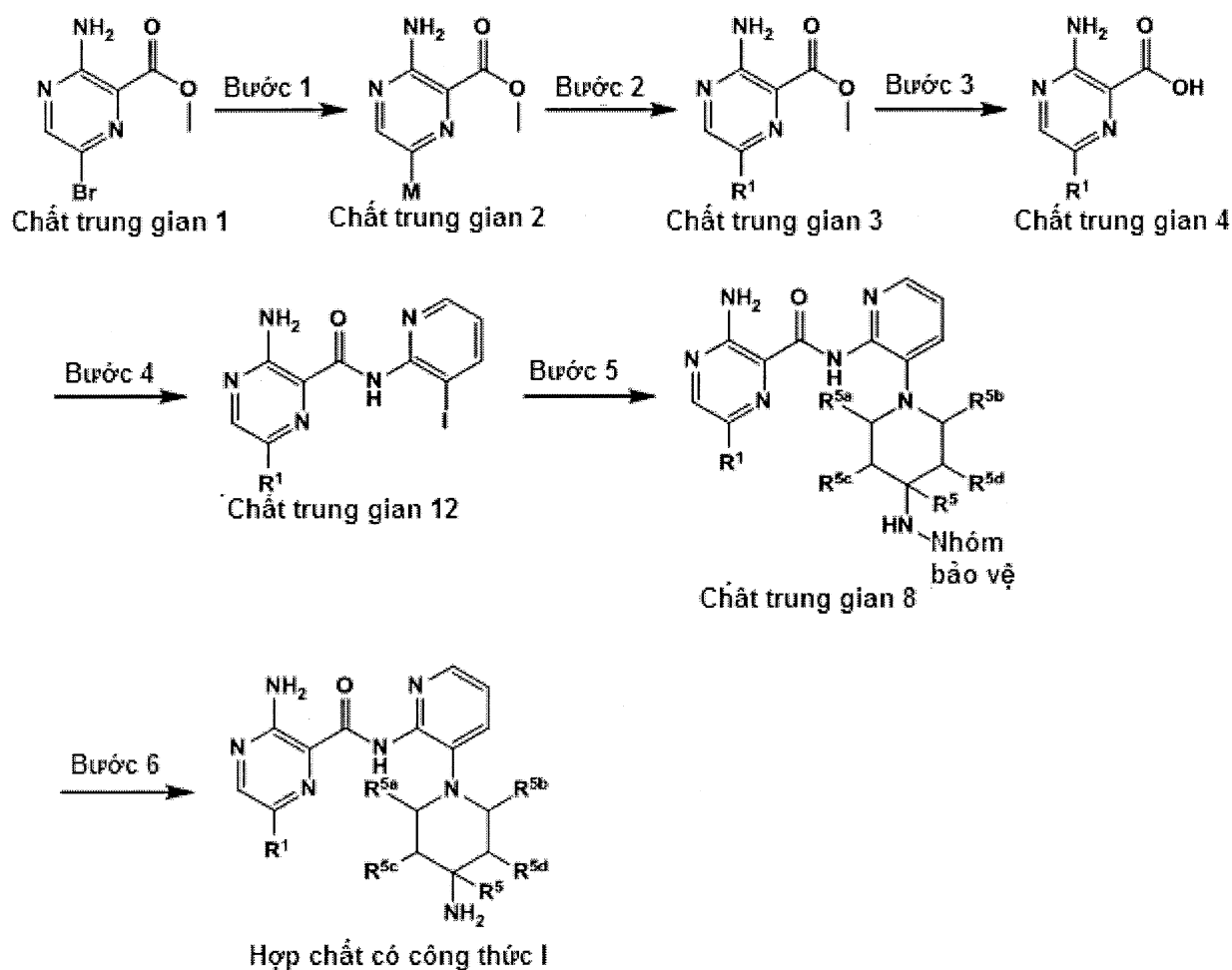
Sơ đồ 4



Theo một phương thức khác, 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit có thể thu được như được mô tả trong phương pháp 5 (sơ đồ 5). Ví dụ, có thể điều chế axit 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylic từ methyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-

carboxylat tương ứng của nó bắt đầu từ methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat. Sau đó cho axit 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylic phản ứng với 2-amino-3-iodo-pyridin để tạo ra chất trung gian 12, sau đó, được chuyển hóa thành hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl), sau đó, loại bỏ bảo vệ để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2-carboxamit.

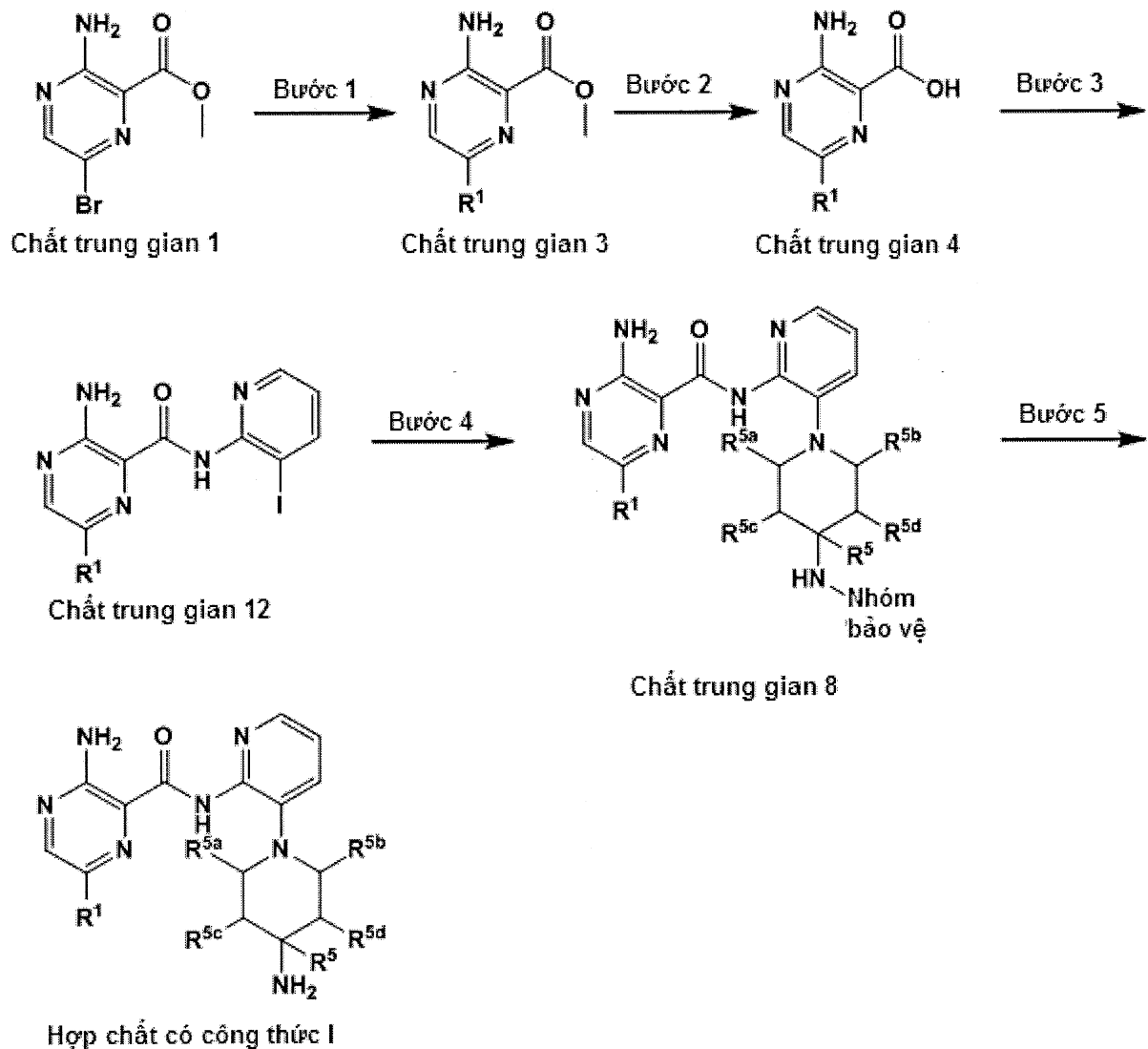
Sơ đồ 5



Theo một phương thức khác, có thể điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-được thế-2- theo quy trình tổng hợp ít hơn một bước như được mô tả trong phương pháp 6 (sơ đồ 6). Ví dụ, axit 3-amino-6-halo-pyrazin-được thế-2-carboxylic có thể được điều chế từ methyl 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylat tương ứng của nó bắt đầu từ methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat theo quy trình ít hơn một bước. Sau đó, cho axit 3-amino-6-pyrazin-được thế-2-carboxylic phản ứng với 2-amino-3-iodo-pyridin để tạo ra chất trung gian 12, sau đó, được chuyển hóa thành hợp chất (1-(2-aminopyridin-3-

yl)piperidin-4-yl), sau đó, loại bỏ bảo vệ để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-pyrazin-độc thế-2-carboxamit.

### Sơ đồ 6



Các hợp chất theo sáng chế hữu ích *in vitro* hoặc *in vivo* trong ức chế sự sinh trưởng của các tế bào ung thư. Các hợp chất này có thể được sử dụng một mình hoặc trong các chế phẩm cùng với chất mang dược dụng hoặc tá dược dược dụng. Các chất mang dược dụng hoặc tá dược dược dụng thích hợp bao gồm, ví dụ, các chất xử lý và các chất tăng cường và các chất điều chỉnh phân phối dược chất, như là, ví dụ, canxi phosphat, magie stearat, bột đá talc, monosacarit, disacarit, tinh bột, gelatin, xenluloza, methyl xenluloza, natri carboxymetyl xenluloza, dextroza, hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, polyvinylpyrrolidinon, các chất sáp có nhiệt độ nóng chảy thấp, nhựa trao đổi ion, và tương tự, cũng như các tổ hợp chứa bất kỳ hai trong số chúng hoặc nhiều

hơn. Các tá dược được dụng thích hợp khác được mô tả trong "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Pub. Co., New Jersey (1991).

Các lượng có hiệu quả của các hợp chất theo sáng chế nói chung là bao gồm lượng bất kỳ đủ để ức chế có thể phát hiện được hoạt động của dạng đồng đẳng của PKC bằng thử nghiệm bất kỳ trong số các thử nghiệm nêu trên, bằng các thử nghiệm về hoạt động PKC khác đã biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc bằng cách phát hiện sự ức chế hoặc làm thuyên giảm các triệu chứng của bệnh ung thư.

Lượng thành phần hoạt tính có thể được kết hợp với các nguyên liệu chất mang để tạo ra dạng liều đơn sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị và chế độ sử dụng cụ thể. Tuy nhiên, sẽ được hiểu rằng, mức độ liều cụ thể đối với bệnh nhân cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt động của hợp chất cụ thể được sử dụng, tuổi, trọng lượng cơ thể, sức khỏe tổng quát, giới tính, chế độ ăn, thời gian sử dụng, đường dùng, tốc độ bài tiết, sự tổ hợp dược chất, và mức độ nghiêm trọng của bệnh cụ thể sắp được trị liệu. Lượng có hiệu quả điều trị đối với một tình trạng đã biết có thể được xác định dễ dàng bằng thí nghiệm thông thường và nằm trong các kỹ năng và sự đánh giá của bác sĩ lâm sàng thông thường.

Để đạt được các mục đích của sáng chế, liều có hiệu quả điều trị nói chung sẽ là liều hằng ngày tổng số được sử dụng cho vật chủ theo liều đơn hoặc các liều phân chia có thể là ở các lượng, ví dụ, lượng hằng ngày từ 0,001mg/kg trọng lượng cơ thể đến 1000mg/kg trọng lượng cơ thể và được ưu tiên hơn là lượng hằng ngày từ 1,0mg/kg trọng lượng cơ thể đến 30mg/kg trọng lượng cơ thể. Các chế phẩm đơn vị liều có thể chứa các lượng này ở dạng các ước số của chúng để tạo ra liều hằng ngày.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng qua đường miệng, qua đường ngoài tiêu hóa, dưới lưỡi, bằng sol khí hóa hoặc dụng cụ hít-xịt, qua đường trực tràng, hoặc sử dụng tại chỗ theo các chế phẩm đơn vị liều chứa các chất mang dược dụng, các tá dược, và các chất dẫn thuốc không gây độc thông thường như mong muốn. Sử dụng tại chỗ cũng có thể bao gồm việc sử dụng qua da như là các miếng dán qua da hoặc các thiết bị điện chuyển ion. Thuật ngữ ngoài đường tiêu hóa như được sử dụng ở đây bao gồm tiêm dưới da, các kỹ thuật truyền hoặc tiêm trong tĩnh mạch, trong cơ, trong xương ức.

Các dạng bào chế dùng cho tiêm, ví dụ, dạng huyền phù chứa dầu hoặc dạng chứa nước dùng cho tiêm vô trùng có thể được bào chế theo lĩnh vực bào chế đã biết bằng cách sử dụng chất phân tán hoặc chất thấm ướt thích hợp và các chất tạo huyền phù. Dạng bào chế dùng cho tiêm tinh khiết cũng có thể là huyền phù hoặc dung dịch dùng cho tiêm tinh khiết trong dung môi hoặc chất pha loãng không độc, khả dụng với đường ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, như là dung dịch trong 1,3-propanediol. Trong số các dung môi và chất dẫn thuốc khả dụng có thể được sử dụng là nước, dung dịch Ringer, và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, các dầu cố định, tiệt trùng được sử dụng thông thường làm môi trường huyền phù hoặc dung môi. Với mục đích này, dầu cố định ngọt (bland fixed oil) bất kỳ có thể được sử dụng bao gồm các mono-glycerit hoặc di-glycerit. Ngoài ra, các axit béo như là axit oleic cũng được sử dụng trong chế phẩm dùng cho tiêm.

Các dạng thuốc đạn để sử dụng qua đường trực tràng của dược chất có thể được bào chế bằng cách trộn dược chất này với tá dược không gây kích thích thích hợp như là bơ cacao và polyetylen glycol, ở trạng thái rắn ở nhiệt độ thông thường nhưng ở trạng thái lỏng ở nhiệt độ của trực tràng và do đó, sẽ tan chảy trong trực tràng và giải phóng dược chất.

Các dạng liều rắn để sử dụng qua đường miệng có thể bao gồm viên nang, viên nén dài, viên nén tròn, dạng bột, và dạng hạt. Trong các dạng liều rắn này, hợp chất hoạt tính có thể được trộn với ít nhất một chất pha loãng trợ như là sucroza, lactoza hoặc tinh bột. Các dạng liều này cũng có thể chứa, như là trong thực tế thông thường, các chất bổ sung khác ngoài chất pha loãng trợ, ví dụ, các chất trượt như là magie stearat. Trong trường hợp viên nang, viên nén dài, và viên nén tròn, các dạng liều này cũng có thể chứa các chất đệm. Các viên nén dài và viên nén trong ngoài ra có thể được bào chế bằng các chất bao tan trong ruột.

Các dạng liều lỏng để dùng qua đường miệng có thể bao gồm nhũ tương, dung dịch, huyền phù, si-rô, và còn ngọt được dùng chứa chất pha loãng trợ được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực này, như là nước. Các chế phẩm này còn có thể chứa chất trợ, như là các chất thấm ướt, các chất nhũ hóa và các chất tạo huyền phù, các xyclodextrin, và chất tạo ngọt, chất tạo hương vị, và chất tạo mùi.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng các liposom. Như đã được biết đến trong lĩnh vực này, nói chung, các liposom được biến đổi từ các

phospholipit hoặc các chất lipit khác. Các liposom được tạo ra bởi các tinh thể dung dịch một hoặc đa lớp mỏng được hydrat hóa được phân tán trong môi trường chứa nước. Lipit bất kỳ có khả năng chuyển hóa, sinh lý khả dụng, không gây độc có khả năng tạo ra các liposom có thể được sử dụng. Các chế phẩm theo sáng chế ở dạng liposom có thể chứa, ngoài hợp chất theo sáng chế, các chất làm ổn định, chất bảo quản, tá dược, và tương tự. Các lipit được ưu tiên là các phospholipit và các phosphatidyl cholin (lexithin), tự nhiên và tổng hợp. Các phương pháp tạo ra các liposom đã được biết đến trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volume XIV, Academic Press, New York, N.W., p. 33 *et seq.* (1976).

Ngoài trường hợp các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng như chất có hoạt tính được duy nhất, chúng còn có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều chất khác được sử dụng trong điều trị ung thư. Các hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích khi kết hợp với các chất chống ung thư và các chất điều trị đã biết, và các tổ hợp của các hợp chất theo sáng chế với các chất hóa trị hoặc các chất chống ung thư khác nằm trong phạm vi của sáng chế. Các ví dụ về các chất này có thể được tìm thấy trong *Cancer Principles and Practice of Oncology*, V. T. Devita và S. Hellman (biên tập viên), bản 6<sup>th</sup> (15/02/2001), các nhà xuất bản Lippincott Williams & Wilkins. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có khả năng nhận thức được rằng các tổ hợp của các chất này sẽ hữu ích dựa trên các đặc điểm cụ thể của các dược chất và bệnh ung thư có liên quan. Các chất chống ung thư này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất sau: các chất điều biến thụ thể estrogen, các chất điều biến thụ thể androgen, các chất điều biến thụ thể retinoid, các chất gây độc tế bào/chất làm dừng tăng trưởng tế bào, các chất chống tăng sinh, các chất ức chế prenyl-protein transferaza, các chất ức chế HMG-CoA reductaza và các chất ức chế hình thành mạch khác, các chất ức chế tăng sinh tế bào và truyền tín hiệu sống sót tế bào, các chất cảm ứng quá trình chết tế bào theo chương trình và các chất cản trở các điểm kiểm tra chu kỳ tế bào. Các hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích khi được đồng sử dụng với liệu pháp xạ trị.

Do đó, theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế cũng được sử dụng kết hợp với các chất chống ung thư đã biết bao gồm, ví dụ, các chất điều biến thụ thể estrogen, các chất điều biến thụ thể androgen, các chất điều biến thụ thể retinoid, các chất gây độc tế bào, các chất chống tăng sinh, các chất ức chế prenyl-

protein transferaza, các chất ức chế HMG-CoA reductaza, các chất ức chế HIV proteaza, các chất ức chế phiên mã ngược, và các chất ức chế hình thành mạch khác.

Các chất điều biến thụ thể estrogen là các hợp chất cản trở hoặc ức chế sự gắn kết của estrogen với thụ thể, bất kể là theo cơ chế nào. Các ví dụ về các chất điều biến thụ thể estrogen bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tamoxifen, raloxifen, idoxifen, LY353381, LY117081, toremifen, fulvestrant, 4-[7-(2,2-dimethyl-1-oxopropoxy-4-methyl-2-[4-[2-(1-piperidinyl)etoxy]phenyl]-2H-1-benzopyran-3-yl]-phenyl-2,2-dimethylpropanoat, 4,4'-dihydroxybenzophenon-2,4-dinitrophenyl-hydrazon, và SH646.

Các chất điều biến thụ thể androgen là các hợp chất cản trở hoặc ức chế sự gắn kết của các androgen với thụ thể của androgen. Ví dụ đại diện cho các chất điều biến thụ thể androgen bao gồm finasteride và các chất ức chế 5 $\alpha$ -reductaza khác, nilutamit, flutamit, bicalutamit, liarozol, và abirateron axetat. Các chất điều biến thụ thể retinoid là các hợp chất cản trở hoặc ức chế sự gắn kết của các retinoid với thụ thể của retinoid. Các ví dụ về các chất điều biến thụ thể retinoid bao gồm bexaroten, tretinoin, axit 13-cis-retinoic, axit 9-cis-retinoic,  $\alpha$ -diflometylornithin, LX23-7553, trans-N-(4'-hydroxyphenyl) retinamit, và N4-carboxyphenyl retinamit.

Các chất gây độc tế bào và/hoặc các chất làm ngừng tăng trưởng tế bào là các hợp chất gây ra sự chết tế bào hoặc ức chế tăng sinh tế bào chủ yếu là bằng cách cản trở trực tiếp chức năng của tế bào hoặc ức chế hoặc cản trở nguyên phân tế bào, bao gồm các chất alkyl hóa, các yếu tố hoại tử khối u, chất xen giữa, các hợp chất có khả năng hoạt hóa hypoxia, các chất ức chế vi ống/các chất ổn định vi ống, các chất ức chế kinesin phân bào, các chất ức chế kinaza có liên quan đến diễn tiến phân bào, các chất chống chuyển hóa; các chất biến đổi đáp ứng sinh học; các chất điều trị có bản chất hormon/các chất điều trị chống hormon, các yếu tố tăng trưởng tạo máu, các chất điều trị nhắm đích kháng thể đơn dòng, các chất ức chế topoisomeraza, các chất ức chế proteasom và các chất ức chế ubiquitin ligaza. Các ví dụ về các chất gây độc tế bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sertenef, cachectin, ifosfamit, tasonermin, lonidamin, carboplatin, altretamin, prednimustin, dibromodulxitol, ranimustin, fotemustin, nedaplatin, oxaliplatin, temozolomit, heptaplatin, estramustin, improsulfan tosilat, trofosfamit, nimustin, dibrospidium clorua, pumitepa, lobaplatin, satraplatin, profiromyxin, cisplatin, irofulven, dexifosfamit, cis-amindiclo(2-metyl-pyridin)platin, benzyguanin, glufosfamit, GPX100, (trans, trans, trans)-bis-mu-(hexan-1,6-diamin)-

mu-[diamin-platin(II)]bis[diamin(clo)platin (II)]tetraclorea, diarizidinylspermin, arsen trioxit, 1-(11-dodexylamino-10-hydroxyundexyl)-3,7-dimetylxantin, zorubixin, idarubixin, daunorubixin, bisantren, mitoxantron, pirarubixin, pinafide, valrubixin, amrubixin, antineoplaston, 3'-deamino-3'-morpholino-13-deoxo-10-hydroxycarmino-myxin, annamyxin, galarubixin, elinafide, MEN10755, và 4-demetoxy-3-deamino-3-aziridiny-4-metylsulphonyl-daunorubixin (xem WO 00/50032). Ví dụ đại diện cho hợp chất có khả năng hoạt hóa hypoxia là tirapazamin. Các chất ức chế proteasom bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lactaxystin và bortezomib. Các ví dụ về các chất ức chế vi ống/các chất ổn định vi ống bao gồm paclitaxel, vindesin sulfat, 3',4'-didehydro-4'-deoxy-8'-norvincal leukoblastin, docetaxol, rhizoxin, dolastatin, mivobulin isethionat, auristatin, xemadotin, RPR109881, BMS184476, vinflunin, cryptophyxin, 2,3,4,5,6-pentafluor-N-(3-fluor-4-metoxypheyl) benzen sulfonamid, anhydrovinblastin, N,N-dimetyl-L-valyl-L-valyl-N-metyl-L-valyl-L-prolyl-L-prolin-t-butylamid, TDX258, các epothilon (xem ví dụ Patent Mỹ số 6,284,781 và 6,288,237) và BMS188797. Ví dụ đại diện cho các chất ức chế topoisomeraza bao gồm topotecan, hycaptamin, irinotecan, rubitecan, 6-etoxypropionyl-3',4'-O-exo-benzyliden-chartreusin, 9-metoxi-N,N-dimetyl-5-nitropyrazolo[3,4,5-kl]acridin-2-(6H) propanamin, 1-amino-9-etyl-5-fluor-2,3-dihydro-9-hydroxy-4-metyl-1H,12H-benzo[de]pyrano[3',4':b,7]-indolizino[1,2b]quinolin-10,13(9H,15H)dion, lurtotecan, 7-[2-(N-isopropylamino)etyl]-(20S)camptothecin, BNP1350, BNPI1100, BN80915, BN80942, etoposide phosphat, teniposide, sobuzoxan, 2'-dimetylamino-2'-deoxy-etoposide, GL331, N-[2-(dimetylamino)etyl]-9-hydroxy-5,6-dimetyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazol-1-carboxamid, asulacrin, (5a, 5aB, 8aa, 9b)-9-[2-[N-[2-(dimetylamino)etyl]-N-metyl-amino]etyl]-5-[4-hydroxy-3,5-dimetoxypheyl]-5,5a,6,8,8a,9-hexahydrofuro-(3',4':6,7)naphto(2,3-d)-1,3-dioxol-6-on, 2,3-(metylendioxy)-5-metyl-7-hydroxy-8-metoxibenzo[c]-phenanthridini, 6,9-bis [(2-aminoetyl)amino]benzo[g]isoguinolin-5,10-dion, 5-(3-aminopropylamino)-7,10-dihydroxy-2-(2-hydroxyetylaminometyl)-6H-pyrazolo[4,5,1'-de]acridin-6-on, N-[1-[2(dietylamino)etylaminometyl]-7-metoxi-9-oxo-9H-thioxanthen-4-ylmetyl]formamid, N-(2-(dimetylamino)etyl)acridin-4-carboxamid, 6-[[2-(dimetylamino)etyl]amino]-3-hydroxy-7H-indeno[2,1-c]quinolin-7-on, và dimesna. Các ví dụ về các chất ức chế kinesin phân bào, như là kinesin phân bào của người KSP, được mô tả trong các công bố đơn sáng chế quốc tế WO 01/30768 và WO



01/98278, WO 03/050,064 (19/06/2003), WO 03/050,122 (19/06/2003), WO 03/049,527 (19/06/2003), WO 03/049,679 (19/06/2003), WO 03/049,678 (19/06/2003) và WO 03/39460 (15/05/2003) và các đơn PCT đang theo đuổi số US03/06403 (nộp ngày 04/03/2003), US03/15861 (nộp ngày 19/05/2003), US03/15810 (nộp ngày 19/05/2003), US03/18482 (nộp ngày 12/06/2003) và US03/18694 (nộp ngày 12/06/2003). Theo một phương án, các chất ức chế kinesin phân bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các chất ức chế KSP, các chất ức chế MKLP1, các chất ức chế CENP-E, các chất ức chế MCAK, các chất ức chế Kif14, các chất ức chế Mphosph1 và các chất ức chế Rab6-KIFL.

Các chất ức chế các kinaza có liên quan đến quá trình phân bào bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất ức chế aurora kinaza, các chất ức chế các kinaza tương tự Polo (PLK) (ví dụ, các chất ức chế PLK-1), các chất ức chế bub-1 và các chất ức chế bub-R<sup>1</sup>. Các chất chống tăng sinh bao gồm các oligonucleotit ADN và oligonucleotit ARN đối nghĩa như là G3139, ODN698, RVASKRAS, GEM231, và INX3001, và các chất chống chuyển hóa như là enocitabin, carmofur, tegafur, pentostatin, doxifluridin, trimetrexat, fludarabin, capecitabin, galoxitabin, xytarabin ocfosfat, fosteabin natri hydrat, raltitrexed, paltitrexid, emitefur, tiazofurin, dexitabin, nolatrexed, pemetrexed, nelzarabin, 2'-deoxy-2'-metylidencytidin, 2'-flometylen-2'-deoxycytidin, N-[5-(2,3-dihydro-benzofuryl)sulfonyl]-N'-(3,4-diclophenyl)ure, N6-[4-deoxy-4-[N2-[2(E),4(E)-tetradecadienoyl]glycylamino]-L-glyxero-B-L-manno-heptopyranosyl]adenin, aplidin, ecteinascidin, troxacitabin, axit 4-[2-amino-4-oxo4,6,7,8-tetrahydro-3H-pyrimidino[5,4-b][1,4]thiazin-6-yl-(S)-etyl]-2,5-thienoyl-L-glutamic, aminopterin, 5-flouraxil, alanosin, este của axit 11-axetyl-8-(carbamoxyloxymetyl)-4-formyl-6-metoxyl-14-oxa-1,1-diazatetracyclo(7,4,1.0.0)-tetradeca-2,4,6-trien-9-yl axetic, swainsonin, lometrexol, dexrazoxan, methioninaza, 2'-xyano-2'-deoxy-N4-palmitoyl-1-B-D-arabino furanosyl xytosin và 3-aminopyridin-2-carboxaldehyt thiosemicarbazon. Các ví dụ về các chất điều trị nhắm đích kháng thể đơn dòng bao gồm các chất điều trị nhắm đích kháng thể đơn dòng có các chất gây độc tế bào hoặc các đồng vị phóng xạ được gắn với tế bào ung thư đặc hiệu hoặc kháng thể đơn dòng đặc hiệu tế bào đích. Các ví dụ bao gồm, ví dụ, Bexxar. Các chất ức chế HMG-CoA reductaza là các chất ức chế 3-hydroxy-3-metylglutaryl-CoA reductaza. Các hợp chất có hoạt tính ức chế đối với HMG-CoA reductaza có thể được nhận diện dễ dàng bằng

cách sử dụng các thử nghiệm đã được biết rõ trong lĩnh vực này như là các thử nghiệm được mô tả hoặc được viện dẫn trong đơn sáng chế Mỹ số 4,231,938 và WO 84/02131. Các ví dụ về các chất ức chế HMG-CoA reductaza có thể được sử dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lovastatin (MEVACOR®; xem các patent Mỹ số 4,231,938, 4,294,926 và 4,319,039), simvastatin (ZOCOR®; xem các patent Mỹ số 4,444,784, 4,820,850 và 4,916,239), pravastatin (PRAVACHOL®; xem các patent Mỹ số 4,346,227, 4,537,859, 4,410,629, 5,030,447 và 5,180,589), fluvastatin (LESCOL®; xem các patent Mỹ số 5,354,772, 4,911,165, 4,929,437, 5,189,164, 5,118,853, 5,290,946 và 5,356,896) và atorvastatin (LIPITOR®; xem các patent Mỹ số 5,273,995, 4,681,893, 5,489,691 và 5,342,952). Các công thức cấu tạo của các chất ức chế HMG-CoA reductaza này và các chất ức chế HMG-CoA reductaza bổ sung có thể được sử dụng trong các phương pháp theo sáng chế đã được mô tả tại trang 87 của M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", *Chemistry & Industry*, các trang 85-89 (5 Feb. 1996) và Patent Mỹ số 4,782,084 và 4,885,314. Theo một phương án, chất ức chế HMG-CoA reductaza này được chọn từ lovastatin và simvastatin.

Các chất ức chế prenyl-protein transferaza là các hợp chất ức chế bất kỳ một hoặc một tổ hợp của các enzym prenyl-protein transferaza, bao gồm farnesyl-protein transferaza (FPTaza), geranylgeranyl-protein transferaza týp I (GGPTaza-I), và geranylgeranyl-protein transferaza týp-II (GGPTaza-II, còn được gọi là Rab GGPTaza). Các ví dụ về các hợp chất ức chế prenyl-protein transferaza bao gồm (±)-6-[amino(4-clophenyl)(1-metyl-1H-imidazol-5-yl)metyl]-4-(3-clophenyl)-1-metyl-2(1H)quinolinon, (-)-6-[amino(4-clophenyl)(1-metyl-1H-imidazol-5-yl)metyl]-4-(3-clophenyl)-1-metyl-2(1H)-quinolinon, (+)-6-[amino(4-clophenyl)(1-metyl-1H-imidazol-5-yl)metyl]-4-(3-clophenyl)-1-metyl-2(1H)-quinolinon, 5(S)-n-butyl-1-(2,3-dimetylphenyl)-4-[1-(4-xyanobenzyl)-5-imidazolylmetyl]-2-piperazinon, (S)-1-(3-clophenyl)-4-[1-(4-xyanobenzyl)-5-imidazolylmetyl]-5-[2-(etansulfonyl)metyl]-2-piperazinon, 5(S)-n-butyl-1-(2-metylphenyl)-4-[1-(4-xyanobenzyl)-5-imidazolylmetyl]-2-piperazinon, 1-(3-clophenyl)-4-[1-(4-xyanobenzyl)-2-metyl-5-imidazolylmetyl]-2-piperazinon, 1-(2,2-diphenyletyl)-3-[N-(1-(4-xyanobenzyl)-1H-imidazol-5-yletyl)carbamoyl]piperidin, 4-{-[4-hydroxymetyl-4-(4-clopyridin-2-ylmetyl)-piperidin-1-ylmetyl]-2-metylimidazol-1-ylmetyl}benzonitril, 4-{-[5-[4-hydroxymetyl-4-(3-clobenzyl)-piperidin-1-ylmetyl]-2-metylimidazol-1-ylmetyl]-

benzonitril, 4-{3-[4-(2-oxo-2H-pyridin-1-yl)benzyl]-3H-imidazol-4-ylmetyl}-benzonitril, 4-{3-[4-(5-clo-2-oxo-2H-[1,2']bipyridin-5'-ylmetyl)-3H-imidazol-4-ylmetyl}benzonitril, 4-{3-[4-(2-oxo-2H-[1,2']bipyridin-5'-ylmetyl)-3H-imidazol-4-ylmetyl}benzonitril, 4-[3-(2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-ylmetyl)-3H-imidazol-4-ylmetyl}benzonitril, 18,19-dihydro-19-oxo-5H,17H-6,10:12,16-dimeten-1H-imidazo[4,3-c][1,11,4]dioxazaxyclo-nonadexin-9-carbonitril, ( $\pm$ )-19,20-dihydro-19-oxo-5H-18,21-etano-12,14-eteno-6,10-meten-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k]-[1,6,9,12]oxatriaza-xyclooctadexin-9-carbonitril, 19,20-dihydro-19-oxo-5H,17H-18,21-etano-6,10:12,16-dimeten-22H-imidazo[3,4-h][1,8,11,14]oxa-triazaxycloeicosin-9-carbonitril, và (+.-)-19,20-dihydro-3-metyl-19-oxo-5H-18,21-ethano-12,14-etheno-6,10-metheno-22H-benzo[d]imidazo[4,3-k][1,6,9,12]oxa-triazaxyclooctadexin-9-carbonitril. Các ví dụ khác về các chất ức chế prenyl-protein transferaza có thể được tìm thấy trong các công bố đơn sáng chế và các patent sau: WO 96/30343, WO 97/18813, WO 97/21701, WO 97/23478, WO 97/38665, WO 98/28980, WO 98/29119, WO 95/32987, đơn sáng chế Mỹ số 5,420,245, đơn sáng chế Mỹ số 5,523,430, đơn sáng chế Mỹ số 5,532,359, đơn sáng chế Mỹ số 5,510,510, đơn sáng chế Mỹ số 5,589,485, đơn sáng chế Mỹ số 5,602,098, công bố patent châu Âu số 0 618 221, công bố patent châu Âu số 0 675 112, công bố patent châu Âu số 0 604 181, công bố patent châu Âu số 0 696 593, WO 94/19357, WO 95/08542, WO 95/11917, WO 95/12612, WO 95/12572, WO 95/10514, đơn sáng chế Mỹ số 5,661,152, WO 95/10515, WO 95/10516, WO 95/24612, WO 95/34535, WO 95/25086, WO 96/05529, WO 96/06138, WO 96/06193, WO 96/16443, WO 96/21701, WO 96/21456, WO 96/22278, WO 96/24611, WO 96/24612, WO 96/05168, WO 96/05169, WO 96/00736, đơn sáng chế Mỹ số 5,571,792, WO 96/17861, WO 96/33159, WO 96/34850, WO 96/34851, WO 96/30017, WO 96/30018, WO 96/30362, WO 96/30363, WO 96/31111, WO 96/31477, WO 96/31478, WO 96/31501, WO 97/00252, WO 97/03047, WO 97/03050, WO 97/04785, WO 97/02920, WO 97/17070, WO 97/23478, WO 97/26246, WO 97/30053, WO 97/44350, WO 98/02436, và Patent Mỹ số 5,532,359. Xem ví dụ về vai trò của chất ức chế prenyl-protein transferaza tác động lên quá trình hình thành mạch trong *European J. of Cancer* 35(9):1394-1401 (1999).

