



(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)



1-0029148

(51)⁷ C07D 401/14; A61P 35/00; C07D
471/04; C07D 405/14; A61K 31/4439;
C07D 401/12

(13) B

(21) 1-2015-03174

(22) 11/02/2014

(86) PCT/US2014/015706 11/02/2014

(87) WO2014/124418 14/08/2014

(30) PCT/US2013/025639 11/02/2013 US

(45) 25/08/2021 401

(43) 25/11/2015 332A

(73) CONSTELLATION PHARMACEUTICALS, INC. (US)

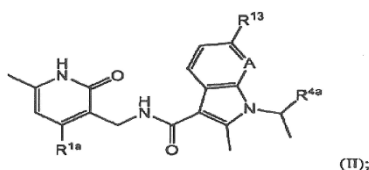
215 First Street, Suite 200, Cambridge, MA 02142, United States of America

(72) ALBRECHT, Brian, K. (US); AUDIA, James, Edmund (US); COOK, Andrew, S. (US); DAKIN, Les, A. (US); DUPLESSIS, Martin (US); GEHLING, Victor, S. (US); HARMANGE, Jean-Christophe (FR); NASVESCHUK, Christopher, G. (US); VASWANI, Rishi, G. (IN).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẤT ĐIỀU BIẾN ENZYM CẢI BIẾN BẰNG METYL HISTON VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến các chất điều biến enzym cải biến metyl histon có công thức cấu tạo (II):



và dược phẩm chứa chúng. Các hợp chất này là hữu hiệu để sản xuất thuốc để điều trị bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến sự tăng sinh tế bào, đặc biệt là bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư nguyên bào đệm đa dạng, bệnh ung thư bàng quang, u hắc sắc tố, bệnh ung thư phế quản, bệnh ung thư mô bạch huyết, và bệnh ung thư gan.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất điều biến enzym cải biến methyl histon và dược phẩm chứa chúng. Các chất điều biến theo sáng chế hữu hiệu để sản xuất thuốc điều trị các bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến sự tăng sinh tế bào, đặc biệt là bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư nguyên bào đệm đa dạng, bệnh ung thư bàng quang, u hắc sắc tố, bệnh ung thư phế quản, bệnh ung thư mô bạch huyết, và bệnh ung thư gan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

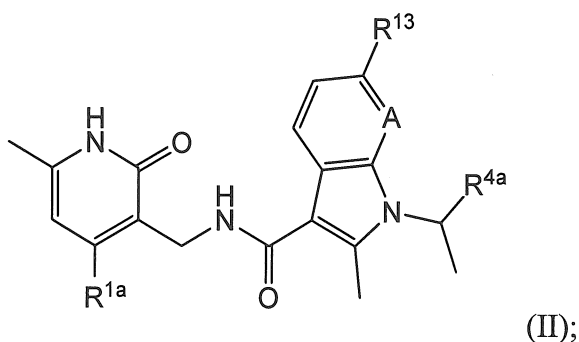
Chất nhiễm sắc của sinh vật nhân chuẩn gồm có phức hệ phân tử lớn được gọi là nucleosom. Nucleosom có 147 cặp bazơ của ADN bao quanh octame protein có hai cấu trúc dưới đơn vị của mỗi trong số protein histon H2A, H2B, H3, và H4. Protein histon tham gia vào các cải biến sau dịch mã mà lần lượt tác động đến cấu trúc chất nhiễm sắc và sự biểu hiện gen. Một kiểu cải biến sau dịch mã được tìm thấy trên histon là quá trình methyl hoá các gốc lysin và arginin. Quá trình methyl hoá histon đóng vai trò then chốt trong việc điều hoà sự biểu hiện gen ở sinh vật nhân chuẩn. Quá trình methyl hoá tác động đến cấu trúc chất nhiễm sắc và tham gia vào cả sự hoạt hoá và sự ức chế phiên mã (Zhang and Reinberg, Genes Dev. 15:2343-2360, 2001). Enzym xúc tác việc gắn vào và loại bỏ các nhóm methyl ra khỏi histon được cho là có liên quan đến việc gây câm gen, sự phát triển phôi, sự tăng sinh tế bào và các quá trình khác.

WO 2011/140324 A1 bộc lộ indol hữu hiệu để điều trị bệnh ung thư. WO 2012/118812 A2 đề cập đến hợp chất heteroaryl hai vòng ngưng tụ được thế ở vị trí 6,5 cũng như dược phẩm chứa các hợp chất này và phương pháp điều trị bệnh ung thư bằng cách cho đối tượng cần điều trị sử dụng các hợp chất và dược phẩm này. US 2012/264734 A1 đề cập đến các hợp chất benzen được thế aryl hoặc heteroaryl

cũng như được phẩm chứa các hợp chất này và phương pháp điều trị bệnh ung thư bằng cách cho đối tượng cần điều trị sử dụng các hợp chất và được phẩm này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất đến enzym cải biến methyl là đích hấp dẫn đối với việc điều biến, do vai trò đã nêu của chúng trong việc điều hoà các quá trình sinh học khác nhau. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng các hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa chúng, là hữu hiệu làm các chất mà kích thích hoạt tính của enzym cải biến histon methyl, bao gồm histon metylaza và histon demetylaza. Các hợp chất này có công thức chung II:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó mỗi biến số là như được xác định trong bản mô tả này.

Các hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa chúng, là hữu ích để điều trị nhiều bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, có liên quan đến enzym cải biến methyl. Các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh như vậy bao gồm các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh được mô tả trong bản mô tả này.

Các hợp chất được đề xuất bởi sáng chế cũng hữu ích để dùng cho nghiên cứu enzym cải biến methyl trong hiện tượng sinh học và bệnh lý; nghiên cứu con đường dẫn truyền tín hiệu nội bào qua trung gian enzym cải biến methyl và việc đánh giá nhằm so sánh các chất điều biến enzym cải biến methyl mới.

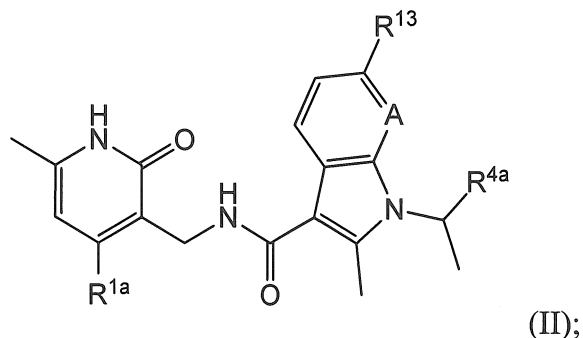
Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1. Các hợp chất có công thức II được lấy làm ví dụ.

Mô tả chi tiết sáng chế

Mô tả chung các hợp chất theo sáng chế:

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức II:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

A là CH hoặc N;

R^{1a} được chọn từ -C₁-C₂ alkyl và -O-(C₁-C₂ alkyl), trong đó R^{1a} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo;

R^{4a} được chọn từ 1-halo(C₁-C₃ alkyl-piperidin-4-yl, C₃-C₆ xycloalkyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo, và tetrahydropyranyl; và

R¹³ được chọn từ hydro, halo, phenyl, pyridinyl, và -O-(C₁-C₄ alkyl).

Hợp chất và định nghĩa:

Các định nghĩa về các nhóm chức cụ thể và các thuật ngữ hoá học được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Đối với các mục đích của sáng chế, các nguyên tố hoá học được nhận dạng theo Bảng hệ thống tuần hoàn các nguyên tố hoá học, phiên bản CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed., bìa trong và các nhóm chức cụ thể thường được nhận dạng như được mô tả trong đó. Ngoài ra, các nguyên lý chung về hoá học hữu cơ, cũng như các nhóm chức cụ thể và khả năng phản ứng, được mô tả trong ấn phẩm: Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999; Smith and March March's Advanced Organic Chemistry, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001; Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989; Carruthers, Some Modern Methods of Organic Synthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge,

1987; toàn bộ nội dung của mỗi trong số các tài liệu này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Trừ khi có chỉ định khác, các cấu trúc được mô tả trong bản mô tả này cũng có nghĩa là bao gồm tất cả các dạng đồng phân (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân hình học (hoặc dạng cấu hình)) của cấu trúc này; ví dụ, các cấu hình R và S đối với mỗi tâm không đối xứng, chất đồng phân liên kết đôi Z và E và các chất đồng phân cấu hình Z và E. Do đó, các chất đồng phân hóa học lập thể đơn lẻ cũng như các hỗn hợp gồm các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân hình học (hoặc cấu hình) của các hợp chất này là thuộc phạm vi của sáng chế. Trừ khi có chỉ định khác, tất cả các dạng tautome của các hợp chất theo sáng chế là thuộc phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, trừ khi có chỉ định khác, các cấu trúc được mô tả trong bản mô tả này cũng có nghĩa là bao gồm các hợp chất mà chỉ khác nhau về sự có mặt của một hoặc nhiều nguyên tử được làm giàu về mặt đồng vị. Ví dụ, các hợp chất có cấu trúc theo sáng chế bao gồm sự thay thế hydro bằng deuteri hoặc triti hoặc sự thay thế cacbon bằng cacbon giàu ^{13}C - hoặc ^{14}C là thuộc phạm vi của sáng chế. Các hợp chất này là hữu ích, ví dụ, làm công cụ phân tích, như hợp chất dò trong thử nghiệm sinh học hoặc làm chất điều trị theo sáng chế.

Khi một chất đồng phân đối ảnh cụ thể được ưu tiên, theo một số phương án, nó có thể được tạo ra hầu như không chứa chất đồng phân đối ảnh tương ứng và cũng có thể được dùng để chỉ “được làm giàu về mặt quang học”. “Được làm giàu về mặt quang học”, như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là hợp chất được tạo thành với một chất đồng phân đối ảnh có tỷ lệ lớn hơn một cách đáng kể. Theo một số phương án, hợp chất được tạo thành với ít nhất khoảng 90% trọng lượng của chất đồng phân đối ảnh được ưu tiên. Theo các phương án khác, hợp chất được tạo thành với ít nhất khoảng 95%, 98%, hoặc 99% trọng lượng của chất đồng phân đối ảnh được ưu tiên. Các chất đồng phân đối ảnh được ưu tiên có thể được tách từ hỗn hợp racemic bằng phương pháp đã biết bất kỳ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, bao gồm sắc ký lỏng cao áp (HPLC) không đối xứng và sự tạo thành và kết tinh của các muối không đối xứng hoặc được điều chế bằng phương pháp tổng hợp không đối xứng. Xem, ví dụ ấn phẩm: Jacques et al., *Enantiomers, Racemates and Resolutions* (Wiley Interscience, New York, 1981); Wilen, et al., *Tetrahedron* 33:2725

(1977); Eliel, E.L. Stereochemistry of Cacbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); Wilen, S.H. Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E.L. Eliel, Ed., Univ. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972).

Liên kết dạng sóng ($\sim$) ở tâm không đối xứng trong cấu trúc hoá học được sử dụng để xác định các hợp chất theo sáng chế mà là tinh khiết về mặt quang học, nhưng sự quay quang của chúng vẫn chưa được xác định. Liên kết thẳng ở tâm không đối xứng cho biết hỗn hợp raxemic mặc dù, như được kể đến trên đây, sáng chế cũng bao gồm tất cả các dạng chất đồng phân có thể có của raxemat.

Thuật ngữ “halo” và “halogen” như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ nguyên tử được chọn từ flo (flo,-F), clo (clo,-Cl), brom (bromo, -Br), và iot (iodo, -I).

Thuật ngữ “alkylen” dùng để chỉ nhóm alkyl hoá trị hai. “Chuỗi alkylen” là nhóm polymetylen, nghĩa là, $-(CH_2)_n-$, trong đó n là số nguyên dương, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 6, từ 1 đến 4, từ 1 đến 3, từ 1 đến 2, hoặc từ 2 đến 3. Chuỗi alkylen được thể là nhóm polymetylen trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong metylen được thay thế bằng phần tử thế. Các phần tử thế thích hợp bao gồm các phần tử thế được mô tả dưới đây đối với nhóm béo được thế.

Thuật ngữ “alkyl,” như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ gốc hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, bão hòa hoá trị một thu được từ phần béo chứa khoảng từ một đến sáu nguyên tử cacbon bằng việc loại bỏ nguyên tử hydro đơn lẻ. Theo một số phương án, alkyl chứa từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon. Theo phương án khác, alkyl chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Theo phương án khác nữa, alkyl chứa từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Theo phương án khác nữa, alkyl chứa từ 1 đến 2 cacbon. Các ví dụ về các gốc alkyl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, iso-butyl, sec-butyl, sec-pentyl, iso-pentyl, tert-butyl, n-pentyl, neopentyl, n-hexyl, sec-hexyl, và các gốc tương tự.

Như được mô tả trong bản mô tả này, các hợp chất theo sáng chế có thể chứa các phần “được thế tùy ý”. Nói chung, thuật ngữ “được thế”, nếu được đứng trước bởi thuật ngữ “tùy ý” hoặc không, có nghĩa rằng một hoặc nhiều hydro của phần được xác định được thay thế bằng phần tử thế thích hợp. Trừ khi được chỉ định khác, nhóm “tùy

ý được thể” có thể có phần tử thể thích hợp ở mỗi vị trí có thể thể của nhóm và khi nhiều hơn một vị trí trong cấu trúc đã nêu bất kỳ có thể được thể bằng nhiều hơn một phần tử thể được chọn từ nhóm được xác định, phần tử thể có thể giống nhau hoặc khác nhau tại mỗi vị trí. Tổ hợp của các phần tử thể được hình dung trong sáng chế này tốt hơn là tổ hợp mà dẫn đến sự hình thành các hợp chất có thể có thể tổng hợp hóa học được hoặc ổn định. Thuật ngữ “ổn định”, như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ các hợp chất mà hầu như không bị thay đổi khi đặt trong các điều kiện cho phép điều chế, phát hiện chúng và theo một số phương án, thu hồi, tinh chế và sử dụng chúng cho một hoặc nhiều trong số các mục đích được bộc lộ trong bản mô tả này.

Các phần tử thể hoá trị một thích hợp đối với nguyên tử cacbon có thể thể của nhóm “tùy ý được thể” độc lập là halogen; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, mà có thể được thể bằng R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ mà có thể được thể bằng R° ; $-CH=CHPh$, mà có thể được thể bằng R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR-$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR_2$; $-C(S)NR_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R_2$; $-OP(O)R_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; $-SiR_3$; $-(alkylene mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 4 cacbon)O-N(R^\circ)_2$; hoặc $-(alkylene mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 đến 4 cacbon)C(O)O-N(R^\circ)_2$, trong đó mỗi R° có thể được thể như được xác định dưới đây và độc lập là hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, hoặc vòng no, không bão hòa một phần có từ 5 đến 6 cạnh hoặc có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh, hoặc bất kể định nghĩa trên đây, hai lần xuất hiện độc lập của R° , cùng với

(các) nguyên tử xen giữa của chúng, tạo thành nhân một vòng hoặc hai vòng aryl no, không bão hòa một phần có từ 3 đến 12 cạnh có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh, mà có thể được thể như được xác định dưới đây.

Các phần tử thể thích hợp đối với nitơ có thể thể của nhóm “tùy ý được thể” bao gồm $-R^{\dagger}$, $-NR^{\dagger}_2$, $-C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)OR^{\dagger}$, $-C(O)C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$, $-S(O)_2R^{\dagger}$, $-S(O)_2NR^{\dagger}_2$, $-C(S)NR^{\dagger}_2$, $-C(NH)NR^{\dagger}_2$, hoặc $-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$; trong đó mỗi $R^{\dagger}$ độc lập là hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon mà có thể được thể như được xác định dưới đây, -Oph không được thể hoặc vòng no, không bão hòa một phần không được thể có từ 5 đến 6 cạnh hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh hoặc mặc dù định nghĩa trên đây, hai sự kiện độc lập của $R^{\dagger}$, cùng với (các) nguyên tử xen giữa của chúng tạo thành vòng một vòng hoặc hai vòng aryl no, không bão hòa một phần không được thể có từ 3 đến 12 cạnh có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh.

Các phần tử thể thích hợp đối với nhóm béo của $R^{\dagger}$ độc lập là halogen, $-R^{\bullet}$, $-(haloR^{\bullet})$, $-OH$, $-OR^{\bullet}$, $-O(haloR^{\bullet})$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^{\bullet}$, $-NH_2$, $-NHR^{\bullet}$, $-NR^{\bullet}_2$, hoặc $-NO_2$, trong đó mỗi $R^{\bullet}$ là không được thể hoặc khi được đứng trước bởi “halo” là chỉ được thể bằng một hoặc nhiều halogen và độc lập là vòng béo có từ 1 đến 4 cacbon, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, hoặc vòng no, không bão hòa một phần có từ 5 đến 6 cạnh hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy, hoặc lưu huỳnh.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chất ức chế” được xác định như hợp chất mà gắn kết với và/hoặc ức chế S-adenosylmethionin (SAM) đích bằng cách sử dụng enzym với ái lực có thể đo được. Theo một số phương án, chất ức chế có IC_{50} và/hoặc hằng số gắn kết nhỏ hơn khoảng $50\mu M$, nhỏ hơn khoảng $1\mu M$, nhỏ hơn khoảng $500nM$, nhỏ hơn khoảng $100nM$, hoặc nhỏ hơn khoảng $10nM$.

Thuật ngữ “ái lực có thể đo được” và “ức chế theo cách có thể đo được” như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là sự thay đổi có thể đo được về hoạt tính của ít nhất một enzyme hữu dụng SAM giữa mẫu bao gồm hợp chất đã nêu hoặc được phẩm chứa chúng và ít nhất một enzym phụ thuộc SAM và mẫu tương đương bao gồm

ít nhất một enzym phụ thuộc SAM, với sự không có mặt của hợp chất đã nêu hoặc được phẩm chứa chúng.

Mô tả các hợp chất lấy làm ví dụ:

Theo một số phương án của công thức II, R^{1a} được chọn từ $-OCH_3$, $-CH_3$, $-OCHF_2$, và $-CH_2CH_3$.

Theo một số phương án của công thức II, R^{4a} được chọn từ 4,4-đifloxylohexyl, xyclopropyl, tetrahydropyran-4-yl, 1-(t-butoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isobutoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(2-floetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2-đifloetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2,2-trifloetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2-hydroxyisobutyl)-piperidin-4-yl, 1-(hydroxyisopropylcarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(etoxycarbonylmethyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropylcarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-methylpiperidin-4-yl, 1-(methylsulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(ethylsulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropylsulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(phenyl)-piperidin-4-yl, 1-(oxetan-3-yl)piperidin-4-yl, 1-(pyridin-2-yl)-piperidin-4-yl, và 1-(pyrimidin-2-yl)-piperidin-4-yl.

Theo một số phương án của công thức II, R^{13} được chọn từ hydro, clo, flo, $-OCH(CH_3)_2$, phenyl, and pyridin-2-yl.

Các hợp chất có công thức II được lấy làm ví dụ được đưa ra trên Fig.1. Trong một số trường hợp, hai (hoặc nhiều) hợp chất trên Fig.1 có một (hoặc nhiều) liên kết dạng sóng sẽ có cùng cấu trúc chính xác. Bởi vì liên kết dạng sóng thể hiện tâm không đối xứng của sự quay quang không xác định, các hợp chất này sẽ được hiểu là các chất đồng phân quang học riêng rẽ và khác biệt với nhau. Fig.1 được chú giải để chỉ ra các nhóm gồm hai hoặc nhiều hợp chất mà có cùng cấu trúc được mô tả, nhưng thuộc hoá học lập thể khác nhau.

Sử dụng, bào chế và đường dùng:

Dược phẩm

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm bao gồm hợp chất theo sáng chế hoặc dẫn xuất dược dụng của nó và chất mang, chất hỗ trợ hoặc tá dược lỏng dược dụng. Lượng hợp chất trong dược phẩm theo sáng chế là lượng hữu hiệu để điều biến enzym cải biến methyl trong histon, hoặc thể đột biến của nó, theo cách có thể đo

được trong mẫu sinh học hoặc ở người bệnh. Theo một số phương án, lượng hợp chất theo sáng chế là lượng hữu hiệu để điều biến enzym cải biến metyl trong histon, hoặc thể đột biến của nó, theo cách có thể đo được trong mẫu sinh học hoặc ở đối tượng mắc bệnh.

Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế để dùng cho người bệnh cần dược phẩm này. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế để dùng qua đường miệng cho đối tượng mắc bệnh.

Thuật ngữ “đối tượng mắc bệnh,” như được sử dụng trong bản mô tả này, có nghĩa là động vật, tốt hơn là động vật có vú và tốt nhất là con người.

Thuật ngữ “chất mang, chất hỗ trợ hoặc tá dược lỏng được dụng” dùng để chỉ chất mang, chất hỗ trợ hoặc tá dược lỏng không độc mà không phá huỷ hoạt tính dược lý của hợp chất mà nó được bào chế với. Chất mang, chất hỗ trợ hoặc tá dược lỏng được dụng có thể được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất trao đổi ion, nhôm oxit, nhôm stearat, lecithin, protein huyết thanh, như albumin huyết thanh của người, chất đệm như phosphat, glyxin, axit sorbic, kali sorbat, hỗn hợp glyxerit riêng phần của axit béo thực vật bão hòa, nước, muối hoặc chất điện phân, như protamin sulfat, dinatri hydro phosphat, kali hydro phosphat, natri clorua, muối kẽm, silic oxit dạng keo, magie trisilicat, polyvinyl pyrrolidon, chất được tạo thành chủ yếu từ xenluloza, polyetylen glycol, natri carboxymetylxenluloza, polyacrylat, sáp, polyme khối polyetylen-polyoxypropylen, polyetylen glycol và lanolin.

“Dẫn xuất được dụng” có nghĩa là muối không độc bất kỳ, este, muối của este hoặc dẫn xuất khác của hợp chất theo sáng chế mà, khi dùng cho người nhận, có khả năng cung cấp, theo cách trực tiếp hoặc gián tiếp, hợp chất theo sáng chế hoặc chất chuyển hoá có hoạt tính về mặt ức chế hoặc phần còn lại của nó.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hoá, bằng việc phun xông, khu trú, qua trực tràng, qua mũi, qua khoang miệng, qua âm đạo hoặc qua vật chứa cấy dưới da. Thuật ngữ “ngoài đường tiêu hoá” như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm các kỹ thuật tiêm hoặc truyền dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khớp, trong hoạt dịch, trong xương ức, trong vỏ não,

trong gan, trong thương tổn và trong sọ. Tốt hơn là, dược phẩm được dùng qua đường miệng, trong màng bụng hoặc trong tĩnh mạch. Các dạng có thể tiêm vô trùng của dược phẩm theo sáng chế có thể là huyền phù trong nước hoặc trong dầu. Các huyền phù này có thể được bào chế theo các kỹ thuật đã được biết đến trong lĩnh vực này bằng cách sử dụng chất phân tán hoặc chất làm ướt và chất tạo huyền phù. Dược phẩm có thể tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù có thể tiêm vô trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi không độc chấp nhận được ngoài đường tiêu hoá, ví dụ như dung dịch trong 1,3-butandiol. Trong số các tá dược dạng lỏng và dung môi có thể chấp nhận mà có thể được dùng là nước, dung dịch Ringer và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, dầu vô trùng không bay hơi thường được dùng làm dung môi hoặc môi trường tạo huyền phù.

Đối với mục đích này, hỗn hợp dầu không bay hơi bất kỳ có thể được dùng bao gồm mono- hoặc di-glyxerit tổng hợp. Các axit béo, như axit oleic và dẫn xuất glyxerit của nó có thể dùng để bào chế dược phẩm có thể tiêm, như là dầu được dùng tự nhiên, như dầu oliu hoặc dầu thầu dầu, đặc biệt là ở dạng đã được polyoxyetyl hoá của chúng. Các dung dịch hoặc huyền phù dầu này cũng có thể chứa chất pha loãng hoặc chất gây phân tán dạng rượu mạch dài, như carboxymetyl xenluloza hoặc chất gây phân tán tương tự mà thường được dùng trong dược phẩm có dạng liều được dụng bao gồm nhũ tương và huyền phù. Các chất hoạt động bề mặt được sử dụng thông thường khác, như Tweens, Spans và chất nhũ hoá khác hoặc chất tăng cường độ sinh khả dụng mà thường được sử dụng trong việc sản xuất các dạng liều rắn, lỏng hoặc dạng liều được dụng khác cũng có thể được sử dụng để bào chế.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng ở dạng liều có thể chấp nhận qua đường miệng bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, viên nang, viên nén, huyền phù hoặc dung dịch trong nước. Trong trường hợp viên nén để dùng qua đường miệng, chất mang thường được sử dụng bao gồm lactoza và tinh bột ngô. Các chất làm trơn, như magie stearat, cũng thường được bổ sung. Để dùng qua đường miệng ở dạng viên nang, chất pha loãng hữu ích bao gồm lactoza và tinh bột ngô khô. Khi huyền phù trong nước được đòi hỏi để dùng qua đường miệng, hoạt chất được tổ hợp với chất nhũ hoá hoặc chất tạo huyền phù. Nếu muốn, một số chất tạo ngọt, chất tạo hương vị hoặc chất tạo màu cũng có thể được bổ sung vào.

Theo cách khác, dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng ở dạng viên đạn để dùng qua trực tràng. Chế phẩm này có thể được tạo ra bằng cách trộn chất với tá dược không gây kích ứng thích hợp mà có dạng rắn ở nhiệt độ trong phòng nhưng có dạng lỏng ở nhiệt độ trực tràng và do đó sẽ tan trong trực tràng để giải phóng dược chất. Các vật liệu này bao gồm bơ cacao, sáp ong và polyetylen glycol.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được dùng khu trú, đặc biệt là khi đích điều trị bao gồm các khu vực hoặc cơ quan có thể đến được một cách dễ dàng bằng việc dùng khu trú, bao gồm các bệnh về mắt, da hoặc đường ruột dưới. Dược phẩm dùng khu trú thích hợp được tạo ra một cách dễ dàng đối với mỗi trong số các vùng hoặc cơ quan này.

Việc dùng khu trú cho đường ruột dưới có thể được thực hiện đối với chế phẩm dạng thuốc đạn dùng cho trực tràng (xem trên đây) hoặc chế phẩm thụt rửa thích hợp. Cao dán dùng khu trú qua da cũng có thể được sử dụng.

Đối với việc dùng khu trú, dược phẩm được đề xuất có thể được bào chế trong thuốc mỡ thích hợp chứa hoạt chất được tạo huyền phù hoặc được hoà tan trong một hoặc nhiều chất mang. Các chất mang để dùng khu trú hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dầu khoáng, mỡ dạng lỏng, mỡ khoáng, propylen glycol, polyoxyetylen, hợp chất polyoxypropylen, sáp nhũ hoá và nước. Theo cách khác, dược phẩm được đề xuất có thể được bào chế trong thuốc xức ngoài ra thích hợp hoặc kem chứa hoạt chất được tạo huyền phù hoặc được hoà tan trong một hoặc nhiều chất mang được dùng. Chất mang thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dầu khoáng, sorbitan monostearat, polysorbat 60, sáp xetyl este, rượu xetearylic, 2-octyldodecanol, rượu benzylic và nước.

Để dùng cho mắt, dược phẩm được đề xuất có thể được bào chế ở dạng huyền phù dạng micron trong nước muối đẳng trương, vô trùng được điều chỉnh độ pH hoặc tốt hơn là, ở dạng dung dịch trong nước muối đẳng trương, vô trùng được điều chỉnh độ pH, hoặc có hoặc không có chất bảo quản như benzylalkoni clorua. Theo cách khác, để dùng cho mắt, dược phẩm có thể được bào chế trong thuốc mỡ như mỡ khoáng.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được dùng bằng việc sol khí mũi hoặc xông. Các dược phẩm này được tạo ra theo các kỹ thuật đã được biết đến trong lĩnh vực bào chế dược phẩm và có thể được tạo ra như dung dịch trong nước muối, bằng cách dùng rượu benzylic hoặc các chất bảo quản thích hợp khác, chất thúc đẩy sự hấp thụ để làm tăng cường độ sinh khả dụng, flocacbon và/hoặc các chất hoà tan hoặc gây phân tán thông thường khác.

Tốt nhất là, dược phẩm theo sáng chế được bào chế để dùng qua đường miệng. Các dược phẩm này có thể được dùng cùng hoặc không cùng thức ăn. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được dùng không cùng với thức ăn. Theo các phương án khác, dược phẩm theo sáng chế được dùng cùng với thức ăn.

Lượng hợp chất theo sáng chế mà có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra dược phẩm ở dạng liều đơn sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị và phương thức dùng cụ thể. Tốt hơn là, dược phẩm được đề xuất nên được bào chế sao cho liều chất ức chế nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100mg/kg thể trọng/ngày có thể được dùng cho người bệnh nhận các dược phẩm này.

Cũng nên được hiểu rằng liều cụ thể và chế độ điều trị đối với người bệnh cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều nhân tố, bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được dùng, tuổi, thể trọng, sức khoẻ tổng thể, giới tính, chế độ ăn, thời gian dùng, tốc độ bài tiết, việc phối hợp thuốc và phán quyết của bác sĩ điều trị và mức độ trầm trọng của bệnh cụ thể được điều trị. Lượng hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm cũng sẽ phụ thuộc vào hợp chất cụ thể trong dược phẩm.

Sử dụng hợp chất và dược phẩm:

Hợp chất và dược phẩm được mô tả trong bản mô tả này thường là hữu ích để điều biến hoạt tính của một hoặc nhiều enzym có liên quan đến việc điều hoà biểu sinh.

Biểu sinh là nghiên cứu về các thay đổi có thể di truyền về sự biểu hiện gen do các cơ chế gây ra khác với các thay đổi trong trình tự ADN cơ bản. Các cơ chế phân tử mà đóng vai trò trong việc điều hoà biểu sinh bao gồm sự metyl hoá ADN và các cải

biến chromatin/histon. Cụ thể là, sự methyl hoá histon là yếu tố then chốt trong nhiều hiện tượng biểu sinh.

Chromatin, tập hợp có tổ chức của ADN nhân và protein histon, là cơ sở đối với nhiều quy trình nhân sống bao gồm việc điều hoà phiên mã, sao chép, sửa chữa tổn hại ADN và sự tiến triển qua chu trình tế bào. Nhiều nhân tố, như enzym cải biến chromatin, đã được nhận dạng mà đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì sự cân bằng động học chromatin (Margueron, et al. (2005) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 15:163-176).

Histon là thành phần protein chính của chromatin. Chúng hoạt động như ống cuộn mà ADN quấn xung quanh và chúng đóng vai trò trong việc điều hoà gen. Có tổng cộng sáu nhóm histon (H1, H2A, H2B, H3, H4, và H5) được tổ chức thành hai siêu nhóm: histon lõi (H2A, H2B, H3, và H4) và histon liên kết (H1 và H5). Đơn vị bazơ của chromatin là nucleosom, gồm có khoảng 147 cặp bazơ của ADN bao quanh octame histon, gồm có hai bản sao của mỗi trong số các histon lõi H2A, H2B, H3, và H4 (Luger, et al. (1997) *Nature* 389:251-260).

Histon, cụ thể là các gốc thuộc đầu tận cùng amino của histon H3 và H4 và đầu tận cùng amino và carboxyl của histon H2A, H2B và H1, nhạy với nhiều cải biến sau dịch mã bao gồm sự axetyl hoá, methyl hoá, phosphoryl hoá, ribosyl hoá, sumoyl hoá, ubiquitin hoá, citrullin hoá, imin hoá khử và biotinyl hoá. Lõi của histon H2A và H3 cũng có thể được cải biến. Các cải biến histon là không thể thiếu đối với các quá trình sinh học khác nhau như sự điều hoà gen, sửa chữa ADN và ngưng tụ nhiễm sắc thể.

Sáng chế đề xuất các hợp chất và được phẩm để điều biến hoạt tính của enzym cải biến methyl histon. Enzym cải biến methyl histon là chất điều hoà then chốt của các quá trình tế bào và phát triển. Enzym cải biến methyl histon có thể được mô tả đặc điểm như histon methyl transferaza hoặc histon demethylaza. Enzym histon demethylaza có mô đun qua trung gian gắn kết với các gốc được methyl hoá. Ví dụ, nhiều demethylaza chứa miền Tudor (ví dụ, JMJD2C/GASC1) hoặc miền PHD (ví dụ, JARID1C/SMCX, PHF8).

Tính đặc hiệu lysin của nhiều histon methyltransferaza đã được mô tả. Ví dụ, SET7/9, SMYD3, và MLL1-5 là đặc hiệu đối với H3K4. SUV39H1, DIM-5, và G9a là đặc hiệu đối với H3K9. SET8 là đặc hiệu đối với H4K20.

DOT1 là ví dụ về miền không SET chứa histon methylaza. DOT1 methyl hoá H3 trên lysin 79.

Giống như histon methylaza đã được thể hiện để điều hoà hoạt tính phiên mã, cấu trúc chromatin và gây câm gen, demethylaza cũng đã được phát hiện là gây ra việc biểu hiện gen. LSD1 là histon lysin demethylaza thứ nhất được mô tả. Enzym này thể hiện tính tương đồng với amin oxidaza phụ thuộc FAD và có tác dụng như chất đồng ức chế phiên mã của gen thần kinh (Shi et al., Cell 119:941-953, 2004). Demethylaza khác xác định họ demethylaza riêng biệt đã được phát hiện, bao gồm JHDM1 (hoặc KDM2), JHDM2 (hoặc KDM3), JMJD2 (hoặc KDM4), JARID (hoặc KDM5), JMJD3 (hoặc KDM6), và họ JMJD6 (Lan et al., Curr. Opin. Cell Biol. 20(3):316-325, 2008).

Demethylaza có tác dụng đối với các gốc lysin đặc hiệu nằm trong các trình tự nền và phân biệt giữa mức độ methyl hoá có mặt trên gốc đã nêu. Ví dụ, LSD1 loại bỏ các nhóm mono- hoặc dimethyl ra khỏi H3K4. Các thành viên của họ JARID1A-D loại bỏ các nhóm trimethyl ra khỏi H3K4. UTX và JMJD3 demethyl hoá H3K27, làm trung hoà tác dụng của hoạt tính EZH2 methylaza. Tính đặc hiệu cơ chất của các demethylaza khác đã được mô tả (xem ấn phẩm: Shi, Nat. Rev. 8:829-833, 2007).

Một nhóm histon methylaza được mô tả đặc điểm bởi sự có mặt của miền SET, được đặt tên sau khi các protein cùng chung miền này, Su(var)3-9, chất tăng cường zest [E(Z)], và trithorax. Miền SET bao gồm khoảng 130 axit amin. Miền SET chứa các họ methylaza bao gồm các họ SUV39H1, SET1, SET2, EZH2, RIZ1, SMYD3, SUV4-20H1, SET7/9, và PR-SET7/SET8 (xem ấn phẩm: Dillon et al., Genome Biol. 6:227, 2005). Các thành viên của họ thường bao gồm các motif trình tự tương tự trong vùng lân cận và nằm trong miền SET. Hệ gen của người mã hoá hơn 50 miền SET chứa protein histon methylaza, bất kỳ trong số chúng có thể được sử dụng trong thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả này.

EZH2 là một ví dụ về miền SET của người chứa methylaza. EZH2 kết hợp với EED (Sự phát triển ngoại bì phôi-Embryonic Ectoderm Development) và SUZ12 (chất

ức chế thể tương đồng zest 12) để tạo thành phức hệ đã được biết đến như PRC2 (Polycomb Group Repressive Complex 2) có khả năng tri-metyl hoá histon H3 ở lysin 27 (Cao and Zhang, Mol. Cell 15:57-67, 2004). Các phức hệ PRC2 cũng có thể bao gồm các cấu trúc dưới đơn vị RBAP46 và RBAP48.

Các hoạt tính gây bệnh ung thư của EZH2 đã được thể hiện bởi nhiều nghiên cứu. Trong các thử nghiệm dòng tế bào, sự biểu hiện quá mức của EZH2 gây ra sự xâm lấn tế bào, sinh trưởng trong agar mềm và tính linh hoạt trong khi sự bất hoạt EZH2 lại ức chế sự tăng sinh tế bào và sự xâm lấn tế bào (Kleer et al., 2003, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611; Varambally et al., (2002), "The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer," Nature 419, 624-629). Đã chỉ ra rằng EZH2 ức chế sự biểu hiện của một số chất ức chế khối u, bao gồm E-cadherin, DAB2IP và RUNX3 trong số các chất khác. Trong các mô hình ghép khác loài, EZH2 bất hoạt ức chế sự sinh trưởng và di căn khối u. Gần đây, đã chỉ ra rằng việc điều biến giảm của EZH2 ở các mô hình chuột làm phong bế sự di căn ung thư tuyến tiền liệt (Min et al., "An oncogene-tumor suppressor cascade drives metastatic prostate cancer by coordinately activating Ras and nuclear factor- kappaB," Nat Med. 2010 Mar;16(3):286-94). Sự biểu hiện quá mức EZH2 có liên quan đến sự xâm lấn của vài bệnh ung thư như bệnh ung thư vú (Kleer et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100:11606-11611, 2003). Các nghiên cứu gần đây cũng đề xuất rằng gen dung hợp gây bệnh ung thư đặc hiệu bệnh ung thư tuyến tiền liệt TMPRSS2-ERG gây ra chương trình biểu sinh ngăn chặn thông qua sự hoạt hoá trực tiếp EZH2 (Yu et al., "An Integrated Network of Androgen Receptor, Polycomb, and TMPRSS2-ERG Gene Fusions in prostate cancer Progression," Cancer Cell. 2010 May 18;17(5):443-454).

Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế điều biến hoạt tính của một hoặc nhiều enzym có liên quan đến sự điều hoà biểu sinh. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế điều biến hoạt tính của enzym cải biến histon metyl, hoặc thể đột biến của nó. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế điều biến hoạt tính của EZH2. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế điều hoà giảm hoặc ngăn chặn hoạt tính của EZH2. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế là chất đối kháng hoạt tính của EZH2.

Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến enzym cải biến methyl histon. Bản mô tả bộc lộ phương pháp điều biến bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến enzym cải biến methyl histon. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến enzym cải biến methyl histon bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II.

Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự biểu hiện quá mức của EZH2. Bản mô tả bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự biểu hiện quá mức của EZH2 bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Phương pháp trên đây còn bao gồm bước xác định sơ bộ xem đối tượng có biểu hiện quá mức EZH2 hay không.

Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự tăng sinh tế bào. Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự điều hoà sai chu trình tế bào hoặc sửa chữa ADN. Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh ung thư. Ví dụ về các loại bệnh ung thư bao gồm bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư nguyên bào đệm đa dạng, bệnh ung thư bàng quang, u hắc sắc tố, bệnh ung thư phế quản, bệnh ung thư mô bạch huyết và bệnh ung thư gan.

Nghiên cứu về các đột biến mất đoạn, sai nghĩa và dịch khung của EZH2 gợi ý rằng các EZH2 đóng vai trò làm chất ức chế khối u trong các rối loạn về máu như các hội chứng rối loạn sinh tủy (MDS) và khối u ác tính ở tủy (Ernst et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8):722-6; Nikoloski et al., Nat Genet. 2010 Aug; 42(8):665-7). Do đó, theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự có mặt của dạng đột biến của EZH2. Theo một số phương án, hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự có mặt của Y641N EZH2. Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến sự có mặt của dạng đột biến của EZH2 là bệnh

ung thư mô bạch huyết tế bào B của người. Theo một số phương án, bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến sự có mặt của Y641N EZH2 là bệnh ung thư mô bạch huyết có nang hoặc bệnh ung thư mô bạch huyết tế bào B lớn khuếch tán. Theo một số phương án, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị các rối loạn máu, như hội chứng rối loạn sinh tủy, bệnh bạch cầu, bệnh thiếu máu và phiến huyết nhỏ thấp. Sneeringer et al., “Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas,” *Proceedings of the National Academy of Sciences, PNAS Early Edition* published ahead of print on November 15, 2010.

Bản mô tả bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính của EZH2 ở đối tượng, phương pháp bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính của EZH2 kiểu hoang dại ở đối tượng, bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính của dạng đột biến của EZH2 ở đối tượng bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính của dạng đột biến của EZH2 ở đối tượng bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II, trong đó dạng đột biến của EZH2 là Y641N EZH2. Bản mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến EZH2 bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến EZH2 kiểu hoang dại bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến dạng đột biến của EZH2 bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến dạng đột biến của EZH2 bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II, trong đó dạng đột biến của EZH2 là Y641N EZH2. Phương pháp trên đây còn bao gồm bước sơ bộ xác định nếu đối tượng là biểu hiện dạng đột biến của EZH2, như Y641N EZH2. Bản mô tả cũng bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính của dạng đột biến của EZH2, như Y641N EZH2, ở đối tượng cần làm giảm này bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Bản mô tả còn bộc lộ phương pháp

điều trị đối tượng mắc bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến dạng đột biến của EZH2 bao gồm bước cho dùng hợp chất hoặc dược phẩm có công thức II. Phương pháp trên đây còn bao gồm bước sơ bộ xác định nếu đối tượng là biểu hiện dạng đột biến của EZH2, như Y641N EZH2. Việc xác định như vậy có thể được thực hiện bằng cách xác định xem liệu đối tượng có mức trimethyl hoá đặc hiệu histon H3 Lys-27 gia tăng (H3K27me3) hay không, so với đối tượng đã biết không biểu hiện dạng đột biến của EZH2.

Các phương án tương đương:

Các ví dụ đại diện sau đây được dự định nhằm minh họa sáng chế và không được dự định để, cũng như không được hiểu là, giới hạn phạm vi của sáng chế. Thực vậy, các cải biến khác nhau của sáng chế và nhiều phương án khác của nó, ngoài các phương án đã được thể hiện và được mô tả trong bản mô tả này, sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào nội dung đầy đủ của sáng chế, bao gồm các ví dụ sau đây và các viện dẫn đến các tài liệu khoa học và patent được kể đến trong bản mô tả này. Cũng cần phải hiểu rằng nội dung của các tài liệu tham khảo được trích dẫn này được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn nhằm minh họa kỹ thuật hiện nay.

Cần phải hiểu rằng đối với việc điều chế hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, khi HPLC pha đảo được sử dụng để tinh chế hợp chất, hợp chất có thể tồn tại ở dạng muối cộng axit. Theo một số phương án, hợp chất có thể tồn tại ở dạng axit formic hoặc muối axit mono-, di-, hoặc tri-trifloaxetic.

Cũng cần phải hiểu rằng sáng chế bao gồm các hợp chất riêng rẽ được mô tả trong bản mô tả này. Khi các hợp chất riêng rẽ được nêu làm ví dụ là được tách và/hoặc được mô tả đặc điểm như muối, ví dụ, như muối của axit trifloaxetic, thì sáng chế bao gồm bazơ tự do của muối này, cũng như các muối được dụng khác của bazơ tự do này.

Các ví dụ sau đây chứa các thông tin bổ sung quan trọng, minh họa và chỉ dẫn mà có thể được làm thích ứng với thực tiễn của sáng chế trong các phương án khác nhau của nó và các dạng tương đương của nó.

Các quy trình để điều chế các hợp chất được minh họa dưới đây, cũng như các hợp chất/hợp chất trung gian bổ sung trong các sơ đồ tổng hợp có thể được tìm thấy trong đơn quốc tế số PCT/US2013/025639, nội dung của nó được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

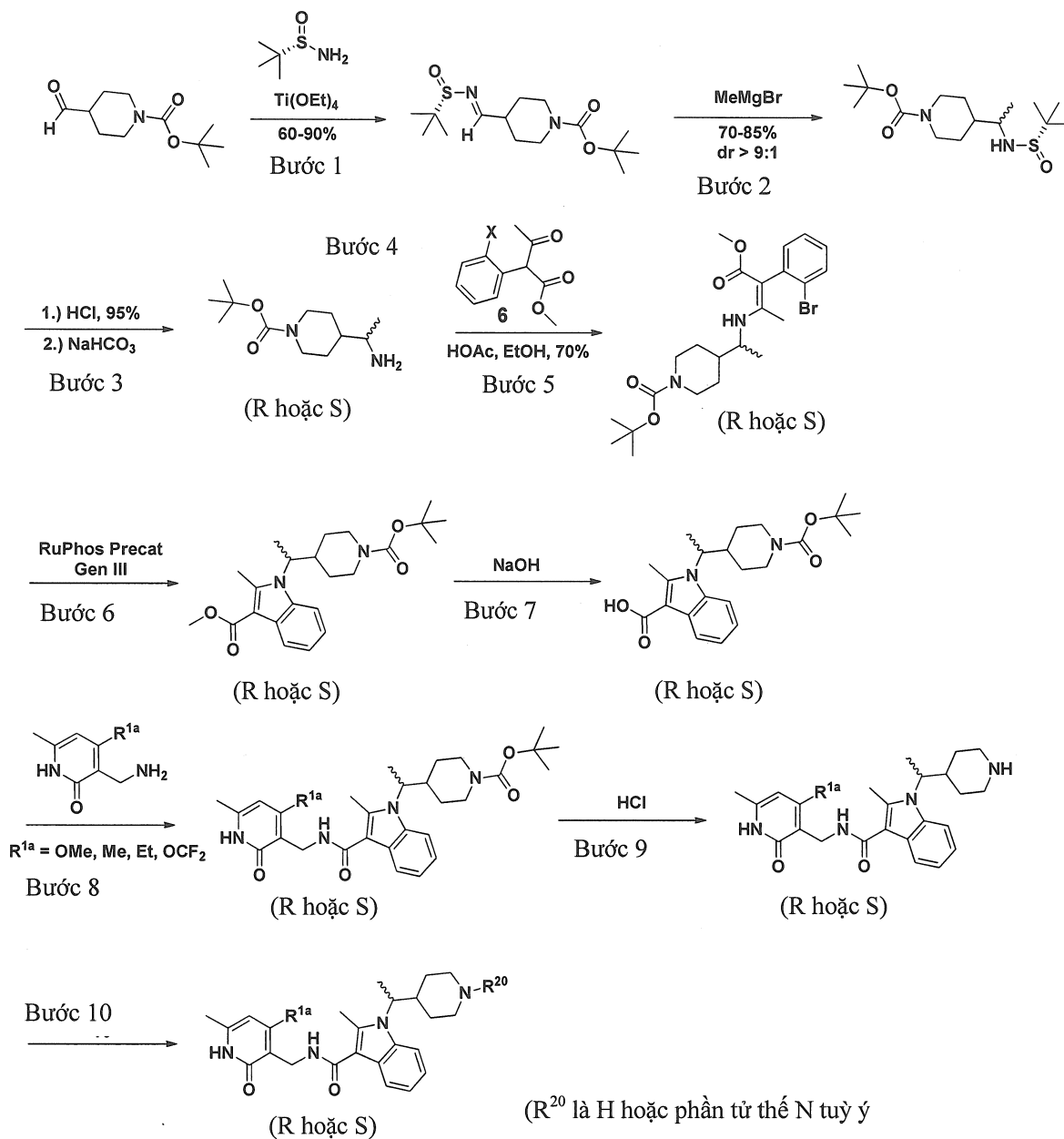
Như được mô tả trong các ví dụ dưới đây, theo một số phương án lấy làm ví dụ, các hợp chất được điều chế theo các quy trình chung sau đây. Cần phải hiểu rõ rằng, mặc dù các phương pháp tổng hợp và sơ đồ mô tả việc tổng hợp của một số hợp chất theo sáng chế, các phương pháp sau đây về các phương pháp khác đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể được áp dụng cho tất cả các hợp chất và phân nhóm và các loại của mỗi trong số các hợp chất này, như được mô tả trong bản mô tả này.

Trừ khi được chỉ định khác, tất cả các dung môi, các chất hoá học và các thuốc thử thu được về mặt thương mại và được sử dụng mà không cần phải tinh chế. Các dữ liệu quang phổ ^1H NMR thu được trong CDCl_3 , d_6 -DMSO, CD_3OD , hoặc d_6 -axeton ở 25°C ở 300MHz trên OXFORD (Varian) với độ dịch chuyển hoá học (δ , ppm) được báo cáo tương ứng với TMS làm chất chuẩn nội. Sắc phổ HPLC-MS và quang phổ thu được bằng hệ thống Shimadzu LC-MS-2020. Phép phân tích không đối xứng và tinh chế thu được với Yilite P270.

Ví dụ 1. Tổng hợp các hợp chất 327 và 346 và các hợp chất và chất trung gian liên quan.

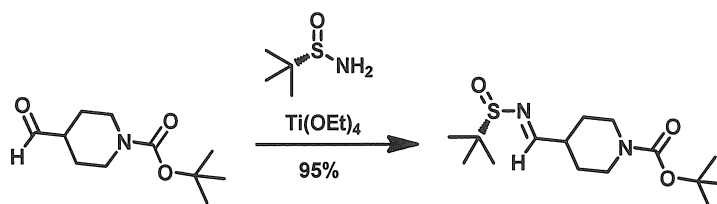
Các hợp chất nêu ở đề mục này của ví dụ này và các hợp chất liên quan khác được tạo ra theo sơ đồ chung sau đây. Ngoài ra, khi được chỉ định, các cải biến của sơ đồ này được bộc lộ đối với việc tổng hợp của các hợp chất liên quan khác của sáng chế và các hợp chất trung gian của nó.

(S)-2-metylpropan-2-sulfinamit



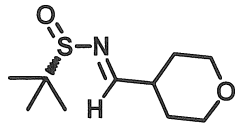
Bước 1: (S,E)-tert-butyl 4-(((tert-butylsulfinyl)imino)methyl)piperidin-1-carboxylat:

(S)-2-metylpropan-2-sulfinamit

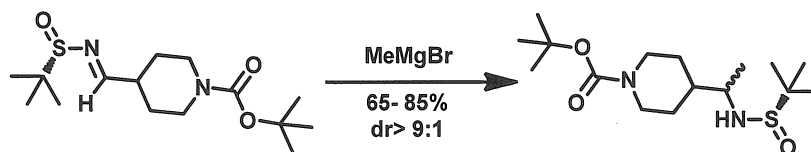


Thêm (S)-2-metylpropan-2-sulfinamit (20,46g, 169mmol), tert-butyl 4-formylpiperidin-1-carboxylat (30g, 141mmol), DCM (300mL), và $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (59,0ml, 281mmol) vào bình thót cổ đáy tròn được nạp với thanh khuấy từ. Khuấy dung dịch ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ trước khi dừng phản ứng bằng nước muối (80mL). Khuấy dung dịch trong 30 phút trước khi lọc. Rửa bánh lọc bằng DCM và đặt phần lọc vào trong phễu tách và rửa bằng nước. Làm khô lớp hữu cơ qua Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không. Phần còn lại thô được hoá rắn thành hợp chất nêu ở đề mục này (29g, 92mmol, hiệu suất 65,1%) m/z 217.

Hợp chất trung gian được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 1 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu và các cải biến thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(S,E)-2-metyl-N-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)metylen)propan-2-sulfinamit		

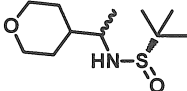
Bước 2: Tert-butyl 4-((S)-1-((R hoặc S)-1,1-dimetyletylsulfinamido)etyl) piperidin-1-carboxylat:



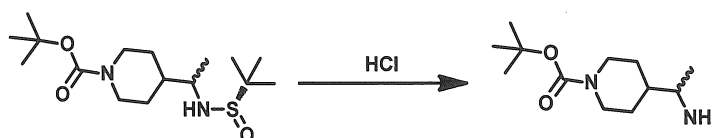
Thêm (S,E)-tert-butyl 4-((tert-butylsulfinylimino)metyl)piperidin-1-carboxylat (36,4g, 115mmol), DCM (400mL) vào bình thót cổ đáy tròn được nạp với thanh khuấy từ và làm lạnh dung dịch đến 0°C trong bể nước đá kèm khuấy. Thêm MeMgBr (77ml, 230mmol) (3M trong diethyl ete) vào dung dịch này và phản ứng được khuấy trong 4 giờ trong khi làm ấm đến nhiệt độ trong phòng. Dừng phản ứng một cách cẩn thận bằng cách bổ sung nước NH_4Cl bão hòa. Làm vỡ chất rắn bằng cách bổ sung 1N HCl . Tách các lớp và chiết pha trong nước bằng DCM. Làm khô pha hữu cơ kết hợp qua

Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (29g, >9:1 dr), hợp chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm ở bước tiếp theo.

Hợp chất trung gian được thể hiện trong bản sau đây được điều chế theo quy trình chung được nêu ở bước 2 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu và các cải biến thích hợp.

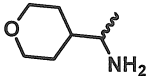
Tên	Cấu trúc	m/z
(S)-2-metyl-N-((R hoặc S)-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)propan-2-sulfinamit		234

Bước 3: (R hoặc S)- tert-butyl 4-(1-aminoetyl)piperidin-1-carboxylat:

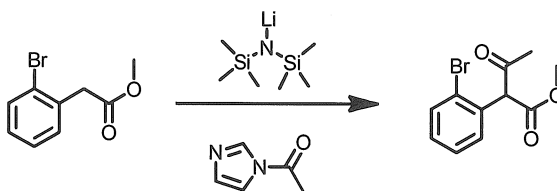


Thêm tert-butyl 4-((S)-1-((S)-1,1-dimetyletylsulfinamido)etyl)piperidin-1-carboxylat (29g) thô vào bình thót cổ đáy tròn 1L được nạp với thanh khuấy từ được cho vào MeOH (200mL) trước khi thêm 4N dung dịch chứa HCl trong 1,4-đioxan (24,06ml, 96mmol). Sau đó, khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, loại bỏ metanol trong chân không để thu được chất dầu nhớt mà được xử lý bằng nước NaHCO₃ bão hòa (khoảng 500mL) và chiết bằng etyl axetat (2 × 500mL). Gom pha hữu cơ này, làm khô bằng MgSO₄, lọc và sau đó loại bỏ dung môi trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (22g) mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian được thể hiện trong bản sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 3 bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(R hoặc S)-1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etanamin		130

Bước 4: Metyl 2-(2-bromophenyl)-3-oxobutanoat:

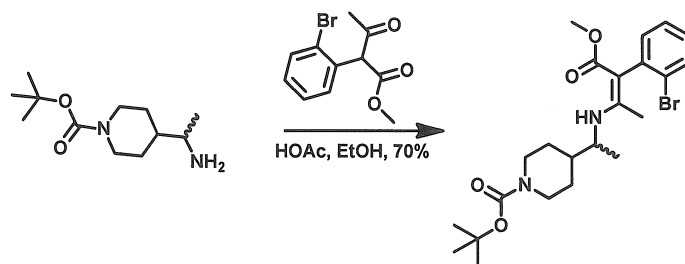


Nạp bình thót cổ đáy tròn với thanh khuấy từ và metyl 2-(2-bromophenyl)axetat (25g, 109mmol) và THF (50mL). Làm mát dung dịch này đến -78°C trước khi thêm nhỏ giọt 1M dung dịch chứa LiHMDS trong THF (218ml, 218mmol). Khuấy phản ứng trong 30 phút ở -78°C trước khi thêm 1-(1H-imidazol-1-yl)etanon (14,42g, 131mmol) được hoà tan trong hỗn hợp gồm THF:DMF (112mL THF, 24mL DMF). Khuấy dung dịch trong 1 giờ trước khi dừng phản ứng bằng nước NH_4Cl bão hòa (khoảng 250mL) và pha loãng bằng EtOAc. Tách các lớp và chiết pha trong nước bằng EtOAc (khoảng $2 \times 250\text{mL}$). Rửa phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần còn lại thô qua sắc ký silicagel bằng cách sử dụng chất rửa giải etyl axetat/hexan (10:1) để thu được metyl 2-(2-bromophenyl)-3-oxobutanoat (32,5g, 102mmol, hiệu suất 93%).

Các hợp chất trung gian được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 4 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
metyl 2-(2-bromo-4-clophenyl)-3-oxobutanoat		304
metyl 2-(2-bromo-4-metoxypheyl)-3-oxobutanoat		302
metyl 2-(2-bromo-4-flophenyl)-3-oxobutanoat		289

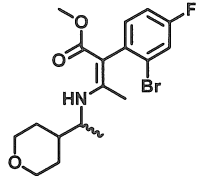
Bước 5: (R hoặc S, E và Z)-tert-butyl 4-(1-(3-(2-bromophenyl)-4-metoxi-4-oxobut-2-en-2-ylamino)ethyl)piperidin-1-carboxylat:



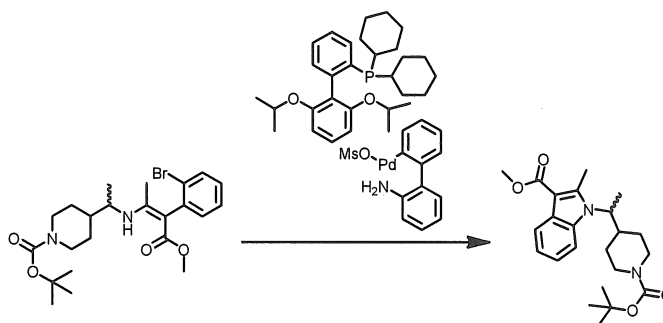
Thêm (R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-aminoethyl)piperidin-1-carboxylat (9,35g, 40,9mmol), EtOH (75mL), và metyl 2-(2-bromophenyl)-3-oxobutanoat (7,40g, 27,3mmol) (từ bước 4) vào bình thót cổ đáy tròn. Thêm AcOH (1,563ml, 27,3mmol) vào dung dịch này và gia nhiệt phản ứng qua đêm ở 85°C trước khi làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Tinh chế phần còn lại thô qua sắc ký silicagel (330g, 100% hexan đến 25% EA trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (6,45g, 13,40mmol, hiệu suất 49,1%).

Các hợp chất trung gian được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 5 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(R hoặc S,Z)-metyl 2-(2-bromophenyl)-3-((1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl)amino)but-2-enoat		383
(R hoặc S,Z)-metyl 2-(2-bromo-4-clophenyl)-3-((1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl)amino)but-2-enoat		417
(R hoặc S,Z)-metyl 2-(2-bromo-4-clophenyl)-3-((1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl)amino)but-2-enoat		417

(R hoặc S,Z)-metyl 2-(2-bromo-4-flophenyl)-3-((1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)amino)but-2-enoat		401
---	--	-----

Bước 6: (R hoặc S)-metyl 1-(1-(1-(tert-butoxycacbonyl)piperidin-4-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxylat:

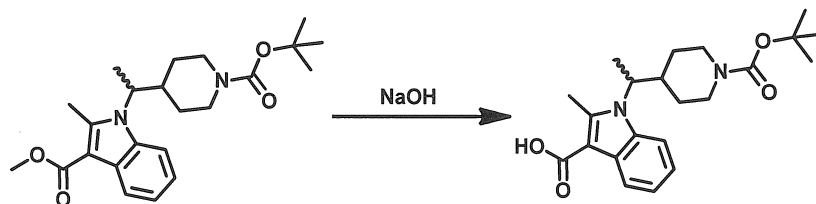


Nạp bình thót cổ đáy tròn 250mL với thanh khuấy từ, (R hoặc S,Z)-tert-butyl 4-(1-(3-(2-bromophenyl)-4-metoxi-4-oxobut-2-en-2-ylamino)etyl)piperidin-1-carboxylat (3,33g, 6,92mmol), tiền chất xúc tác RuPhos II (Metansulfonato(2-đixyclohexylphosphino-2',6'-di-i-propoxy-1,1'-biphenyl)(2-amino-1,1'-biphenyl-2-yl)paladi(II)) (0,463g, 0,553mmol), đixyclohexyl(2',6'-điisopropoxybiphenyl-2-yl)phosphin (0,387g, 0,830mmol), 1,4-đioxan khan (27,7ml, 6,92mmol), và natri metoxit (0,561g, 10,38mmol). Làm sạch hỗn hợp phản ứng và làm đầy lại bằng nitơ và gia nhiệt đến 100°C kèm khuấy qua đêm trước khi được để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Pha loãng phản ứng bằng etyl axetat (khoảng 100ml) và lọc hỗn hợp qua đệm đất tảo diatomit. Hấp thụ lại phần lọc lên silicagel (khoảng 30g) và tinh chế qua sắc ký silicagel (120g) sử dụng etyl axetat/hexan (1:1) làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,01g, 4,77mmol, hiệu suất 68,9%).

Các hợp chất trung gian được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 6 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(R hoặc S)-metyl 2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat		302
(R hoặc S)-metyl 6-clo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat		337
(R hoặc S)-metyl 6-metoxi-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat		332
(R hoặc S)-metyl 6-flo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat		320

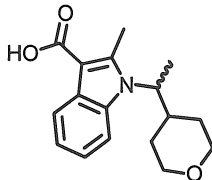
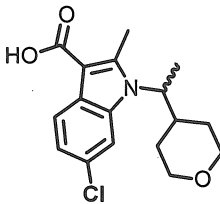
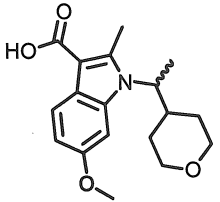
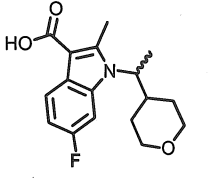
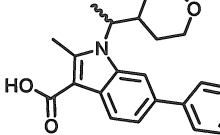
Bước 7: Axit (R hoặc S)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic:



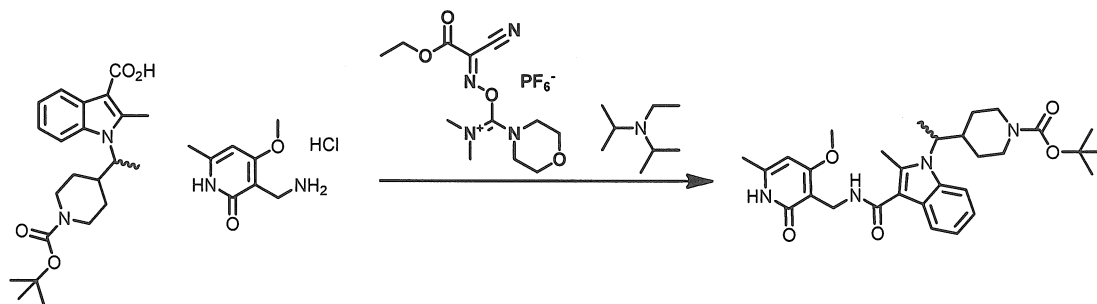
Nạp bình thót cổ đầy tròn 1L với thanh khuấy từ, (R hoặc S)-metyl 2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat (11,60g, 38,5mmol), ethanol (96ml, 38,5mmol), và 6N NaOH trong nước (64,1ml, 385mmol). Lắp bình thót cổ vào thiết bị ngưng tụ hồi lưu và gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu trong 6 giờ trước khi được để nguội đến nhiệt độ trong phòng. Loại bỏ chất bay hơi trong chân không và rót hỗn hợp thu được vào 10% HCl (khoảng 300mL). Gôm chất kết tủa được tạo thành bằng cách lọc chân không sử dụng phễu Buchner. Rửa bánh lọc bằng phần nước bổ sung

(khoảng 200mL), gom lại và làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (10,87g, 35,9mmol, hiệu suất 93%) ở dạng chất rắn màu trắng nhạt.

Các hợp chất trung gian được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 7 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
Axit (R hoặc S)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic		287
Axit (R hoặc S)-6-clo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic		321
Axit (R hoặc S)-6-metoxi-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic		317
Axit (R hoặc S)-6-flo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic		306
Axit (R hoặc S)-2-metyl-6-(pyridin-3-yl)-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylic		365

Bước 8: (R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-(3-((4-methoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metylcarbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat (hợp chất 327).



Nạp bình thốt cổ đáy tròn 250mL với thanh khuấy từ, axit (R hoặc S)-1-(1-(1-(tert-butoxycacbonyl)piperidin-4-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxylic (1,950g, 5,05mmol), 3-(aminometyl)-4-methoxy-6-metylpyridin-2(1H)-on hydroclorua (2,065g, 10,09mmol), DMF (25,2ml, 5,05mmol), bazơ Hunig (3,52ml, 20,18mmol). Làm mát hỗn hợp phản ứng đến 0°C và thêm COMU (2,16g, 5,05mmol) vào. Phản ứng được khuấy qua đêm đến nhiệt độ trong phòng. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Rửa phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để thu được vật liệu thô mà được tinh chế qua sắc ký silicagel (120g) bằng cách sử dụng MeOH/etyl axetat (1:5) làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,86g, 3,29mmol, hiệu suất 65,3%). LCMS 537 $(M+1)^{+1}\text{H}$ NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 11,83 - 11,71 (m, 1 H), 7,80 (br, s., 1 H), 7,73 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,06 (td, J = 7,1, 14,4 Hz, 2 H), 6,21 (s, 1 H), 4,32 (br, s., 2 H), 4,16 (br, s., 1 H), 4,02 (br, s., 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,75 (br, s., 1 H), 2,70 (br, s., 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,37 (br, s., 1 H), 2,21 (s, 3 H), 1,90 (d, J = 12,9 Hz, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,35 (s, 10 H), 1,21 (br, s., 1 H), 0,89 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 0,67 (d, J = 11,8 Hz, 1 H).

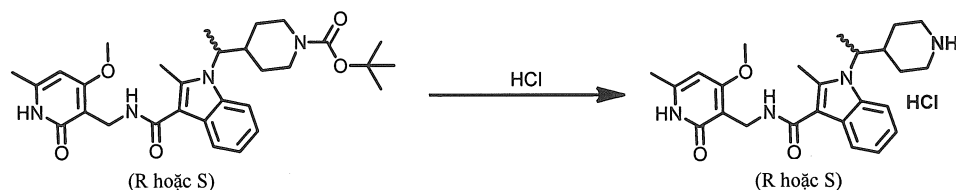
Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 8 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Các cấu trúc của hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
435	(R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-(3-(((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)carbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat		521
436	(R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-(3-(((4-(điflometoxy)-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)carbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat		573
437	(R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-(3-(((4-etyl-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)carbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat		535
298	(R hoặc S)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,60 (s, 1H), 7,73-7,62 (m, 3H), 7,60 (d, 2H) 7,07-7,05 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,33 (s, 1H), 4,21-4,11 (m, 1H), 3,92 (br,d, 1H), 3,65 (d, 1H), 3,34-3,32 (m, 1H), 3,02 (t, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,48-2,44 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,84-1,81 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,40-1,38 (m,12H), 1,25-1,22 (m, 1H), 1,08-1,04 (m, 1H), 0,86 (br, s., 1H), 0,58 (br, d., 1H)	438

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
300	(R hoặc S)-6-flo-N-((4-metoxyl-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahiđro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-inđol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,57 (br, s., 1 H), 7,75 - 7,67 (m, 2 H), 7,48 (d, J = 10,7 Hz, 1 H), 6,90 (t, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,13 (s, 1 H), 4,29 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,12 (br, s., 1 H), 3,94 - 3,87 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,64 (dd, J = 3,6, 10,9 Hz, 1 H), 3,35 (br, s., 1 H), 3,05 (br, s., 1 H), 2,56 (s, 3 H), 2,45 - 2,37 (m, 1 H), 2,18 (s, 3 H), 1,81 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 1,50 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,40 - 1,29 (m, 1 H), 1,11 - 0,99 (m, 1 H), 0,61 (br, s., 1 H)	456
314	(R hoặc S)-6-clo-N-((4-metoxyl-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahiđro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-inđol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,57 (s, 1 H), 7,75 (s, 2 H), 7,66 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 7,08 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,14 (s, 1 H), 4,30 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,21 - 4,05 (m, 2 H), 3,91 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,65 (d, J = 10,5 Hz, 1 H), 3,02 (t, J = 11,3 Hz, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,46 - 2,31 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 1,82 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 1,59 - 1,45 (m, 4 H), 1,44 - 1,29 (m, 1 H), 0,57 (d, J = 12,9 Hz, 1 H)	472
321	(R hoặc S)-6-metoxyl-N-((4-metoxyl-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahiđro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-inđol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,59 (s, 1 H), 7,67 - 7,59 (m, 2 H), 7,03 (s, 1 H), 6,75 - 6,68 (m, 1 H), 6,14 (s, 1 H), 4,30 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,10 (dd, J = 7,5, 10,4 Hz, 1 H), 3,91 (dd, J = 3,0, 11,3 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,80 - 3,76 (m, 3 H), 3,68 - 3,60 (m, 1 H), 3,38 - 3,32 (m, 1 H), 3,10 - 3,00 (m, 1 H), 2,56 (s, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 1,83 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 1,55 - 1,43 (m, 4 H), 1,34 (br, s., 1 H), 1,10 - 0,96 (m, 1 H), 0,62 (d, J = 13,4 Hz, 1 H)	468

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
335	(R hoặc S)-N-((4-(điflometoxy)-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit		474
394	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit		422
442	(R hoặc S)-6-clo-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit		456

Bước 9: (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua (hợp chất 326).

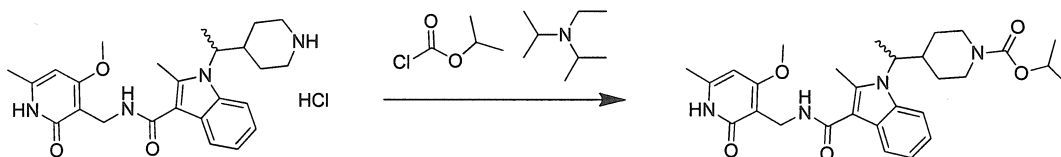


Nạp bình thót cổ đáy tròn 250mL với thanh khuấy từ, (R hoặc S)-tert-butyl 4-(1-(3-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metylcarbonyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat (hợp chất 327) (1,850g, 3,45mmol), MeOH (13,79ml, 3,45mmol), và HCl (2,59ml, 10,34mmol) (4N trong dioxan). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ trước khi cô đặc trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,65g, 3,14mmol, hiệu suất 91%). LCMS 437(M+1)⁺.

Hợp chất được thể hiện trong bản sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 9 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Cấu trúc của hợp chất này được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
376	(R hoặc S)-1-(1-(1-(azetidin-3-yl)piperidin-4-yl)ethyl)-N-((4,6-dimethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua	(400MHz, DMSO-d ₆) δ 12,27 - 12,10 (m, 1 H), 11,96 - 11,72 (m, 1 H), 9,80 (br, s., 1 H), 9,19 (br, s., 2 H), 7,89 - 7,67 (m, 2 H), 7,62 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,09 (quin, J = 6,6 Hz, 2 H), 5,99 (s, 1 H), 4,59 - 4,36 (m, 3 H), 4,24 - 3,95 (m, 2 H), 3,48 (d, J = 13,2 Hz, 1 H), 3,17 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 2,87 (br, s., 1 H), 2,70 (br, s., 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,34 - 2,25 (m, 3 H), 2,19 - 2,10 (m, 3 H), 1,75 (d, J = 12,3 Hz, 1 H), 1,57 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,47 (d, J = 12,7 Hz, 2 H), 1,33 - 1,21 (m, 2 H), 0,85 (d, J = 13,6 Hz, 1 H)	476

Bước 10: (R hoặc S)-isopropyl 4-(1-(3-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methylcarbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-carboxylat (hợp chất 346).



Nạp bình thót cổ đầy tròn 250mL với thanh khuấy từ, (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua (0,467g, 0,987mmol), DMF (2,468ml, 0,987mmol), THF (2,468ml, 0,987mmol), và N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (0,638g, 4,94mmol). Làm mát phản ứng đến 0°C và thêm nhỏ giọt isopropyl cacbonochloridat (0,160ml, 1,086mmol) vào qua ống tiêm. Phản ứng được khuấy trong 2 giờ đến nhiệt độ trong phòng và sau đó xử lý bằng 5N LiOH trong 1 giờ để loại bỏ pyridon được axyl hoá bất kỳ. Chiết vật liệu này bằng etyl axetat, rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄ và lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế vật liệu

thu được qua sắc ký silicagel (50g) bằng cách sử dụng etyl axetat/MeOH (5:1) làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này tinh khiết là chất rắn màu vàng nhạt (0,300g, 0,545mmol, hiệu suất 55,2%). LCMS 523 (M+1)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,59 (br, s., 1 H), 7,74 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,69 (t, J = 4,9 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,13 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,78 - 4,67 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,23 - 4,12 (m, 1 H), 4,12 - 4,02 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,82 - 3,74 (m, 1 H), 2,79 - 2,66 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,46 - 2,34 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 1,96 - 1,88 (m, 1 H), 1,58 - 1,46 (m, 4 H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 6 H), 0,95 - 0,89 (m, 1 H), 0,74 - 0,65 (m, 1 H).

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu ở bước 10 bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Các cấu trúc của hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

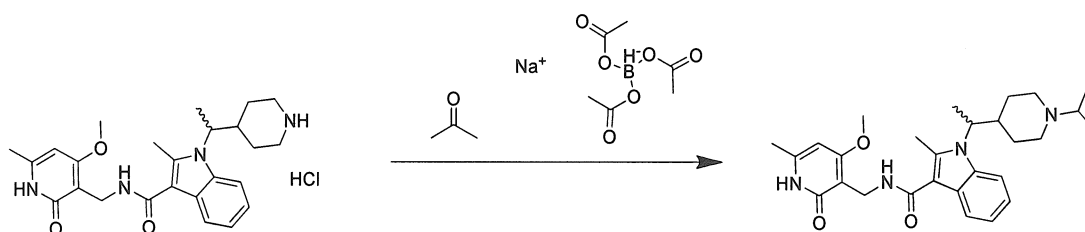
Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
336	(R hoặc S)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(metylsulfonyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,78 - 7,66 (m, 2 H), 7,64 - 7,57 (m, 1 H), 7,06 (s, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,25 - 4,15 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,63 (s, 1 H), 3,40 - 3,33 (m, 1 H), 2,79 (s, 3 H), 2,75 - 2,65 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,45 - 2,27 (m, 1 H), 2,19 (s, 3 H), 2,06 - 1,98 (m, 1 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,45 - 1,36 (m, 1 H), 1,28 - 1,18 (m, 1 H), 1,14 - 1,03 (m, 1 H), 0,83 - 0,74 (m, 1 H)	515

337	(R hoặc S)-1-(1-(1-(2-hydroxy-2-methylpropanoyl)piperidin-4-yl)ethyl)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,58 (br, s., 1 H), 7,77 - 7,67 (m, 2 H), 7,66 - 7,60 (m, 1 H), 7,06 (s, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 5,32 - 5,23 (m, 1 H), 4,31 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,19 - 4,10 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 2,75 - 2,62 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,19 (s, 4 H), 2,00 - 1,90 (m, 2 H), 1,54 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,32 - 1,18 (m, 8 H), 0,87 - 0,78 (m, 1 H), 0,77 - 0,67 (m, 1 H)	523
342	(R hoặc S)-1-(1-(1-isobutyrylpiperidin-4-yl)ethyl)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,59 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,72 - 7,67 (m, 1 H), 7,64 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,14 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,58 - 4,46 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,09 - 3,99 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,81 - 3,72 (m, 1 H), 3,08 - 2,97 (m, 1 H), 2,92 - 2,81 (m, 1 H), 2,78 - 2,65 (m, 3 H), 2,59 (br, s., 3 H), 2,20 (s, 3 H), 2,03 - 1,90 (m, 1 H), 1,59 - 1,47 (m, 4 H), 1,02 - 0,86 (m, 6 H), 0,78 - 0,69 (m, 1 H)	507
344	(R hoặc S)-N-((4-(diflometoxy)-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1-(1-(1-(methylsulfonyl)piperidin-4-yl)ethyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 12,02 - 11,95 (m, 1 H), 7,74 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,66 - 7,57 (m, 2 H), 7,11 - 7,00 (m, 2 H), 6,08 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,5 Hz, 2 H), 4,18 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 3,64 (d, J = 12,3 Hz, 1 H), 3,36 (d, J = 12,0 Hz, 1 H), 2,79 (s, 3 H), 2,75 - 2,65 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,45 - 2,27 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 2,07 - 1,98 (m, 1 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,40 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 1,10 (d, J = 8,9 Hz, 1 H), 0,79 (d, J = 12,5 Hz, 1 H)	551

345	(R hoặc S)-1-(1-(1-(ethylsulfonyl)piperidin-4-yl)ethyl)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamid	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,57 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,69 (t, J = 5,0 Hz, 1 H), 7,62 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,06 (d, J = 7,1 Hz, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,25 - 4,15 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,73 - 3,65 (m, 1 H), 3,45 - 3,36 (m, 1 H), 3,02 - 2,93 (m, J = 7,8 Hz, 2 H), 2,87 - 2,77 (m, 1 H), 2,75 - 2,66 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,42 - 2,30 (m, 1 H), 2,20 (s, 3 H), 2,06 - 1,97 (m, 1 H), 1,58 - 1,48 (m, 4 H), 1,42 - 1,31 (m, 1 H), 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3 H), 1,13 - 1,00 (m, 1 H), 0,83 - 0,73 (m, 1 H)	529
355	(R hoặc S)-1-(1-(4-(isopropylsulfonyl)cyclohexyl)ethyl)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamid	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (s, 1H), 7,76-7,69 (m, 2H), 7,62 (d, 1H), 7,10-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,29-4,26 (m, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,72 (br, d,, 1H), 3,45 (br, d,, 1H), 3,26 (tt, 1H), 2,91 (dt, 1H), 2,60 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 1,97 (br, d,, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,35-1,24 (m, 2H), 1,18 (d, 3H), 1,16 (d, 3H), 1,05-0,78 (m, 2H)	543
357	(R hoặc S)-isobutyl 4-(1-(3-(((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)carbamoyl)-2-methyl-1H-indol-1-yl)ethyl)piperidin-1-carboxylat	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,60 (br,s,, 1H), 7,75-7,60 (m, 3H), 7,10-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,33 (d, 1H), 4,13-4,06 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,74 (d, 1H), 2,80-2,60 (m, 3H), 2,58 (s, 1H), 2,50-2,42 (m, 2H), 1,96-1,90 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,25-1,22 (m, 1H), 0,98-0,72 (m, 6H)	537

368	(R hoặc S)-N-((4,6-dimetyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-(1-(etylсульфонил)пиперидин-4-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (s, 1 H), 7,78 - 7,71 (m, 1 H), 7,66 - 7,57 (m, 2 H), 7,07 (s, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,32 (s, 2 H), 4,25 - 4,15 (m, 1 H), 3,65 - 3,59 (m, 1 H), 3,19 - 3,10 (m, 1 H), 2,98 (d, J = 7,4 Hz, 2 H), 2,87 - 2,77 (m, 1 H), 2,72 - 2,65 (m, 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,42 - 1,33 (m, 2 H), 1,17 (t, J = 7,4 Hz, 3 H), 1,12 - 1,00 (m, 1 H), 0,84 - 0,74 (m, 1 H)	513
382	(R hoặc S)-N-((4,6-dimetyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(metylsulfonyl)пиперидин-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,60 (s, 1 H), 7,75 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 7,65 - 7,58 (m, 2 H), 7,12 - 7,02 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,38 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 (dd, J = 7,0, 10,6 Hz, 1 H), 2,80 (s, 3 H), 2,76 - 2,67 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,46 - 2,31 (m, 2 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,55 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,51 (br, s., 1 H), 1,47 - 1,34 (m, 1 H), 1,29 - 1,21 (m, 1 H), 1,17 - 1,04 (m, 1 H), 0,80 (d, J = 12,9 Hz, 1 H)	499

Ví dụ tham chiếu 2. Tổng hợp (R hoặc S)-1-(1-(1-isopropylpiperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit (hợp chất 358)



Nạp lọ nhỏ 25mL với thanh khuấy từ, (R hoặc S)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua, THF (2,114ml, 0,211mmol), propan-2-on (0,061g, 1,057mmol), và natri triacetoxymethylborohydrua (0,224g, 1,057mmol). Phản ứng được khuấy

ở nhiệt độ trong phòng trong 12 giờ. Phản ứng nghịch đảo được dừng bằng cách cho vào dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa, chiết bằng ethyl axetat và cô đặc trong chân không. Xử lý nguyên liệu thu được bằng 10mL amoniac 7N trong MeOH và cô đặc trong chân không để thu được nguyên liệu mà được tinh chế nhờ sắc ký silicagel (10g) sử dụng DCM/MeOH/ NH_4OH (90:1:0,1) làm chất rửa giải để thu được 33mg, (0,065mmol, hiệu suất 31,0%) hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng). LCMS 479 ($\text{M}+1$)⁺; ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz)

δ 11,59 (s, 1H), 7,64 – 7,82 (μ , 2H), 7,59 (d, 1H), 6,95 – 7,17 (μ , 2H), 6,15 (s, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,04 – 4,24 (μ , 1H), 3,84 (s, 3H), 2,77 – 2,93 (μ , 2H), 2,68 (d, 1H), 2,60 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,08 – 2,15 (μ , 1H), 1,92 (d, 1H), 1,83 (br. s., 1H), 1,54 (d, 3H), 1,27 – 1,43 (μ , 2H), 0,91 (t, 6H), 0,71–0,67 (μ , 2H).

