



(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)



1-0030114

(51)⁷ C07D 401/14; C07D 403/14; A61K
31/506; A61P 33/06

(13) B

(21) 1-2016-04602

(22) 26/03/2015

(86) PCT/EP2015/056496 26/03/2015

(87) WO2015/165660 05/11/2015

(30) 2142/CHE/2014 28/04/2014 IN

(45) 25/11/2021 404

(43) 27/03/2017 348A

(73) MMV MEDICINES FOR MALARIA VENTURE (CH)

20 route de Pré-Bois, ICC CH-1215 Geneva, Switzerland

(72) HAMEED PEER MOHAMED, Shahul (IN); PATIL, Vikas (IN); MURUGAN, Kannan (IN); VITHALRAO BELLALE, Eknath (IN); RAICHURKAR, Anandkumar (IN); LANDGE, Sudhir (IN); PUTTUR, Jayashree (IN); ROY CHOUDHURY, Nilanjana (IN); SHANBHAG, Gajanan (IN); KOUSHIK, Krishna (IN); IYER, Pravin (IN); KIRTHIKA SAMBANDAMURTHY, Vasanth (IN); SOLAPURE, Suresh (IN); NARAYANAN, Shridhar (IN).

(74) Công ty TNHH Đại Tín và Liên Danh (DAITIN AND ASSOCIATES CO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT, CHẤT TRUNG GIAN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG ĐỂ PHÒNG HOẶC ĐIỀU TRỊ BỆNH SỐT RÉT VÀ QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất, chất trung gian và dược phẩm chứa hợp chất này để phòng hoặc điều trị bệnh sốt rét và quy trình bào chế hợp chất này. Trong đó, hợp chất theo sáng chế là triaminpyrimidin và bệnh sốt rét gây ra do nhiễm kí sinh trùng gây ra bởi các loài plasmodium.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất, chất trung gian và dược phẩm chứa hợp chất này để phòng hoặc điều trị bệnh sốt rét và quy trình bào chế hợp chất này. Cụ thể hơn là, sáng chế đề cập tới hợp chất triaminpyrimidin, chất trung gian và dược phẩm chứa hợp chất này được dùng trong phòng hoặc điều trị bệnh sốt rét gây ra do nhiễm kí sinh trùng gây ra bởi các loài plasmodium và quy trình bào chế hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sốt rét là bệnh gây ra bởi động vật nguyên sinh ký sinh thuộc chi *Plasmodium*, chúng lây nhiễm và phá hủy tế bào hồng cầu, dẫn đến sốt, thiếu máu nặng, sốt rét thể não, và nếu không được điều trị, bệnh gây chết. *Plasmodium falciparum* là loài chiếm ưu thế ở châu Phi cận Sahara, và gây chết khoảng 600.000 người mỗi năm. Sốt rét là gánh nặng bệnh tật nặng nhất ở trẻ em châu Phi dưới 5 tuổi và phụ nữ có thai. *Plasmodium vivax* gây ra 25-40% số ca bệnh sốt rét trên toàn cầu, cụ thể là ở Nam và Đông Nam Á, và Trung và Nam Mỹ. Ba loài chủ yếu khác gây nhiễm ở người là *Plasmodium ovale*, *plasmodium knowelsi* và *Plasmodium malariae*.

Các loài Plasmodium, cụ thể là *P. falciparum* và *P. vivax* là những loài gây bệnh sốt rét rất quan trọng bởi vì sự phát triển của các chủng kháng thuốc vốn gây khó khăn cả trong điều trị và loại bỏ chúng khỏi bệnh viện và cộng đồng một khi chúng đã thiết lập sự lây nhiễm. Các chủng kháng thuốc cụ thể như các chủng kháng cloroquinin, kháng pyrimetamin, kháng artemisinin thuộc loài *Plasmodium falciparum*.

Sốt rét là bệnh phổ biến ở nhiều quốc gia đang phát triển. Xấp xỉ 40% dân số thế giới sống trong những nước mà ở đó bệnh sốt rét là dạng bệnh địa phương; xấp xỉ 247 triệu người chịu ảnh hưởng của bệnh sốt rét mỗi năm.

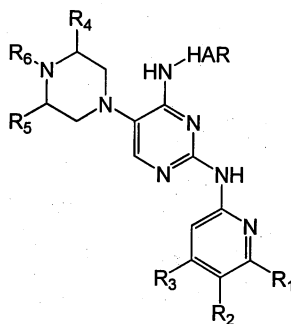
Do đó, để khắc phục mối đe dọa kí sinh trùng kháng nhiều loại thuốc lan rộng, yêu cầu cấp thiết là cần phát triển chất kháng bệnh sốt rét mới, nhất là những loại thuốc hoặc có cơ chế hoạt động mới và/hoặc chứa nhóm dược tính mới.

Sáng chế được thực hiện nhằm mục đích khắc phục những hạn chế trong kỹ thuật liên quan đến kiểm soát và điều trị bệnh sốt rét.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trong quá trình thực hiện sáng chế, người nộp đơn đã phát hiện ra các hợp chất có khả năng hoạt động dưới dạng chất kháng sốt rét.

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



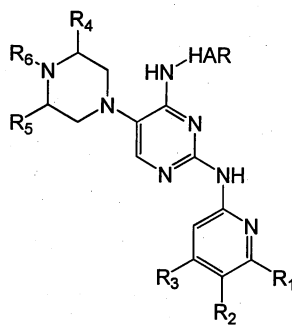
(I)

và muối được dụng của nó, trong đó HAR, R₁, R₂, R₃, R₄, R₅ và R₆ được định nghĩa dưới đây.

Sáng chế cũng đề xuất quy trình bào chế hợp chất của công thức (I), được phẩm chứa hợp chất này dưới dạng thành phần hoạt tính để sử dụng dưới dạng thuốc, quy trình bào chế các hợp chất này để sản xuất thuốc phòng và điều trị bệnh sốt rét ở động vật máu nóng như ở người.

Các hợp chất điển hình của công thức (I) được mong đợi là có các đặc tính trao đổi chất, độc, và/hoặc dược tính.

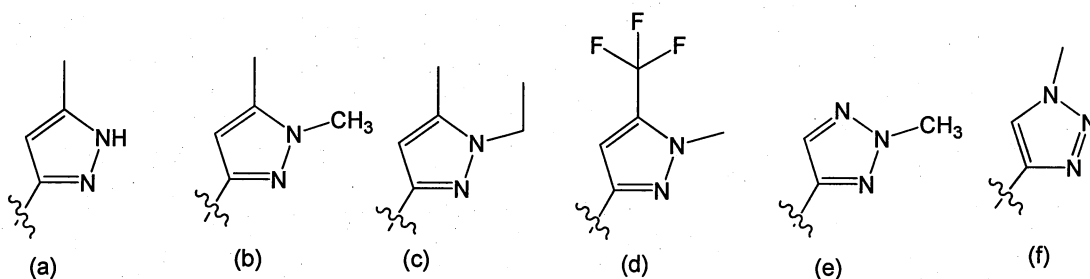
Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

cũng như dưới dạng phức chất, hydrat, solvat, hoặc chất đa hình, chất hỗn biến, đồng phân hình học, dạng quang hoạt và muối được dụng của nó, trong đó:

HAR là hệ vòng heteroaryl 5 cạnh được chọn từ nhóm sau:



R_1 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H, C_{1-6} alkyl, CF_3 và C_3-C_5 xycloalkyl;

R_2 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm halogen, -CN và C_{1-6} alkyl;

R_3 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H, C_{1-6} alkyl, C_3-C_5 xycloalkyl và CF_3 ;

R_4 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl;

R_5 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl; và

R_6 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl.

Theo một số phương án thực hiện, R_1 là metyl.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_2 là halogen.

Theo một số phương án thực hiện, R_2 được chọn từ nhóm gồm flo, clo và CN.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_2 là F hoặc Cl.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_3 là C_3 - C_5 xycloalkyl như xyclobutyl hoặc xyclopropyl.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_3 là xyclopropyl.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_3 là C_{1-6} alkyl như etyl.

Theo một số phương án thực hiện, R_3 được chọn từ nhóm gồm xyclobutyl, etyl và xyclopropyl.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_4 là H.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_4 là C_{1-6} alkyl như metyl.

Theo một số phương án thực hiện, R_4 được chọn từ hydro và metyl.

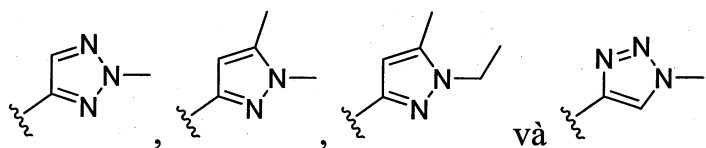
Theo một số phương án thực hiện, R_5 là hydro.

Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_6 là H.

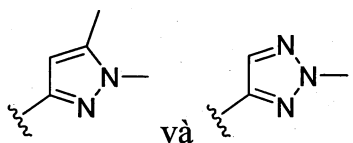
Theo phương án thực hiện tiếp theo, R_6 là C_{1-6} alkyl như metyl.

Theo một số phương án thực hiện, R_6 được chọn từ hydro và metyl.

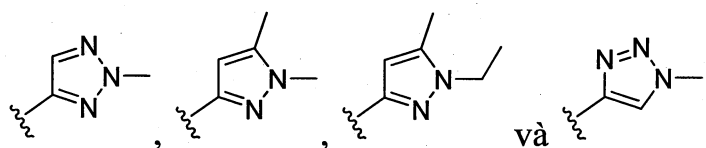
Theo một số phương án thực hiện, HAR được chọn từ nhóm sau:



Theo phương án thực hiện tiếp theo, HAR được chọn từ



Theo phương án thực hiện cụ thể tiếp theo, sáng chế đề xuất hợp chất của công thức (I), trong đó trong đó R_1 là methyl; R_2 được chọn từ flo, clo và CN; R_3 được chọn từ xyclobutyl, etyl và xyclopropyl; R_4 được chọn từ hydro và methyl; R_5 là hydro; R_6 được chọn từ hydro và methyl; và HAR được chọn từ nhóm sau:



Trong phần mô tả, tiền tố C_{x-y} được sử dụng dưới dạng thuật ngữ như C_{x-y} alkyl và tương tự (trong đó x và y là các số nguyên) cho biết phạm vi số nguyên tử cacbon có mặt trong nhóm; cụ thể như, C_{1-6} alkyl bao gồm C_1 alkyl (methyl), C_2 alkyl (ethyl), C_3 alkyl (propyl và isopropyl) và C_4 alkyl (butyl, 1-methylpropyl, 2-methylpropyl, và *t*-butyl).

Trừ khi được nêu cụ thể, nguyên tử liên kết của nhóm có thể là nguyên tử phù hợp bất kỳ của nhóm; cụ thể như propyl bao gồm prop-1-yl và prop-2-yl.

alkyl - Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkyl” dùng để chỉ gốc hydrocacbon bão hòa cả mạch thẳng và mạch phân nhánh có số nguyên tử cacbon cụ thể. Có thể tham khảo nhóm alkyl cụ thể như “propyl” là nhóm chỉ có mạch thẳng, và nhóm alkyl cụ thể như “isopropyl” là nhóm chỉ có mạch phân nhánh. Theo khía cạnh khác, “ C_{1-6} alkyl” có thể là methyl.

Xycloalkyl - Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xycloalkyl” dùng để chỉ vòng cacbon đơn vòng hoặc hai vòng bão hòa, bão hòa một phần, hoặc chưa bão hòa mà bao gồm 3-12 vòng nguyên tử, trong đó có một hay nhiều nhóm $-CH_2-$ có thể được thay thế tùy ý với số nhóm $-C(O)-$ tương ứng. Ví dụ minh họa cho “xycloalkyl” bao gồm, nhưng không giới hạn, adamantyl, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclopentenyl, xyclohexyl, xyclohexenyl, indanyl, naphthyl, oxoxyclopentyl, 1-oxoindanyl, phenyl, và tetralinyl.

Xycloalkyl 3-6 phần tử - Theo một khía cạnh, “xycloalkyl” có thể là “xycloalkyl 3-6 phần tử”. Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “xycloalkyl 3-6 phần tử” dùng để chỉ vòng cacbon đơn vòng bão hòa, bão hòa một phần, hoặc chưa bão hòa chứ 3-6 vòng nguyên tử, trong đó một hoặc nhiều nhóm $-CH_2-$ có thể được thay thế tùy ý với số nhóm $-C(O)-$ tương ứng bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, oxoxyclopentyl, xyclopentenyl, xyclohexyl, và phenyl.

Halogen - Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “halogen” bao gồm flo, clo, brom và iot. Theo một khía cạnh, thuật ngữ “halogen” dùng để chỉ flo, clo và brom. Theo khía cạnh khác, thuật ngữ “halogen” dùng để chỉ flo và clo. Theo khía cạnh khác nữa, thuật ngữ “halogen” dùng để chỉ flo.

Liều hiệu quả - Khi được sử dụng ở đây, cụm từ “liều hiệu quả” hoặc “liều hiệu quả” có nghĩa là lượng hợp chất hoặc thành phần đủ để làm chuyển biến tích cực và đáng kể triệu chứng và/hoặc điều kiện được điều trị (tức là, tạo ra đáp ứng lâm sàng tích cực). Liều hiệu quả của thành phần hoạt tính để sử dụng trong dược phẩm sẽ thay đổi theo điều kiện cụ thể được điều trị, mức độ nghiêm trọng của bệnh, thời gian điều trị, bản chất của việc trị liệu đồng thời, thành phần hoạt tính cụ thể được sử dụng, tá dược/chất mang dược dụng cụ thể được sử dụng, con đường sử dụng, và các yếu tố tương tự thuộc chuyên môn của bác sĩ.

Dược dụng - Khi được sử dụng ở đây, thuật ngữ “dược dụng” dùng để chỉ các hợp chất, vật liệu, thành phần, và/hoặc liều mà phù hợp (thuộc phạm vi đánh giá y học) để sử dụng cho tiếp xúc với mô của người và động vật mà không có độc tính quá mức, kích ứng, phản ứng dị ứng, hoặc các vấn đề khác hoặc biến chứng, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Trong bối cảnh sáng chế bao gồm muối dược dụng, dạng phức, hydrat, solvat, hoặc chất đa hình, chất hỗn biến, đồng phân hình học, dạng quang hoạt và các dẫn xuất có hoạt tính dược lý của hợp chất theo sáng chế. Trừ khi có chỉ dẫn ngược lại, sáng chế bao gồm tất cả diastereomomer (đôi khi được gọi là epime, là một loại đồng phân lập thể) có thể cũng như hỗn hợp triệt quang (racemic) của chúng, đồng phân đối hình hòa tan cơ bản tinh khiết của chúng, tất cả các đồng phân hình học có thể, và muối

được dụng của nó. Hỗn hợp của đồng phân lập thể, cũng như đồng phân lập thể cụ thể được cô lập, cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Trong suốt quá trình các biện pháp tổng hợp được sử dụng để điều chế các hợp chất trên, hoặc trong việc sử dụng các biện pháp triệt quang hóa hoặc epime hóa được biết đến trong kỹ thuật hiện nay, các sản phẩm của các biện pháp trên có thể là hỗn hợp của các đồng phân lập thể.

Thuật ngữ “sốt rét” bao gồm bệnh và tình trạng liên quan đến sự nhiễm *Plasmodium*.

Khi được sử dụng ở đây, “điều trị” thường có nghĩa là tiếp nhận một hiệu lực sinh lý hoặc được lý mong muốn. Hiệu lực có thể là dự phòng dưới dạng phòng hoặc phòng một phần bệnh, triệu chứng hoặc tình trạng của bệnh và/hoặc có thể là trị liệu dưới dạng chữa trị một phần hoặc toàn bộ bệnh, tình trạng, triệu chứng hoặc ảnh hưởng bất lợi do căn bệnh này. Thuật ngữ “điều trị” khi được sử dụng ở đây bao hàm bất kỳ việc phòng bệnh ở động vật, cụ thể là ở người, và bao gồm: (a) phòng ngừa bệnh không xảy ở trên đối tượng mà có thể dễ bị mắc bệnh nhưng vẫn chưa được chẩn đoán là mắc bệnh; (b) ức chế bệnh, tức là làm ngừng sự phát triển của bệnh; hoặc giảm bệnh, tức là gây thoái lui bệnh và/hoặc triệu chứng hoặc tình trạng.

Thuật ngữ “liệu hiệu quả” bao gồm “liệu hiệu quả dự phòng” và “liệu hiệu quả điều trị”.

Thuật ngữ “liệu hiệu quả dự phòng” dùng để chỉ nồng độ hợp chất theo sáng chế mà có hiệu quả ức chế, làm giảm khả năng của bệnh bởi kí sinh trùng sốt rét, hoặc phòng ngừa sự lây nhiễm bệnh sốt rét hoặc phòng ngừa sự khởi phát muộn của bệnh gây ra bởi kí sinh trùng sốt rét, khi được sử dụng trước khi nhiễm bệnh, tức là trước khi, trong quá trình và/hoặc ngay sau giai đoạn phơi nhiễm với kí sinh trùng sốt rét.

Thuật ngữ “dự phòng” bao gồm dự phòng nguyên nhân, tức là hoạt động chống sốt rét bao gồm ngăn ngừa sự phát triển tiền hồng cầu của kí sinh trùng, dự phòng ức chế, tức là hoạt động chống sốt rét bao gồm ức chế sự phát triển của nhiễm trùng giai đoạn máu và dự phòng giai đoạn cuối, tức là hoạt động chống sốt rét bao gồm ức chế sự phát triển của nhiễm trùng giai đoạn nội gan. Thuật ngữ bao gồm dự phòng sơ cấp (tức là phòng ngừa sự lây nhiễm ban đầu) mà ở đó hợp chất kháng sốt rét được sử

dụng trước, trong và/hoặc sau giai đoạn phơi nhiễm với kí sinh trùng sốt rét và dự phòng giai đoạn cuối (tức là phòng ngừa sự tái phát hoặc khởi phát muộn của triệu chứng lâm sàng của bệnh sốt rét) khi hợp chất chống sốt rét được sử dụng vào cuối và/hoặc ngay sau giai đoạn phơi nhiễm với kí sinh trùng sốt rét nhưng trước khi có các triệu chứng lâm sàng. Thông thường, đối với sự nhiễm trùng *P. falciparum*, dự phòng ức chế được sử dụng, trong khi đối với *P. vivax* hoặc tập hợp của *P. falciparum* và *P. vivax* thì dự phòng giai đoạn cuối được sử dụng.

Tương tự như vậy, thuật ngữ “liệu hiệu quả điều trị” dùng để chỉ nồng độ của hợp chất có hiệu quả trong điều trị nhiễm trùng sốt rét, tức là dẫn đến sự suy giảm số lượng kí sinh trùng trong máu nhờ kiểm tra bằng kính hiển vi khi sử dụng sau khi nhiễm trùng xảy ra.

Thuật ngữ “đối tượng” được sử dụng ở đây dùng để chỉ động vật có vú. Cụ thể là, động vật có vú được dự kiến bởi sáng chế bao gồm con người và các loài khác. Các hợp chất được thảo luận ở đây trong nhiều trường hợp có thể đã được đặt tên và/hoặc kiểm tra với ACD/tên bởi ACD/Labs và/hoặc Electronic Lab Notebook bởi CambridgeSoft.