Các chất ức chế hình thành mạch dùng để chỉ các hợp chất ức chế sự tạo thành mạch máu mới, bất kể là cơ chế nào. Các ví dụ về các chất ức chế hình thành mạch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất ức chế tyrosin kinaza, như là các chất ức chế các thụ thể Flt-1 (VEGFR1) và Flk-1/KDR (VEGFR2) của tyrosin kinaza, các yếu tố tăng trưởng được biến đổi từ biểu bì, các yếu tố tăng trưởng được biến đổi từ nguyên bào sợi, hoặc các yếu tố tăng trưởng được biến đổi từ tiểu cầu, các chất ức chế MMP (metalloprotease chất nền), các chất chặn integrin, intorforon-alpha, intolokin-12, pentosan polysulfat, các chất ức chế xyclooxyaza, bao gồm các chất kháng viêm không phải steroid (NSAID) như là aspirin và ibuprofen cũng như các chất ức chế xyclooxyaza-2 như là xelecoxib và rofecoxib (*PNAS* 89:7384 (1992); *JNCI* 69:475 (1982); *Arch. Ophthalmol.* 108:573 (1990); *Anat. Rec.*, (238):68 (1994); *FEBS Letters* 372:83 (1995); *Clin. Orthop.* 313:76 (1995); *J. Mol. Endocrinol.* 16:107 (1996); *Jpn. J. Pharmacol.* 75:105 (1997); *Cancer Res.* 57:1625 (1997); *Cell* 93:705 (1998); *Intl. J. Mol. Med.* 2:715 (1998); *J. Biol. Chem.* 274:9116 (1999)), các chất kháng viêm steroid (như là corticosteroid, các mineralocorticoid, dexametason, prednison, prednisolon, metylpred, betametason), carboxyamidotriazol, combretastatin A4, squalamin, 6-O-cloaxetyl-carbonyl)-fumagilol, thalidomit, angiostatin, troponin-1, các chất đối vận angiotensin II (xem Fernandez et al., *J. Lab. Clin. Med.* 105:141-145 (1985)), và các kháng thể với VEGF (xem, *Nature Biotechnology*, 17:963-968 (October 1999); Kim et al., *Nature*, 362:841-844 (1993); WO 00/44777; và WO 00/61186). Các chất điều trị khác điều biến hoặc ức chế hình thành mạch mới và cũng có thể được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất điều biến hoặc ức chế các hệ phân giải fibrin và hệ đông máu (xem bài báo trong *Clin. Chem. La. Med.* 38:679-692 (2000)). Các ví dụ về các chất điều biến hoặc ức chế các quá trình phân giải fibrin và đông máu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, heparin (xem *Thromb. Haemost.* 80:10-23 (1998)), các heparin khối lượng phân tử nhỏ và các chất ức chế carboxypeptidaza U (còn được biết đến là các chất ức chế hoạt hóa chất ức chế phân giải fibrin có thể hoạt hóa thrombin [TAFIa]) (xem *Thrombosis Res.* 101:329-354 (2001)). Các chất ức chế TAFIa đã được mô tả trong công bố PCT WO 03/013,526 và chuỗi đơn Mỹ 60/349,925 (nộp ngày 18/01/2002). Sáng chế cũng bao gồm các tổ hợp của các hợp chất theo sáng chế với các NSAID là các chất ức chế COX-2 chọn lọc (nói chung là được định nghĩa như là các tổ hợp có độ đặc hiệu để ức chế COX-2 hơn

COX-1 ít nhất là 100 lần khi được đo bằng tỷ lệ IC<sub>50</sub> cho COX-2 trên IC<sub>50</sub> cho COX-1 được đánh giá bằng các thử nghiệm tế bào hoặc các thử nghiệm vi lập thể). Các hợp chất này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các hợp chất được bộc lộ trong đơn sáng chế Mỹ số 5,474,995, được công bố ngày 12/12/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,861,419, được công bố ngày 19/01/1999, đơn sáng chế Mỹ số 6,001,843, được công bố ngày 14/12/1999, đơn sáng chế Mỹ số 6,020,343, được công bố ngày 01/02/2000, đơn sáng chế Mỹ số 5,409,944, được công bố ngày 25/02/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,436,265, được công bố ngày 25/07/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,536,752, được công bố ngày 16/07/1996, đơn sáng chế Mỹ số 5,550,142, được công bố ngày 27/08/1996, đơn sáng chế Mỹ số 5,604,260, được công bố ngày 18/02/1997, đơn sáng chế Mỹ số 5,698,584, được công bố ngày 16/12/1997, đơn sáng chế Mỹ số 5,710,140, được công bố ngày 20/01/1998, WO 94/15932, được công bố 21/07/1994, đơn sáng chế Mỹ số 5,344,991, được công bố ngày 06/06/1994, đơn sáng chế Mỹ số 5,134,142, được công bố ngày 28/07/1992, đơn sáng chế Mỹ số 5,380,738, được công bố ngày 10/01/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,393,790, được công bố ngày 20/02/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,466,823, được công bố ngày 14/11/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,633,272, được công bố ngày 27/05/1997, và đơn sáng chế Mỹ số 5,932,598, được công bố ngày 03/08/1999. Các chất ức chế COX-2 đại diện hữu ích trong các phương pháp theo sáng chế bao gồm 3-phenyl-4-(4-(metylsulfonyl)phenyl)-2-(5H)-furanon; và 5-clo-3-(4-metylsulfonyl)phenyl-2-(2-metyl-5-pyridinyl)pyridin. Các hợp chất được mô tả là các chất ức chế COX-2 đặc hiệu và do đó, hữu ích trong sáng chế, và các phương pháp tổng hợp của nó, có thể được tìm thấy trong các patent, các đơn đang theo đuổi và các công bố sau: WO 94/15932, được công bố 21/07/1994, đơn sáng chế Mỹ số 5,344,991, được công bố ngày 06/06/1994, đơn sáng chế Mỹ số 5,134,142, được công bố ngày 28/07/1992, đơn sáng chế Mỹ số 5,380,738, được công bố ngày 10/01/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,393,790, được công bố ngày 20/02/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,466,823, được công bố ngày 14/11/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,633,272, được công bố ngày 27/05/1997, đơn sáng chế Mỹ số 5,932,598, được công bố ngày 03/08/1999, đơn sáng chế Mỹ số 5,474,995, được công bố ngày 12/12/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,861,419, được công bố ngày 19/01/1999, đơn sáng chế Mỹ số 6,001,843, được công bố ngày 14/12/1999, đơn sáng chế Mỹ số 6,020,343, được công bố ngày 01/02/2000, đơn sáng chế Mỹ số 5,409,944, được công bố ngày 25/02/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,436,265,

được công bố ngày 25/07/1995, đơn sáng chế Mỹ số 5,536,752, được công bố ngày 16/07/1996, đơn sáng chế Mỹ số 5,550,142, được công bố ngày 27/08/1996, đơn sáng chế Mỹ số 5,604,260, được công bố ngày 18/02/1997, đơn sáng chế Mỹ số 5,698,584, được công bố ngày 16/12/1997, và đơn sáng chế Mỹ số 5,710,140, được công bố ngày 20/01/1998. Các ví dụ khác về các chất ức chế hình thành mạch bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, endostatin, ukrain, ranpirnaza, IM862, 5-metoxyl-4-[2-metyl-3-(3-metyl-2-butenyl)oxiranyl]-1-oxaspiro[2,5]oct-6-yl(cloaxetyl)carbamate, axetyldinanaline, 5-amino-1-[[3,5-diclo-4-(4-clobenzoyl)phenyl]metyl]-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamid, CM101, squalamine, combretastatin, RPI4610, NX31838, sulfat mannopentanoza phosphat, 7,7-(carbonyl-bis[imino-N-metyl-4,2-pyrrolo-carbonylimino[N-metyl-4,2-pyrrol]-carbonylimino]-bis-(1,3-naphtalen disulfonat), và 3-[(2,4-dimetylpyrrol-5-yl)metylen]-2-indolinon (SU5416).

Các chất cản trở các điểm kiểm tra của chu kỳ tế bào là các hợp chất ức chế các protein kinaza chuyển đổi các tín hiệu điểm kiểm tra của chu kỳ tế bào, do đó, làm tăng tính nhạy cảm của tế bào ung thư với các chất phá hủy ADN. Các chất này bao gồm các chất ức chế ATR, các chất ức chế ATM, các chất ức chế Chk1 kinaza và các chất ức chế Chk2 kinaza và các chất ức chế cdk kinaza và các chất ức chế cdc kinaza và được ví dụ cụ thể là 7-hydroxystaurosporin, flavopiridol, CYC202 (xycloaxel) và BMS-387032.

Các chất ức chế tăng sinh tế bào và quá trình truyền tín hiệu sống sót tế bào là các chất có tính được lý ức chế các thụ thể bề mặt tế bào và các phân tử khuếch đại tín hiệu xuôi dòng của các thụ thể bề mặt tế bào này. Các chất này bao gồm các chất ức chế các chất ức chế EGFR (ví dụ, gefitinib và erlotinib), các chất ức chế ERB-2 (ví dụ, trastuzumab), các chất ức chế IGFR, các chất ức chế thụ thể xytokin, các chất ức chế MET, các chất ức chế PI3K (ví dụ LY294002), serin/threonin kinaza (bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các chất ức chế Akt như được mô tả trong WO 02/083064, WO 02/083139, WO 02/083140 và WO 02/083138), các chất ức chế Raf kinaza (ví dụ, BAY-43-9006), các chất ức chế MEK (ví dụ, CI-1040 và PD-098059) và các chất ức chế mTOR (ví dụ, rapamycin, everolimus và Wyeth CCI-779). Các chất này bao gồm các chất đối vận kháng thể và các hợp chất ức chế phân tử nhỏ.

Các chất cảm ứng quá trình tế bào chết theo chương trình bao gồm các chất hoạt hóa của các thành viên họ thụ thể TNF (bao gồm các thụ thể TRAIL).

Theo các phương án được ưu tiên cụ thể hiện nay của sáng chế, các chất đại diện hữu ích để kết hợp với các hợp chất theo sáng chế nhằm điều trị ung thư bao gồm, ví dụ, irinotecan, topotecan, gemxitabin, 5-flouraxil, leucovorin carboplatin, cisplatin, taxane, tezaxitabin, xyclophosphamit, vinca alkaloit, imatinib (Gleevec<sup>TM</sup>), nilotinib (Tasigna<sup>TM</sup>), everolimus (Afinitor<sup>TM</sup>), anthraxyclin, rituximab, trastuzumab, cũng như các chất hóa trị ung thư khác.

Các hợp chất nêu trên được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế sẽ được sử dụng ở lượng có hiệu quả điều trị như được đề cập trong *Physicians' Desk Reference* (PDR) 47th Edition (1993), hoặc các liều có hiệu quả điều trị này sẽ được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến.

Các hợp chất theo sáng chế và các chất chống ung thư khác có thể được sử dụng ở liều lâm sàng tối đa được khuyến nghị hoặc ở các liều thấp hơn. Các mức liều dùng của các hợp chất trong các chế phẩm theo sáng chế có thể được thay đổi để thu được đáp ứng điều trị mong muốn phụ thuộc vào đường dùng, mức độ nghiêm trọng của bệnh và phản ứng của bệnh nhân. Tổ hợp này có thể được sử dụng ở dạng các chế phẩm riêng hoặc ở dạng liều dùng đơn chứa cả hai chất. Khi được sử dụng ở dạng tổ hợp, các chất điều trị có thể được bào chế ở dạng các chế phẩm riêng, được sử dụng cùng lúc hoặc ở các thời điểm khác nhau, hoặc các chất điều trị này có thể được sử dụng ở dạng chế phẩm đơn.

Các chất chống estrogen, như là tamoxifen, ức chế sự sinh trưởng ung thư vú qua việc cảm ứng làm dừng chu kỳ tế bào, ảnh hưởng đến hoạt động của chất ức chế chu kỳ tế bào p27Kip. Hiện nay, đã chứng minh được rằng sự hoạt hóa quá trình Ras-Raf-MAP Kinaza biến đổi tình trạng phosphoryl hóa p27Kip sao cho hoạt động ức chế của nó trong việc làm dừng chu kỳ tế bào bị giảm dần, do đó góp phần chống lại chất chống estrogen (Donovan et al., *J. Biol. Chem.* 276:40888, 2001). Như được thông báo bởi Donovan et al., sự ức chế truyền tín hiệu qua điều trị bằng chất ức chế MEK đã thay đổi tình trạng phosphoryl hóa p27 trong các dòng tế bào ung thư vú tái sản xuất hormon và như vậy đã phục hồi tính nhạy hormon. Theo đó, theo một khía cạnh, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trong điều trị các bệnh ung thư phụ thuộc hormon, như là bệnh ung thư vú và bệnh ung thư tuyến tiền liệt, để đảo ngược tính kháng hormon đã được phát hiện phổ biến ở các bệnh ung thư này khi điều trị bằng các chất chống ung thư thông thường.

Trong các bệnh ung thư về máu, như là bệnh bạch cầu tủy mạn tính (CML), chuyển vị nhiễm sắc thể có vai trò trong AB1 tyrosin kinaza-BCR đã được hoạt hóa cơ định. Các bệnh nhân mắc các bệnh này đáp ứng lại Gleevec, chất ức chế tyrosin kinaza phân tử nhỏ, như là kết quả của việc ức chế hoạt tính Ab1 kinaza. Tuy nhiên, nhiều bệnh nhân mắc bệnh ở giai đoạn nặng hơn ban đầu đáp ứng lại Gleevec, nhưng sau đó, tái phát bệnh sau đó do các đột biến mang tính kháng trong miền Ab1 kinaza. Các nghiên cứu *in vitro* đã chứng minh rằng BCR-Av1 sử dụng quá trình Raf kinaza để tạo ra các tác động của nó. Ngoài ra, ức chế nhiều hơn một kinaza theo cùng một cách mang đến sự bảo vệ bổ sung chống lại các đột biến mang tính kháng. Theo đó, theo một khía cạnh khác của sáng chế, các hợp theo sáng chế được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất bổ sung, như là Gleevec<sup>TM</sup> hoặc Tasigna<sup>TM</sup> để điều trị các bệnh ung thư về máu, như là bệnh bạch cầu tủy mạn tính (CML), để đảo ngược hoặc ngăn ngừa sự chống lại ít nhất một chất điều trị bổ sung này.

Hợp chất theo sáng chế hữu ích để ức chế ít nhất một serin/threonin kinaza trong quá trình truyền tín hiệu Jak/Stat ở đối tượng, hoặc việc điều trị tình trạng sinh học do quá trình truyền tín hiệu PKC ở đối tượng. Việc ức chế hoặc điều trị này có thể bao gồm dùng chế phẩm điều trị chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế có hiệu quả để ức chế hoạt động của ít nhất một serin/threonin kinaza trong con đường truyền tín hiệu PKC ở đối tượng.

Chế phẩm điều trị theo khía cạnh này của sáng chế hữu ích để điều trị các bệnh nhân cần đến các chất ức chế này (ví dụ, các bệnh nhân mắc ung thư do truyền tín hiệu PKC bất thường). Các loại bệnh ung thư do truyền tín hiệu PKC bất thường bao gồm, ví dụ, bệnh ung thư hắc tố, bệnh ung thư hắc mạc, bệnh ung thư lympho, bệnh ung thư lympho tế bào B lớn lan tỏa (DLBCL) và các bệnh ung thư kháng ibrutinib, bệnh ung thư thể nhú, ung thư tuyến giáp, ung thư buồng trứng, ung thư ruột kết, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi không phải ung thư phổi tế bào nhỏ (NSCLC), các bệnh ung thư về máu, bệnh bạch cầu tủy mạn tính (CML), bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính (ALL), và bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính.

Hợp chất theo sáng chế hữu ích để ức chế PKC $\alpha$ , PKC $\theta$  và GSK $\beta$  ở đối tượng là người hoặc động vật. Phương pháp này bao gồm cho đối tượng cần sử dụng một lượng có hiệu quả của hợp chất, hoặc muối được dùng của nó, theo phương án bất kỳ trong số các phương án của các hợp chất.



Sáng chế sẽ được hiểu dễ dàng hơn bằng cách tham khảo các ví dụ sau, được đề xuất bằng cách minh họa và không được chủ định để trở thành giới hạn sáng chế.

Các chuỗi bên đại diện để sử dụng trong các hợp chất của các ví dụ sau nói chung là có thể được điều chế theo các quy trình sau.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Đề cập đến phần ví dụ thực hiện sáng chế theo sau đây, các hợp chất của các phương án được ưu tiên đã được tổng hợp bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả ở đây, hoặc các phương pháp khác, đã được biết đến trong lĩnh vực này. Các ví dụ này bao gồm cả những ví dụ về các hợp chất mà không có công thức (II) nhằm mục đích tham khảo.

Các hợp chất và/hoặc các chất trung gian được xác định đặc điểm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng hệ thống sắc ký Waters Millenium với Modul phân tách 2695 (Milford, MA). Các cột phân tích là Phenomenex Luna C18 pha đảo-5 $\mu$ , 4,6 x 50mm, từ Alltech (Deerfield, IL). Sử dụng gradien rửa giải (tốc độ dòng 2,5mL/phút), điển hình là bắt đầu với 5% axetonitril/95% nước và tăng dần đến 100% axetonitril qua khoảng thời gian 10 phút. Tất cả các dung môi chứa axit trifloaxetic (TFA) 0,1%. Các hợp chất được phát hiện bằng sự hấp thụ tia cực tím (UV) ở bước sóng 220nm hoặc 254nm. Các dung môi HPLC từ Burdick và Jackson (Muskegan, MI), hoặc Fisher Scientific (Pittsburgh, PA).

Trong một số trường hợp, độ tinh sạch được đánh giá bằng cách sử dụng sắc ký lớp mỏng (TLC) sử dụng các đĩa silicagel có tấm đằng sau bằng nhựa hoặc bằng thủy tinh, như là, ví dụ, các tấm dẻo Baker-Flex Silicagel 1B2-F. Các kết quả TLC dễ dàng phát hiện bằng mắt dưới ánh sáng cực tím, hoặc bằng cách sử dụng các kỹ thuật thăng hoa iot đã được biết rõ và nhiều loại kỹ thuật nhuộm khác.

Các hợp chất và/hoặc các chất trung gian được xác định đặc điểm bằng LCMS. Các điều kiện chung như sau:

Phổ khối có độ phân tách thấp và cao thu được trên hệ thống LC/MS bằng cách sử dụng các phương pháp ion hóa phun điện từ một loạt thiết bị có cấu hình sau: hệ thống HPLC-UV Agilent 1100 có độ phân giải thấp được trang bị máy đo quang phổ khối Waters ZQ và máy phát hiện Shimadzu ELSD; hệ thống HPLC-UV Waters AcQuity có độ phân giải thấp được trang bị máy đo quang phổ khối Waters SQ và máy

phát hiện Thermo CAD; hệ thống UPLC-UV Waters AcQuity có độ phân giải cao được trang bị máy đo quang phổ khối Waters LCT Premier.  $[M+H]^+$  dùng để chỉ ion phân tử được proton hóa của các loại thực thể hóa học.

Các phương pháp thiết bị phân tích

Phương pháp MS có độ phân giải thấp

HPLC-UV Agilent 1100 với máy đo quang phổ khối Waters ZQ

Phương pháp axit: Cột: Sunfire C18, 3x30mm, 3,5 $\mu$ m, nhiệt độ 40°C, cột nạp mẫu 2 $\mu$ L; Dung môi A: TFA 0,05% trong nước; Dung môi B: Axetonitril; Gradien: 5-95%.

Phương pháp bazơ: Cột: Xbridge C18, 3x30mm, 3,5 $\mu$ m, nhiệt độ 40°C, cột nạp mẫu 2 $\mu$ L; Dung môi A:  $NH_4OH$  5mM trong nước; Dung môi B: Axetonitril; Gradien: 5-95%.

Phương pháp MS có độ phân giải thấp

Waters AcQuity được trang bị máy đo quang phổ khối Waters SQ

Phương pháp axit: Cột: Acquity UPLC BEH C18, 2,1x50mm, 1,7 $\mu$ m, nhiệt độ 50°C, cột nạp mẫu 1,5 $\mu$ L; Dung môi A: TFA 0,05% trong nước; Dung môi B: Axetonitril; Gradien: 2-98% trong 1,7 phút.

Phương pháp trung hòa: Cột: Acquity BEH C18 1,7 $\mu$ m 2,1x50mm - 50°C; Dung môi A: Nước + Amm Ace 3,75mM + CAN 2%; Dung môi B: ACN + Amm Ace 3,75mM + Nước 5%; Gradien: 2% đến 98% B trong 1,7 phút – tốc độ dòng 1ml/phút.

Phương pháp HRMS

UPLC-UV Waters AcQuity được trang bị máy quang phổ khối Waters LCT Premier

Phương pháp axit: Cột: ACQUITY UPLC BEH C18, 130Å, 1,7 $\mu$ m, 2,1mm X 50mm – nhiệt độ: 50°C; Dung môi A: Nước + axit formic 0,1%; Dung môi B: Axetonitril + axit formic 0,1%; Gradien: 2-98% Dung môi B trong 7,5 phút; Tốc độ quét: 0,2 giây, trên khoảng 120-1100 Dalton

Phương pháp bazơ: Cột: ACQUITY UPLC BEH C18, 130Å, 1,7 $\mu$ m, 2,1mm X 50mm – nhiệt độ: 50°C; Dung môi A: Nước +  $NH_4OH$  5mM; Dung môi B:  $NH_4OH$  5mM trong axetonitril; Gradien 2-98% trong 7,5 phút; Tốc độ quét: 0,2 giây, trên khoảng 120-1100 Dalton

Phân tích cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) được thực hiện trên

máy đo quang phổ NMR 400MHz Bruker sử dụng ICON-NMR, dưới sự kiểm soát của chương trình TopSpin. Quang phổ được đo ở 298K, trừ phi điều ngược lại được đề cập và được tham chiếu so với độ chuyển dịch hóa học của dung môi.

Độ tinh sạch của một số hợp chất trong số các hợp chất này được đánh giá bằng cách phân tích nguyên tố (Desert Analytics, Tucson, AZ).

Điểm nóng chảy được xác định trên thiết bị phòng thí nghiệm máy Mel-Temp (Holliston, MA).

Phân tách thu sản phẩm được thực hiện bằng cách sử dụng Hệ thống HPLC Waters 2545 được trang bị phát hiện máy đo quang phổ khối Waters PDA 2998 và/hoặc Waters 3100.

UV axit được bắt đầu: Nước/Axetonitril với chất điều biến TFA 0,1%, tốc độ dòng 75ml/phút, thể tích cột nạp mẫu 1,5mL; Cột: Waters Sunfire 30mm ID x 50mm, hạt 5 $\mu$ m.

UV bazơ được bắt đầu: Water/Axetonitril với NH<sub>4</sub>OH 5mM, tốc độ dòng 75ml/phút, thể tích cột nạp mẫu 1,5mL; Cột: Waters X-Bridge 30mm ID x 50mm, hạt 5 $\mu$ m.

Các phương pháp:

Tất cả các phương pháp tuân theo gradien được tập trung từ % axetonitril bắt đầu đến %axetonitril kết thúc qua 3,5 phút với thời gian giữ ban đầu là 10 giây. Sau gradien này, tất cả các phương pháp tiến đến 95% axetonitril qua 30 giây và giữ ở đó trong 1,5 phút trước khi quay trở lại các điều kiện ban đầu. Các điều kiện ban đầu và kết thúc đối với mỗi gradien như sau:

Phương pháp 0: Axetonitril 5-12%

Phương pháp 1: Axetonitril 7,5-20%

Phương pháp 2: Axetonitril 10-30%

Phương pháp 3: Axetonitril 15-40%

Phương pháp 4: Axetonitril 25-50%

Phương pháp 5: Axetonitril 35-60%

Phương pháp 6: Axetonitril 45-70%

Phương pháp 7: Axetonitril 55-80%

Phương pháp 8: Axetonitril 65-95%

Nên được hiểu rằng các hợp chất hữu cơ theo các phương án được ưu tiên có thể cho thấy hiện tượng tautome hóa. Do các cấu trúc hóa học thuộc sáng chế chỉ có thể có đại diện một trong số các dạng tautome có thể, nên được hiểu rằng các phương án được ưu tiên bao hàm dạng tautome bất kỳ của cấu trúc được mô tả.

Được hiểu rằng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án nêu trên để minh họa, nhưng bao gồm tất cả các dạng của nó mà nằm trong phạm vi của sáng chế.

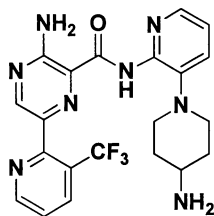
Các ví dụ sau cũng như xuyên suốt đơn sáng chế này, các từ viết tắt sau có các nghĩa sau. Nếu không được định nghĩa, các thuật ngữ có các ý nghĩa được chấp nhận chung của chúng.

#### Danh mục từ viết tắt

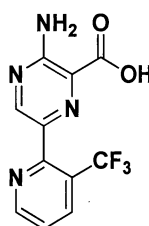
|            |                              |
|------------|------------------------------|
| DCM        | Diclometan                   |
| DIEA       | Diisopropyletylamin          |
| DMA        | Dimetylaxetamit              |
| DMAP       | 4-dimetylaminopyridin        |
| DME        | 1,2-dimetoxyetan             |
| DMF        | <i>N,N</i> -dimetylformamit  |
| EtOAc      | etyl axetat                  |
| EtOH       | Etanol                       |
| MeCN       | Axetonitril                  |
| MeOH       | Metanol                      |
| ACN        | Axetonitril                  |
| BA         | Độ khả dụng sinh học         |
| NBS        | <i>N</i> -bromosucxinimit    |
| NMP        | <i>N</i> -metyl-2-pyrolidon  |
| RT hoặc rt | nhiệt độ phòng               |
| TDMSCl     | tert-butyldimetylsilylclorua |
| TEA        | trietylamin                  |
| THF        | tetrahydrofuran              |
| Ret. Time  | Thời gian lưu                |

|                    |                               |
|--------------------|-------------------------------|
| MS                 | Phổ khối                      |
| HRMS               | Phổ khối có độ phân giải cao  |
| n-BuLi             | n-butyllithi                  |
| DBAD               | Diisobutylazadicarboxylat     |
| TFA                | Axit trifloaxetic             |
| hr                 | giờ                           |
| g                  | gam                           |
| L                  | Lit                           |
| equiv              | đương lượng                   |
| min                | phút                          |
| mmol               | milimol                       |
| NaHCO <sub>3</sub> | natri bicarbonat              |
| N <sub>2</sub>     | nitơ                          |
| MTBE               | metyl tertbutylete            |
| mL                 | mililit                       |
| SiO <sub>2</sub>   | silicagel                     |
| NaH                | natri hydrit                  |
| TLC                | sắc ký lớp mỏng               |
| KMnO <sub>4</sub>  | kali permanganat              |
| NH <sub>4</sub> Cl | amoni clorua                  |
| HPLC               | Sắc ký lỏng hiệu năng cao     |
| AMRI               | Albany Molecular Research Inc |
| NH <sub>4</sub> OH | Amoni Hydroxit                |
| DIAD               | Diisopropylazadicarboxylat    |
| HCl                | axit clohydric                |
| DCE                | dicloetan                     |
| NH <sub>3</sub>    | amoniac                       |
| HCOOH              | axit formic                   |
| Boc                | tert-butyl carboxylat         |
| IPA                | isopropanol                   |
| mg                 | miligam                       |

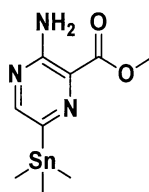
Ví dụ 1: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflormetyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



1) Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-(triflormetyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic



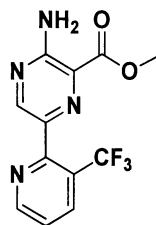
Bước 1. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(trimethylstannyl)pyrazin-2-carboxylat



Huyền phù hóa methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat (25g, 108mmol) và  $\text{Pd(PPh}_3)_4$  (6,23g, 5,39mmol) trong 1,2-dimetoxyetan (200ml) ở rt (nhiệt độ phòng) trong khí quyển argon, trong bình đáy tròn có hai cổ dung tích 500ml được trang bị que khuấy từ và máy ngưng tụ hồi lưu. Loại khí hỗn hợp này và súc rửa bằng argon (hai lần) và thêm hexametylditin (29,0ml, 140mmol) bằng ống tiêm qua vách ngăn cao su, loại khí hỗn hợp này và súc rửa lần nữa bằng argon, và gia nhiệt đến  $90^\circ\text{C}$  trong 2 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến rt và cô đặc trong chân không. Thêm nước (400ml) và etyl axetat (200ml), khuấy trong 20 phút và lọc qua xelit. Chuyển dịch lọc sang phễu phân tách, phân tách các pha và rửa pha hữu cơ bằng nước muối, sấy qua natri sulfat và loại bỏ dung môi trong áp suất giảm. Lọc phần còn lại qua silicagel bằng heptan, sau đó bằng hỗn hợp dung môi chứa (etyl axetat 1:9 heptan) và cuối cùng là hỗn hợp dung môi chứa (etyl axetat 2:8 heptan) để thu được methyl 3-amino-6-(trimethylstannyl)pyrazin-2-carboxylat (20,92g) ở dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,07 phút, M+H = 317,8.

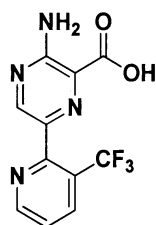
Bước 2. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat



Trong bình đáy tròn thể tích 500ml được trang bị que khuấy từ và van nạp agon, hòa tan methyl 3-amino-6-(trimethylstannyl)pyrazin-2-carboxylat (20,92g, 55,0mmol), 2-bromo-3-(triflometyl) pyridin (14,38g, 60,5mmol), Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> (5,54g, 6,05mmol) và P(*o*-Tol)<sub>3</sub> (3,79g, 12,09mmol) trong DMF (100ml) ở rt, sau đó, thêm NEt<sub>3</sub> (10,72ml, 77mmol). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 110°C trong môi trường agon trong 1 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến rt, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, rửa bằng etyl axetat và cô đặc trong áp suất giảm. Tinh sạch phần còn lại bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat heptan để thu được methyl 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (7,8g) ở dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 0,93 phút, M+H = 299,0.

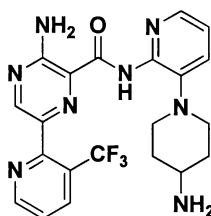
Bước 3. Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic



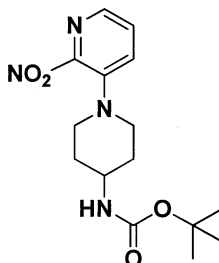
Trong bình đáy tròn thể tích 250ml được trang bị que khuấy từ, hòa tan methyl 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (7,8g, 23,80mmol) trong dioxan (100ml) ở rt. Hòa tan LiOH monohydrat (2,008g, 47,6mmol) trong nước (25ml) và thêm ở rt và khuấy trong 1 giờ. Pha loãng huyền phù bằng nước (50ml) và

chiết bằng etyl axetat (3 x 100ml), chiết trở lại lớp hữu cơ bằng nước (2 x 50ml). Điều chỉnh lớp chứa nước đến độ pH = 3 bằng HCl đặc và chiết bằng etyl axetat (3x 100ml), sấy các lớp hữu cơ được kết hợp qua natri sulfat, lọc và cô đặc để thu được axit 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (6,89g) ở dạng bột màu vàng. LC-MS (Phương pháp bazơ) M+H = 284,9. <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): δ (ppm)= 13,04 (s rộng, 0,84 H), 8,92 (d, 1H, J= 4,9 Hz), 8,71 (s, 1H), 8,33 (d, 1H, J= 8,1 Hz), 7,70-7,67 (m, 3H).

2) Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



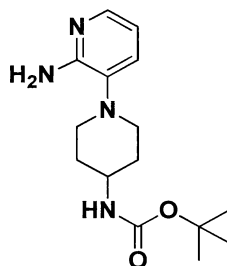
Bước 1. tert-butyl (1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm THF (20ml), 3-fluor-2-nitropyridin (1,524g, 10,73mmol), tert-butyl piperidin-4-ylcarbamate (2,256g, 11,26mmol), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (3,47g, 26,8mmol) vào bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ và van nạp nitơ. Gia nhiệt hỗn hợp đến 70°C trong 24 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc đến phần cạn dày. Tinh sạch phần còn lại bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat-heptan để thu được tert-butyl (1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (3,24g, hiệu suất 98%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,30 phút, M+H = 323,3

Bước 2. tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate

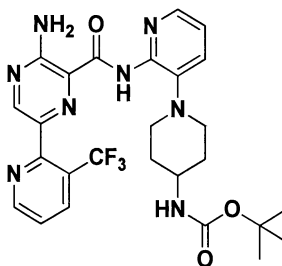




Thêm tert-butyl (1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (3,2gam, 9,93mmol), THF (75ml) và Pd/C (1,1g, 10% Pd trên than ướt) vào bình đáy tròn thể tích 250ml được trang bị que khuấy từ được làm sạch bằng nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được trong môi trường khí hydro cho đến khi toàn bộ tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate đã được tiêu thụ. Sau đó, làm sạch hỗn hợp bằng nitơ, thêm magie sulfat và khuấy. Sau đó, lọc hỗn hợp qua tấm xelit. Rửa tấm xelit bằng DMC dư. Cô đặc dịch lọc đến phần cặn dày được làm rắn trong môi trường chân không. Sấy chất rắn đến khối lượng không đổi và được sử dụng trực tiếp (2,9gam, hiệu suất 99,9%).

