



(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)



1-0033170

(51)⁸ C07F 9/6561; A61K 31/661; C07D
495/04; A61K 31/519; A61P 35/00

(13) B

(21) 1-2018-03556

(22) 19/12/2016

(86) PCT/EP2016/081688 19/12/2016

(87) WO2017/125224 27/07/2017

(30) 16/50411 19/01/2016 FR

(45) 25/09/2022 414

(43) 25/10/2018 367A

(73) 1. LES LABORATOIRES SERVIER (FR)

35 rue de Verdun, 92284 Suresnes, France

2. VERNALIS (R&D) LIMITED (GB)

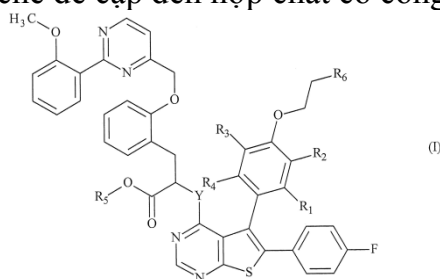
100 Berkshire Place, Wharfedale Road, Berkshire, Winnersh Berkshire RG41 5RD,
United Kingdom

(72) PACZAL, Attila (HU); SZLÁVIK, Zoltán (HU); KOTSCHY, András (HU);
CHANRION, Maïa (FR); MARAGNO, Ana Leticia (FR); GENESTE, Olivier (FR);
DEMARLES, Didier (FR); BÁLINT, Balázs (HU); SIPOS, Szabolcs (HU).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT AMONI, QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY VÀ DƯỢC
PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

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



trong đó R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ và Y được định nghĩa như nêu trong phần mô tả, quy trình
điều chế hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất amoni, quy trình điều chế chúng và dược phẩm chứa các hợp chất này.

Các hợp chất của sáng chế có những đặc tính dược lý rất có giá trị trong lĩnh vực ung thư và quá trình chết tế bào theo chương trình.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quá trình chết tế bào theo chương trình, hay sự chết tế bào đã được lên chương trình, là một quá trình sinh lý quyết định sự phát triển phôi thai và duy trì sự ổn định nội mô.

Quá trình chết tế bào theo cách này liên quan đến những thay đổi hình thái học như sự ngưng tụ nhân, sự phân mảnh ADN và cả đến những quá trình sinh hóa như quá trình hoạt hóa các caspaza, là các enzym gây tổn hại đến các thành phần cấu trúc chính của tế bào, theo đó làm chết hoặc phân hủy tế bào. Việc điều hòa quá trình chết tế bào theo chương trình là phức tạp và liên quan đến quá trình hoạt hóa hoặc ngăn chặn một số đường truyền tín hiệu nội bào (Cory et al. *Nature Review Cancer* 2002, 2, 647-656).

Việc mất điều hòa quá trình chết tế bào theo chương trình có liên quan đến một số quá trình bệnh lý. Quá trình chết tế bào theo chương trình gia tăng sẽ đi kèm với các bệnh thoái hóa thần kinh như bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer và chứng thiếu máu cục bộ. Ngược lại, quá trình chết tế bào theo chương trình giảm sẽ là yếu tố quan trọng dẫn đến phát triển bệnh ung thư và gây kháng hóa trị liệu ung thư, dẫn đến các bệnh tự miễn, các bệnh viêm và các bệnh nhiễm virus. Theo đó, thiếu quá trình chết tế bào theo chương trình là một trong những dấu hiệu kiểu hình của bệnh ung thư (Hanahan et al. *Cell* 2000, 100, 57-70).

Các protein kháng quá trình chết tế bào theo chương trình thuộc họ Bcl-2 có liên quan đến nhiều bệnh lý. Sự liên quan này của các protein thuộc họ Bcl-2 được mô tả là