Hợp chất của công thức (I) có thể tạo thành axit hoặc muối bazơ được dùng ổn định, và trong trường hợp sử dụng hợp chất dưới dạng muối có thể thích hợp. Ví dụ cụ thể về axit ngoài muối bao gồm axetat, adipat, ascorbat, benzoat, benzensunfonat, bicarbonat, bisunfat, butyrat, camphorat, camphorsunfonat, cholin, xitric, xyclohexyl sunfamat, dietylendiamin, etansunfonat, fumarat, glutamat, glycolat, hemisunfat, 2-hydroxyetylsunfonat, heptanoat, hexanoat, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, hydroxymaleat, lactat, malat, maleat, metansunfonat, meglumin, 2-naphtalensunfonat, nitrat, oxalat, pamoat, persunfat, phenylaxetat, photphat, diphotphat, picrat, pivalat, propionat, quinat, salixylat, stearat, xucxinat, sunfamat, sulfanilat, sunfat, tartrat, tosylat (p-toluensunfonat), trifloaxetat, và undecanoat. Ví dụ cụ thể về muối bazơ bao gồm muối amoni; muối kim loại kiềm như muối natri, liti và kali; muối kim loại kiềm thổ như muối nhôm, canxi và magie; muối với bazơ hữu cơ như muối dicyclohexylamin và *N*-metyl-D-glucamin; và muối với axit amin như arginin, lyzin, ornithin, v.v... Ngoài ra, nhóm chứa bazơ nitơ có thể

được tạo thành bazơ bậc bốn cùng với các chất như: alkyl halogenua phân tử thấp, như metyl, etyl, propyl, và butyl halogenua; dialkyl sunfat như dimetyl, dietyl, dibutyl, diamyl sunfat; halogenua mạch dài như decyl, lauryl, myristyl và stearyl halogenua; arylalkyl halogenua như benzyl bromua và các chất khác. Dung dịch muối sinh lý là tốt nhất, mặc dù các muối khác có thể hữu dụng, như trong quá trình tách hoặc tinh sạch sản phẩm.

Các muối này có thể được tạo thành bằng cách thông thường, cụ thể là bằng phản ứng của bazơ tự do với một hoặc nhiều đương lượng axit thích hợp trong dung môi hoặc môi trường mà trong đó muối không hòa tan, hoặc trong dung môi như nước, mà được loại bỏ trong chân không hoặc bằng cách sấy đông khô hoặc bằng phương pháp trao đổi anion của muối cho anion khác trên nhựa trao đổi ion phù hợp.

Hợp chất của công thức (I) có một hoặc nhiều trung tâm bất đối xứng và/hoặc trung tâm đồng phân hình học, và cần hiểu rằng sáng chế bao gồm tất cả các đồng phân quang học, diastereoisomer, và đồng phân hình học. Sáng chế còn đề xuất bất kỳ và tất cả các dạng chất hỗn biến của hợp chất của công thức (I).

Cũng cần hiểu rằng, hợp chất của công thức (I) có thể tồn tại ở dạng solvat cũng như dạng không phải solvat, cụ thể như dạng hydrat. Cần hiểu rằng sáng chế bao gồm tất cả các dạng solvat.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất hợp chất của công thức (I) và muối được dụng của nó. Chất thay thế cụ thể có thể được sử dụng phù hợp với bất kỳ định nghĩa, yêu cầu bảo hộ hoặc phương án thực hiện xác định trên đây hoặc sau đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

N2-(4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methyl-2-pyridyl)-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-N4-(1-methyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimethylpyrazol-3-yl)-5-[3-methylpiperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1-etyl-5-metyl-pyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

4-xyclopropyl-6-[[4-[(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)amino]-5-[3-metyl piperazin-1-yl] pyrimidin-2-yl]amino]-2-metyl-pyridin-3-cacbonitrin;

N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclobutyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-floro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3-metyl piperazin-1-yl)-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin];

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; và

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; cũng như muối dược dụng, phức chất, hydrat, solvat, chất hồ biến, chất đa hình, hỗn hợp triệt quang, dạng quang hoạt

và dẫn xuất có hoạt tính dược lý của nó.

Theo khía cạnh khác, hợp chất theo sáng chế được tạo thành dưới dạng đồng phân đối hình dạng R.

Theo khía cạnh khác, hợp chất theo sáng chế được tạo thành dưới dạng đồng phân đối hình dạng S hoặc hỗn hợp triệt quang.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ:

Mẫu 1: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-(4-metyl piperazin-1-yl)-N4-(1-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 2: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 3: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1-etyl-5-metylpyrazol-3-yl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 4: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 5: N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 6: 4-xyclopropyl-6-[[4-[(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)amino]-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2-yl]amino]-2-metyl-pyridin-3-cacbonitrin;

Mẫu 7: N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 8: N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3S)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 9: N2-(4-xyclobutyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 10: N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 11: N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 12: N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 13: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

Mẫu 14: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; và

Mẫu 15: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; cũng như muối được dụng, phức chất, hydrat, solvat, chất hồ biến, chất đa hình, hỗn hợp triệt quang, dạng quang hoạt và dẫn xuất có hoạt tính dược lý của nó.

Theo phương án thực hiện cụ thể tiếp theo, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm: N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)pyrimidin-2,4-diamin và chất chuyển hóa có hoạt tính của nó N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin.

Theo phương án thực hiện cụ thể tiếp theo, sáng chế đề xuất hợp chất N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin.

Theo phương án thực hiện cụ thể tiếp theo, sáng chế đề xuất hợp chất N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dụng của nó được sản xuất để sử dụng làm thuốc chữa bệnh.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để sản xuất thuốc chữa bệnh, cụ thể là thuốc để ức chế sinh trưởng của kí sinh trùng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất thuốc chữa bệnh chứa hợp chất của công thức (I), hoặc muối của hợp chất của công thức (I) với axit hoặc bazơ được dùng.

Những loại thuốc này được sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong điều trị bệnh sốt rét gây ra bởi tất cả các loài plasmodium như *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* và *P. knowlesi*.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó để sử dụng trong điều trị và/hoặc dự phòng bệnh sốt rét ở động vật máu nóng, cụ thể như ở người.

Hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó, để điều trị trị liệu và điều trị dự phòng cho động vật, bao gồm con người, cụ thể là trong điều trị bệnh sốt rét gây ra bởi các loài plasmodium, thường được công thức hóa phù hợp với thực hành được tiêu chuẩn dưới dạng dược phẩm.

Theo đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó, và ít nhất một chất mang, chất pha loãng, hoặc tá dược được dùng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh sốt rét gây ra bởi các loài plasmodium ở động vật máu nóng, cụ thể như ở người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó, để sử dụng trong việc tạo ra hiệu lực kháng sốt rét ở động vật máu nóng, cụ thể như ở người.

Dược phẩm

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm có chứa hợp chất của công thức (I), hoặc muối được dùng của nó, và chất pha loãng hoặc chất mang được dùng.

Thuật ngữ “được dùng” bao gồm các hợp chất, nguyên liệu, thành phần, và/hoặc các dạng bào chế mà (thuộc phạm vi đánh giá y học) phù hợp để sử dụng trong tiếp xúc với mô của người và động vật mà không có độc tính quá mức, kích ứng, phản ứng dị ứng, hoặc các vấn đề khác hoặc biến chứng, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Hợp chất của công thức (I) có thể tạo thành muối axit hoặc bazơ được dùng ổn định, và trong trường hợp sử dụng hợp chất dưới dạng muối có thể phù hợp.

Muối axit có thể được lựa chọn trong nhóm bao gồm, nhưng không giới hạn, axetat, adipat, ascorbat, benzoat, benzensunfonat, bicacbonat, bisunfat, butyrat, camphorat, camphorsunfonat, cholin, xitric, xyclohexyl sunfamat, diethylendiamin, etansunfonat, fumarat, glutamat, glycolat, hemisunfat, 2-hydroxyetylsunfonat, heptanoat, hexanoat, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, hydroxymaleat, lactat, malat, maleat, metansunfonat, meglumin, 2-naphtalensunfonat, nitrat, oxalat, pamoat, persunfat, phenylaxetat, photphat, diphotphat, picrat, pivalat, propionat, quinat, salixylat, stearat, xucxinat, sunfamat, sunfanilat, sunfat, tartrat, tosylat (p-toluensunfonat), trifloroaxetat, và undecanoat. Ví dụ về muối bazơ bao gồm muối amoni; muối kim loại kiềm như muối natri, liti và; muối kim loại kiềm thổ như muối nhôm, canxi và magie; muối với bazơ hữu cơ như muối dixyclohexylamin và N10 metyl-D-glucamin; và muối với axit amin như lyzin, ornithin, v.v... Ngoài ra, nhóm chứa bazơ nitơ có thể được tạo thành bazơ bậc bốn cùng với các chất như: alkyl halogenua phân tử thấp, như metyl, etyl, propyl, và butyl halogenua; dialkyl sunfat như dimetyl, dietyl, dibutyl, diamyl sunfat; halogenua mạch dài như decyl, lauryl, myristyl và stearyl halogenua; arylalkyl halogenua như benzyl bromua và các chất khác. Dung dịch muối sinh lý không độc là tốt nhất, mặc dù các muối khác có thể hữu dụng, như trong quá trình tách hoặc tinh sạch sản phẩm.

Các muối này có thể được tạo thành bằng cách thông thường, cụ thể là bằng phản ứng của bazơ tự do với một hoặc nhiều đương lượng axit thích hợp trong dung môi hoặc môi trường mà trong đó muối không hòa tan, hoặc trong dung môi như nước, mà được loại bỏ trong chân không hoặc bằng cách sấy đông khô hoặc bằng phương pháp trao đổi anion của muối cho anion khác trên nhựa trao đổi ion phù hợp.

Dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng phù hợp để sử dụng qua đường uống (cụ thể như viên nén, viên ngậm, viên nang cứng hoặc mềm, dạng huyền phù trong nước hoặc trong dầu, dạng nhũ tương, dạng bột tán hoặc hạt nhỏ, xi-rô hoặc cồn ngọt), để sử dụng tại chỗ (cụ thể như kem, thuốc mỡ, dạng gel, hoặc dung dịch hoặc nhũ tương trong nước hoặc trong dầu), để sử dụng qua đường xông hít (cụ thể như bột mịn hoặc sol khí lỏng), để sử dụng bằng cách thổi vào (cụ thể như dạng bột mịn), hoặc để sử dụng ngoài đường tiêu hóa (cụ thể như dung dịch nước hoặc dầu vô trùng để tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm bắp hoặc thuốc đạn dùng qua đường hậu môn).

Dược phẩm theo sáng chế có thể nhận được bằng phương pháp thông thường sử dụng các tá dược thông thường đã biết trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Do đó, dược phẩm dành cho sử dụng qua đường uống có thể bao gồm, cụ thể như, một hoặc nhiều chất tạo màu, chất ngọt, hương liệu và/hoặc chất bảo quản.

Tá dược được dùng phù hợp cho công thức viên nén bao gồm, cụ thể như, chất pha loãng trơn như lactoza, natri cacbonat, canxi photphat hoặc canxi cacbonat; chất tạo hạt và chất phân tán như tinh bột ngô hoặc axit algenic, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột natri glycollat; chất kết dính như tinh bột; chất bôi trơn dưới dạng magie stearat, axit stearic hoặc bột talc (một loại khoáng vật magie hydrat silicat), polyetylen glycol, và silic; chất bảo quản như etyl hoặc propyl *p*-hydroxybenzoat; và chất chống oxy hóa như axit ascorbic. Công thức viên nén có thể không được bọc hoặc được bọc hoặc để thay đổi tính hòa tan của chúng và sự hấp thụ sau đó của các thành phần hoạt tính trong đường tiêu hóa, hoặc để cải thiện tính ổn định và/hoặc hình thức của chúng, trong cả hai trường hợp, sử dụng chất và phương pháp bọc thông thường đã biết trong cùng lĩnh vực kỹ thuật.

Cụ thể là, các viên nén và viên nang để sử dụng qua đường uống còn có thể chứa các tá dược thông thường bao gồm, nhưng không giới hạn, chất độn, chất phân ly và chất làm ẩm. Chất độn bao gồm, nhưng không giới hạn, lactoza, đường, xenluloza vi kết tinh, tinh bột ngô, canxi photphat, và sorbitol.

Chất kết dính bao gồm, nhưng không giới hạn, xi-rô, acacia, gelatin, sorbitol, tragacanth (nhựa cây dương hoàng kỳ), chất nhầy của tinh bột và polyvinylpyrrolidon.

Viên nén có thể được bọc theo phương pháp đã biết trong cùng lĩnh vực kỹ thuật. Cụ thể là, viên nén và viên nang dùng cho đường uống có thể chứa tá dược thông thường bao gồm, nhưng không giới hạn, chất kết dính, chất độn, chất bôi trơn, chất phân tán và chất làm ẩm.

Dược phẩm để sử dụng qua đường uống có thể ở dạng viên nang gelatin cứng mà trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trơ, cụ thể như, canxi cacbonat, canxi photphat hoặc cao lanh, hoặc viên nang gelatin mềm mà trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc dầu như dầu lạc, parafin lỏng, hoặc dầu ô liu.

Dịch huyền phù trong nước thường chứa thành phần hoạt tính ở dạng bột mịn hoặc dạng hạt nano hoặc micro hóa cùng với một hoặc nhiều chất tạo dung dịch huyền phù, cụ thể như cacboxymetylxenluloza, metyloxenluloza, hydroxypropyl metyloxenluloza, natri alginat, polyvinyl-pyrrolidon, gồm tragacanth và gồm acacia; chất phân tán hoặc chất làm ẩm như lexitin hoặc sản phẩm trùng ngưng của alkylen oxit với axit béo (cụ thể như polyoxyetylen seartat), hoặc sản phẩm trùng ngưng của etylen oxit với rượu béo mạch dài, cụ thể như heptadecaetylenoxycetanol, hoặc sản phẩm trùng ngưng của etylen oxit với một phần este có nguồn gốc từ axit béo và hexitol như polyoxyetylen sorbitol monooleat, hoặc sản phẩm trùng ngưng của etylen oxit với một phần este có nguồn gốc từ axit béo và hexitol anhydrit, cụ thể như polyetylen sorbitan monooleat. Dịch huyền phù trong nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản như etyl hoặc propyl p-hydroxybenzoat; chất chống oxy hóa như axit ascorbic; chất tạo màu; chất thơm; và/hoặc chất tạo ngọt như sacaroza, sacarin hoặc aspartam.

Dịch huyền phù trong dầu có thể được công thức hóa bằng cách tạo huyền phù thành phần hoạt tính trong dầu thực vật như dầu lạc, dầu ô liu, dầu vừng hoặc dầu dừa hoặc dầu khoáng như parafin lỏng. Dịch huyền phù trong dầu cũng có thể chứa

chất làm đặc như sáp ong, parafin cứng hoặc xetyl alcohol. Chất tạo ngọt như các chất nêu trên, và chất thơm có thể được bổ sung để tạo ra chế phẩm thơm ngon dùng qua đường uống. Các dược phẩm này có thể được bảo quản bằng cách bổ sung chất chống oxy hóa như axit ascorbic.

Bột phân tán và hạt phù hợp cho sản xuất dịch huyền phù trong nước bằng cách bổ sung nước thường chứa thành phần hoạt tính cùng với chất phân tán hoặc chất làm ẩm, chất tạo huyền phù và một hoặc nhiều chất bảo quản. Chất phân tán hoặc chất làm ẩm phù hợp và chất tạo huyền phù đã được minh họa bởi phần đã đề cập ở trên. Các tá dược khác như chất tạo ngọt, chất thơm và chất màu cũng có thể có mặt.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, cụ thể như dầu ô liu hoặc dầu lạc, hoặc dầu khoáng, cụ thể như parafin lỏng hoặc hỗn hợp bất kỳ của chúng. Chất tạo nhũ tương phù hợp có thể là, cụ thể như, gồm tự nhiên như gồm acacia hoặc gồm tragacanth, photphatit tự nhiên như đậu nành, lexitin, este hoặc một phần este có nguồn gốc từ axit béo và hexitol anhydrit (cụ thể như sorbitan monooleat) và sản phẩm trùng ngưng của một phần este nói trên với etylen oxit như polyoxyetylen sorbitan monooleat. Dịch nhũ tương cũng có thể chứa chất ngọt, chất thơm và chất bảo quản.

Xi-rô và cồn ngọt cũng có thể được công thức hóa cùng với chất ngọt như glyxerol, propylen glycol, sorbitol, aspartam hoặc sacaroza, và cũng có thể chứa chất làm dịu, chất bảo quản, chất thơm và/hoặc chất màu.

Dược phẩm cũng có thể ở dạng huyền phù trong nước hoặc trong dầu có thể tiêm được vô trùng, mà có thể được công thức hóa theo phương pháp đã biết sử dụng một hoặc nhiều chất phân tán hoặc chất làm ẩm hoặc chất tạo huyền phù phù hợp, mà đã được đề cập ở trên. Chế phẩm có thể tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc dịch huyền phù có thể tiêm vô trùng trong chất pha loãng hoặc chất hòa tan chấp nhận được ngoài đường tiêu hóa không độc, cụ thể như dung dịch trong 1,3-butanediol.

Dược phẩm để sử dụng bằng cách xông, hít có thể ở dạng sol khí áp lực thông thường được bố trí để phân phối thành phần hoạt tính hoặc dưới dạng sol khí chứa

chất rắn mịn hoặc sương lỏng. Chất đẩy sol khí thông thường như hydrocacbon flo hóa dễ bay hơi hoặc hydrocacbon cũng có thể được sử dụng và thiết bị tạo bình phun tạo sol khí được bố trí thuận tiện để phân phối một lượng được điều chỉnh thành phần hoạt tính.

Dược phẩm để sử dụng cũng có thể được công thức hóa dưới dạng chế phẩm hạt mỡ. Chế phẩm hạt mỡ có thể bao gồm các hạt mỡ mà xâm nhập vào tế bào quan tâm hoặc lớp sừng, và hợp nhất với màng tế bào, kết quả là vận chuyển các thành phần của hạt mỡ vào tế bào. Các dạng công thức phù hợp khác có thể sử dụng niosome. Niosome là túi lipit tương tự như hạt mỡ, với màng bao gồm phần lớn là lipit không ion, một số dạng của nó có hiệu quả để vận chuyển các hợp chất qua lớp sừng.

Dược phẩm để sử dụng cũng có thể được công thức hóa dưới dạng chế phẩm dạng “kho chứa” (depot), mà có thể được sử dụng bằng cách cấy dưới da hoặc tiêm bắp. Dược phẩm có thể được công thức hóa cùng với nguyên liệu polime hoặc kỵ nước phù hợp (dưới dạng nhũ tương trong dầu chấp nhận được), nhựa trao đổi ion, hoặc dẫn xuất ít tan.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng giải phóng kéo dài hoặc từ hệ thống phân phối thuốc giải phóng kéo dài.

Để biết thêm thông tin về công thức, phân phối thuốc cũng như kỹ thuật chế biến, có thể tham khảo Khoa học dược phẩm Remington (tái bản lần thứ 21, 20005, Đại học khoa học Philadelphia, Lippincott William & Wilkins hoặc trong *Khoa học và thực hành dược khoa (Remington: Khoa học và thực hành dược khoa)*, tái bản lần thứ 22, 2012, Lloyd, Ed. Allen, Ấn phẩm dược mà được trích dẫn dưới dạng tham khảo).