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,04 phút, M+H = 293.

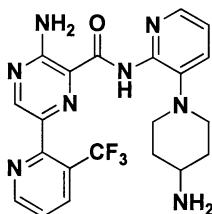
Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate.



Thêm axit 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (332mg, 1,168mmol), DMF (4ml), 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouroni hexaflophosphat(V) (454mg, 1,194mmol) và N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,8ml, 4,58mmol) vào bình thót cổ dung tích 25ml. Khuấy hỗn hợp này trong khoảng 5 phút sau đó, thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (311mg, 1,064mmol). Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm. Làm ngừng phần còn lại bằng dung dịch NaCl bão hòa (150ml) và chiết bằng EtOAc (2 x 250ml). Sấy các pha hữu cơ kết hợp qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc thành chất rắn tối

màu được tinh sạch bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat-heptan. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,22 phút, M+H = 559.

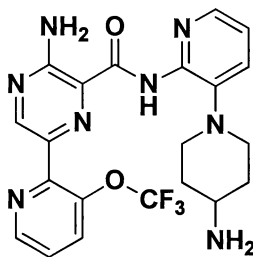
Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Thêm dụng cụ khuấy từ, tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate, và diclometan (10ml) vào bình thót cổ thể tích 100ml. Khuấy hỗn hợp cho đến khi tất cả các chất rắn được hòa tan và sau đó, giảm nhiệt trong bể nước đá trong môi trường nitơ. Thêm axit trifloaxetic (10ml) vào hỗn hợp này. Loại bỏ bể nước đá và khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở rt. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sau đó, đồng bay hơi phần còn lại với toluen (20ml). Sau đó, trộn phần còn lại thu được với nước muối (20ml), nghiền nhỏ bằng NaHCO<sub>3</sub> và chiết bằng diclometan (3 x 50ml). Sấy các pha hữu cơ kết hợp qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc đến khi thành chất rắn. Hòa tan chất rắn trong diclometan và làm cho kết tủa bằng heptan. Lọc chất rắn và sấy trong môi trường chân không đến khối lượng không đổi để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (223mg) ở hiệu suất 95%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,1 phút, M+H = 459

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Cloform-*d*) δ 10,74 (s, 1H), 8,97 – 8,84 (m, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,30 (dd, *J* = 5,2, 1,9Hz, 1H), 8,20 (dd, *J* = 8,0, 1,6Hz, 1H), 7,53 (dd, *J* = 8,1, 4,8Hz, 1H), 7,42 (dd, *J* = 7,9, 1,7Hz, 1H), 7,06 (dd, *J* = 7,9, 4,9Hz, 1H), 3,11 (dd, *J* = 11,1, 4,9Hz, 2H), 2,87 – 2,49 (m, 3H), 1,45 – 1,14 (m, 3H).

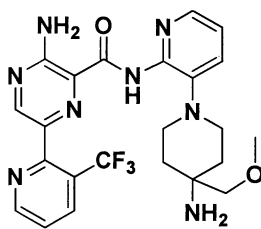
Ví dụ 2: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



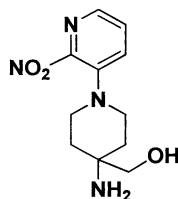
Điều chế 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương pháp tương tự như ví dụ 1 (Phương pháp 1), trong đó axit 3-amino-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic được sử dụng thay cho axit 3-amino-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid (1,21g) ở hiệu suất 77%. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 1,12 phút,  $M+H = 475,2$

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,86 (s, 1H), 8,77 (dd,  $J = 4,7, 1,4\text{Hz}$ , 1H), 8,14 (dd,  $J = 5,0, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 8,05 (dp,  $J = 8,5, 1,4\text{Hz}$ , 1H), 7,72 – 7,57 (m, 2H), 7,20 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 3,29 (s, 3H), 3,10 (dt,  $J = 12,7, 4,0\text{Hz}$ , 2H), 2,82 – 2,71 (m, 2H), 2,69 – 2,53 (m, 1H), 1,93 – 1,69 (m, 2H), 1,37 (dtd,  $J = 13,9, 10,5, 3,6\text{Hz}$ , 2H).

Ví dụ 3: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



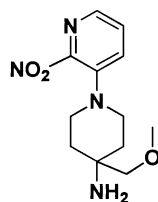
Bước 1: Tổng hợp tert-butyl (4-(hydroxymethyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm 3-fluoro-2-nitropyridin, (0,441g, 3,1mmol), tert-butyl (4-(hydroxymethyl)piperidin-4-yl)carbamate (0,65g, 2,82mmol), N-ethyl-N-isopropylpropan-2-amin, (0,839g, 6,49mmol) và tetrahydrofuran (10ml) và dụng cụ khuấy từ vào bình hình quả lê thể tích 25ml. Khuấy hỗn hợp trong môi trường nitơ và gia nhiệt ở 70°C trong 3 ngày. Sau đó, giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc đến phần cặn dày và sắc ký trực tiếp trên silicagel (ethyl axetat-heptan) để thu được tert-butyl (4-(hydroxymethyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,668g, 1,858mmol) ở hiệu suất 65,8%.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,13 phút, M+H = 353,5.

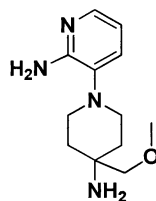
Bước 2: Tổng hợp tert-butyl (4-(metoxymethyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm toluen (8ml), dioxan (4ml), tert-butyl (4-(hydroxymethyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,546g, 1,549mmol), dimethyl sulfat (0,293g, 2,324mmol), natri hydroxit (0,124g, 1,549mmol) và N,N,N-trimetyl-1, phenylmetanamin clorua (0,288g, 1,549mmol) vào bình hình quả lê thể tích 25ml. Khuấy hỗn hợp thu được trong 18 giờ. Pha loãng phản ứng bằng 40ml ethyl axetat và khuấy, sau đó, thêm một lượng nhỏ (thìa đầy) MgSO<sub>4</sub>. Khuấy hỗn hợp trong khoảng 5 phút, lọc và cô đặc. Sắc ký phần thu được trên silicagel (ethyl axetat-heptan gradien 10-100%) để thu được tert-butyl (4-(metoxymethyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,556g, 1,487mmol) ở hiệu suất 96%.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,44 phút, M+H = 367,4.

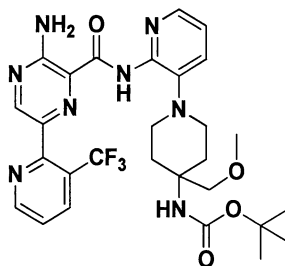
Bước 3: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(metoxymethyl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm tert-butyl (4-(methoxymetyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,697g, 1,902mmol), ethyl axetat (20ml) và 10% paladi trên cacbon ướt (khoảng 0,7g) vào bình đáy tròn thể tích 100ml. Làm sạch bình bằng hydro và khuấy trong bóng hydro trong 16 giờ. Sau đó, thêm  $\text{MgSO}_4$  (5gam) vào hỗn hợp thu được và khuấy. Sau đó, lọc hỗn hợp qua tấm  $\text{MgSO}_4$  trong điều kiện nón khí nitơ. Cô đặc dịch lọc đến khan để thu được tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(methoxymetyl)piperidin-4-yl)carbamate (0,454g, 1,322mmol) ở hiệu suất 98%.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 0,88 phút,  $\text{M}+\text{H} = 337,5$ .

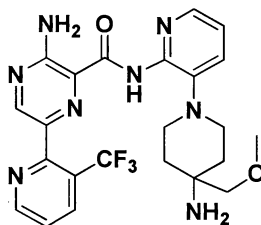
Bước 4: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-(methoxymetyl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm axit 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (0,188g, 0,66mmol), DMF (2ml), 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouroni hexaflophosphat (HBTU), (0,25g, 0,66mmol) và N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,18ml, 0,99mmol) vào bình thót cổ dung tích 25ml. Khuấy hỗn hợp này trong khoảng 60 phút, sau đó, thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(methoxymetyl)piperidin-4-yl)carbamate (0,111g, 0,33mmol). Khuấy hỗn hợp thu được trong 18 giờ và sau đó, cô đặc thu được phần cạn dày. Sắc ký trực tiếp phần thu được trên silicagel sử dụng ethyl axetat và heptan để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-(methoxymetyl)piperidin-4-yl)carbamate (0,432g).

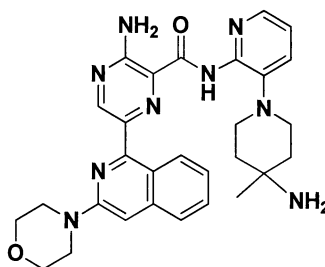
LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,12 phút,  $\text{M}+\text{H} = 603,4$ .

Bước 5: Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

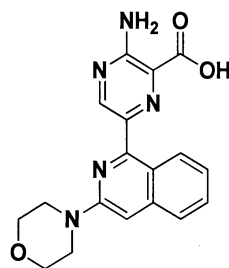


Thêm dụng cụ khuấy từ, tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,199g, 0,33mmol) và diclometan (10ml) vào bình thót cổ thể tích 100ml. Khuấy hỗn hợp cho đến khi tất cả các chất rắn được hòa tan và sau đó, giảm nhiệt trong bể nước đá trong môi trường nitơ. Thêm axit trifloaxetic (25ml) vào hỗn hợp này. Loại bỏ bể nước đá và khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sau đó, đồng bay hơi phần còn lại với toluen (30ml) 3 lần để thu được phần cặn dày. Tinh sạch phần còn lại bằng HPLC pha đảo (phương pháp 3) để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (0,142g, 0,277mmol) ở hiệu suất 84%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,04 phút, M+H = 503,2.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,56 (s, 1H), 9,00 (dd,  $J$  = 4,8, 1,5Hz, 1H), 8,45 (dd,  $J$  = 8,1, 1,4Hz, 1H), 8,11 (dd,  $J$  = 4,8, 1,6Hz, 3H), 7,78 (dd,  $J$  = 8,0, 4,8Hz, 1H), 7,55 (dd,  $J$  = 8,1, 1,8Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J$  = 7,9, 4,8Hz, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,92 (dt,  $J$  = 11,0, 7,1Hz, 2H), 2,68 (dt,  $J$  = 11,2, 3,4Hz, 2H), 1,38 – 1,00 (m, 9H), 0,94 – 0,77 (m, 1H).

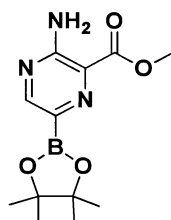
Ví dụ 4: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit



Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylic



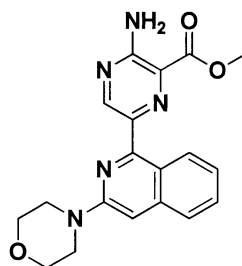
Bước 1. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat



Trong bình đáy tròn thể tích 500ml được trang bị que khuấy từ, loại khí dung dịch chứa methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat (10g, 43,1mmol), bis(pinacolato)diboron (13,68g, 53,9mmol), KOAc (7,61g, 78mmol) và PdCl<sub>2</sub>(dppf) (79mg, 0,108mmol) trong dioxan (200ml) và súc rửa bằng nitơ (hai lần), và sau đó, gia nhiệt ở 80°C trong 3 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến 25°C và thêm 30ml DCM và lọc qua xelit. Thêm 60ml heptan vào dịch lọc thu được. Cô đặc huyền phù xuống còn 1/2 thể tích, và lọc. Rửa chất rắn bằng heptan (3X20ml) và sấy trong chân không để thu được methyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (12,85g, 46,0mmol).

LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,04 phút, M+H = 198,1

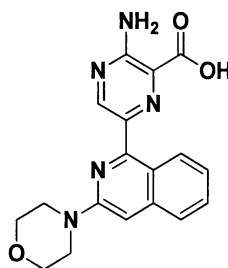
Bước 2. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylat



Trong bình đáy tròn thể tích 15ml được trang bị que khuấy từ, loại khí dung dịch chứa 4-(1-cloisoquinolin-3-yl)morpholin (673mg, 2,412mmol), metyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (673mg, 2,412mmol),  $K_3PO_4$  (3,02ml, 3,02mmol, 1M) và  $PdCl_2(dppf)$  (118mg, 0,161mmol) trong dioxan (12ml) và súc rửa bằng nitơ (hai lần). Gia nhiệt hỗn hợp ở 85°C trong 3 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến rt, và thêm nước (100ml) và chiết bằng EtOAc (3 x 50ml), sấy qua  $Na_2SO_4$  và cô đặc. Tinh sạch sản phẩm thô bằng cột HPLC axit (Phương pháp 4) để thu được metyl 3-amino-6-(3morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylat (460mg, 1,259mmol) ở hiệu suất 62%.

LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,39 phút,  $M+H = 366,4$ .

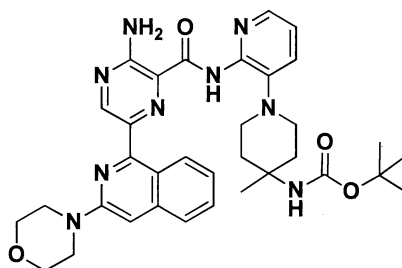
Bước 3. Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylic



Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, thêm  $LiOH.H_2O$  (3,15ml, 6,29mmol) trong nước (4ml) vào dung dịch chứa metyl 3-amino-6-(3morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylat (460mg, 1,259mmol) trong THF (4mL) và MeOH (4,00ml) và khuấy trong 25°C trong 2 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng. Sau đó, thêm 5ml nước và axit hóa bằng HCl 0,5N đến độ pH=5. Lọc hỗn hợp phản ứng và rửa bằng nước (3X20ml), và sấy, thu được axit 3-amino-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylic (377mg, 1,073mmol) ở hiệu suất 85%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,02 phút,  $M+H = 352,4$ .

Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-metyl-4-pivalamidopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit

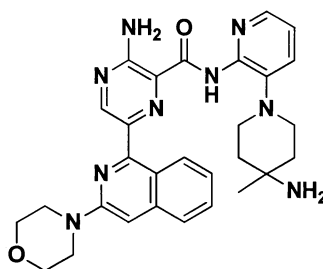




Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, thêm DIEA (0,149ml, 0,854mmol) và HATU (156mg, 0,410mmol), sau đó, tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (105mg, 0,342mmol) vào dung dịch chứa axit 3-amino-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxylic trong DMF (3ml), và khuấy ở 25°C trong 60 giờ. Thêm 80ml nước vào hỗn hợp phản ứng và chiết bằng EtOAc (3 X 40mL), sấy qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và cô đặc. Tinh sạch sản phẩm thô bằng HPLC bazơ (Phương pháp 3) để thu được 3-amino-N-(3-(4-methyl-4-pivalamidopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamid (108mg, 0,169mmol) ở hiệu suất 49%.

LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 2,30 phút, M+H = 640,7.

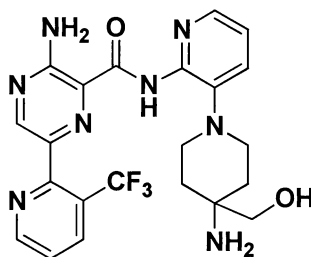
Bước 5. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamid



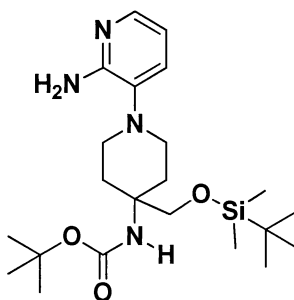
Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, thêm từ từ dung dịch chứa 3-amino-N-(3-(4-methyl-4-pivalamidopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamid (108mg, 0,169mmol) trong DCM (0,18ml) vào TFA (0,650ml, 8,44mmol) được giảm nhiệt xuống -20°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 25°C trong 45 phút. Cô đặc hỗn hợp phản ứng. Tinh sạch sản phẩm thô bằng HPLC bazơ (phương pháp 3) để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamid (33mg, 0,058mmol) ở hiệu suất 34%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,22 phút, M+H = 540,6. <sup>1</sup>H NMR (METANOL-d<sub>4</sub>) δ: 8,89 (s, 1H), 8,47 (d,

$J=8,5\text{Hz}$ , 1H), 8,11 (dd,  $J=4,9$ , 1,6Hz, 1H), 7,76 (d,  $J=8,5\text{Hz}$ , 1H), 7,47-7,64 (m, 2H), 7,28 (ddd,  $J=8,5$ , 7,0, 1,1Hz, 1H), 7,14 (dd,  $J=7,8$ , 5,0Hz, 1H), 7,03 (s, 1H), 3,82-3,91 (m, 4H), 3,56-3,65 (m, 4H), 2,69-2,80 (m, 2H), 2,56-2,68 (m, 2H), 0,79-1,02 (m, 4H), 0,49 (br. s., 3H).

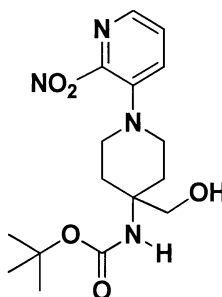
Ví dụ 5: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



Tổng hợp tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(((tert butyldimetylsilyl)oxy) metyl) piperidin-4-yl)carbamat



Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (4-(hydroxymetyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamat

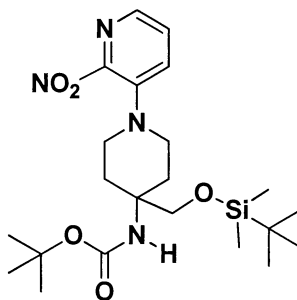


Kết hợp 3-fluor-2-nitropyridin (0,441g, 3,1mmol), tert-butyl (4-(hydroxymetyl)piperidin-4-yl)carbamat (0,65g, 2,82mmol), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (1,2ml) và THF (10ml) vào bình đáy tròn thể tích 25ml. Gia nhiệt hỗn hợp đến 70°C trong 48 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc thu được phần cặn

dày. Tinh sạch phần thu được bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat và heptan để thu được tert-butyl (4-(hydroxymetyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (0,668g) ở hiệu suất 98%.

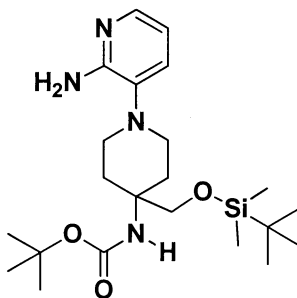
LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,13 phút,  $M+H = 353,5$ .

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat.



Kết hợp tert-butyl (4-(hydroxymetyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (1,08g, 3,06mmol), DMF (10ml) và imidazol (0,459g, 6,74mmol), sau đó, tert-butyldimetylsilan (0,554g, 3,68mmol) vào bình đáy tròn thể tích 50ml. Khuấy hỗn hợp cho đến khi toàn bộ rượu được chuyển hóa thành silyl ete. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sắc ký trên silicagel sử dụng etyl axetat và heptan để thu được tert-butyl(4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (1,178g) ở hiệu suất 99%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,84 phút,  $M+H = 467,3$

Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(((tert butyldimetylsilyl)oxy) metyl) piperidin-4-yl)carbammat

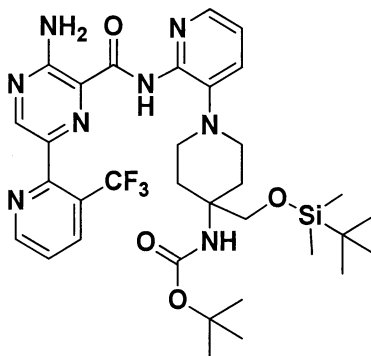


Bắt đầu với tert-butyl (4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (1,178g), xử lý hợp chất nitro bằng hydro và paladi như

được mô tả trong ví dụ 1 để thu được tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(((tert butyldimetylsilyl)oxy) metyl) piperidin-4-yl)carbammat (0,954g) ở hiệu suất 85%.

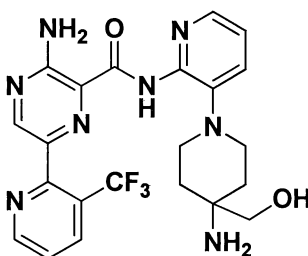
LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,78 phút, M+H = 437,3

Bước 4. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl) piperidin-4-yl)carbammat



Bắt đầu với tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-(((tert butyldimetylsilyl)oxy) metyl) piperidin-4-yl)carbammat (0,2g, 0,459mmol), điều chế tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl) piperidin-4-yl)carbammat như được mô tả trong ví dụ 1 và được sử dụng trực tiếp.

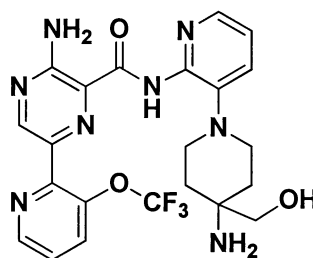
Bước 5. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Xử lý tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido) pyridin-3-yl)-4-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy) metyl) piperidin-4-yl)carbammat từ bước 4 bằng axit trifloaxetic theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1 để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-

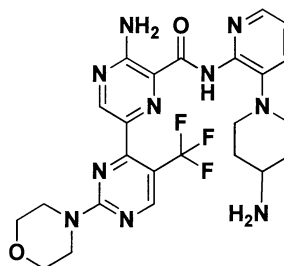
yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (0,108g, 0,217mmol) ở hiệu suất 21%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 0,92 phút,  $M+H = 489,2$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,55 (s, 1H), 8,97 (dd,  $J = 4,8, 1,5$ Hz, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,39 (dd,  $J = 8,2, 1,5$ Hz, 1H), 8,26 – 7,65 (m, 4H), 7,56 (dd,  $J = 8,2, 1,9$ Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J = 7,9, 4,7$ Hz, 1H), 4,34 (s, 1H), 3,23 – 3,07 (m, 3H), 2,91 (td,  $J = 10,6, 4,2$ Hz, 2H), 2,76 – 2,38 (m, 13H), 1,69 – 1,43 (m, 3H).

Ví dụ 6: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

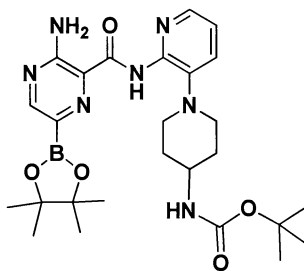


Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (0,0865g) ở hiệu suất 85%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,24 phút,  $M+H = 505,2$ .  $^1H$  NMR (DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 10,75 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 8,77 (dd,  $J = 4,6, 1,3$ Hz, 1H), 8,11 (dd,  $J = 4,8, 1,6$ Hz, 1H), 8,08 (br s, 1H), 8,06 (dt,  $J = 8,4, 1,4$ Hz, 1H), 7,65 (dd,  $J = 8,4, 4,6$ Hz, 1H), 7,60 (dd,  $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H), 7,17 (dd,  $J = 7,8, 4,8$ Hz, 1H), 4,48 (s, 1H), 2,97 (td,  $J = 11,3, 3,0$ Hz, 2H), 2,75 (dq,  $J = 7,6, 3,9$ Hz, 4H), 1,77 (s, 2H), 1,47 - 1,16 (m, 4H).

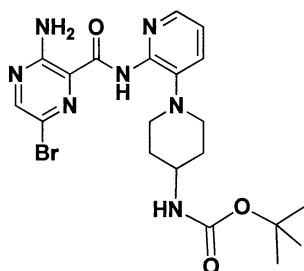
Ví dụ 7: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate

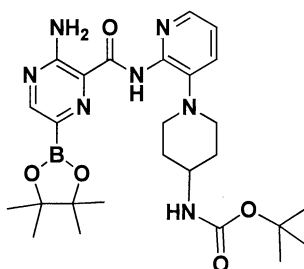


Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, khuấy dung dịch chứa axit 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylic (1,044g, 4,79mmol), tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (1,4g, 4,79mmol), DIPEA (2,091ml, 11,97mmol) và HATU (2,185g, 5,75mmol) trong DMF (15ml) ở 25°C trong 15 giờ. Làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng 30ml nước và chiết bằng EtOAc (3 X 20ml). Sấy dịch rửa etyl axetat qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và cô đặc. Tinh sạch sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat và heptan để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-bromopyrazin-2-carboxamit (1,76g, 3,57mmol) trong hiệu suất 74%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,17 phút, M+H = 492,3.

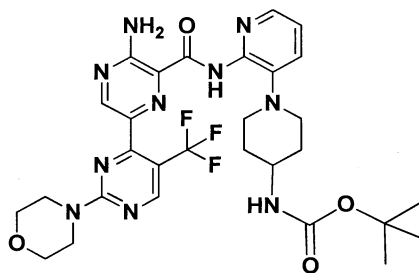
Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Trong bình đáy tròn được hàn kín thể tích 15ml được trang bị que khuấy từ, loại khí dung dịch chứa 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-

bromopyrazin-2-carboxamit (220mg, 0,447mmol), bis(pinacolato)diboron (142mg, 0,559mmol), KOAc (79mg, 0,804mmol) và PdCl<sub>2</sub>(dppf) (16,35mg, 0,022mmol) trong dioxan (2,5ml) và súc rửa bằng nitor (hai lần), và gia nhiệt ở 80°C trong 3 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến rt, pha loãng bằng 30ml DCM và lọc qua xelit. Sau đó, pha loãng dịch lọc bằng 60ml heptan, và sau đó, cô đặc xuống còn 1/2 thể tích. Lọc hỗn hợp, rửa chất rắn bằng heptan (3 X 20ml) và sấy trong chân không để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (173mg, 0,321mmol) ở hiệu suất 71%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 0,91 phút, M+H = 458,4.

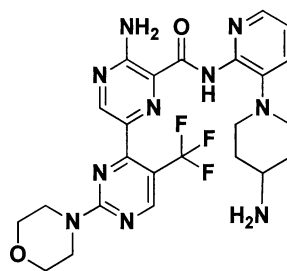
Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat



Trong bình đáy tròn thể tích 15ml được trang bị que khuấy từ, loại khí dung dịch chứa tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (316mg, 0,497mmol), 4-(6-clo-5-(triflometyl)pyridin-2-yl)morpholin (190mg, 0,710mmol), K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1M) (0,923ml, 0,923mmol) và PdCl<sub>2</sub>(dppf) (41,6mg, 0,057mmol) trong dioxan (6ml) và súc rửa bằng nitor (hai lần). Sau khi khuấy ở 80°C trong 2 giờ, giảm nhiệt hỗn hợp đến rt. Thêm hỗn hợp phản ứng vào nước (100ml) và chiết bằng EtOAc (3 x 50ml), sau đó, sấy qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và cô đặc. Tinh sạch sản phẩm thô bằng HPLC (phương pháp axit 3) để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (62mg, 0,096mmol), hiệu suất 13%.

LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,18 phút, M+H = 645,7.

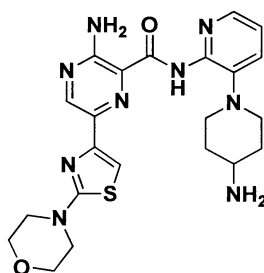
Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, giảm nhiệt TFA (0,370ml, 4,81mmol) xuống  $-20^{\circ}\text{C}$ , thêm dung dịch chứa 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid (62mg, 0,096mmol) trong DCM (2ml) và khuấy ở  $25^{\circ}\text{C}$  trong 45 phút. Cô đặc hỗn hợp phản ứng. Tinh sạch sản phẩm thô bằng HPLC (phương pháp bazơ 3) để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid (26,3mg, 0,048mmol) ở hiệu suất 50%.

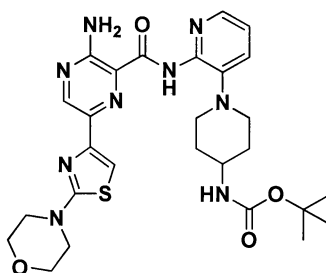
LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,03 phút,  $M+H = 545,6$  ( $M+H$ ).  $^1\text{H}$  NMR (METANOL- $d_4$ )  $\delta$ : 8,89 (s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,12 (dd,  $J=4,9$ , 1,4Hz, 1H), 7,63 (dd,  $J=8,0$ , 1,5Hz, 1H), 7,20 (dd,  $J=7,9$ , 4,9Hz, 1H), 3,89-4,02 (m, 4H), 3,78 (t,  $J=4,9\text{Hz}$ , 4H), 3,07 (d,  $J=12,0\text{Hz}$ , 2H), 2,52-2,79 (m, 3H), 1,79 (d,  $J=10,8\text{Hz}$ , 2H), 1,18-1,44 (m, 2H).

Ví dụ 8: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino thiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamid



Bước 1: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholinothiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate

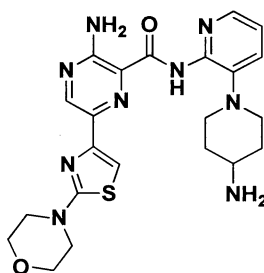




Thêm axit (5-amino-6-((3-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)carbamoyl)pyrazin-2-yl)boronic (0,36g, 0,787mmol), 4-(4-clothiazol-2-yl)morpholin (0,161g, 0,787mmol), Pd (dppe) diclorua (0,085g, 0,116mmol), kali phosphat 1M (1ml) và que khuấy từ vào bình đáy tròn thể tích 25ml. Loại khí hỗn hợp thu được với nitơ và sau đó, đặt trong bể dầu được gia nhiệt trước ở 80°C và gia nhiệt trong 2 giờ. Đưa hỗn hợp ra khỏi bể nhiệt, giảm nhiệt và sau đó, rót vào 100ml diclometan. Thêm magie sulfat để làm khô phản ứng, sau đó, lọc và cô đặc đến khi có phần cặn dày. Sắc ký phân thu được trên silicagel sử dụng etyl axetat và heptan để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholinothiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,187g, 0,289mmol) ở hiệu suất 37%.

LC-MS (phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,30 phút, M+H = 582,5.

Bước 2: Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinomethylthiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamid

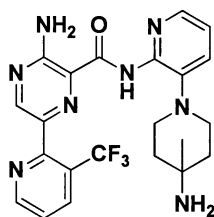


Thêm dụng cụ khuấy từ, tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholinomethylthiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (0,113g, 0,194mmol) và diclometan (5ml) vào bình thót cổ thể tích 100ml. Khuấy hỗn hợp cho đến khi tất cả các chất rắn được hòa tan và sau đó, giảm nhiệt trong bể nước đá trong môi trường nitơ. Thêm axit trifloaxetic (15ml) vào hỗn hợp này. Loại bỏ bể nước đá và khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sau đó, đồng bay hơi

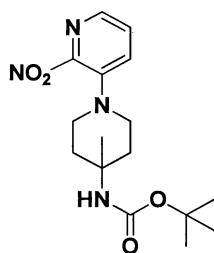
phần còn lại với toluen (30ml) 3 lần để thu được phần cặn dày. Tinh sạch phần còn lại bằng phương pháp 3, để thu được 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinthiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit (0,026g, 0,052mmol) ở hiệu suất 27%.

LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,16 phút,  $M+H = 482,6$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, Cloform-*d*)  $\delta$  10,97 (s, 2H), 8,85 (s, 2H), 8,23 (d,  $J = 4,8\text{Hz}$ , 2H), 7,36 (d,  $J = 8,0\text{Hz}$ , 3H), 7,22 (d,  $J = 18,0\text{Hz}$ , 4H), 7,03 – 6,95 (m, 3H), 3,83 – 3,76 (m, 10H), 3,62 (s, 0H), 3,53 – 3,45 (m, 10H), 3,08 (d,  $J = 11,5\text{Hz}$ , 5H), 2,74 (s, 2H), 2,66 (t,  $J = 11,8\text{Hz}$ , 6H), 1,89 (d,  $J = 12,7\text{Hz}$ , 5H), 1,54 (d,  $J = 11,9\text{Hz}$ , 6H), 1,46 (s, 8H), 1,18 (s, 5H).

Ví dụ 9: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

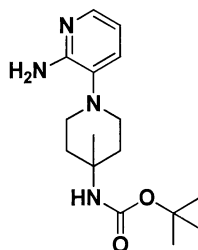


Bước 1: Tổng hợp tert-butyl (4-metyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat



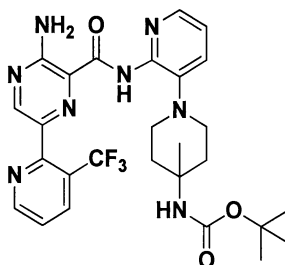
Thêm tert-butyl (4-metylpiperidin-4-yl)carbammat (26g, 121mmol) vào dung dịch của 3-flo-2-nitropyridin (11,2g, 81mmol) trong dioxan (200ml). Thêm bazo Huenig (28,3ml, 162mmol) và gia nhiệt hỗn hợp đến  $85^{\circ}\text{C}$  trong 18 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến RT và cô đặc thu được chất rắn màu nâu. Rửa chất rắn bằng 200ml heptan:EtOAc tỷ lệ 4:1. Cô đặc huyền phù đặc xuống còn một nửa thể tích và lọc để thu được chất rắn màu nâu (26,2g, 78mmol, 96%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,46 phút,  $M+H = 337,4$

Bước 2: Tổng hợp tert-butyl (4-metyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat



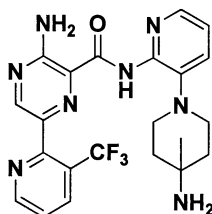
Thêm Pd-C 10% (3,48g) vào dung dịch của tert-butyl (4-metyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbammat (11,6g, 37,2mmol) trong etyl axetat (200ml) và khuấy dưới áp suất bóng bay H<sub>2</sub> ở rt trong 4 giờ. Thêm một lượng nhỏ MgSO<sub>4</sub> vào phản ứng và sau đó, lọc hỗn hợp phản ứng qua tấm xelit, sau đó, rửa bằng etyl axetat (100ml) và cô đặc dịch lọc thu được chất rắn màu nâu (8,54g, 27,9 mmol, 85%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,91 phút, M+H = 307,4.