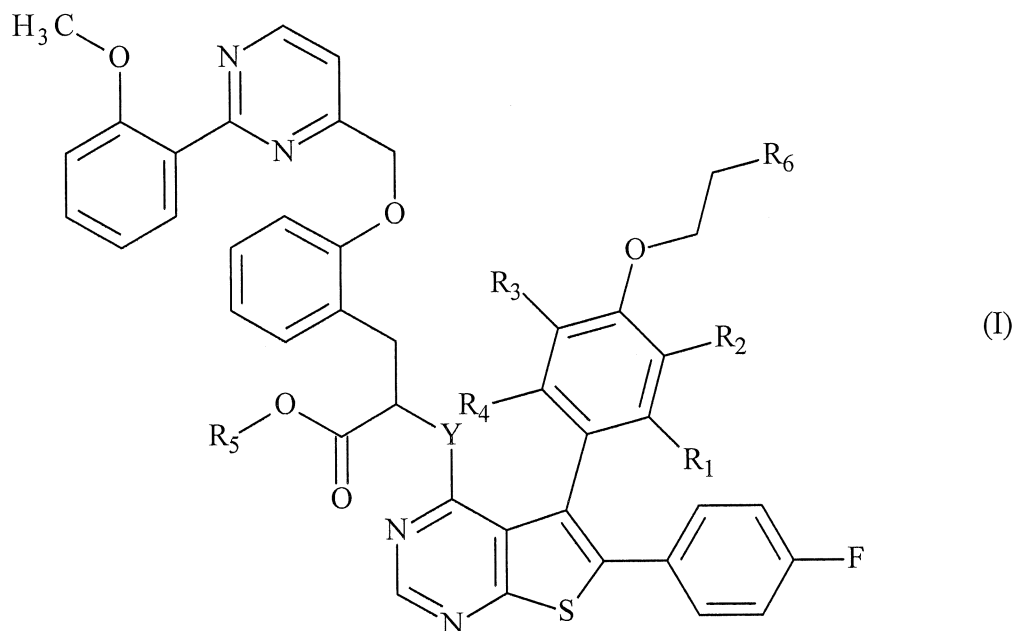
có ở nhiều loại bệnh ung thư, như ung thư ruột kết, ung thư vú, ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư bàng quang, ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tiền liệt, bệnh bạch cầu dạng bạch huyết mãn tính, u bạch huyết, u tủy, bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, ung thư tụy, v.v.. Sự biểu hiện quá mức của các protein kháng quá trình chết tế bào theo chương trình thuộc họ Bcl-2 có liên quan đến quá trình tạo u, sự kháng hóa trị liệu và tiên lượng lâm sàng của các bệnh nhân mắc bệnh ung thư. Đặc biệt, Mcl-1, một thành viên họ Bcl-2 kháng quá trình chết tế bào theo chương trình, được biểu hiện quá mức ở nhiều loại bệnh ung thư khác nhau (Beroukhim et al. *Nature* 2010, 899-905). Do đó, có nhu cầu tìm kiếm các hợp chất chữa bệnh mà ức chế hoạt tính kháng quá trình chết tế bào theo chương trình của các protein họ Bcl-2.

Gần đây, các hợp chất thienopyrimidin đã được mô tả là có thể dùng làm các chất ức chế Mcl-1 có hiệu quả hữu dụng trong điều trị ung thư (WO 2015/097123).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất các hợp chất amoni có hoạt tính thúc đẩy quá trình chết tế bào theo chương trình, theo đó có thể sử dụng chúng trong những bệnh lý liên quan đến sự suy giảm quá trình chết tế bào theo chương trình, ví dụ, trong điều trị bệnh ung thư và các bệnh miễn dịch và tự miễn. Ngoài ra, các hợp chất của sáng chế have độ hòa tan cao cũng như những tác dụng dược lý bất ngờ và đáng chú ý, điều này làm chúng có thể là những ứng viên rất đáng quan tâm đối với lĩnh vực ung thư.

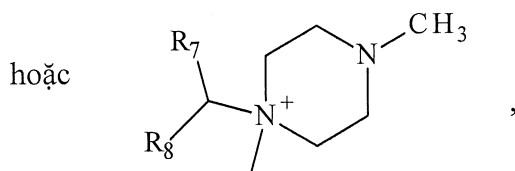
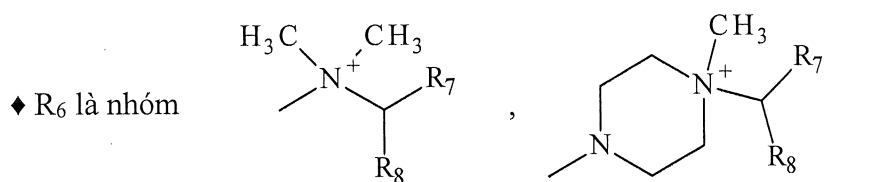
Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I):



trong đó:

- ◆ Y là nhóm -NH- hoặc nguyên tử oxy,
- ◆ R₁ là nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyno, -NR₉R₉', -Cy₁ hoặc nguyên tử halogen,
- ◆ R₂, R₃ và R₄, độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyno, nhóm nitro, -alkyl(C₀-C₆)-NR₉R₉', -O-alkyl(C₁-C₆)-NR₉R₉', -C(O)-OR₉, -O-C(O)-R₉, -C(O)-NR₉R₉', -NR₉-C(O)-R₉', -NR₉-C(O)-OR₉', -alkyl(C₁-C₆)-NR₉-C(O)-R₉', -SO₂-NR₉R₉', -SO₂-alkyl(C₁-C₆),