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trong các ví dụ này bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Các cấu trúc của các hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

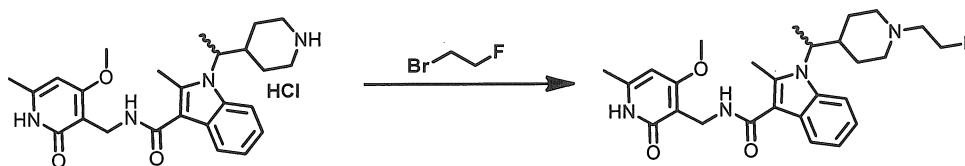
Hợp chất số	Tên	^1H NMR	m/z
341	(R hoặc S)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1-(1-(1-(oxetan-3-yl)piperidin-4-yl)ethyl)-1H-indol-3-carboxamid	(400MHz, DMSO-d_6) δ 11,58 (s, 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,10 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,49 (t, J = 6,4 Hz, 1 H), 4,43 (t, J = 6,5 Hz, 1 H), 4,37 (t, J = 6,1 Hz, 1 H), 4,34 - 4,28 (m, 3 H), 4,21 - 4,10 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,30 - 3,23 (m, 1 H), 2,75 (br. s., 1 H), 2,71 - 2,64 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,19 (s, 4 H), 1,90 (br. s., 1 H), 1,75 (br. s., 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,42 (br. s., 2 H), 1,11 - 0,98 (m, 1 H), 0,72 - 0,63 (m, 1 H)	493
343	(R hoặc S)-N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-2-methyl-1-(1-(1-methylpiperidin-4-yl)ethyl)-1H-indol-3-carboxamid	(400MHz, DMSO-d_6) δ 11,58 (s, 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,11 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,13 (br. s., 1 H), 3,83 (s, 3 H), 2,83 (d, J = 10,0 Hz, 1 H), 2,61 - 2,52 (m, 5 H), 2,19 (s, 3 H), 2,09 (s, 4 H), 1,88 (d, J = 10,7 Hz, 2 H), 1,53 (d, J = 6,7 Hz, 3 H), 1,34 (br. s., 1 H), 1,02 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 0,66 (br. s., 1 H)	451

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
359	(R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-(1-(2-metoxietyl)piperidin-4-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (s, 1 H), 7,77 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,13 (d, J = 7,1 Hz, 1 H), 3,85 (s, 3 H), 3,36 (t, J = 5,9 Hz, 2 H), 3,19 (s, 3 H), 2,94 (d, J = 10,5 Hz, 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 5 H), 2,43 - 2,32 (m, 2 H), 2,24 - 2,12 (m, 4 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,39 - 1,27 (m, 2 H), 1,02 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 0,65 (d, J = 12,7 Hz, 1 H)	495
360	(R hoặc S)-1-(1-(1-etyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,79 - 11,45 (m, 1 H), 7,78 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,14 - 6,99 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,20 - 4,08 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 2,98 - 2,89 (m, 1 H), 2,71 - 2,61 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,27 - 2,21 (m, 2 H), 2,20 (s, 3 H), 1,94 - 1,80 (m, 2 H), 1,54 (s, 4 H), 1,38 - 1,28 (m, 1 H), 1,06 - 0,98 (m, 1 H), 0,93 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 0,71 - 0,63 (m, 1 H)	465
363	(R hoặc S)-etyl 2-(4-(1-(3-(((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)carbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-yl)axetat	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (br, s., 1 H), 7,81 - 7,65 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 7,16 - 6,98 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,23 - 4,11 (m, 1 H), 4,04 (q, J = 7,0 Hz, 2 H), 3,84 (s, 3 H), 2,95 - 2,86 (m, 1 H), 2,60 (s, 5 H), 2,20 (s, 4 H), 1,94 - 1,79 (m, 2 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,41 - 1,32 (m, 1 H), 1,15 (t, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,04 (d, J = 6,0 Hz, 2 H), 0,71 - 0,61 (m, 1 H)	523
366	(R hoặc S)-N-((4-etyl-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-metyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,63 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,65 - 7,56 (m, 2 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 5,94 (s, 1 H), 4,34 (t, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,19 - 4,09 (m, 1 H), 2,88 (br, s., 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 6 H), 2,14 (s, 7 H), 1,91 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,41 - 1,31 (m, 2 H), 1,14 (t, J = 7,6 Hz, 3 H), 1,05 (d, J = 9,1 Hz, 1 H), 0,68 (d, J = 12,7 Hz, 1 H)	449

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
367	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-metylpiperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 6,9 Hz, 1 H), 7,65 - 7,56 (m, 2 H), 7,12 - 7,01 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,38 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 2,95 (br, s., 1 H), 2,68 (br, s., 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,21 (br, s., 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,94 (d, J = 13,8 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,44 - 1,31 (m, 2 H), 1,07 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 0,71 (d, J = 13,2 Hz, 1 H)	435
375	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(oxetan-3-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (br, s., 1 H), 7,73 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,65 - 7,55 (m, 2 H), 7,12 - 7,00 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,53 - 4,48 (m, 1 H), 4,47 - 4,42 (m, 1 H), 4,38 (s, 1 H), 4,31 (t, J = 5,2 Hz, 3 H), 4,21 - 4,10 (m, 1 H), 3,31 - 3,24 (m, 2 H), 2,81 - 2,64 (m, 2 H), 2,59 (s, 3 H), 2,26 (s, 3 H), 2,23 - 2,16 (m, 1 H), 2,12 (s, 3 H), 1,98 - 1,85 (m, 1 H), 1,81 - 1,70 (m, 1 H), 1,54 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,51 - 1,22 (m, 1 H), 1,12 - 0,96 (m, 2 H), 0,73 - 0,64 (m, 1 H)	477
380	(R hoặc S)-N-((4-etyl-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(oxetan-3-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, DMSO-d ₆)δ 11,63 (br, s., 1 H), 7,74 (d, J = 7,36 Hz, 1 H), 7,60 (d, J = 8,47 Hz, 2 H), 7,06 (quin, J = 7,13 Hz, 3 H), 5,94 (s, 1 H), 4,51 (t, J = 6,47 Hz, 1 H), 4,46 (t, J = 6,35 Hz, 1 H), 4,40 (t, J = 6,13 Hz, 1 H), 4,37 - 4,30 (m, 2 H), 4,28 - 4,11 (m, 1 H), 3,57 (s, 1 H), 3,34 (br, s., 2 H), 2,81 (d, J = 10,70 Hz, 1 H), 2,67 (d, J = 14,94 Hz, 1 H), 2,64 - 2,57 (m, 4 H), 2,21 (d, J = 10,93 Hz, 1 H), 2,14 (s, 3 H), 1,93 (d, J = 12,49 Hz, 1 H), 1,83 (t, J = 11,37 Hz, 1 H), 1,54 (d, J = 6,91 Hz, 3 H), 1,37 (d, J = 10,48 Hz, 1 H), 1,25 (q, J = 6,91 Hz, 1 H), 1,14 (t, J = 7,58 Hz, 3 H), 1,06 (d, J = 9,81 Hz, 1 H), 0,70 (d, J = 12,49 Hz, 1 H)	491

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
381	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (br, s., 1 H), 7,74 (d, J = 7,13 Hz, 1 H), 7,66 - 7,50 (m, 2 H), 7,15 - 6,99 (m, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,40 - 4,24 (m, 2 H), 4,21 - 4,07 (m, 1 H), 3,95 - 3,78 (m, 2 H), 3,57 (s, 1 H), 3,32 - 3,17 (m, 3 H), 2,68 (br, s., 1 H), 2,58 (s, 3 H), 2,33 (br, s., 2 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 2,00 - 1,88 (m, 2 H), 1,75 (d, J = 12,04 Hz, 1 H), 1,62 (br, s., 2 H), 1,54 (d, J = 6,91 Hz, 3 H), 1,46 - 1,30 (m, 2 H), 1,01 (br, s., 1 H), 0,72 (br, s., 1 H)	505
440	(R hoặc S)-tert-butyl 3-(4-(1-(3-(((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)carbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-yl)azetidin-1-carboxylat		576
377	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(1-metylazetidin-3-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆) δ 11,63 - 11,56 (m, 1 H), 7,76 - 7,70 (m, 1 H), 7,64 - 7,55 (m, 2 H), 7,05 (s, 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,56 (s, 4 H), 4,31 (s, 2 H), 4,19 - 4,09 (m, 1 H), 3,36 (d, J = 4,9 Hz, 1 H), 2,77 - 2,56 (m, 5 H), 2,26 (s, 3 H), 2,18 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,94 - 1,85 (m, 1 H), 1,78 - 1,67 (m, 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,50 - 1,45 (m, 1 H), 1,44 - 1,22 (m, 2 H), 1,07 - 0,93 (m, 1 H), 0,71 - 0,61 (m, 1 H)	490

Ví dụ 3. Tổng hợp (R hoặc S)-1-(1-(1-(2-floetyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit (hợp chất 356):



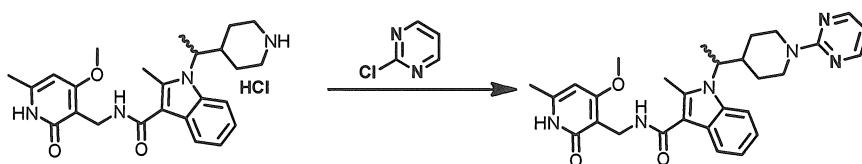
Nạp lọ nhỏ 25mL với thanh khuấy từ, (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua (0,062g, 0,131mmol), K₂CO₃(0,072g, 0,524mmol), MeCN (0,655ml, 0,131mmol), DMF (0,262ml, 0,131mmol) và 1-bromo-2-floetan (0,020ml, 0,262mmol). Đậy nắp phản ứng và gia nhiệt đến 82°C kèm khuấy trong 4 giờ. Phản ứng được để mát đến nhiệt độ trong phòng, lọc và hấp thu sơ bộ phần dịch lọc lên silicagel (12g). Tinh chế nguyên liệu nhờ sắc ký SiO₂ (25g) bằng cách sử dụng DCM/MeOH/Et₃N (85:15:0,5) làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng nhạt (30mg, 0,059mmol, hiệu suất 45,1%). LCMS 483 (M+1)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,59 (s, 1H), 7,75-7,68 (m, 2H), 7,60 (d, 1H) 7,09-7,03 (m, 2H), 6,15 (s, 1H) 4,53-4,51 (m, 1H), 4,42-4,39 (m, 1H), 4,32 (d, 2H), 4,24-4,2 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,98 (br, d, 1H), 2,70-2,49 (m, 4H), 2,60 (s, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,01 (dt, 1H), 1,92-1,90 (m, 1H), 1,75-1,71 (m, 1H), 1,54 (d, 3H), 1,38-1,36 (m, 1H), 1,02-0,98 (m, 1H), 0,7-0,66 (br, d, 1H).

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trong các ví dụ này bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Các cấu trúc của các hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
362	(R hoặc S)-1-(1-(1-(2,2-difloetyl))piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,60 (br, s., 1 H), 7,77 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,14 - 7,00 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 6,06 (t, J = 55,7 Hz, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,15 (br, s., 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,03 - 2,93 (m, 2 H), 2,73 - 2,62 (m, 3 H), 2,60 (s, 3 H), 2,26 - 2,10 (m, 4 H), 1,93 - 1,79 (m, 1 H), 1,59 - 1,46 (m, 4 H), 1,41 - 1,29 (m, 1 H), 1,11 - 0,97 (m, 1 H), 0,67 (br, s., 1 H)	501

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
378	(R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(3,3-triflopropyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,60 (br, s., 1 H), 7,78 - 7,66 (m, 2 H), 7,60 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,13 - 7,00 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,22 - 4,09 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,03 - 2,91 (m, 1 H), 2,73 - 2,64 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,48 - 2,31 (m, 5 H), 2,20 (s, 3 H), 2,01 - 1,85 (m, 2 H), 1,58 - 1,46 (m, 4 H), 1,36 - 1,29 (m, 1 H), 1,08 - 0,98 (m, 1 H), 0,73 - 0,62 (m, 1 H)	533
365	(R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(500MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,59 (s, 1 H), 7,74 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,71 - 7,66 (m, 1 H), 7,61 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,13 - 7,01 (m, 2 H), 6,15 (s, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,22 - 4,12 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 3,15 - 2,95 (m, 3 H), 2,75 - 2,66 (m, 1 H), 2,60 (s, 3 H), 2,39 - 2,31 (m, 1 H), 2,20 (s, 3 H), 2,05 - 1,98 (m, 1 H), 1,92 - 1,84 (m, 1 H), 1,56 - 1,46 (m, 4 H), 1,42 - 1,32 (m, 1 H), 1,11 - 1,01 (m, 1 H), 0,69 - 0,62 (m, 1 H)	519
441	(R hoặc S)-1-(1-(1-(2,2-difloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4,6-dimetyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,59 (s, 1 H), 7,73 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,65 - 7,55 (m, 2 H), 7,12 - 7,00 (m, 2 H), 6,22 - 5,90 (m, 1 H), 5,89 (s, 1 H), 4,36 - 4,25 (m, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 3,01 - 2,93 (m, 1 H), 2,72 - 2,59 (m, 3 H), 2,58 (s, 3 H), 2,26 (s, 3 H), 2,21 - 2,13 (m, 2 H), 2,12 (s, 3 H), 1,92 - 1,79 (m, 2 H), 1,53 (s, 4 H), 1,41 - 1,29 (m, 1 H), 1,10 - 0,97 (m, 1 H), 0,70 - 0,59 (m, 1 H)	485

Ví dụ tham chiếu 4. Tổng hợp (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(pyrimidin-2-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit (hợp chất 361).

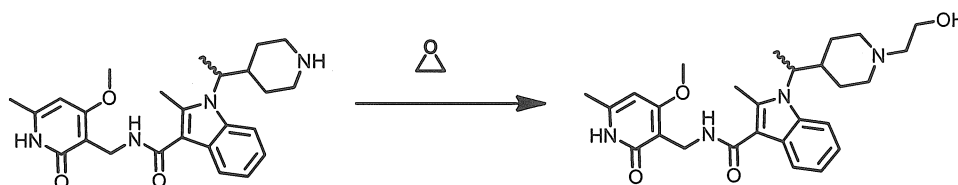


Thêm 2-clopyrimidin (185mg, 1,611mmol), (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit hydroclorua (508mg, 1,074mmol), và EtOH (8mL) vào lọ nhỏ có thể đậy kín lại. Thêm Et₃N (449μl, 3,22mmol) vào dung dịch này. Đậy kín lọ nhỏ và gia nhiệt đến 100°C qua đêm. Để dung dịch nguội đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn thô qua sắc ký silicagel (hexan: (3:2 DCM:IPA)) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn (357mg, 0,694mmol, hiệu suất 64,6%). LCMS 515 (M+1)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11,60 (s, 1 H), 8,30 (d, J = 4,7 Hz, 2 H), 7,76 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,73 - 7,64 (m, 2 H), 7,14 - 7,01 (m, 2 H), 6,55 (t, J = 4,7 Hz, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,84 - 4,75 (m, 1 H), 4,57 - 4,47 (m, 1 H), 4,33 (d, J = 4,2 Hz, 2 H), 4,22 - 4,11 (m, 1 H), 3,84 (s, 3 H), 2,92 - 2,81 (m, 1 H), 2,63 - 2,52 (m, 4 H), 2,20 (s, 3 H), 2,05 - 1,94 (m, 1 H), 1,61 - 1,49 (m, 4 H), 1,34 - 1,21 (m, 1 H), 1,04 - 0,91 (m, 1 H), 0,83 - 0,75 (m, 1 H).

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trong ví dụ này bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Cấu trúc của hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất số	Tên	¹ H NMR	m/z
373	(R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(pyridin-2-yl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆) δ 11,60 (br, s., 1 H), 8,06 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 7,82 - 7,62 (m, 3 H), 7,51 - 7,39 (m, 1 H), 7,17 - 6,98 (m, 2 H), 6,75 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 6,61 - 6,49 (m, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,49 - 4,38 (m, 1 H), 4,33 (d, J = 3,8 Hz, 2 H), 4,24 - 4,03 (m, 2 H), 3,85 (s, 3 H), 2,90 - 2,70 (m, 2 H), 2,58 (s, 3 H), 2,20 (s, 3 H), 2,06 - 1,91 (m, 1 H), 1,63 - 1,47 (m, 4 H), 1,40 - 1,27 (m, 1 H), 1,07 - 0,94 (m, 1 H), 0,82 - 0,72 (m, 1 H)	514

Ví dụ tham chiếu 5. Tổng hợp (R hoặc S)-1-(1-(1-(2-hydroxyetyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit (hợp chất 347).



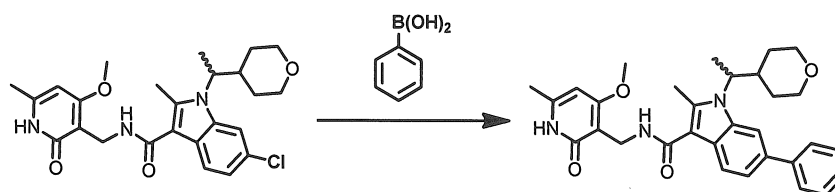
Thêm (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit (0,1g, 0,229mmol) vào ống đậy kín được nạp với thanh khuấy từ được bổ sung DCM (3mL) và làm lạnh phản ứng đến 0°C. Thêm oxiran vào hỗn hợp phản ứng đã được làm lạnh mà được ngưng tụ vào trong lọ phản ứng (khoảng 1mL). Phản ứng được khuấy đến nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ và sau đó cô đặc trong chân không để thu được nguyên liệu thô mà được tinh chế bằng sắc ký silicagel (12g) sử dụng etyl axetat/MeOH (4:1) làm chất rửa giải để thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (50mg). LCMS 481 (M+1)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz)δ) δ 11,58 (s, 1 H), 7,77 - 7,65 (m, 2 H), 7,59 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,11 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,54 - 4,44 (m, 1 H), 4,31 (d, J = 5,1 Hz, 3 H), 4,13 (dd, J = 7,1, 10,3 Hz, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,42 (q, J = 6,0 Hz, 2 H), 2,93 (br, s., 1 H), 2,71 - 2,56 (m, 4 H), 2,31 (br, s., 2 H), 2,19 (s, 3 H), 2,03 - 1,83 (m, 2 H), 1,64 (br, s., 1 H), 1,53 (d, J = 6,9 Hz, 3 H), 1,32 (d, J = 11,1 Hz, 1 H), 1,02 (d, J = 10,3 Hz, 1 H), 0,65 (d, J = 11,8 Hz, 1 H).

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trong ví dụ này bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp. Cấu trúc của các hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất số	Tên	¹ HNMR	m/z
352	(R hoặc S)-1-(1-(1-(2-hydroxy-2-metylpropyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	NMR (400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,58 (br, s., 1 H), 7,76 - 7,65 (m, 2 H), 7,58 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,10 - 6,99 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,31 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,14 (br, s., 1 H), 3,94 (s, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,56 (s, 2 H), 3,01 (d, J = 11,4 Hz, 1 H), 2,73 - 2,64 (m, 1 H), 2,59 (s, 3 H), 2,19 (s, 3 H), 2,16 - 2,03 (m, 2 H), 1,52 (d, J = 6,9 Hz, 4 H), 1,34 (br, s., 2 H), 1,02 (d, J = 4,5 Hz, 7 H), 0,66 - 0,58 (m, 1 H)	509
369	(R hoặc S)-N-((4,6-di-metyl-2-oxo-1,2-	(400MHz, DMSO-d ₆)δ 11,59 (br, s., 1 H), 7,77 - 7,69 (m, 1 H), 7,60 (br, s., 2 H), 7,06	493

đihydropyridin-3-yl)methyl)-1-(1-(1-(2-hydroxy-2-methylpropyl)piperidin-4-yl)ethyl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxamit	(br, s., 2 H), 5,89 (s, 1 H), 4,31 (t, J = 5,7 Hz, 2 H), 4,20 - 4,09 (m, 1 H), 4,00 - 3,92 (m, 1 H), 3,58 - 3,55 (m, 2 H), 3,19 - 3,10 (m, 1 H), 3,07 - 2,95 (m, 1 H), 2,74 - 2,63 (m, 1 H), 2,59 (br, s., 3 H), 2,27 (s, 3 H), 2,12 (s, 3 H), 1,89 - 1,72 (m, 1 H), 1,54 (br, s., 4 H), 1,30 - 1,14 (m, 2 H), 1,03 (br, s., 6 H), 0,84 - 0,57 (m, 2 H)
--	---

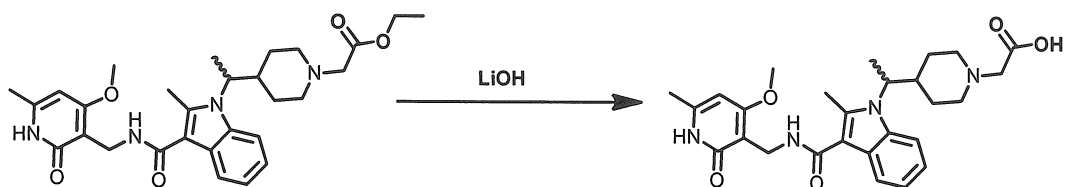
Ví dụ 6. Tổng hợp (R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)methyl)-2-metyl-6-phenyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl)-1H-indol-3-carboxamit (hợp chất 374).



Nạp ống phản ứng 25mL với thanh khuấy từ, axit phenyl boronic (72,6mg, 0,596mmol), K_3PO_4 (103mg, 0,447mmol), tiền chất xúc tác X-Phos (Clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2-aminoethyl)phenyl]paladi(II)) (4,92mg, 5,96 μ mol), và đáy kín lọ nhỏ. Tạo chân không/làm đầy lại lọ nhỏ bằng nitơ (3 $\times$) trước khi thêm metyl 6-clo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)ethyl)-1H-indol-3-carboxylat (hợp chất 314) (100mg, 0,298mmol) ở dạng dung dịch trong 1,4-đioxan (1mL). Sau đó, gia nhiệt lọ nhỏ đến 100°C qua đêm kèm khuấy. Sau đó, để lọ nhỏ nguội đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc phản ứng trong chân không. Tinh chế phần cặn thô qua sắc ký SiO_2 (10g) bằng cách sử dụng chất rửa giải etyl axetat/hexan (4:1), thu được hợp chất nêu ở đề mục này ở dạng chất rắn màu trắng (106mg, 0,281mmol, hiệu suất 94%). LCMS 514 (M+1)⁺; 1H NMR 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 11,59 (s, 1 H), 7,98 - 7,84 (m, 2 H), 7,75 - 7,67 (m, 3 H), 7,47 (t, J = 7,8 Hz, 2 H), 7,39 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 7,35 - 7,27 (m, 1 H), 6,15 (s, 1 H), 4,35 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,25 - 4,12 (m, 1 H), 3,93 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,86 - 3,77 (m, 3 H), 3,67 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,39 - 3,32 (m, 1 H), 3,10 - 3,00 (m, 1

H), 2,62 (s, 3 H), 2,21 (s, 3 H), 1,85 (d, $J = 10,0$ Hz, 1 H), 1,63 - 1,49 (m, 4 H), 1,45 - 1,33 (m, 1 H), 1,20 - 0,99 (m, 1 H), 0,66 (d, $J = 12,0$ Hz, 1 H).

Ví dụ tham chiếu 7. Tổng hợp axit (R hoặc S)-2-(4-(1-(3-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methylcarbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-yl)axetic (hợp chất 364).

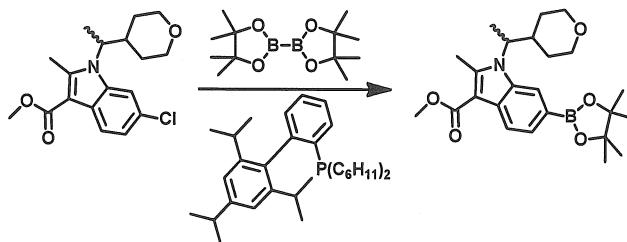


Thêm (R hoặc S)-etyl-2-(4-(1-(3-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methylcarbamoyl)-2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)piperidin-1-yl)axetat (hợp chất 363) (69mg, 0,132mmol), THF (1,5mL), MeOH (1,5mL) và nước (0,75mL) vào bình thót cổ đáy tròn được nạp với thanh khuấy từ. Thêm lithi hydroxit monohydrat (5,54mg, 0,132mmol) vào dung dịch này và khuấy phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Loại bỏ các phần hữu cơ trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế dung dịch trong nước thu được qua HPLC pha đảo (nước/MeCN) 0→95% để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (66mg, 0,108mmol, hiệu suất 82%). LCMS 514 (M+1)⁺H NMR (400MHz, DMSO-d₆) $\delta = 11,67$ (s, 1 H), 9,65 (s, 1 H), 7,84 - 7,68 (m, 2 H), 7,63 (d, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 7,14 - 7,03 (m, 2 H), 6,18 (s, 1 H), 4,33 (d, $J = 3,6$ Hz, 2 H), 4,27 - 4,15 (m, 1 H), 4,04 (br, s., 2 H), 3,85 (s, 3 H), 3,57 (s, 1 H), 3,35 - 3,23 (m, 1 H), 3,14 - 2,99 (m, 1 H), 2,86 - 2,74 (m, 1 H), 2,62 (s, 3 H), 2,21 (s, 3 H), 2,18 - 2,08 (m, 1 H), 1,75 (s, 1 H), 1,60 - 1,49 (m, 4 H), 1,46 - 1,33 (m, 1 H), 0,92 - 0,81 (m, 1 H).

Ví dụ 8. Tổng hợp (R hoặc S)-metyl 2-metyl-6-(pyridin-3-yl)-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat.

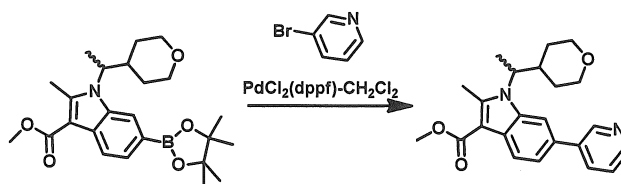
Hợp chất trung gian này được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu thay thế ở bước 7 được đưa ra trong ví dụ 1 để tổng hợp các hợp chất khác của sáng chế.

(R hoặc S)-metyl 2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-carboxylat



Thêm $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (10,03mg, 0,045mmol), kali axetat (219mg, 2,233mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (567mg, 2,233mmol), và 2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl(XPhos) (85mg, 0,179mmol) vào bình thót cổ đáy tròn và đậy kín lọ nhỏ. Thêm (R hoặc S)-metyl 6-clo-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat (bước 6) (500mg, 1,489mmol) được hoà tan trong đioxan (3,4mL) vào lọ này và tạo chân không/làm đầy lại hỗn hợp phản ứng bằng N_2 (3×) trước khi gia nhiệt đến 100°C qua đêm. Sau đó, phản ứng được để nguội đến nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng EtOAc. Lọc phản ứng qua đất tảo điatomit và cô đặc phần dịch lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này mà được sử dụng trong các phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS 428 ($\text{M}+1$)⁺.

(R hoặc S)-metyl 2-metyl-6-(pyridin-3-yl)-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxylat:

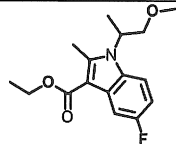
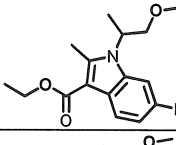
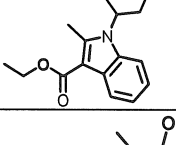
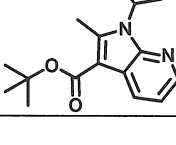
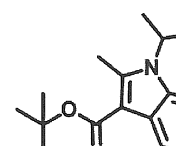
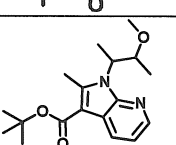
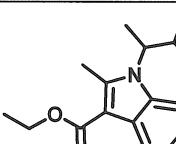
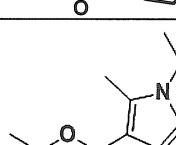


Thêm K_2CO_3 (206mg, 1,488mmol), sản phẩm cộng $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ (60,8mg, 0,074mmol) vào lọ nhỏ có thể đậy kín lại và đậy kín lọ nhỏ. Tạo chân không/làm đầy lại lọ nhỏ này bằng N_2 (3×) trước khi thêm (R hoặc S)-metyl 2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-6-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1H-indol-3-carboxylat (318mg, 0,744mmol) được hoà tan trong 1,4-đioxan (4mL), 3-bromopyridin (71,7μl, 0,744mmol) và nước (400μL). Tạo chân không/làm đầy lại phản ứng bằng N_2 (3×) trước khi gia nhiệt đến 100°C . Làm nguội dung dịch đến nhiệt

độ trong phòng và pha loãng bằng EtOAc. Lọc dung dịch và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn thô qua sắc ký silicagel (10g, EtOAc/hex (1:1)) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (101mg, 0,267mmol, hiệu suất 35,9%). LCMS 379 (M+1)⁺.

Ví dụ 9. Hợp chất trung gian alkyl carboxylat khác.

Các hợp chất trung gian alkyl carboxylat sau đây được tổng hợp theo cách tương tự với cách được nêu ở bước 2 của ví dụ 1, bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu và chất phản ứng thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(±)-ethyl 5-flu-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxylat		294
(±)-ethyl 6-flu-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxylat		294
(±)-ethyl 1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxylat		276
(±)-tert-butyl 1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat		305
(±)-tert-butyl 1-(1-ethoxypropan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat		319
tert-butyl 1-(3-metoxybutan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat		319
ethyl 1-(3-metoxybutan-2-yl)-2-methyl-6-(methylsulfonyl)-1H-indol-3-carboxylat		368
(±)-ethyl 1-(3-metoxypentan-2-yl)-2-methyl-1H-indol-3-carboxylat		304

Ví dụ 10. Các hợp chất khác của sáng chế được tạo ra từ hợp chất trung gian của axit carboxylic.