Bước 3: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat



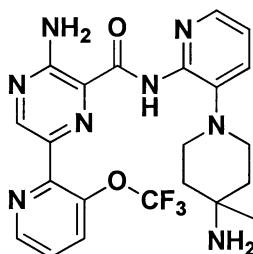
Thêm ((1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl) oxy) tris(dimetylamino) phosphoni hexaflophosphat(V) (1,8g, 4,24mmol) và 4-metylmorpholin (1ml, 9,79mmol) vào dung dịch của axit 3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic trong dimetylformamit (125ml). Khuấy phản ứng ở rt trong 40 phút. Thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl) carbamat trong dimetylformamit (25ml) và khuấy phản ứng trong 16 giờ ở rt. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc và rửa bằng NaHCO<sub>3</sub>(aq) (3 x 200mL) và nước muối (1x 200mL). Sấy pha hữu cơ với Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc. Cho sản phẩm thô vào trong axetonitril (30ml) và để hỗn hợp dừng ở rt trong một khoảng thời gian. Thu chất rắn màu vàng bằng cách lọc (1,39g, 74%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,13 phút, M+H = 573,3.

Bước 4: Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Giảm nhiệt dung dịch chứa tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (1,39g, 2,06mmol) trong diclometan (10ml) đến 0°C. Thêm từng giọt axit 2,2,2-trifloaxetic (2,4ml, 31mmol) vào dung dịch. Làm ấm hỗn hợp đến 22°C và khuấy trong 4 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng để loại bỏ DCM và TFA dư. Chất dầu màu đỏ được tạo ra, được cho vào trong 100ml CHCl<sub>3</sub>/IPA 3:1 và thêm NaHCO<sub>3</sub> chứa nước bão hòa để trung hòa dung dịch. Sau đó, khuấy hỗn hợp ở 22°C trong 16 giờ. Chuyển hỗn hợp sang phễu phân tách và rửa các lớp nước bằng CHCl<sub>3</sub>/IPA 3:1 (3X 100ml). Sấy các pha hữu cơ kết hợp bằng Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc thu được chất rắn màu vàng. Tái kết tinh sản phẩm thô từ axetonitril. Thu chất rắn màu vàng bằng cách lọc (0,82g, 83%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,75 phút, M+H = 473,2. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8,92 (dd, *J* = 5,1, 1,4Hz, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,47 – 8,27 (m, 1H), 8,12 (dd, *J* = 4,9, 1,6Hz, 1H), 7,83 – 7,50 (m, 2H), 7,18 (dd, *J* = 7,9, 4,9Hz, 1H), 3,02 – 2,65 (m, 4H), 1,54 – 1,24 (m, 4H), 0,74 (s, 3H).

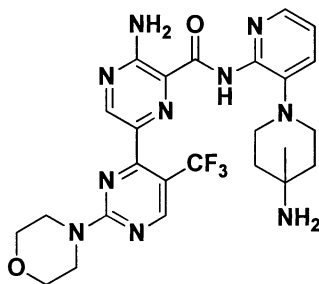
Ví dụ 10: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



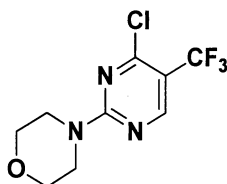
Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, Phương pháp 1 (1,41g) ở hiệu suất 77%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,0 phút, M+H = 489,1 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Metanol-*d*<sub>4</sub>) δ 8,81 (s, 1H),

8,73 (dd,  $J = 4,7, 1,3\text{Hz}$ , 1H), 8,13 (dd,  $J = 4,9, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 8,01 (dp,  $J = 8,4, 1,4\text{Hz}$ , 1H), 7,75 – 7,54 (m, 2H), 7,19 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 3,04 – 2,74 (m, 4H), 1,67 – 1,35 (m, 4H), 0,82 (s, 3H).

Ví dụ 11: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit

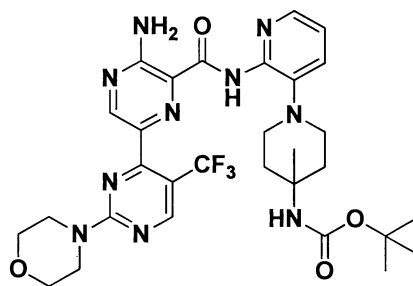


Bước 1: Tổng hợp 4-(4-clo-5-(triflometyl)pyrimidin-2-yl)morpholin



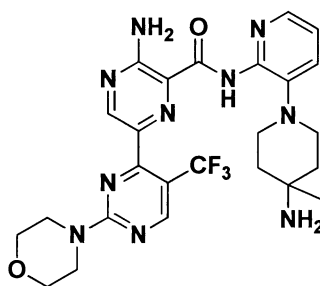
Thêm morpholin (0,897g, 10,3mmol), và dung dịch chứa dicloetan-tert-butanol (1:1, 30ml) vào bình đáy tròn, khuấy trong nitơ và giảm nhiệt trong bể nước đá. Thêm một phần kẽm clorua (5,45g, 40mmol) vào hỗn hợp này và khuấy trong 30 phút sau đó, thêm 2,4-diclo-5-(triflometyl)pyrimidin (2,17g, 10mmol). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ bể nước đá, sau đó, thêm nhanh từng giọt của N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin. Khuấy phản ứng ở nhiệt độ bể nước đá trong 2 giờ và sau đó, làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong khoảng thời gian bổ sung là 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào trong 200ml DCM, khuấy và lọc. Cô đặc dịch lọc và sắc ký trên silicagel sử dụng etyl axetat heptan để thu được 4-(4-clo-5-(triflometyl)pyrimidin-2-yl)morpholin (2,1g, 7,61mmol) ở hiệu suất 76%. LC-MS (phương pháp bazo): thời gian lưu = 1,40 phút,  $M+H = 268,4$ .

Bước 2: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholino-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl) carbamat



Thêm axit 3-amino-6-(2-morpholino-5-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxylic (0,104g, 0,281mmol), đã được điều chế tương tự như trong ví dụ 4, DMF (2ml), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,12ml, 0,689mmol) và 2-(1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouroni hexaflophosphat(V) (0,128g, 0,337mmol) vào ống nắp vặn thể tích 10ml. Khuấy hỗn hợp trong 1 giờ. Thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (0,095g, 0,309mmol) vào hỗn hợp thu được và khuấy trong 20 giờ. Cô đặc phản ứng và thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholino-5-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate ở hiệu suất 14% và được sử dụng trực tiếp. LC-MS (phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,46 phút, M+H = 659,4.

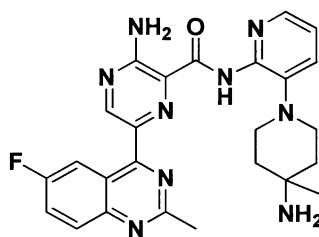
Bước 3: Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino-5-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit



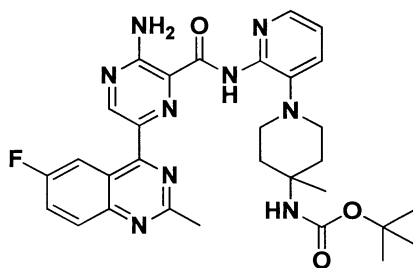
Thêm tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(2-morpholino-5-(trifluoromethyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (0,185g, 0,281mmol) và diclometan (10ml) vào bình thót cổ dung tích 25ml, sau đó, khuấy và giảm nhiệt trong bể nước đá dưới nitơ. Thêm axit trifloaxetic (20ml) vào hỗn hợp thu được và khuấy và sau đó, làm ấm đến nhiệt độ phòng. Khuấy hỗn hợp này trong hai và 0,5 giờ. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sau đó đồng bay hơi với toluen (30ml). Thực hiện quy trình đồng bay hơi này ba lần. Sau đó, sắc ký hỗn hợp bằng phương pháp HPLC 4.

Sau đó, nghiền nhỏ chất rắn thu được với nước nóng, giảm nhiệt. Lọc nguyên liệu rắn thu được và sấy đến khối lượng không đổi tạo ra 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit (0,0104g, 0,281mmol) ở hiệu suất 14%. LC-MS (phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,15 phút, M+H = 559,4. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, Cloform-*d*) δ 10,55 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,69 (s, 1H), 8,29 (dd, *J* = 4,9, 1,6Hz, 1H), 7,45 (dd, *J* = 8,0, 1,7Hz, 1H), 7,32 (s, 0H), 7,10 (dd, *J* = 7,8, 4,8Hz, 1H), 5,64 (d, *J* = 81,5Hz, 1H), 5,32 (s, 1H), 3,97 (t, *J* = 4,8Hz, 4H), 3,81 (t, *J* = 4,7Hz, 4H), 3,06 – 2,75 (m, 4H), 1,61 (ddd, *J* = 13,5, 9,3, 4,0Hz, 2H), 1,42 (dt, *J* = 13,3, 3,9Hz, 2H), 1,26 (s, 4H), 0,97 (s, 3H), 0,94 – 0,76 (m, 1H).

Ví dụ 12: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-methylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit



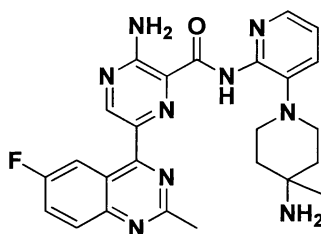
Bước 1: tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-flo-2-methylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate



Loại khí hỗn hợp chứa tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (293mg, 0,529mmol), (4-clo-5-flo-7H-pyrido[2,3-*d*]pyrimidin (125mg, 0,637mmol) và K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (1591μl, 1,591mmol, dung dịch chứa nước 1M) trong dioxan (2ml) bằng dòng N<sub>2</sub> trong 10 phút. Sau đó, thêm PdCl<sub>2</sub>(dppf) (19,41mg, 0,027mmol). Loại khí hỗn hợp phản ứng trong 5 phút và sau đó, gia nhiệt ở 80°C trong môi trường N<sub>2</sub> trong 5 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến RT và lọc qua tấm xelit và rửa bằng DCM.

Thêm nước và DCM vào dịch lọc. Ngoài ra, chiết tiếp pha chứa nước bằng DCM 2x. Cô đặc các pha DCM được kết hợp trong chân không. Hòa tan phần còn lại trong MeOH và một vài giọt nước, sau đó, lọc. Sau đó, dung dịch thu được, phân tách bằng HPLC điều chế (cột C-18, ACN 25-50%/chứa H<sub>2</sub>O/TFA 0,1%). Kết hợp các phân đoạn mong muốn và sau đó, DCM và Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> chứa nước 2M. Ngoài ra, thêm dung dịch để tạo ra pha chứa nước có độ pH=8. Chiết pha chứa nước bằng DCM 2x. Làm bay hơi các pha DCM được kết hợp để tạo thành 141mg (hiệu suất 69%) là tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat. LC/MS: m/z M+H = 588,6

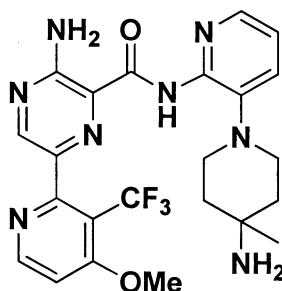
Bước 2: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit



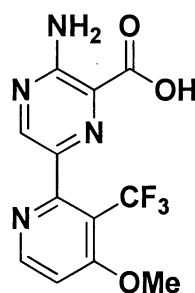
Thêm tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat (128mg, 0,218mmol) trong DCM (2ml) vào dung dịch của TFA (336μL, 4,36mmol) trong DCM (1ml) ở 0°C. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Pha loãng phần thu được bằng DCM và nước, và sau đó, thêm Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2N để đạt được độ pH=12 của pha chứa nước. Chiết pha chứa nước bazơ bằng DCM 3x. Cô đặc các pha hữu cơ kết hợp. Hòa tan phần thu được trong MeOH/MeCN và sau đó, phân tách bằng HPLC điều chế (Cột C18, ACN 10-30%/chứa H<sub>2</sub>O/ TFA 0,1%). Kết hợp các phân đoạn mong muốn và thêm Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2N để đạt được độ pH=11. Chiết dung môi có tính bazơ thu được bằng DCM 3x. Cô đặc các pha DCM kết hợp trong chân không, thu được 74mg (hiệu suất 70%) 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit. LC/MS: m/z M+H = 488,2 <sup>1</sup>H NMR (METANOL-d<sub>4</sub>) δ: 9,15 (s, 1H), 8,52 (dd, J=9,7, 2,9Hz, 1H), 8,17 (dd, J=5,0, 1,5Hz, 1H), 8,10 (dd, J=9,3, 5,3Hz, 1H), 7,87 (ddd, J=9,2, 8,2, 2,9Hz, 1H), 7,68 (dd, J=7,9, 1,6Hz, 1H), 7,21 (dd, J=7,9, 4,9Hz, 1H), 3,37 (s, 2H), 2,93 (s, 3H), 2,80-2,90 (m, 2H), 2,68-2,78 (m, 2H), 0,98-1,07 (m, 2H), 0,87-0,97 (m, 2H), 0,42 (s, 3H)



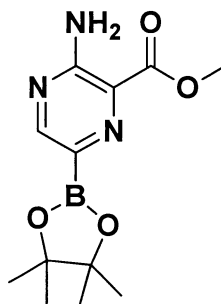
Ví dụ 13: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-methoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



1) Tổng hợp axit 3-amino-6-(4-methoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic



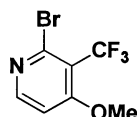
Bước 1. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat



Loại khí hỗn hợp của methyl 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylat (8,8g, 38mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (9,6g, 38mmol), và kali axetat (11g, 110mmol) trong dioxan (200ml) và sau đó, thêm [1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]diclopaladi(II) (1,4g, 1,9mmol). Khuấy hỗn hợp thu được và gia nhiệt ở 80°C trong môi trường nitơ trong 15 giờ. Thêm lượng bổ sung lượng của 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (1,9g, 7,6mmol) và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ nữa. Giảm nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ phòng

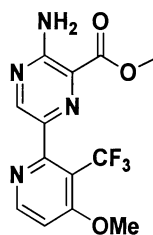
và pha loãng hỗn hợp bằng diclometan và lọc qua tấm diatomit. Cô đặc dịch lọc ở áp suất giảm và tinh sạch bằng sắc ký silicagel với gradien từ 0%-10% metanol trong diclometan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu nâu (9,5g, hiệu suất 90%). LC-MS (phương pháp axit) thời gian lưu= 0,42 phút, M+H = 198,1 (LC-MS phương pháp axit).

## Bước 2. Tổng hợp 2-bromo-4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin



Khuấy hỗn hợp của 2-bromo-4-clo-3-(triflometyl)pyridin (200mg, 0,768mmol) và natri hydroxit chứa nước (6N, 0,640ml) trong metanol (7ml) ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Chiết hỗn hợp bằng etyl axetat (3 x 10ml) và sấy các lớp hữu cơ được kết hợp qua natri sulfat, lọc và cô đặc trong chân không để thu được 165mg, hiệu suất 84%) ở dạng bột màu trắng. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,11 phút, M+H = 257,9.

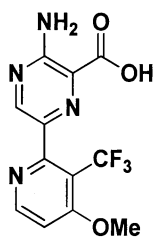
## Bước 3. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat



Loại khí dung dịch chứa methyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (180mg, 0,645mmol), 2-bromo-4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin (165mg, 0,645mmol), và kali phosphat 1M (0,838ml, 0,838mmol) trong tetrahydrofuran (4ml) trong chân không trong 10 phút, và sau đó, thêm clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)paladi (II) (25mg, 0,032mmol). Gia nhiệt hỗn hợp ở 50°C trong môi trường nitơ trong 3 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và pha loãng bằng etyl axetat. Thêm amoni clorua bão hòa vào lớp nước và chiết ngược lại bằng lượng etyl axetat

nhiều hơn. Tinh sạch dung dịch hữu cơ kết hợp bằng sắc ký silicagel với gradien từ 0%-100% etyl axetat trong heptan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng (14mg, hiệu suất 7%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 0,92 phút,  $M+H = 329,3$ .

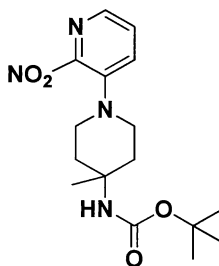
Bước 4. Tổng hợp axit 3-amino-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic



Khuấy hỗn hợp của methyl 3-amino-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (14mg, 0,043mmol) và natri hydroxit chứa nước (6N, 0,071ml, 0,43mmol) trong metanol (3ml) khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 60°C trong 1 giờ. Điều chỉnh độ pH đến 5 bằng cách sử dụng HCl đặc. Cô đặc dung dịch trong chân không (in vacuo) để thu được chất bột màu trắng. Nó được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần bước tinh sạch. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu = 0,81 phút,  $M+H = 315,0$ .

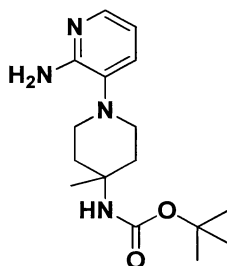
2) Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (4-methyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



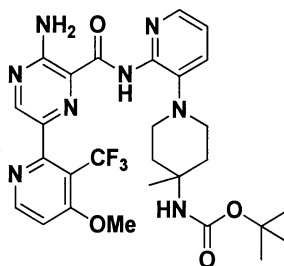
Gia nhiệt hỗn hợp của 3-fluoro-2-nitropyridin (550mg, 3,87mmol), tert-butyl (4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (871mg, 4,06mmol), và triethylamin (1,61ml, 11,6mmol) trong dioxan (10ml) đến 100°C trong 6 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc thu được phần cặn dày. Pha loãng phần thu được bằng nước và chiết bằng diclometan (3 x 20ml). Tinh sạch lớp hữu cơ kết hợp bằng sắc ký silicagel với gradien từ 0%-100% ethyl axetat trong heptan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu vàng (1,3g, hiệu suất 100%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,28 phút, M+H = 337,2.

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate



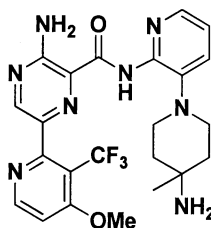
Thêm Pd/C (17mg, 10% Pd trên than ướt) vào dung dịch của tert-butyl (4-methyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (550mg, 1,64mmol) trong ethanol (10ml). Khuấy dung dịch thu được trong môi trường khí hydro cho đến khi tất cả tert-butyl (4-methyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate đã được tiêu thụ. Sau đó, làm sạch hỗn hợp bằng nitơ. Sau đó, lọc hỗn hợp qua tấm xelit. Rửa tấm xelit bằng DMC dư. Cô đặc dịch lọc đến phần cặn dày mà được rắn hóa trong chân không. Sấy chất rắn đến khối lượng không đổi và được sử dụng trực tiếp (500mg, hiệu suất 100%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 0,78 phút, M+H = 308,3.

Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate.



Khuấy hỗn hợp của axit 3-amino-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (14mg, 0,043mmol), tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (13mg, 0,043mmol), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,019ml, 0,11mmol), và (1-xyano-2-etoxi-2-oxoetylidenaminooxy)dimetylaminomorpholino-carben hexaflophosphat (COMU) (44mg, 0,10mmol) trong dimetylformamit (0,4ml) trong môi trường nitơ ở nhiệt độ phòng trong 60 giờ. Cô đặc phần thu được thành chất rắn tối màu được tinh sạch bằng HPLC (Cột Sunfire 30x50mm 5 $\mu$ m ACN/chứa H<sub>2</sub>O/ 75ml TFA 0,1%/phút, thể tích nạp 5mL) để thu được chất rắn màu vàng (25mg, hiệu suất 81%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,18 phút, M+H = 603,2.

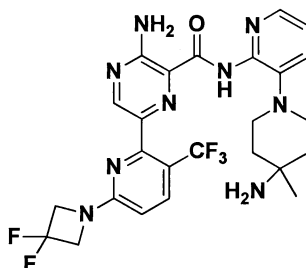
Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



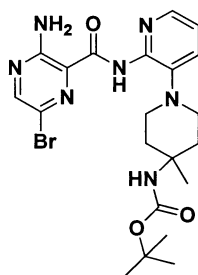
Khuấy hỗn hợp của tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (25mg, 0,041mmol) và axit trifloaxetic (0,32ml, 4,2mmol) trong diclometan (2ml) ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Cô đặc phần thu được đến dạng gôm màu tối mà được tinh sạch bằng HPLC (Cột X-Bridge 30x50mm 5 $\mu$ m ACN/chứa H<sub>2</sub>O/ 75ml NH<sub>4</sub>OH 5mM/phút, thể tích nạp 5mL) để thu được chất rắn màu vàng (5mg, hiệu suất 23%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 0,79 phút, M+H = 502,9. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, METANOL-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  ppm 8,70 (d, *J*=5,77Hz, 1 H) 8,53 (s, 1 H) 8,11 (dd, *J*=5,02, 1,51Hz, 1 H) 7,67 (dd, *J*=7,91, 1,63Hz, 1 H) 7,40 (d, *J*=5,77Hz, 1 H) 7,16

(dd,  $J=7,91, 4,89\text{Hz}$ , 1 H) 4,08 (s, 3 H) 2,85 - 3,00 (m, 2 H) 2,72 - 2,85 (m, 2 H) 1,28 - 1,50 (m, 4 H) 0,81 (s, 3 H).

Ví dụ 14: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid

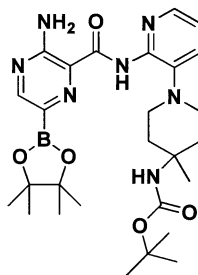


Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate.



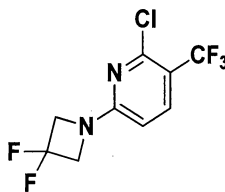
Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, khuấy HBTU (2,23gm, 5,87mmol), axit 3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxylic (1,17gm, 5,39mmol), và N-ethyl-N-isopropylpropan-2-amin (1,28ml, 7,34mmol) trong DMF (15ml) trong 15 phút, sau đó, thêm từng phần tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (1,5gm, 4,9mmol). Khuấy phản ứng trong 16 giờ. Sau đó, rót phản ứng vào DMF và chiết ba lần bằng 50ml etyl axetat. Kết hợp sản phẩm chiết hữu cơ và sấy với nước muối sau đó, bằng natri sulfat khan. Tinh sạch phần còn lại bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien etanol – etyl axetat 0-10% mà thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate tinh khiết (1,86gm, hiệu suất 67,5%) trong lúc làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn này. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,17 phút,  $M+H = 508,3$ .

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate.



Trong bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ, huyền phù hóa tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-bromopyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (1,9gm, 3,7mmol), bis(pinacolato)diboron (1gm, 4mmol) và kali axetat (0,54gm, 5,5mmol) trong dioxan (15ml). Sục khí nitơ vào huyền phù được tạo thành trong 20 phút để loại bỏ oxy được hòa tan. Sau đó, thêm 1,1'-Bis(diphenylphosphino)feroxen]diclopaladi (II) (0,13 gm, 0,18mmol) và gia nhiệt phản ứng đến 90°C trong bể dầu. Sau 3 giờ, loại bỏ các chất dễ bay hơi và huyền phù hóa phần thu được trong etyl axetat mà được rửa bằng nước để loại bỏ kali axetat dư. Hòa tan phần thu được vào trong diclometan và nghiền nhỏ bằng heptan cho đến khi các chất rắn được tạo thành mà được lọc và rửa bằng các phần heptan khác để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (1,32gm, hiệu suất 46%) ở dạng bột màu nâu có độ tinh khiết đủ cho các bước chuyển hóa tiếp theo. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,91 phút, M+H = 554,4.

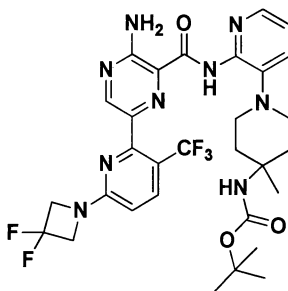
Bước 3. Tổng hợp 2-clo-6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin.



Trong bình đáy tròn thể tích 100ml, hòa tan 2,6-diclo-3-(triflometyl)pyridin (1,25gm, 5,79mmol) vào trong DMF (30ml) cùng với 3,3-difloazetidin (0,75 gm, 5,79mmol) và N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (1,5ml, 8,7mmol). Sau 16 giờ, giảm nhiệt phản ứng, rót vào nước và chiết ba lần bằng 50ml etyl axetat. Sấy các lớp hữu cơ kết hợp với nước muối và natri sulfat khan. Loại bỏ các chất dễ bay hơi và tinh sạch phần còn lại bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0% - 60% etyl axetat trong heptan để thu được 2-clo-6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin tinh khiết

(935mg, hiệu suất 53%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,56 phút, M+H = 273,3.

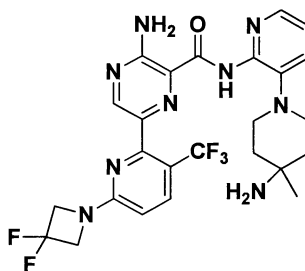
Bước 4. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat.



Trong bình đáy tròn thể tích 10ml, kết hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat (159mg, 0,23mmol) với 2-clo-6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin (50mg, 0,183mmol) và hòa tan vào trong THF cùng với trikaliphosphat chứa nước 1M (0,3ml, 0,3mmol). Loại khí huyền phù bằng cách làm bay hơi và làm sạch với nitơ ba lần sau đó, khuấy trong môi trường nitơ trong 15 phút. Thêm 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]diclopaladi (II) và sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng bằng bể dầu được gia nhiệt trước đến 50°C trong 16 giờ. Loại bỏ các chất dễ bay hơi và hòa tan phần thu được trong DCM và lọc qua xelit. Sau đó, loại bỏ các chất dễ bay hơi và tinh sạch phần còn lại bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0-60% etyl axetat trong heptan để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat mong muốn, tinh khiết (70mg, hiệu suất 54%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,27 phút, M+H = 664,7.

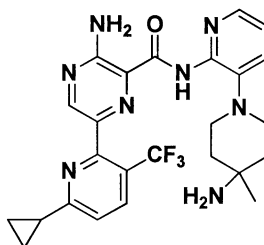
Bước 5. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.



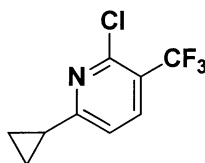


Trong bình đáy tròn 10ml, hòa tan tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate vào trong 1,5ml diclometan và xử lý bằng axit 2,2,2-trifluoaxetic (0,2ml, 2,2mmol). Sau 16 giờ, xử lý phản ứng bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa cho đến khi đạt được độ pH=9. Kết tủa rắn được tạo ra và được tái hòa tan từ từ. Phân tách lớp hữu cơ sau đó, sấy với nước muối, natri sulfat khan và sau đó, làm bay hơi. Tinh sạch phần còn lại bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0 - 10% etanol trong etylaxetat để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit tinh khiết (49mg, hiệu suất 78%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,88 phút, M+H = 564,2.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,64 (s, 1H), 8,11 (dd,  $J = 5,0, 1,5\text{Hz}$ , 1H), 8,03 (d,  $J = 8,8\text{Hz}$ , 1H), 7,65 (dd,  $J = 7,9, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,17 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 6,72 (d,  $J = 8,6\text{Hz}$ , 1H), 4,51 (t,  $J = 12,0\text{Hz}$ , 4H), 2,99 – 2,74 (m, 4H), 1,52 – 1,33 (m, 4H), 0,81 (s, 3H).

Ví dụ 15: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-xyclopropyl-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

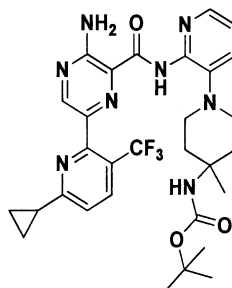


Bước 1. Tổng hợp 2-clo-6-xyclopropyl-3-(trifluoromethyl)pyridin.



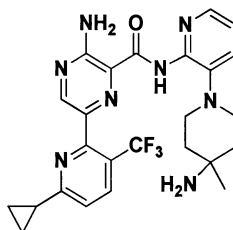
Thêm toluen (20ml), 2,6-diclo-3-(triflometyl)pyridin (3g, 13,8mmol), axit xyclopropylboronic (1,3g, 15,3mmol), trixyclohexyl phosphin (0,39g, 1,4mmol), kali phosphat (3,2g, 15,3mmol) và nước (1ml) vào bình đáy tròn thể tích 100ml. Loại khí huyền phù bằng cách làm bay hơi và làm sạch với nitơ ba lần sau đó, khuấy trong môi trường nitơ trong 15 phút. Thêm diaxetoxypaladi (0,16g, 0,7mmol) và sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng bằng bể dầu được gia nhiệt trước đến 100°C trong 16 giờ. Sau khoảng thời gian này, loại bỏ các chất dễ bay hơi, hòa tan phần thu được trong DCM, lọc và sau đó, tinh sạch bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0 - 60% etyl axetat trong heptan để thu được sản phẩm tinh sạch mong muốn 2-clo-6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin (2gm, hiệu suất 59%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,61 phút, M+H = 222,2.

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl) carbamat



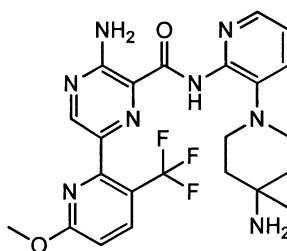
Thêm 2-clo-6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin (50mg, 0,23mmol), dioxan (2ml), tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbamate (156mg, 0,23mmol) và kali phosphat chứa nước 1M (0,29ml, 0,29mmol) vào bình đáy tròn 10ml được trang bị que khuấy từ và được làm sạch với nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được trong môi trường nitơ trong bể dầu ở 90°C cho đến khi toàn bộ 2-clo-6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin được tiêu thụ (16 giờ). Sau đó, giảm nhiệt hỗn hợp và lọc qua tấm xelit. Rửa tấm xelit bằng metylen clorua dư. Cô đặc phần dịch lọc kết hợp đến phần cạn dày và tinh sạch bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0 – 75% etyl axetat trong heptan để thu được (50mg, hiệu suất 34%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,31 phút, M+H = 613,2.

Bước 3. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-xyclopropyl-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

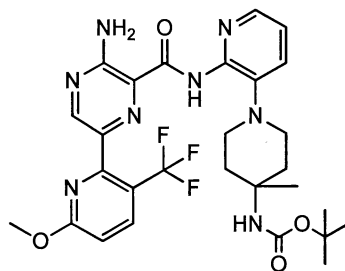


Thêm tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-cyclopropyl-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate, diclometan (2ml) và axit 2,2,2-trifloaxetic (0,1ml, 1,2mmol) vào bình thốt cổ thể tích 10ml. Sau 16 giờ, xử lý phản ứng bằng dung dịch natri bicarbonat chứa nước bão hòa dư cho đến khi đạt được độ pH=9. Phân tách lớp hữu cơ, sau đó, sấy với nước muối và natri sulfat khan. Tinh sạch hợp chất cuối chưa tinh sạch bằng silicagel sử dụng sắc ký gradien từ 0 - 10% etanol trong etyl axetat để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-cyclopropyl-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid tinh khiết (41mg, hiệu suất 93%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,22 phút, M+H = 513,2.  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,63 (s, 1H), 8,14 – 8,09 (m, 2H), 7,64 (dd,  $J$  = 8,0, 1,6Hz, 1H), 7,49 (d,  $J$  = 8,2Hz, 1H), 7,17 (dd,  $J$  = 7,9, 4,9Hz, 1H), 2,97 – 2,73 (m, 4H), 2,26 (ddd,  $J$  = 7,7, 4,5, 2,5Hz, 1H), 1,45 – 1,31 (m, 4H), 1,17 – 1,12 (m, 4H), 0,75 (s, 3H).

Ví dụ 16: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid

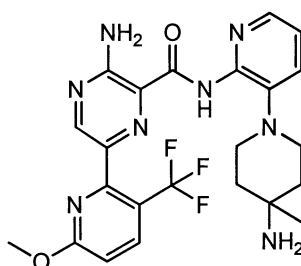


Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate



Trong ống thể tích 40ml được trang bị que khuấy từ, huyền phù hóa 2-clo-6-metoxi-3-(triflometyl)pyridin (*J. Heterocyclic Chem.*, 28, 971 (1991)) (40mg, 0,190mmol), tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metyl piperidin-4-yl)carbamát (100mg, 0,181mmol), PdCl<sub>2</sub>(dppf) (6,61mg, 0,09mmol) và kali phosphat (1M, 0,271ml) trong 1,4-dioxan (2ml), loại khí bằng N<sub>2</sub> trong 10 phút và gia nhiệt đến 90°C trong 4 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến rt và thêm EtOAc (20ml), lọc qua xelit, rửa bằng EtOAc 920ml), cô đặc trong chân không. Tinh sạch chất rắn bằng sắc ký lỏng áp suất cao pha đảo sử dụng phương pháp với gradien trong 3,5 phút từ 35-60% ACN qua cột ACN 5um 30x50mm X-Bridge/chứa H<sub>2</sub>O NH<sub>4</sub>OH 5mM 75ml/phút, nạp 5mL 3 lần để thu được 50mg (chất rắn màu vàng). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,17 phút, M+H = 603,7.

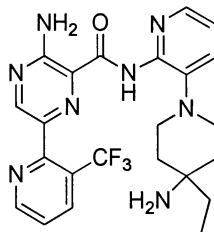
Bước 2. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



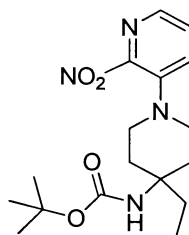
Trong ống thể tích 40ml được trang bị que khuấy từ, thêm axit 2,2,2-trifloaxetic (64ml, 0,830mmol) vào dung dịch của tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(6-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metyl piperidin-4-yl)carbamát (50mg, 0,083mmol) trong diclometan (5ml) và khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ môi trường (ambient). Cô đặc phản ứng trong chân không (in vacuo) và trung hòa hóa để thu được 40mg hợp chất tiêu đề. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,83 phút, M+H = 503,5. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Metanol-d<sub>4</sub>) δ 8,77 (s, 1H), 8,24 –

8,10 (m, 2H), 7,67 (dd,  $J = 8,0, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,21 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 7,03 (d,  $J = 8,8\text{Hz}$ , 1H), 4,08 (s, 3H), 3,37 (s, 1H), 2,94 (ddd,  $J = 12,6, 9,9, 3,1\text{Hz}$ , 2H), 2,84 (dt,  $J = 12,0, 4,6\text{Hz}$ , 2H), 1,51 (ddd,  $J = 13,6, 9,8, 4,1\text{Hz}$ , 2H), 1,39 (dt,  $J = 13,3, 3,8\text{Hz}$ , 2H), 0,82 (s, 3H).

Ví dụ 17: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid

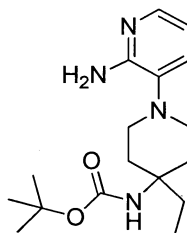


Bước 1. Tổng hợp tert-butyl (4-ethyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate.