Lượng thành phần hoạt tính mà được kết hợp với một hoặc nhiều tá dược để tạo ra dạng liều đơn sẽ cần thiết phải thay đổi tùy thuộc vào vật chủ được điều trị và con đường sử dụng cụ thể. Cụ thể là, công thức để dùng qua đường uống cho người thường bao gồm, 0,5-4 g thành phần hoạt tính được trộn với một lượng tá dược phù hợp và thuận tiện mà có thể thay đổi từ 5-98% theo khối lượng tổng số của dược phẩm. Dạng liều đơn thường chứa khoảng 1-5 mg thành phần hoạt tính. Để biết thêm

thông tin về con đường sử dụng và cơ chế liều dùng, có thể tham khảo chương 25.3 trong tập 5 của Hóa dược toàn tập (*Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board*), *Ấn phẩm Pergamon 1990 và Khoa học dược phẩm*).

Như đã nêu trên, kích thước của liều bào chế cần thiết cho việc điều trị triệu chứng hoặc điều trị dự phòng tình trạng bệnh cụ thể sẽ cần phải được thay đổi tùy thuộc vào vật chủ được điều trị, con đường sử dụng và mức độ nghiêm trọng của bệnh được điều trị. Tốt nhất là liều hàng ngày trong khoảng 1-25 mg/kg được sử dụng. Theo đó, liều tối đa có thể được xác định bởi người thực hành, người mà đang điều trị cho bệnh nhân cụ thể bất kỳ.

Ở bất kỳ dược phẩm, quy trình, phương pháp, cách sử dụng, thuốc, và tính năng sản xuất được đề cập ở đây, bất kỳ khía cạnh nào của hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây cũng được áp dụng.

Con đường sử dụng

Dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng theo cách bất kỳ, bao gồm, nhưng không giới hạn, đường uống, đường ngoài tiêu hóa, ngậm dưới lưỡi, áp da, âm đạo, hậu môn, khuếch tán qua màng nhầy, tại chỗ, qua đường hô hấp, sử dụng qua miệng hoặc mũi, hoặc sự kết hợp của chúng. Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng ở dạng cấy ghép, mà cho phép giải phóng chậm thành phần dược phẩm cũng như tiêm truyền chậm có kiểm soát. Theo phương án thực hiện ưu tiên, dẫn xuất triaminopyrimidin theo sáng chế được sử dụng theo đường uống.

Theo phương án thực hiện cụ thể, hợp chất theo sáng chế được sử dụng với liều cho người khoảng 1-1.500 mg, cụ thể là khoảng 200-700 mg. Theo phương án thực hiện cụ thể khác, hợp chất theo sáng chế được sử dụng với liều dưới 600 mg (cụ thể là khoảng 260-520 mg).

Sáng chế sẽ được mô tả làm rõ hơn thông qua các ví dụ sau đây mà không có ý xu hướng giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

Liều được sử dụng, dưới dạng liều đơn hoặc liều đa, cho từng cá thể sẽ thay đổi phụ thuộc vào sự thay đổi các nhân tố, bao gồm các thuộc tính dược động học,

tình trạng và đặc điểm của bệnh nhân (giới tính, tuổi, thể trọng, sức khỏe, kích thước), mức độ triệu chứng, phương pháp điều trị đồng thời, tần số điều trị và hiệu quả mong muốn.

Kết hợp

Các hợp chất theo sáng chế được mô tả trong tài liệu này có thể được áp dụng dưới dạng liệu pháp duy nhất hoặc có thể bao gồm (ngoài hợp chất theo sáng chế) một hoặc nhiều chất và/hoặc phương pháp điều trị khác. Việc đồng điều trị có thể đạt được bằng cách sử dụng đồng thời, tuần tự hoặc riêng rẽ các thành phần riêng lẻ trong điều trị. Trong sử dụng tuần tự hoặc riêng rẽ, việc chậm trễ trong sử dụng thành phần thứ hai không nên làm mất tác dụng có lợi của sự kết hợp.

Theo phương án thực hiện cụ thể theo sáng chế, hợp chất theo sáng chế và công thức được phẩm của nó có thể được sử dụng kết hợp với đồng tác nhân có lợi trong điều trị bệnh sốt rét.

Các lớp và các chất phù hợp bao gồm một hoặc nhiều chất kháng sốt rét có lợi trong điều trị và phòng ngừa bệnh sốt rét, cụ thể như, artemisinin hoặc dẫn xuất artemisinin (cụ thể như artemether hoặc dihydroartemisinin), cloroquinin, mefloquin, quinin, atoquine/proguanil, doxycyclin, hydroxycloquinin, halofantrin, pyronaridin, lumefantrin, pyrimethamin-sulfadoxin và piperazin.

Ngoài ra còn bao gồm, amodiaquin, atovaquone, proguanil hydroclorua,

Spiro[3H-indole-3,1'-[1H]pyrido[3,4-b]indol]-2(1H)-one,5,7'-dicloro-6'-floro-2',3',4',9'-tetrahydro-3'-metyl-,(1'R,3'S)-] (Số đăng ký CAS: 1193314-23-6); lưu huỳnh, [4-[[2-(1,1-difloroethyl)-5-metyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]amin]phenyl] pentafloro-] (Số đăng ký CAS: 1282041-94-4); Morpholin, 4-[2-(4-cis-dispiro[xyclohexan-1,3'-[1,2,4]trioxolan-5',2''-trixyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan]-4-yl phenoxy)etyl]-] (Số đăng ký CAS: 1029939-86-3).

Đồng tác nhân có lợi khác trong theo sáng chế được chọn từ nhóm gồm: quinacrin, primaquin, tafenaquin, doxycyclin, ferroquin, và arterolan.

Sáng chế bao gồm việc sử dụng ít nhất một hợp chất theo sáng chế hoặc công thức được phẩm của nó, trong đó hợp chất theo sáng chế hoặc công thức được phẩm của nó được sử dụng riêng lẻ, đồng thời hoặc tuần tự cùng với phác đồ điều trị hoặc đồng tác nhân có lợi khác trong điều trị bệnh sốt rét (tức là phác đồ điều trị nhiều thuốc), với liều hiệu quả. Hợp chất theo sáng chế hoặc công thức được phẩm của nó mà được sử dụng đồng thời cùng với đồng tác nhân nói trên có thể được sử dụng trong cùng hoặc khác được phẩm và bởi cùng hoặc khác con đường sử dụng.

Bệnh nhân

Theo phương án thực hiện, bệnh nhân theo sáng chế đang bị sốt rét.

Theo phương án thực hiện khác, bệnh nhân theo sáng chế là bệnh nhân có nguy cơ cao bị nhiễm *Plasmodium*.

Theo phương án thực hiện khác, bệnh nhân theo sáng chế là bệnh nhân có nguy cơ cao bị nhiễm *Plasmodium falciparum*.

Theo phương án thực hiện khác, bệnh nhân theo sáng chế là bệnh nhân có nguy cơ cao bị nhiễm *Plasmodium vivax*.

Sử dụng theo sáng chế

Theo phương án thực hiện, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất theo công thức (I) như được mô tả ở đây, cũng như muối được dụng, hydrat, solvat, chất đa hình, chất hỗn biến, đồng phân hình học, hoặc dạng quang hoạt của nó trong sản xuất được phẩm để điều trị hoặc dự phòng bệnh sốt rét.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất phương pháp phòng hoặc điều trị bệnh sốt rét ở bệnh nhân. Phương pháp bao gồm việc sử dụng liều hiệu quả hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng hoặc dẫn xuất có hoạt tính dược lý của nó hoặc công thức được phẩm của nó cho bệnh nhân cần thiết.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất hợp chất theo sáng chế cũng như muối được dụng hoặc dẫn xuất có hoạt tính dược lý của nó hoặc công thức được phẩm của nó, để sử dụng trong điều trị hoặc dự phòng bệnh sốt rét.

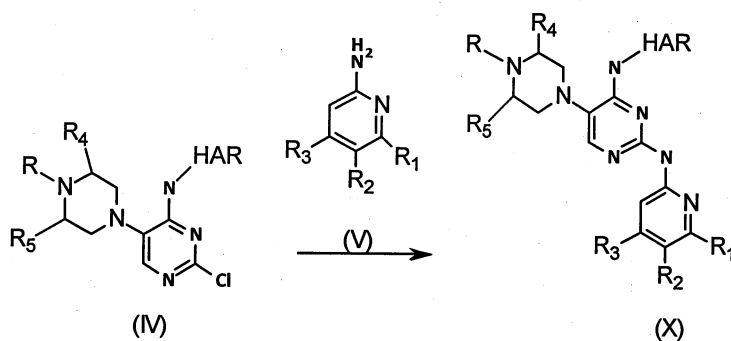
Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc phương pháp theo sáng chế trong đó hợp chất theo sáng chế được sử dụng kết hợp với đồng tác nhân có lợi trong điều trị bệnh sốt rét.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm hợp chất theo sáng chế kết hợp với đồng tác nhân có lợi trong điều trị bệnh sốt rét.

Các hợp chất và dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng theo phương pháp để bất hoạt sự nhiễm kí sinh trùng trong tế bào bao gồm bước cho tế bào tiếp xúc với lượng hiệu của của ít nhất một hợp chất theo sáng chế. Theo khía cạnh cụ thể, tế bào là tế bào linh trưởng như tế bào hồng cầu, cụ thể là tế bào của người.

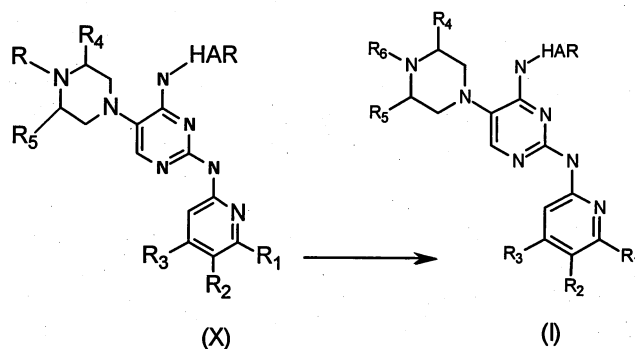
Quy trình

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất quy trình để bảo chế hợp chất của công thức (I) bao gồm bước phản ứng của dẫn xuất theo công thức (IV) với dẫn xuất của công thức (V) để tạo ra chất trung gian của công thức (X) dưới điều kiện xúc tác tạo nhóm amin của paladi (cụ thể là sử dụng 9,9-Dimetyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthen và Tris(dibenzylideneaxeton) dipaladi làm chất xúc tác) như sau:



trong đó R là nhóm bảo vệ (cụ thể là Boc: nhóm bảo vệ *tert*-Butyloxycarbonyl)

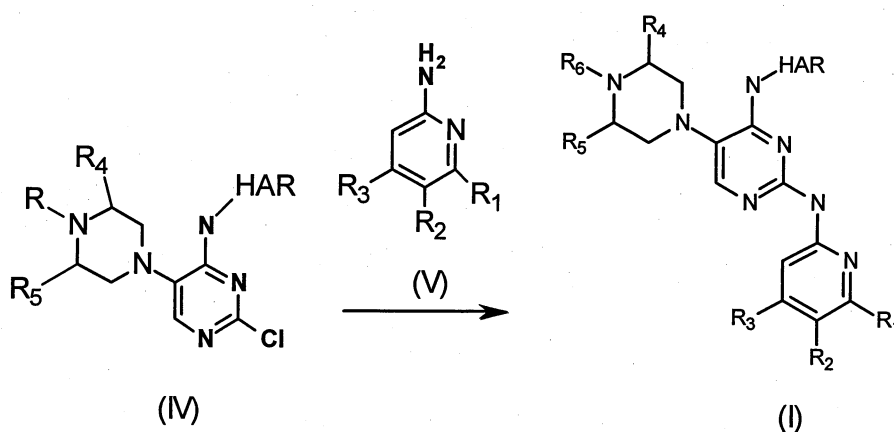
Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất quy trình để bào chế hợp chất của công thức (I) bao gồm bước phản ứng của dẫn xuất theo công thức (X) để dẫn đến hợp chất của công thức (I) dưới điều kiện axit (cụ thể là axit clohydric 4N hoặc axit trifloro axetic) như sau:



trong đó R là nhóm bảo vệ (cụ thể là Boc).

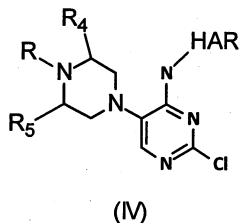
Theo bước tùy chọn khác, hợp chất của công thức (I) trong đó $R_6 = H$ còn được chuyển đổi dưới điều kiện khử amin hóa để thành hợp chất tiếp theo của công thức (I) trong đó $R_6 = \text{alkyl}$.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất quy trình để bào chế hợp chất của công thức (I) bao gồm bước phản ứng của dẫn xuất theo công thức (IV) với dẫn xuất của công thức (V) để dẫn đến chất trung gian của công thức (X) dưới điều kiện amin hóa được xúc tác bởi paladi (cụ thể là sử dụng Dimetyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthen và Tris(dibenzylideneaxeton) dipaladi làm chất xúc tác) như sau:



trong đó R là R_6 và R_6 là alkyl.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chất trung gian của công thức (IV) trong đó R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa trong tài liệu này và R được chọn từ nhóm bảo vệ (cụ thể là Boc) và R_6 :



Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chất trung gian của công thức (V) được chọn từ nhóm sau:

tert-butyl 4-(2-chloro-4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methyl piperazin-1-carboxylat;

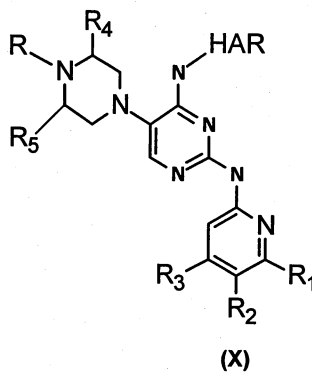
tert-butyl 4-(2-chloro-4-((1-ethyl-5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methyl piperazin-1-carboxylat;

tert-butyl 4-(2-chloro-4-((2-methyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methyl piperazin-1-carboxylat;

tert-butyl 4-(2-chloro-4-((1-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methyl piperazin-1-carboxylat; và

2-chloro-N-(1-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(4-methyl piperazin-1-yl)pyrimidin-4-amin.

Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chất trung gian của công thức (X) trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa trong tài liệu này và R là nhóm bảo vệ (cụ thể là Boc):



Theo phương án thực hiện khác, sáng chế đề xuất chất trung gian của công thức (X) được chọn từ nhóm sau:

tert-butyl 4-(2-((4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-etyl-5-metyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((5-cyano-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)-2-((4-etyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)-2-((4-etyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((4-xyclobutyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat;

tert-butyl 4-(2-((5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat;
và

tert-butyl 4-(2-((3-xyclopropyl-4-floro-5-metylphenyl)amino)-4-((2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat.

Nếu không có sẵn trên thị trường, các nguyên liệu khởi đầu cần thiết các cách thức được mô tả ở đây có thể được tạo ra bằng phương thức được chọn từ các kỹ thuật hóa học hữu cơ tiêu chuẩn, các kỹ thuật tương tự như phương pháp tổng hợp đã biết hiện nay, các hợp chất có cấu trúc tương tự, hoặc các kỹ thuật mà tương tự như cách thức được mô tả hoặc được mô tả trong các ví dụ.

Cần lưu ý rằng, nhiều nguyên liệu khởi đầu cho phương pháp tổng hợp được mô tả ở đây có sẵn trên thị trường và/hoặc được đề cập rộng rãi trong các tài liệu khoa học, hoặc có thể được tạo ra từ các hợp chất có sẵn trên thị trường bằng cách sử dụng quy trình cải biến được đề cập trong các tài liệu khoa học. Có thể tham khảo thêm trong *Hóa học hữu cơ nâng cao, tái bản lần thứ 5, bởi Jerry March và Michael Smith, xuất bản bởi John Wiley & Sons 2001*, cho hướng dẫn chung về điều kiện phản ứng và chất phản ứng.

Để cho phù hợp, trong một số phản ứng được đề cập trong tài liệu này, có thể cần phải bảo vệ nhóm mẫn cảm bất kỳ trong các hợp chất. Những trường hợp cần hoặc mong muốn bảo vệ, cũng như phương pháp bảo vệ phù hợp đều có thể được biết bởi những người có trình độ trung bình trong cùng lĩnh vực. Các nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng theo thực hành tiêu chuẩn như được mô tả trên đây (Xem *T.W. Greene, Các nhóm bảo vệ trong tổng hợp hữu cơ, được xuất bản bởi John Wiley và Sons, 1991*).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế được bộc lộ thông qua, nhưng không giới hạn, các ví dụ sau đây, trong đó, trừ khi có quy định khác:

(i) làm bay hơi được thực hiện bằng bay hơi quay trong chân không và quy cách tiến hành được thực hiện sau khi loại bỏ chất rắn lắng cặn bằng cách lọc;

(ii) nhiệt độ được biểu thị dưới dạng °C; các hoạt động được thực hiện ở nhiệt độ phòng, thường là trong phạm vi 18-26°C mà không loại trừ không khí trừ khi có quy định khác, hoặc trừ khi người có trình độ làm việc dưới bầu khí trơ;

(iii) sắc ký cột (bằng quy trình nhanh) được sử dụng để tinh sạch các hợp chất và được thực hiện trên Merk Kieselgel silica (Art. 9385) trừ khi có quy định khác;

(iv) nói chung, quá trình phản ứng được tiếp nối bởi sắc ký bản mỏng (TLC), sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), hoặc sắc ký lỏng ghép đầu dò khối phổ (LCMS) và thời gian phản ứng được đưa ra chỉ mang tính minh họa; hiệu suất đưa ra chỉ mang tính minh họa và không nhất thiết phải đạt được tối đa;

(v) cấu trúc của sản phẩm cuối cùng theo sáng chế thường được xác nhận bằng kỹ thuật cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và kỹ thuật khối phổ (MS). Phổ cộng hưởng từ proton thường được xác định trong dimethyl sulfoxide (DMSO-d₆) trừ khi có quy định khác, sử dụng quang phổ kế Bruker DRX-300 hoặc quang phổ kế Bruker DRX-400, vật hành ở phạm vi thể mạnh tương ứng 300 MHz, hoặc 400 MHz. Trong trường hợp phổ NMR phức tạp, chỉ tín hiệu chẩn đoán được báo cáo. Các dịch chuyển hóa học được trình bày ở phần triệu (ppm) từ tetrametylsilan dưới dạng tiêu chuẩn bên ngoài (quy mô δ) và nhiều đỉnh được trình bày như sau: s, đơn; d, kép; dd, kép của kép; dt, kép của ba; dm, kép của nhiều; t, ba; m, nhiều; br, dải (s, singlet; d, doublet; dd, doublet of doublets; dt, doublet of triplets; dm, doublet of multiplets; t, triplet, m, multiplet; br, broad). Dữ liệu khối phổ bắn phá nguyên tử nhanh bắn phá (FAB) thường nhận được bằng cách sử dụng quang phổ kế Platform (được cung cấp bởi Micromass) chạy trong khối phổ và, khi thích hợp, hoặc dữ liệu ion dương hoặc dữ liệu ion âm được thu thập hoặc sử dụng Agilent 1100 series LC/MS được trang bị với

Sedex 75ELSD, và khi thích hợp, hoặc dữ liệu ion dương hoặc dữ liệu ion được thu thập. Ion chính khối lượng nhỏ nhất được báo cáo cho các phân tử mà đồng vị phân rã dẫn đến nhiều đỉnh khối phổ (cụ thể như khi clo có mặt). HPLC pha đảo được thực hiện bằng cách sử dụng YMC Pack ODS-AQ (100×20 mmID, kích thước hạt S-5 µm, kích thước lỗ 12 nm) trên công cụ Agilent;

(vi) mỗi chất trung gian được tinh sạch theo yêu cầu tiêu chuẩn cho giai đoạn sau đó và được đặc trưng bởi chi tiết đầy đủ để khẳng định rằng cấu trúc được gán là đúng; độ tinh khiết được đánh giá bằng HPLC, TLC, hoặc NMR và nhận dạng được xác định bằng quang phổ hồng ngoại (IR), quang phổ khối hoặc khối phổ NMR cho phù hợp; và

(vii) các chữ viết tắt sau đây có thể được sử dụng:

ACN – axetonitrin; TLC - sắc ký lớp mỏng; HPLC - sắc ký lỏng hiệu năng cao; MPLC - sắc ký lỏng áp suất trung bình; NMR - khối phổ cộng hưởng từ hạt nhân; DMA Dimethylacetamid - DMSO - dimetylsunfoxit; CDCl₃ - deuterated cloroform; MeOD - deuterated metanol, cụ thể là D₃COD; MS - khối phổ; ESP (hoặc ES) - tia điện; HBSS – dung dịch muối cân bằng Hank; EI - tác động điện tử; APCI - ion hóa hóa học áp suất khí quyển; THF - tetrahydrofuran; DCM - diclorometan; HPMC- Hydroxypropyl Metylxenuloza; MeOH - metanol; DMF - dimetylformamid; EtOAc - etyl axetat; LC/MS - sắc ký lỏng/khối phổ; MTBD - N-metyl-1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]dec-5-en; NADPH – Nicotinamid adenin dinucleotit photphat – dạng khử; PEG - Polyetylen Glycol; RT - nhiệt độ phòng; TEER - điện trở biểu mô Trans (Trans epithelial electric resistance); TFA - axit trifloroaxetic; v/v - tỉ lệ thể tích/thể tích; Boc - t-butoxycarbonyl; Cbz - benzyloxycarbonyl; Bz - benzoyl.