Các hợp chất sau đây được tổng hợp theo cách tương tự với cách được đưa ra ở bước 4 của ví dụ 1, bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu thích hợp. Các cấu trúc của các hợp chất này được đưa ra trên Fig.1

Hợp chất	tên	¹ H NMR	m/z
304	(±)-1-(1-(4,4-đifloxy-cyclohexyl)etyl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(CDCl ₃ , 400MHz)δ 12,63-12,64 (d, J =3,2Hz, 1H), 7,84(s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,42-7,40 (d, J =9,2Hz, 1H), 7,06-7,00 (m, 2H), 5,90-5,89 (d, J =3,6Hz 1H), 4,66-4,62 (t, J =14Hz, 2H), 4,11-4,08 (m, 1H), 3,88-3,87 (d, J =3,6Hz,3H), 2,99-2,76 (m,3H),2,36(s,1H), 2,25(s,3H), 2,17-2,16 (d, J =3,2Hz, 2H), 2,08-2,05(m, 2H), 1,84-1,70(m, 2H), 1,61(s, 1H), 1,51-1,47(m, 2H)	427
230	(±)-5-flo-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, CD ₃ OD) δ7,59-7,55 (m, 1H), 7,42-7,39 (m, 1H), 6,95-6,90 (m, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,12 (s, 3H), 3,99-3,94 (m, 1H), 3,72-3,65 (m, 1H), 3,19 (s, 3H), 2,64(s, 3H), 2,54 (s, 3H), 1,59-1,57(d, 3H)	416
231	(±)-6-flo-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,70-7,66 (m, 1H), 7,36-7,33 (m, 1H), 6,94-6,89 (m, 2H), 4,56 (s, 2H), 4,11 (s, 3H), 3,97-3,92 (m, 1H), 3,71-3,67 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,62(s, 3H), 2,53 (s, 3H), 1,58-1,56(d, 3H)	416
218	(±)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,69(d, J=7,2 Hz,1H), 7,53(d, J=7,6 Hz,1H), 7,12(m, 2H), 6,26(s,1H), 4,80(m,1H), 4,52(s,2H), 3,99(m, 4H),3,75(m, 1H),3,20(s, 3H), 2,62(s, 3H), 2,31(s, 3H), 1,59(d, J=7,2 Hz,3H)	398
183	(±)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74(m, 1H), 7,57(d, J=7,6 Hz, 1H), 7,15(m, 2H), 6,14(s,1H), 4,86(m,1H), 4,55(s,2H), 4,02(m, 1H),3,77(m, 1H),3,22(s, 3H), 2,65(s, 3H), 2,43(s, 3H), 2,26(s, 3H), 1,62(d, J=7,2 Hz,3H)	382

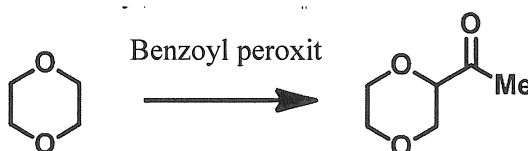
Hợp chất	tên	¹ H NMR	m/z
204	(±)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CDCl ₃)δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2Hz,1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz,1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz,2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz,3H)	399
211	(±)-1-(1-xyclopropyletyl)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit		379
212	(±)-1-(1-etoxypropan-2-yl)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CDCl ₃)δ 8,173-8,189 (m, 1H), 8,13-8,153 (m, 1H), 7,563(s, 1H), 6,977-7,008 (m, 1H), 5,938 (s, 1H), 4,652-4,667 (d, 2H), 4,177(s, 1H), 3,309-3,454 (m, 2H), 3,94-3,98(m, 1H), 2,806 (s, 3H), 2,212 (s, 3H), 1,665-1,682 (d, 3H), 1,044 (t, 3H)	413
235	(±)-N-((4-etoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CDCl ₃)δ 12,5 (s, 1H), 8,11-8,18 (m, 2H), 7,60 (s, 1H), 6,95-6,98 (m, 1H), 5,90 (s, 1H), 5,96 (s, 1H), 4,83 (s, 1H), 4,10-4,21 (m,3H), 3,82-3,83 (m, 1H), 3,23 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,65-1,66 (d, J = 6,8 Hz,6H), 1,44-1,47 (t, J = 7,2 Hz, 3H),	413
241	N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CD ₃ OD): δ8,67-8,65 (d, 1H), 8,45-8,44 (d, 1H), 7,59-7,55(m, 1H), 6,70 (s, 1H), 4,79 (s, 1H), 4,61 (s, 2H), 4,07 (s, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,75(s, 3H), 2,56 (s, 3H), 2,42(s, 3H), 1,68-1,66(d, 3H), 1,16-1,15(d, 3H),	397
280	(±)-N-((6-etyl-4-metoxi-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD)δ 8,25-8,29(m, 2H),δ 7,28-7,31(m, 1H), 6,89(s, 1H), 4,93-4,95(br, 1H), 4,58(s, 2H), 4,2-4,25(m, 1H),4,13(s, 3H), 3,77-3,81(m, 1H), 3,24(s, 3H), 2,79-2,84(q, 1H), 2,72(s, 3H), 1,66-1,68(d, J = 7,2 Hz, 3H)1,32-1,36(t, 3H)	413

Hợp chất	tên	¹ H NMR	m/z
288	(R hoặc S)-N-((4-Metoxý-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, d ₆ -DMSO)δ 11,57 – 11,65 (m, 1H), 8,18 – 8,23 (m, 1H), 8,07 – 8,12 (m, 1H), 7,83 – 7,91 (m, 1H), 7,07 – 7,15 (m, 1H), 6,15 (s, 1H), 4,31 (d, J = 4,46 Hz, 1H), 4,04 – 4,20 (m, 1H), 3,88 – 3,97 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,59 – 3,70 (m, 1H), 2,97 – 3,10 (m, 1H), 2,79 – 2,93 (m, 1H), 2,67 (br, s., 3H), 2,20 (s, 3H), 1,78 – 1,88 (m, 1H), 1,53 – 1,68 (m, 3H), 1,28 – 1,41 (m, 2H), 0,97 – 1,13 (m, 2H), 0,56 – 0,68 (m, 1H)	439
306	(R hoặc S)-N-((4,6-di-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 11,73 – 11,56 (m, 1 H), 8,19 (d, J = 3,1 Hz, 1 H), 8,06 (dd, J = 1,4, 7,9 Hz, 1 H), 7,82 (br, s., 1 H), 7,10 (dd, J = 4,7, 7,8 Hz, 1 H), 5,91 (s, 1 H), 4,30 (br, s., 2 H), 4,19 – 4,02 (m, 1 H), 3,90 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,63 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 3,29 (s, 1 H), 3,06 (s, 1 H), 2,92 – 2,74 (m, 1 H), 2,64 (br, s., 3 H), 2,25 (s, 3 H), 2,11 (s, 3 H), 1,80 (br, s., 1 H), 1,59 (br, s., 3 H), 1,41 – 1,24 (m, 1 H), 1,09 (s, 2 H), 0,67 – 0,52 (m, 1 H)	423
277	(±)-1-(3-metoxý-3-metylbutan-2-yl)-N-((4-metoxý-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz, DMSO-d ₆)δ = 12,01 – 11,82 (m, 1 H), 7,91 – 7,82 (m, 2 H), 7,71 – 7,64 (m, 1 H), 7,06 – 6,96 (m, 2 H), 6,25 (s, 1 H), 4,43 (q, J = 7,1 Hz, 1 H), 4,33 (br, s., 2 H), 3,86 (s, 3 H), 3,14 – 3,09 (m, 3 H), 2,61 (s, 3 H), 2,23 (s, 3 H), 1,58 – 1,52 (m, 3 H), 1,27 (s, 3 H), 0,88 (s, 3 H)	426
275	(±)-N-((4,6-di-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit		410
294	(±)-N-((4-metoxý-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxýbutan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(CDCl ₃ , 400 M Hz)δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412

Hợp chất	tên	¹ H NMR	m/z
290	(±)-1-(3-etoxybutan-2-yl)-N-((4-metoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400MHz,DMSO-d ₆)δ = 11,60 (br, s., 1 H), 7,72 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 7,67 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 7,09 - 6,98 (m, 2 H), 6,14 (s, 1 H), 4,41 - 4,35 (m, 1 H), 4,32 (d, J = 4,9 Hz, 2 H), 4,03 - 3,93 (m, 1 H), 3,83 (s, 3 H), 3,25 (d, J = 9,4 Hz, 1 H), 2,82 - 2,72 (m, 1 H), 2,62 (br, s., 3 H), 2,19 (s, 3 H), 1,52 (d, J = 7,1 Hz, 3 H), 1,15 (d, J = 6,0 Hz, 3 H), 0,68 (t, J = 6,9 Hz, 3 H)	426
293	N-((4-metoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrrolo [2, 3-b] pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CDCl ₃): δ8,19-8,13(m, 2H), 7,57-7,55(t, 1H), 6,99-6,96(m, 1H), 5,94(s, 1H), 4,67-4,65(m, 2H), 4,40(m, 1H), 4,16(m, 1H), 3,16(s, 3H), 2,80(s, 3H), 2,77(s, 3H), 2,20(s, 3H), 1,87-1,81(m,1H), 1,67-1,65(m,3H),1,53-1,45(m,3H), 1,02-0,99(m, 3H)	427
299	N-((4-metoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit	(400 MHz, CDCl ₃) δ 7,87-7,86 (d, 1H), 7,52-7,45 (m, 2H), 7,10-7,02 (m, 2H), 4,72-4,64 (dd, 2H), 4,45-4,42 (s 1H), 3,9 (s, 3H), 3,73(s, 1H), 2,8-2,7 (d, 6H), 2,17(s, 3H), 1,80-1,75(m,1H), 1,58(s, 3H),1,25(m,1H), 1,03-0,99(t, 3H)	425

Ví dụ 11. Tổng hợp metyl 1-(1-(1,4-dioxan-2-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxylat. Hợp chất nêu ở đề mục này được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu alkyl carboxylat thay thế ở bước 3 của ví dụ 1.

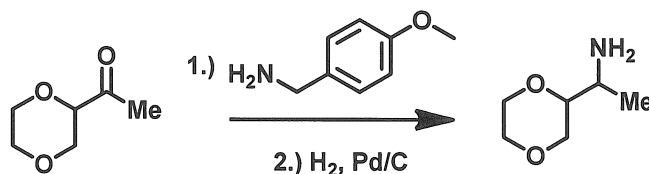
Bước 1: 1-(1,4-dioxan-2-yl)etanon:



Thêm biacetyl (24,3g, 282mmol) vào dung dịch chứa benzoic peroxit (20g, 141mmol) trong 200mL 1,4-diôxan ở nhiệt độ trong phòng trong khí nitơ. Sau khi thêm vào, gia nhiệt hỗn hợp đến hồi lưu và khuấy trong 24 giờ. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến 0°C. Điều chỉnh độ pH đến khoảng 9 bằng cách thêm theo cách tăng dần 2N

natri hydroxit dưới 0°C, chiết bằng 2-metoxi-2-metylpropan (10mL × 3), và cô đặc để thu được 1-(1,4-dioxan-2-yl)etanon (13g, 36%) là chất dầu màu vàng mà được sử dụng một cách trực tiếp ở bước tiếp theo mà không cần tinh chế.

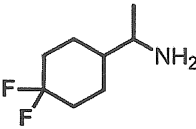
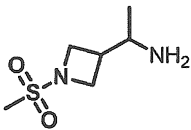
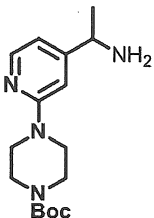
Bước 2: 1-(1,4-dioxan-2-yl)etanamin:



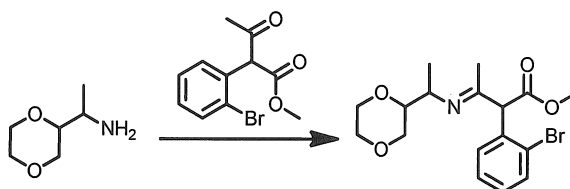
Thêm (4-metoxiphenyl)metanamin (25g, 184,4mmol) vào dung dịch chứa 1-(1,4-dioxan-2-yl)etanon (12g, 92,2mmol) trong 1,2-dicloetan (100mL) ở nhiệt độ trong phòng. Để hỗn hợp khuấy trong 3 giờ và sau đó thêm natri triaxetoxiborohydrua (39g, 184,4mmol) vào. Cho phép khuấy hỗn hợp thu được trong 48 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dừng phản ứng bằng cách thêm nước, chiết bằng diclometan (100mL × 3). Làm khô pha hữu cơ kết hợp bằng natri sulphat khan và sau đó lọc. Cô đặc phần lọc và tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (tách rửa: diclometan/metanol 100:1 → 50:1 → 20:1) để thu được 1-(1,4-dioxan-2-yl)-N-(4-metoxibenzyl)etanamin (16,4g, 71%) ở dạng chất rắn màu vàng. LCMS ($M + H^+$) m/z: theo tính toán 251,15, phát hiện 251,9. Thêm paladi 10% trên cacbon (240mg, 2mmol) vào dung dịch chứa 1-(1,4-dioxan-2-yl)-N-(4-metoxibenzyl)etanamin (5g, 19,9mmol) trong metanol khan (100mL), sau đó làm sạch bằng hydro (30psi), để hỗn hợp khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Lọc hỗn hợp phản ứng và cô đặc phần lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,5g, 96%) ở dạng chất rắn màu nâu.

Hợp chất trung gian amin được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trên đây bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu và các cải biến thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
tert-butyl carboxylat 3-(1-aminoethyl)piperidin-1-		228

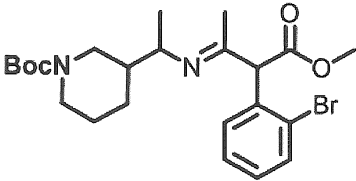
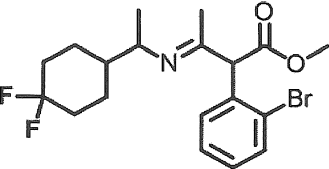
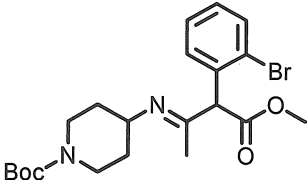
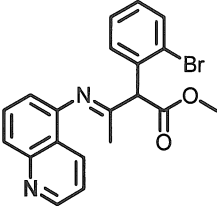
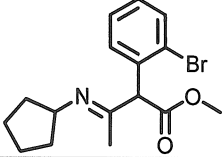
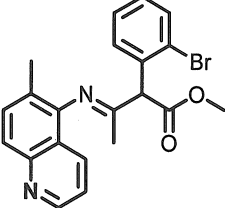
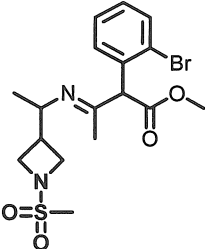
(±)-1-(4,4-đifloxyclohexyl)etanamin		164
(±)-1-(1-(metylsulfonyl)azetidin-3-yl)etanamin		179
(±)-tert-butyl 4-(4-(1-aminoethyl)pyridin-2-yl)piperazin-1-carboxylat		307

Bước 3: (E)-metyl 3-((1-(1,4-dioxan-2-yl)etyl)imino)-2-(2-bromophenyl)butanoat:



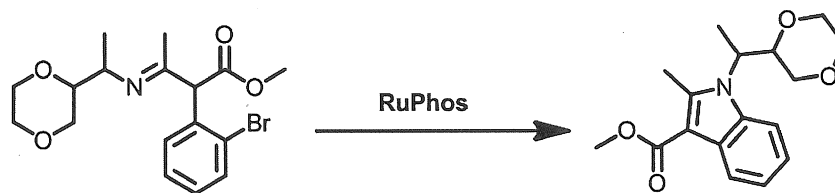
Thêm methyl 2-(2-bromophenyl)-3-oxobutanoat (5,4g, 20mmol) và axit axetic (1,8g, 30mmol) vào dung dịch chứa 1-(1,4-dioxan-2-yl)etanamin (2,5g, 19mmol) trong metanol (100mL). Làm ấm hệ phản ứng thu được đến nhiệt độ hồi lưu và để khuấy qua đêm. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (tách rửa: diclometan/metanol 50:1→20:1→5:1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1g, 14%) ở dạng chất rắn màu nâu. LCMS ($M + H^+$) m/z : theo tính toán 383,07, phát hiện 384,9.

Hợp chất trung gian imino-bromo được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trên đây bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp (ví dụ, một trong số các amin được nêu trong bảng ở bước 2 của ví dụ) và các cải biến.

Tên	Cấu trúc	m/z
(E)-tert-butyl 3-(1-((3-(2-bromophenyl)-4-methoxy-4-oxobutan-2-ylidene)amino)ethyl)piperidin-1-carboxylat		482
(±)-(E)-methyl 2-(2-bromophenyl)-3-((1-(4,4-diflorocyclohexyl)ethyl)imino)butanoat		417
(E)-tert-butyl 4-((3-(2-bromophenyl)-4-methoxy-4-oxobutan-2-ylidene)amino)piperidin-1-carboxylat		454
(Z)-methyl 2-(2-bromophenyl)-3-(quinolin-5-ylamino)but-2-enoat		398
(E)-methyl 2-(2-bromophenyl)-3-(cyclopentylimino)butanoat		339
(E)-methyl 2-(2-bromophenyl)-3-((6-methylquinolin-5-yl)imino)butanoat		412
(±)-(E)-methyl 2-(2-bromophenyl)-3-((1-(1-(methylsulfonyl)azetidin-3-yl)ethyl)imino)butanoat		432

Tên	Cấu trúc	m/z
(±)-(E)-tert-butyl 4-(4-((3-(2-bromophenyl)-4-methoxy-4-oxobutan-2-ylidene)amino)pyridin-2-yl)piperazine-1-carboxylat		559
(E)-metyl 2-(2-bromophenyl)-3-((2,5-dimetylphenyl)amino)but-2-enoat		375
(E)-metyl 2-(2-bromophenyl)-3-((2,3-dimetylphenyl)amino)but-2-enoat		375
(E)-metyl 2-(2-bromophenyl)-3-(quinolin-6-ylimino)butanoat		398

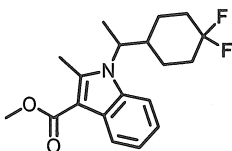
Bước 4: Metyl 1-(1-(1,4-dioxan-2-yl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxylat:



Thêm clo[2-(dixyclohexylphosphino)-3,6-dimetoxy-2',4',6'-triisopropylbiphenyl][2-(2-aminoetyl)phenyl]Pd(II) (160mg, 0,2mmol), 2-Dixyclohexyphosphino-2',6'-diisopropoxybiphenyl (93mg, 0,2mmol) và natri tert-butoxit (192mg, 2mmol) vào dung dịch chứa (E)-metyl 3-((1-(1,4-dioxan-2-yl)etyl)imino)-2-(2-bromophenyl)butanoat (400mg, 1,1mmol) trong đioxan (3mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng thu được đến 120°C kèm khuấy trong 30 phút trong vi sóng. Dừng phản ứng bằng cách thêm nước vào và chiết bằng etyl axetat (25mL × 3). Làm khô pha hữu cơ kết hợp bằng natri sulphat khan và sau đó lọc. Cô đặc phần lọc và tinh chế bằng sắc ký

cột trên silicagel (tách rửa: ete dầu mỏ/ este axetic 10:1→5:1→2:1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (282mg, 89%) là chất rắn màu vàng. LCMS ($M + H^+$) m/z : tính toán 303,15, phát hiện 303,9.

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trên đây bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu thích hợp (ví dụ, một trong số các hợp chất trung gian imino-bromo được thể hiện trong bảng ở bước 3 của ví dụ này) và các cải biến.

Tên	Cấu trúc	m/z
(±)-metyl 1-(1-(4,4-đifloxy-cyclohexyl)etyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxylat		336

Các alkyl carboxylat này cũng được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu ở bước 3 của ví dụ 1 trong quá trình tổng hợp một số hợp chất theo sáng chế.

Ví dụ 12. Tách không đối xứng hợp chất 219 để thu được hợp chất 223 và 224.

N-((4-methoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit (200mg) (hợp chất 219) được đưa vào sắc ký không đối xứng qua sắc ký lỏng siêu tới hạn (SFC)(A:C₂H₅OH,B:NH₃·H₂O. cột A:B=55:45 AD) để thu được các chất đồng phân đối ảnh riêng biệt 223 (đỉnh 1) và 224 (đỉnh 2) (mỗi đỉnh 60mg) LCMS 398 ($M+1$)⁺¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,69 (d, J=7,2 Hz, 1H), 7,53 (d, J=7,6 Hz, 1H), 7,12 (m, 2H), 6,26(s, 1H), 4,80(m, 1H), 4,52(s, 2H), 3,99 (m, 4H), 3,75 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 1,59 (d, J=7,2 Hz, 3H). Việc quay quang học của mỗi chất đồng phân đối ảnh không được xác định.

Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình sắc ký không đối xứng chung được nêu trên đây. Việc quay quang học của các chất đồng phân đối ảnh riêng biệt không được xác định, nhưng đỉnh tách rửa (“Đỉnh 1” hoặc “Đỉnh 2”) được thể hiện. Các cấu trúc của mỗi hợp chất này được thể hiện trên Fig.1.

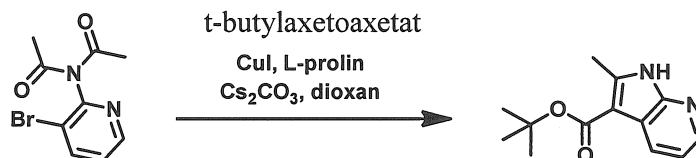
Hợp chất	Tên	¹ H NMR	m/z
217	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit-Đỉnh 1	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74(m, 1H), 7,57(d, J=7,6 Hz, 1H), 7,15(m, 2H), 6,14(s, 1H), 4,86(m, 1H), 4,55(s, 2H), 4,02(m, 1H), 3,77(m, 1H), 3,22(s, 3H), 2,65(s, 3H), 2,43(s, 3H), 2,26(s, 3H), 1,62(d, J=7,2 Hz, 3H)	382
218	(R hoặc S)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit-Đỉnh 2	(400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,74(m, 1H), 7,57(d, J=7,6 Hz, 1H), 7,15(m, 2H), 6,14(s, 1H), 4,86(m, 1H), 4,55(s, 2H), 4,02(m, 1H), 3,77(m, 1H), 3,22(s, 3H), 2,65(s, 3H), 2,43(s, 3H), 2,26(s, 3H), 1,62(d, J=7,2 Hz, 3H)	382
252	(R hoặc S)- (±)-1-(1-xyclopropyletyl)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit Đỉnh 1	NMR (400 MHz, CDCl ₃): δ 8,32-8,34(d, 1H), 8,18-8,2(d, 1H), 7,27-7,30(m, 1H), 6,70(s, 1H), 4,47(s, 2H), 3,94-3,95(d, 1H), 2,61(s, 3H), 2,43(s, 3H), 2,29-2,30(s, 3H), 1,57-1,59(d, 3H), 0,63-0,64(t, 1H), 0,27-0,64(m, 2H), 0,02-0,04 (t, 1H)	379
253	(R hoặc S)- (±)-1-(1-xyclopropyletyl)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit Đỉnh 2	NMR (400 MHz, CDCl ₃): δ 8,32-8,34(d, 1H), 8,18-8,2(d, 1H), 7,27-7,30(m, 1H), 6,70(s, 1H), 4,47(s, 2H), 3,94-3,95(d, 1H), 2,61(s, 3H), 2,43(s, 3H), 2,29-2,30(s, 3H), 1,57-1,59(d, 3H), 0,63-0,64(t, 1H), 0,27-0,64(m, 2H), 0,02-0,04 (t, 1H)	379
256	(R hoặc S)-N-((4-metoxypentan-2-yl)-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit Đỉnh 1	(400 MHz, CDCl ₃) δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz, 3H)	399

Hợp chất	Tên	¹ H NMR	m/z
257	(R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxipropan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit Đỉnh 2	(400 MHz, CDCl ₃) δ 13,23 (s, 1H), 8,16-8,17 (m, 1H), 8,11-8,13 (m, 1H), 7,57-7,60 (t, J = 5,2Hz, 1H), 6,93-6,96 (m, 1H), 5,92 (s, 1H), 4,82-4,83 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,65-4,66 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,81-3,85 (m, 1H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,64-1,66 (d, J = 8,0 Hz, 3H)	399
307	Trans-(R hoặc S, R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-inđol-3-carboxamit Đỉnh 1	(CDCl ₃ , 400 M Hz) δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412
308	Trans-(R hoặc S, R hoặc S)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-inđol-3-carboxamit Đỉnh 2	(CDCl ₃ , 400 M Hz) δ 7,85 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,08-7,03 (m, 2H), 5,93 (s, 1H), 4,71-4,61 (m, 2H), 4,36 (s, 1H), 3,90 (s, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,75 (s, 3H), 2,17 (s, 3H), 1,57 (d, J = 7,2 Hz, 3H), 1,23 (d, J = 6,0 Hz, 3H)	412

Ví dụ 1. Tổng hợp tert-butyl 1-(2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat.

Hợp chất nêu ở đề mục này làm nguyên liệu ban đầu ở bước 3 của ví dụ 36 trong quy trình tổng hợp một số hợp chất theo sáng chế.

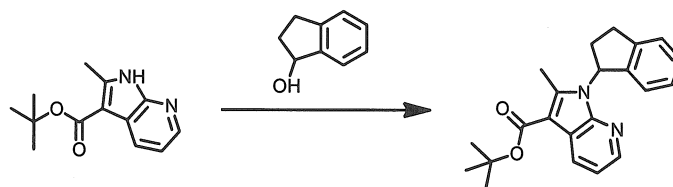
Tert-butyl 2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat:



Thêm đồng (I) iđua (1,098g, 5,76mmol), L-prolin (1,327g, 11,53mmol), xe-di cacbonat (28,2g, 86mmol), tiếp theo t-butyl axetoaxetat (11,47ml, 69,2mmol) và đioxan (100mL) vào bình thót cổ đáy tròn 500mL chứa N-axetyl-N-(3-bromopyridin-

2-yl)axetamit (14,815g, 57,6mmol). Tạo chân không/làm sạch phản ứng bằng N₂ 3X tiếp theo khớp với vách ngăn và lối vào N₂ và gia nhiệt qua đêm ở 70°C. Loại bỏ chất rắn hữu cơ bằng việc lọc qua xelit và rửa bánh bằng 100mL EtOAc. Cô đặc dung dịch này và phân chia phần còn lại giữa 250mL nước muối và 250mL EtOAc. Chiết tiếp lớp trong nước bằng EtOAc (2x250mL) và làm khô lớp hữu cơ kết hợp qua Na₂SO₄, lọc, cô đặc và tinh chế bằng CC bằng cách sử dụng 1:1 EtOAc:Hex làm tách rửa để thu được (2,7g, 20,2%) tert-butyl 2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxylat. LRMS (M + H⁺)m/z: tính toán 233,28; phát hiện 233,1.

Tert-butyl 1-(2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxylat:



Khuấy dung dịch chứa etyl tert-butyl 2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (100mg, 0,74mmol), 2,3-dihydro-1H-inden-1-ol (176mg, 0,74mmol), PPh₃ (195mg, 1,49mmol) trong THF khô (10mL) ở 0°C trong khí nitơ. Thêm nhỏ giọt DIAD (150mg, 1,48mmol) vào hỗn hợp này trong khoảng thời gian 5 phút và khuấy phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Rửa hỗn hợp bằng nước muối, làm khô và cô đặc để thu được sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silcagel (ete dầu mỏ/etyl axetat = 5:1) để thu được tert-butyl-1-(2,3-dihydro-1H-inden-1-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (150mg, 60%).

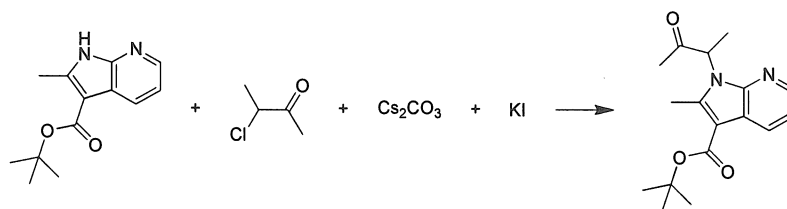
Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trên đây bằng cách sử dụng các nguyên liệu khởi đầu và các cải biến thích hợp.

Tên	Cấu trúc	m/z
(±)-tert-butyl 1-(1-xyclpropyletyl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxylat		301

Mỗi trong số các alkyl carboxylat trên đây được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu ở bước 3 của ví dụ 1 trong quy trình tổng hợp một số hợp chất theo sáng chế.

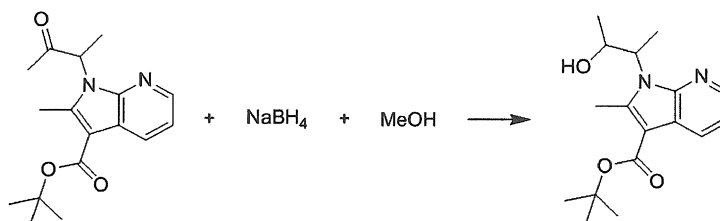
Ví dụ 13. Tổng hợp các chất đồng phân không đối quang N-((4-methoxy-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-((2R hoặc 2S, 3R hoặc 3S)-3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit được tách (hợp chất 261, 266, 267 và 302).

Bước 1: Tert-butyl 2-metyl-1-(3-oxobutan-2-yl)-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat:



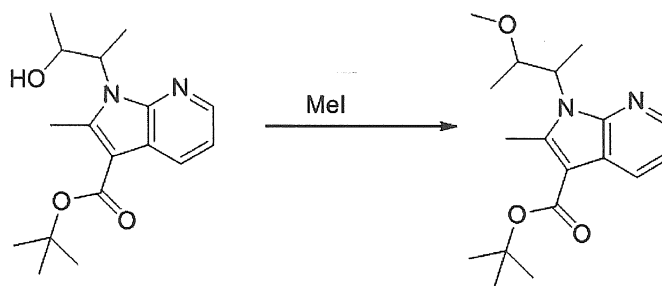
Thêm Cs_2CO_3 (21,0g, 64,58mmol), kali iodua (3,57g, 21,53mmol) vào dung dịch chứa tert-butyl 2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (5,0g, 21,53mmol) trong CH_3CN (50mL). Khuấy hỗn hợp ở 27°C trong 30 phút. Tiếp theo, thêm 3-clobutan-2-on (2,75g, 25,83mmol) vào và khuấy hỗn hợp ở 70°C trong 12 giờ. Lọc hỗn hợp và cô đặc phân lọc. Tinh chế phần còn lại bằng cột (Tách rửa: ete dầu mỏ: Etyl axetat =50:1) để thu được tert-butyl 2-metyl-1-(3-oxobutan-2-yl)-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat là dầu màu vàng-xanh. (3,23g, hiệu suất 50%) LCMS ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z: tính toán 303,37; phát hiện 302,9. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,32-8,30(m, 1H), 8,25-8,23(m, 1H), 7,17-7,14(m, 1H), 5,50-5,44(m, 1H), 2,71(s, 3H), 1,96(s, 3H), 1,65-1,67 (d, 3H), 1,64(s, 9H).

Bước 2: Tert-butyl 1-(3-hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrololo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat:



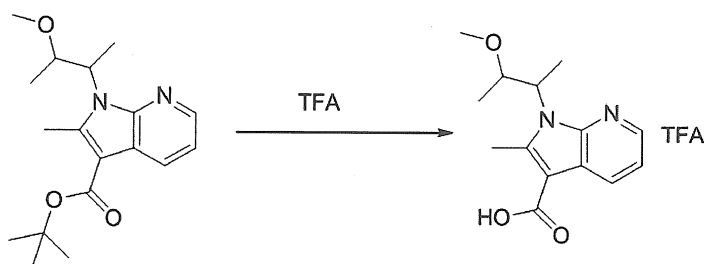
Thêm natri bohydrua (0,30g, 8,2mmol) vào dung dịch chứa tert-butyl 2-metyl-1-(3-oxobutan-2-yl)-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (3,1g, 10,25mmol) trong metanol (30mL) ở 0°C. Sau 30 phút, thêm mẻ khác chứa natri bohydrua (0,30g, 8,2mmol) vào ở 0°C. Sau khi phản ứng xảy ra hoàn toàn khoảng 2 giờ sau, thêm nhỏ giọt rất cẩn thận nước (30ml) vào để dừng phản ứng. Chiết hỗn hợp bằng CH₂Cl₂. Làm khô phần chiết qua Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không để thu được tert-butyl 1-(3-hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat ở dạng chất rắn màu vàng. (3,0g, hiệu suất 96%) LCMS (M + H⁺) m/z: tính toán 305,38; phát hiện 304,9. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,31-8,29(m, 1H), 8,13-8,12(m, 1H), 7,11-7,07(m, 1H), 4,46-4,43(m, 1H), 4,12(m, 1H), 2,73 (s, 3H), 1,58(s, 9H), 1,51-1,49 (d, 3H), 0,92-0,91(d, 3H).

Bước 3: Tert-butyl-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat:



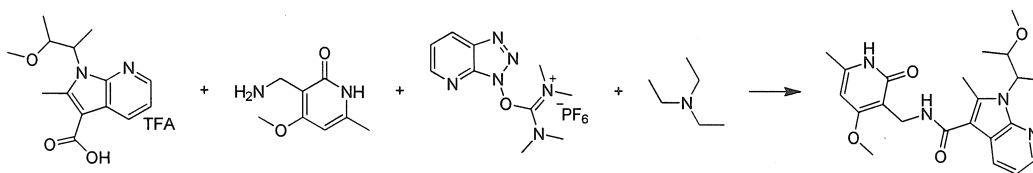
Thêm NaH (60% trong dầu khoáng, 2,37g, 59,14mmol) vào THF khan (20mL). Sau đó, khuấy hỗn hợp ở 27°C trong 20 phút, sau đó thêm tert-butyl 1-(3-hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (3,0g, 9,86mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở 27°C trong 1 giờ, sau đó thêm CH₃I (13,99g, 98,6mmol) vào. Khuấy hỗn hợp trong 12 giờ ở 27°C và sau đó làm lạnh đến 0°C. Thêm NH₄Cl bão hòa vào và chiết bằng CH₂Cl₂. Làm khô phần chiết qua natri sulfat, lọc và cô đặc để thu được tert-butyl-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylat ở dạng chất dầu màu vàng. (3,2g, hiệu suất 100%) LCMS (M + H⁺) m/z: tính toán 319,41; phát hiện 318,9.

Bước 4: axit 1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrido[2,3-b]pyridin-3-carboxylic:



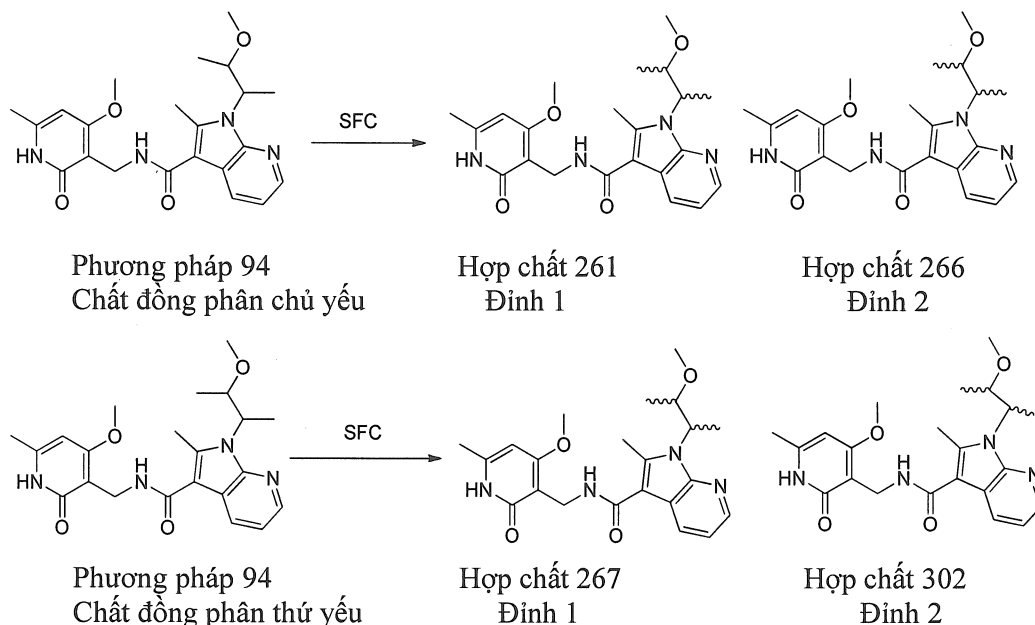
Thêm nhỏ giọt dung dịch trifloaxetic (20mL) vào dung dịch được làm mát sơ bộ chứa tert-butyl 1-(3-methoxybutan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-carboxylat (3,0g, 9,42mmol) trong CH_2Cl_2 (20mL). Khuấy dung dịch ở 27°C trong 1,5 giờ. Loại bỏ dung môi trong chân không ở 27°C . Phần còn lại được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế. LCMS ($\text{M} + \text{H}^+$) m/z : tính toán 263,30; phát hiện 262,9.

Bước 5: N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-1-(3-methoxybutan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit:



Thêm TEA (4,2g, 41,50mmol), 3-(aminomethyl)-4-methoxy-6-methylpyridin-2(1H)-on hydroclorua (2,1g, 12,81mmol) vào dung dịch chứa axit 1-(3-methoxybutan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-carboxylic (2,4g, 9,15mmol) trong DMF (30mL). Sau khi khuấy trong 10 phút ở 27°C , làm mát hỗn hợp và thêm HATU (5,56g, 14,64mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở 27°C trong 72 giờ và 30% S.M. còn lại. Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp ở 80°C trong 5 giờ. Pha loãng dung dịch bằng nước muối (100mL) và chiết bằng CH_2Cl_2 (100mL*3). Gom các phần chiết và làm khô trên Na_2SO_4 . Làm bay hơi dung môi trong chân không và tinh chế phần còn lại bằng sắc ký cột nhanh (tách rửa: diclometan: metanol=95:5) để thu được N-((4-methoxy-6-methyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-1-(3-methoxybutan-2-yl)-2-methyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-carboxamit. (3,6g, hiệu suất 95%)

Bước 6: Tách N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit: các chất đồng phân (hợp chất 261, 266, 267, và 302):



Tinh chế hỗn hợp gồm các chất đồng phân từ bước 5, N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-(3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit bằng HPLC điều chế (điều kiện: Cột: SHIMADZU LC-8A, 250*50mm *10um; pha động A: nước với 0,2% axit formic; pha động B: MeCN; nhiệt độ cột: 30°C; Gradient: B trong A 10 đến 50%) để thu được cặp chất đồng phân chính (hợp chất 261 và hợp chất 266 tổ hợp) (1,0g, độ tinh khiết 98,8%) và cặp chất đồng phân thứ yếu (hợp chất 267 và hợp chất 302 tổ hợp) (180mg, độ tinh khiết 63%). Các cặp chất đồng phân thu được được tách theo cách riêng rẽ bằng SFC (Điều kiện: Cột: Chiralpak AD 250*30mm *5um; pha động A: siêu tới hạn CO₂; pha động B: IPA+NH₃•H₂O; Gradient: B/A: 75:25) để thu được các hợp chất đơn lẻ sau đây:

Hợp chất 261, N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-((2R hoặc 2S,3R hoặc 3S)-3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit (cặp chất đồng phân chính; Đỉnh 1): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,173-8,157(m, 1H), 8,140-8,116(m, 1H), 7,582-7,555(m, 1H), 6,968-6,936(m, 1H), 5,927(s, 1H), 4,707-4,609 (m, 2H), 4,348 (s, 1H), 3,892(s, 3H), 2,869 (s, 3H), 2,788(s, 3H), 2,173 (s, 3H), 1,644-1,627(d, 3H), 1,263-1,249 (d, 3H).

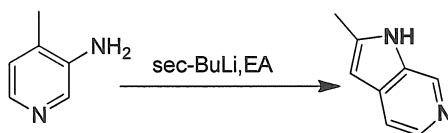
Hợp chất 266, N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-((2R hoặc 2S,3R hoặc 3S)-3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit (cặp chất đồng phân chính; Đỉnh 2): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,179-8,163(m, 1H), 8,143-8,120(m, 1H), 7,558-7,531(m, 1H), 6,986-6,954(m, 1H), 5,931(s, 1H), 4,702-4,605 (m, 2H), 3,897(s, 3H), 2,892 (s, 3H), 2,789(s, 3H), 2,189 (s, 3H), 1,647-1,629(d, 3H), 1,267-1,252 (d, 3H).

Hợp chất 267, N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-((2R hoặc 2S,3R hoặc 3S)-3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit (cặp chất đồng phân thứ yếu; Đỉnh 1): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,174-8,162(d, 1H), 8,111-8,094(d, 1H), 7,551-7,526(m, 1H), 6,993-6,961(m, 1H), 5,935(s, 1H), 4,683-4,579 (m, 2H), 3,887(s, 3H), 3,442 (s, 3H), 2,753(s, 3H), 2,194 (s, 3H), 1,695-1,678(d, 3H), 0,781-0,768 (d, 3H).

Hợp chất 302, N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-1-((2R hoặc 2S,3R hoặc 3S)-3-metoxibutan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrol[2,3-b]pyridin-3-carboxamit (cặp chất đồng phân thứ yếu; Đỉnh 2): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,177-8,166(d, 1H), 8,122-8,104(d, 1H), 7,587-7,562(m, 1H), 6,984-6,952(m, 1H), 5,933(s, 1H), 4,698-4,591 (m, 2H), 4,426 (s, 2H), 3,983(s, 3H), 3,448 (s, 3H), 2,764(s, 3H), 2,180 (s, 3H), 1,701-1,684(d, 3H), 0,786-0,772 (d, 3H).

Ví dụ 14. Tổng hợp ($\pm$)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrol[2,3-c]pyridin-3-carboxamit

Bước 1: 1-(3-metoxiphenyl)etanol:



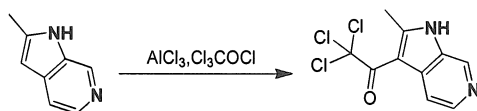
Thêm nhỏ giọt sec-BuLi (150mL, 1,3M trong xyclohexan, 194mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 3-Amino-4-picolin (7g, 64,8mmol) trong THF khan (200mL)

trong 20 phút ở -78°C . Làm ấm dung dịch đến nhiệt độ trong phòng và khuấy ở 3 giờ.

Thêm nhỏ giọt ethyl axetat (2,3g, 25,9mmol) vào phản ứng ở -78°C và khuấy hỗn hợp ở

cùng nhiệt độ trong 2 giờ. Thêm nhỏ giọt metanol (50mL) vào phản ứng trong 10 phút. Làm ấm hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1 giờ. Thêm NH_4Cl nửa bão hòa (250mL) vào. Chiết hỗn hợp bằng EA. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô và cô đặc để thu được sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel (ete dầu mỏ/ethyl axetat = 10:1) để thu được 2-metyl-1H-pyrido[2,3-c]pyridin (2,5g, 73,5%).