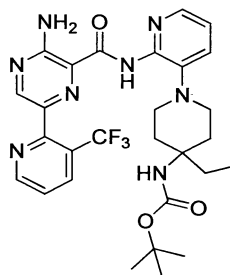
Thêm 3-fluor-2-nitropyridin (205mg, 1,44mmol), tert-butyl piperidin-4-ylcarbamate (329mg, 1,443mmol), N-ethyl-N-isopropylpropan-2-amin (559mg, 4,33mmol) trong ethanol (10ml) vào ống vi sóng được trang bị que khuấy từ. Gia nhiệt hỗn hợp trong thiết bị phản ứng vi sóng Biotage ở  $100^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút. Giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc thu được phần cặn dày. Tinh sạch phần còn lại bằng sắc ký silicagel (sử dụng metanol/diclorometan làm chất rửa giải) để thu được tert-butyl (4-ethyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (337mg, hiệu suất 67%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,45 phút,  $M+H = 351,0$   $^1\text{H}$  NMR (400MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,04 (dd,  $J = 4,4, 1,3\text{Hz}$ , 1H), 7,89 (dd,  $J = 8,3, 1,4\text{Hz}$ , 1H), 7,63 (dd,  $J = 8,3, 4,4\text{Hz}$ , 1H), 6,52 (s, 1H), 3,02 – 2,91 (m, 4H), 2,18 – 2,06 (m, 2H), 1,62 (q,  $J = 7,4\text{Hz}$ , 2H), 1,43 – 1,31 (m, 11H), 0,75 (t,  $J = 7,4\text{Hz}$ , 3H).

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbamate.



Thêm tert-butyl (4-ethyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (337mg, 0,96mmol), etanol (10ml) và Pd/C (41mg, 10% Pd trên than ướt) vào bình đáy tròn được trang bị que khuấy từ và được làm sạch với nitơ. Khuấy dung dịch thu được trong môi trường khí hydro cho đến khi tất cả tert-butyl (4-ethyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate được tiêu thụ. Lọc phản ứng qua tấm xelit, sau đó, nghiền với metanol và etyl axetat. Cô đặc dịch lọc trong chân không (in vacuo), sau đó, hòa tan phần thu được trong diclometan và lọc qua tấm magie sulfat ngấn. Cô đặc dịch lọc để thu được tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbamate, ở dạng chất rắn màu trắng (268mg, hiệu suất 87%). LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,32 phút, M+H = 321,1.

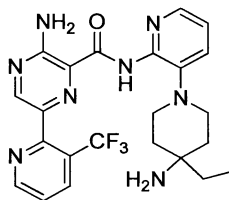
Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbamate.



Thêm axit 3-amino-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (61mg, 0,22mmol), 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylamine hexafluorophosphate (120mg, 0,32mmol), N-ethyl-N-isopropylpropan-2-amine (73mg, 0,56mmol) trong DMF (2ml) vào ống nháp nháy dung tích 20ml được trang bị que khuấy từ. Khuấy hỗn hợp trong 5 phút ở rt, sau đó, thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbamate (60mg, 0,187mmol). Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm ở rt, sau đó, nó được lọc. Cô đặc dịch lọc, sau đó, tinh sạch phần còn lại bằng HPLC pha đảo (gradient 3,5 phút ACN từ 35-60%, cột ACN 5 $\mu$ m 30x50mm X-Bridge/chứa H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>OH 5mM, 75ml/phút, 4 lần nạp với dung tích 1,5ml/lần) để thu được tert-butyl (1-(2-(3-

amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbammat (81mg, hiệu suất 66%). LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 1,42 phút, M+H = 587,0.

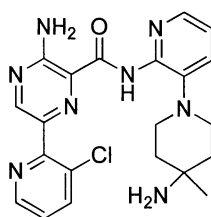
Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.



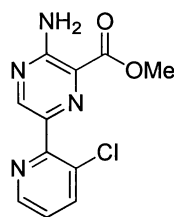
Thêm tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbammat (81mg, 0,14mmol) và 1,4-dioxan (1ml) vào ống nháp nháy dung tích 20ml được trang bị thanh khuấy từ. Sau đó, thêm dung dịch HCl 4N/1,4-dioxan (0,69ml, 2,76mmol) theo kiểu từng giọt. Khuấy hỗn hợp thu được ở rt trong 3 giờ, ở thời điểm này, tất cả tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-ethylpiperidin-4-yl)carbammat đã được tiêu thụ. Thêm axetonitril vào hỗn hợp phản ứng, sau đó, lọc chất rắn và nghiền với axetonitril bổ sung. Sấy chất rắn thu được trên máy đông khô để thu được

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (57mg, hiệu suất 77%), ở dạng muối clohydric của nó. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,83 phút, M+H = 487,2.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,59 (s, 1H), 8,98 (dd,  $J = 4,9, 1,5\text{Hz}$ , 1H), 8,81 (s, 1H), 8,44 (dd,  $J = 8,1, 1,5\text{Hz}$ , 1H), 8,20 (dd,  $J = 5,1, 1,5\text{Hz}$ , 1H), 8,08 (s, 5H), 7,81 – 7,71 (m, 2H), 7,33 (dd,  $J = 7,9, 5,1\text{Hz}$ , 1H), 3,17 – 3,07 (m, 2H), 2,93 – 2,84 (m, 2H), 1,68 – 1,58 (m, 2H), 1,35 – 1,26 (m, 2H), 1,06 (q,  $J = 7,5\text{Hz}$ , 2H), 0,53 (t,  $J = 7,5\text{Hz}$ , 3H).

Ví dụ 18: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

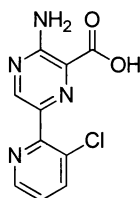


Bước 1. Tổng hợp metyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat.



Nạp metyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (906mg, 3,25mmol), 2-bromo-3-clopyridin (500mg, 2,6mmol), PdCl<sub>2</sub>(dppf) DCM (149mg, 0,18mmol), kali phosphat (3,6ml, 3,6mmol, 1M aq.) và THF (10ml) vào trong bình đáy tròn được trang bị que khuấy từ và cực nitor. Loại khí phản ứng bằng nitor trong 5 phút, sau đó, gia nhiệt đến 55°C trong môi trường nitor trong 16 giờ. Sau khi giảm nhiệt đến rt, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng etyl axetat, sau đó, phân tách các lớp. Sấy lớp hữu cơ với natri sulfat, sấy và cô đặc. Tinh sạch phần thu được bằng sắc ký silicagel (sử dụng gradien etyl axetat/heptan 30-70% làm chất rửa giải) để thu được metyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (191mg). Do độ tinh khiết của sản phẩm thấp, nó được tái tinh sạch bằng HPLC pha đảo (gradien 3,5 phút ACN 15-40%, cột ACN 5μm 30x50mm X-Bridge/chứa H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>OH 5mM, 75ml/phút., 2 lần nạp với dung tích 1,5ml/lần) để thu được metyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (91mg, hiệu suất 13%). LC-MS (Phương pháp bazo): thời gian lưu= 0,92 phút, M+H = 265,0.

Bước 2. Tổng hợp metyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat.

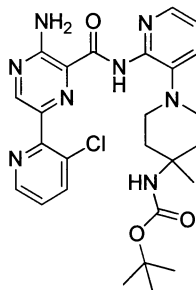


Trong bình đáy tròn được trang bị que khuấy từ, hòa tan metyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (91mg, 0,34mMol) trong metanol (4ml) ở rt. Thêm Lithi hydroxit (0,52ml, 1,03 mmol, 2N aq.) ở rt và khuấy trong 16 giờ. Loại bỏ các chất dễ bay hơi trong chân không, sau đó, axit hóa phần thu được chứa nước bằng HCl chứa nước 2N cho đến khi đạt được độ pH=2.



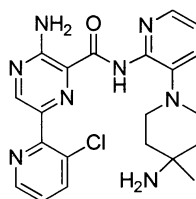
Lọc kết tủa thu được và nghiền với nước, sau đó, sấy trên máy đông khô để thu được methyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (77mg, hiệu suất 89%), ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,68 phút,  $M+H = 251,4$ .

Bước 3. Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat.



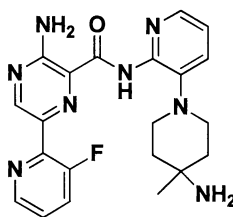
Thêm methyl 3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (38mg, 0,15mmol), 2-(1H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylammin hexaflophosphat (84mg, 0,22mmol), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (51mg, 0,39mmol) trong DMF (1,5ml) vào ống nháp nháy dung tích 20ml được trang bị thanh khuấy từ. Khuấy hỗn hợp trong 5 phút ở rt, sau đó, thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat (40mg, 0,13mmol). Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm ở rt, sau đó, nó được lọc. Cô đặc dịch lọc, sau đó, tinh sạch phần còn lại bằng HPLC pha đảo (gradient 3,5 phút ACN từ 35-60%, cột ACN 5 $\mu$ m 30x50mm X-Bridge/chứa H<sub>2</sub>O/5ml NH<sub>4</sub>OH, 75ml/phút., 3 lần nạp với dung tích 1,5ml/lần) để thu được tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbammat (46mg, hiệu suất 65%), LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,35 phút,  $M+H = 538,9$ .

Bước 4. Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit.

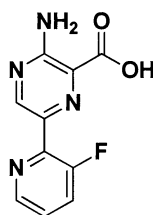


Thêm tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (46mg, 0,085mmol) và diclometan (1ml) vào ống nhấp nháy dung tích 20ml được trang bị thanh khuấy từ. Sau đó, thêm axit trifloaxetic (146mg, 1,28mmol) theo kiểu từng giọt. Khuấy hỗn hợp thu được ở rt trong 16 giờ, ở thời điểm này, tất cả tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-etyl piperidin-4-yl)carbamate đã được tiêu thụ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, sau đó, thêm diclometan và dung dịch natri carbonat chứa nước 2N vào phần thu được ở hai pha. Phân tách pha (lớp) hữu cơ và pha (lớp) chứa nước. Rửa lớp hữu cơ một lần bằng dung dịch natri carbonat chứa nước 2N bổ sung, sau đó, sấy với natri sulfat, lọc và cô đặc. Tinh sạch hỗn hợp thô bằng HPLC pha đảo (gradient 3,5 phút ACN 25-50%, cột ACN 5 $\mu$ m 30x50mm X-Bridge/chứa H<sub>2</sub>O/NH<sub>4</sub>OH 5mM, 75ml/phút, 2 lần nạp với thể tích 1,5ml/lần) để thu được 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (25mg, hiệu suất 67%), LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,75 phút, M+H = 439,0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10,82 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,67 (dd, *J* = 4,7, 1,5Hz, 1H), 8,14 – 8,06 (m, 2H), 7,59 (dd, *J* = 7,9, 1,7Hz, 1H), 7,52 (dd, *J* = 8,2, 4,6Hz, 1H), 7,15 (dd, *J* = 7,9, 4,8Hz, 1H), 2,97 – 2,88 (m, 2H), 2,77 – 2,67 (m, 2H), 1,46 – 1,22 (m, 6H), 0,71 (s, 3H).

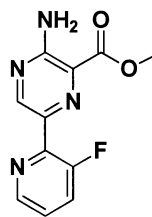
Ví dụ 19: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic

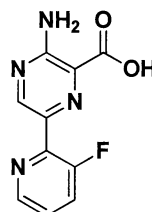


Bước 1. Tổng hợp methyl 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat



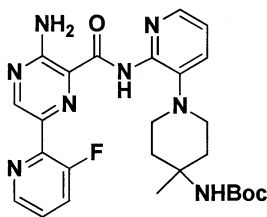
Nạp methyl 3-amino-6-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (515mg, ~80%, 1,847mmol),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-DCM}$  (81mg, 0,099mmol), 2-bromo-3-flopyridin (250mg, 1,421mmol), xesi carbonat (741mg, 2,273mmol) và dioxan (24ml) vào ống vi sóng được trang bị thanh khuấy. Loại khí hỗn hợp trong 5 phút, sau đó, gia nhiệt hỗn hợp trong máy phản ứng vi sóng ở  $110^\circ\text{C}$  trong 45 phút. Sau khi giảm nhiệt đến rt, lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, rửa bằng EtOAc (35ml) và cô đặc trong áp suất giảm. Sau đó, pha loãng phần thu được bằng MeOH (25ml) mà dẫn đến sự kết tủa của chất rắn màu nâu. Bước lọc chất rắn này thu được 250mg methyl 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat. LC-MS (Phương pháp 3, bazơ): thời gian lưu = 0,84 phút,  $\text{M}+\text{H} = 249,0$ .

Bước 2. Tổng hợp axit 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic



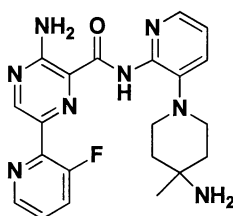
Trong ống thể tích 40ml, hòa tan một phần methyl 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylat (950mg, 3,83mmol) trong metanol (5ml). Thêm LiOH (860mg, 11,48mmol) trong nước (0,5ml) vào hỗn hợp này và khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Chất rắn được kết tủa trong suốt phản ứng và được lọc để thu được 1,13g axit 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 0,70 phút,  $\text{M}+\text{H} = 235,2$ .

Bước 3: Tổng hợp tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)carbamate



Thêm tert-butyl (1-(2-aminopyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (654mg, 2,135mmol), HBTU (1619mg, 4,27mmol) và DIPEA (1,492ml, 8,54mmol) vào dung dịch của axit 3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (500mg, 2,135mmol) trong DCM/DMA (2:1, 4ml/2ml). Khuấy phản ứng ở rt trong 16 giờ, sau đó, làm ngừng phản ứng bằng nước. Sau đó, pha loãng phản ứng bằng DCM (25ml) và rửa bằng nước (15ml) và nước muối (15ml). Sau đó, phân tách lớp hữu cơ, sấy qua  $\text{MgSO}_4$  và làm bay hơi để thu được chất rắn màu nâu nhạt mà sau đó, tinh sạch qua HPLC bazơ thu được 424,5mg tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,32 phút,  $\text{M}+\text{H} = 523,3$ .

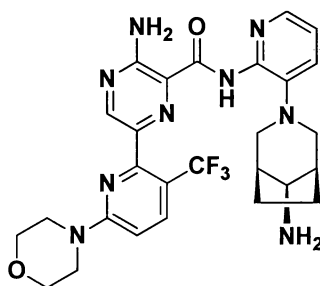
4) Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



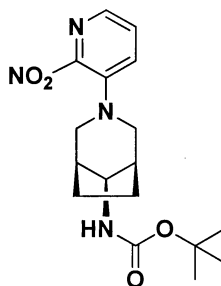
Trong ống thể tích 40ml, hòa tan tert-butyl (1-(2-(3-amino-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-4-methylpiperidin-4-yl)carbamate (424,5mg, 0,812mmol) trong DCM (2,5ml). Thêm từ từ HCl/dioxan (2031 $\mu\text{L}$ , 8,12mmol) vào hỗn hợp này. Chất rắn màu cam được tạo ra trong suốt bước bổ sung này. Khuấy phản ứng trong 18 giờ trước khi lọc kết tủa này. Sau đó, pha loãng chất rắn thu được bằng  $\text{NaHCO}_3$  (10mL), và chiết bằng DCM (2x15mL). Kết hợp các lớp hữu cơ, sấy qua  $\text{MgSO}_4$  và làm bay hơi để thu được 170mg 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 0,98 phút,  $\text{M}+\text{H} = 423,3$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10,81 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,58 (dd,  $J = 4,3, 1,8\text{Hz}$ , 1H), 8,11 (dd,  $J = 4,8, 1,6\text{Hz}$ ,

2H), 7,90 (ddd,  $J = 11,3, 8,4, 1,3\text{Hz}$ , 2H), 7,65 – 7,52 (m, 2H), 7,16 (dd,  $J = 7,8, 4,8\text{Hz}$ , 1H), 3,57 (s, 1H), 2,96 (td,  $J = 11,0, 2,7\text{Hz}$ , 2H), 2,74 (dt,  $J = 11,6, 4,2\text{Hz}$ , 2H), 1,50 (ddd,  $J = 13,7, 10,3, 3,8\text{Hz}$ , 2H), 1,39 – 1,26 (m, 4H), 0,79 (s, 3H).

Ví dụ 20: 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

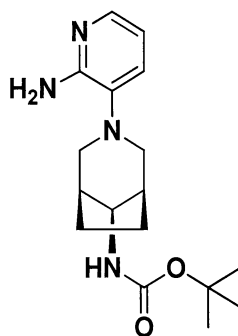


Bước 1: Tổng hợp tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-nitropyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate



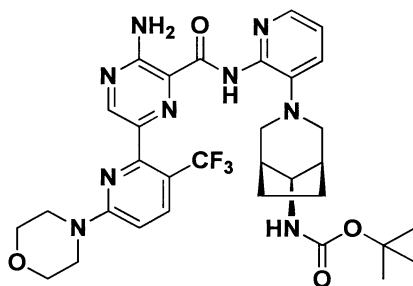
Thêm 3-flo-2-nitropyridin, (0,56g, 3,94mmol), tert-butyl (1R,5S,8s)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-ylcarbamate (0,849g, 3,75mmol), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin, (1,11g, 8,59mmol) và tetrahydrofuran (14ml) và dụng cụ khuấy từ vào bình hình quả lê thể tích 25ml. Khuấy hỗn hợp trong môi trường nitơ và gia nhiệt ở 70°C trong 1 ngày. Sau đó, giảm nhiệt hỗn hợp và cô đặc đến phần cặn dày và sắc ký trực tiếp trên silicagel (etyl axetat-heptan) để thu được tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-nitropyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (0,993g, 2,71mmol) ở hiệu suất 72%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,41 phút,  $M+H = 349,6$ .

Bước 2: Tổng hợp tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-aminopyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate



Thêm tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-nitropyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (0,99g, 2,84mmol), etyl axetat (50ml) và paladi 10% trên cacbon ướt (1g) vào bình đáy tròn thể tích 100ml. Làm sạch bình bằng hydro và khuấy trong bóng hydro trong 16 giờ. Sau đó, thêm vào hỗn hợp thu được  $\text{MgSO}_4$  (5g) và khuấy. Sau đó, lọc hỗn hợp qua tấm chứa  $\text{MgSO}_4$  trong điều kiện nón khí nitơ. Cô đặc dịch lọc đến khô để thu được tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-aminopyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (2,52g, 1,322mmol) ở hiệu suất 98%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,00 phút,  $\text{M}+\text{H} = 319,5$ .

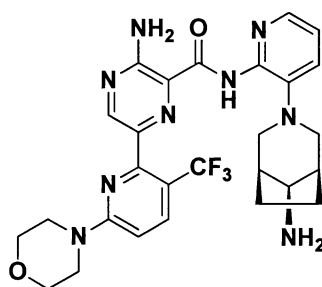
Bước 3: Tổng hợp tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate



Thêm axit 3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxylic (0,257g, 0,696mmol) được điều chế tương tự như trong ví dụ 1 (Phương pháp 1), DMF (2,5ml), N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,334g, 0,2,58mmol) và 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouron hexaflophosphat(V) (0,421g, 1,107mmol) vào ống nắp vận thể tích 10ml. Khuấy hỗn hợp trong 15 phút. Thêm tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-aminopyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (0,235g, 0,738mmol) vào hỗn hợp thu được và khuấy trong 18 giờ. Cô

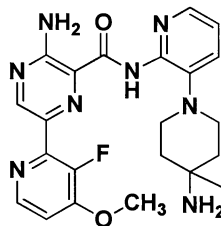
đặc phản ứng và tinh sạch bằng sắc ký silicagel sử dụng etyl axetat và heptan để thu được tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (0,494g, 0,556mmol) ở hiệu suất 80%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,28 phút, M+H = 670,8.

Bước 4: Tổng hợp 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Thêm que khuấy từ, tert-butyl ((1R,5S,8s)-3-(2-(3-amino-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamido)pyridin-3-yl)-3-azabixyclo[3,2,1]octan-8-yl)carbamate (0,61g, 0,923mmol) và diclometan (10ml) vào bình thót cổ thể tích 100ml. Khuấy hỗn hợp cho đến khi tất cả các chất rắn được hòa tan và sau đó, giảm nhiệt trong bể nước đá trong môi trường nitơ. Thêm axit trifloaxetic (25ml) vào hỗn hợp này. Loại bỏ bể nước đá và khuấy hỗn hợp trong 2,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, cô đặc hỗn hợp và sau đó, đồng bay hơi phần còn lại với toluen (30ml) 3 lần để thu được phần cặn dày. Tinh sạch phần còn lại bằng phương pháp HPLC pha đảo để thu được 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit (0,084g, 0,277mmol) ở hiệu suất 15%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,12 phút, M+H = 570,6. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Cloform-*d*) δ 10,48 (s, 3H), 8,56 (s, 3H), 8,22 (d, *J* = 4,8Hz, 3H), 7,77 (d, *J* = 9,0Hz, 3H), 7,37 (d, *J* = 7,9Hz, 3H), 6,99 (dd, *J* = 8,0, 4,8Hz, 3H), 6,58 (d, *J* = 9,0Hz, 3H), 3,90 – 3,67 (m, 12H), 3,59 (t, *J* = 4,8Hz, 12H), 3,06 – 2,74 (m, 9H), 2,66 (d, *J* = 10,7Hz, 6H), 1,83 (s, 6H), 1,20 (d, *J* = 12,5Hz, 16H).

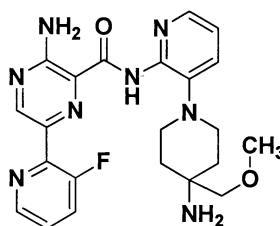
Ví dụ 21: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoro-4-methoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (0,185g) ở hiệu suất 56%. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 1,11 phút,  $M+H = 453,2$

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,83 (s, 1H), 8,91 (s, 1H), 8,41 (d,  $J = 5,5\text{Hz}$ , 1H), 8,11 (dd,  $J = 4,8, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,62 (dd,  $J = 7,9, 1,7\text{Hz}$ , 1H), 7,33 (t,  $J = 5,8\text{Hz}$ , 1H), 7,16 (dd,  $J = 7,8, 4,8\text{Hz}$ , 1H), 3,97 (s, 3H), 2,95 (dd,  $J = 12,2, 9,5\text{Hz}$ , 2H), 2,82 - 2,66 (m, 2H), 1,53 (ddd,  $J = 13,7, 10,4, 3,9\text{Hz}$ , 2H), 1,44 - 1,13 (m, 4H), 0,82 (s, 3H).

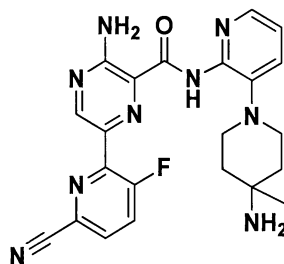
Ví dụ 22: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (0,01g) ở hiệu suất 58%. LC-MS (phương pháp bazơ): thời gian lưu = 2,11 phút,  $M+H = 452,2$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,91 (d,  $J = 1,2\text{Hz}$ , 1H), 8,57 (dt,  $J = 4,6, 1,5\text{Hz}$ , 1H), 8,13 (dd,  $J = 5,0, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,83 (ddd,  $J = 10,9, 8,4, 1,3\text{Hz}$ , 1H), 7,70 (dd,  $J = 7,9, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,57 (ddd,  $J = 8,3, 4,6, 3,8\text{Hz}$ , 1H), 7,20 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 3,48 (q,  $J = 7,0\text{Hz}$ , 7H), 3,23 (s, 19H), 3,06 - 2,84 (m, 6H), 1,66 (ddd,  $J = 14,8, 11,1, 4,3\text{Hz}$ , 2H), 1,52 (dt,  $J = 13,1, 3,0\text{Hz}$ , 2H), 1,18 (t,  $J = 7,0\text{Hz}$ , 10H).

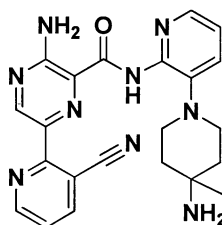


Ví dụ 23: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-cyano-3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-cyano-3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 7, phương pháp 2 (0,016g) ở hiệu suất 78%. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 0,72 phút,  $M+H = 448,3$ .  $^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  ppm 0,79 (s, 3 H) 1,29 - 1,38 (m, 2 H) 1,39 - 1,52 (m, 2 H) 2,73 (d,  $J=11,80$ Hz, 2 H) 2,96 (t,  $J=9,79$ Hz, 2 H) 3,17 (d,  $J=3,51$ Hz, 3 H) 4,12 (d,  $J=4,27$ Hz, 1 H) 7,17 (dd,  $J=7,78$ , 4,77Hz, 1 H) 7,62 (dd,  $J=7,78$ , 1,51Hz, 1 H) 8,11 (dd,  $J=4,77$ , 1,51Hz, 1 H) 8,18 - 8,29 (m, 2 H) 8,93 (s, 1 H) 10,70 (s, 1 H).

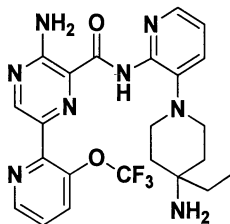
Ví dụ 24: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyanopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyanopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, Phương pháp 1 (0,109g) ở hiệu suất 69%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 1,92 phút,  $M+H = 429,2$ .

$^1H$  NMR (400 MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$  10,56 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 8,95 (dd,  $J = 4,8$ , 1,7Hz, 1H), 8,52 (dd,  $J = 8,0$ , 1,7Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,26 - 8,15 (m, 5H), 7,87 - 7,60 (m, 3H), 7,35 (dd,  $J = 7,9$ , 5,0Hz, 1H), 3,20 - 3,02 (m, 3H), 2,97 - 2,79 (m, 3H), 2,01 - 1,73 (m, 3H), 1,64 (ddd,  $J = 13,5$ , 9,2, 4,1Hz, 2H), 1,36 (s, 1H), 1,05 (s, 3H).

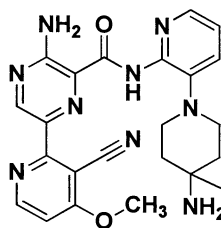
Ví dụ 25: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (3,15g) ở hiệu suất 83%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,02 phút, M+H= 503,2.

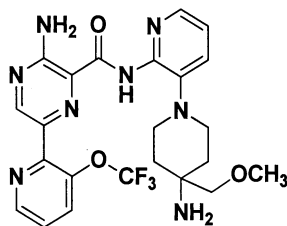
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,80 (s, 1H), 8,84 (s, 1H), 8,76 (dd,  $J$  = 4,7, 1,3Hz, 1H), 8,16 (br s, 1H), 8,10 (dd,  $J$  = 4,8, 1,6Hz, 1H), 8,07 (dt,  $J$  = 8,4, 1,4Hz, 1H), 7,96 (br s, 1H), 7,65 (dd,  $J$  = 8,4, 4,6Hz, 1H), 7,59 (dd,  $J$  = 7,9, 1,6Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J$  = 7,8, 4,8Hz, 1H), 2,95 (td,  $J$  = 11,5, 2,9Hz, 2H), 2,75 - 2,68 (m, 2H), 1,35 - 1,18 (m, 4H), 1,07 (s, 2H), 0,81 (q,  $J$  = 7,4Hz, 2H), 0,56 (t,  $J$  = 7,4Hz, 3H).

Ví dụ 26: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 7, Phương pháp 2 (0,018g) ở hiệu suất 49%. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,69 phút, M+H= 460,2.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, METANOL- $d_4$ )  $\delta$  ppm 0,92 (s, 4 H) 1,56 (d,  $J$ =13,05Hz, 2 H) 1,65 - 1,80 (m, 2 H) 2,90 - 2,98 (m, 2 H) 2,98 - 3,07 (m, 2 H) 4,13 (s, 3 H) 7,24 (dd,  $J$ =8,03, 5,02Hz, 1 H) 7,31 (d,  $J$ =6,02Hz, 1 H) 7,71 (dd,  $J$ =7,91, 1,38Hz, 1 H) 8,14 (dd,  $J$ =4,89, 1,38Hz, 1 H) 8,74 (d,  $J$ =6,02Hz, 1 H) 9,11 (s, 1 H).

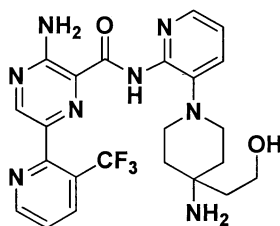
Ví dụ 27: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, Phương pháp 1 (0,018g) ở hiệu suất 49%. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 0,79 phút,  $M+H = 519,2$ .

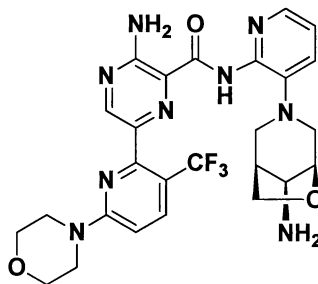
$^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,78 (s, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,79 (dd,  $J = 4,6, 1,3$ Hz, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,14 - 8,06 (m, 2H), 7,98 (s, 1H), 7,69 (dd,  $J = 8,3, 4,6$ Hz, 1H), 7,59 (dd,  $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J = 7,9, 4,8$ Hz, 1H), 3,09 (s, 3H), 2,97 (d,  $J = 11,6, 2,7$ Hz, 2H), 2,73 (dt,  $J = 11,4, 3,7$ Hz, 2H), 2,61 (s, 2H), 1,37 (dt,  $J = 11,9, 6,5$ Hz, 3H), 1,31 - 1,21 (m, 2H).

Ví dụ 28: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (0,039g) ở hiệu suất 38%. LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu = 0,96 phút,  $M+H = 503,2$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  10,61 (s, 1H), 8,95 (dd,  $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,40 (dd,  $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 8,22 - 8,06 (m, 2H), 7,97 (br s, 1H), 7,71 (dd,  $J = 8,0, 4,8$ Hz, 1H), 7,56 (dd,  $J = 7,9, 1,7$ Hz, 1H), 7,16 (dd,  $J = 7,9, 4,8$ Hz, 1H), 4,77 (s, 1H), 3,29 (t,  $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,94 - 2,83 (m, 2H), 2,71 - 2,63 (m, 2H), 1,39 (s, 2H), 1,27 - 1,13 (m, 4H), 0,92 (t,  $J = 6,6$ Hz, 2H).

Ví dụ 29: 3-amino-N-(3-((1S,5R,8S)-8-amino-6-oxa-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



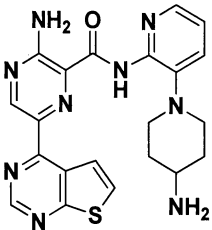
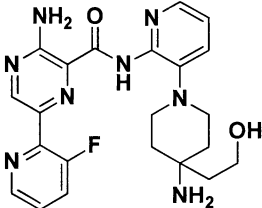
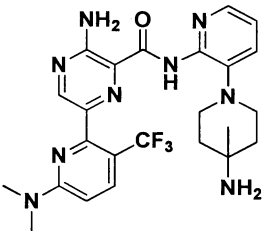
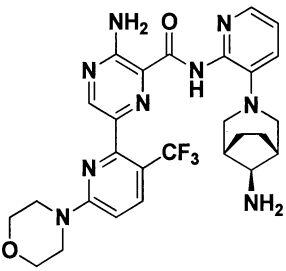
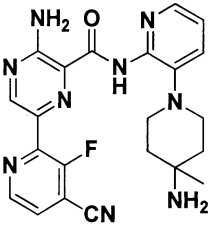
Điều chế 3-amino-N-(3-((1S,5R,8S)-8-amino-6-oxa-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1 (0,069g) ở hiệu suất 14%. LC-MS (phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,69 phút, M+H= 572,6. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Cloform-*d*) δ 10,35 (s, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,22 (d, *J* = 4,8Hz, 1H), 7,80 (d, *J* = 8,9Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 7,9Hz, 1H), 7,00 (dd, *J* = 7,9, 4,8Hz, 1H), 6,59 (d, *J* = 9,0Hz, 1H), 3,99 (d, *J* = 8,3Hz, 1H), 3,87 (d, *J* = 4,2Hz, 1H), 3,85 – 3,67 (m, 4H), 3,69 – 3,54 (m, 4H), 3,29 (dd, *J* = 8,2, 4,8Hz, 1H), 3,21 – 2,93 (m, 3H), 2,81 (dd, *J* = 27,2, 11,4Hz, 2H).

Các ví dụ 30-85

Các ví dụ 30-85, được điều chế theo các phương pháp tổng hợp (Các phương pháp 1-6) được bộc lộ ở trên, được tóm tắt trong bảng 1.