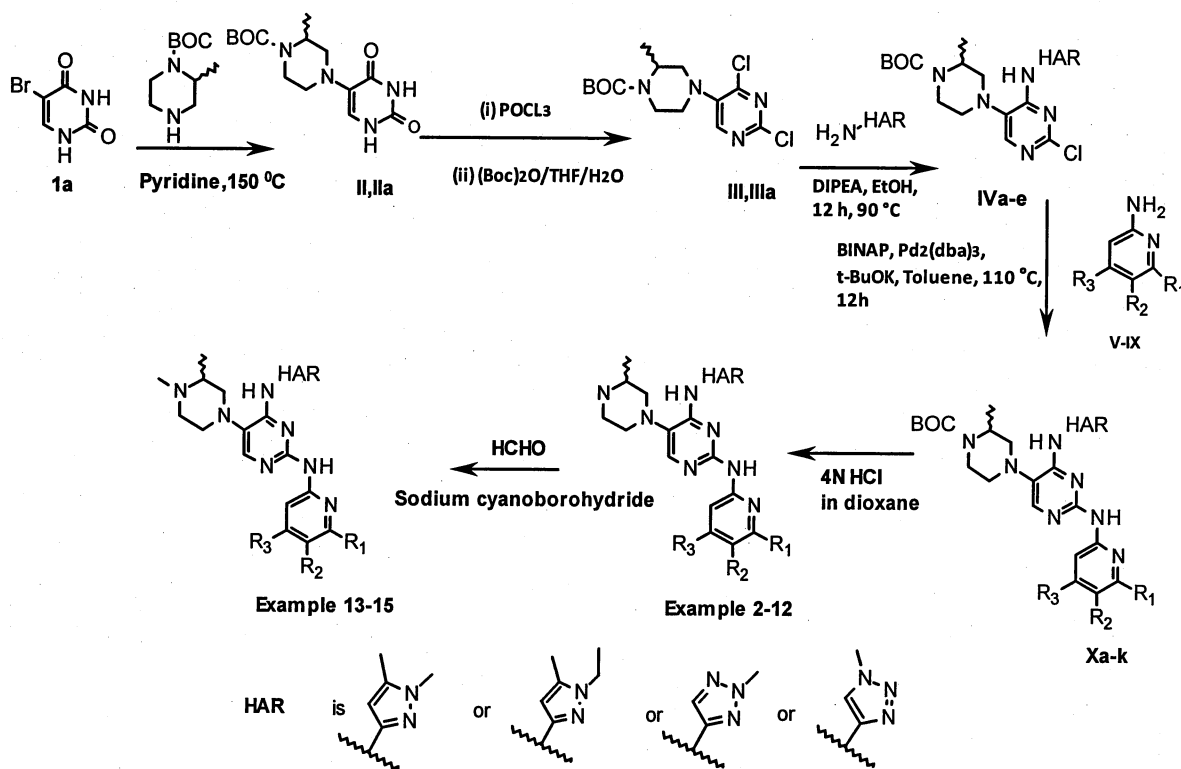
Ví dụ thực hiện sáng chế

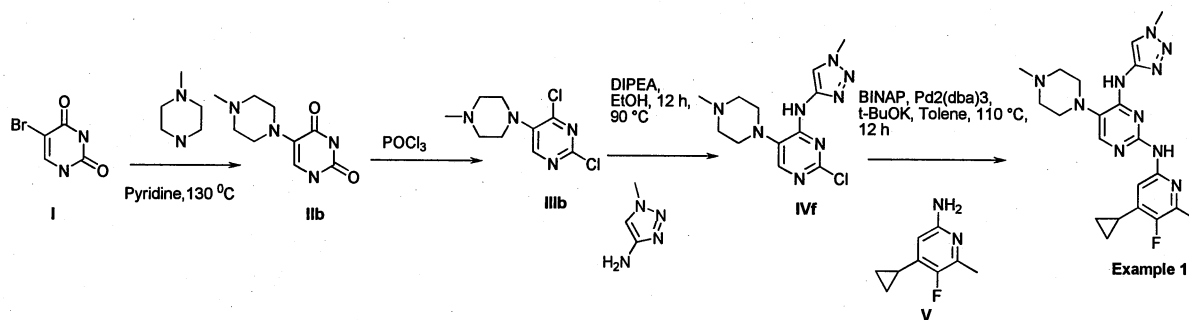
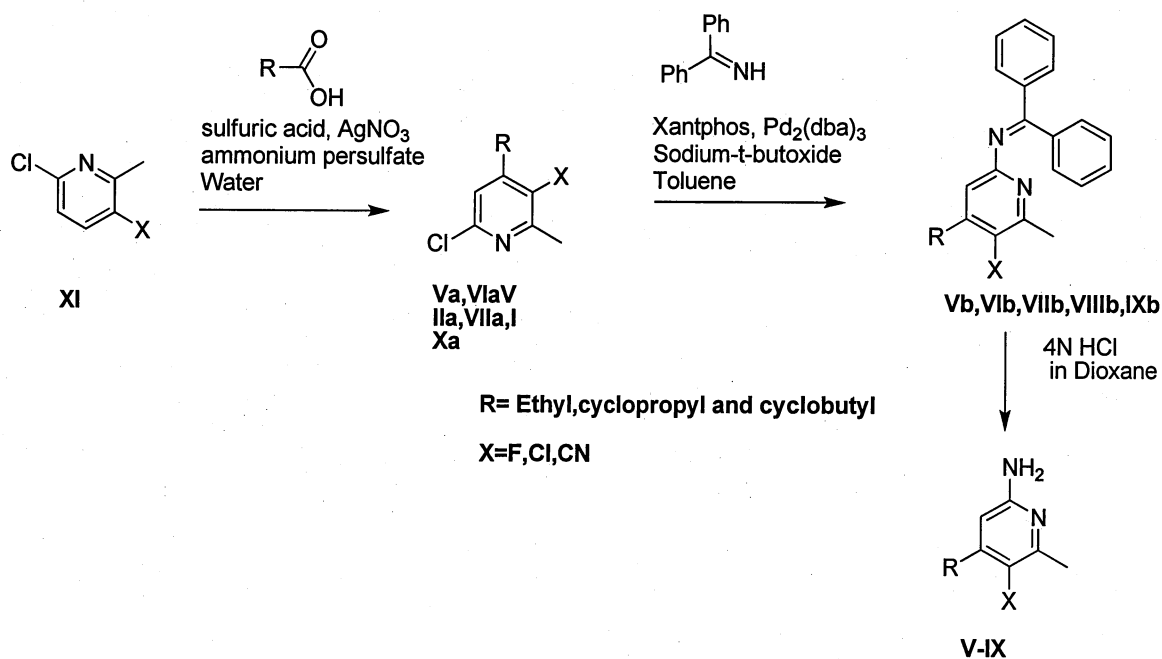
Theo sáng chế, hợp chất của công thức chung (I) có thể được điều chế theo quy trình sau đây. Việc tổng hợp chất trung gian (II-Xk) và hợp chất của công thức chung (I) được mô tả trên các sơ đồ 1, 2 và 3.

Trên các sơ đồ phản ứng, một số tên chất hóa học, kí hiệu có ý nghĩa như sau:

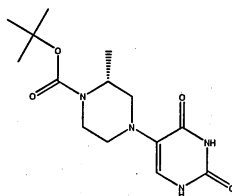
amonium persulfate -	amoni persunfat
cyclopropyl and cyclobutyl -	xyclopropyl và xyclobutyl
ethyl -	etyl
example -	mẫu
in dioxane -	trong dioxan
pyridine -	pyridin
sodium cyanoborohydride -	natri xyanoborohydrua
sodium-t-butoxide -	natri-t-butoxit
sulfuric acid -	axit sunfuric
toluene -	toluen
water -	nước

Sơ đồ tổng hợp 1



Sơ đồ tổng hợp 2Sơ đồ tổng hợp 3Chất trung gian II

(R)-tert-butyl-4-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat



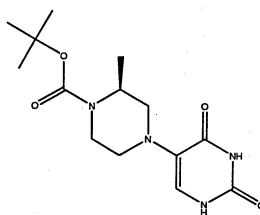
Trong lọ phản ứng vi sóng Biotage, 5-bromopyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (Ia) (24 g, 125,67 mmol, Aldrich) và (R)-tert-butyl 2-methylpiperazin-1-carboxylat (37,8

g, 188,50 mmol, Activate Scientific) được thêm vào pyridin (12 ml) và được chiếu xạ 150°C trong 90 phút. Pyridin được loại bỏ dưới chân không và cặn được đổ vào nước để thu được dịch huyền phù, huyền phù được lọc và được sấy chân không để thu được chất rắn (R)-tert-butyl-4-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (22,00 g, 56,4%). Lưu ý, phản ứng hoàn thành trong 12 mẻ, mỗi mẻ 2 g. Tất cả được kết hợp và hoàn thành quy trình.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,19 (d, $J=6,78$ Hz, 3 H) 1,40 (s, 9 H) 2,30 (d, $J=2,83$ Hz, 1 H) 2,42 (dd, $J=11,30, 3,58$ Hz, 1 H) 2,93 - 3,22 (m, 3 H) 3,72 (d, $J=13,19$ Hz, 1 H) 4,12 (br. s., 1 H) 6,73 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H) 10,51 (br. S., 1 H) 11,10 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 310,09$ cho $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$.

Chất trung gian IIa

(S)-tert-butyl-4-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

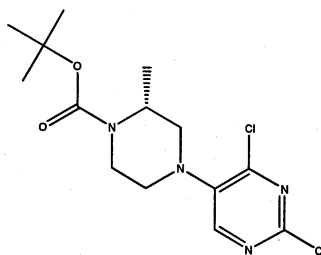


Chất trung gian IIa được điều chế từ 5-bromopyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (Aldrich) và (S)-tert-butyl 2-methylpiperazin-1-carboxylat (Activate Scientific) sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian II.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,19 (d, $J=6,78$ Hz, 3 H) 1,40 (s, 9 H) 2,30 (d, $J=2,83$ Hz, 1 H) 2,42 (dd, $J=11,30, 3,58$ Hz, 1 H) 2,93 - 3,22 (m, 3 H) 3,72 (d, $J=13,19$ Hz, 1 H) 4,12 (br. s., 1 H) 6,73 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H) 10,51 (br. s., 1 H) 11,10 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 310,09$ cho $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_4$.

Chất trung gian III

(R)-tert-butyl 4-(2,4-dicloropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

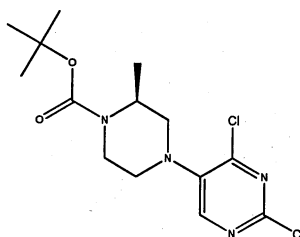


Trong bình cầu 2 lít, (R)-tert-butyl 4-(2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (22 g, 70,89 mmol, chất trung gian II) lấy vào photpho oxyclorea (793 ml, 8506,56 mmol) để thu được huyền phù màu nâu. Hỗn hợp phản ứng được khuấy hồi lưu trong 5-6 giờ, phản ứng được giám sát bằng LCMS và xác định khối lượng cần thiết. Photpho oxyclorea được chưng cất dưới áp suất thấp, dầu còn lại được pha loãng với THF (250 ml) và đá nghiền (400 g), hỗn hợp phản ứng được bazơ hóa đến pH 8. Tiếp đó Di-tert-butyl dicacbonat (22,17 ml, 96,41 mmol, Aldrich) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng metanol và được lọc để loại bỏ muối thừa. Dung môi được loại bỏ bằng cách hút chân không và sản phẩm còn lại được pha loãng với nước (50 ml) và được chiết bằng etyl axetat (500 ml x 3). Lớp hữu cơ được sấy bằng natri sunfat và dung môi được loại bỏ dưới áp suất thấp. Sản phẩm còn lại được chạy trên silica gel và được tinh sạch để thu được chất rắn (R)-tert-butyl 4-(2,4-dichloropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (23,00 g, 93%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,31 (d, $J=6,78$ Hz, 3 H) 1,37 - 1,47 (m, 9 H) 2,70 - 2,93 (m, 2 H) 3,15 - 3,29 (m, 3 H) 3,94 (d, $J=13,94$ Hz, 1 H) 4,33 (br. s., 1 H) 8,11 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 349$ cho $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$.

Chất trung gian IIIa

(S)-tert-butyl 4-(2,4-dichloropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

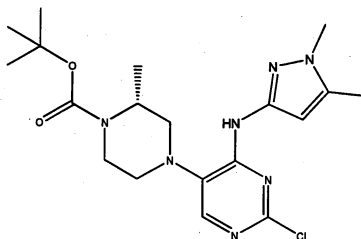


Chất trung gian IIIa được điều chế từ IIa sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian III.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,31 (d, $J=6,78$ Hz, 3 H) 1,37 - 1,47 (m, 9 H) 2,70 - 2,93 (m, 2 H) 3,15 - 3,29 (m, 3 H) 3,94 (d, $J=13,94$ Hz, 1 H) 4,33 (br. s., 1 H) 8,11 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 349$ cho $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2$.

Chất trung gian IVa

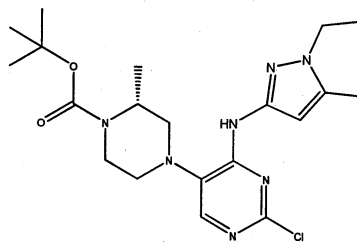
(R)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat



Trong lọ phản ứng vi sóng Biotage 25 ml, (R)-tert-butyl 4-(2,4-dicloropyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat (500 mg, 1,44 mmol, chất trung gian III) và 1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-amin (160 mg, 1,44 mmol, Princeton Bio,) được lấy vào etanol (10 ml). N,N-diisopropyletylamin (0,754 ml, 4,32 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được đưa vào bức xạ vi sóng ở 120°C trong 4 giờ. Phản ứng được giám sát bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. Sản phẩm phản ứng được làm mát và được hút chân không để sấy khô và sản phẩm còn lại được sắc ký với EtoAc/Hexan trên silica gel để thu được chất rắn tinh khiết (R)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat (300 mg, 49,4%) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 422,20$ cho $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{ClN}_7\text{O}_2$.

Chất trung gian IVb

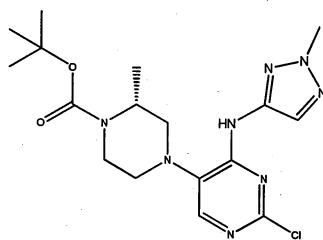
(R)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1-etyl-5-metyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat



Chất trung gian IVb được điều chế từ 1-ethyl,5-metyl-1H-pyrazol-3-amin (ChemCollect) và chất trung gian III sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Iva. Hiệu suất: 63,7%, MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 436,38 cho C₂₀H₃₀ClN₇O₂.

Chất trung gian IVc

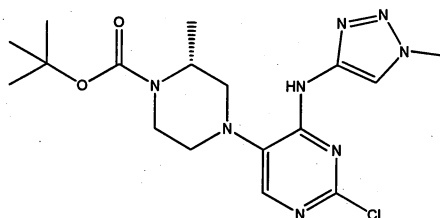
(R)-tert-butyl 4-(2-chloro-4-((2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-cacboxylat



Trong bình cầu 50 ml, 2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-amin hydroclorua (388 mg, 2,88 mmol, ChemBridge) được lấy vào DCM (2 ml). Trietyl amin (200 ml, 1,44 mmol) được bổ sung dưới điều kiện ướp nước đá và được khuấy trong 5 phút. Sản phẩm được làm bay hơi hoàn toàn đến khô. Cặn được hòa tan trong DMF (10 ml) và được làm lạnh bằng cách sử dụng bể nước đá. Natri hydrua (173 mg, 4,32 mmol) được bổ sung và được khuấy ở điều kiện lạnh trong 15 phút và (R)-tert-butyl 4-(2,4-dicloropyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-cacboxylat (500 mg, 1,44 mmol, Chất trung gian III) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được theo dõi bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. DMF được làm bay hơi và tiếp đó dịch huyền phù được phân chia giữa nước và etyl axetat. Lốp hữu cơ được trộn lẫn, được sấy bằng natri sunfat, được cô đặc đến khô và được tinh sạch trên hệ thống CombiFlash để thu được (R)-tert-butyl 4-(2-chloro-4-((2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-cacboxylat (180 mg, 30,6%), MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 409,36 cho C₁₇H₂₅ClN₈O₂.

Chất trung gian IVd

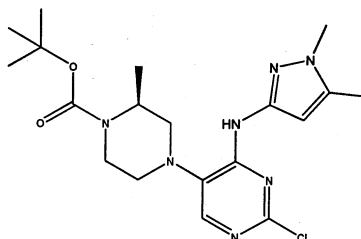
(R)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat



Chất trung gian IVd được điều chế từ 1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-amin hydroclorua (ChemBridge) và chất trung gian III sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Ivc. Hiệu suất: 51%, MS (ES⁺), (M+H)⁺= 409,32 cho C₁₇H₂₅ClN₈O₂.

Chất trung gian IVe

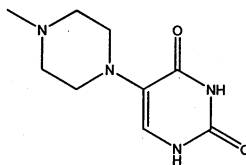
(S)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat



Chất trung gian IVe được điều chế từ 1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-amin (160 mg, 1,44 mmol, Princeton Bio,) và chất trung gian IIIa sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Iva. Hiệu suất: 49%, MS (ES⁺), (M+H)⁺= 422,20 cho C₁₉H₂₈ClN₇O₂,

Chất trung gian IIb

5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion

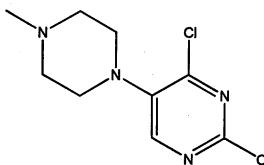


Trong lọ phản ứng lò vi sóng Biotage 20 ml, 5-Bromouracil (3 g, 15,71 mmol, Aldrich) và N-metylpiperazin (2,61 ml, 23,56 mmol, Aldrich) được lấy vào pyridin (15 ml) để thu được huyền phù màu trắng. Lọ được đóng nắp và được đưa vào bức xạ vi sóng trong 45 phút ở 150°C. Phản ứng được giám sát bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. Pyridin được loại bỏ dưới điều kiện chân không và tiếp đó cạn được tán thành bột với etyl axetat và huyền phù được lọc và được sấy chân không để thu được 5-(4-metylpiperazin-1-yl) pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (3,30 g, 100%) chất rắn màu xám tối.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,07 (s, 3 H) 2,43 - 2,49 (m, 4 H) 2,98 - 3,09 (m, 4 H) 7,21 (s, 1H) 10,84 (br. s., 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 211,09$ cho $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$.