Bước 2: 2,2,2-triclo-1-(2-metyl-1H-pyrido[2,3-c]pyridin-3-yl)etanon:

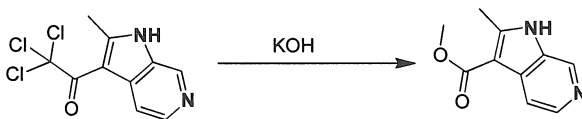


Thêm nhỏ giọt tricloaxetylclorua (4,1g, 22,7mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 2-metyl-1H-pyrido[2,3-c]pyridin (2,5g, 18,9mmol) và nhôm clorua (5g, 37,8mmol) trong DCM (100mL) vào phản ứng trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Sau khi khuấy 2 giờ, làm mát phản ứng đến 0°C và dừng phản ứng bằng nước

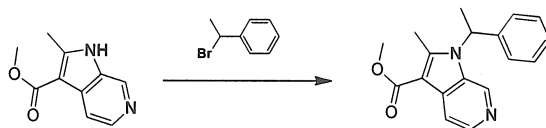
(100mL). Tách chất kết tủa thu được bằng cách lọc để thu được 2,2,2-triclo-1-(2-metyl-1H-pyrido[2,3-c]pyridin-3-yl)etanon được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Giả định hiệu suất 100%. (5,24g).

Bước 3: Metyl 2-metyl-1H-pyrido[2,3-c]pyridin-3-carboxylat:



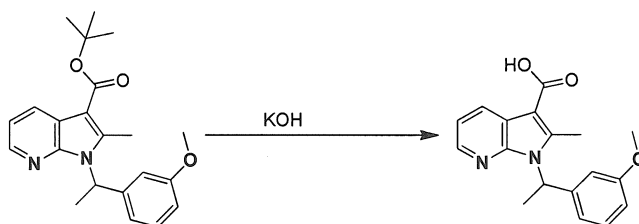
Khuấy hỗn hợp gồm 2,2,2-triclo-1-(2-metyl-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-yl)etanon (5,24g, 18,9mmol) và KOH (1,2g, 20,9mmol) trong MeOH (100mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng để loại bỏ MeOH, phân chia phần còn lại giữa EA và nước. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối, làm khô và cô đặc để thu được metyl 2-metyl-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (3g, 83%).

Bước 4: Metyl metyl 2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylat:



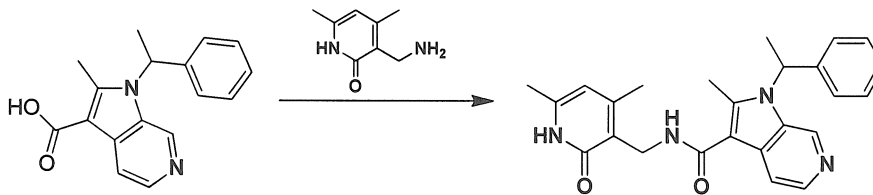
Khuấy hỗn hợp gồm metyl 2-metyl-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (550mg, 2,89mmol) và natri hydrua (200mg, 4,34mmol) trong N,N-dimetylformamit (3,0mL) ở nhiệt độ trong phòng trong 0,5 giờ và sau đó thêm (1-bromoetyl)benzen (589mg, 3,18mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NH₄Cl bão hòa và chiết bằng etyl axetat. Gom các lớp hữu cơ và cô đặc để thu được phần còn lại. Tinh chế phần còn lại bằng sắc ký (ete dầu mỏ/etyl axetat =5:1) để thu được metyl 2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (800mg, 94%).

Bước 5: axit 2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylic:



Tạo hồi lưu vào hỗn hợp gồm metyl 2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrololo[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (800mg, 2,72mmol) và KOH (1,5g, 27,2mmol) trong (15mL) và nước (5mL) trong 2 giờ. Điều chỉnh độ pH của hỗn hợp đến 2 bằng 10% HCl và chiết bằng EA. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô và cô đặc để thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất 100%. (760mg).

Bước 6: ($\pm$)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrolo[2,3-c]pyridin-3-carboxamit (hợp chất 203):



Thêm HATU (456mg, 1,2mmol), TEA (1g, 10mmol) và 3-(aminometyl)-4,6-dimethylpyridin-2(1H)-on (182mg, 1,2mmol) trong diclometan khan (30mL) vào hỗn hợp gồm axit 2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrolo[2,3-c]pyridin-3-carboxylic (280mg, 1,0mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Thêm nước (10mL) vào hỗn hợp phản ứng, chiết bằng diclometan (30mL $\times$ 2). Gom các lớp hữu cơ và cô đặc để thu được phần còn lại. Kết tinh lại phần còn lại từ MeCN để thu được hợp chất N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrolo[2,3-c]pyridin-3-carboxamit ở dạng chất rắn màu trắng nhạt (80mg, 21,6%). LRMS ($M+H^+$) m/z: tính toán 414,21; phát hiện 414. 1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ : 8,84 (s, 1H), 8,16 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,44-7,37 (m, 5H), 6,09 (s, 1H), 6,01-5,99 (m, 1H), 4,49 (s, 2H), 2,73 (s, 3H), 2,38 (s, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,06 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

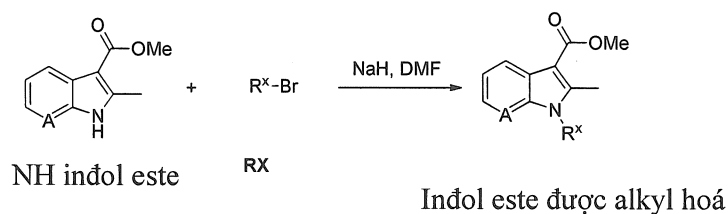
Hợp chất được thể hiện trong bảng sau đây được tạo ra theo quy trình chung được nêu trong ví dụ này bằng cách sử dụng các nguyên liệu ban đầu và các cải biến thích hợp. Các cấu trúc được thể hiện trên Fig.1.

Hợp chất	Tên	NMR	m/z
240	($\pm$)-N-((4,6-đimetyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-1-(1-metoxypentan-2-yl)-2-metyl-1H-pyrolo[2,3-c]pyridin-3-carboxamit	(400 MHz, CLOFORM- d) δ ppm 1,63 (br, s., 3 H) 2,21 (s, 3 H) 2,41 (s, 3 H) 2,73 (s, 3 H) 3,24 (s, 3 H) 3,72 (dd, J=9,81, 5,40 Hz, 1 H) 3,80 - 3,88 (m, 1 H) 4,60 (d, J=5,95 Hz, 2 H) 4,71 (dd, J=13,23, 7,06 Hz, 1 H) 5,92 (s, 1 H) 7,31 (d, J=5,73 Hz, 1 H) 7,38 (br, s., 1 H) 8,26 (d, J=5,29 Hz, 1 H) 9,09 (br, s., 1 H) 11,07 (br, s., 1 H)	383

243	(±)-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyriđin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-phenyletyl)-1H-pyrol[2,3-c]pyriđin-3-carboxamit	(400 MHz, CLOFORM-d) δ ppm 1,62 (br, s., 3 H) 2,26 (s, 3 H) 2,75 (s, 3 H) 3,25 (s, 3 H) 3,72 (dd, J=9,81, 5,40 Hz, 1 H) 3,80 - 3,87 (m, 1 H) 3,90 (s, 3 H) 4,65 (d, J=5,29 Hz, 2 H) 4,71 (dd, J=13,78, 6,95 Hz, 1 H) 5,93 (s, 1 H) 7,32 (br, s., 1 H) 7,50 (br, s., 1 H) 8,25 (br, s., 1 H) 9,11 (br, s., 1 H)	431
-----	--	--	-----

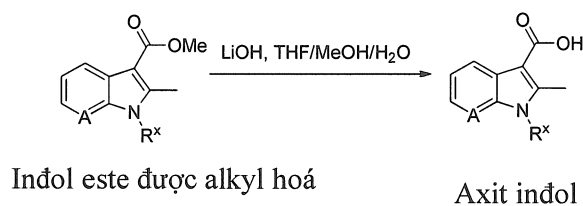
Ví dụ 15. Quy trình chung để tổng hợp các hợp chất khác của sáng chế

Quy trình chung A: Alkyl hoá indol



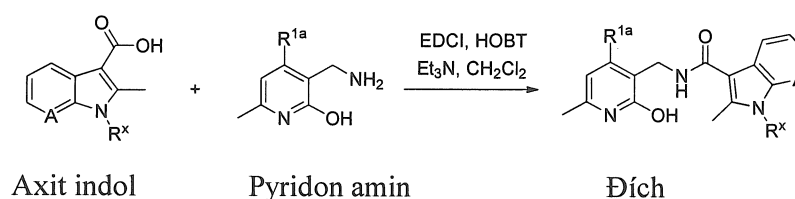
Thêm natri hydrua (60% trọng lượng, 1,1 đương lượng so với indol) vào dung dịch được làm mát (0°C) chứa NH indol este (1 đương lượng) trong N,N-dimetylformamit (thể tích để tạo ra nồng độ 0,4M). Khuấy hỗn hợp thu được trong 15 phút. Sau đó, thêm RX (2 đương lượng) vào và cho phép phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng. Duy trì phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong 12 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch amoni clorua bão hòa (100mL) kèm khuấy. Chiết hỗn hợp bằng etyl axetat (200mL x 2) và rửa pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô trên magie sulfat, lọc và cô đặc để thu được sản phẩm thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột (silicagel, ete dầu mỏ/etyl axetat = 20:1) để thu được sản phẩm este indol được alkyl hoá.

Quy trình chung B: Xà phòng hoá este indol được alkyl hoá



Thêm lithi hydroxit (4 đương lượng) vào dung dịch chứa este indol được alkyl hoá (1 đương lượng) trong tetrahydrofuran:metanol:nước (2,5:5:1, thể tích để tạo ra nồng độ 0,05M). Khuấy hỗn hợp phản ứng thu được ở 60°C trong 48 giờ. Cô đặc hỗn hợp trong chân không. Sau đó, pha loãng phần còn lại bằng nước (40mL) và axit hoá một cách từ từ bằng 1N hydro clorua đến pH = từ 4 đến 5. Chiết hỗn hợp bằng etyl axetat (100mL × 3). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô trên magie sulfat, lọc và cô đặc để thu được axit indolic thô, mà được sử dụng ở bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Quy trình chung C: Sự hình thành liên kết amit

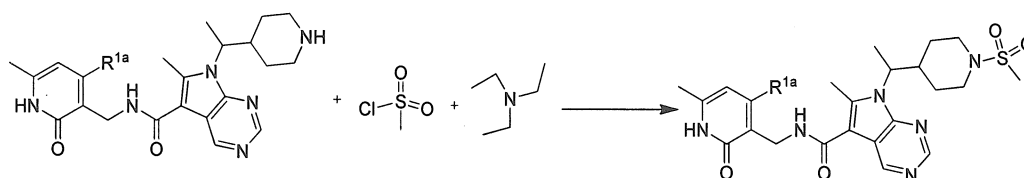


Thêm 1-hydroxybenzotriazol (1,5 đương lượng), 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydroclorua (1,5 đương lượng) và trietylamin (3 đương lượng) vào dung dịch chứa axit indolic (1 đương lượng) trong diclometan (thể tích để tạo thành nồng độ 0,05M). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau đó, thêm pyridon amin (1,2 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Thêm nước (50mL) vào hỗn hợp. Chiết hỗn hợp bằng diclometan (100 mL × 2). Cô đặc lớp hữu cơ trong chân không để thu được sản phẩm thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột (silicagel, diclometan/metanol = 20:1) để thu được hợp chất đích.

Quy trình chung D: Sắc ký không đối xứng

Việc tách các hợp chất không đối xứng được hoàn thành qua HPLC pha thông thường hoặc SFC (sắc ký lỏng cacbon dioxit siêu tới hạn). Các hợp chất riêng biệt thường >95% ee. Cấu hình tuyệt đối của các tâm không đối xứng không được xác định.

Quy trình chung L: Sulphonyl hoá



Amin không đối xứng

Thêm triethylamin (4 đương lượng) vào dung dịch chứa amin không đối xứng (1 đương lượng) trong điclorometan (thể tích để tạo thành nồng độ 0,1M) ở 18°C trong N₂. Làm mát phản ứng đến 0°C và thêm metansulfonyl clorua (1,5 đương lượng) vào. Khuấy phản ứng ở 0°C trong 1 giờ. Sau đó, cô đặc hỗn hợp trong chân không và thêm metanol và kali cacbonat vào và khuấy phản ứng trong 1 giờ nữa. Lọc hỗn hợp và tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC điều chế.

Bảng dưới đây liệt kê các hợp chất theo sáng chế và mã trong số các phương pháp chung trên đây được sử dụng trong việc tổng hợp chúng. Các cấu trúc của các hợp chất này được nêu trên Fig.1.

Hợp chất	Phương pháp chung được sử dụng và lưu ý	Tên	Dữ liệu NMR	m/z
370	Quy trình chung L đối với (±)-N-((4-metoxymethyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)methyl)-6-methyl-7-(1-(piperidin-4-yl)ethyl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidine-5-carboxamid		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400 MHz) δ 12,12 (s, 1H), 9,20 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 5,97 (s, 1H), 4,70-4,58 (m, 2H), 3,91 (s, 4H), 3,62 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 2,76-2,67 (m, 7H), 2,45 (dd, J ₁ = 2,0 Hz, J ₂ = 11,6 Hz, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,10 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,67 (d, J = 6,8 Hz, 4H), 1,48-1,40 (m, 1H), 1,37-1,29 (m, 1H), 1,27-1,19 (m, 1H), 0,9-0,78 (m, 1H).	517

Ví dụ 16. Các phép đo IC₅₀ đối với các chất ức chế bằng cách sử dụng EZH2.

Thử nghiệm EZH2: Các thử nghiệm được thực hiện bằng cách trộn rPRC2 cùng với chất nền oligonucleosom được biotinyl hoá với sự có mặt của đồng yếu tố enzym

được đánh dấu radio, S-adenosyl-L-methionin (^3H SAM) (Perkin Elmer) và kiểm tra việc truyền qua trung gian enzym của các nhóm methyl được triti hoá từ ^3H SAM thành các gốc histon lysin. Lượng sản phẩm methyl histon được triti hoá thu được thứ nhất bằng cách bắt giữ oligonucleosom được biotinyl hoá trong FlashPlates (Perkin Elmer) bao ngoài streptavidin (SAV), tiếp theo bước rửa để loại bỏ ^3H SAM không phản ứng và sau đó đếm trên bộ đếm nhấp nháy đĩa 384 giếng TopCount NXT (Perkin Elmer). Các điều kiện thử nghiệm cuối cùng đối với EZH2 là như sau: 50mM chất đệm Tris độ pH=8,5, 1mM DTT, 69 μM chất tẩy rửa Brij-35, 5,0mM MgCl_2 , 0,1mg/mL BSA, 0,2 μM ^3H SAM, 0,2 μM oligonucleosom được biotinyl hoá, 3,6 μM H3K27me3 peptit và 2nM EZH2.

Phép đo hợp chất IC_{50} thu được như sau: thứ nhất, các hợp chất được hoà tan trong 100% DMSO như 10mM dung dịch gốc. Đường cong đáp ứng mười điểm được sinh ra bằng cách phân tán các lượng khác nhau của 10mM dung dịch hợp chất trong 10 giếng của đĩa 384 giếng (Echo; Labcyte), sau đó DMSO tinh khiết được sử dụng để làm đầy lại giếng để đảm bảo tất cả các giếng có cùng lượng DMSO. 12,5 μL thể tích enzym HMT, H3K27me3 peptit và chất nền oligonucleosom trong chất đệm thử nghiệm được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa thử nghiệm bằng cách sử dụng Multidrop Combi (ThermoFisher). Ủ sơ bộ các hợp chất với enzym trong 20 phút, tiếp theo khơi mào phản ứng methyltransferaza bằng việc bổ sung 12,5 μL ^3H SAM trong chất đệm thử nghiệm (thể tích cuối cùng = 25 μL). Nồng độ cuối cùng của hợp chất nằm trong khoảng từ nồng độ mặc định đỉnh 80 μM xuống đến 0,16 μM trong các bước pha loãng gấp 2 lần. Thực hiện phản ứng trong 60 phút và làm ngừng bằng 20 μL /giếng 1,96mM SAH, 50mM Tris độ pH=8,5, 200mM EDTA. Phản ứng ngừng được chuyển vào Flashplates phủ SAV (Perkin Elmer), ủ trong 120 phút, rửa bằng thiết bị rửa đĩa và sau đó đọc trên TopCount NXT (1,0 phút/giếng) để đo lượng sản phẩm methyl histon trong quá trình phản ứng. Lượng sản phẩm methyl histon được so với lượng sản phẩm được tạo thành trong các giếng đối chứng ức chế 0% và 100% cho phép tính toán % ức chế với sự có mặt của các hợp chất đơn lẻ ở các nồng độ khác nhau. IC_{50} được tính toán bằng cách sử dụng gói phần mềm khớp đường cong không tuyến tính khớp 4 tham số (XLFIT, một phần gói dữ liệu, ActivityBase (IDBS)) trong đó bốn tham số là IC_{50} , dốc

đôi, đường cơ sở trước dịch mã (0% INH), và đường cơ sở sau dịch mã (100% INH); với hai tham biến sau lần lượt được cố định đến zero và 100%, bằng việc mặc định.

Thử nghiệm đối với Y641N EZH2 được thực hiện như trên đây bằng cách sử dụng H3K27Me2 oligonucleosom hoàn nguyên làm chất nền.

Bảng 2 thể hiện hoạt tính của các hợp chất được chọn của sáng chế trong thử nghiệm ức chế hoạt tính EZH2 và Y641N EZH2. Các trị số IC_{50} được báo cáo như sau: “A” cho biết trị số IC_{50} nhỏ hơn 100nM; “B” cho biết trị số IC_{50} từ 100nM đến 1 μ M; “C” cho biết trị số IC_{50} lớn hơn 1 μ M và nhỏ hơn 10 μ M đối với mỗi enzym; “D” cho biết trị số IC_{50} lớn hơn 10 μ M đối với mỗi enzym; và “*(X μ M)” cho biết không có sự ức chế nào được quan sát ở nồng độ lớn nhất (nghĩa là, X μ M) hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 2. Các trị số IC_{50} đối với các hợp chất có công thức I kháng enzym đột biến EZH2 và Y641N EZH2.

Hợp chất số	EZH2 IC_{50}	Y641N EZH2 IC_{50}
183	A	A
204	A	B
211	A	B
212	A	B
217	B	B
218	A	A
219	A	A
223	A	B
224	A	A
229	C	D
230	A	B
231	A	B
234	C	D
235	B	C
236	*(0,5 μ M)	*(10 μ M)
240	A	B
241	A	B
243	A	B
252	A	B
253	A	B
256	A	B
257	B	C

Hợp chất số	EZH2 IC_{50}	Y641N EZH2 IC_{50}
261	A	A
266	B	B
267	A	B
273	A	A
275	A	A
277	A	A
280	B	C
284	A	B
288	A	A
290	A	B
293	A	B
294	A	A
298	A	A
299	A	A
300	A	A
302	B	C
304	A	A
306	A	A
307	A	A
308	B	B
310	A	A
313	A	A

Hợp chất số	EZH2 IC ₅₀	Y641N EZH2 IC ₅₀
314	A	A
316	A	A
317	A	A
321	A	A
327	A	A
335	A	A
336	A	A
337	A	A
341	A	A
342	A	A
343	A	A
344	A	A
345	A	A
346	A	A
347	A	A
352	A	A
355	A	A
356	A	A
357	A	A

Hợp chất số	EZH2 IC ₅₀	Y641N EZH2 IC ₅₀
358	A	A
359	A	A
360	A	A
362	A	A
363	A	A
364	A	B
365	A	A
366	A	A
367	A	A
368	A	A
369	A	A
370	A	A
373	A	A
375	A	A
376	A	A
377	A	A

Ví dụ 17. Đo EC₅₀ đối với các chất ức chế trong các thử nghiệm tế bào HeLa.

Thử nghiệm H3K27me3 MSD Hela. Tế bào HeLa được trypsin hoá được đếm và được pha loãng trong 10% DMEM (Life Technologies, Cat. # 10569) đến 5000 tế bào/75µL. Đặt 75µL tế bào vào mỗi giếng của đĩa đáy phẳng 96 giếng và ủ ở 37°C trong 4 giờ. Thêm 20µL hợp chất thử nghiệm (ở các nồng độ khác nhau) vào tế bào và tiếp tục ủ ở 37°C trong 96 giờ. Sau đó, loại bỏ môi trường và rửa tế bào bằng PBS nước đá lạnh. Thêm 40µL chất đệm MSD nước đá lạnh AT (10mM HEPES, độ pH=7,9, 5mM MgCl₂, 0,25M sucroza, Benzonase (1:10000), 1% Triton X-100 được bổ sung với cốc tai chất ức chế 1x Proteaza mới tạo ra và 1mM 4-(2-Aminoethyl)benzensulfonyl florua hydroclorua (AEBSF)) vào mỗi giếng và đặt đĩa lên nước đá trong 30 phút. Sau đó, thêm 10µL 5M NaCl vào mỗi giếng và ủ trên nước đá tiếp trong 15 phút nữa. Tạo huyền phù vật liệu trong mỗi giếng bằng cách hút bằng pipet lên và xuống và sau đó chuyển vào đĩa 96 giếng mới. Rửa các giếng trống rỗng bằng 150uL 20mM Tris nước đá lạnh độ pH=7,5, 1mM EDTA, 1mM EGTA, được bổ sung với cốc tai chất ức chế 1x Proteaza mới tạo ra và 1mM AEBSF (“dung dịch đệm không có muối không có chất tẩy rửa”) và chuyển vào các giếng tương ứng trong đĩa

mới. Sau đó, thêm 300µL dung dịch đậm không có muối không có chất tẩy rửa vào mỗi giếng chứa chất tan và đĩa được làm đông lạnh ở -80°C.

Vào cùng ngày, số lượng thích hợp của đĩa 96 giếng gắn kết tiêu chuẩn MSD được phủ bằng 30µL/giếng của kháng thể bắt giữ H3 tổng số (Millipore, Cat # MAB3422) ở nồng độ 1µg/mL trong PBS. Phân bố đều dung dịch kháng thể thứ nhất bằng cách vỗ nhẹ vào mặt bên của đĩa và sau đó lắc đĩa trong vài phút ở tốc độ 1000 vòng/phút. Lưu trữ các đĩa phủ kháng thể ở 4°C qua đêm.

Ngày tiếp theo, dịch thấm tách được làm tan giá đến nhiệt độ trong phòng. Rửa các đĩa MSD phủ kháng thể 3 lần bằng TBS-T (nước muối đậm Tris (Fisher Scientific, Cat #BP2471-1) + 0,2% Tween-20). Thêm 150µL chất phong bế A 5% trong TBS-T vào mỗi giếng. Đậy các giếng và lắc trên thiết bị lắc ở nhiệt độ trong phòng trong một giờ. Lặp lại bước chất phong bế A lần thứ hai. Sau khi loại bỏ chất phong bế, chuyển 25µL dịch thấm tách tế bào vào mỗi giếng đã được phủ kháng thể. Lắc các đĩa trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, loại bỏ chất tan và rửa đĩa một lần nữa bằng chất phong bế A trong TBS-T. Thêm 25µL hỗn hợp kháng thể mới được tạo ra thích hợp (bao gồm các kháng thể sơ cấp và thứ cấp) vào mỗi giếng và lắc đĩa trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp kháng thể được sử dụng là một (hoặc cả hai) hỗn hợp được nêu trong bảng dưới đây:

Ab	Nồng độ (µg/mL)	Ab sơ cấp (µL)	Ab phát hiện kháng thể (µL)	1% chất phong bế A (µL)
H3K27me3	33	37,88	5,00	5000
H3	12	52,08	5,00	5000

Cả hai kháng thể H3 thu được từ việc tạo tín hiệu tế bào (Cat # 4499 và 9733). Kháng thể dê kháng thể thu được từ Meso-Scale Discovery (Cat #R32AB-1).

Sau đó, loại bỏ hỗn hợp kháng thể và rửa các giếng bằng chất phong bế A. Sau đó, thêm 150µL chất đậm đặc 1X MSD mới được tạo ra (Meso-Scale Discovery; Cat #R927C-2) vào mỗi giếng và đọc đĩa trên thiết bị đọc đĩa MSD Sector 2400.

Phân tích dữ liệu bằng cách sử dụng mẫu bộ hỗ trợ thử nghiệm (Constellation Pharmaceuticals In-house product) và nguồn hoạt tính (IDBS Ltd, Surrey, UK). Hồ sơ dữ liệu được nhập vào mẫu hỗ trợ thử nghiệm và các điều kiện thử nghiệm được xác định rõ. ID phân tích đơn nhất được tạo ra và hồ sơ dữ liệu được xuất vào nguồn hoạt tính. Mẫu phân tích được tạo ra trên nguồn hoạt tính để đo sự ức chế phụ thuộc liều lần lượt của điểm số H3K27me3 và khả năng sống của tế bào. Dữ liệu được phục hồi của các giếng DMSO được sử dụng để bình thường hoá các dữ liệu. Đường cong thu được được khớp bằng cách sử dụng mô hình phần mềm nguồn hoạt tính 205 (IDBS Ltd, Surrey, UK). Dữ liệu được kiểm tra đối với chất lượng, có hiệu lực và được tích hợp ở dạng excel bằng cách sử dụng SARview (IDBS Ltd, Surrey, UK).

Thử nghiệm H3K27me3 Alpha Hela (AlphaLISA). 10 liều khác nhau của mỗi hợp chất thử nghiệm (trong dãy pha loãng gấp 3 lần) được phủ trong các đĩa được xử lý môi trường nuôi cấy mô 384 giếng hai lần (Catalog # 781080; Greiner Bio One; Monroe, North Carolina). Trypsin hoá tế bào Hela được sinh trưởng trong và đếm bằng cách sử dụng bộ đếm tế bào Countess® (Catalog # C10281; Life Technologies, Grand Island, NY). Pha loãng tế bào đến 67.000 tế bào/mL trong 10% DMEM (Catalog # 10569-010 Life Technologies, Grand Island, NY) và 15µL (1.000 tế bào) được phủ vào trong mỗi giếng bằng cách sử dụng bộ phân tán lựa chọn Biotek MicroFlo™ (BioTek Instruments, Inc. Vermont, USA,) của đĩa 384 giếng. Ủ đĩa ở 37°C /5% CO₂ trong 72 giờ. Một trong số các đĩa bản sao được xử lý đối với thử nghiệm HeLa và đĩa còn lại đối với khả năng sống.

Thêm chất đệm tan tế bào Histon (1X) (Catalog # AL009F1 Perkin Elmer; Waltham, MA) với lượng 5µL/giếng vào đĩa được xử lý đối với AlphaLISA và ủ đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút trên thiết bị lắc đĩa với tốc độ chậm (Model#4625-Q Thermo Scientific; Waltham, MA). Sau đó, thêm 10µL/giếng chất đệm chiết Histon (catalog # AL009F2; Perkin Elmer; Waltham, MA) vào và ủ tiếp đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút trên thiết bị lắc đĩa với tốc độ chậm. Sau đó, thêm 10µL/giếng 5X hỗn hợp chứa hạt thụ thể kháng K27me3 cộng với kháng thể H3 kháng Histon được biotinyl hoá (C-ter) (được pha loãng đến nồng độ cuối cùng 3nM) (Catalog #AL118 Perkin Elmer; Waltham, MA) vào mỗi giếng. Việc pha loãng hạt thụ thể và

sau đó H3 kháng Histon vwois chất đệm phát hiện 1X Histon (Catalog # AL009F3 Perkin Elmer; Waltham, MA) mà được tạo ra được pha loãng từ dung dịch gốc 10X được đề xuất. Đậy kín đĩa bằng thiết bị đậy kín đĩa nhôm và ủ ở 23°C trong 60 phút. Sau đó, thêm 10µL 5X dung dịch chứa hạt cho Streptavidin (Catalog #6760002 Perkin Elmer; Waltham, MA) (20µg/mL cuối cùng trong chất đệm phát hiện 1X Histon), đậy kín đĩa bằng thiết bị đậy kín đĩa nhôm và ủ ở 23°C trong 30 phút. Sau đó, đọc đĩa bằng cách sử dụng bộ đọc EnVision-Alpha (kiểu số 2104 Perkin Elmer; Waltham, MA).

Đánh giá khả năng sống của tế bào bằng cách bổ sung 15µL Glo độ chuẩn tế bào ((Catalog #G7571 Promega Madison, WI) vào mỗi giếng với tế bào với môi trường. Ủ đĩa ở nhiệt độ trong phòng trong phòng trong từ 15 đến 20 phút trên thiết bị lắc đĩa ở tốc độ chậm. Sau đó, đọc đĩa bằng cách sử dụng bộ đọc EnVision-Alpha (kiểu số 2104 Perkin Elmer; Waltham, MA).

Phân tích dữ liệu từ cả hai thử nghiệm bằng cách sử dụng bộ hỗ trợ thử nghiệm (Constellation Pharmaceuticals In-house product) và mẫu nguồn hoạt tính (IDBS Ltd, Surrey, UK). Hồ sơ dữ liệu được nhập vào bộ hỗ trợ thử nghiệm và các điều kiện thử nghiệm được xác định rõ. ID phân tích đơn nhất được tạo ra và hồ sơ dữ liệu được xuất vào nguồn hoạt tính. Mẫu phân tích được tạo ra trên nguồn hoạt tính để đo sự ức chế phụ thuộc liều lần lượt của điểm số H3K27me3 và khả năng sống của tế bào. Dữ liệu được phục hồi của giếng DMSO được sử dụng để bình thường hoá dữ liệu. Khớp đường cong thu được bằng cách sử dụng phần mềm nguồn hoạt tính kiểu 205 (IDBS Ltd, Surrey, UK). Kiểm tra dữ liệu đối với chất lượng, xác định tính hợp lệ và được tích hợp ở dạng excel bằng cách sử dụng SARview (IDBS Ltd, Surrey, UK).

Bảng 3 thể hiện hoạt tính của các hợp chất được chọn của sáng chế trong hai thử nghiệm tế bào HeLa khác nhau được mô tả trên đây. Các trị số EC₅₀ được báo cáo như sau: “A” cho biết trị số EC₅₀ nhỏ hơn 400nM; “B” cho biết trị số EC₅₀ bằng từ 400nM đến 2µM; “C” cho biết trị số EC₅₀ lớn hơn 2µM và nhỏ hơn 10µM đối với mỗi enzym; “D” cho biết trị số EC₅₀ lớn hơn 10µM đối với mỗi enzym; và “*(X µM)” cho biết rằng không có sự ức chế nào được quan sát ở nồng độ cao nhất (nghĩa là, X µM) của hợp chất được thử nghiệm.

Bảng 3. Trị số Ec50 đối với các hợp chất được chọn của sáng chế trong tế bào Hela biểu hiện H3k27 thể đột biến EZH2.

Hợp chất số	H3K27me3_Alpha_HeLa (EC50)	H3K27me3_MSD_HeLa_(EC50)
204		B
211		B
212		B
218		A
219		B
224	A	A
230		B
240		C
241		B
243		C
253	A	
256		B
261	A	A
273		A
284		B
288	A	B
294	A	A
298	A	A
300	A	A
304	A	A
310	A	A
313	A	A
314	A	
315		D
316		B
317		A
321		A
327		A
335	A	
336	A	

Hợp chất số	H3K27me3_Alpha_HeLa (EC50)	H3K27me3_MSD_HeLa_(EC50)
337	A	
341	A	
342	A	
343	B	
344	A	
345	A	
346	A	
347	B	
352	B	
355	A	
356	A	
357	A	
358	B	
359	B	
360	C	
362	A	
363	A	
364	*(3,33μM)	
365	A	
366	B	
367	A	
368	A	
369	A	
370	*(3,33μM)	
373	A	
374	A	
375	A	
376	NaN	
377	B	

Ví dụ 18. Phân tích sự ức chế sinh trưởng của khối u

Hiệu quả kháng khối u của hợp chất 362 và 365 trong mô hình ghép khác loài ung thư mô bạch huyết dưới da của người Karpas422 ở chuột giống cái CB-17 SCID là như sau.

Động vật

Loài: Mus Musculus

Chủng: chuột CB-17 SCID

Tuổi: từ 6 đến 8 tuần

Giới tính: giống cái

Thể trọng: từ 18 đến 22g

Số lượng động vật: 50 chuột cộng với số lượng dự trữ

Nhà cung cấp động vật: Shanghai SLAC Laboratory Animal Co., LTD.

Nuôi cấy tế bào

Tế bào khối u Karpas422 được duy trì in vitro như môi trường nuôi cấy huyền phù trong môi trường RPMI1640 được bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò bất hoạt do nhiệt ở 37°C trong khí chứa 5% CO₂ trong không khí. Nuôi cấy phụ theo cách thông thường tế bào khối u hai lần mỗi tuần. Tế bào sinh trưởng trong pha sinh trưởng số mũ được thu hoạch và đếm để chủng ngừa khối u.

Chủng ngừa khối u

Mỗi con chuột được chủng ngừa dưới da ở hông phía bên phải với tế bào khối u Karpas422 (5×10^6) trong 0,2ml PBS với Matrigel (1:1) đối với sự phát triển khối u. Ngày 23 sau chủng ngừa khối u là như ngày 0 sau khi bắt đầu điều trị khi kích cỡ khối u trung bình đạt đến khoảng 300mm³. Mỗi nhóm gồm có 10 chuột mang khối u.

Đo khối u

Đo kích cỡ khối u ba lần hàng tuần theo hai kích thước bằng cách sử dụng compa và thể tích được biểu diễn theo mm³ bằng cách sử dụng công thức: $V = 0,536a \times b^2$ trong đó a và b lần lượt là đường kính dài và ngắn của khối u. Sau đó, kích cỡ khối u được sử dụng để tính toán trị số T/C. Trị số T/C (theo tỷ lệ phần trăm) là sự biểu thị hiệu quả kháng khối u; T và C lần lượt là trị số trung bình của các nhóm được điều trị và đối chứng, vào ngày đã nêu.

TGI được tính toán đối với mỗi nhóm bằng cách sử dụng công thức: $TGI (\%) = [1 - (T_i - T_0) / (V_i - V_0)] \times 100$; T_i là thể tích khối u trung bình của nhóm điều trị vào ngày đã nêu, T₀ là thể tích khối u trung bình của nhóm điều trị vào ngày bắt đầu điều trị, V_i

là thể tích khối u trung bình của nhóm đối chứng tá được dạng lỏng vào cùng ngày với Ti, và V0 là thể tích khối u trung bình của nhóm tá được dạng lỏng vào ngày bắt đầu điều trị.

Điểm cuối thử nghiệm và gom mẫu

1). Huyết tương, khối u và cơ trong nhóm EPZ-6438 được gom vào ngày 16 sau khi bắt đầu điều trị ở 6 giờ sau khi dùng liều. Huyết tương, khối u và cơ trong tá được dạng lỏng, các nhóm CPI-524369, CPI-524416 và CPI-591780 được gom vào ngày 25 sau khi bắt đầu điều trị ở 1 giờ sau khi dùng liều. 2). Tất cả máu được lấy từ mỗi động vật với EDTA-K2 làm chất chống đông tụ. Huyết tương được chia thành hai phần. Phần thứ nhất là để phân tích PK; phần thứ hai được làm đông lạnh để dự trữ. 3). Khối u được chia thành ba phần. Phần thứ nhất được làm đông lạnh đột ngột dùng cho PK; phần thứ hai được làm đông lạnh đột ngột cho phân tích PD; phần thứ ba được làm đông lạnh để dự trữ. 4). Cơ được chia thành hai phần. Phần thứ nhất được làm đông lạnh đột ngột dùng cho PK; phần thứ hai được làm đông lạnh để dự trữ.

Phân tích sự ức chế sinh trưởng khối u

Bảng 4. Tính toán sự ức chế sinh trưởng khối u đối với các hợp chất 362 và 365 trong mô hình ghép khác loài karpas422 được tính toán dựa trên các phép đo thể tích khối u vào ngày 25 hoặc ngày 16 sau khi bắt đầu điều trị

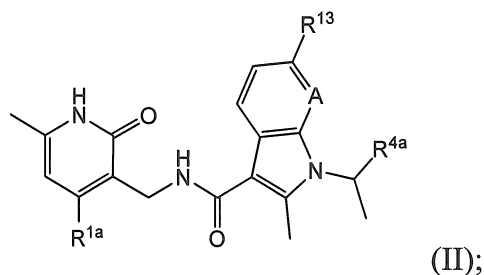
Điều trị	Kích cỡ khối u (mm ³) ^a vào ngày 25	T/C ^b (%)	TGI (%)	Ý nghĩa ^d
Tá được dạng lỏng	1704±123	--	--	--
Hợp chất 362 (160mg/kg)	385±66	22,59	92,75	***
Hợp chất 365 (160mg/kg)	319±67	18,72	97,25	***

Lưu ý: a. Trung bình ± SEM. b. Sự ức chế sinh trưởng khối u được tính toán bằng cách chia thể tích khối u trung bình nhóm đối với nhóm điều trị theo thể tích khối u trung

binh nhóm đối với nhóm đối chứng (T/C). Đối với vật phẩm thử nghiệm được coi là có hoạt tính kháng khối u, T/C phải bằng 0,5 hoặc nhỏ hơn. d. Khác biệt có nghĩa về mặt thống kê (thử nghiệm ANOVA một chiều), so với tá dược dạng lỏng: *** $p < 0,001$.

Các phương án được ưu tiên khác của sáng chế được mô tả dưới đây:

1. Hợp chất có công thức cấu tạo (II):



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

A là CH hoặc N;

R^{1a} được chọn từ $-C_1-C_2$ alkyl và $-O-(C_1-C_2$ alkyl), trong đó R^{1a} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo;

R^{4a} được chọn từ 1-halo(C_1-C_3)alkyl-piperidin-4-yl, C_3-C_6 xycloalkyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo, và tetrahydropyranyl; và

R^{13} được chọn từ hydro, halo, phenyl, pyridinyl, và $-O-(C_1-C_4$ alkyl).

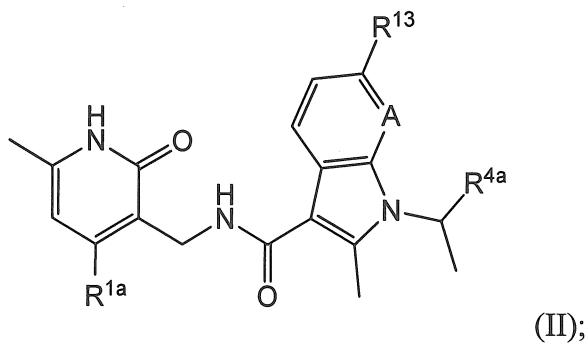
2. Hợp chất theo phương án 1, trong đó R^{1a} được chọn từ $-OCH_3$, $-CH_3$, $-OCHF_2$, và $-CH_2CH_3$.

3. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số phương án 1 hoặc 2, trong đó R^{4a} được chọn từ 4,4-đifloxyclohexyl, xyclopropyl, tetrahydropyran-4-yl, 1-(t-butoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isobutoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropoxycarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(2-floetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2-đifloetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2,2-trifloetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2-hydroxyisobutyl)-piperidin-4-yl, 1-(hydroxyisopropylcarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-(etoxycarbonylmethyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropylcarbonyl)-piperidin-4-yl, 1-methylpiperidin-4-yl, 1-(metylsulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(etylulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(isopropylsulfonyl)-piperidin-4-yl, 1-(phenyl)-piperidin-4-yl, 1-(oxetan-3-yl)piperidin-4-yl, 1-(pyridin-2-yl)-piperidin-4-yl, và 1-(pyrimidin-2-yl)-piperidin-4-yl.

4. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 3, trong đó R¹³ được chọn từ hydro, clo, flo, -OCH(CH₃)₂, phenyl, và pyridin-2-yl.
5. Hợp chất theo phương án 1, trong đó hợp chất là N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
6. Hợp chất theo phương án 5, trong đó hợp chất là R-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
7. Hợp chất theo phương án 1, trong đó hợp chất là 1-(1-(1-(2,2-difloetyl))piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
8. Hợp chất theo phương án 7, trong đó hợp chất là R-1-(1-(1-(2,2-difloetyl))piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
9. Hợp chất theo phương án 1, trong đó hợp chất là 1-(1-(1-etyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
10. Hợp chất theo phương án 9, trong đó hợp chất là R-1-(1-(1-etyl)piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxo-6-metyl-2-oxo-1,2-dihiđropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
11. Dược phẩm chứa hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 10, hoặc muối được dụng của nó; và chất mang được dụng.
12. Hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 10, hoặc muối được dụng của nó, để điều trị bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến sự tăng sinh tế bào.
13. Hợp chất để sử dụng theo phương án 12, trong đó bệnh là bệnh ung thư.
14. Hợp chất để sử dụng theo phương án 13, trong đó bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư nguyên bào đệm đa dạng, bệnh ung thư bàng quang, u hắc sắc tố, bệnh ung thư phế quản, bệnh ung thư mô bạch huyết, và bệnh ung thư gan.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (II):



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

A là CH hoặc N;

R^{1a} được chọn từ $-C_1-C_2$ alkyl và $-O-(C_1-C_2$ alkyl), trong đó R^{1a} tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo;

R^{4a} được chọn từ 1-halo(C_1-C_3)alkyl-piperidin-4-yl, C_3-C_6 xycloalkyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều flo, và tetrahydropyranyl; và

R^{13} được chọn từ hydro, halo, phenyl, pyridinyl, và $-O-(C_1-C_4$ alkyl).

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^{1a} được chọn từ $-OCH_3$, $-CH_3$, $-OCHF_2$, và $-CH_2CH_3$.

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^{4a} được chọn từ 4,4-đifloxyclohexyl, xyclopropyl, tetrahydropyran-4-yl, 1-(2-floetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2-đifloetyl)-piperidin-4-yl, 1-(2,2,2-trifloetyl)-piperidin-4-yl.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^{13} được chọn từ hydro, clo, flo, $-OCH(CH_3)_2$, phenyl, và pyridin-2-yl.

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó hợp chất này là R-N-((4-metoxi-6-metyl-2-oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1-(1-(1-(2,2,2-trifloetyl)piperidin-4-yl)etyl)-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-(1-(1-(2,2-đifloetyl))piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxý-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó hợp chất này là R-1-(1-(1-(2,2-đifloetyl))piperidin-4-yl)etyl)-N-((4-metoxý-6-metyl-2-oxo-1,2-đihydropyridin-3-yl)metyl)-2-metyl-1H-indol-3-carboxamit, hoặc muối được dụng của nó.
9. Dược phẩm bao gồm hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 hoặc muối được dụng của nó và chất mang được dụng.

FIG. 1

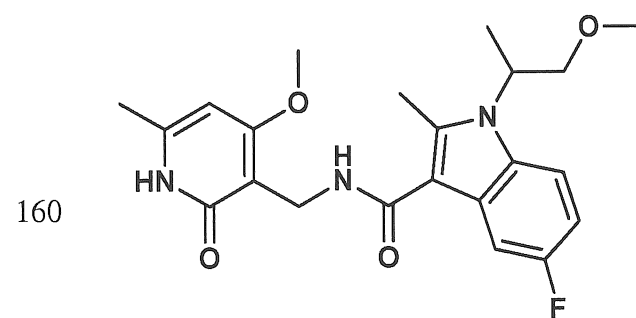
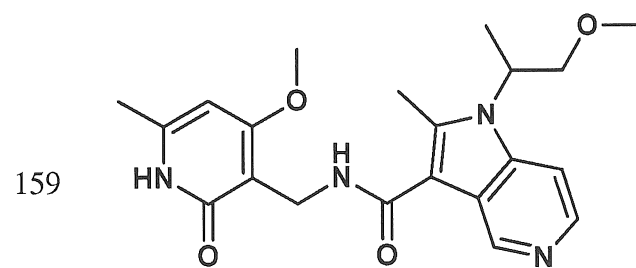
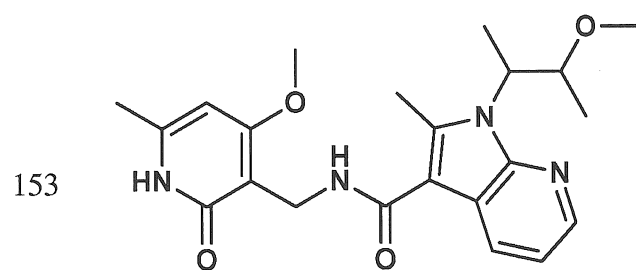
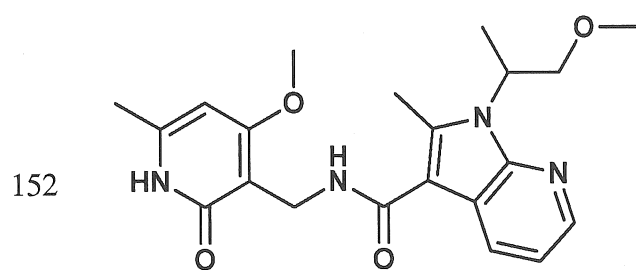


FIG. 1

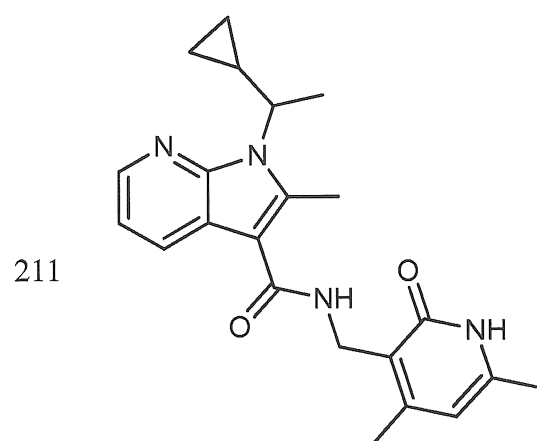
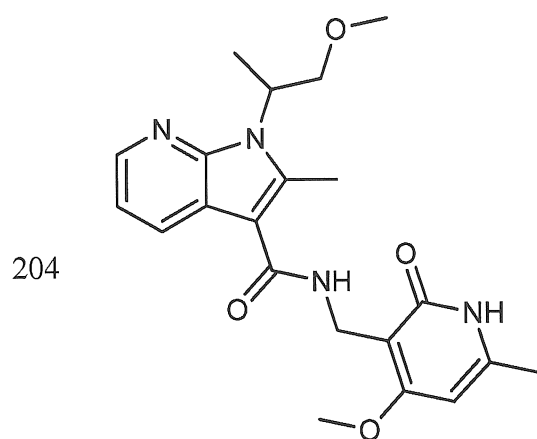
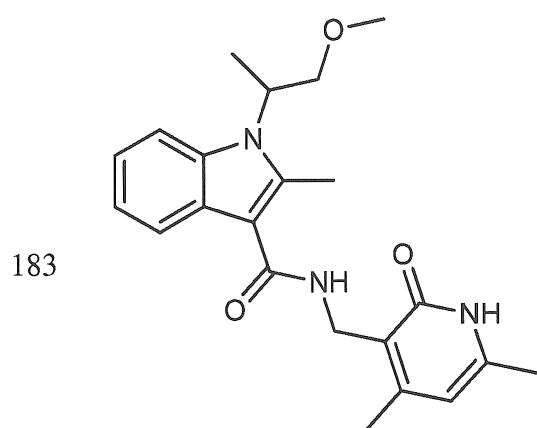


FIG. 1

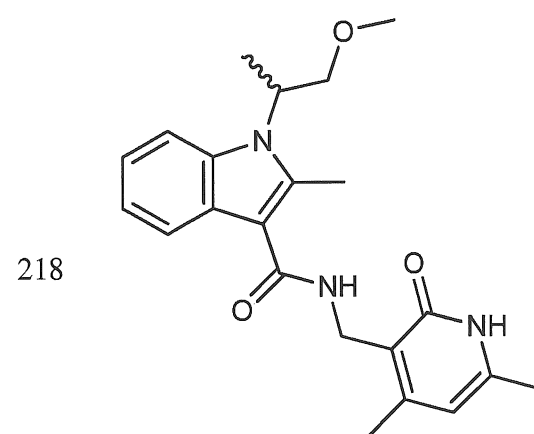
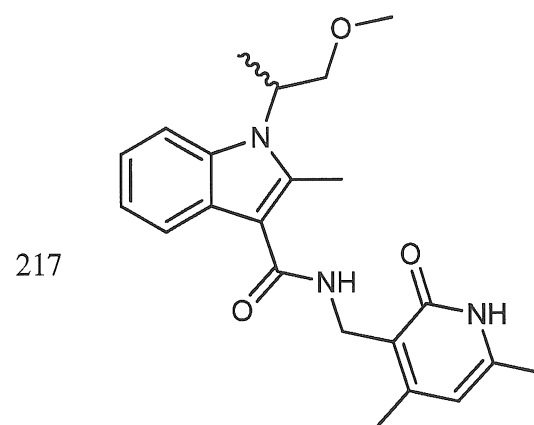
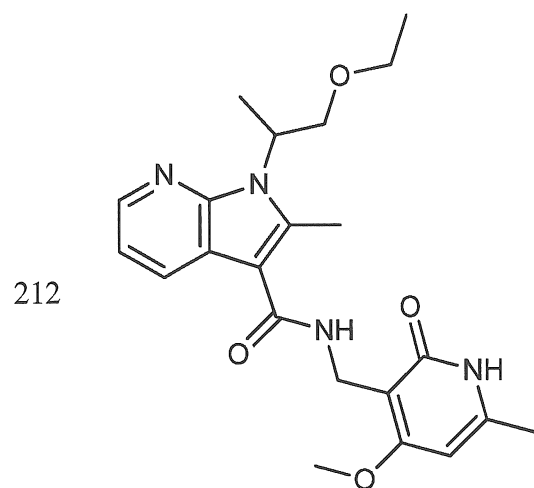


FIG. 1

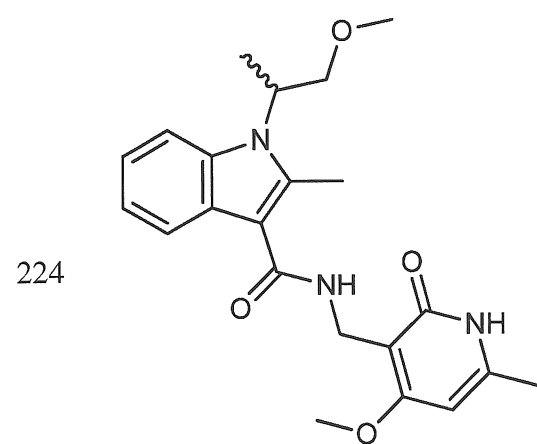
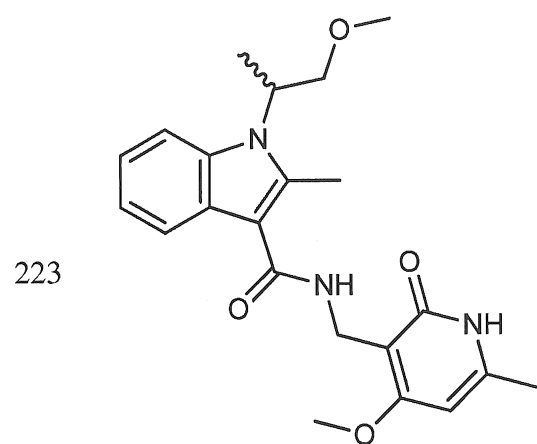
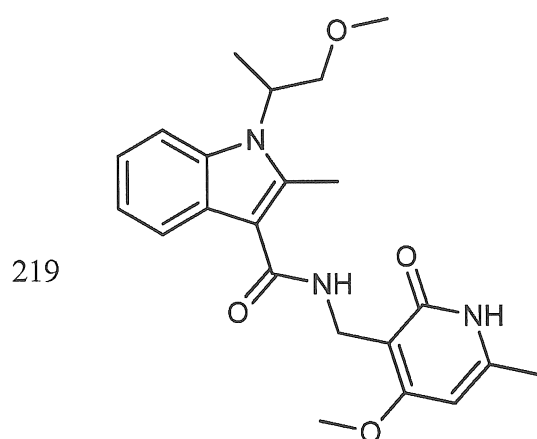


FIG. 1

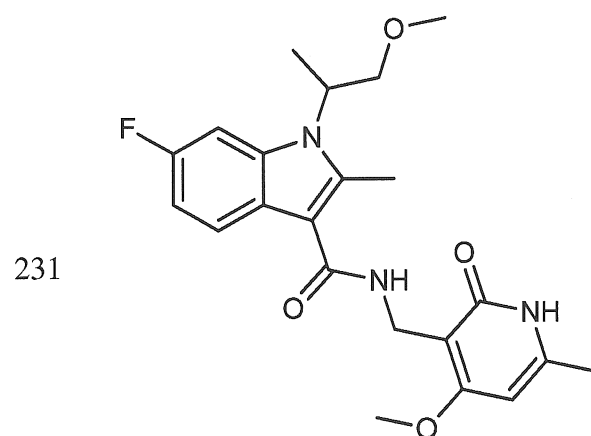
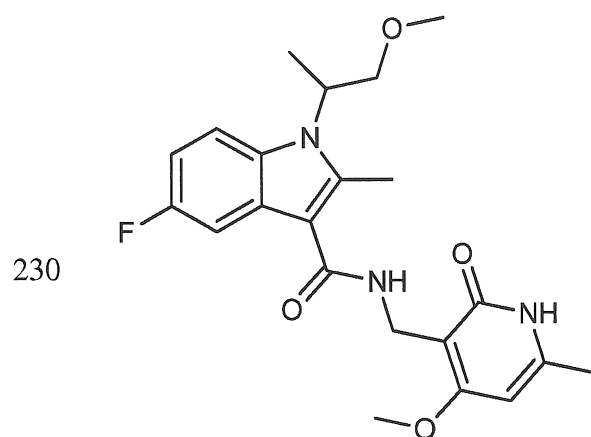
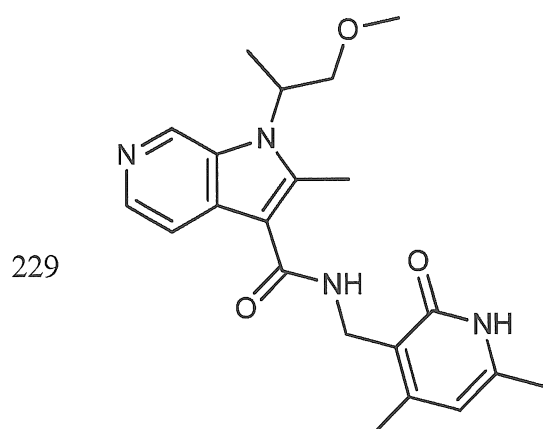


FIG. 1

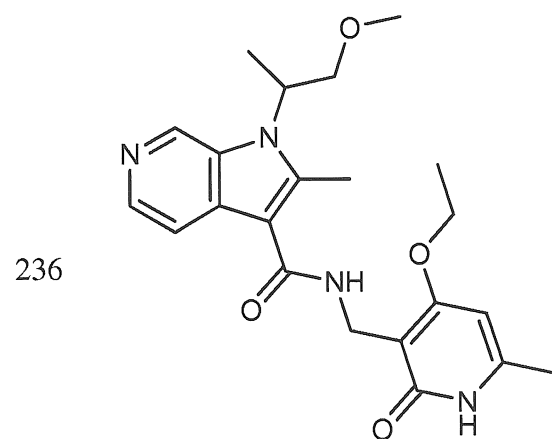
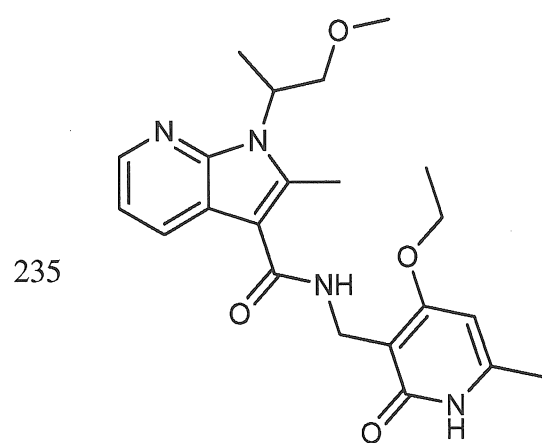
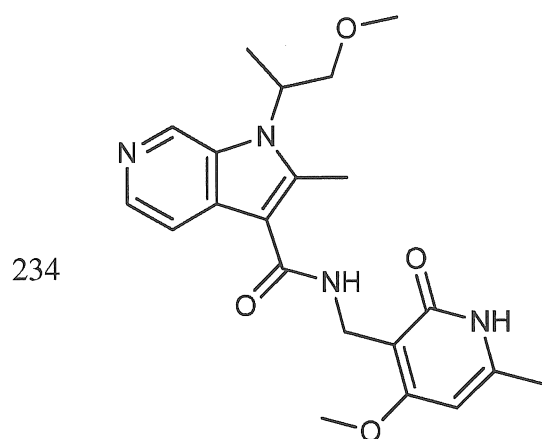


FIG. 1

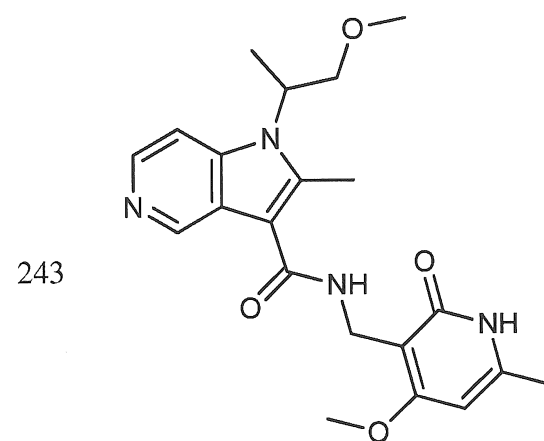
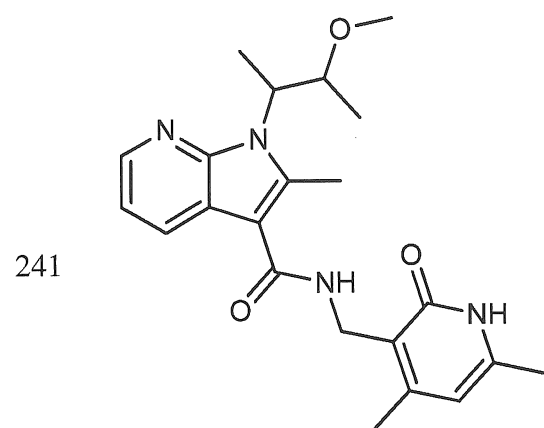
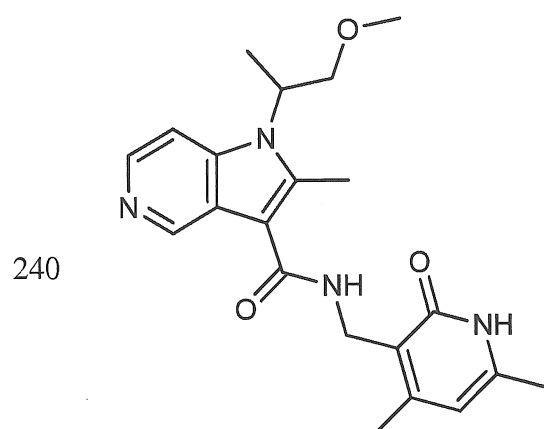


FIG. 1

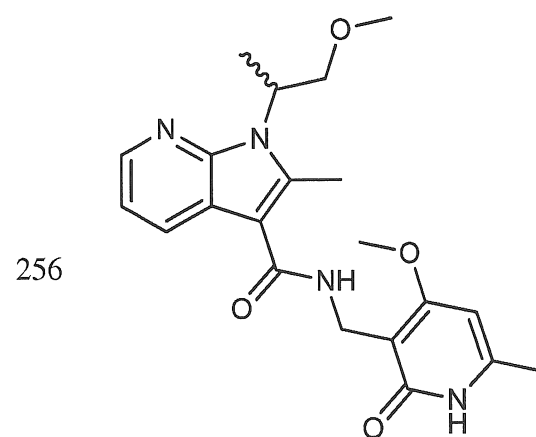
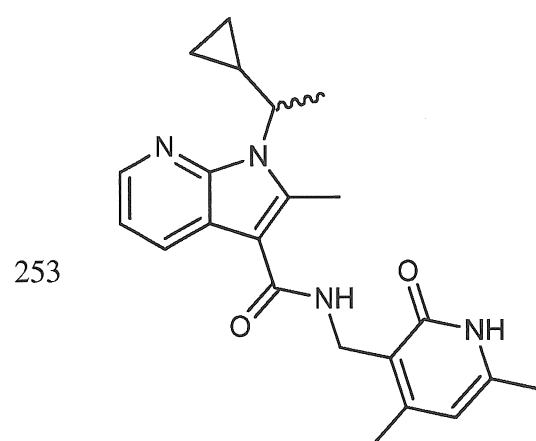
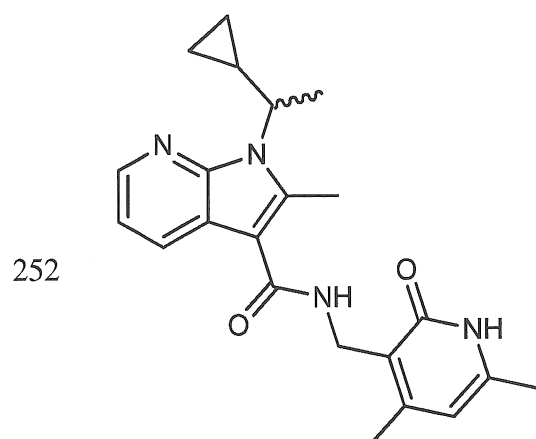


FIG. 1

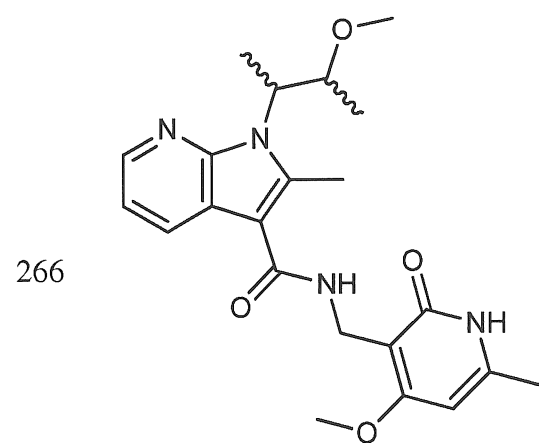
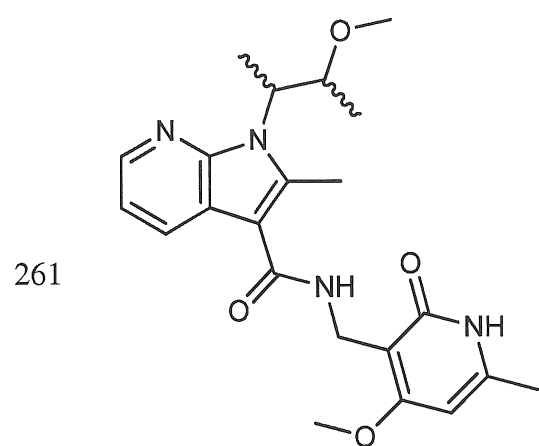
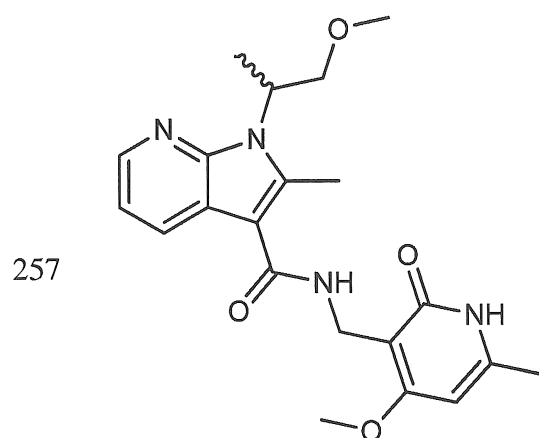


FIG. 1

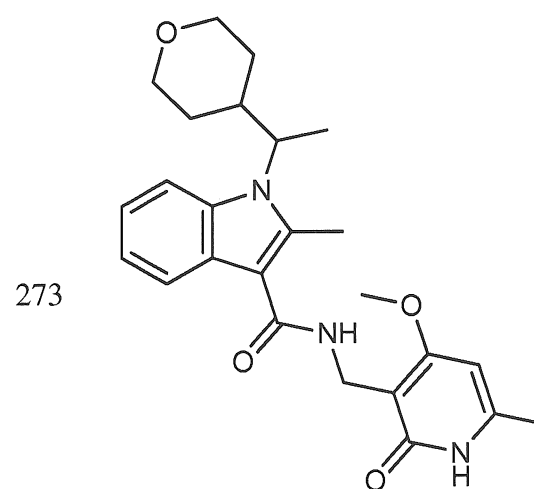
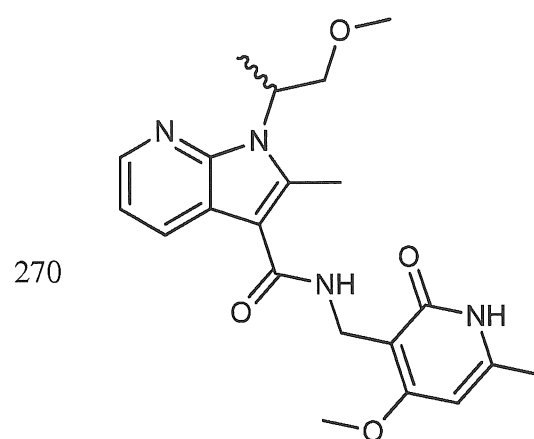
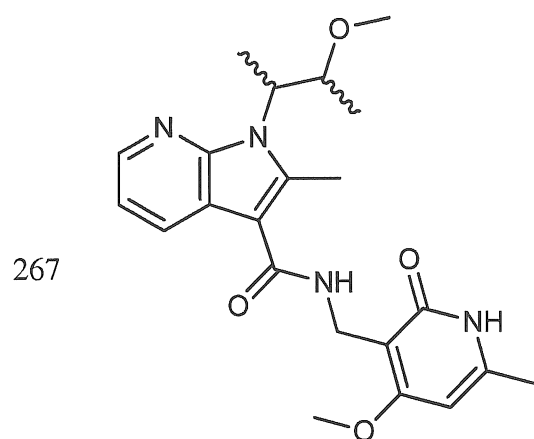


FIG. 1

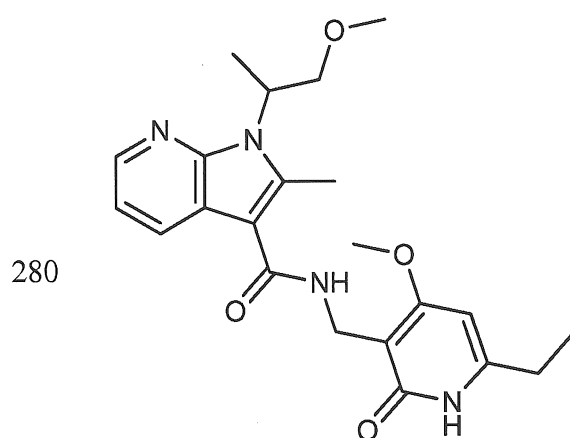
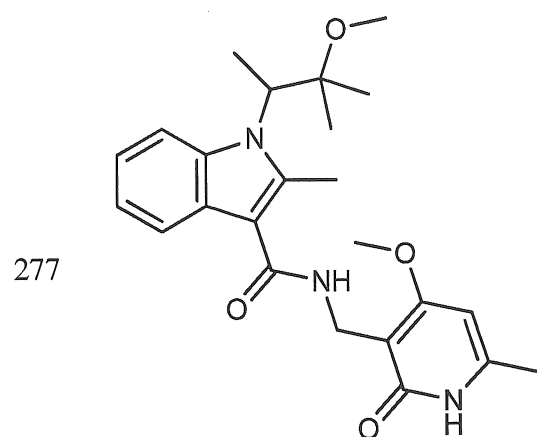
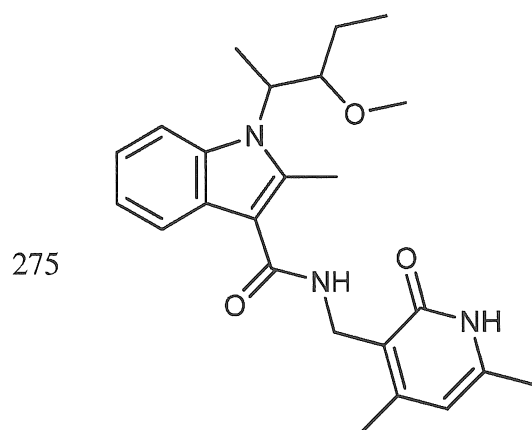


FIG. 1

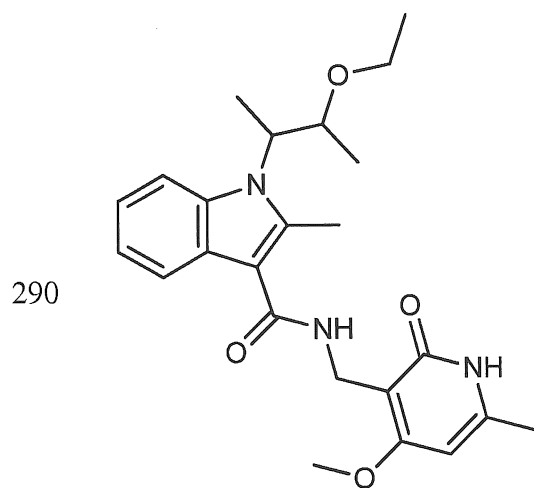
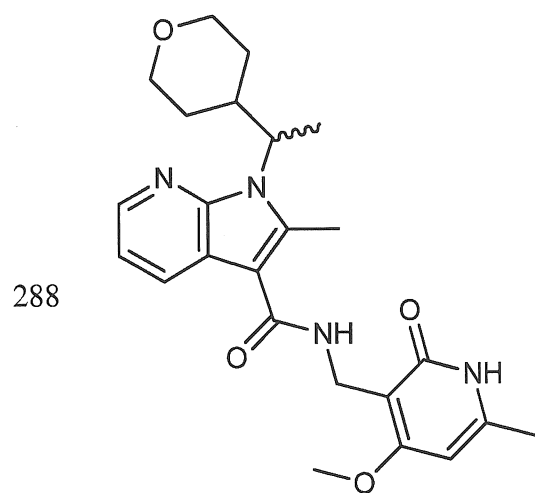
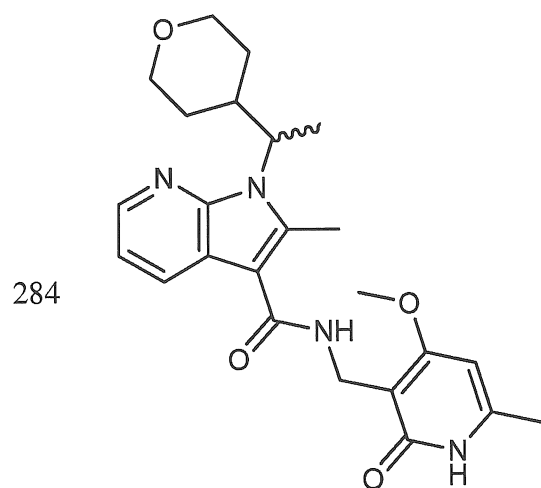


FIG. 1

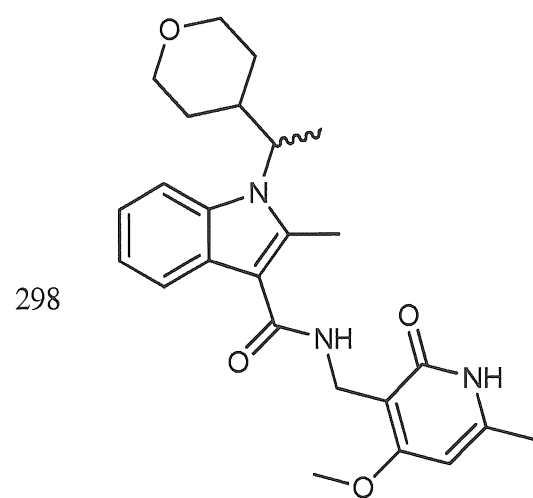
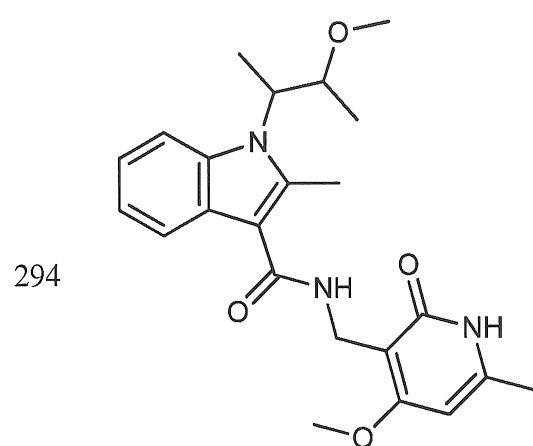
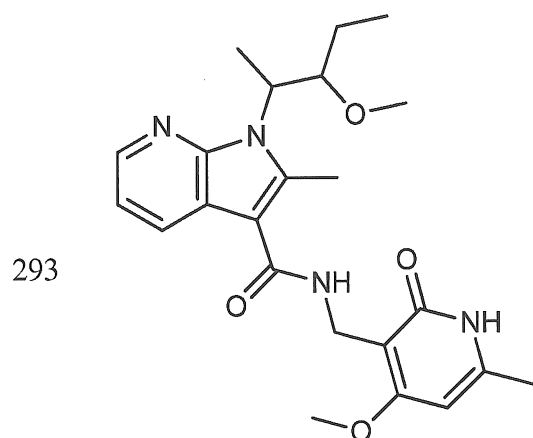


FIG. 1

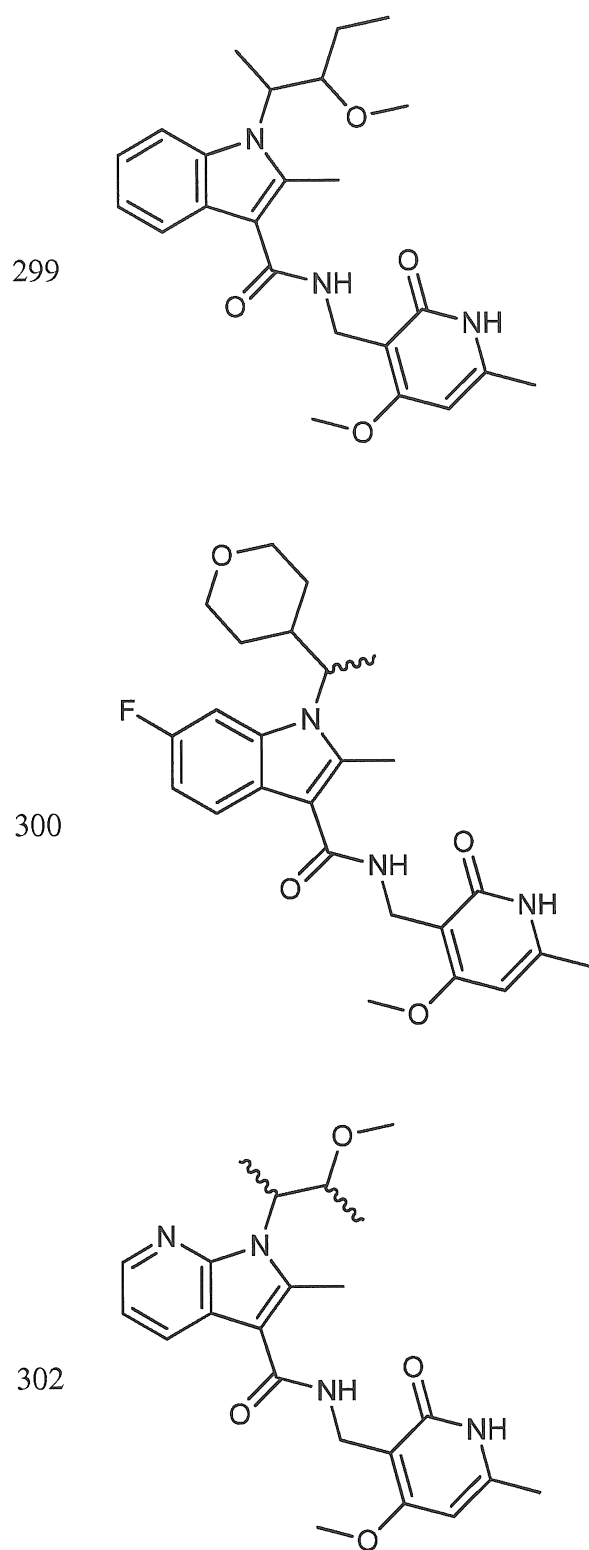


FIG. 1

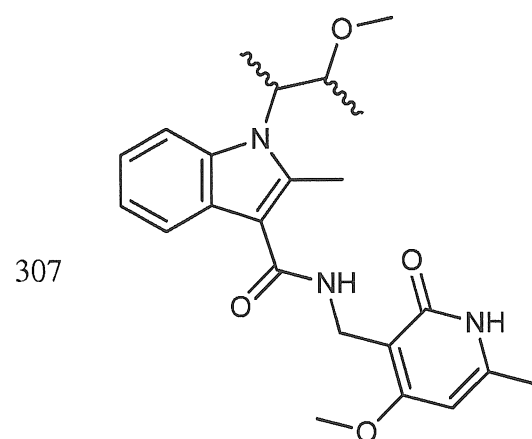
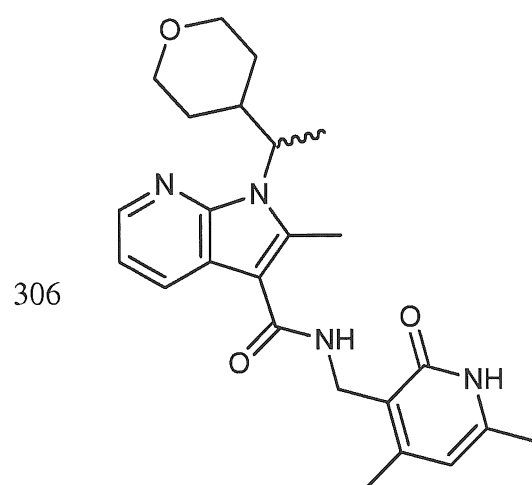
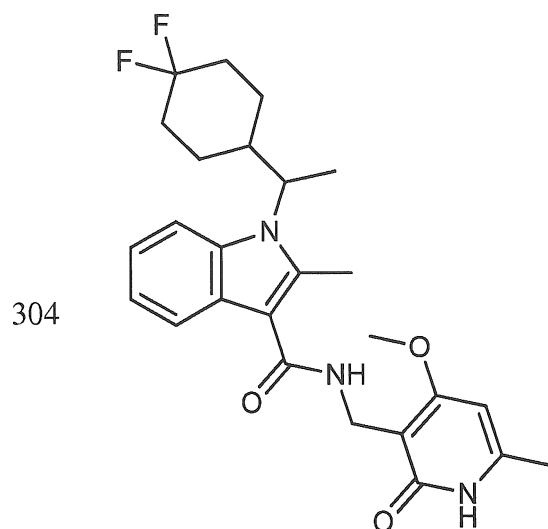