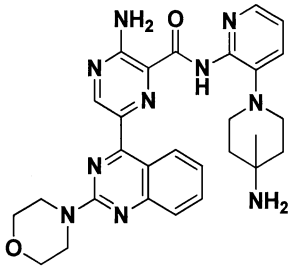
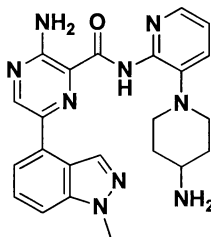
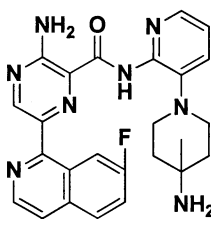
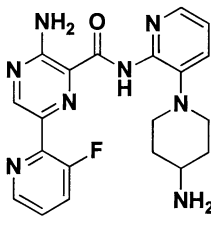
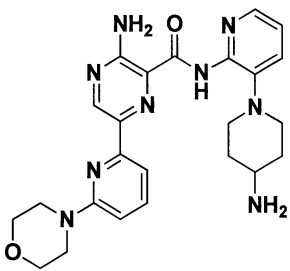
Bảng 1

|    | Tên hợp chất                                                                                                | Cấu trúc | Phương pháp tổng hợp | MS (M+H) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------|----------|
| 30 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5,6,7,8-tetrahydroquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit |          | Phương pháp 1        | 446,2    |

|    |                                                                                                                                               |                                                                                      |               |       |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 31 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                         |     | Phương pháp 3 | 448,2 |
| 32 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                |    | Phương pháp 1 | 453,2 |
| 33 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit              |   | Phương pháp 1 | 516,2 |
| 34 | 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 1 | 570,6 |
| 35 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-xyano-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                  |   | Phương pháp 3 | 448,2 |

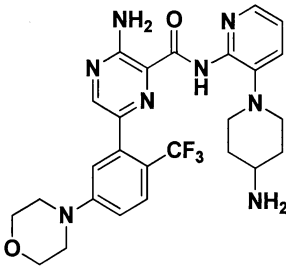
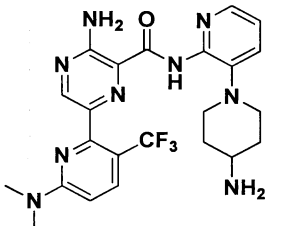
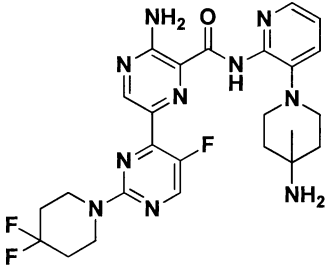
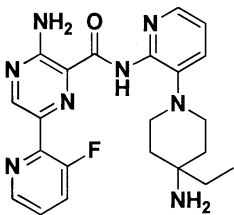
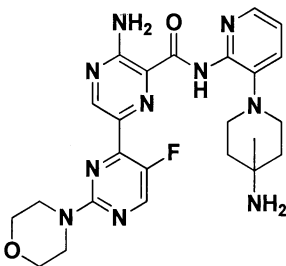
|    |                                                                                                                                  |  |               |       |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 36 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-methoxyethyl) piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide   |  | Phương pháp 1 | 517,2 |
| 37 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide |  | Phương pháp 1 | 558,6 |
| 38 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-floquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamide                         |  | Phương pháp 3 | 474,2 |
| 39 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-fluoro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamide              |  | Phương pháp 3 | 449,2 |
| 40 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinophenyl)pyrazin-2-carboxamide                                    |  | Phương pháp 2 | 474,4 |

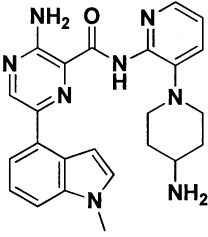
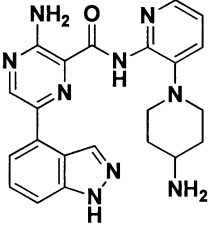
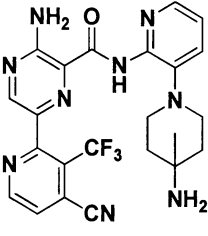
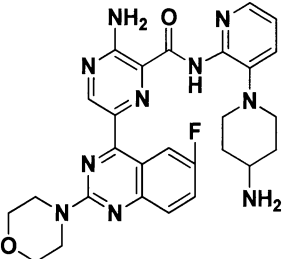
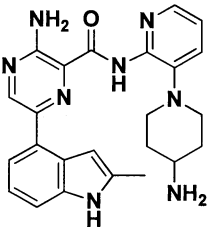
|    |                                                                                                                                                |  |               |       |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 41 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3,6-bis(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                     |  | Phương pháp 1 | 527,2 |
| 42 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                          |  | Phương pháp 1 | 557,6 |
| 43 | (±) 3-amino-N-(3-((cis)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                         |  | Phương pháp 1 | 493,9 |
| 44 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                           |  | Phương pháp 1 | 477,3 |
| 45 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(3,6-dihydro-2H-pyran-4-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 1 | 555,2 |

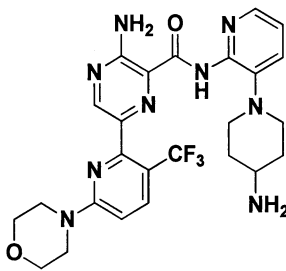
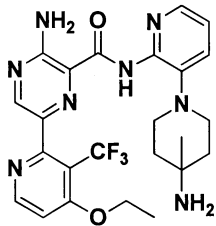
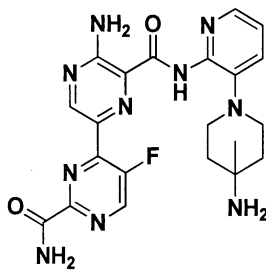
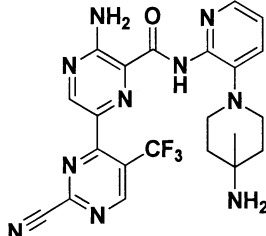
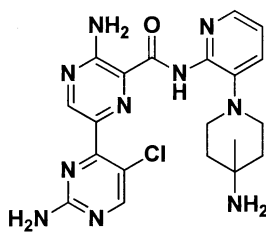
|    |                                                                                                                |                                                                                      |               |       |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 46 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamid |    | Phương pháp 3 | 541,3 |
| 47 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-methyl-1H-indazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamid             |     | Phương pháp 3 | 444,5 |
| 48 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-floisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamid       |    | Phương pháp 3 | 473,2 |
| 49 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                    |   | Phương pháp 1 | 409,2 |
| 50 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholinopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid             |  | Phương pháp 1 | 476,6 |

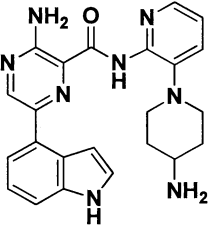
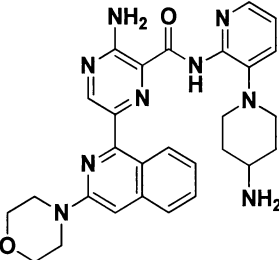
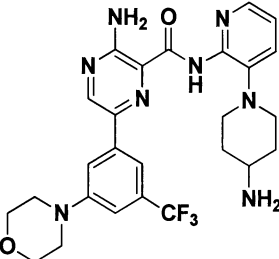
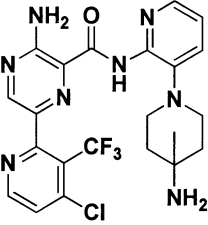
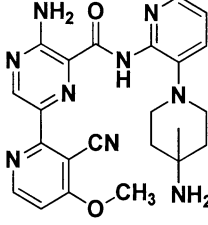


|    |                                                                                                                         |  |               |       |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 51 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinophenyl)pyrazin-2-carboxamit                            |  | Phương pháp 2 | 475,6 |
| 52 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-cloisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit                |  | Phương pháp 3 | 490,2 |
| 53 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(azetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 1 | 514,5 |
| 54 | 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit    |  | Phương pháp 1 | 493,2 |
| 55 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(triflometyl)-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                 |  | Phương pháp 3 | 497,5 |

|    |                                                                                                                                    |                                                                                      |               |       |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 56 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                       |    | Phương pháp 1 | 543,6 |
| 57 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit            |    | Phương pháp 3 | 502,4 |
| 58 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(4,4-diflopyriderin-1-yl)-5-flopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit |   | Phương pháp 3 | 543,3 |
| 59 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                |  | Phương pháp 1 | 437,2 |
| 60 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                |  | Phương pháp 3 | 509,3 |

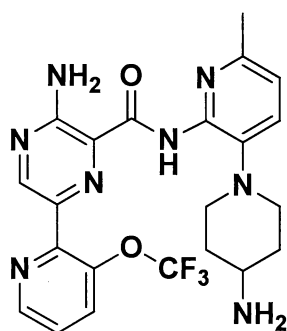
|    |                                                                                                                            |                                                                                      |               |       |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 61 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-methyl-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                           |     | Phương pháp 3 | 443,6 |
| 62 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1H-indazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                  |     | Phương pháp 3 | 430,4 |
| 63 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-cyano-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |    | Phương pháp 1 | 498,2 |
| 64 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-fluoro-2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit             |  | Phương pháp 3 | 559,3 |
| 65 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-methyl-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                           |   | Phương pháp 3 | 443,6 |

|    |                                                                                                                          |                                                                                      |               |       |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 66 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit       |    | Phương pháp 3 | 544,5 |
| 67 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit   |     | Phương pháp 1 | 517,2 |
| 68 | 4-(5-amino-6-((3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)carbamoyl)pyrazin-2-yl)-5-flopyrimidin-2-carboxamit        |   | Phương pháp 3 | 466,3 |
| 69 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-xyano-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 3 | 498,2 |
| 70 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-amino-5-clopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit           |  | Phương pháp 3 | 455,2 |

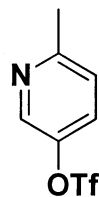
|    |                                                                                                                      |                                                                                      |               |       |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 71 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                              |     | Phương pháp 2 | 429,2 |
| 72 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit               |    | Phương pháp 3 | 526,3 |
| 73 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholino-5-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit         |   | Method3       | 543,2 |
| 74 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-clo-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |   | Phương pháp 1 | 507,2 |
| 75 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit      |  | Phương pháp 3 | 60,5  |

|    |                                                                                                                    |  |               |       |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 76 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit       |  | Phương pháp 1 | 543,5 |
| 77 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 1 | 544,4 |
| 78 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit             |  | Phương pháp 3 | 526,6 |

Ví dụ 79: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-metylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

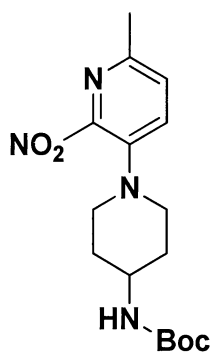


Bước 1: Tổng hợp 6-metyl-2-nitropyridin-3-yl triflometansulfonat



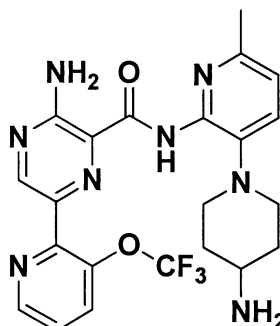
Thêm triethylamin (1,35ml, 9,73mmol) và sau đó, thêm triflicanhydrit (1,32ml, 7,79mmol) vào dung dịch của 3-hydroxy-6-metyl-2-nitropyridin (1,0g, 6,5mmol) trong DCM (24ml) ở 0°C trong môi trường N<sub>2</sub>. Khuấy hỗn hợp trong 1 giờ ở 0°C và sau đó, làm ngừng phản ứng bằng nước. Phân tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước và sấy qua MgSO<sub>4</sub>. Sau khi lọc và cô đặc ở áp suất giảm, tinh sạch hỗn hợp thô bằng sắc ký nhanh trên cột silicagel rửa giải bằng 0-70% EtOAc/Heptan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng dầu màu vàng (1,8g, hiệu suất 98%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,21 phút, M+H = 287,0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 7,81(d, 2 H) 7,59 (d, 1 H) 2,70 (s, 3 H).

Bước 2. Tổng hợp tert-butyl (1-(6-metyl-2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



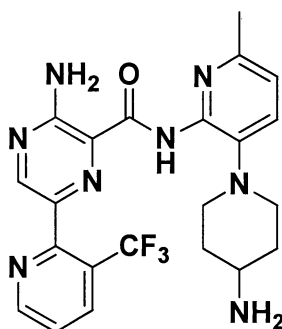
Hồi lưu hỗn hợp của 6-metyl-2-nitropyridin-3-yl triflometansulfonat (0,70g, 2,45mmol), tert-butyl piperidin-4-ylcarbamate (1,23g, 6,11mmol), và triethylamin (0,85ml, 6,11mmol) trong axetonitril (20ml) trong 8 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và cô đặc ở áp suất giảm. Làm ngừng hỗn hợp thô bằng nước và chiết bằng DCM. Tinh sạch lớp hữu cơ thô bằng sắc ký nhanh trên silicagel (0-100% EtOAc/Heptan) để thu được hiệu suất định lượng của sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu vàng. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,27 phút, M+H = 337,2.

Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (94mg) ở hiệu suất 16%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 0,66 phút, M+H = 489,3.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,85 (s, 1H), 8,73 (dd,  $J$  = 4,7, 1,4Hz, 1H), 8,00 (dt,  $J$  = 8,4, 1,4Hz, 1H), 7,61 (dd,  $J$  = 8,4, 4,7Hz, 1H), 7,53 (d,  $J$  = 8,1Hz, 1H), 7,05 (d,  $J$  = 8,0Hz, 1H), 3,05 (dt,  $J$  = 12,4, 3,6Hz, 2H), 2,76 – 2,60 (m, 3H), 2,50 (s, 3H), 1,85 – 1,75 (m, 2H), 1,42 – 1,29 (m, 2H).

Ví dụ 80: 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

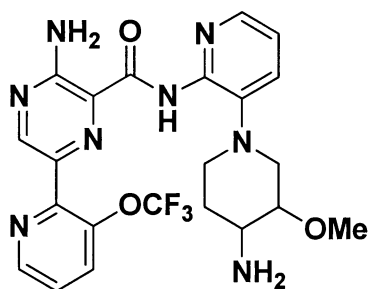


Điều chế 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (105mg) ở hiệu suất 18%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 0,64 phút, M+H = 473,3.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,92 (dd,  $J$  = 4,8, 1,5Hz, 1H), 8,74 (s, 1H), 8,37 (dd,  $J$  = 8,1, 1,5Hz, 1H), 7,83 – 7,62 (m, 1H), 7,49 (d,  $J$  = 8,0Hz, 1H), 7,03 (d,  $J$  = 8,0Hz, 1H), 3,31 (p,  $J$  = 1,6Hz, 1H), 2,97 (dt,  $J$  =

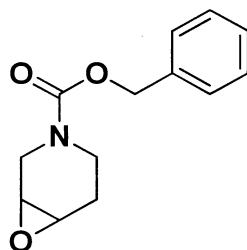


12,4, 3,6Hz, 2H), 2,64 (td,  $J = 11,5, 2,4$ Hz, 2H), 2,55 (br s, 1H), 2,49 (s, 3H), 1,70 (dq,  $J = 15,0, 3,1$ Hz, 2H), 1,37 – 0,98 (m, 2H).

Ví dụ 81: 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

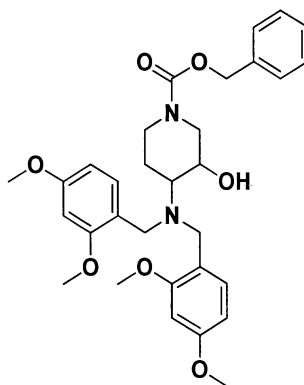


Bước 1: Tổng hợp benzyl 7-oxa-3-azabicyclo[4,1.0]heptan-3-carboxylat



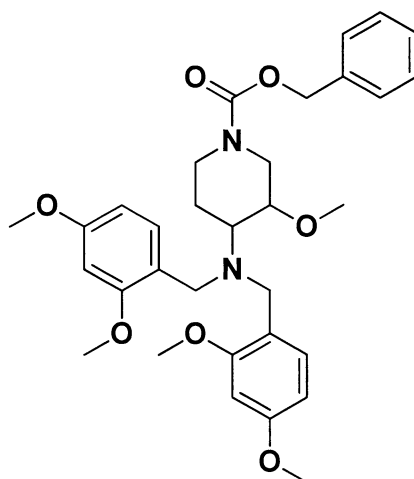
Thêm axit 3-clobenzoperoxoic (4,7g, tinh khiết 70%, 19mmol) vào dung dịch của benzyl 5,6-dihydropyridin-1(2H)-carboxylat (3,8g, 17mmol) trong DCM (60ml) ở  $-15^{\circ}\text{C}$ . Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ và sau đó, rửa bằng dung dịch natri bicarbonat. Sấy lớp hữu cơ qua natri sulfat, lọc, và cô đặc ở áp suất giảm. Tinh sạch hỗn hợp thô bằng sắc ký nhanh trên silicagel (30% EtOAc/Heptan) để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất dầu không màu. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 1,08 phút,  $M+H = 234,3$ .

Bước 2. Tổng hợp benzyl 4-(bis(2,4-dimetoxybenzyl)amino)-3-hydroxypiperidin-1-carboxylat



Khuấy huyền phù của lithi bromua được sấy (5,2g, 60mmol) trong axetonitril (15ml) khuấy ở 60°C cho đến khi dung dịch trong được tạo thành. Thêm benzyl 7-oxa-3-azabicyclo[4.1.0]heptan-3-carboxylat (8g, 34mmol) trong axetonitril (35ml), sau đó, thêm bis(2,4-dimethoxybenzyl)amin (12g, 38mmol), và axetonitril (50ml). Khuấy hỗn hợp ở 60°C trong 46 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến nhiệt độ phòng và cô đặc ở áp suất giảm. Làm ngừng hỗn hợp thô bằng nước và chiết bằng DCM. Chiết tiếp lớp nước bằng DCM hai lần. Tinh sạch lớp hữu cơ kết hợp bằng sắc ký nhanh trên silicagel (0-100% EtOAc/Heptan) để thu được hai sản phẩm có cùng M+H 551,0. Sản phẩm mong muốn thu được đầu tiên ở dạng dầu không màu. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,18 phút, M+H = 551,0.

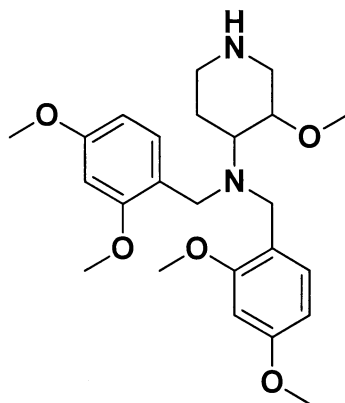
Bước 3. Tổng hợp benzyl 4-(bis(2,4-dimethoxybenzyl)amino)-3-metoxypiperidin-1-carboxylat



Thêm natri hydrit (0,55g, độ tinh khiết 60%, 14mmol) ở 0°C trong môi trường nitơ vào dung dịch của benzyl 4-(bis(2,4-dimethoxybenzyl)amino)-3-hydroxypiperidin-1-carboxylat (5,0g, 9,1mmol) trong THF (100ml). Thêm iodometan (2,1ml, 33mmol).

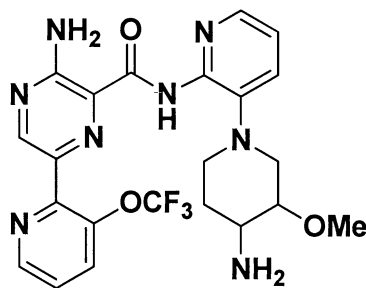
Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Làm ngừng hỗn hợp thô bằng amoni clorua chứa nước bão hòa và chiết bằng EtOAc. Chiết tiếp lớp nước bằng EtOAc hai lần. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối và tinh sạch bằng sắc ký nhanh trên silicagel (0-50% EtOAc/Heptan) để thu được sản phẩm mong muốn. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,14 phút, M+H = 565,0.

Bước 4. Tổng hợp N,N-bis(2,4-dimetoxybenzyl)-3-metoxypiperidin-4-amin



Khuấy hỗn hợp của benzyl 4-(bis(2,4-dimethoxybenzyl)amino)-3-metoxypiperidin-1-carboxylat (4,8g, 8,4mmol), paladi trên cacbon (0,45g, độ tinh khiết 10%, 0,42mmol) trong ethanol (100ml) trong môi trường bóng hydro trong 2,5 giờ. Lọc và cô đặc để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng dầu không màu. Nó được sử dụng cho bước tiếp theo mà không có bước tinh sạch. LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,68 phút, M+H = 431,3.

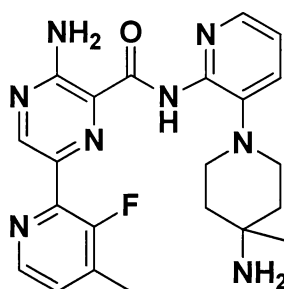
Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả

trong ví dụ 1, phương pháp 1 (43mg) ở hiệu suất 75%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 0,71 phút,  $M+H = 505,3$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, Cloform- $d$ )  $\delta$  10,96 (s, 1H), 8,88 (s, 1H), 8,82 (dd,  $J = 4,5, 1,4$ Hz, 1H), 8,34 (dd,  $J = 4,9, 1,6$ Hz, 1H), 7,81 (dt,  $J = 8,3, 1,4$ Hz, 1H), 7,52 – 7,41 (m, 2H), 7,09 (dd,  $J = 7,9, 4,8$ Hz, 1H), 3,51 (s, 1H), 3,41 (ddd,  $J = 11,0, 4,5, 2,1$ Hz, 1H), 3,22 (s, 3H), 3,14 – 2,94 (m, 2H), 2,70 (td,  $J = 12,0, 2,5$ Hz, 1H), 2,56 (ddd,  $J = 11,6, 9,1, 4,6$ Hz, 1H), 2,41 (t,  $J = 10,5$ Hz, 1H), 1,90 – 1,79 (m, 1H).

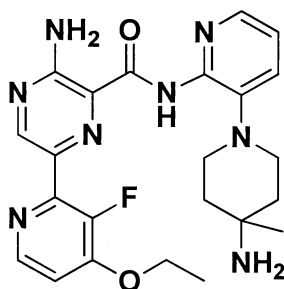
Ví dụ 82: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoro-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



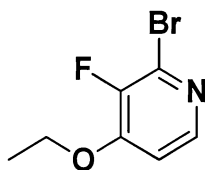
Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoro-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, phương pháp 1 (8,6mg) ở hiệu suất 7,5%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,04 phút,  $M+H = 437,1$

$^1H$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,83 (d,  $J = 1,3$ Hz, 1H), 8,39 (d,  $J = 4,8$ Hz, 1H), 8,12 (dd,  $J = 5,0, 1,6$ Hz, 1H), 7,68 (dd,  $J = 7,9, 1,6$ Hz, 1H), 7,40 (td,  $J = 5,2, 0,9$ Hz, 1H), 7,18 (dd,  $J = 7,9, 4,9$ Hz, 1H), 3,10 - 2,77 (m, 4H), 2,45 (d,  $J = 1,9$ Hz, 3H), 1,81 - 1,40 (m, 4H), 0,87 (s, 3H).

Ví dụ 83: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

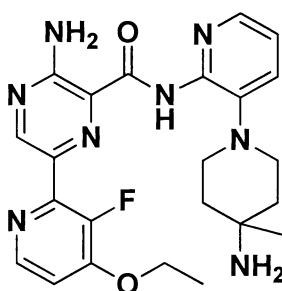


Bước 1: Tổng hợp 2-bromo-4-etoxy-3-flopyridin



Hồi lưu hỗn hợp của 2-bromo-3-flopyridin-4-ol (0,20g, 1,0mmol), iodoetan (0,22ml, 2,1mmol), và kali carbonat (0,29g, 2,1mmol) trong axeton (7ml) trong 4 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng ở áp suất giảm và tinh sạch bằng sắc ký nhanh trên cột silicagel rửa giải bằng 0-100% EtOAc/Heptan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng (0,19g, hiệu suất 83%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 1,07 phút, M+H = 221,6.

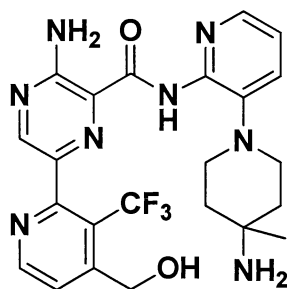
Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



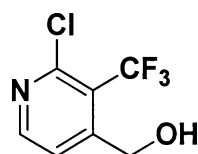
Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 1, Phương pháp 1 (57mg) ở hiệu suất 91%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu = 1,06 phút, M+H = 467,2

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, Metanol- $\text{d}_4$ )  $\delta$  8,86 (d, J = 0,8Hz, 1H), 8,35 (d, J = 5,5Hz, 1H), 8,12 (dd, J = 4,9, 1,6Hz, 1H), 7,70 (dd, J = 7,9, 1,6Hz, 1H), 7,30 - 7,14 (m, 2H), 4,28 (q, J = 7,0Hz, 2H), 3,05 - 2,83 (m, 4H), 1,73 (ddd, J = 13,2, 9,2, 3,9Hz, 2H), 1,64 - 1,53 (m, 2H), 1,51 (t, J = 7,0Hz, 3H), 0,98 (s, 3H).

Ví dụ 84: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

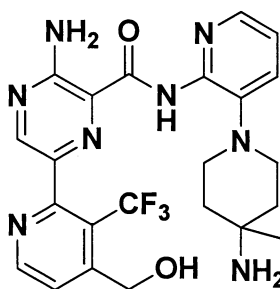


Bước 1: Tổng hợp (2-clo-3-(triflometyl)pyridin-4-yl)metanol



Thêm natri borohydrit (0,23g, 6,0mmol) vào dung dịch của 2-clo-3-(trifluorometyl)isonicotinaldehyt (0,97g, 4,6mmol) trong MeOH (10ml) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Sau đó, nó được cô đặc và phân bố giữa DCM và nước. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua magie sulfate, lọc, và cô đặc để thu được chất rắn màu vàng. (0,91g, hiệu suất 93%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,90 phút, M+H = 212,0.

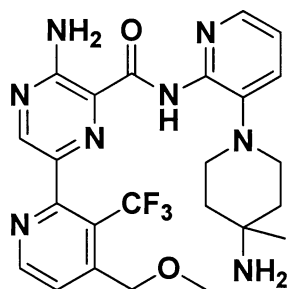
Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



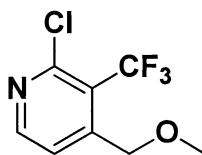
Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit theo phương thức như được mô tả trong ví dụ 7, phương pháp 3 (36mg) ở hiệu suất 94%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 0,62 phút, M+H = 503,1. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,64 (s, 1H), 8,89 (d, J = 5,1Hz, 1H), 8,68 (s, 1H), 8,10 (dd, J = 4,8,

1,6Hz, 1H), 7,90 (d, J = 5,1Hz, 1H), 7,57 (dd, J = 7,9, 1,7Hz, 1H), 7,14 (dd, J = 7,9, 4,8Hz, 1H), 4,79 (s, 2H), 4,10-4,04 (br, 1H), 2,88 (ddd, J = 12,4, 7,5, 5,2Hz, 2H), 2,64 (dt, J = 11,4, 4,5Hz, 2H), 1,23 - 1,11 (m, 4H), 0,65 (s, 3H).

Ví dụ 85: 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit

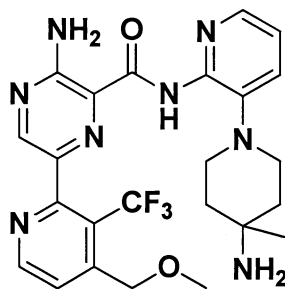


Bước 1: Tổng hợp 2-clo-4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin



Thêm kali tert-butoxit (0,10g, 0,89mmol) vào dung dịch của 2-clo-3-(triflometyl)pyridin-4-yl)metanol (0,15mg, 0,69mmol) trong THF (5ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Sau đó, thêm metyl iodua (0,22ml, 3,4mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 17 giờ. Thêm nhiều kali tert-butoxit hơn (0,10g, 0,89mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ nữa. Sau đó, lọc hỗn hợp và rửa bằng EtOAc. Tinh sạch lớp hữu cơ kết hợp bằng sắc ký nhanh trên cột silicagel rửa giải bằng 0-30% EtOAc/Heptan để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng dầu không màu (25mg, hiệu suất 16%). LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,16 phút, M+H = 226,0.

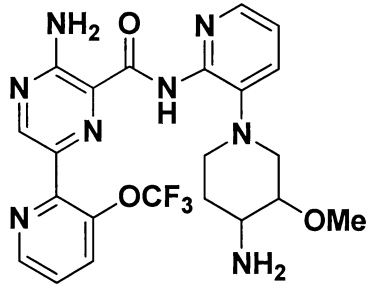
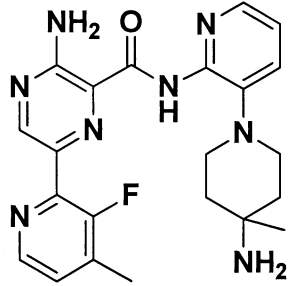
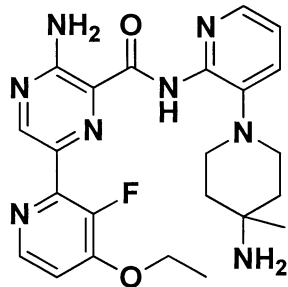
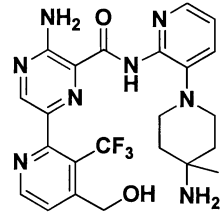
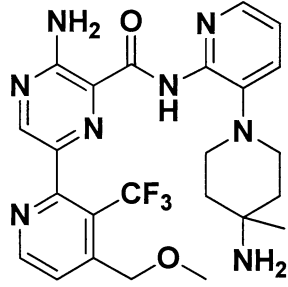
Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit



Điều chế 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(methoxymethyl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid theo phương thức như ví dụ 7 được mô tả, phương pháp 3 (7,5mg) ở hiệu suất 13%. LC-MS (phương pháp axit): thời gian lưu= 1,11 phút,  $M+H = 517,1$ .  $^1H$  NMR (400 MHz, Metanol- $d_4$ )  $\delta$  8,84 (d,  $J = 5,1\text{Hz}$ , 1H), 8,61 (s, 1H), 8,11 (dd,  $J = 5,0, 1,6\text{Hz}$ , 1H), 7,88 (dd,  $J = 5,0, 1,1\text{Hz}$ , 1H), 7,66 (dd,  $J = 7,9, 1,7\text{Hz}$ , 1H), 7,16 (dd,  $J = 7,9, 4,9\text{Hz}$ , 1H), 4,80 - 4,74 (m, 2H), 3,56 (s, 3H), 3,03 - 2,69 (m, 4H), 1,46 - 1,25 (m, 4H), 0,76 (s, 3H).

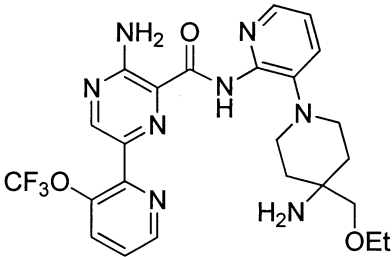
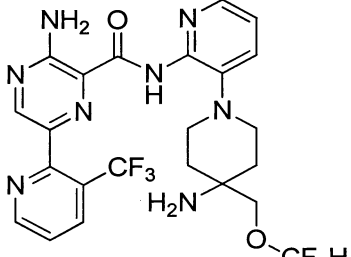
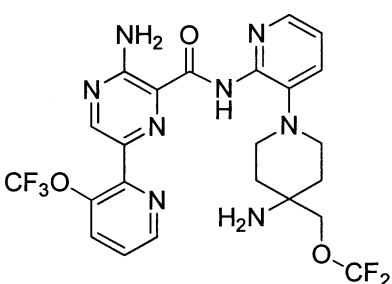
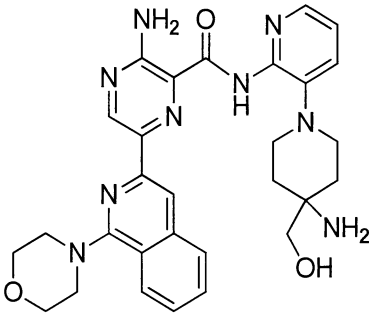
|    |                                                                                                                     |  |               |       |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 79 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid |  | Phương pháp 1 | 489,3 |
| 80 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid  |  | Phương pháp 1 | 473,3 |



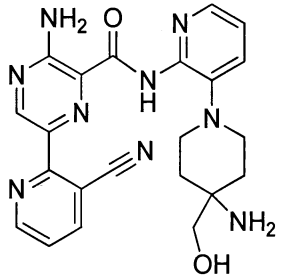
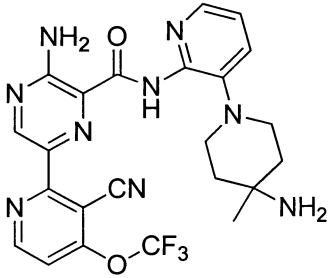
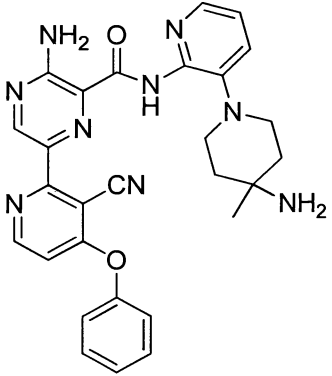
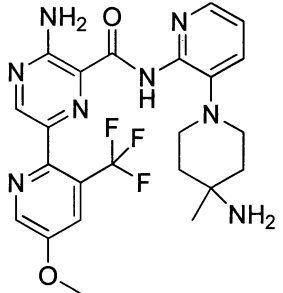
|    |                                                                                                                                  |                                                                                      |               |       |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 81 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                  |    | Phương pháp 1 | 505,3 |
| 82 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-fluoro-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                 |    | Phương pháp 1 | 437,1 |
| 83 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-ethoxy-3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                 |  | Phương pháp 1 | 467,2 |
| 84 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymethyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 3 | 503,1 |
| 85 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(methoxymethyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 3 | 517,1 |

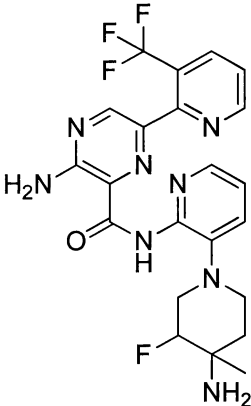
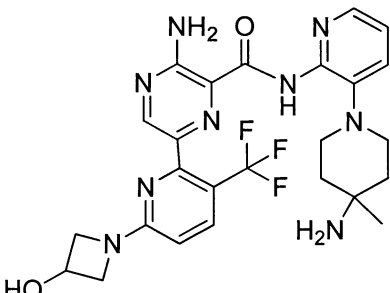
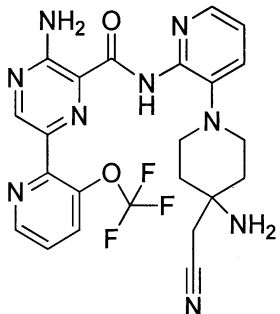
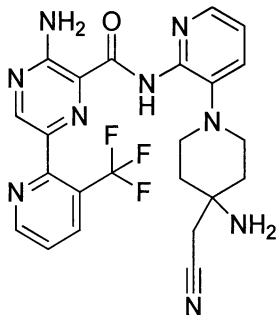
Các hợp chất sau có thể được tổng hợp theo các phương pháp tổng hợp (các phương pháp 1-6) được mô tả ở đây.