Chất trung gian IIIb

2,4-dicloro-5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin



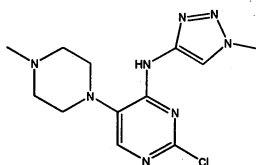
Trong bình cầu hai cổ 250 ml, 5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (3,30 g, 15,70 mmol, chất trung gian IIb) được lấy vào photpho oxyclorea (200 ml, 2145,67 mmol) để thu được huyền phù màu nâu. Hỗn hợp phản ứng tiếp đó được làm nóng đến 120°C. Phản ứng được giám sát bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. Photpho oxyclorea được làm bay hơi dưới điều kiện chân không để thu được cặn màu tối sậm. Nước đá được bổ sung vào và hỗn hợp được trung hòa bằng natri bicacbonat đến pH 8 dưới điều kiện lạnh. Tiếp đó huyền phù được chiết bằng metanol 10% trong diclorometan. Lớp hữu cơ được sấy khô bằng natri sunfat và dung môi được loại bỏ dưới điều kiện chân không để thu được cặn,

cặn được tinh sạch trên hệ thống CombiFlash với metanol và diclorometan để thu được chất rắn 2,4-dicloro-5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin (1,100 g, 28,4%).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 2,34 - 2,38 (s, 3 H) 2,52 - 2,63 (m, 4 H) 3,13 (br. s., 4 H) 8,64 (s, 1H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 247$ cho $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_4$.

Chất trung gian IVf

2-cloro-N-(1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-4-amin

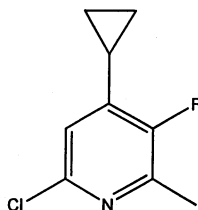


Chất trung gian IVf được điều chế từ 1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-amin hydroclorua (ChemBridge) và chất trung gian IIIb sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Ivc.

Hiệu suất: 29,5%, MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 309,32$ cho $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{ClN}_8$.

Chất trung gian Va

6-cloro-4-xyclopropyl-3-floro-2-metylpyridin



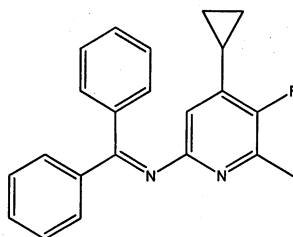
Trong bình cầu ba cổ 100 ml được trang bị cùng với ống ngưng và nhiệt kế, dung dịch axit sunfuric (1,318 ml, 24,73 mmol) trong nước (45 ml) được lấy vào axit xyclopropanecarboxylic (2,129 g, 24,73 mmol, Aldrich). Bạc nitrat (1,260 g, 7,42 mmol) được bổ sung. Huyền phù nhận được bổ sung 6-cloro-3-floro-2-metylpyridin (1,8 g, 12,37 mmol, Matrix Scientific) để thu được huyền phù màu trắng. Hỗn hợp được làm nóng đến 70°C và tiếp đó dung dịch amoni persulfat (8,47 g, 37,10 mmol)

mới chuẩn bị trong nước (35 ml) được bổ sung nhỏ giọt trong 20 phút. Sau khi bổ sung hoàn thành, nguồn nhiệt được loại bỏ và được giữ cho sự tiến triển của cacbon dioxid. Phản ứng được giám sát bởi TLC. Tiếp đó hỗn hợp được làm lạnh và hoàn thành phản ứng với natri bicacbonat đến pH trung tính và hợp chất được chiết trong dietyl ete (3x50 ml), lớp hữu cơ được làm bay hơi để thu được mẫu thô 2,1 g. Mẫu thô được tinh sạch trên silica gel sử dụng DCM-Hexan để thu được 6-cloro-4-xyclopropyl-3-floro-2-metylpyridin (0,540 g, 23,53%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,87 - 0,95 (m, 2 H) 1,05 - 1,15 (m, 2 H) 2,00 - 2,12 (m, 1 H) 2,38 (d, $J=3,20$ Hz, 3 H) 6,96 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H) MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 186,05 cho C $_9$ H $_9$ ClFN.

Chất trung gian Vb

4-xyclopropyl-N-(diphenylmetylen)-5-floro-6-metylpyridin-2-amin



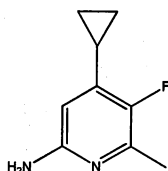
6-cloro-4-xyclopropyl-3-floro-2-metylpyridin (chất trung gian Va, 532 mg, 2,87 mmol) được lấy vào bình phản ứng nhiệt 25 ml và được hòa tan trong toluen (10 ml). Benzenmethanimin, alpha-phenyl- (0,721 ml, 4,30 mmol, Aldrich), racemic-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphthyl (71,4 mg, 0,11 mmol, Aldrich), Paladi (II) axetat (25,7 mg, 0,11 mmol, Aldrich) và xesi cacbonat (1401 mg, 4,30 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy hồi lưu ở 120°C dưới điều kiện nitơ qua đêm. Phản ứng được giám sát bằng LCMS cho thấy sự tạo thành sản phẩm. Sản phẩm phản ứng được cô đặc và được tinh sạch bằng hệ thống CombiFlash sau khi HPLC để thu được gôm màu vàng tinh khiết của 4-xyclopropyl-N-(diphenylmetylen)-5-floro-6-metylpyridin-2-amin (350 mg, 37,0%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,44 - 0,55 (m, 2 H) 0,82 - 1,02 (m, 2 H) 1,81 - 1,96 (m, 1 H) 2,25 (d, $J=3,20$ Hz, 3 H) 5,98 (d, $J=4,90$ Hz, 1 H) 7,10 (dd,

$J=6,59, 2,83 \text{ Hz, } 2 \text{ H) } 7,28 - 7,37 \text{ (m, } 3 \text{ H) } 7,44 - 7,60 \text{ (m, } 3 \text{ H) } 7,62 - 7,71 \text{ (m, } 2 \text{ H)}$
 MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 331,40 cho C₂₂H₁₉FN₂.

Chất trung gian V

4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin hydroclorua

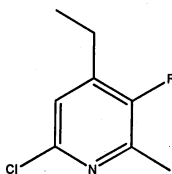


Trong bình cầu 50 ml, 4-xyclopropyl-N-(diphenylmetylen)-5-floro-6-metylpyridin-2-amin (350 mg, 1,06 mmol) được lấy vào dung dịch 1,4-dioxan (10 ml) không màu. HCl trong Dioxan (4 ml, 16,00 mmol) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ và phản ứng hoàn thành được xác nhận bởi LCMS. Sản phẩm phản ứng được cô đặc và tán thành bột với axtonitrin để thu được chất rắn màu trắng của 4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin (200 mg, 93%) dưới dạng muối hydroclorua.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,77 - 0,92 (m, 2 H) 1,14 - 1,27 (m, 2 H) 1,97 - 2,18 (m, 1 H) 2,37 (d, $J=3,01 \text{ Hz}$, 3 H) 6,33 (d, $J=5,84 \text{ Hz}$, 1 H) 7,49 (br. s., 2 H) 14,19 (br. s., 1H) MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 167,12 cho C₉H₁₁FN₂.

Chất trung gian VI a

6-cloro-4-etyl-3-floro-2-metylpyridin

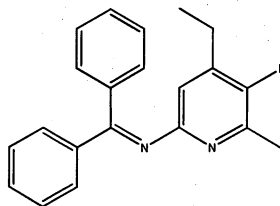


Chất trung gian VIa được điều chế từ 6-cloro-3-floro-2-metylpyridin (Matrix Scientific) và axit propionic sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Va. Hiệu suất: 50,5%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,18 (t, $J=7,54$ Hz, 3 H) 2,26 (d, $J=1,13$ Hz, 3 H) 2,63 - 2,81 (m, 2 H) 7,36 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H), MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 174,12 cho $\text{C}_8\text{H}_9\text{ClFN}$.

Chất trung gian VIb

N-(diphenylmetylen)-4-etyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin

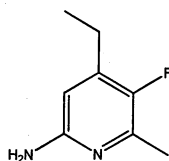


Chất trung gian VIb được điều chế từ chất trung gian VIa sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Vb. Hiệu suất: 28%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,18 (t, $J=7,54$ Hz, 3 H) 2,26 (d, $J=1,13$ Hz, 3 H) 2,63 - 2,81 (m, 2 H) 5,98 (d, $J=4,90$ Hz, 1 H) 7,10 (dd, $J=6,59, 2,83$ Hz, 2 H) 7,28 - 7,37 (m, 3 H) 7,44 - 7,60 (m, 3 H) 7,62 - 7,71 (m, 2 H) MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 319,12 cho $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{FN}_2$.

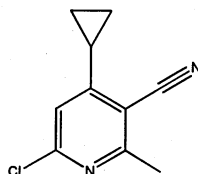
Chất trung gian VI

4-etyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin hydroclorua



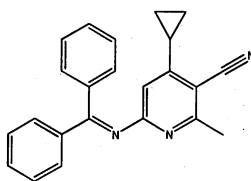
Chất trung gian VI được điều chế từ chất trung gian VIb sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian V. Hiệu suất: 94%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,18 (t, $J=7,54$ Hz, 3 H) 2,26 (d, $J=1,13$ Hz, 3 H) 2,63 - 2,81 (m, 2 H) 7,36 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H), MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 155,06 cho $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{FN}_2$.

Chất trung gian VIIa6-cloro-4-xyclopropyl-2-metylnicotinonitrin

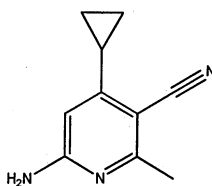
Chất trung gian VIIa được điều chế từ 6-cloro-2-metylnicotino nitrin (Manchester organics) và axit propionic sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Va. Hiệu suất: 14%.

MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 193,10$ cho $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ClN}_2$.

Chất trung gian VIIb4-xyclopropyl-6-((diphenylmetylen)amino)-2-metylnicotinonitrin

Chất trung gian VIIb được điều chế từ chất trung gian VIIa sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Vb. Hiệu suất: 81%.

MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 338,40$ cho $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_3$.

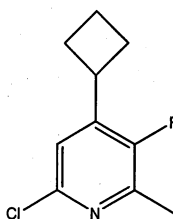
Chất trung gian VII6-amino-4-xyclopropyl-2-metylnicotinonitrin hydroclorua

Chất trung gian VII được điều chế từ chất trung gian VIIb sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian V. Hiệu suất: 38,6%.

MS (ES^+), $(M+H)^+ = 174,14$ cho $C_{10}H_{11}N_3$.

Chất trung gian VIIIa

6-cloro-4-xyclobutyl-3-floro-2-metylpyridin

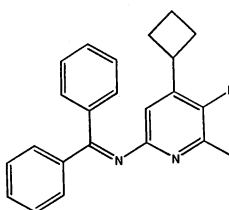


Chất trung gian VIIIa được điều chế từ 6-chloro-3-floro-2-metylpyridin (Matrix Scientific) và axit xyclobutanecarboxylic axit sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Va. Hiệu suất: 21%.

MS (ES^+), $(M+H)^+ = 200$ cho $C_{10}H_{11}ClFN$.

Chất trung gian VIIIb

4-xyclobutyl-N-(diphenylmetylen)-5-floro-6-metylpyridin-2-amin

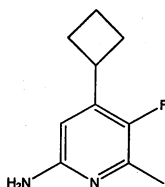


Chất trung gian VIIIb được điều chế từ chất trung gian VIIIa sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Vb. Hiệu suất: 40%.

MS (ES^+), $(M+H)^+ = 346$ cho $C_{23}H_{21}FN_2$.

Chất trung gian VIII

4-xyclobutyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin hydroclorua

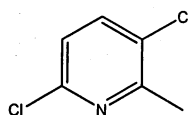


Chất trung gian VIII được điều chế từ chất trung gian VIIIb sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian V. Hiệu suất: 88%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,73 - 1,92 (m, 1H) 1,98 - 2,17 (m, 3 H) 2,21 - 2,33 (m, 2 H) 2,33 - 2,38 (m, 3 H) 3,58 - 3,75 (m, 1 H) 6,72 (d, $J=5,65$ Hz, 1 H) 7,74 (br. s., 1 H) MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 167,12 cho $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_2$.

Chất trung gian IXc

3,6-dicloro-2-metylpyridin

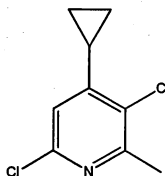


Huyền phù 5-cloro-6-metylpyridin-2-amin (7,5 g, 52,60 mmol, Combi-Blocks) trong DCM (200 ml) được bổ sung đồng (II) clorua (9,19 g, 68,38 mmol) và được khuấy trong 10 phút, tert-butyl nitrit (12,50 ml, 105,20 mmol) được bổ sung và hỗn hợp tiếp tục được khuấy 30 phút ở nhiệt độ phòng. Màu sắc thay đổi sang màu lam tối. Phản ứng được giám giát bởi LCMS, LCMS cho biết phản ứng hoàn thành. Hỗn hợp phản ứng được rửa bằng nước, dung dịch nước muối, và lớp hữu cơ được sấy khô bằng natri sunfat và được cô đặc trong chân không để thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh sạch bằng sắc ký cột sử dụng hỗn hợp 5% etylaxetat:hexan để thu được 3,6-dicloro-2-metylpyridin (3,80 g, 44,6%) dưới dạng chất lỏng màu vàng.

MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 162,15 cho $\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_2\text{N}$,

Chất trung gian IX a

3,6-dicloro-4-xyclopropyl-2-metylpyridin

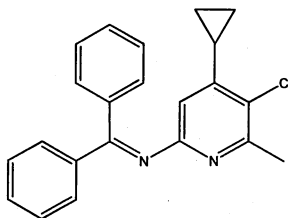


Chất trung gian IXa được điều chế từ chất trung gian IXc sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian Va. Hiệu suất: 23%.

MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 202,24$ cho $\text{C}_9\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}$.

Chất trung gian IXb

5-cloro-4-xyclopropyl-N-(diphenylmetylen)-6-metylpyridin-2-amin

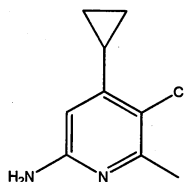


Trong bình cầu 100 ml, 3,6-dicloro-4-xyclopropyl-2-metylpyridin (250 mg, 1,24 mmol), benzenmethanimin, alpha-phenyl- (0,228 ml, 1,36 mmol) và 9,9-Dimetyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthen (57,3 mg, 0,10 mmol) được lấy vào toluen (6 ml) và hỗn hợp phản ứng được loại khí trong 5 phút. Tiếp đó Tris(dibenzyliden axeton) dipaladi (0) (45,3 mg, 0,05 mmol) và Natri tert-butoxit (357 mg, 3,71 mmol) được bổ sung. Tiếp đó hỗn hợp phản ứng được làm nóng ở 110°C trong 3 giờ dưới điều kiện nitơ. Phản ứng được giám sát bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. Sản phẩm phản ứng được lọc qua tấm xe-lit. Axit axetic (40 μl , 2 eq) được bổ sung vào dịch lọc. Tiếp đó dịch lọc được hấp thụ trên silica và được sắc ký với etyl axetat/hexan để thu được 5-cloro-4-xyclopropyl-N-(diphenylmetylen)-6-metylpyridin-2-amin (300 mg, 69,9%) dưới dạng chất rắn.

MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 347,59$ cho $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ClN}_2$.

Chất trung gian IX

5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-amin hydroclorua

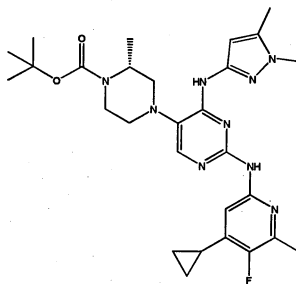


Chất trung gian IX được điều chế từ chất trung gian IXb sử dụng quy trình tương tự như điều chế chất trung gian V. Hiệu suất: 48%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 183,45 cho C₉H₁₁ClN₂,

Chất trung gian Xa

(R)-tert-butyl 4-(2-((4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat



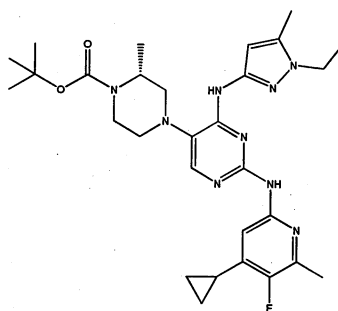
(R)-tert-butyl 4-(2-cloro-4-((1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metylpiperazin-1-cacboxylat (185 mg, 0,44 mmol, chất trung gian IVa) được lấy vào bình phản ứng nhiệt 50 ml và được hòa tan trong toluen (10 ml), 4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-amin hydroclorua (89 mg, 0,44 mmol, chất trung gian V). 9,9-Dimetyl-4,5-bis(diphenylphosphino)xanthen (25,4 mg, 0,04 mmol), Tris(di benzyldenaxeton) dipaladi (0) (20,08 mg, 0,02 mmol) và natri tert-butoxit (84 mg, 0,88 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy hồi lưu ở 120°C dưới điều kiện nitơ qua đêm. Phản ứng được giám sát bởi LCMS và được xác định khối lượng cần thiết. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh và được pha loãng với metanol và được lọc qua tấm xe-lit. Dịch lọc được cô đặc và được tinh sạch bằng hệ thống CombiFlash sau HPLC điều chế Gilson để thu được chất rắn màu trắng tinh khiết của (R)-tert-butyl 4-(2-((4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-

((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (60,0 mg, 24,81%).

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 552,37 cho C₂₈H₃₈N₉O₂.

Chất trung gian Xb

(R)-tert-butyl 4-(2-((4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-ethyl-5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

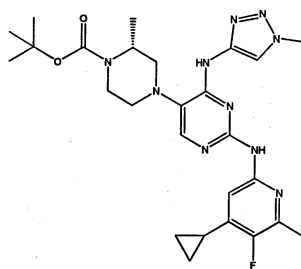


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ Chất trung gian IVb & Chất trung gian V. Hiệu suất: 23,12%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 567,60 cho C₂₉H₄₀N₉O₂.

Chất trung gian Xc

(R)-tert-butyl 4-(2-((4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-methyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

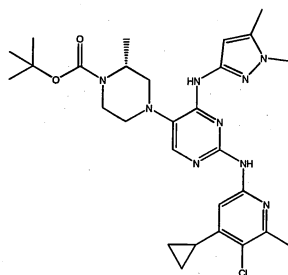


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVd và chất trung gian V. Hiệu suất: 45,5%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 539,44 cho C₂₆H₃₅N₁₀O₂.

Chất trung gian Xd

(R)-tert-butyl 4-(2-((5-chloro-4-cyclopropyl-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

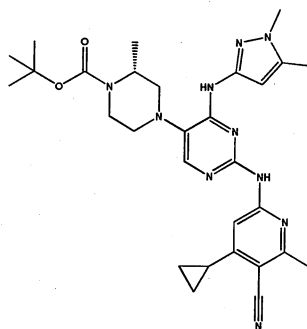


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian Iva và chất trung gian IX. Hiệu suất: 44,6%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 569,39for C₂₈H₃₈ClN₉O₂.