- ♦ R_5 là nguyên tử hydro,



- ♦ R_7 là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ♦ R_8 là nhóm $-O-P(O)(O^-)(O^-)$, nhóm $-O-P(O)(O^-)(OR_{10})$, nhóm $-O-P(O)(OR_{10})(OR_{10}')$, nhóm $-O-SO_2-O^-$, nhóm $-O-SO_2-OR_{10}$, $-Cy_2$, nhóm $-O-C(O)-R_9$, nhóm $-O-C(O)-OR_9$ hoặc nhóm $-O-C(O)-NR_9R_9'$;

- ♦ R_9 và R_9' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm amino (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

- ♦ R_{10} và R_{10}' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm arylalkyl (C_1-C_6) ,

- ♦ Cy_1 và Cy_2 , độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,

amoni được định nghĩa như trên có thể tồn tại ở dạng dạng ion lưỡng tính hoặc có anion trái dấu hóa trị một,

cần hiểu rằng:

- “aryl” là nhóm phenyl hoặc naphthyl,
- “heteroaryl” là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10

nguyên tử vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,

- "xycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 nguyên tử vòng,

- "heteroxycloalkyl" là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 nguyên tử vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như trên và các nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy có thể được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)alkyl-S-, hydroxy, oxo (hoặc *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, -C(O)-OR', -O-C(O)-R', -C(O)-NR'R'', -NR'R'', -(C=NR')-OR'', (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy hoặc halogen, cần hiểu rằng R' và R'', độc lập với nhau, là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

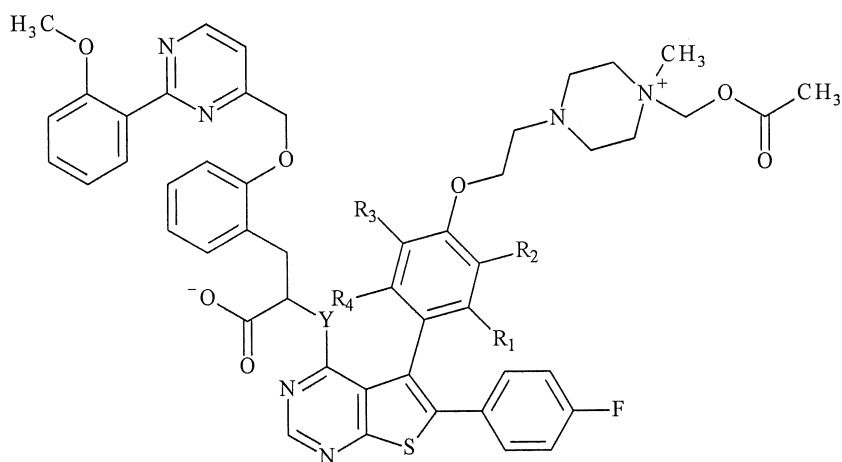
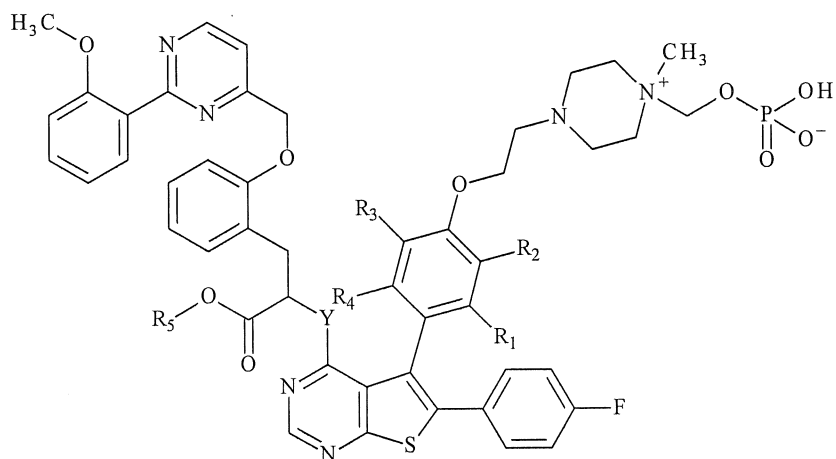
các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang và các chất đồng phân atropi của chúng, và các muối cộng của chúng với bazơ hoặc axit được dụng.