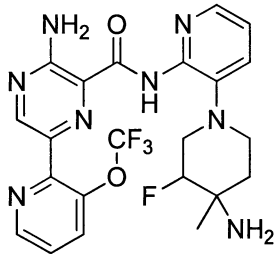
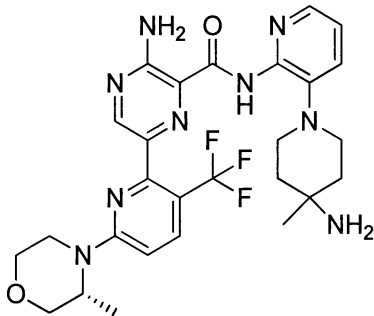
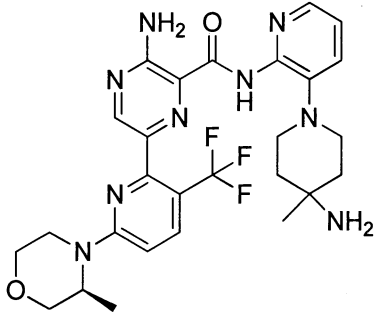
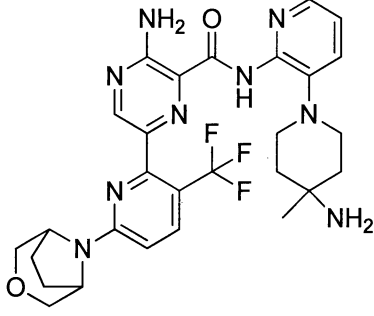
|    | Tên hợp chất                                                                                                                              | Cấu trúc | Phương pháp tổng hợp | MS (M+H) |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|----------------------|----------|
| 86 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-cyano-3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                           |          | Phương pháp 3        | 448,1    |
| 87 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(2-methylmorpholino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid |          | Phương pháp 3        | 572,4    |
| 88 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(ethoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                |          | Phương pháp 1        | 517,3    |

|    |                                                                                                                               |                                                                                      |               |       |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 89 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(etoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit         |    | Phương pháp 1 | 531,4 |
| 90 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-((diflometoxy)metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit  |    | Phương pháp 1 | 539,2 |
| 91 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-((diflometoxy)metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |   | Phương pháp 1 | 555,3 |
| 92 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-morpholinoisoquinolin-3-yl)pyrazin-2-carboxamit       |  | Phương pháp 1 | 556,2 |

|    |                                                                                                                                          |  |               |       |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 93 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid |  | Phương pháp 1 | 574,7 |
| 94 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-isopropoxy-pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                     |  | Phương pháp 3 | 488,2 |
| 95 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-cyclopropoxy-pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                   |  | Phương pháp 3 | 486,2 |
| 96 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                      |  | Phương pháp 3 | 489,2 |
| 97 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-methoxy-pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid               |  | Phương pháp 1 | 474,7 |

|     |                                                                                                                              |                                                                                      |               |       |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 98  | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyanopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid              |    | Phương pháp 1 | 474,7 |
| 99  | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid  |    | Phương pháp 3 | 514,2 |
| 100 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-phenoxyphenyl)pyrazin-2-carboxamid                   |   | Phương pháp 3 | 523,0 |
| 101 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid |  | Phương pháp 1 | 503,2 |

|     |                                                                                                                                               |                                                                                      |               |       |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 102 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                   |    | Phương pháp 1 | 491,0 |
| 103 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid |    | Phương pháp 4 | 544,2 |
| 104 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(xyanometyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                     |  | Phương pháp 2 | 514,1 |
| 105 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(xyanometyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                      |  | Phương pháp 1 | 498,3 |

|     |                                                                                                                                                             |                                                                                      |               |       |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-------|
| 106 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                               |    | Phương pháp 1 | 507,2 |
| 107 | (R)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-methylmorpholino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide              |    | Phương pháp 1 | 572,3 |
| 108 | (S)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-methylmorpholino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide              |  | Phương pháp 1 | 572,3 |
| 109 | 6-(6-(3-oxa-8-azabicyclo[3,2,1]octan-8-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide |  | Phương pháp 4 | 584,3 |

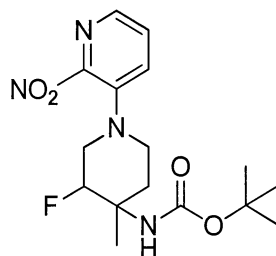
|     |                                                                                                                                               |  |               |       |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 110 | 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide         |  | Phương pháp 1 | 507,2 |
| 111 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-ethoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                              |  | Phương pháp 3 | 474,0 |
| 112 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-isopropylmorpholino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide |  | Phương pháp 3 | 600,3 |
| 113 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide        |  | Phương pháp 1 | 521,3 |



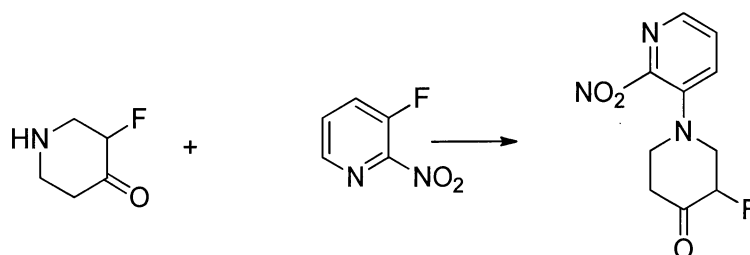
|     |                                                                                                                                                   |  |               |       |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 114 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(xyanometyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                             |  | Phương pháp 1 | 485,3 |
| 115 | (R)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((1-hydroxypropan-2-yl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 4 | 546,2 |
| 116 | (S)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((1-hydroxypropan-2-yl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 4 | 546,2 |
| 117 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((2-hydroxyetyl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit            |  | Phương pháp 4 | 532,2 |

|     |                                                                                                                                          |  |               |       |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------|-------|
| 118 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(2-hydroxyetoxy)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit        |  | Phương pháp 4 | 533,2 |
| 119 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-metoxiazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit |  | Phương pháp 4 | 558,2 |

Ví dụ 110: Tổng hợp tert-butyl (3-flo-4-metyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate (Chất trung gian)



Bước 1. Tổng hợp 3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-on

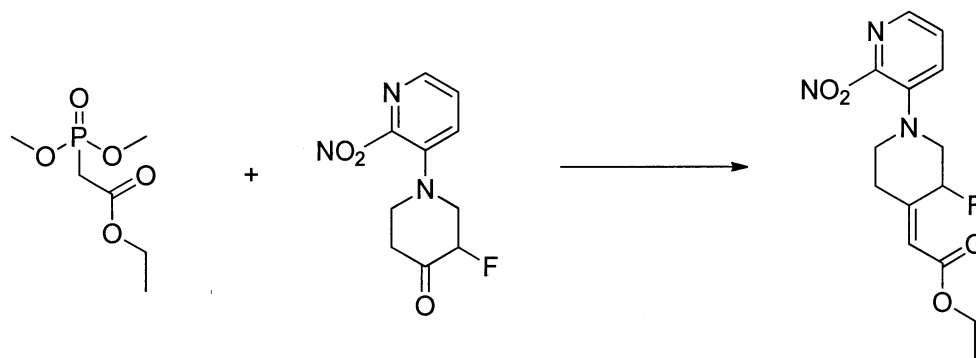


Thêm dioxan (10ml), DMF (6ml), 3-flopiperidin-4-on (550mg, 3,58mmol), 3-flo-2-nitropyridin (509mg, 3,58mmol) và diisopropyletylamin (1,876ml, 10,74mmol)

vào bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ và van nạp nitơ. Khuấy dung dịch đồng nhất này ở 70°C trong bể dầu trong 4 giờ. Sau đó, phân bố hỗn hợp này giữa ethyl axetat (20ml) và nước (20ml), và rửa dịch chiết hữu cơ bằng nước (10ml) hai lần và nước muối (10ml), và sau đó, sấy qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Sau khi làm bay hơi dung môi, thu được chất dầu màu hổ phách ở dạng sản phẩm thô, 3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-on. Dem sản phẩm thô này trực tiếp cho bước tiếp theo mà không có bước tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 0,63 phút, M+H = 240,1

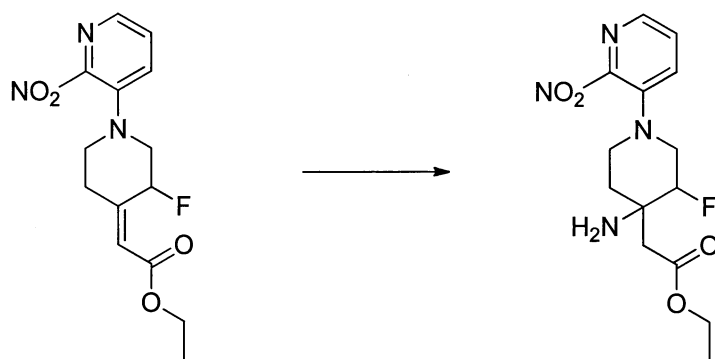
Bước 2. Tổng hợp (Z)-ethyl 2-(3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yliden)axetat



Thêm NaH (169mg, 4,21mmol) và THF (10ml) vào bình đáy tròn thể tích 100ml được trang bị que khuấy từ và van nạp nitơ. Giảm nhiệt hỗn hợp đến 0°C và thêm từng giọt ethyl 2-(dimetoxyposphoryl)axetat (827mg, 4,21mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, sau đó, thêm dung dịch chứa 3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-on (840mg, 3,51mmol) trong THF (5ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ và làm ngừng phản ứng bằng cách bổ sung nước (25ml) ở 0°C. Chiết hỗn hợp chứa nước bằng ethyl axetat (2 x 50ml). Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, sấy qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc. Tinh sạch sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel sử dụng ethyl axetat-heptan (R<sub>f</sub> ~ 0,5 với 50% ethyl axetat trong heptan). Thu được (Z)-ethyl 2-(3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yliden)axetat chất rắn màu vàng nhạt.

LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu= 1,44 phút, M+H = 310,2

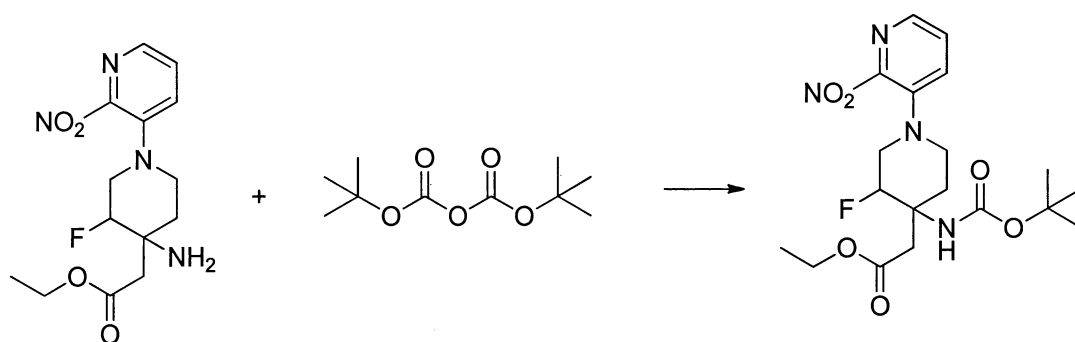
Bước 3. Tổng hợp ethyl 2-(4-amino-3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)axetat



Hòa tan (Z)-ethyl 2-(3-fluoro-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yliden)acetat (4,02g, 13mmol) trong 10mL  $\text{NH}_3$  7N trong MeOH trong bình áp suất. Đóng kín và gia nhiệt bình này ở  $80^\circ\text{C}$  trong 12 giờ. Làm bay hơi các dung môi và sau đó, sắc ký silicagel ( $R_f \sim 0,4$  ở MeOH 5% ( $\text{NH}_4\text{OH}$  0,5%) trong DCM) để thu được ethyl 2-(4-amino-3-fluoro-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)acetat với độ tinh khiết  $>80\%$ .

LC-MS (Phương pháp axit): thời gian lưu = 0,68 phút,  $M+H = 327,3$

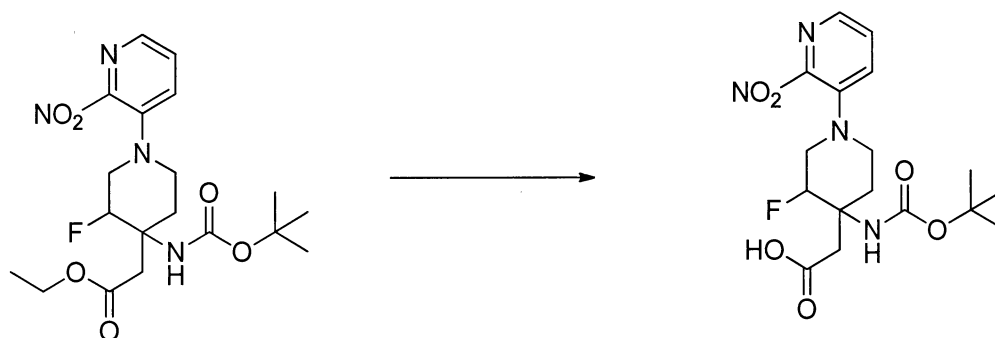
Bước 4. Tổng hợp ethyl 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-fluoro-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)acetat



Thêm que khuấy từ và ethyl 2-(4-amino-3-fluoro-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)acetat (3g, 9,19mmol) và BOC Anhydrit (2,006g, 9,19mmol) trong THF (Thể tích: 33ml, tỷ lệ: 1,000), Nước (Thể tích: 33,0ml, tỷ lệ: 1,000) và THF (Thể tích: 8,0ml, tỷ lệ: 1,000) vào bình thể tích 100ml. Thêm DIPEA (1,606ml, 9,19mmol). Gia nhiệt hỗn hợp ở  $85^\circ\text{C}$  trong 4 giờ. Giảm nhiệt hỗn hợp xuống nhiệt độ phòng và quan sát thấy kết tủa màu vàng. Lọc hỗn hợp và nghiền chất rắn với nước. Tinh sạch chất rắn bằng sắc ký silicagel ( $R_f \sim 0,7$  ở nồng độ 70% của ethyl acetat trong heptan) để thu được ethyl 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-fluoro-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)acetat.

LC-MS (Phương pháp axit ): thời gian lưu= 1,51 phút, M+H = 427,2

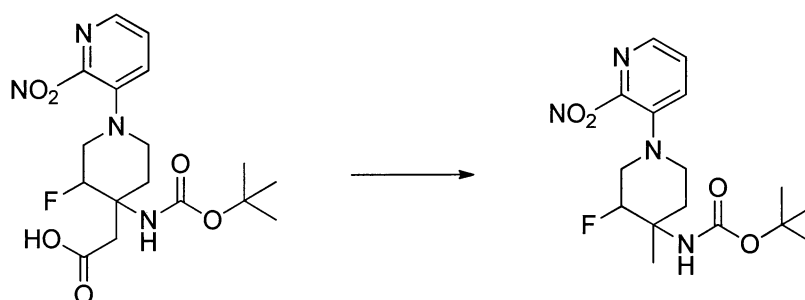
Bước 5. Tổng hợp axit 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)axetic



Thêm que khuấy từ và ethyl 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)axetat (2,4g, 5,82mmol) trong MeOH (6ml) và THF (3ml) vào bình thót cổ thể tích 100ml. Thêm dung dịch NaOH 3M chứa nước (9,7ml) và gia nhiệt phản ứng ở 55°C trong 2 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10ml) và rửa bằng Et<sub>2</sub>O (20ml). Axit hóa từ từ lớp nước bằng HCl 1N đến độ pH~6 và sau đó, chiết bằng etyl axetat (2 x 50ml); kết hợp các lớp etyl axetat, sấy qua Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lọc và cô đặc xuống. Tinh sạch bằng sắc ký silicagel (R<sub>f</sub> ~ 0,3 ở nồng độ 70% của etyl axetat trong heptan) để thu được axit 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-flo-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)axetic ở dạng chất rắn màu vàng. <sup>1</sup>H NMR (400MHz, Cloform-*d*) δ 8,15 (d, *J* = 4,3Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,1Hz, 1H), 7,51 (dd, *J* = 8,2, 4,4Hz, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 3,36 (dd, *J* = 26,9, 16,7Hz, 2H), 3,10 (dt, *J* = 22,4, 11,5Hz, 2H), 2,91 (d, *J* = 17,1Hz, 2H), 1,89 (s, 1H), 1,46 (s, 9H), 0,87 (s, 1H).

LC-MS (Phương pháp axit ): thời gian lưu= 1,05 phút, M-56+H = 343,1

Bước 6. Tổng hợp tert-butyl (3-flo-4-metyl-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)carbamate



Thêm triethylamin (1,399ml, 10,04mmol) trong THF (5ml) vào hỗn hợp chứa axit 2-(4-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-fluor-1-(2-nitropyridin-3-yl)piperidin-4-yl)acetic (1g, 2,51mmol) và HOTT (1,118g, 3,01mmol) trong axetonitril (15mL), ống phản ứng được ngăn cách với ánh sáng bằng phoi nhôm. Thêm DMAP (0,031g, 0,251mmol) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Thêm tert-dodecyl mercaptan (2,363ml, 10,04mmol) trong axetonitril (5ml) vào hỗn hợp và đưa phản ứng đến nhiệt độ hồi lưu trong 18 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và pha loãng bằng nước (50ml) và chiết bằng ethyl axetat. Sấy lớp ethyl axetat thu được qua  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ; lọc và làm bay hơi. Tinh sạch bằng sắc ký silicagel bằng DCM/MeOH (0 – 7%) để thu được sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu vàng với độ tinh khiết >50%.

LC-MS (Phương pháp bazơ): thời gian lưu= 1,38 phút,  $\text{M}+\text{H} = 355,1$ .

Sau đó, sử dụng chất trung gian này như được mô tả trong phương pháp 3.

#### Hoạt tính sinh học

##### Hoạt tính chức chế PIM kinaza

Để so sánh giữa các chất ức chế PKC theo sáng chế và các chất ức chế kinaza PIM có thể so sánh về cấu trúc, đo hoạt động của PIM2 bằng cách sử dụng thử nghiệm kinaza Caliper in vitro. Thực hiện các bước xử lý dung dịch và ủ trên thiết bị Innovadyne Nanodrop Express được trang bị cánh tay robot (Thermo CatX, Caliper Twister II) và máy ủ (Liconic STX40, Thermo Cytomat 2C450). Chuẩn bị các đĩa thử nghiệm vi lượng 384 giếng bằng cách bổ sung 50nl/giếng dung dịch hợp chất trong DMSO 90%. Bắt đầu các phản ứng kinaza bằng cách bổ sung lần lượt 4,5 $\mu\text{l}$ /giếng dung dịch peptit/ATP (HEPES 50mM, độ pH=7,5, DTT 1mM, Tween20 0,02%, BSA 0,02%, DMSO 0,6%, beta-glyxerophosphat 10mM, và natri orthovanadat 10 $\mu\text{M}$ ,  $\text{MgCl}_2$  1mM, ATP 25 $\mu\text{M}$ , và peptit S6 2 $\mu\text{M}$ ) và 4,5 $\mu\text{l}$ /giếng dung dịch enzym (HEPES 50mM, độ pH=7,5, DTT 1mM, Tween20 0,02%, BSA 0,02%, DMSO 0,6%, beta-glyxerophosphat 10mM, và natri orthovanadat 10 $\mu\text{M}$ ,  $\text{MgCl}_2$  1mM, và enzym PIM2 0,6nM).

Ủ các phản ứng kinaza ở 30°C trong 60 phút và tiếp theo, kết thúc bằng cách bổ sung 16 $\mu\text{l}$ /giếng dung dịch dừng (HEPES 100mM, độ pH=7,5, DMSO 5%, chất phủ Capiler 0,1%, EDTA 10mM, và Brij35 0,015%). Chuyển các đĩa có các phản ứng kinaza đã kết thúc sang máy trạm (workstations) Caliper LC3000 để đọc. Phân tích

các peptit được phosphoryl hóa với các peptit không phosphoryl hóa bằng cách sử dụng công nghệ chuyển dịch độ di động vi lỏng Caliper. Ngắn gọn là, áp dụng các mẫu từ các phản ứng kinaza đã kết thúc với chip. Vận chuyển các chất phân tích qua dòng đệm không đổi và sự di trú của peptit cơ chất được giám sát bằng tín hiệu huỳnh quang đối với nhãn của nó. Phân tách peptit S6 được phosphoryl hóa (sản phẩm) và peptit S6 không phosphoryl hóa (cơ chất) trong trường điện tích bằng tỷ lệ điện tích/khối lượng của chúng. Tính các giá trị hoạt tính kinaza từ lượng phospho-peptit được tạo thành. Xác định các giá trị IC<sub>50</sub> từ các giá trị % ức chế ở các nồng độ hợp chất khác nhau bằng cách phân tích hồi quy tuyến tính.

Các hợp chất của các ví dụ nêu trên đã được kiểm tra bằng thử nghiệm kinaza Pim2 này và đã được phát hiện là thể hiện các giá trị IC<sub>50</sub> được biểu thị trong bảng 4. IC<sub>50</sub>, nồng độ ức chế một nửa tối đa, đại diện cho nồng độ của hợp chất kiểm tra theo sáng chế được yêu cầu cho sự ức chế 50% đích của nó in vitro.

#### Thử nghiệm GSKbeta

Các kiểu của thử nghiệm GSK-3 được sử dụng để kiểm tra tính chọn lọc/tiềm năng ngoài đích của các hợp chất theo sáng chế về hoạt tính ức chế PKC  $\alpha/\theta$  bao gồm các kiểu sau: Kiểu 1: peptit đặc hiệu GSK-3 được sử dụng trong thử nghiệm này có nguồn gốc từ vị trí phosphoryl hóa của glycogen synthaza và trình tự của nó là: YRRAAVPPSPSLSRHSSPHQ(S)EDEEE. (S) được phosphoryl hóa trước như là glycogen synthaza in vivo và ba vị trí liên ứng cho sự phosphoryl hóa đặc hiệu được gạch chân. Đệm được sử dụng để tạo ra peptit glycogen synthaza và [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P] ATP được cấu tạo từ MOPS 25mM, EDTA 0,2mM, magie axetat 10mM, Tween-20 0,01% và mercaptoetanol 7,5mM ở độ pH 7,00. Hòa tan các hợp chất trong dimetylsulphoxid (DMSO) đến nồng độ cuối là 100mM. Tạo ra các nồng độ khác nhau trong DMSO và trộn với dung dịch cơ chất (peptit GSK-3) (đến nồng độ cuối 20 $\mu$ M) được mô tả trong thử nghiệm nêu trên cùng với GSK-3 $\alpha$  và GSK-3 $\beta$  của người hoặc của thỏ (nồng độ cuối enzym 0,5 $\mu$ M/mL). Khởi đầu các phản ứng này bằng cách bổ sung [ $\gamma$ -<sup>33</sup>P] ATP (500cpm/pmol) được thêm vào hỗn hợp của ATP (nồng độ cuối là 10 $\mu$ M). Sau 30 phút ở nhiệt độ phòng, kết thúc phản ứng bằng cách bổ sung 10 $\mu$ L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/O.OP/0 Tween-20 (2,5%). Châm một thể tích của hỗn hợp (10 $\mu$ L) lên trên giấy phosphoxenluloza P-30 (Wallac & Berthold, EG&G Instruments Ltd, Milton Keynes). Rửa giấy này bốn

lần trong  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (0,5%), 2 phút cho mỗi lần rửa, sấy khô và kết hợp phosphat phóng xạ vào trong peptit glycogen synthaza tổng hợp, gắn với giấy phosphoxenluloza P-30, đếm giấy này trong máy đếm nhấp nháy microbeta Wallac. Phân tích dữ liệu: Các giá trị  $\text{IC}_{50}$  cho mỗi chất ức chế được tính bằng cách khớp đường logistic bốn tham số với mô hình này:  $\text{cpm} = \text{thấp} + (\text{cao} - \text{thấp}) / (1 + (\text{nồng độ} / \text{IC}_{50})^{\text{độ dốc}})$ .

Kiểu 2: Quy trình này được dựa trên khả năng phosphoryl hóa peptit được biotinyl hóa của kinaza, trình tự của phân tử được biến đổi từ vị trí phosphoryl hóa của glycogen synthaza và trình tự của nó là: Biot-KYRRAAVPPSPSLSRHSSPHQ(S)EDEEE. (S) là serin được phosphoryl hóa trước như là glycogen synthaza in vivo và ba vị trí liên ứng để phosphoryl hóa đặc hiệu GSK-3 được gạch chân. Sau đó, bắt giữ peptit được biotinyl hóa được phosphoryl hóa lên trên các hạt SPA được phủ streptavidin (Amersham Technology), ở đó tín hiệu từ  $^{33}\text{P}$  được khuếch đại qua chất nhấp nháy chứa trong các hạt này. Thử nghiệm kinaza này ở nồng độ cuối là 10nM trong dung dịch đệm MOPS 25mM, độ pH=7,0 chứa Tween-20 0,01%, 2-mercaptoetanol 7,5mM, magie axetat 10 mM, và  $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$  10 $\mu\text{M}$ . Sau 60 phút ủ ở nhiệt độ phòng, dừng phản ứng này bằng cách bổ sung dung dịch EDTA 50mM chứa các hạt SPA được phủ Streptavidin để thu được lượng hạt cuối cùng là 0,5mg/giếng thử nghiệm ở dạng thức đĩa vi lượng 384 giếng. Tạo ra dung dịch gốc 10mM của các hợp chất theo sáng chế trong DMSO 100% như là bước thứ nhất của quy trình sàng lọc. Bước thứ hai liên quan đến sự tạo ra các đĩa đáp ứng liều, ở đó các hợp chất này được pha loãng qua đĩa này, trong đó nồng độ cuối thấp và cao là 0,008 $\mu\text{M}$  và 10 $\mu\text{M}$  trong thử nghiệm kinaza này. Bước thứ ba liên quan đến sự tạo ra các đĩa thử nghiệm. Đạt được bước này bằng cách chuyển các hợp chất này từ bốn đĩa đáp ứng liều 96 giếng sang một đĩa thử nghiệm 384 giếng trên hệ thống Robocon Robolab. Thực hiện bước thứ tư của thử nghiệm như đã được mô tả và đếm các đĩa kết quả này trong Trilux (dung dịch nhấp nháy microbeta Wallac 1450 và máy đếm huỳnh quang). Bước cuối cùng là thu dữ liệu và phân tích trong đó các giá trị  $\text{IC}_{50}$  được tạo ra cho mỗi hợp chất được lặp lại hai lần bằng cách khớp đường logistic bốn tham số với mô hình này:  $\text{cpm} = \text{dưới} + (\text{trên} - \text{dưới}) / (1 + (\text{nồng độ} / \text{IC}_{50})^{\text{độ dốc}})$  theo phương thức mở. Các hợp chất theo sáng chế PKC mạnh nhất biểu thị các giá GSKbeta $\text{IC}_{50}$  nằm trong khoảng từ 100nM đến 100.000nM.



### Hoạt tính ức chế PKC $\alpha$ / $\theta$ In Vitro

Các hợp chất có công thức I được kiểm tra về hoạt tính của nó với các dạng đồng đẳng PKC khác nhau theo phương pháp đã được công bố (D. Geiges et al. Biochem. Pharmacol. 1997;53:865-875). Tiến hành thử nghiệm trong đĩa vi lượng polypropylen 96 giếng (Costar 3794) trước đó đã được silicon hóa bằng Sigmacote (Sigma SL-2). Hỗn hợp phản ứng (50 $\mu$ L) chứa 10 $\mu$ L isozym liên quan cùng với 25 $\mu$ L hợp chất ức chế PKC và 15 $\mu$ L dung dịch hỗn hợp bao gồm protamin sulfat 200 $\mu$ g/mL, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 10mM, ATP 10 $\mu$ M (Boehringer 519987) và <sup>33</sup>P-ATP 3750Bq (Hartmann Analytic SFC301, 110TBq/mmol) trong dung dịch đệm Tris 20mM, độ pH=7,4 + BSA 0,1%. Tiến hành bước ủ trong 15 phút ở 32°C trong máy ủ lắc đĩa vi lượng (Biolabo Scientific Instruments). Dừng phản ứng bằng cách thêm 10 $\mu$ L Na<sub>2</sub>EDTA 0,5M, độ pH=7,4. Hút bằng pipet 50 $\mu$ L hỗn hợp lên trên giấy phosphoxenluloza được làm ướt trước (Whatmann 3698-915) trong áp suất nhẹ. Rửa trôi ATP không kết hợp bằng 100 $\mu$ L bi-dist H<sub>2</sub>O. Rửa giấy này hai lần trong H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5% trong 15 phút, sau đó, 5 phút trong EtOH. Sau đó, sấy giấy này và đặt trong máy lọc kinh vĩ (omnifilter) (Packard 6005219), và phủ lên trên bằng 10 $\mu$ L/giếng Microscint-O (Packard 6013611) trước khi đếm trong máy đếm hoạt động phóng xạ Topcount (Packard). Tiến hành đo IC<sub>50</sub> trên cơ sở thông thường bằng ủ dải pha loãng của chất ức chế ở khoảng nồng độ nằm trong khoảng 1 $\mu$ M-1000 $\mu$ M theo quy trình được mô tả trên đây. Tính các giá trị IC<sub>50</sub> từ biểu đồ bằng cách khớp đường sigma.

### 2. Thử nghiệm protein kinaza C $\alpha$

PKC $\alpha$  của người tái tổ hợp được sử dụng với các điều kiện thử nghiệm như được mô tả trên đây. Trong thử nghiệm này, các hợp chất có công thức I ức chế PKC  $\alpha$  với IC<sub>50</sub>  $\leq$  1 $\mu$ M. Hợp chất theo các ví dụ 2, 9 75 và 76 ức chế PKC $\alpha$  trong thử nghiệm này với IC<sub>50</sub> <10 nM.

### 3. Thử nghiệm protein kinaza C $\theta$

PKC $\theta$  của người tái tổ hợp thu được từ Oxford Biomedical Research và được sử dụng với các điều kiện thử nghiệm như được mô tả theo phần A.1 trên đây: các hợp chất có công thức I ức chế PKC $\theta$   $\alpha$  với IC<sub>50</sub>  $\leq$  1 $\mu$ M. Hợp chất theo các ví dụ 2, 9 75 và 76 ức chế PKC $\theta$  trong thử nghiệm này với IC<sub>50</sub> <10 nM.

### Thử nghiệm tế bào

Để đánh giá khả năng của các hợp chất theo sáng chế ức chế hoạt động PKC trong các thử nghiệm tế bào, các hợp chất đã được đánh giá khả năng ức chế chọn lọc các tế bào ung thư hắc mạc 92.1 và các tế bào ung thư lympho tế bào B TMD8, so với các tế bào SK-MEL-28. Các tế bào ung thư hắc mạc 92.1 phụ thuộc vào sự biểu hiện của dạng đột biến của tiểu phần alpha của protein G, GNAQ, phát tín hiệu qua PKC để cho phép tăng trưởng và tăng sinh. Các tế bào TMD8 phụ thuộc vào sự biểu hiện của dạng đột biến của CD79 phát tín hiệu qua PKC để cho phép tăng trưởng và tăng sinh. Các tế bào SK-MEL-28 phụ thuộc vào sự biểu hiện của dạng đột biến của B-Raf không phát tín hiệu qua PKC để cho phép tăng trưởng và tăng sinh. Do đó, các chất ức chế PKC được dự đoán là có hoạt tính chống tăng sinh với các tế bào 92.1 và/hoặc TMD8 nhưng không chống tăng sinh với các tế bào SK-MEL-28. Các tế bào 92.1 (thể đột biến GNAQ) thu được từ Martine Jager (Leiden University Medical Center, 2300 RC Leiden, The Netherlands). Các tế bào SK-MEL-28 có thể thu được từ American Type Culture Collection (ATCC). Các tế bào được duy trì trong môi trường RPMI 1640 (Lonza) và FBS 10% (Lonza).

#### Thử nghiệm tăng sinh

Với mỗi dòng tế bào, mật độ tế bào có thể được điều chỉnh đến 40.000 tế bào/ml và thêm 50ul (2000 tế bào)/giếng của đĩa thử nghiệm 384 giếng. Các hợp chất kiểm tra được tái huyền phù trong DMSO ở nồng độ 10mM. Dải pha loãng gấp ba lần của mỗi hợp chất bằng DMSO được thực hiện trong các đĩa 384 giếng sử dụng máy phân phối dung dịch Janus (PerkinElmer). 50nL của mỗi mẫu pha loãng của mỗi hợp chất được chuyển sang đĩa thử nghiệm chứa các tế bào với nồng độ thử nghiệm cuối là 10μM, 3,33μM, 1,11μM, 0,37μM, 0,12μM, 0,041μM, 0,014μM, 0,0046μM, 0,0015μM, 0,00051μM.

Các tế bào có thể được ủ ở 37 độ C trong môi trường ẩm hóa bằng 5% carbon dioxid trong 72 giờ. ATPlite (Perkin Elmer) được chuẩn bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất và 25μL được thêm vào mỗi giếng thử nghiệm. Ủ các đĩa trong 10 phút và tín hiệu huỳnh quang được phát hiện trên máy đọc đĩa EnVision Multimode (Perkin Elmer). Mức độ huỳnh quang tương quan tỷ lệ với số tế bào sống sót trong mỗi giếng. Tính toán tác động của mỗi nồng độ chất ức chế và có thể tạo ra các giá trị IC<sub>50</sub>.

Các giá trị  $IC_{50}$  với các dạng đồng đẳng alpha và theta của PKC với các chất ức chế PKC (các ví dụ 1-29) được tóm tắt trong bảng 2. Dữ liệu được biểu thị ở đây đại diện cho giá trị trung bình của ít nhất hai lần lặp lại.

Bảng 2. Dữ liệu ức chế PKC  $\alpha/\theta$  chọn lọc của các ví dụ 1-29.

|   | Hợp chất                                                                                                                | PKC<br>Alpha<br>(nM) | PKC<br>Theta<br>(nM) |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 1,3                  | 2,8                  |
| 2 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                  | 0,25                 | 1,3                  |
| 3 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit   | 7,4                  | 1,3                  |
| 4 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3 morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit          | 0,13                 | 0,3                  |
| 5 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit  | 5,9                  | 2                    |
| 6 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,22                 | 2,1                  |
| 7 |                                                                                                                         | 0,13                 | 0,27                 |

|    |                                                                                                                                          |      |      |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
|    | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                       |      |      |
| 8  | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino thiazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                      | 1    | 16   |
| 9  | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                            | 1,9  | 0,4  |
| 10 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                           | 0,9  | 2,8  |
| 11 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholino-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit             | 0,3  | 3,1  |
| 12 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-metylquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                           | 0,9  | 1,8  |
| 13 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 1,3  | 0,45 |
| 14 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,68 | 1,2  |
| 15 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-xyklopropyl-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit              | 0,4  | 2,1  |
| 16 |                                                                                                                                          | 0,63 | 0,69 |

|    |                                                                                                                                               |      |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|
|    | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-methoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                      |      |     |
| 17 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 2,1  | 1,1 |
| 18 | Tổng hợp 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 0,7  | 0,9 |
| 19 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                          | 1,7  | 3,6 |
| 20 | 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,5  | 3,6 |
| 21 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 0,55 | 1,2 |
| 22 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                   | 0,86 | 1,2 |
| 23 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-xyano-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                  | 1,9  | 3,9 |
| 24 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyanopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                        | 0,4  | 1,2 |
| 25 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                | 0,6  | 2,1 |
| 26 |                                                                                                                                               | 1    | 4,7 |

|    |                                                                                                                                                         |      |     |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|
|    | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-methoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                                        |      |     |
| 27 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                            | 3,4  | 12  |
| 28 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                            | 1,9  | 1,3 |
| 29 | 3-amino-N-(3-((1S,5R,8S)-8-amino-6-oxa-3-azabicyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid | 0,24 | 6   |

Các giá trị  $IC_{50}$  với các dạng đồng đẳng alpha và theta của PKC với các chất ức chế PKC (các ví dụ 30-123) được tóm tắt trong bảng 3.