Chất trung gian Xe

(R)-tert-butyl 4-(2-((5-cyano-4-cyclopropyl-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

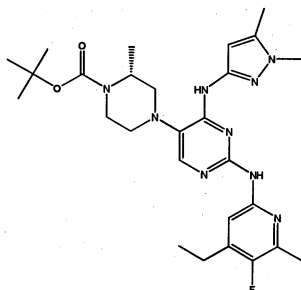


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVa và chất trung gian VII. Hiệu suất: 35,5%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 559,35 cho C₂₉H₃₈N₁₀O₂.

Chất trung gian Xf

(R)-tert-butyl 4-(4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)-2-((4-ethyl-5-floro-6-methylpyridin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-cacboxylat

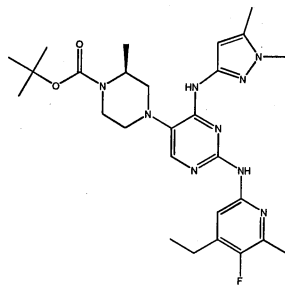


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVa và chất trung gian VI. Hiệu suất: 57,9%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 540,21 cho C₂₇H₃₈FN₉O₂.

Chất trung gian Xg

(S)-tert-butyl 4-(4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)-2-((4-ethyl-5-floro-6-methylpyridin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-cacboxylat

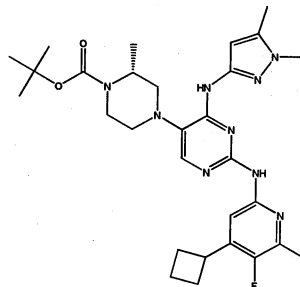


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVe và chất trung gian VI. Hiệu suất: 57,9%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 540,21 cho C₂₇H₃₈FN₉O₂.

Chất trung gian Xh

(R)-tert-butyl 4-(2-(((4-cyclobutyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (72,0 mg, 25,6%),

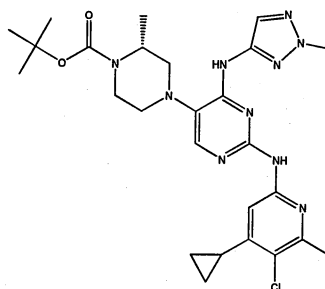


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVa và chất trung gian VIII. Hiệu suất: 25,6%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 566,33 cho C₂₉H₄₀FN₉O₂.

Chất trung gian Xi

(R)-tert-butyl 4-(2-(((5-chloro-4-cyclopropyl-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((2-methyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat

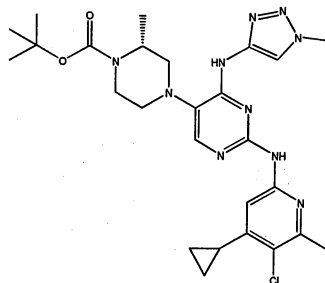


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVc và chất trung gian IX. Hiệu suất: 46,0%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 555,26 cho C₂₆H₃₅ClN₁₀O₂.

Chất trung gian Xj

(R)-tert-butyl 4-(2-((5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)amino)-4-((1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat

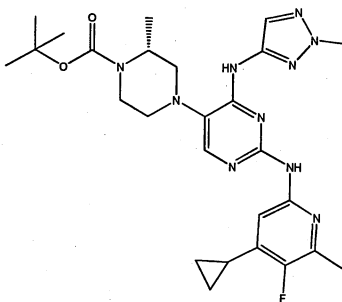


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVd và chất trung gian IX. Hiệu suất: 14,75%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 555,26 cho C₂₆H₃₅ClN₁₀O₂.

Chất trung gian Xk

(R)-tert-butyl 4-(2-((3-xyclopropyl-4-floro-5-metylphenyl)amino)-4-((2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-metyl piperazin-1-cacboxylat

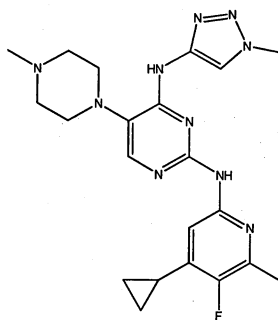


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVc và chất trung gian V. Hiệu suất: 58,3%.

MS (ES⁺), (M+H)⁺ = 539,29 cho C₂₆H₃₅FN₁₀O₂.

Mẫu 1

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(4-metyl piperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin

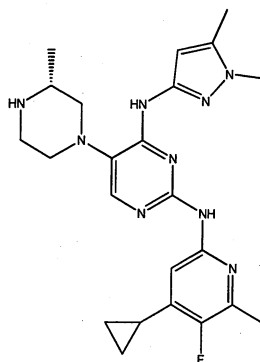


Chất này được điều chế như điều chế chất trung gian Xa từ chất trung gian IVf và chất trung gian V. Hiệu suất: 21,28%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,70 - 0,82 (m, 2H) 1,04 - 1,15 (m, 2H) 1,99 - 2,14 (m, 1H) 2,26 (s, 3H) 2,36 (d, $J=3,01$ Hz, 3 H) 2,87 (t, $J=4,43$ Hz, 4 H) 4,05 (s, 3 H) 6,55 (s, 1 H) 7,85 (d, $J=5,09$ Hz, 1 H) 8,07 (s, 1H) 8,51 (s, 1 H) 8,94 (s, 1 H) 9,62 (s, 1 H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 439$ cho $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{FN}_{10}$.

Mẫu 2

(R)-N2-(4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua



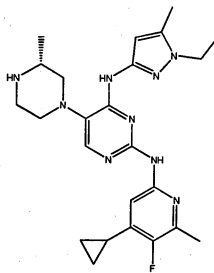
Trong bình cầu 50 ml, (R)-tert-butyl 4-(2-((4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)amino)-4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)pyrimidin-5-yl)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (55 mg, 0,10 mmol, chất trung gian Xa) được lấy vào dung dịch 1,4-dioxan (10 ml) không màu. HCl 4N trong Dioxan (4 ml, 16,00 mmol) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, phản ứng hoàn thành được xác định bằng LCMS. Sản phẩm phản ứng được cô đặc và được tán thành bột với axetonitrin để thu được chất rắn màu trắng của

(R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin (40,0 mg, 76%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,73 - 0,82 (m, 2 H) 1,15 - 1,22 (m, 2 H) 1,29 (d, $J=6,22$ Hz, 3 H) 2,13 (t, $J=4,71$ Hz, 1 H) 2,31 (s, 3 H) 2,54 (d, $J=3,20$ Hz, 3 H) 2,76 - 2,89 (m, 1 H) 2,95 - 3,18 (m, 3 H) 3,25 - 3,38 (m, 1 H) 3,42 (br. s., 1 H) 3,56 - 3,80 (m, 4 H) 6,64 - 6,89 (m, 2 H) 8,12 (s, 1 H) 9,38 (br. s., 1 H) 9,81 (br. s., 1 H) 10,29 (s, 1 H) 11,39 (br. s., 1 H) 13,93 (br. s., 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 452,27$ cho $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{FN}_9$.

Mẫu 3

(R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1-etyl-5-metyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

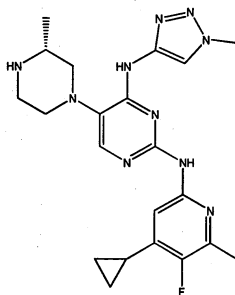


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xb. Hiệu suất: 96%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,67 - 0,84 (m, 2 H) 1,12 - 1,21 (m, 2 H) 1,22 - 1,36 (m, 6 H) 2,09 - 2,18 (m, 1 H) 2,32 (s, 3 H) 2,53 (d, $J=3,20$ Hz, 3 H) 2,76 - 2,86 (m, 1 H) 3,00 (d, $J=5,09$ Hz, 1 H) 3,05 - 3,19 (m, 2 H) 3,24 - 3,52 (m, 2 H) 3,66 (br. s., 1 H) 4,05 (q, $J=7,03$ Hz, 2 H) 6,68 (br. s., 1 H) 6,76 (br. s., 1 H) 8,09 (s, 1 H) 9,16 (br. s., 1 H) 9,58 (br. s., 1 H) 10,31 (br. s., 1 H) 11,31 (br. s., 1 H) 13,90 (br. s., 1 H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 466,29$ cho $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{FN}_9$.

Mẫu 4

(R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

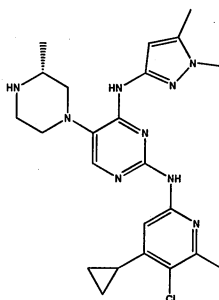


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xc. Hiệu suất: 92%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 13,61-14,09 (m, 1H), 12,20 (br. s., 1H), 10,97 (s, 1H), 9,65 (br. s., 1H), 8,91-9,29 (m, 2H), 8,13 (s, 1H), 6,97 (d, $J=4,90$ Hz, 1H), 3,67 (br. s., 1H), 3,27-3,56 (m, 3H), 2,98-3,27 (m, 3H), 2,68-2,94 (m, 1H), 2,03-2,28 (m, 2H), 1,07-1,38 (m, 6H), 0,69-0,84 (m, 2H), MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 439,37 cho $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{FN}_{10}$.

Mẫu 5

(R)-N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

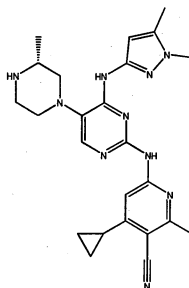


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xd. Hiệu suất: 92%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 9,39 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,92-8,01 (m, 1H), 7,77 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,36-3,42 (m, 1H), 2,63-3,00 (m, 7H), 2,04-2,40 (m, 7H), 0,91-1,18 (m, 8H), 0,56-0,78 (m, 2H), MS (ES $^+$), (M+H) $^+$ = 468,40 cho $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{ClN}_9$.

Mẫu 6

(R)-4-cyclopropyl-6-((4-((1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)amino)-5-(3-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2-yl)amino)-2-methylnicotinonitrin dihydrochlorua

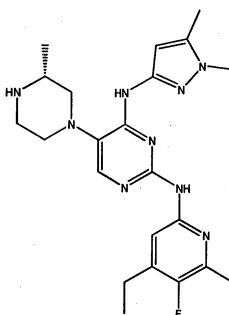


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xe. Hiệu suất: 91%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,19 (t, $J=7,54$ Hz, 3 H) 1,28 (d, $J=6,22$ Hz, 3 H) 2,31 (s, 3 H) 2,54 (d, $J=3,01$ Hz, 3 H) 2,68 (d, $J=7,54$ Hz, 2 H) 2,77 - 2,87 (m, 1 H) 3,12 (br. s., 2 H) 3,27 - 3,39 (m, 1 H) 3,44 (br. s., 1 H) 3,64 (br. s., 1 H) 3,73 (s, 3 H) 6,72 (s, 1 H) 7,17 (d, $J=4,52$ Hz, 1 H) 8,12 (s, 1 H) 9,28 (br. s., 1 H) 9,71 (br. s., 1 H) 10,27 (s, 1 H) 11,48 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 459,26$ cho $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_{10}$.

Mẫu 7

(R)-N4-(1,5-dimethyl-1H-pyrazol-3-yl)-N2-(4-ethyl-5-floro-6-methylpyridin-2-yl)-5-(3-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua



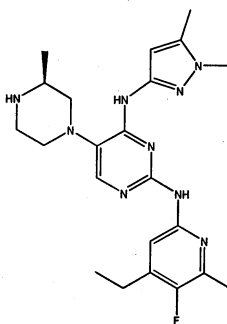
Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xf. Hiệu suất: 75%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,15 - 1,24 (m, 3 H) 1,29 (d, $J=6,03$ Hz, 3 H) 2,31 (s, 3 H) 2,54 (d, $J=3,01$ Hz, 3 H) 2,67 (q, $J=7,66$ Hz, 2 H) 2,85 (d,

$J=11,49$ Hz, 1 H) 2,96 - 3,22 (m, 3 H) 3,24 - 3,54 (m, 4 H) 3,60 - 3,76 (m, 4 H) 6,74 (s, 1 H) 7,18 (d, $J=4,33$ Hz, 1 H) 8,13 (s, 1 H) 9,40 (br. s., 1 H) 9,82 (br. s., 1 H) 10,28 (s, 1 H) 11,52 (br. s., 1 H) MS (ES^+), $(M+H)^+ = 440,28$ cho $C_{22}H_{30}FN_9$.

Mẫu 8

(R)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

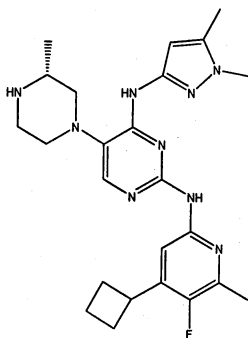


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xg. Hiệu suất: 75%.

1H NMR (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 1,15 - 1,24 (m, 3 H) 1,29 (d, $J=6,03$ Hz, 3 H) 2,31 (s, 3 H) 2,54 (d, $J=3,01$ Hz, 3 H) 2,67 (q, $J=7,66$ Hz, 2 H) 2,85 (d, $J=11,49$ Hz, 1 H) 2,96 - 3,22 (m, 3 H) 3,24 - 3,54 (m, 4 H) 3,60 - 3,76 (m, 4 H) 6,74 (s, 1 H) 7,18 (d, $J=4,33$ Hz, 1 H) 8,13 (s, 1 H) 9,40 (br. s., 1 H) 9,82 (br. s., 1 H) 10,28 (s, 1 H) 11,52 (br. s., 1 H) MS (ES^+), $(M+H)^+ = 440,28$ cho $C_{22}H_{30}FN_9$.

Mẫu 9

(R)-N2-(4-cyclobutyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

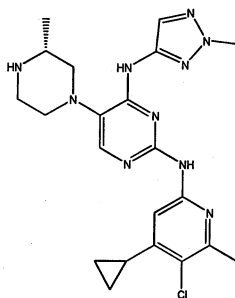


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xh. Hiệu suất: 99%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,29 (d, $J=6,40$ Hz, 3 H) 1,77 - 1,95 (m, 1 H) 2,08 - 2,19 (m, 3 H) 2,24 - 2,44 (m, 5 H) 2,51 - 2,55 (m, 3 H) 2,78 - 2,93 (m, 1 H) 2,98 - 3,19 (m, 3 H) 3,31 (br. s., 1 H) 3,40 (d, $J=10,74$ Hz, 1 H) 3,57 - 3,80 (m, 5 H) 6,78 (s, 1H) 7,22 (d, $J=4,71$ Hz, 1 H) 8,14 (s, 1 H) 9,47 (d, $J=9,23$ Hz, 1 H) 9,92 (d, $J=8,85$ Hz, 1 H) 10,31 (s, 1 H) 11,57 (s, 1 H) 13,96 (br. s., 1 H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 466$ cho $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{FN}_9$.

Mẫu 10

(R)-N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(2-metyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

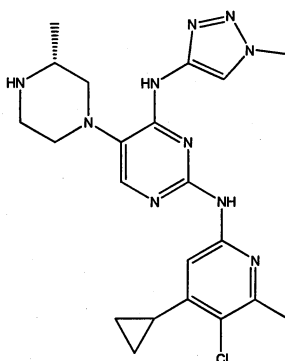


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xi. Hiệu suất: 99%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 0,63-0,88 (m, 2H) 1,14-1,37 (m, 6H), 2,19-2,34 (m, 1H), 2,68 (s, 4H), 2,83 (t, $J=11,30$ Hz, 1H), 2,95-3,25 (m, 4H), 3,29-3,59 (m, 3H), 4,17 (s, 4H), 6,82 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,46-8,63 (m, 1H), 9,33 (br. s., 1H), 9,81 (br. s., 1H), 10,90 (br. s., 1H), 11,73 (br. s., 1H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 455$ cho $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClN}_{10}$.

Mẫu 11

(R)-N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin dihydroclorua

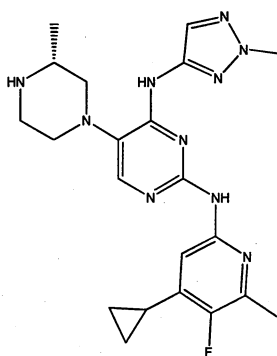


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xj. Hiệu suất: 79%.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12,25 (br. s., 1H), 10,98 (br. s., 1H), 9,62 (br. s., 1H), 9,14 (br. s., 2H), 8,16 (s, 1H), 7,02 (br. s., 1H), 4,13 (s, 4H), 3,38 (s, 5H), 2,97-3,29 (m, 4H), 2,61-2,93 (m, 6H), 2,27 (br. s., 2H), 1,06-1,40 (m, 7H), 0,77 (br. s., 3H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 455$ cho $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{ClN}_{10}$.

Mẫu 12

(R)-N2-(5-Fluoro-4-cyclopropyl-6-methylpyridin-2-yl)-N4-(2-methyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)-5-(3-methylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamine dihydrochloride

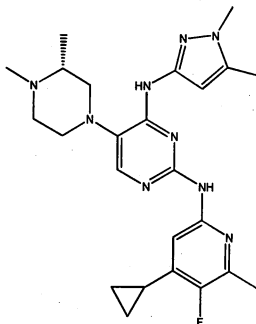


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 2 từ chất trung gian Xk. Hiệu suất: 92%.

MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 438,36$ cho $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FN}_9$.

Mẫu 13

(R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3,4-dimetylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin

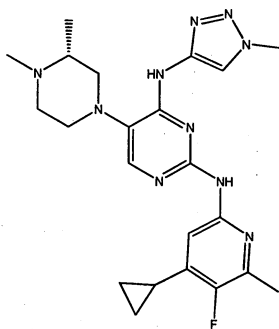


Trong bình cầu 50 ml, (R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3-metylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin hydroclorua (190 mg, 0,42 mmol, mẫu 2) được lấy vào DCM (2 ml) để tạo ra huyền phù màu vàng. N,N-Diisopropyletylamin (bazơ Hunig) (0,184 ml, 1,05 mmol) được thêm vào và huyền phù trong trở lại. Sau 10 phút, hỗn hợp chuyển thành huyền phù màu trắng. Sau 10 phút nữa, hỗn hợp được cô đến khô. Cặn thu được được hòa tan trong etanol (tuyệt đối, 99,5%) (3 ml) và formandehit (0,042 ml, 0,63 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút. Huyền phù màu trắng từ từ trong thành dung dịch màu vàng. Dung dịch xyanoborohydrua trong (26,4 mg, 0,42 mmol) được bổ sung vào một phần để thu được huyền phù màu trắng. Sau 30 phút LCMS cho thấy phản ứng hoàn thành. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc và sản phẩm thô được tinh sạch qua HPLC pha đảo của Gilson để thu được chất rắn tinh khiết của (R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-N4-(1,5-dimetyl-1H-pyrazol-3-yl)-5-(3,4-dimetylpiperazin-1-yl)pyrimidin-2,4-diamin (80 mg, 40,8%).

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 0,67 - 0,78 (m, 2 H) 1,00 (d, $J=6,22$ Hz, 3 H) 1,02 - 1,08 (m, 2 H) 1,96 - 2,10 (m, 1 H) 2,23 (s, 7 H) 2,30 - 2,38 (m, 4 H) 2,73 - 2,96 (m, 4 H) 3,33 (s, 3 H) 6,83 (s, 1 H) 7,67 (d, $J=5,09$ Hz, 1 H) 8,00 (s, 1 H) 8,03 (s, 1 H) 9,26 (s, 1 H) MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 466,45$ cho $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{FN}_9$.