FIG. 1

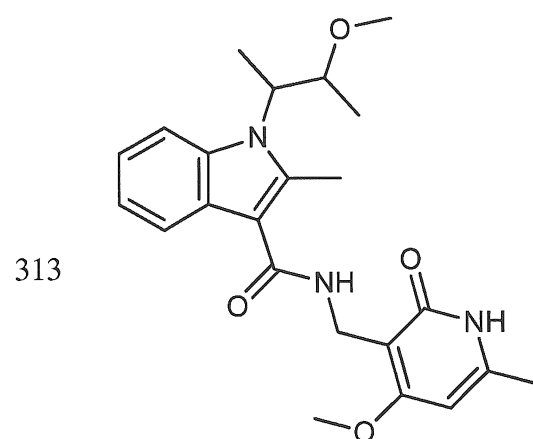
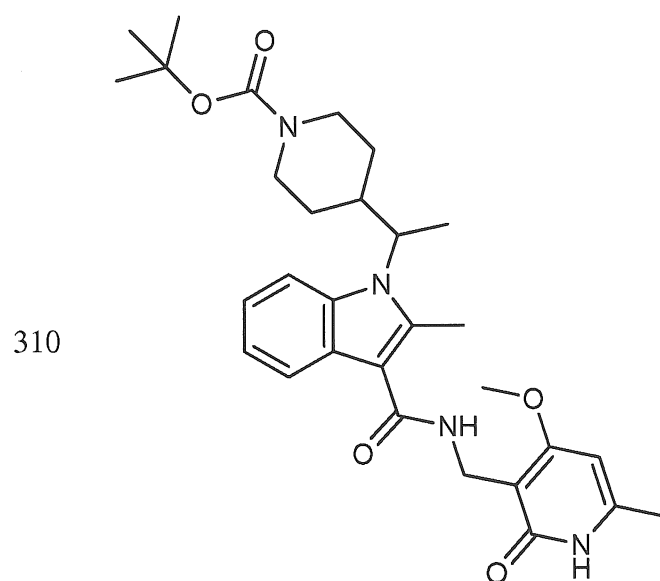
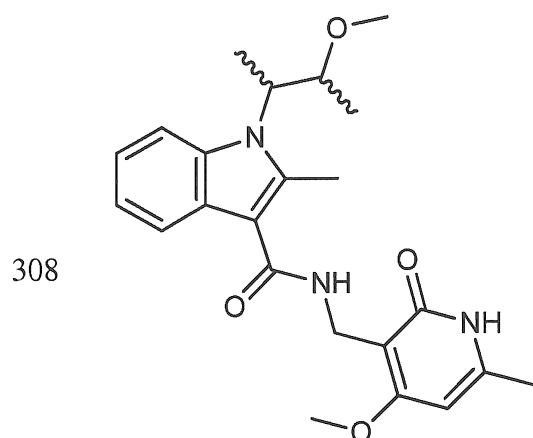


FIG. 1

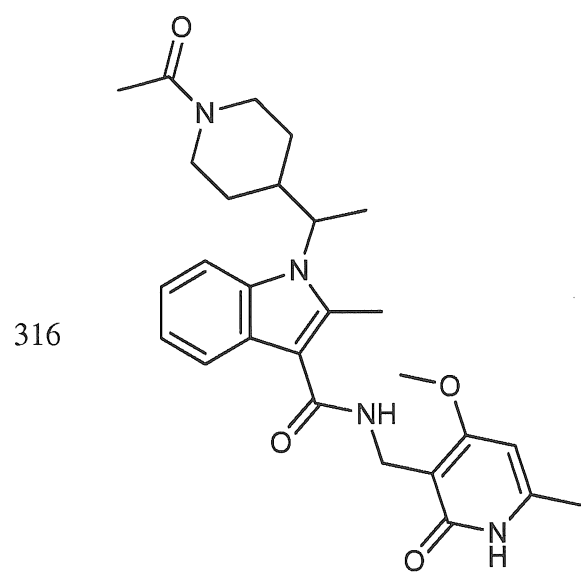
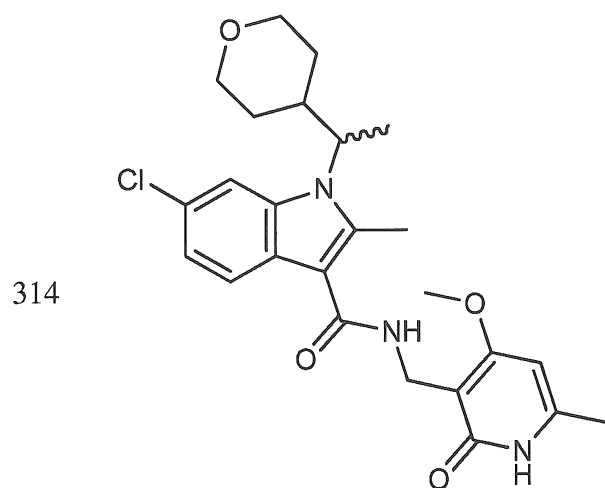


FIG. 1

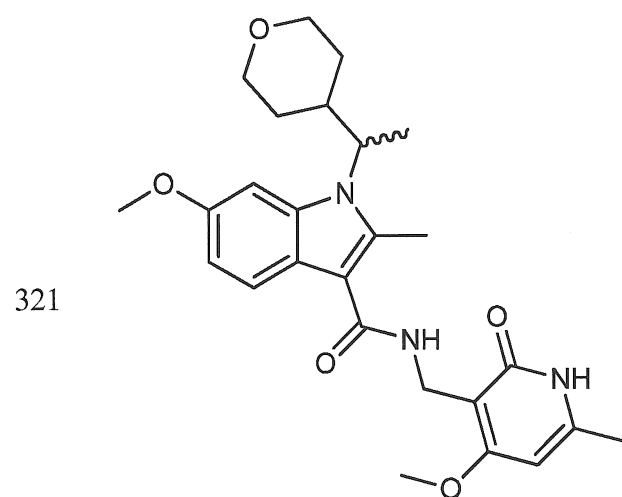
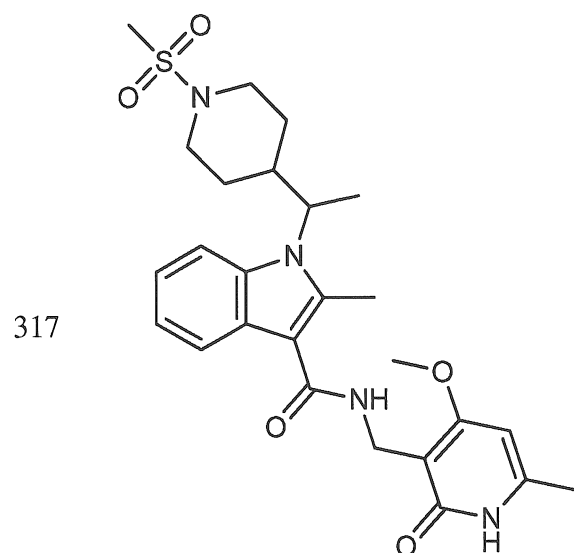


FIG. 1

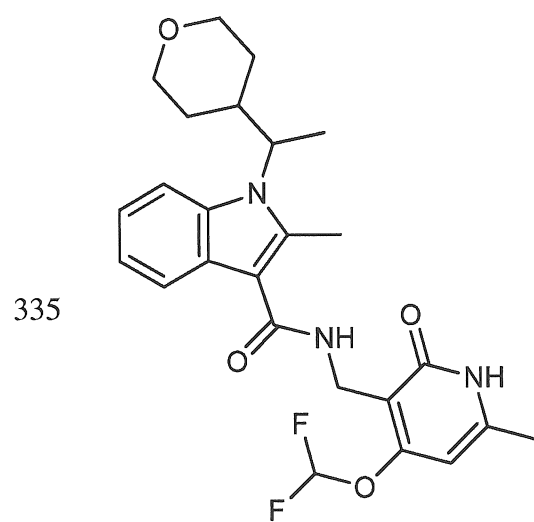
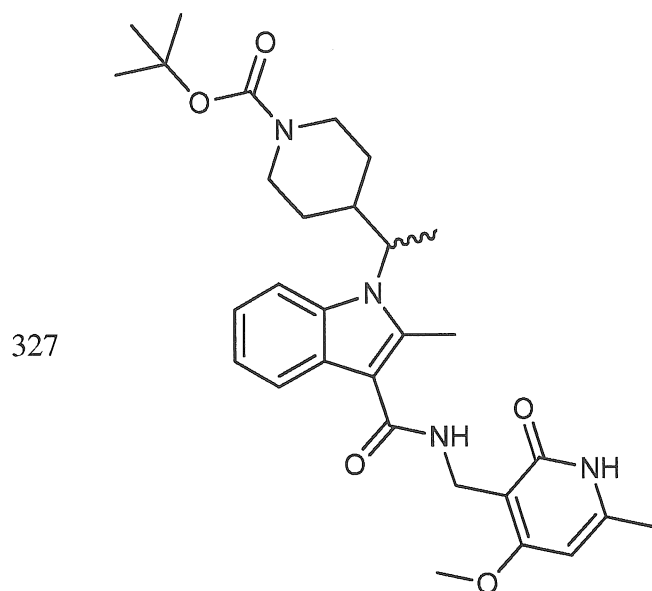


FIG. 1

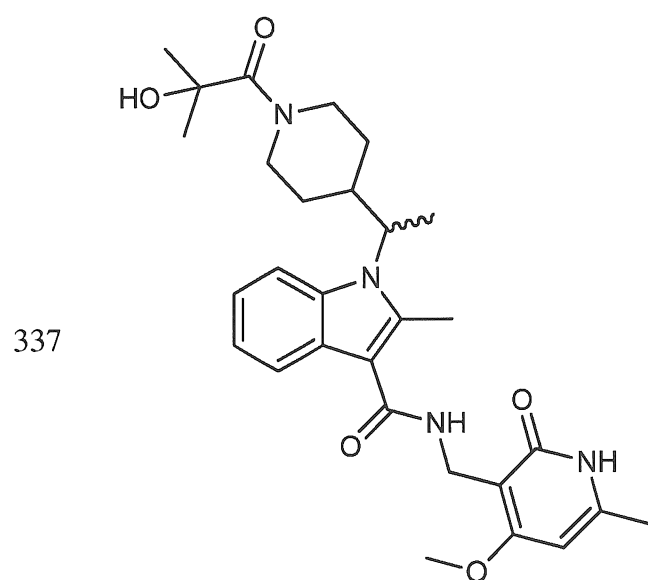
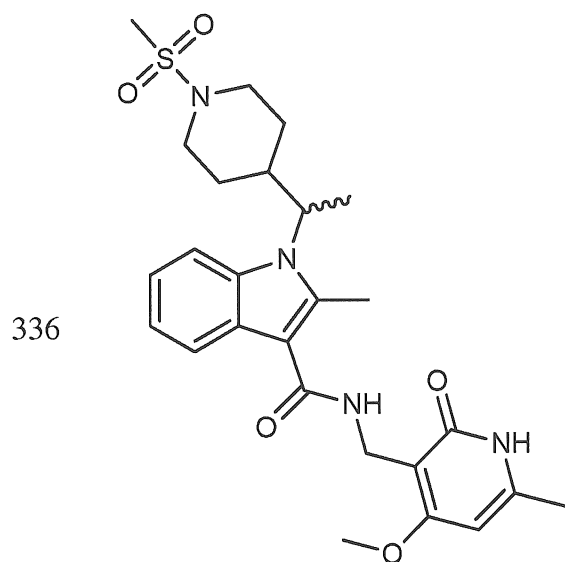


FIG. 1

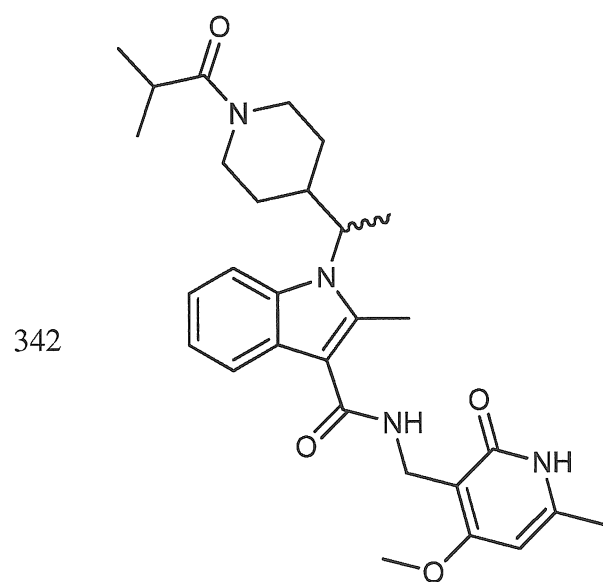
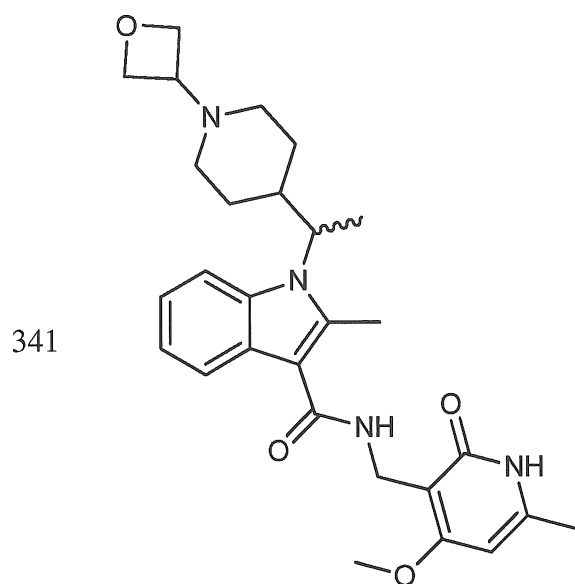


FIG. 1

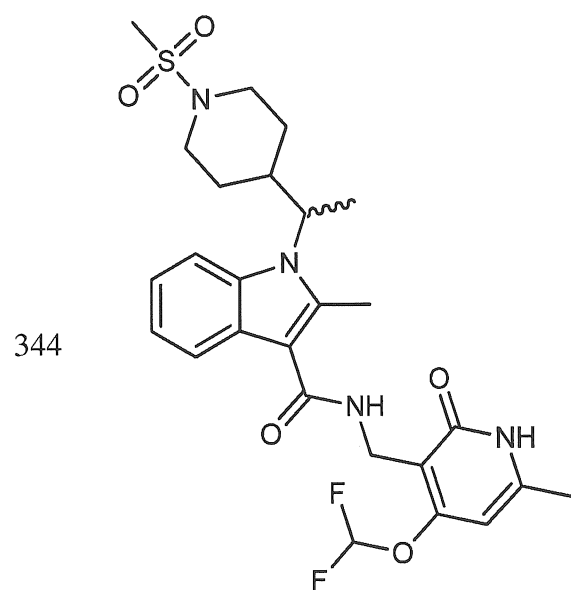
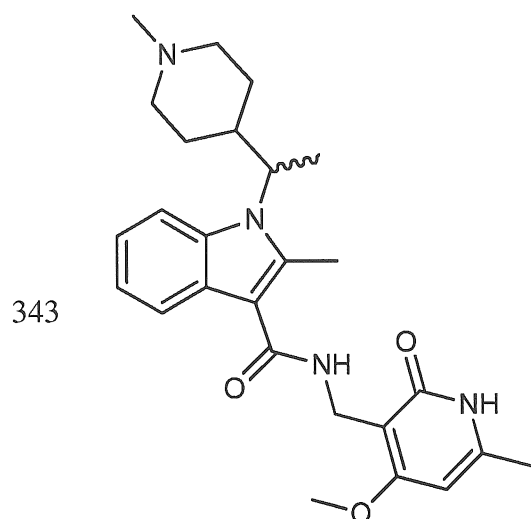


FIG. 1

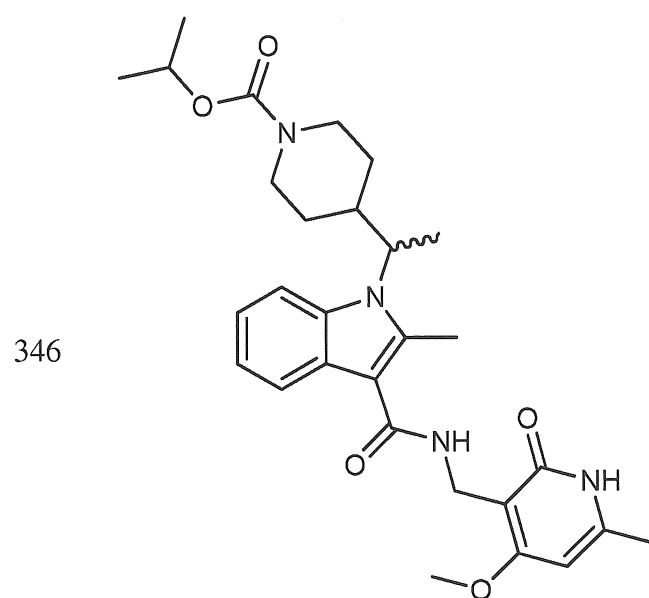
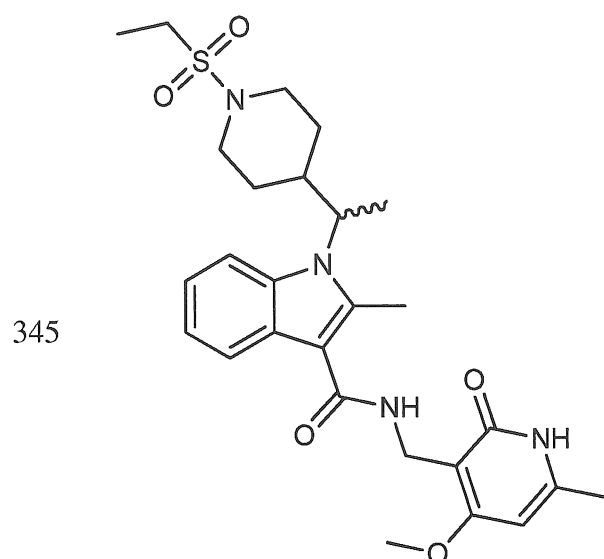


FIG. 1

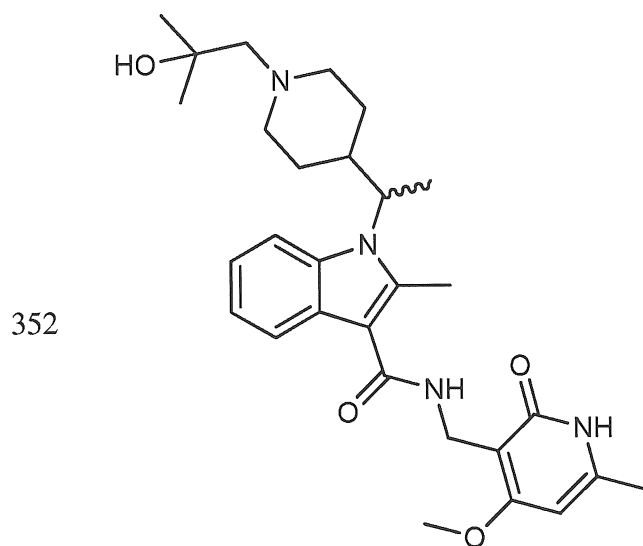
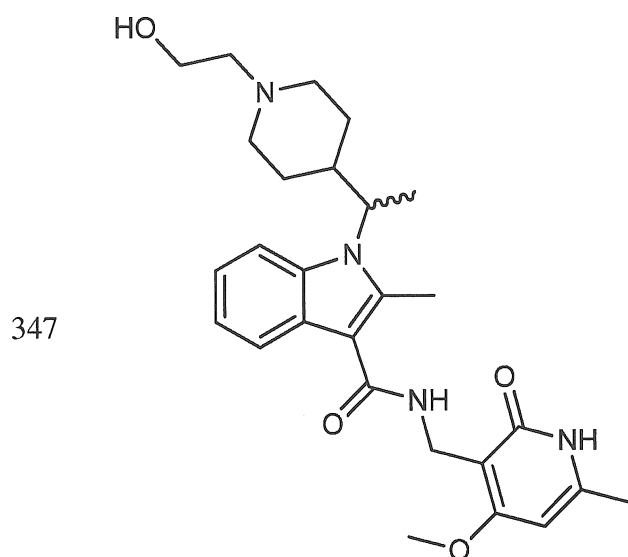


FIG. 1

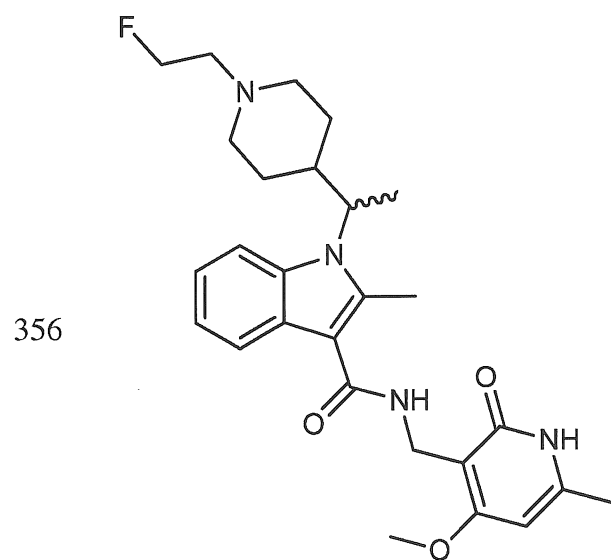
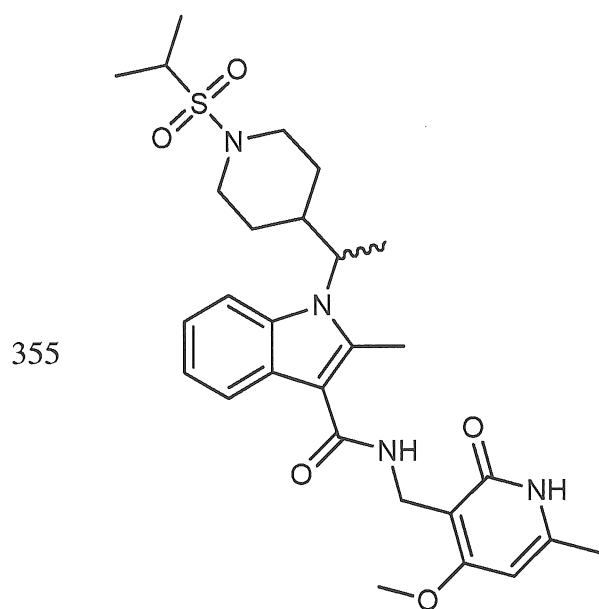


FIG. 1

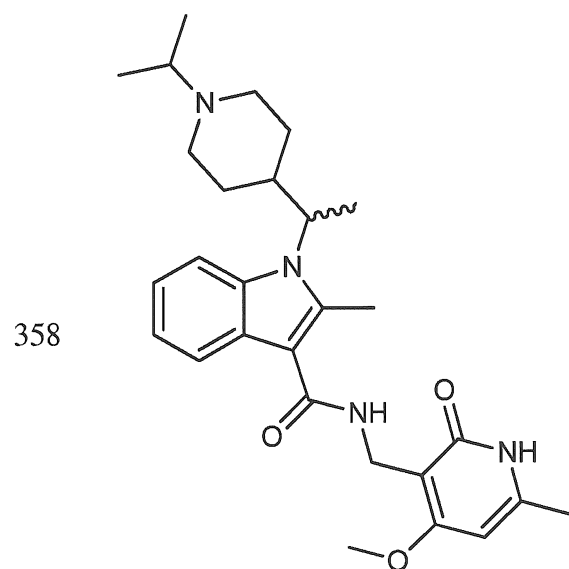
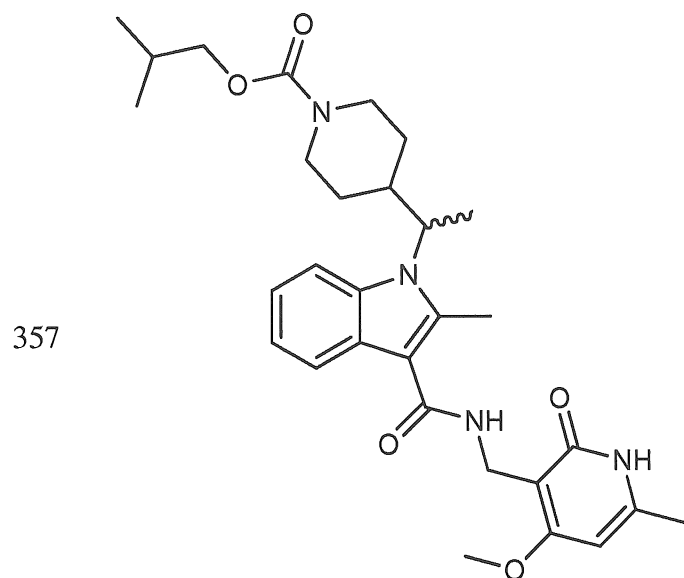


FIG. 1

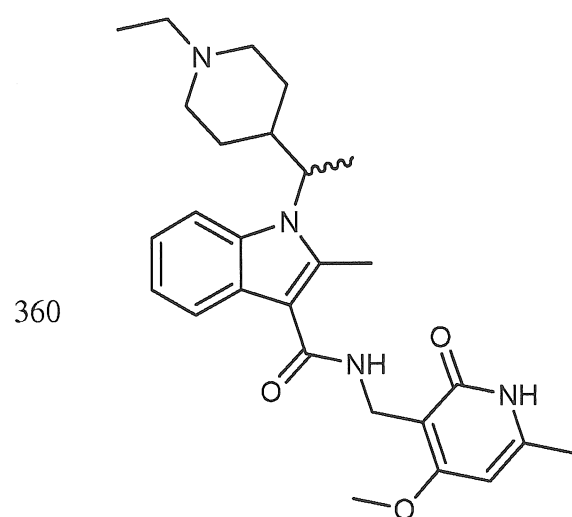
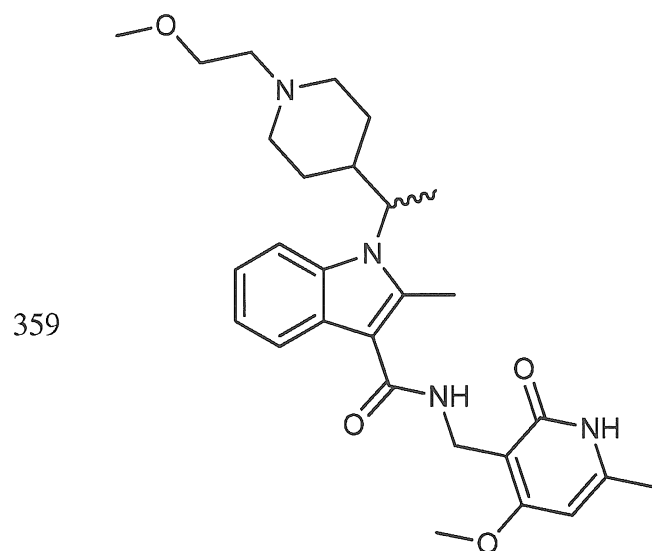


FIG. 1

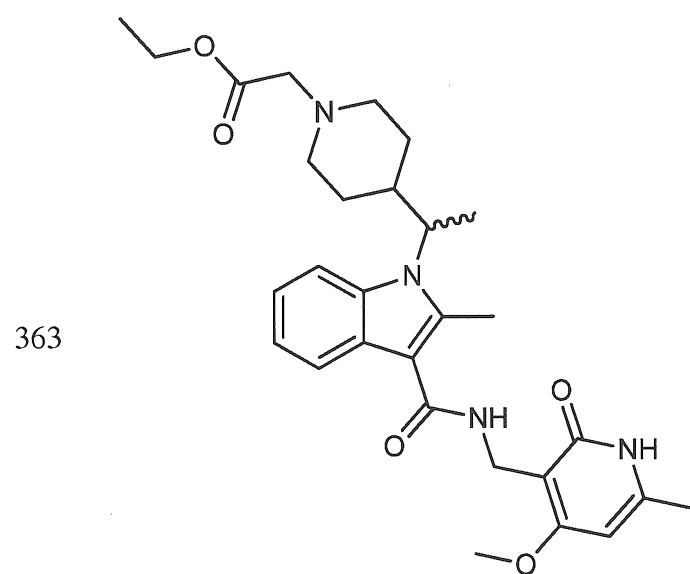
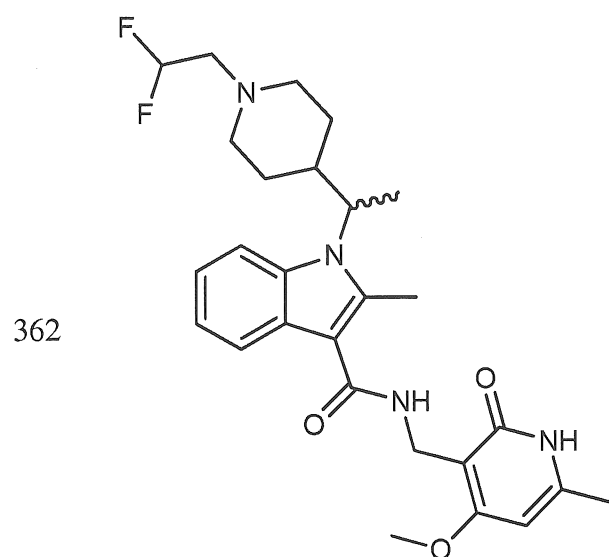


FIG. 1

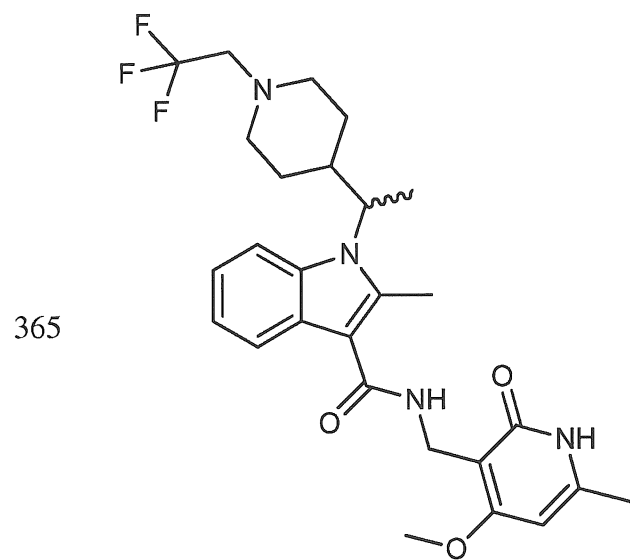
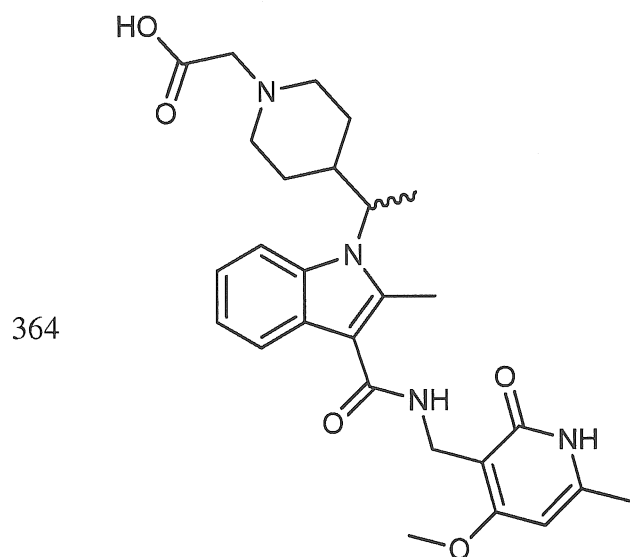


FIG. 1

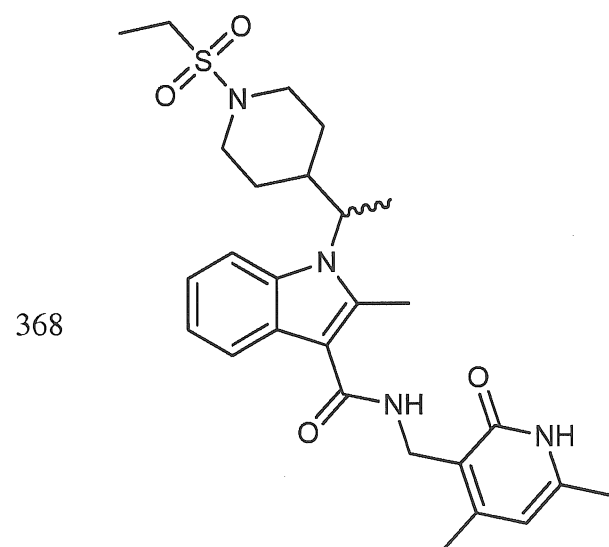
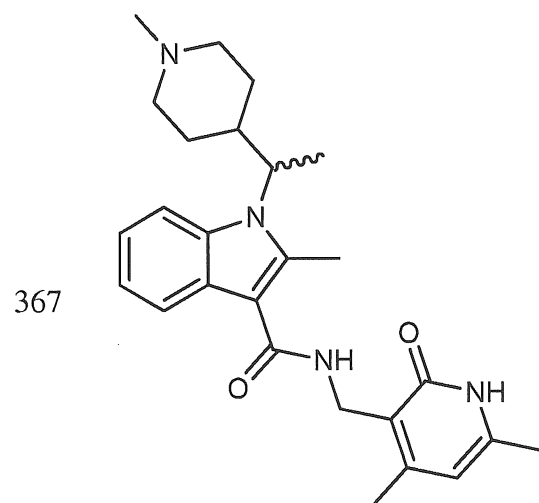
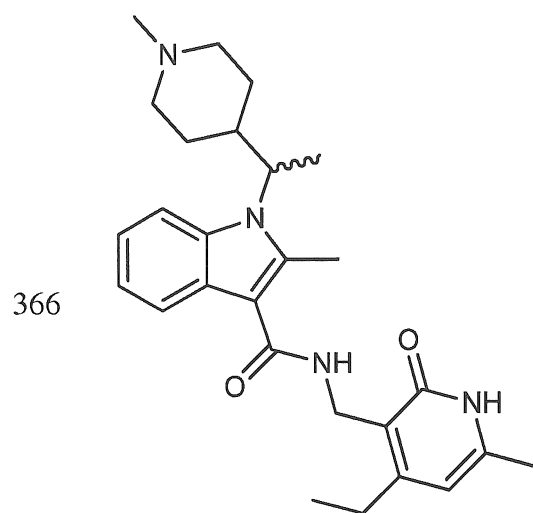


FIG. 1

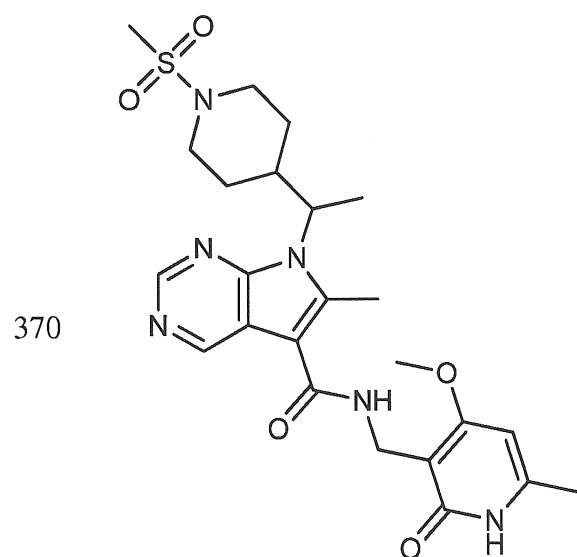
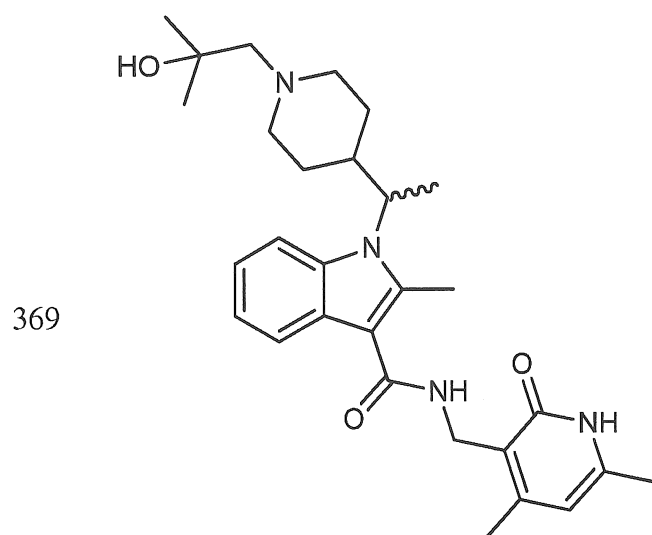