Bảng 3. Dữ liệu ức chế PKC  $\alpha/\theta$  chọn lọc của các ví dụ 30-119.

| Ví dụ | Hợp chất                                                                                                                             | PKC Alpha (nM) | PKC Theta (nM) |
|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|
| 30    | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5,6,7,8-tetrahydroquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamid                          | 0,43           | 7,9            |
| 31    | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamid                                | 0,84           | 7,4            |
| 32    | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                       | 0,88           | 4              |
| 33    | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid | 0,55           | 3,8            |

|    |                                                                                                                                               |      |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|
| 34 | 3-amino-N-(3-((1R,5S,8s)-8-amino-3-azabixyclo[3,2,1]octan-3-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,50 | 3,6 |
| 35 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-xyano-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                   | 0,99 | 3,4 |
| 36 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-metoxetyl) piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                        | 9,3  | 29  |
| 37 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                    | 0,57 | 2,9 |
| 38 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-floquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                        | 1,5  | 2,9 |
| 39 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 0,33 | 2,9 |
| 40 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinophenyl)pyrazin-2-carboxamit                                                  | 0,13 | 2,8 |
| 41 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3,6-bis(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                    | 0,46 | 2,7 |
| 42 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                          | 0,17 | 2,7 |
| 43 | (±) 3-amino-N-(3-((cis)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                        | 0,30 | 2,2 |
| 44 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                          | 0,29 | 2,2 |
| 45 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(3,6-dihydro-2H-pyran-4-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,13 | 2,1 |

|    |                                                                                                                                    |      |      |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 46 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                     | 0,13 | 1,7  |
| 47 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-methyl-1H-indazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 0,27 | 1,6  |
| 48 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-floisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit                           | 2,3  | 1,5  |
| 49 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                        | 0,33 | 1,5  |
| 50 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholinopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                 | 0,19 | 1,5  |
| 51 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinophenyl)pyrazin-2-carboxamit                                       | 0,20 | 1,5  |
| 52 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(7-cloisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit                           | 1,8  | 1,3  |
| 53 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(azetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit            | 0,20 | 1,3  |
| 54 | 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit               | 0,25 | 1,2  |
| 55 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(triflometyl)-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                            | 0,13 | 0,99 |
| 56 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                       | 0,13 | 0,88 |
| 57 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(dimethylamino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit            | 0,13 | 0,87 |
| 58 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-(4,4-diflopiperidin-1-yl)-5-flopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,13 | 0,85 |
| 59 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-etyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                | 0,86 | 0,71 |



|    |                                                                                                                          |      |      |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 60 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-flo-2-morpholinopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit      | 0,14 | 0,68 |
| 61 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-metyl-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                          | 0,13 | 0,68 |
| 62 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1H-indazol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                | 0,13 | 0,67 |
| 63 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-xyano-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit   | 0,8  | 0,63 |
| 64 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-flo-2-morpholinoquinazolin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit              | 0,13 | 0,43 |
| 65 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-metyl-1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                          | 0,13 | 0,36 |
| 66 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit       | 0,13 | 0,36 |
| 67 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit   | 1,3  | 0,33 |
| 68 | 4-(5-amino-6-((3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)carbamoyl)pyrazin-2-yl)-5-flopyrimidin-2-carboxamit        | 0,4  | 0,27 |
| 69 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-xyano-5-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit | 0,48 | 1,9  |
| 70 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(2-amino-5-clopyrimidin-4-yl)pyrazin-2-carboxamit           | 0,35 | 0,24 |
| 71 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1H-indol-4-yl)pyrazin-2-carboxamit                                  | 0,13 | 0,23 |
| 72 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholinoisoquinolin-1-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 0,13 | 0,2  |

|    |                                                                                                                                |      |      |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 73 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-morpholino-5-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                   | 0,13 | 0,16 |
| 74 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-clo-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit            | 0,5  | 0,13 |
| 75 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                         | 0,97 | 4,7  |
| 76 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                 | 0,13 | 0,88 |
| 77 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-morpholino-2-(triflometyl)phenyl)pyrazin-2-carboxamit                   | 0,13 | 0,36 |
| 78 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit             | 0,13 | 0,2  |
| 79 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                | 4,9  | 26   |
| 80 | 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                 | 32   | 51   |
| 81 | (±) 3-amino-N-(3-(trans 4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit      | 0,36 | 19   |
| 82 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 4,9  | 4,6  |
| 83 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                    | 1,1  | 5,3  |
| 84 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 19   | 2,9  |
| 85 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit  | 13   | 2,6  |

|    |                                                                                                                                            |      |      |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|
| 86 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-cyano-3-fluoropyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                           | 1,9  | 3,9  |
| 87 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(2-methylmorpholino)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide | 0,51 | 2    |
| 88 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(ethoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                | 6,3  | 0,79 |
| 89 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(ethoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide               | 0,16 | 0,29 |
| 90 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-((difluoromethoxy)methyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide     | 11   | 3,6  |
| 91 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-((difluoromethoxy)methyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide    | 4,2  | 15   |
| 92 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(1-morpholinoisoquinolin-3-yl)pyrazin-2-carboxamide                  | 0,25 | 3,1  |
| 93 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-morpholino-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide  | 0,13 | 0,13 |
| 94 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-isopropoxy-pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                      | 1,8  | 0,86 |
| 95 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-cyclopropoxy-pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                    | 1    | 32   |
| 96 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide                       | N/A  | N/A  |
|    | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-                                                                                        | 1,3  | 8,6  |

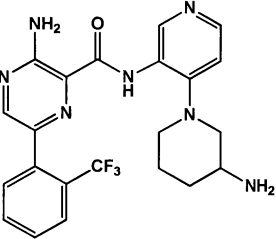
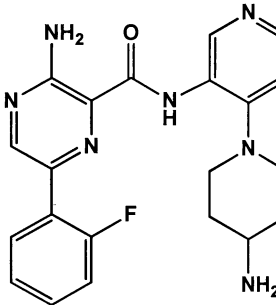
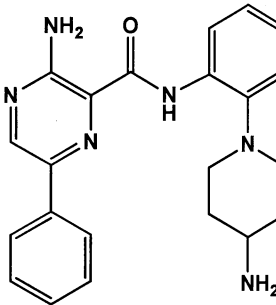
|     |                                                                                                                                          |      |     |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|
| 97  | yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-metoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                                                                    |      |     |
| 98  | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyanopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                           | 0,85 | 3,6 |
| 99  | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 0,6  | 1,8 |
| 100 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-xyano-4-phenoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                         | 23   | 100 |
| 101 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-metoxi-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                   | 5,1  | 6,6 |
| 102 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                      | 37   | 14  |
| 103 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit | 5,2  | 29  |
| 104 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(xyanometyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                    | 4,4  | 66  |
| 105 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(xyanometyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                     | 12   | 27  |
| 106 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit                     | 2,7  | 57  |
| 107 | (R)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-metylmorpholino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit  | 0,89 | 7,7 |

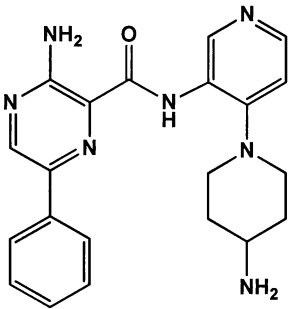
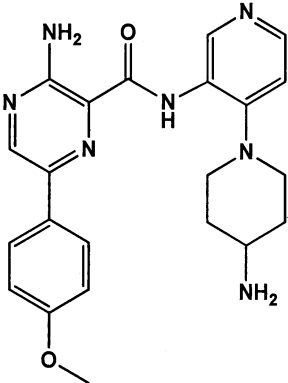
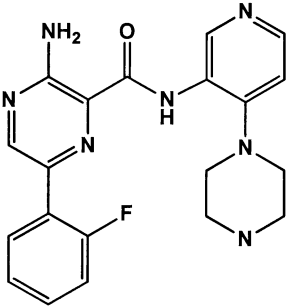
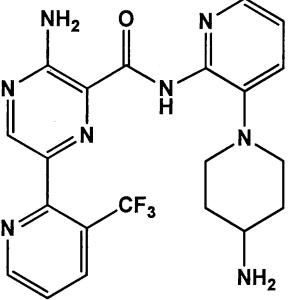
|     |                                                                                                                                                        |      |     |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|
| 108 | (S)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-methylmorpholino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid              | 0,32 | 3,8 |
| 109 | 6-(6-(3-oxa-8-azabicyclo[3,2,1]octan-8-yl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid | 0,94 | 4,8 |
| 110 | 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                   | 14   | 66  |
| 111 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-ethoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                                        | 3,6  | 16  |
| 112 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-isopropylmorpholino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid               | N/A  | N/A |
| 113 | 3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                      | 21   | 30  |
| 114 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(cyanomethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-cyano-4-methoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                                | 0,53 | 4,1 |
| 115 | (R)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((1-hydroxypropan-2-yl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid     | 0,26 | 3,9 |
| 116 | (S)-3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((1-hydroxypropan-2-yl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid     | 2    | 18  |
| 117 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-((2-hydroxyethyl)amino)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid               | 0,84 | 2   |
| 118 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(2-hydroxyethoxy)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid                     | 2,3  | 28  |

|     |                                                                                                                                               |     |    |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----|
| 119 | 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(6-(3-methoxyazetidin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamid | 4,8 | 21 |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|----|

Bảng 4 biểu thị dữ liệu hoạt tính ức chế PKC $\alpha$ / $\theta$  so sánh cũng như dữ liệu hoạt tính kinaza khác đối với ví dụ 1, chất ức chế PKC của đơn sáng chế này, và các chất ức chế kinaza PIM khác.

Bảng 4. So sánh dữ liệu IC<sub>50</sub> kinaza được chọn giữa chất ức chế kinaza PIM và các chất ức chế PKC khác

| Hợp chất                                                                            | PKC $\alpha$<br>(nM) | PKC $\theta$<br>(nM) | GSK3 $\beta$<br>(nM) | PIM 2<br>(nM) | 92,1 Cell<br>(nM) | SKMEL<br>Cell<br>(nM) |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|---------------|-------------------|-----------------------|
|   | 50                   | 590                  | 97                   | 490           | 6,150             | >10.000               |
|  | 0,13                 | 0,33                 | 0,1                  | 1,4           | 116               | 143                   |
|  | 0,15                 | 0,25                 | 1                    | 770           | 361               | 1860                  |

|                                                                                                    |      |      |       |         |     |         |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------|------|-------|---------|-----|---------|
|                   | 0,13 | 0,84 | 0,2   | 10      | 370 | 190     |
|                   | 0,19 | 1,5  | 0,2   | 13      | 680 | 975     |
|                 | 0,8  | 6    | 0,2   | 78      | 360 | 140     |
|  <p>Ví dụ 1</p> | 1,3  | 2,8  | 5,500 | >10.000 | 141 | >10.000 |

Bảng 4 biểu thị sự so sánh trực tiếp của dữ liệu thử nghiệm kinaza với nhiều chất ức chế kinaza PIM được mô tả trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO2008/160692 và ví dụ 1, chất ức chế PKC làm ví dụ đại diện được bộc lộ trong đơn sáng chế này. Dữ liệu này bộc lộ rằng hợp chất theo ví dụ 1 có tính chọn lọc ngoài

dự đoán liên quan đến GSK3 $\beta$  ngoài mục tiêu và tiềm lực ngoài dự đoán trong việc ức chế tăng sinh ở các tế bào 92.1 (bệnh ung thư hắc mạc), khi so sánh với các chất ức chế PIM ví dụ điển hình. Chất này đã tăng tính chọn lọc dường như là kết quả của phần bản lề pyridin-3-yl được gắn với gốc piperdin-4-yl mà có trong ví dụ 1. Phần bản lề pyridin-3-yl được tìm thấy ở tất cả các hợp chất ức chế PKC theo sáng chế. Không hợp chất nào trong số các chất ức chế kinaza PIM trong bảng 4 sở hữu phần bản lề pyridin-3-yl và như được biểu thị trong bảng 4, các chất ức chế kinaza PIM này tương đối là không có tính chọn lọc. Theo đó, các chất ức chế kinaza PIM tương tự về cấu trúc được bộc lộ trong công bố đơn sáng chế quốc tế số WO2008/160692 không hoặc sẽ không được dự đoán là có tính chọn lọc như các chất ức chế PKC theo sáng chế. Ngoài ra, dữ liệu trong bảng 4 biểu thị rằng Ví dụ 1 có ít hoặc không có hoạt tính PIM2, mà hơn nữa còn phân biệt các hợp chất ức chế PKC theo sáng chế với các chất ức chế kinaza PIM đã biết.

Dữ liệu IC<sub>50</sub> đại diện cho kinaza trong và ngoài mục tiêu với các chất ức chế PKC theo sáng chế đại diện bổ sung được tóm tắt trong bảng 5.

Bảng 5. Dữ liệu IC<sub>50</sub> ức chế kinaza với các chất ức chế PKC theo sáng chế.

| Ví dụ | PKC Alpha (nM) | PKCtheta (nM) | GSK3 Beta (nM) | Tế bào TMD8 (nM) | Tế bào 92.1 (nM) | Tế bào SKMEL (nM) |
|-------|----------------|---------------|----------------|------------------|------------------|-------------------|
| 1     | 1,3            | 2,8           | 5500           | ND               | 141              | >10.000           |
| 2     | 0,25           | 1,3           | 2,400          | 245              | 110              | >10.000           |
| 4     | 0,13           | 0,3           | 3,100          | 147              | 71               | >10.000           |
| 6     | 0,22           | 2,1           | 1,300          | 151              | 261              | >10.000           |
| 8     | 1              | 16            | 210            | 240              | 40               | 3860              |
| 9     | 1,9            | 0,4           | 3,100          | 900              | 184              | >10.000           |



|    |      |      |         |     |     |         |
|----|------|------|---------|-----|-----|---------|
| 10 | 0,9  | 2,8  | 2,100   | 385 | 228 | >10.000 |
| 13 | 1,3  | 0,45 | 2,100   | 763 | 67  | >10.000 |
| 20 | 0,5  | 3,6  | 10.000  | 410 | 387 | >10.000 |
| 21 | 0,25 | 1,2  | 2,100   | 176 | 12  | >10.000 |
| 30 | 0,6  | 2,1  | 1,500   | 227 | 188 | >10.000 |
| 75 | 0,97 | 4,7  | 2,400   | 146 | 108 | >10.000 |
| 76 | 0,13 | 0,88 | 6,500   | 77  | 34  | >10.000 |
| 77 | 0,13 | 0,36 | >10.000 | 72  | 14  | 4430    |
| 78 | 0,13 | 0,2  | 3,400   | 41  | 22  | 7015    |

Các mô hình hiệu quả in vivo— các nghiên cứu dị ghép bệnh ung thư hắc mạc 92.1 của các chất ức chế PKC được chọn lọc

Chuột được cấy các tế bào ung thư hắc mạc thể đột biến GNAQ 92.1 để kiểm tra tính hiệu quả in vivo của các chất ức chế PKC. Mỗi con chuột được tiêm dưới da (vùng nách)  $5 \times 10^6$  tế bào được trộn trong 50Ll Matrigel và 50uL PBS. Theo dõi sự tăng trưởng khối u cho đến khi khối u đạt được thể tích 150-250mm<sup>3</sup>. Kích thước khối u, theo mm<sup>3</sup>, được tính từ: Thể tích khối u =  $(w^2 \times l)/2$  trong đó w = chiều rộng và l = chiều dài, theo mm, của khối u. Khi các khối u đã đạt đến kích cỡ yêu cầu, sử dụng các hợp chất thử nghiệm ở các liều được yêu cầu và với các lịch trình ở thể tích liều là 10ml/kg. Các động vật được cân hai lần/tuần và các thể tích liều theo đó được điều chỉnh. Thể tích khối u được đo hai lần/tuần sử dụng dụng cụ đo caliper và các thể tích khối u được tính là Chiều dài x chiều rộng<sup>2</sup>/2. Dữ liệu in-vivo được tạo ra cho các chất

ức chế PKC mạnh và các chất ức chế PKC chọn lọc (các ví dụ 2, 9) và được so với AEB071. Các chất ức chế PKC theo sáng chế đã đạt được sự giảm khối u khi so sánh với sự làm ngừng phát triển khối u với AEB071 ở liều nhỏ hơn so với liều của AEB071 mà chỉ đạt được sự ngừng phát triển khối u trong mô hình này.

Ví dụ 2 giảm tăng sinh khối u ở dị ghép ung thư hắc mạc 92.1 theo phương thức phụ thuộc liều, khi so sánh với sotrastaurin (Fig. 1). Ngoài ra, ví dụ 2 biểu thị sự giảm đáng kể liều dùng để đạt được hiệu quả được cải thiện (giảm) so với sotrastaurin (ngừng). Dựa trên dữ liệu được thể hiện ở đây, các hợp chất theo sáng chế được hoặc sẽ được kỳ vọng là cảm ứng có chọn lọc thoái biến khối u trong mô hình bệnh ung thư hắc mạc mang các đột biến GNAQ, cũng như đạt được hiệu quả được cải thiện (thoái biến) so với sotrastaurin (ngừng), như được biểu thị trong Fig. 1. Ví dụ, như được nhìn thấy trong Fig. 3, ví dụ 9 và ví dụ 10 cũng biểu thị hiệu quả được cải thiện (thoái biến) trong mô hình dị ghép ung thư hắc mạc 92.1 khi so sánh với chất dẫn thuốc. Theo đó, người ta dự đoán rằng các hợp chất theo sáng chế được hoặc sẽ được kỳ vọng là cảm ứng có chọn lọc thoái biến khối u *in vivo*.

Sự so sánh dữ liệu dược lý của chuột nhắt và chuột *in-vivo* trong ví dụ 2 và sotrastaurin (các bảng 6 và 7) biểu thị rằng ví dụ 2 có PK được cải thiện so với sotrastaurin.

Bảng 6. So sánh dữ liệu dược lý ở chuột *In vivo* (C57BL/6)

| Liều IV: 1 mg/kg PO: 10 mg/kg |         |        |
|-------------------------------|---------|--------|
|                               | Ví dụ 2 | AEB071 |
| CL (ml/phút•kg)               | 14      | 28     |
| V <sub>ss</sub> (l/kg)        | 0,4     | 1,9    |
| t <sub>1/2</sub> (h)          | 0,5     | 1,2    |
| AUC (nmol•h / l) i.v.         | 2455    | 1209   |
| AUC (nmol•h / l) p.o.         | 1377    | 2151   |
| C <sub>max</sub> (nM) p.o.    | 946     | 688    |

|                     |     |     |
|---------------------|-----|-----|
| $T_{\max}$ p.o. (h) | 0,3 | 1,7 |
| Oral BA (%F)        | 6   | 19  |

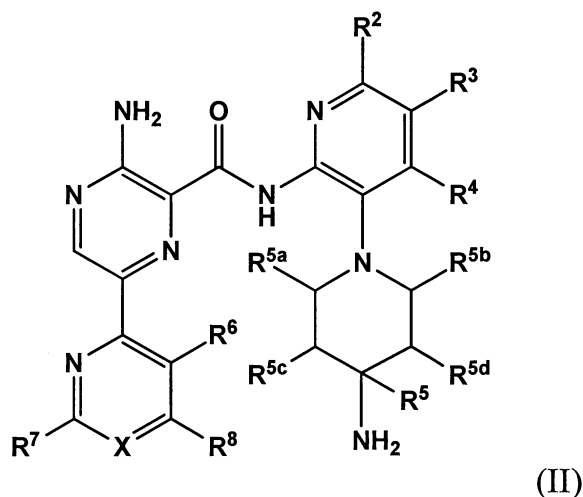
Bảng 7. So sánh dữ liệu dược lý học ở chuột nhắt in vivo (Wistar-Han không đưa ống dò vào cơ thể)

| Liều 0,3 mg/kg PO: 3 mg/kg |         |        |
|----------------------------|---------|--------|
|                            | Ví dụ 2 | AEB071 |
| CL (ml/phút•kg)            | 28      | 18     |
| Vss (l/kg)                 | 1,1     | 2,3    |
| $t_{1/2}$ (h)              | 0,7     | 1,7    |
| AUC (nmol•h / l) i.v.      | 380     | 609    |
| AUC (nmol•h / l) p.o.      | 2765    | 620    |
| $C_{\max}$ (nM) p.o.       | 756     | 158    |
| $T_{\max}$ p.o. (h)        | 1,5     | 0,5    |
| Oral BA (%F)               | 72      | 10     |

Các hợp chất theo sáng chế đại diện một nhóm chất ức chế PKC phân tử nhỏ được cải thiện về tính chọn lọc với hoạt tính chống ung thư in-vivo và tính chọn lọc đã được chứng minh khi so sánh với sotrastaurin. Hơn nữa, các chất ức chế PKC theo sáng chế nói chung là thể hiện độ mạnh, tập hợp đặc tính PK, hấp thụ, dung nạp dạ dày-ruột và tính chọn lọc kinaza được cải thiện khi so sánh với các chất ức chế PKC đã biết.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

## 1. Hợp chất có công thức II:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là N hoặc CR;

mỗi R, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> và R<sup>4</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, halo, hydroxy (-OH), C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> haloalkyl hoặc C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng hydroxyl, halo, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

R<sup>5</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>F, CHF<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

mỗi R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc C<sub>1-3</sub> alkoxy, hoặc R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc nhóm tạo cầu etylen;

mỗi R<sup>5c</sup> và R<sup>5d</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, F, -OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc C<sub>1-3</sub> alkoxy, hoặc R<sup>5c</sup> và R<sup>5d</sup> được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen, nhóm tạo cầu etylen hoặc nhóm tạo cầu -CH<sub>2</sub>-O-;

mỗi R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> và R<sup>8</sup> độc lập được chọn từ H, <sup>2</sup>H, halo, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> haloalkyl, C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> haloalkoxy, C<sub>3-7</sub> xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy; hoặc

trong đó R<sup>6</sup> và R<sup>8</sup> tùy ý tạo thành vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic no một phần với vòng heteroaryl, vòng carbobixyclic hoặc vòng heterobixyclic đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ: <sup>2</sup>H, halo, C<sub>1-3</sub> haloalkyl, C<sub>1-3</sub> alkoxy,

C<sub>1-3</sub> haloalkoxy, C<sub>3-7</sub> xycloalkyl và heteroxycyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S.

2. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X là N và mỗi R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> và R<sup>4</sup> độc lập là H hoặc halo.
3. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó X là CR; và mỗi R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> và R<sup>8</sup> độc lập là H hoặc halo.
4. Hợp chất theo điểm 3, hoặc muối được dụng của nó, trong đó mỗi R<sup>6</sup> và R<sup>7</sup> độc lập được chọn từ H, halo, C<sub>1-3</sub> haloalkyl, C<sub>1-3</sub> haloalkoxy, C<sub>3-7</sub> xycloalkyl, morpholino, piperidinyl và piperazinyl.
5. Hợp chất theo điểm 4, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R<sup>5</sup> là -H, <sup>2</sup>H hoặc CH<sub>3</sub>; và mỗi R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> là H và mỗi R<sup>5c</sup> và R<sup>5d</sup> là H.
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:
  - 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(metoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;
  - 3-amino-N-(3-(4-amino-4-metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-clopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-methoxypyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(2-methoxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

(+)-3-amino-N-(3-((cis)-4-amino-3-flopyridin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-flopyridin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-ethylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-ethoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;

3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-clo-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)-6-methylpyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-3-metoxypiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-flo-4-methylpyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-etoxy-3-flopyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(hydroxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit; và  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(metoxymetyl)-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:

3-amino-N-(3-(4-amino-4-(etoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(etoxymetyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-((diflometoxy)metyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(5-metoxy-3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-3-flo-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;

3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-((3S,4R)-4-amino-3-fluoro-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide; và  
 3-amino-N-(3-(4-amino-3-fluoro-4-(2-hydroxyethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 hoặc muối được dùng của nó.

8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(methoxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-(hydroxymethyl)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide; và  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(4-methoxy-3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 hoặc muối được dùng của nó.

9. Hợp chất theo điểm 8, trong đó hợp chất này được chọn từ:

3-amino-N-(3-(4-aminopiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide;  
 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(trifluoromethyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamide; và

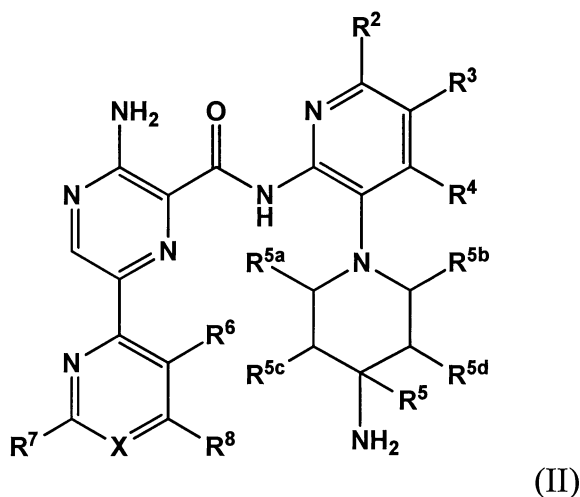


3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometoxy)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit;  
hoặc muối được dụng của nó.

10. Hợp chất theo điểm 8 là 3-amino-N-(3-(4-amino-4-methylpiperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-6-(3-(triflometyl)pyridin-2-yl)pyrazin-2-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

11. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10, hoặc muối được dụng của nó, và chất mang hoặc tá dược được dụng.

12. Hợp chất có công thức II:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là N hoặc CR;

mỗi R, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> và R<sup>4</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, halo, hydroxy (-OH), C<sub>1-3</sub> alkoxy, C<sub>1-3</sub> haloalkyl hoặc C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng hydroxyl, halo, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

R<sup>5</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>F, CHF<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OH, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH, C<sub>1-3</sub> alkoxy hoặc C<sub>1-3</sub> haloalkoxy;

mỗi R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> độc lập là H, <sup>2</sup>H, C<sub>1-3</sub> alkyl, C<sub>1-3</sub> alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc C<sub>1-3</sub> alkoxy, hoặc R<sup>5a</sup> và R<sup>5b</sup> được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc nhóm tạo cầu etylen;

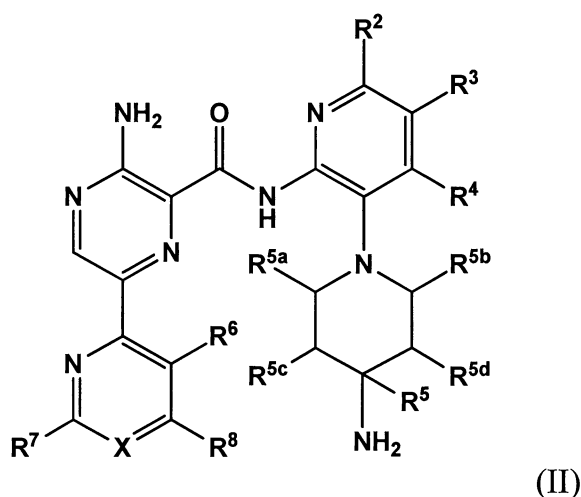
mỗi  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  độc lập là H,  $^2\text{H}$ , F, -OH,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy, hoặc  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen, nhóm tạo cầu etylen hoặc nhóm tạo cầu  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ;

mỗi  $R^6$ ,  $R^7$  và  $R^8$  độc lập được chọn từ H,  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxycyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy hoặc  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy; hoặc

trong đó  $R^6$  và  $R^8$  tùy ý tạo thành vòng heterobicyclic hoặc vòng carbobicyclic no một phần với vòng heteroaryl, vòng carbobicyclic hoặc vòng heterobicyclic đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ:  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxycyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S;

để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư; trong đó bệnh ung thư được chọn từ u hắc tố, u ác tính màng bồ đào, u lympho, u lympho tế bào B lớn lan tỏa và ung thư kháng ibrutinib.

### 13. Hợp chất có công thức II:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là N hoặc CR;

mỗi R,  $R^2$ ,  $R^3$  và  $R^4$  độc lập là H,  $^2\text{H}$ , halo, hydroxy (-OH),  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng hydroxyl, halo,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy hoặc  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy;

$R^5$  độc lập là H,  $^2\text{H}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{F}$ ,  $\text{CHF}_2$ ,  $\text{CF}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy hoặc  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy;

mỗi  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  độc lập là H,  $^2\text{H}$ ,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl này tùy ý được thế bằng F, OH hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy, hoặc  $R^{5a}$  và  $R^{5b}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen hoặc nhóm tạo cầu etylen;

mỗi  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  độc lập là H,  $^2\text{H}$ , F, -OH,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH hoặc  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy, hoặc  $R^{5c}$  và  $R^{5d}$  được nối với nhau tạo thành nhóm tạo cầu metylen, nhóm tạo cầu etylen hoặc nhóm tạo cầu  $-\text{CH}_2-\text{O}-$ ;

mỗi  $R^6$ ,  $R^7$  và  $R^8$  độc lập được chọn từ H,  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S,  $\text{C}_{1-3}$  alkyl đã nêu tùy ý được thế bằng F, OH,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy hoặc  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy; hoặc

trong đó  $R^6$  và  $R^8$  tùy ý tạo thành vòng heterobixyclic hoặc vòng carbobixyclic no một phần với vòng heteroaryl này, vòng carbobixyclic hoặc vòng heterobixyclic đã nêu tùy ý được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ:  $^2\text{H}$ , halo,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkyl,  $\text{C}_{1-3}$  alkoxy,  $\text{C}_{1-3}$  haloalkoxy,  $\text{C}_{3-7}$  xycloalkyl và heteroxyclyl 4-7 cạnh có 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S;

để sử dụng trong điều trị rối loạn liên quan đến miễn dịch được chọn từ bệnh tự miễn, phản ứng dị ứng và từ chối ghép mô.

14. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 kết hợp với chất có hoạt tính điều trị ung thư khác được chọn từ: chất cảm ứng quá trình chết theo chương trình; polynucleotit; polypeptit; dược chất; chất bất chước sinh học; alkaloit; chất alkyl hóa; chất kháng sinh chống khối u; chất chống chuyển hóa; hormon; hợp chất platin; kháng thể đơn dòng được liên hợp với dược chất chống ung thư, các độc tố và/hoặc nuclit phóng xạ; chất biến đổi đáp ứng sinh học và intolokin; chất thuộc liệu pháp miễn dịch đáp ứng; yếu tố tăng trưởng về tạo máu; chất cảm ứng biệt hóa tế bào khối u; chất phản ứng liệu pháp gen; chất phản ứng và nucleotit liệu pháp đối nghĩa; vacxin ngừa khối u; chất ức chế hình thành mạch mới, và

chất điều biến thụ thể estrogen, chất điều biến thụ thể androgen, chất điều biến thụ thể retinoid, chất gây độc tế bào, chất chống tăng sinh, chất ức chế prenyl-protein transferaza, chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất ức chế HIV proteaza, chất ức chế phiên mã ngược, và chất ức chế hình thành mạch khác.

Fig. 1

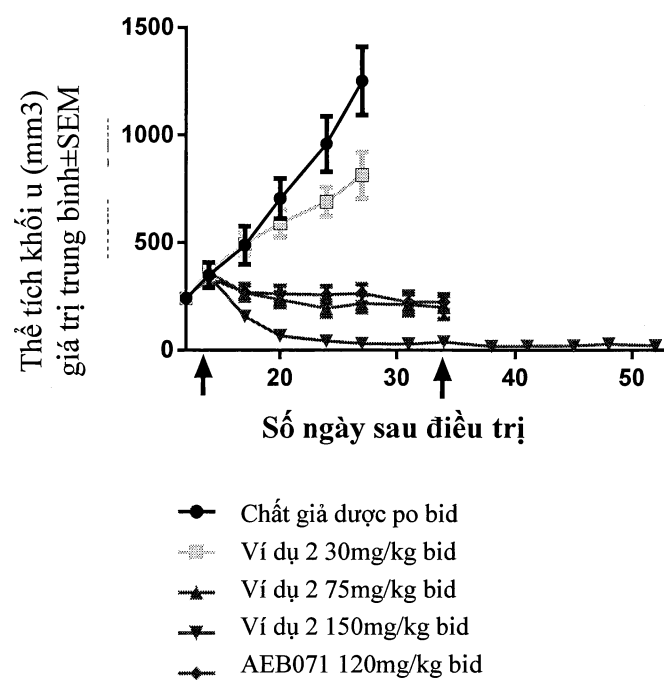


Fig. 2

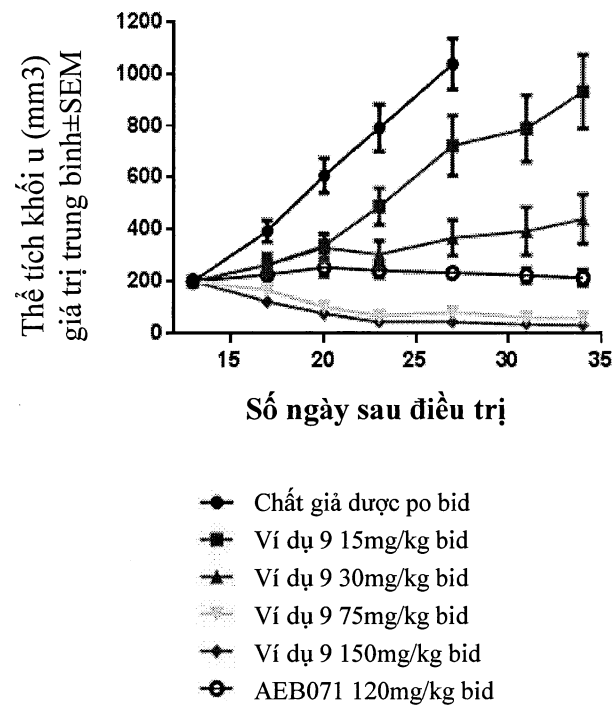


Fig. 3