Mẫu 14

(R)-N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metylpyridin-2-yl)-5-(3,4-dimetylpiperazin-1-yl)-N4-(1-metyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin

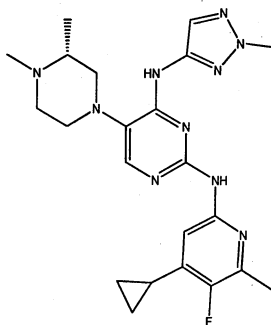


Chất này được điều chế như điều chế mẫu 13 từ mẫu 4. Hiệu suất: 12%.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 0,71 - 0,81 (m, 2 H) 0,81 - 0,90 (m, 1 H) 1,01 (d, $J=6,03$ Hz, 3 H) 1,05 - 1,16 (m, 2 H) 1,20 - 1,32 (m, 2 H) 1,99 - 2,13 (m, 1 H) 2,24 (s, 3 H) 2,36 (d, $J=3,01$ Hz, 4 H) 2,69 - 2,98 (m, 5 H) 2,69 - 2,98 (m, 5 H) 4,05 (s, 3 H) 7,76 - 7,94 (m, 1 H) 8,05 (s, 1 H) 8,40 - 8,60 (m, 1 H) 8,92 (s, 1 H) 9,47 - 9,71 (m, 1 H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 453,25$ cho $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{FN}_{10}$.

Mẫu 15

(R)-N2-(4-cyclopropyl-5-fluoro-6-methylpyridin-2-yl)-5-(3,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N4-(2-methyl-2H-1,2,3-triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin



Chất này được điều chế như điều chế mẫu 13 từ mẫu 11. Hiệu suất: 28%.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 2,28 (s, 3 H) 3,78 - 4,09 (m, 5 H) 5,76 (s, 2 H) 5,97 - 6,51 (m, 1 H) 7,36 (t, $J=7,82$ Hz, 1 H) 7,71 (d, $J=7,91$ Hz, 1 H) 7,91 (d, $J=7,54$ Hz, 1 H) 8,41 (s, 1 H) 8,57 (s, 1 H) 10,05 (t, $J=6,12$ Hz, 1 H), MS (ES^+), $(\text{M}+\text{H})^+ = 453,34$ cho $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{FN}_{10}$.

Mẫu 16: Hoạt tính sinh học

Các hợp chất của công thức (I) được chú ý do hiệu lực kháng sốt rét tiềm năng của chúng. Khả năng của các hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây, để đạt được hiệu quả kháng sốt rét có thể được đánh giá về khả năng của chúng trong ức chế sự sinh trưởng của các loài Plasmodium như *P. falciparum* bằng cách sử dụng xét nghiệm dựa trên quy trình sau đây.

Hơn nữa, các hợp chất chống sốt rét theo sáng chế (mẫu 2 và 13) đã được thử nghiệm chống lại *P. falciparum* và *P. vivax* dòng phân lập, cùng với ba chất chống sốt rét đối chứng như được mô tả trong quy trình dưới đây. Dữ liệu hoạt tính được trình bày trên bảng 1.

Bảng 1

Hợp chất	Plasmodium dòng phân lập	
	<i>P. falciparum</i> IC ₅₀ nM	<i>P. vivax</i> IC ₅₀ nM
Cloroquin	60,8	40,2
Piperaquin	16,9	5,9
Artesunat	15,1	4,79
Mẫu 13	74,6	85,6
Mẫu 2	63,6	81,0

(IC₅₀: nồng độ ức chế 50%)

Dữ liệu trên cho thấy trên thực tế các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính đặc hiệu tương đối với sốt rét *falciparum* và *vivax*.

Đo hoạt tính kháng plasmodia trong ống nghiệm (in vitro)

Các mẫu kiểm tra đã được kiểm tra lặp lại hai lần ở hai trường hợp riêng biệt kháng lại chủng NF54 (MRA-1000, MR4, ATCC, Manassas, Virginia) miễn cảm cloroquin và chủng K1 kháng cloroquin thuộc *P. falciparum*. Phương pháp cải biến

của Trager và Jensen đã được sử dụng để duy trì nuôi cấy liên tục trong ống nghiệm giai đoạn trong máu vô tính của *P. falciparum* (Trager et và cộng sự, 1976, *Science*, 193, 673- 675). Đánh giá định lượng hoạt tính kháng plasmodium trong ống nghiệm được xác định bằng cách sử dụng phương pháp SYBR I như đã được mô tả (Johnson và cộng sự, 2007, *Antimicrob, Agents Chemother.*, 51, 1926–1933).

Phần trăm ức chế so với đối chứng không dùng thuốc đã được vẽ biểu đồ dựa vào logarit nồng độ thuốc. Đường cong ức chế sinh trưởng được kẻ theo điểm hồi quy phi tuyến tính sử dụng công thức đáp ứng liều sigma (độ dốc biến) để thu được đường cong đáp ứng nồng độ. Giá trị IC_{50} của hợp chất được xác định là nồng độ thấp nhất mà sự ức chế 50% được quan sát. Cloroqui diphosphat (CQ) (Sigma), artesunat (Sigma), và pyrimethamin đã được sử dụng làm thuốc tham khảo trong tất cả các thí nghiệm.

Các hợp chất của công thức (I) theo sáng chế đã được đánh giá trong kiểm tra hoạt tính kháng sốt rét để xác định hoạt tính ức chế của chúng chống lại *Plasmodium falciparum* (cả chủng NF54 và chủng K1) và kết quả được trình bày trên bảng 2 sau đây:

Bảng 2

Mẫu	<i>P. falciparum</i> $IC_{50_NF54}(nM)$	<i>P. falciparum</i> $IC_{50_K1}(nM)$
1	15	24
2	14	19
3	17	14
4	33	51
5	23	48
6	31	45
7	27	45
8	35	44
9	25	48
10	13	19
11	30	50

12	39	82
13	9	15
14	33	69
15	17	37
Cloroquinin	11	>150
Pyrimethamin	64	7900

Hiệu quả trong cơ thể (*in vivo*) ở mô hình bệnh sốt rét trên chuột

Hiệu quả trong cơ thể kháng lại giai đoạn trong máu đã được đo trên chuột bị nhiễm *Plasmodium berghei* sau bốn (mỗi ngày một lần) ngày kể từ ngày dùng thuốc qua đường uống. Quy trình chi tiết cho thử nghiệm ức chế bốn ngày được mô tả trong *Fidock và cộng sự, 2004, Nature Reviews Drug Discovery (3), p 509*. Phần trăm ức chế sinh trưởng của kí sinh trùng trong máu chuột được trình bày trên bảng 3 dưới đây.

Bảng 3

Hợp chất	Liều (mg/kg)	% ức chế
Mẫu 7	3	6
	10	28
	30	100
Mẫu 10	10	60
	15	75
	30	100
Mẫu 13	3	0
	10	42
	30	100

Hoạt tính ngoài cơ thể của Mẫu 2 và mẫu 13 chống lại *P. falciparum* và *P. vivax* dòng phân lập kháng thuốc

Các thuốc chống sốt rét tiêu chuẩn cloroquin (CQ), amodiaquin (AQ), piperiaquin (PIP), mefloquin (MFQ), và artesunat (AS), và các hợp chất theo sáng chế đã được chuẩn bị dưới dạng dung dịch gốc 1 mg/ml trong H₂O hoặc dimetyl sunfoxit (DMSO) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đĩa thuốc được định liều sẵn bằng cách pha loãng hợp chất trong metanol 50% sau đó được đông khô và được bảo quản ở 4°C.

Plasmodium phân lập được thu thập từ các bệnh nhân đi khám bệnh sốt rét ở Timika (Papua, Indonesia), một khu vực đặc hữu của các chủng đa kháng của *P. vivax* và *P. falciparum*. Bệnh nhân có triệu chứng sốt rét được giới thiệu đến cơ sở ngoại trú được tuyển chọn vào nghiên cứu nếu nhiễm đơn lẻ với *P. falciparum* hoặc *P. vivax*, với số lượng kí sinh trùng khoảng 2.000-8.000/μl, và phần lớn (>80%) kí sinh trùng ở giai đoạn chu kỳ phát triển. Máu tĩnh mạch (5 ml) được thu thập bằng cách chính tĩnh mạch và sau khi loại bỏ tế bào bạch cầu vật chủ bằng cách sử dụng giấy lọc xenluloza (Sigma-Aldrich, Australia), đóng gói các tế bào hồng cầu nhiễm (iRCB) để sử dụng cho xét nghiệm tính miễn cảm ngoài cơ thể.

Sự miễn cảm thuốc của *P. vivax* và *P. falciparum* phân lập đã được đo bằng cách sử dụng quy trình cải biến từ vi xét nghiệm của tổ chức y tế thế giới (WHO) như đã được mô tả (Marfurt và cộng sự, 2011, *Antimicrob Agents Chemother*, 55(9):4461). 200 μl hỗn hợp môi trường máu (BMM) 2% haematocrit (Hct: dung tích hồng cầu), bao gồm môi trường RPMI 1640 thêm 10% huyết thanh người AB+ (*P. falciparum*) hoặc môi trường 5A McCoy thêm 20% huyết thanh người AB+ (*P. vivax*) đã được bổ sung vào mỗi giếng của đĩa thuốc liều chuẩn bị trước chứa 11 dãy nồng độ (pha loãng 2 lần) của chất kháng sốt rét (nồng độ tối đa được để trong ngoặc) CQ (2,992 nM), AQ (158 nM), PIP (1,029 nM), MFQ (338 nM), AS (49 nM), hợp chất theo sáng chế (2,146 nM). Bình nền đã được sử dụng để làm trưởng thành kí sinh trùng ở 37,0°C trong 35-56 giờ. Việc ủ được dừng lại khi >40% kí sinh trùng giai đoạn chu kỳ đạt đến giai đoạn liệt sinh trưởng thành trong giếng đối chứng không có thuốc.

Màng máu dày được tạo ra ở mỗi giếng được nhuộm bằng dung dịch Giemsa 5% trong 30 phút và được quan sát dưới kính hiển vi. Số thể liệt sinh trên 200 kí sinh

trùng giai đoạn vô tính được xác định đối với mỗi nồng độ thuốc và được tiêu chuẩn hóa với giếng đối chứng. Dữ liệu đáp ứng liều được phân tích bằng cách sử dụng phân tích hồi quy phi tuyến (WinNonLn 4,1, Pharsight Corporation) và giá trị IC_{50} được suy ra bằng cách sử dụng mô hình Emax sigmoid ức chế. Dữ liệu IC_{50} ngoài cơ thể chỉ được sử dụng từ đường cong được dự đoán ở nơi E_{max} và E_0 nằm trong 15% của 100 và 1 tương ứng. Chất lượng đĩa thuốc được đảm bảo bằng cách chạy khảo nghiệm làm trưởng thành thể liệt sinh (hai thí nghiệm độc lập) với chủng K1 kháng cloroqui và chủng FC27 miễn cảm cloroquin.

Đối với đọc trượt hiển vi QC, hai thuốc trên mỗi chủng phân lập được chọn ngẫu nhiên được đọc bởi người đọc kính hiển vi thứ hai. Nếu dữ liệu thô được suy ra bởi hai người đọc kính hiển vi dẫn đến sự thay đổi đáng kể trong đánh giá IC_{50} của thuốc được chọn, thì toàn bộ khảo nghiệm (tức là toàn bộ thuốc tiêu chuẩn và hợp chất thí nghiệm) được đọc lại bởi người đọc thứ hai và kết quả được so sánh. Nếu cần thiết, kết quả chênh lệch được khắc phục bằng cách đọc lần thứ ba bởi chuyên gia đọc kính hiển vi.

Khảo nghiệm sự ổn định chuyển hóa (chuột/tế bào gan người Clint)

Khả năng tồn tại của các tế bào gan dữ trữ lạnh được xác định bằng cách sử dụng xanh trupan và nồng độ tế bào được điều chỉnh đến $10^6/ml$ với đệm Leibovitz L-15, 1 μM hợp chất (trong Axetonitrin; 0,01% DMSO) được ủ với 500 μl tế bào gan (1 triệu tế bào mỗi ml) trong đĩa NUNC. Phản ứng được dừng lại ở các thời điểm khác nhau (0, 5, 15, 30, 60, 90 và 120 phút) bằng cách bổ sung 3 lần thể tích của axetonitrin ướp lạnh vào 100 μl hỗn hợp phản ứng và được ly tâm ở $4^{\circ}C$ trong 15 phút. Dịch nổi được phân tích bằng cách sử dụng LC-MS/MS đối với sự duy giảm cơ chất.

Xác định máu: tỷ lệ huyết tương (BP)

Đĩa ủ và máu/huyết tương chó được làm nóng sơ bộ ở $37^{\circ}C$ trong 10 phút, 2 μl dung dịch thí nghiệm của mỗi hợp chất được thêm vào 398 μl huyết tương hoặc máu chó chuẩn để đạt được nồng độ cuối cùng 10 μM . Đĩa được ủ lắc ở $37^{\circ}C$ trong 30 phút. Sau khi ủ, mẫu máu được ly tâm trong 10 phút ở 4.000 vòng/phút (rpm)

(37°C) và các mẫu huyết thanh được lưu trữ ở 37°C. Một lượng nhỏ (100 µl) huyết tương được tách ra từ toàn bộ mẫu máu đã ly tâm và mẫu huyết tương chuẩn được chuyển đến đĩa 96 giếng, 400 µl axetonitrin lạnh được bổ sung vào protein kết tủa và giải phóng hợp chất. Sau khi trộn xoáy trong 10 phút, đĩa được ly tâm trong 30 phút ở 4000 rpm, 250 µl dịch nổi được chuyển sang đĩa 96 giếng mới và lại được ly tâm ở 4000 rpm trong 30 phút. 100 µl dịch nổi được sử dụng cho phân tích bằng LC-MS/MS.

Khảo nghiệm liên kết protein huyết tương

Sự liên kết protein được đo bằng cách sử dụng kỹ thuật thẩm tách cân bằng. Hợp chất được bổ sung vào huyết tương 10% để có nồng độ 20 µM và được thẩm tách với đệm đẳng trương trong 18 giờ ở 37°C. Huyết tương và dung dịch đệm được phân tích bằng cách sử dụng sắc ký lỏng khối phổ tia cực tím (LCUVMS) thông thường và hằng số liên kết biểu kiến thứ nhất cho hợp chất được suy ra. Hằng số liên kết sau đó được sử dụng để xác định % tự do trong 100% huyết tương.

Dự đoán thông số dược động học (PK) ở người

Mẫu đã khuấy trên giếng được sử dụng cho việc dự đoán thông số dược động học ở người sử dụng tế bào gan người Clint và một phần tự do (fu) trong huyết tương người. Lưu lượng máu gan, khối lượng gan, tế bào gan và con đường mẫu tương quan trong ống nghiệm trong cơ thể/ngoại suy (IVIVC/E) (*Smith và cộng sự, Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design, Methods và Principles in Medicinal Chemistry Volume 13, 2004, Wiley-VCH, Weinheim, Germany*) được sử dụng cho dự đoán.

Nghiên cứu dược động học

Tất cả các nghiên cứu trong cơ thể đều đã được sự chấp thuận của ủy ban đạo đức động vật. Nghiên cứu dược động học được tiến hành sau khi tiêm nhanh liều thuốc IV (IVPK) hoặc sử dụng qua đường uống (POPK) hợp chất được xác định ở chuột Wistar được hoặc chó Beagle đực. Đối với IVPK ở chuột, mẫu 7 và mẫu 10 được sử dụng dưới dạng dung dịch trong DMA 20%, muối đệm photphat 80%, và

mẫu 13 được sử dụng dưới dạng dung dịch NMP 10% v/v, DMA 20% v/v trong nước muối. Đối với POPK, mẫu 7, mẫu 10 được sử dụng dưới dạng huyền phù trong DMA 20%, muối đệm photphat 80% và mẫu 13 được sử dụng dưới dạng huyền phù trong HPMC 0,5%, và Tween 80 0,1% qua đường miệng. Mẫu 13 được sử dụng ở chỗ dưới dạng dung dịch trong etanol 10%, PEG 400 30%, nước muối sinh lý 60% đối với IVPK và dưới dạng huyền phù trong HPMC 0,5%, Tween 80 0,1% đối với POPK. Liều sử dụng PK cho chuột và cho chó là 0,5 mg/kg đối với mẫu 7 và mẫu 10 hoặc 2 mg/kg đối với mẫu 13 (IVPK). Liều 5 mg/kg cho mẫu 7 và mẫu 10 được sử dụng trong suốt nghiên cứu POPK. Liều 10 mg/kg được sử dụng cho mẫu 13 trong suốt nghiên cứu POPK. Mẫu máu được thu thập ở 8-13 thời điểm (0, 0,0833, 0,25, 0,283, 0,333, 0,417, 0,75, 1,25, 3,25, 6,25, 12,25, 24,25 giờ đối với IVPK ở chỗ; 0, 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2,3, 4, 8, 12, 24, 32, 48 giờ đối với POPK ở chuột; 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 7, 24 giờ đối với IVPK ở chuột; 0,25, 1, 3, 6, 12, 24, 36, 48 giờ đối với POPK ở chuột) sau liều dùng. Mẫu máu (ở chuột) hoặc huyết tương (ở chó) được phân tích bằng LC-MS/MS, các thông số PK được đánh giá bằng phân tích không khoan vùng theo Phoenix.

Dược động học trong máu của chuột bị nhiễm *Plasmodium falciparum*/SCID: mẫu máu ngoại vi (25 µl) được lấy ở các thời điểm khác nhau (0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 và 23 giờ), được trộn với 25 µl H₂O mili Q và đông lạnh ngay lập tức trong nước đá khô. Mẫu đông lạnh được bảo quản ở -80°C cho đến khi phân tích. Chuột được xử lý chất dẫn thuốc trải qua cùng chế độ lấy mẫu máu. Các mẫu máu được xử lý bằng chiết lỏng-lỏng bằng cách trộn 10 µl máu pha loãng với 180 µl hỗn hợp ACN:MeOH (80:20; v:v). Phân tích định lượng nhờ LC/MSMS được thực hiện bằng cách sử dụng sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC) (Waters) và Sciex API4000. Giới hạn dưới của định lượng (LLOQ) trong khảo nghiệm này là 0,005 µg/ml.

Khảo nghiệm ức chế xitocrom P450 (CYP)

Nghiên cứu này được tiến hành bằng cách sử dụng cơ chất đặc hiệu cho 5 isozym CYP chính ở người. Các cơ chất này được sử dụng dưới dạng hỗn hợp (phenaxetin, diclofenac, S-mephenytoin, bufuralol và midazolam mà chủ yếu được chuyển hóa bởi CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 và 3A4/5 tương ứng) ở nồng độ tương

đương với giá trị K_m của chúng, LC-MS-MS (chế độ MRM) được sử dụng để theo dõi sự hình thành chất chuyển hóa đặc hiệu CYP. Sự suy giảm trong hình thành chất chuyển hóa ở khu vực đỉnh đến kiểm soát chất dẫn thuốc được sử dụng để tính toán giá trị IC_{50} . Ngoài ra, dưới dạng đối chứng dương, hỗn hợp của 5 chất ức chế tiêu chuẩn, đặc hiệu cho CYP riêng lẻ (α -naphthoflavon, sunphaphenazol, N-3-benzylirinanol, quinidin và ketoconazol, là các chất ức chế đặc hiệu của CYP 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 và 3A4/5 tương ứng) được ủ. Hợp chất kiểm tra được sử dụng ở 6 nồng độ khác nhau (30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1 μM) để đánh giá IC_{50} .