FIG. 1

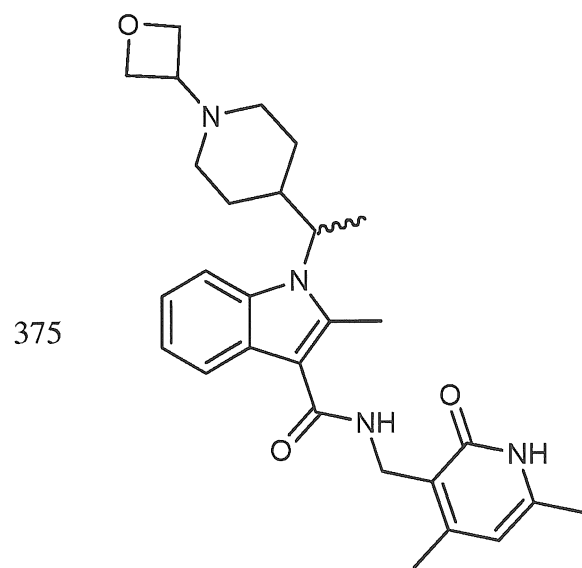
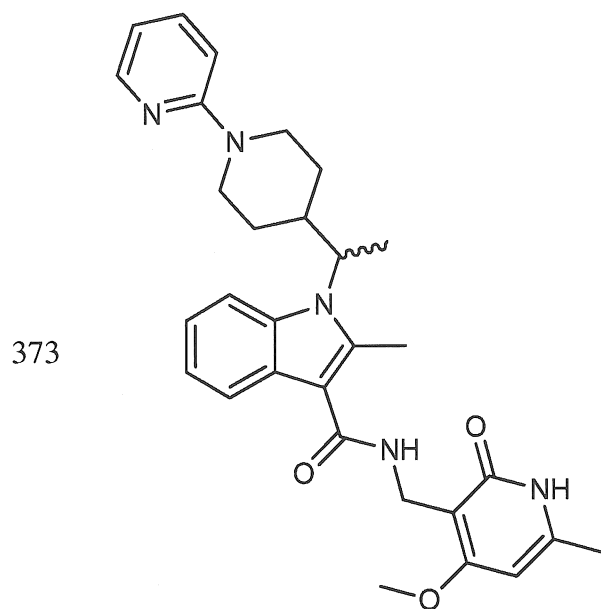


FIG. 1

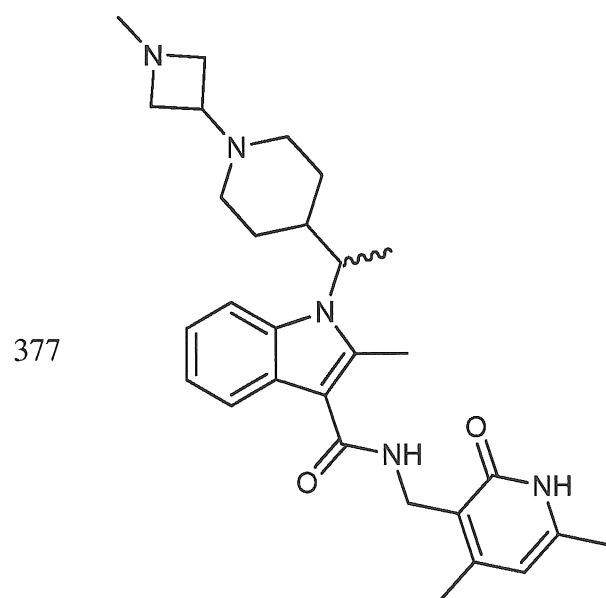
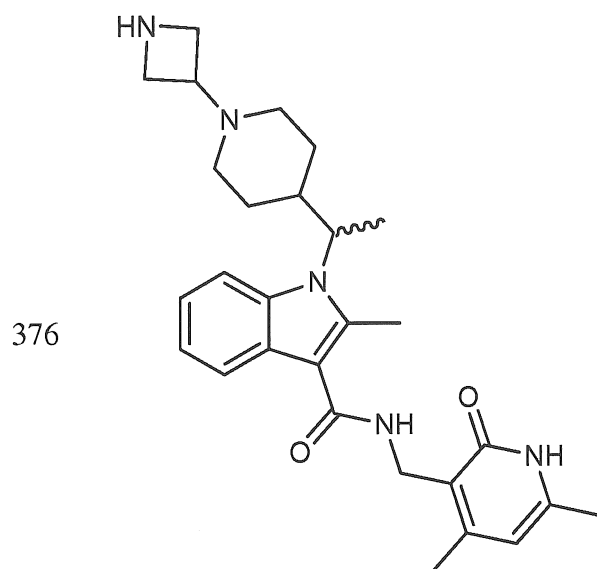


FIG. 1

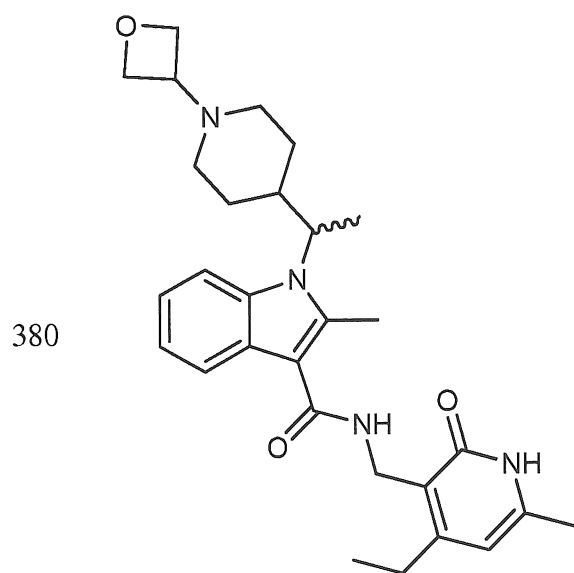
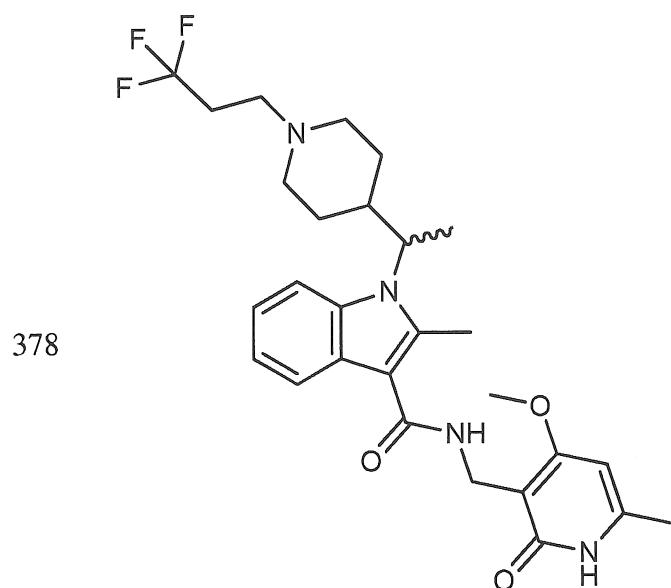


FIG. 1

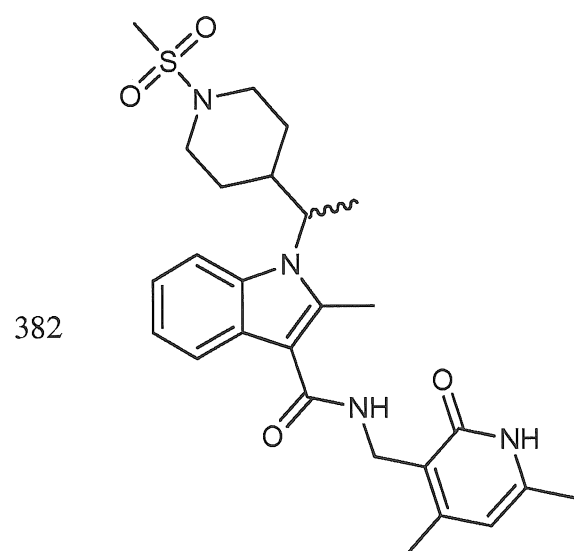
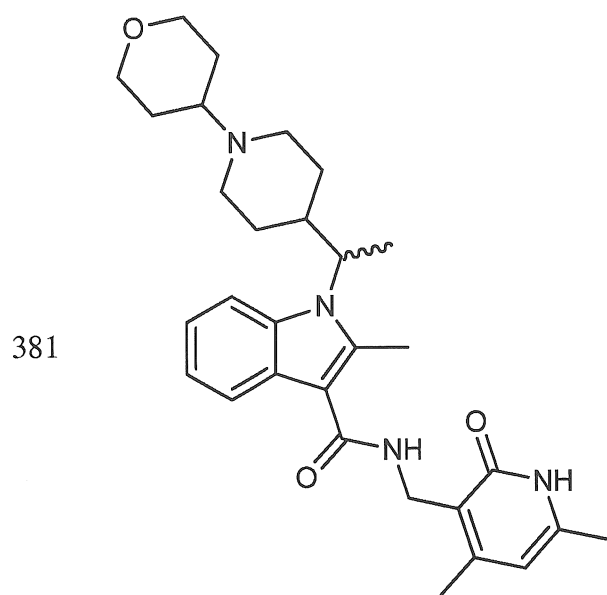


FIG. 1

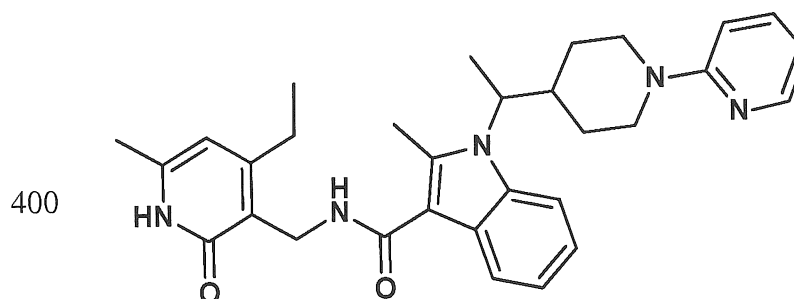
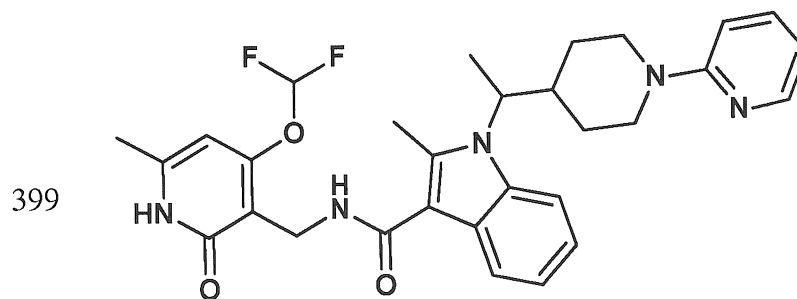
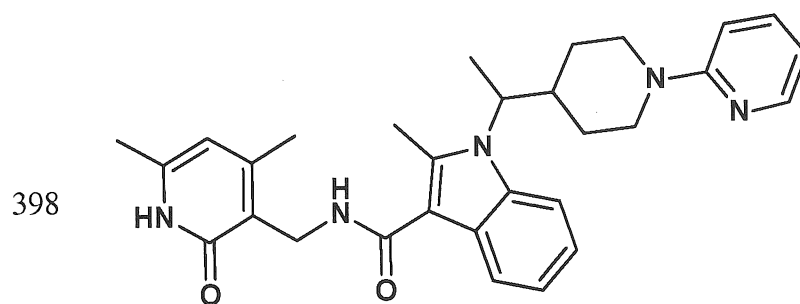
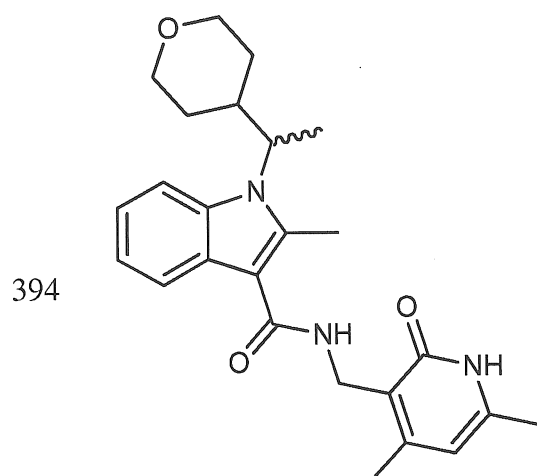


FIG. 1

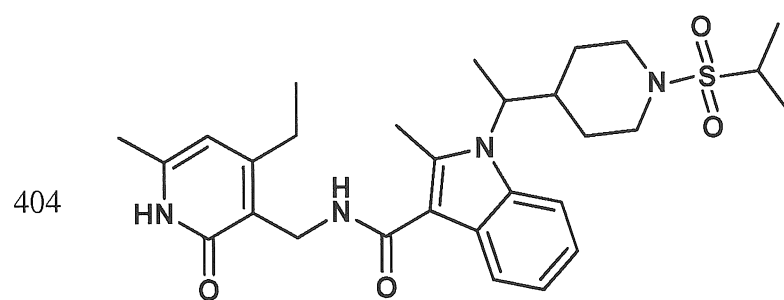
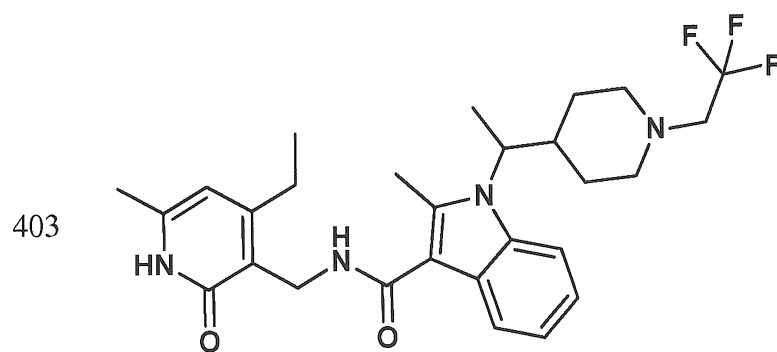
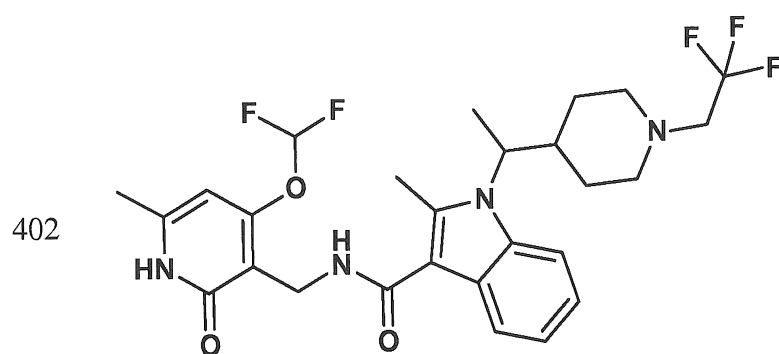
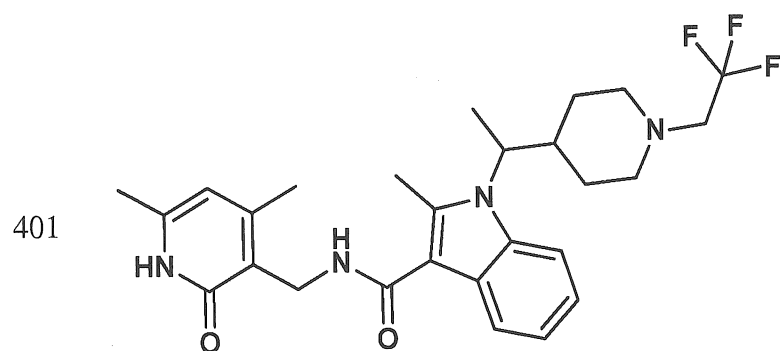


FIG. 1

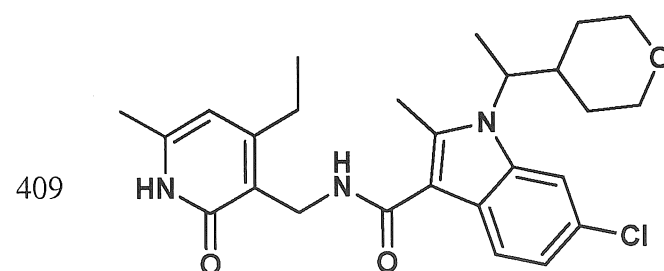
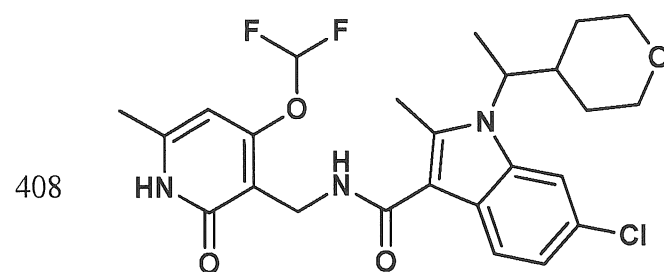
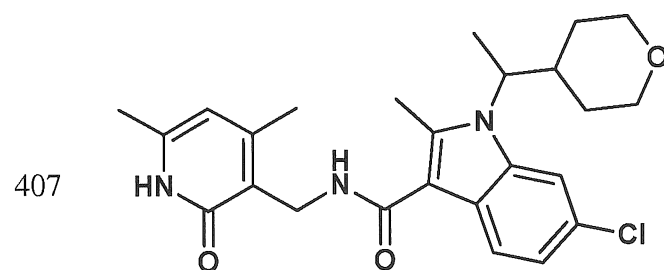
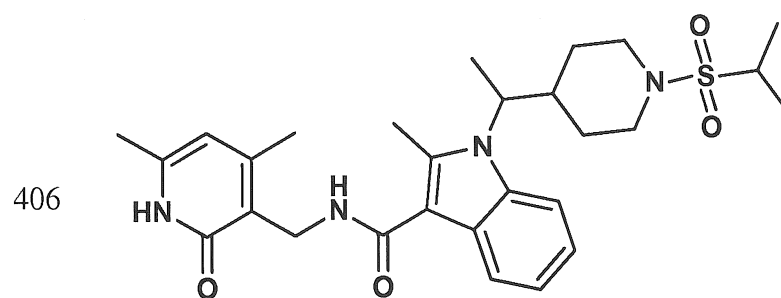
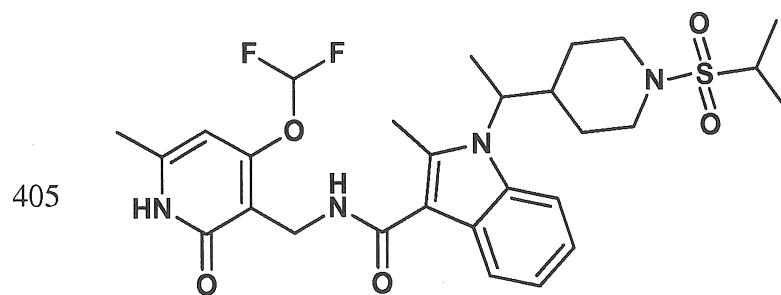


FIG. 1

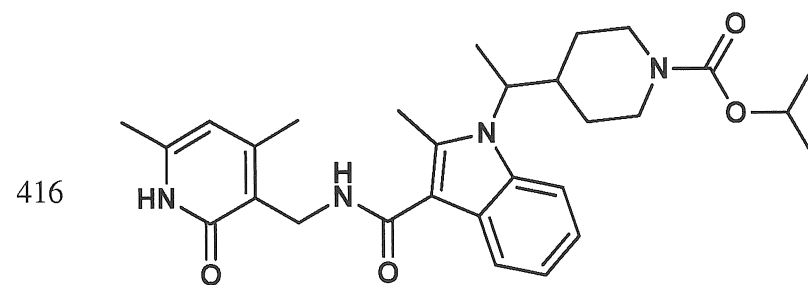
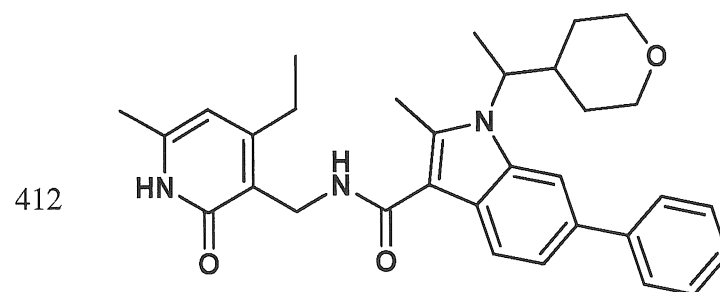
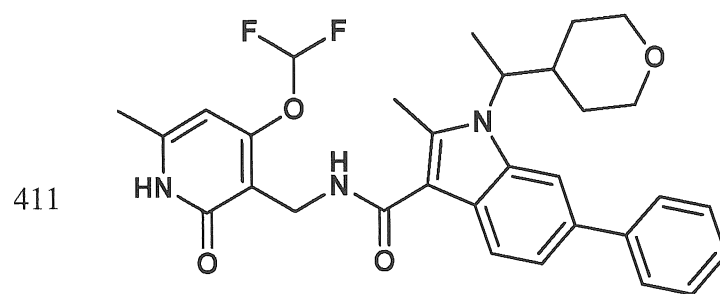
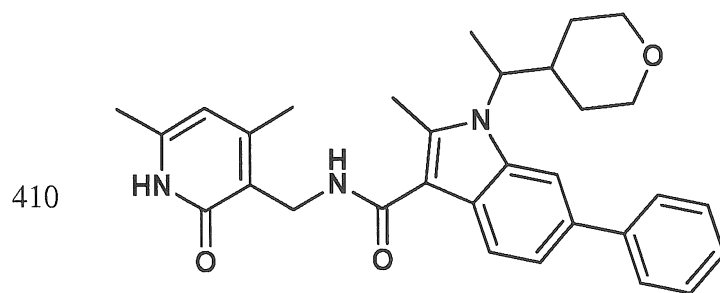


FIG. 1

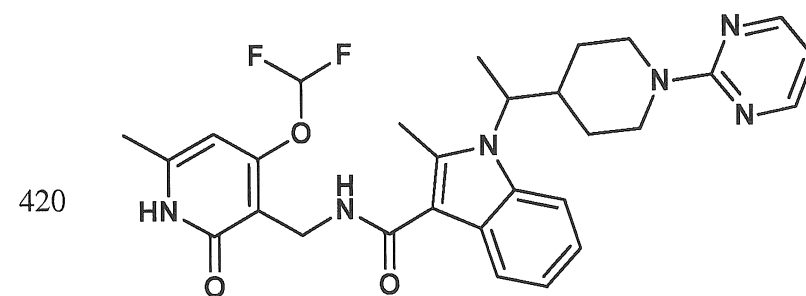
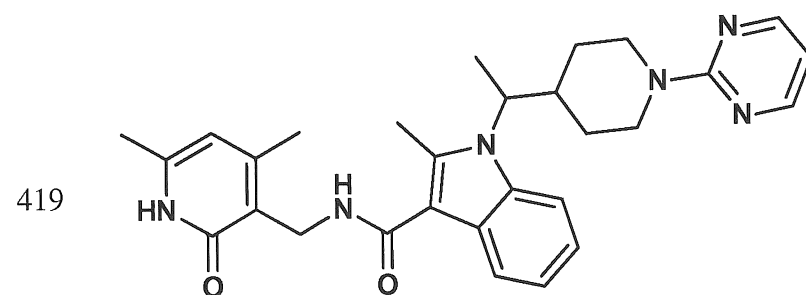
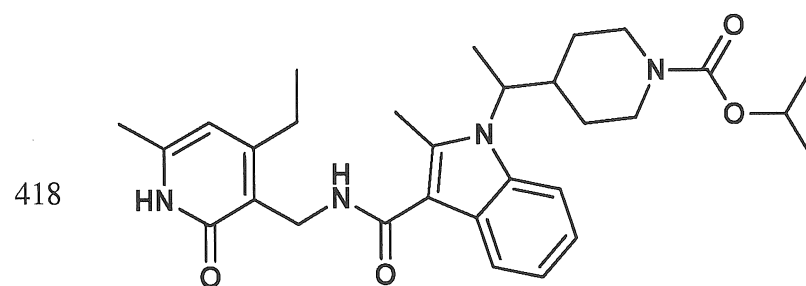
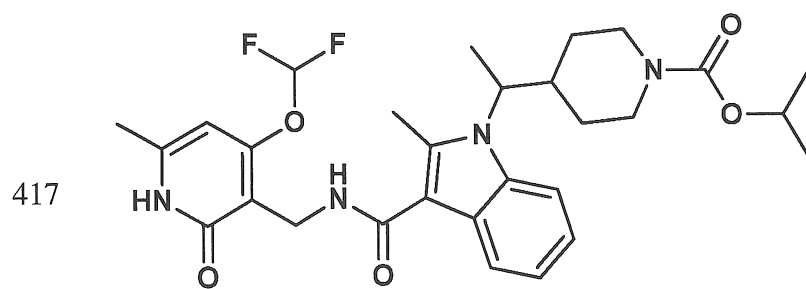


FIG. 1

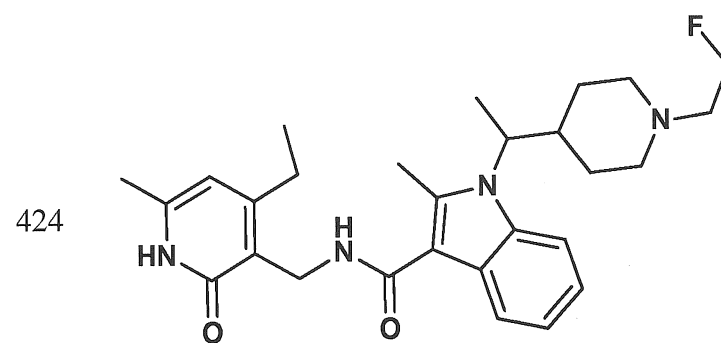
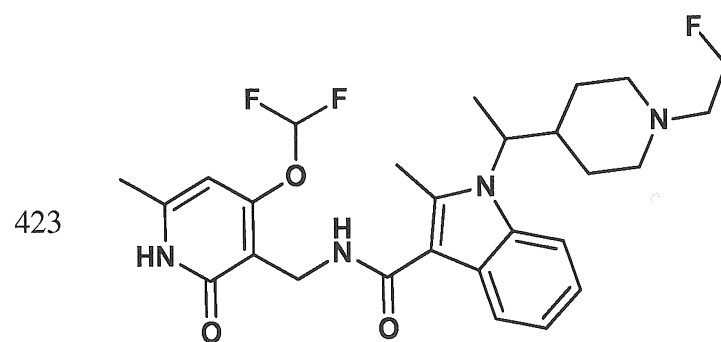
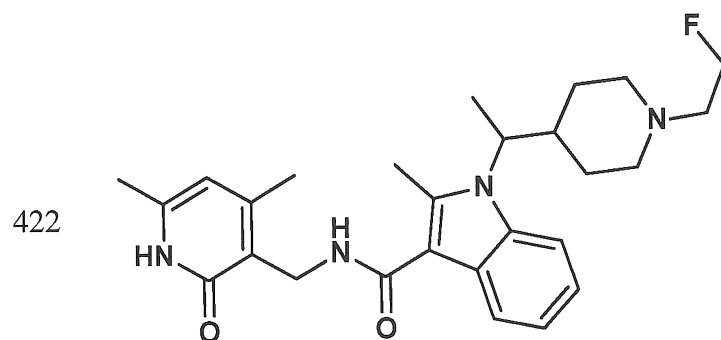
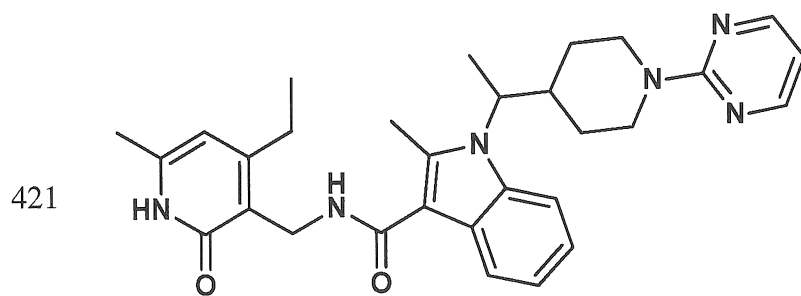


FIG. 1

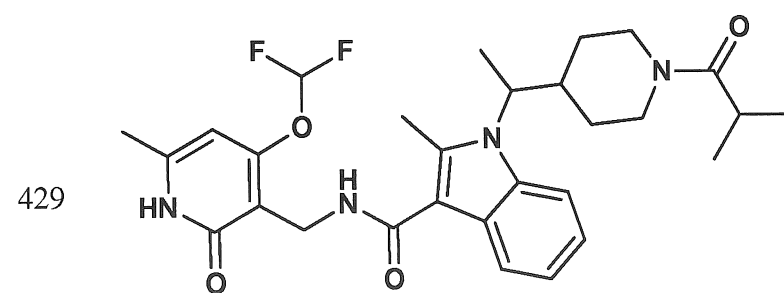
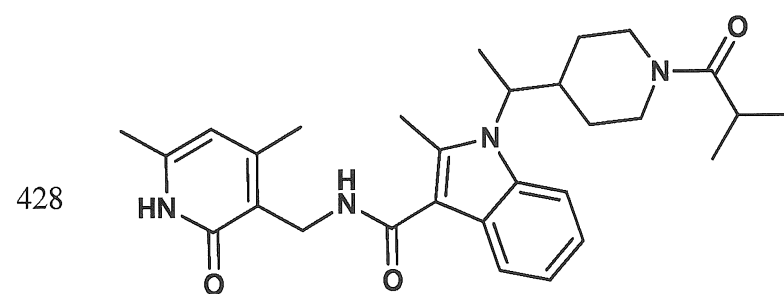
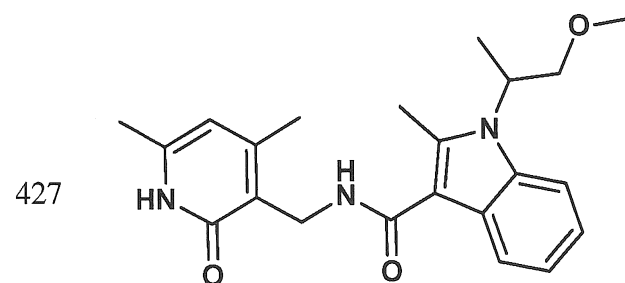
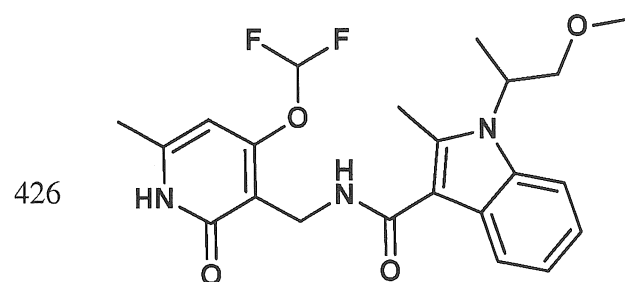
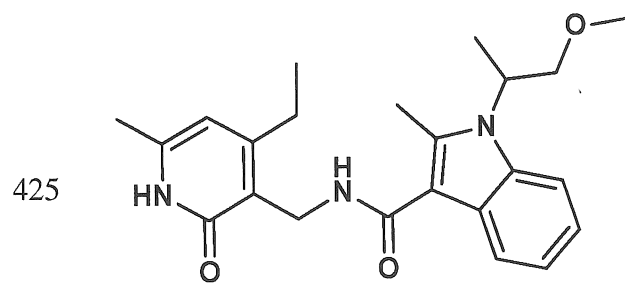


FIG. 1

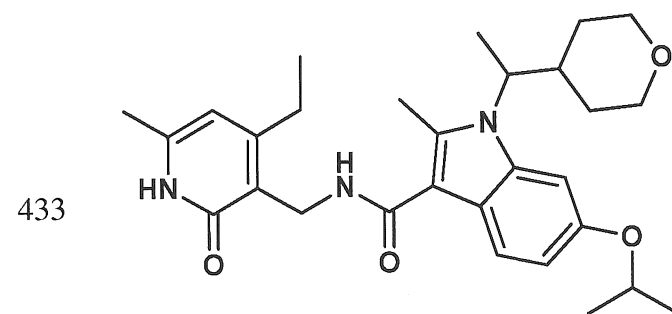
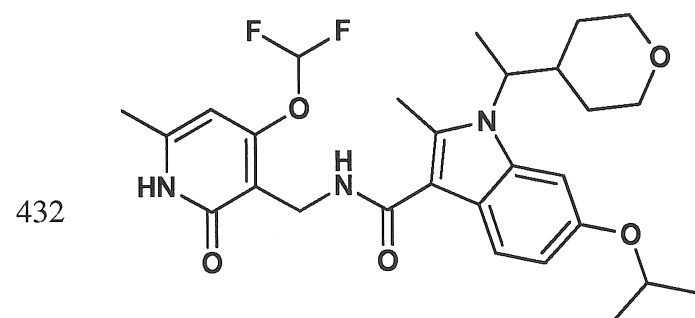
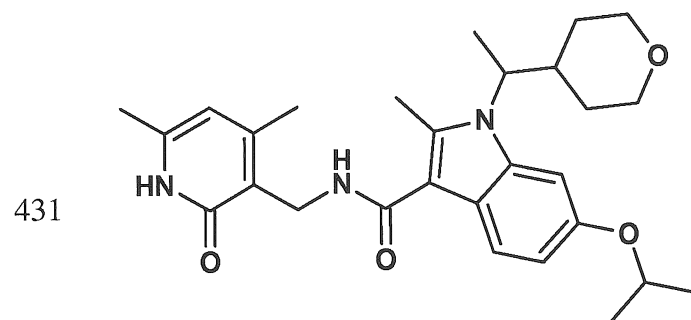
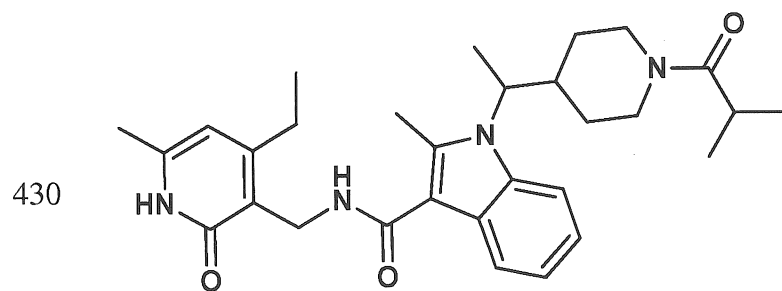


FIG. 1

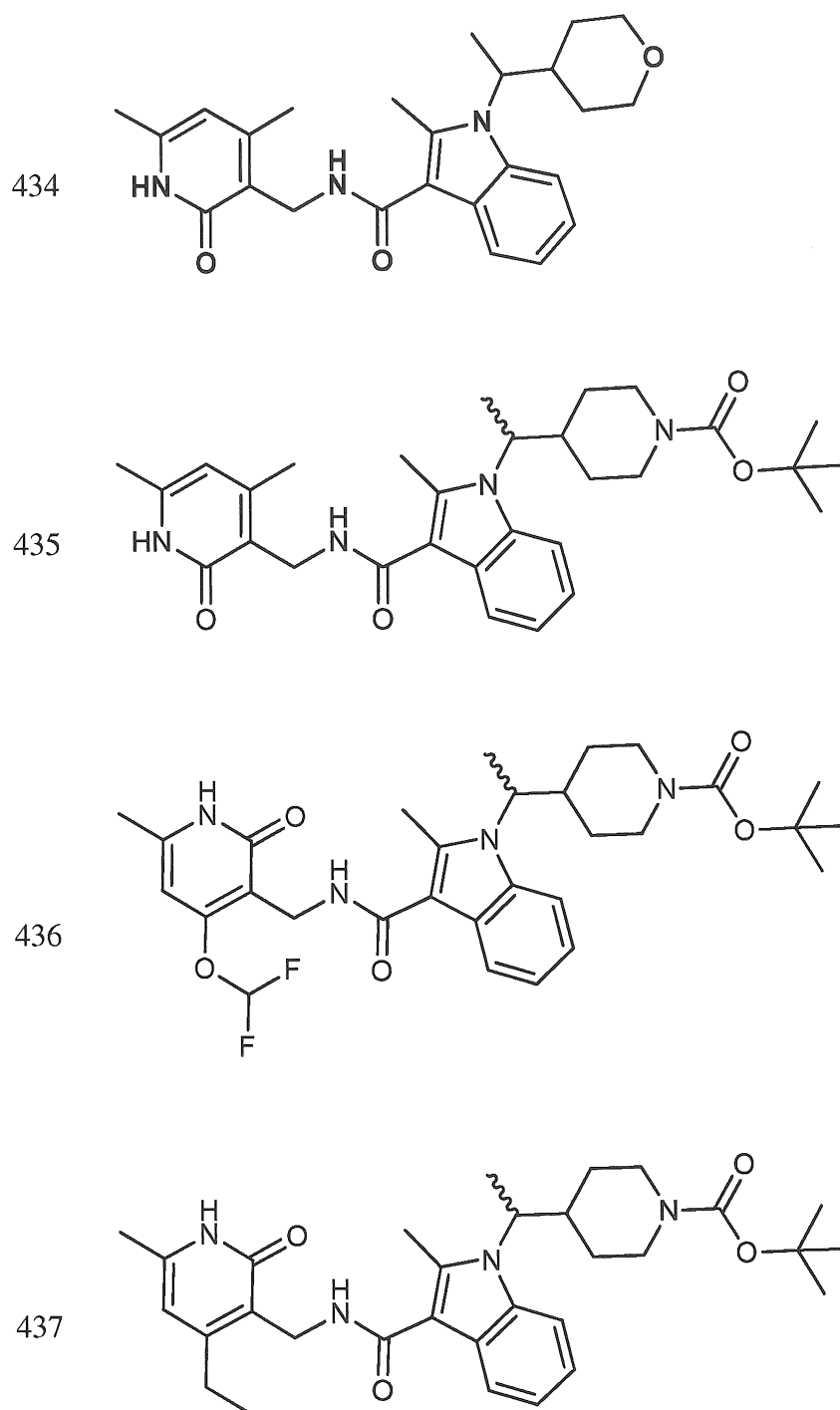


FIG. 1