Việc ủ được thực hiện trong đĩa 96 giếng sâu. Hỗn hợp của 180 μl tiểu thể tế bào gan người (HLM) 20 mg/ml và 90 μl dung dịch hỗn hợp cơ chất được bổ sung vào 15.840 μl đệm photphat, và 179 μl hỗn hợp này được trộn với 1 μl hợp chất kiểm tra, dung dịch hỗn hợp chất ức chế hoặc chất dẫn thuốc trong mỗi giếng. Nồng độ cuối cùng của DMSO:ACN trong hỗn hợp khảo nghiệm là 0,3:0,7% v/v. Đĩa ủ được đặt trong bể nước và được làm nóng sơ bộ ở 37°C trong 5 phút trước khi phản ứng được bắt đầu bằng cách bổ sung 20 μl dung dịch NADPH 10 mmol/L trong đệm photphat. Sau khi bổ sung NADPH, đĩa ủ được ủ ở 37°C trong 5 phút nữa. Phản ứng được dừng lại bằng cách bổ sung 1 thể tích (200 μl) ACN lạnh chứa 3% axit formic và 40 mmol/lít verapamil. Đĩa được giữ trong nước đá trong 20 phút rồi tiếp đó được ly tâm ở 4000 rpm trong 30 phút để kết tủa protein. 180 μl dịch nổi được chuyển sang đĩa phân tích cho phân tích LC/MS/MS.

Khảo nghiệm tính thấm trên tế bào Caco-2

Tính thấm trên lớp đơn tế bào Caco-2 được xác định ở 10 μM . Lớp đơn tế bào Caco-2 được rửa một lần bằng HBSS, TEER được đo cả trước và sau khi thực hiện tất cả các thí nghiệm vận chuyển. Papp được đo theo hướng từ màng đỉnh A đến màng đáy B. Đệm vận chuyển, 800 μl , (HBSS, pH 7,4) được phân tán trước hết đến phía đáy của lớp đơn tế bào. Tiếp đó khảo nghiệm được khởi đầu bằng cách bổ sung 200 μl dung dịch hợp chất lên phía đỉnh (tất cả các hợp chất kiểm tra đều được pha loãng trong HBSS, pH 6,5 với DMSO 1% dưới dạng đồng dung môi). 2 μl và 200 μl mẫu được thu hồi, trước và ở vào lúc 45 phút và 120 phút sau khi bổ sung hợp chất kiểm tra, từ ngăn cho ở màng đỉnh và ngăn tiếp nhận ở màng đáy tương ứng. Đĩa chuyển

giếng được ủ ở 37°C trên máy lắc ở 480 rpm bên trong khoang ủ. Tất cả các mẫu được phân tích ngay lập bằng LC-MS/MS. Tính thẩm thụ động được xác định bằng cách ức chế hóa học hòa toàn ba chất vận chuyển thoát ra chính ABCB1 (P-gp), ABCG2 (BCRP) và ABCC2 (MRP2) trong tế bào Caco-2 bằng cách sử dụng hỗn hợp các chất ức chế hóa học quinidin (P-gp), sulfasalazin (BCRP) và benzbromaron (MRP2).

Hệ số thẩm (P_{app}) được tính toán theo phương trình sau:

$$P_{app} = (\Delta Q / \Delta t) / (A \times C_D) \text{ [cm/s]} \quad (1)$$

Trong đó $(\Delta Q / \Delta t)$ [cm/s] là lượng tích lũy của hợp chất kiểm tra được vận chuyển theo thời gian đến phía màng đáy (tiếp nhận). Diện tích bề mặt của màng đơn lớp (cm^2) và C_D là nồng độ thuốc trung bình trong khoang cho trong suốt quá trình mà $(\Delta Q / \Delta t)$ được xác định. Tỷ lệ Hep Clint, PPB, BP và đặc tính dược động học đã dự đoán/quan sát được trình bày trên bảng 4 dưới đây:

Bảng 4

Hợp chất	Loài	Hep, Clint	Tỉ lệ BP	Fup	Dự đoán Máu clorua	Máu clorua (CL blood)	Vss máu	Oral 'F'	1/2 Tuổi thọ (POPK)
		(μ l/phút/ 10^6)			(ml/phút/kg)	(ml/phút/kg)	(l/kg)	(%)	(giờ)
Mẫu 10	Chuột	8,3	1,7	0,04	16,10	22,5	9,7	17	30
Mẫu 13		11,3	1,06	0,04	18,80	9,8	7,9	80	10
Mẫu 7		5,6	2,2	0,06	24,20	26,6	12	31	10
Mẫu 10	Chó	5,1	1,7	0,04	12,70	ND	ND	ND	ND
Mẫu 13		9,3	1,35	0,04	20,80	19,0	16,0	82	9
Mẫu 7		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mẫu 10	Người	1,8	1,8	0,04	3,10	ND	ND	ND	ND
Mẫu 13		3,1	1,1	0,03	4,80	ND	ND	ND	ND
Mẫu 7		2,7	1,3	0,03	3,30	ND	ND	ND	ND

(Vss: khối lượng trạng thái ổn định của phân phối; CL blood: chloride blood; ND: không xác định)

Vì việc giảm nhanh kí sinh trùng trong máu là cần thiết để giảm nhẹ nhanh chóng các triệu chứng lâm sàng và giảm thiểu nguy cơ xuất hiện kháng thuốc, nên các hợp chất theo sáng chế tiếp tục được đánh giá đối với đặc tính dược động học/dược lực học trong ống nghiệm của nó.

Khi được kiểm tra trong khảo nghiệm tỉ lệ giảm kí sinh trùng (PRR) trong ống nghiệm (*Le Manach và cộng sự, 2013, Malar J., 16, 424-430*). Mẫu 13 đã tạo ra tác dụng giết trên 4-log (giảm số lượng 10.000 lần) sau 48 giờ phơi nhiễm thuốc, hiệu quả tương tự như cloroquin trong cùng khảo nghiệm.

Trong mô hình *Plasmodium falciparum*/SCID như được mô tả trên đây. Mẫu 13 làm sạch kí sinh trùng *Plasmodium falciparum* xuống dưới giới hạn phát hiện sau 4 ngày điều trị hàng ngày với liều 20 mg/kg được sử dụng qua đường uống. Tỷ lệ giết tối đa được quan sát ở 40 mg/kg. Nồng độ tối thiểu trong máu C_{min} (0,04 μ M) được quan sát ở liều này được coi là nồng độ diệt kí sinh trùng tối thiểu để dự kiến liều dùng cho người.

Ức chế CYP

Các mẫu 7, 10 và 13 không ức chế CYP 3A4, 2D6, 2C9, 2C19, hoặc 1A2 ở người. $IC_{50s} > 30 \mu$ M. IC_{50s} trong khảo nghiệm ức chế phụ thuộc thời gian là $> 56 \mu$ M.

Tính thấm của Caco-2 (pH 6,5/7,4)

Dữ liệu được trình bày trên bảng 5 dưới đây:

Bảng 5

Hợp chất	Papp A đến B	Papp A đến B (thụ động)
	(10^{-6} cm/giây)	(10^{-6} cm/giây)
Mẫu 10	3,8	15,6
Mẫu 13	19,5	36,0
Mẫu 7	5,0	19,9

Xác định các chất chuyển hóa trong cơ thể

Các chất chuyển hóa của mẫu 13 được xác định cả trong cơ thể và trong ống nghiệm bằng cách sử dụng các mô hình sau:

- Trong ống nghiệm: hợp chất của mẫu 13 được ủ với tiểu thể (microsome) tế bào gan người (HLM) hoặc gan chuột (RLM) (nồng độ protein 1 mg/mo trong 100 mM đệm photphat, pH 7,4) ở nồng độ cuối cùng 10 μ M với sự có mặt của 2 mM

NADPH. Chất trung gian phản ứng được bắt bởi glutathion (GSH) hoặc N-acetylcysteine (NAC) 2 mM trong hỗn hợp phản ứng.

- Trong cơ thể, trong ống mật chuột được đặt ống thông: Mẫu 13 được tiêm tĩnh mạch (IV) dưới dạng liều tiêm nhanh qua tĩnh mạch cảnh với liều 2 mg/kg hoặc 4 mg/kg thể trọng cho đối chứng ($n = 3$) hoặc chuột thí nghiệm BDC ($n=2$) tương ứng. Mẫu máu được thu thập ở 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 và 24 giờ qua động mạch cảnh, các mẫu mật được thu thập lúc 0-2 giờ, 2-4 giờ, 4-6 giờ, 6-8 giờ và 8-24 giờ và mẫu nước tiểu được thu thập ở 0-8 giờ và 8-24 giờ. Mẫu mật và nước tiểu được phân tích đối với sự có mặt của chất gốc và chuyển hóa, còn mẫu máu được phân tích đối với sự có mặt của chất gốc. Dữ liệu được trình bày trên bảng 6 sau đây.

Bảng 6

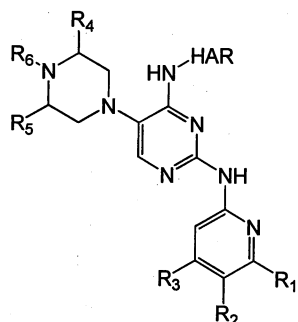
Có mặt	Đỉnh	Thời gian thực (phút)	Chất chuyển hóa dự kiến (m/z)	Chuột (rat)	Người	Chuột (mouse)
Vi lap thể hoặc tế bào gan	Mẫu 2	22,7	N-khử methyl (452)	√	√	√

Các nghiên cứu đã củng cố cho thực tế rằng các hợp chất của mẫu 2 là chất chuyển hóa hoạt hóa của hợp chất của mẫu 13 và được hình thành cả *in vitro* và *in vivo*. Phần trăm chuyển hóa thành chất chuyển hóa hoạt hóa cao nhất ở tiểu thể tế bào gan chuột (mouse), tiếp đến là ở tiểu thể tế bào gan chuột (rat) và sau đó là ở tiểu thể tế bào gan người.

Quan trọng hơn, không có chất chuyển hóa duy nhất được xác định với sự có mặt của HLM hoặc tế bào gan Hu. Không có sự hình thành sản phẩm cộng GSH hoặc NAC. Do đó, không có chất chuyển hóa hoạt hóa được hình thành *in vitro*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

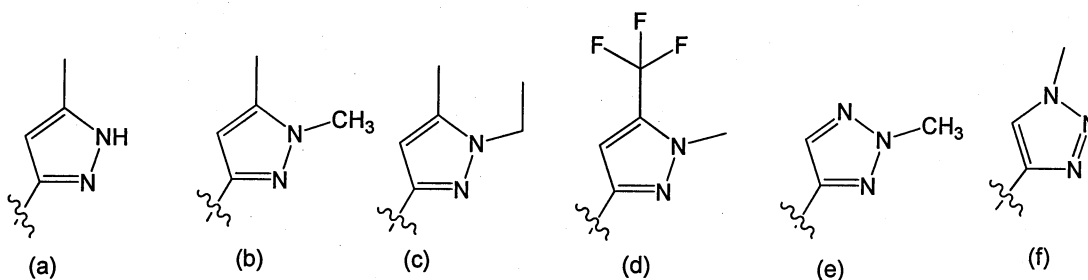
1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc dạng phức chất, hydrat, solvat, hoặc chất đa hình, chất hỗn biến, đồng phân hình học, dạng quang hoạt và muối được dựng của nó, trong đó:

HAR là hệ vòng heteroaryl 5 cạnh được chọn từ nhóm sau:



R_1 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H, C_{1-6} alkyl, CF_3 và C_3-C_5 xycloalkyl;

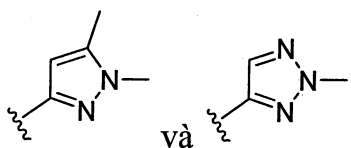
R_2 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm halogen, -CN và C_{1-6} alkyl;

R_3 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H, C_{1-6} alkyl, C_3-C_5 xycloalkyl và CF_3 ;

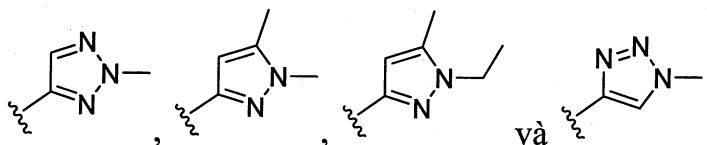
R_4 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl;

R_5 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl; và

- R_6 trong mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ nhóm gồm H và C_{1-6} alkyl.
2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó C_{1-6} alkyl là metyl.
 3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R_2 là halogen.
 4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R_3 là C_3 - C_5 xycloalkyl như xyclobutyl hoặc xyclopropyl.
 5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^3 là C_{1-6} alkyl như etyl.
 6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó R_4 là C_{1-6} alkyl như metyl.
 7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R_5 là hydro.
 8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R_6 là H.
 9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R_6 là C_{1-6} alkyl như metyl.
 10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, trong đó HAR được chọn từ nhóm sau:



11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R_1 là metyl; R_2 được chọn từ flo, clo và CN; R_3 được chọn từ xyclobutyl, etyl và xyclopropyl; R_4 được chọn từ hydro và metyl; R_5 là hydro; R^6 được chọn từ hydro và metyl; và HAR được chọn từ



12. Hợp chất theo điểm bất kỳ 1-11, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-(4-metyl piperazin-1-yl)-N4-(1-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1-etyl-5-metyl-pyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[(3R)-3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

4-xyclopropyl-6-[[4-[(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)amino]-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2-yl]amino]-2-metyl-pyridin-3-cacbonitrin;

N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclobutyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-flo-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)pyrimidin-2,4-diamin;

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; và

N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyltriazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin; cũng như muối được dụng, phức chất, hydrat, solvat, chất hồ biến, chất đa hình, hỗn hợp triệt quang, dạng quang hoạt và dẫn xuất có hoạt tính dược lý của chúng.

13. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3,4-dimetyl piperazin-1-yl]-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)pyrimidin-2,4-diamin và chất chuyển hóa hoạt hóa của nó N2-(4-xyclopropyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin.

14. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó hợp chất này là N4-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-N2-(4-etyl-5-floro-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]pyrimidin-2,4-diamin.

15. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, trong đó hợp chất này là N2-(5-cloro-4-xyclopropyl-6-metyl-2-pyridyl)-5-[3-metyl piperazin-1-yl]-N4-(2-metyl triazol-4-yl)pyrimidin-2,4-diamin.

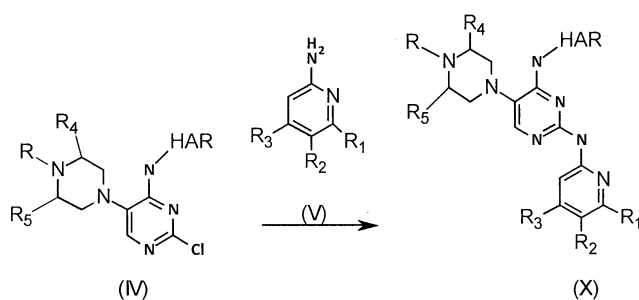
16. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, trong đó hợp chất này là đồng phân đối hình dạng R.

17. Dược phẩm chứa hợp chất bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc muối được dụng của nó, và chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

18. Dược phẩm theo điểm 17, còn chứa thêm ít nhất một chất kháng sốt rét khác được chọn từ: artemisinin hoặc dẫn xuất artimisinin (cụ thể như artemether hoặc dihydroartemisinin), cloroquinin, mefloquin, quinin, atoquone/proguanil, doxyxycilin, hydroxycloquinin, halofantrin, pyronaridin, lumefantrin,

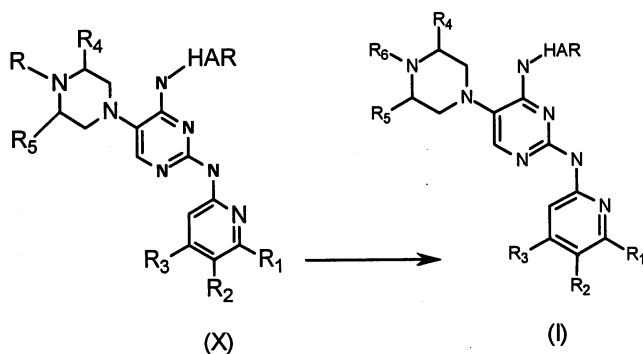
pyrmethamin-sulfadoxin, piperakin, amodiaquin, atovaquone, proguanil hydroclorua, Spiro[3H-indole-3,1'-[1H]pyrido[3,4-b]indol]-2(1H)-one,5,7'-dicloro-6'-floro-2',3',4',9'-tetrahydro-3'-metyl-, (1'R,3'S)-] (Số đăng ký CAS: 1193314-23-6); lưu huỳnh, [4-[[2-(1,1-difloroethyl)-5-metyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl]amin]phenyl] pentafloro-] (Số đăng ký CAS: 1282041-94-4); Morpholin, 4-[2-(4-cis-dispiro[xyclohexan-1,3'-[1,2,4]trioxolan-5',2''-trixyclo[3.3.1.3,7]decan]-4-yl phenoxy)etyl]-] (Số đăng ký CAS: 1029939-86-3), quinacrin, primaquin, tafenaquin, doxyxycilin, ferroquin, và arterolan.

19. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), trong đó bao gồm bước cho phản ứng dẫn xuất theo công thức (IV) với dẫn xuất có công thức (V) để dẫn đến chất trung gian có công thức (X) dưới điều kiện amin hóa được xúc tác bởi paladi như sau:



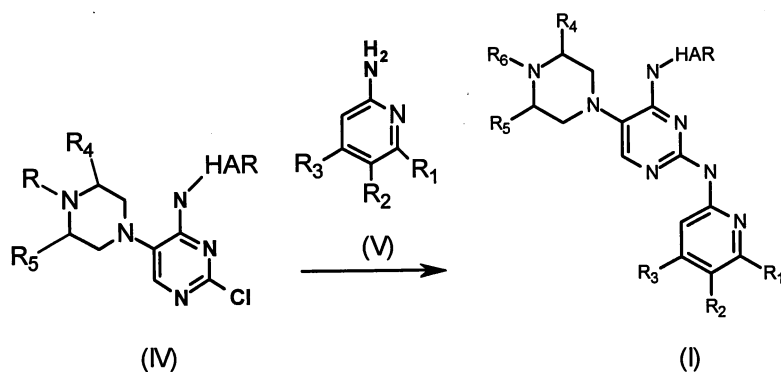
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa theo điểm bất kỳ ở trên và R là nhóm bảo vệ.

20. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), bao gồm bước cho phản ứng dẫn xuất theo công thức (X) để dẫn đến hợp chất có công thức (I) dưới điều kiện axit:



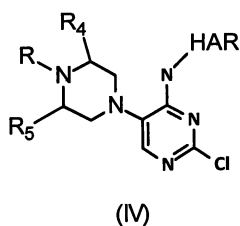
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa theo điểm bất kỳ ở trên và R là nhóm bảo vệ.

21. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), bao gồm bước cho phản ứng dẫn xuất theo công thức (IV) với dẫn xuất có công thức (V) để dẫn đến chất trung gian có công thức (X) dưới điều kiện amin hóa được xúc tác bởi paladi như sau:



trong đó R là R_6 và R_6 là alkyl.

22. Chất trung gian có công thức (IV), trong đó R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa theo điểm bất kỳ trên đây và R được chọn từ nhóm bảo vệ và R_6 :



23. Chất trung gian có công thức (X) trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và HAR được định nghĩa theo điểm bất kỳ trên đây và R là nhóm bảo vệ