Mô tả chi tiết sáng chế

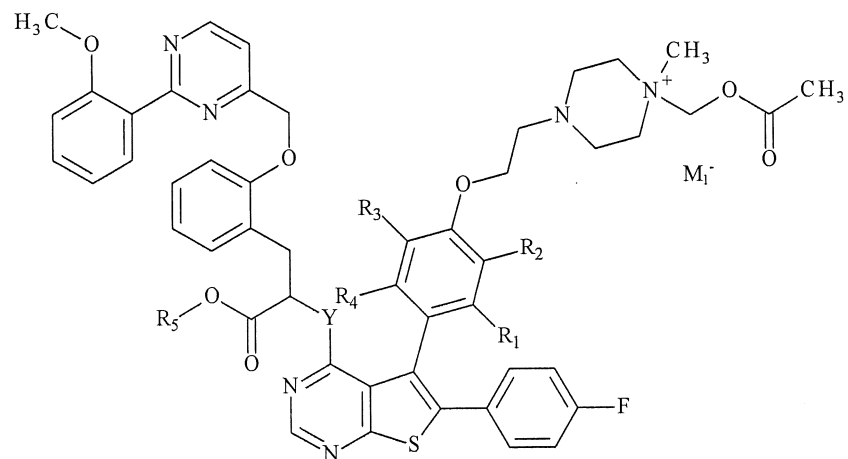
Các axit được dụng gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit clohydric, axit bromhydric, axit sulphuric, axit phosphonic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit lactic, axit pyruvic, axit malonic, axit succinic, axit glutaric, axit fumaric, axit tartaric, axit maleic, axit citric, axit ascorbic, axit oxalic, axit metansulphonic, axit camphoric, v.v..

Các bazơ được dụng gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri hydroxit, kali hydroxit, triethylamin, tert-butylamin, v.v..

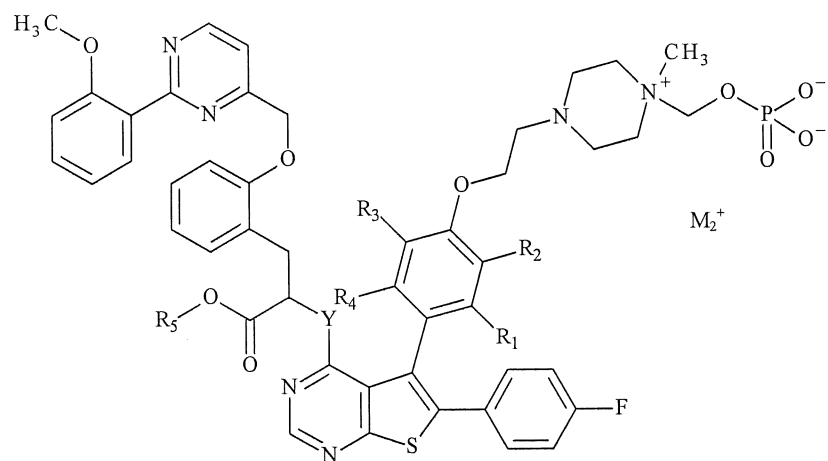
Phụ thuộc vào điện tích của chúng, các hợp chất có công thức (I) có thể có dạng ion lưỡng tính, nghĩa là phân tử trung tính có điện tích âm và dương. Đối với các hợp chất theo sáng chế, các ví dụ về dạng ion lưỡng tính có thể là như sau:

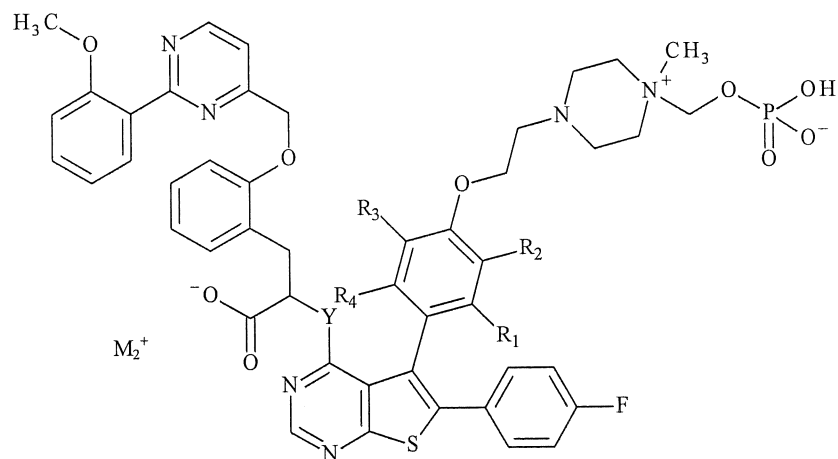


Phụ thuộc vào điện tích của chúng, các hợp chất có công thức (I) có thể chứa một anion trái dấu hóa trị một được dùng M_1^- , anion trái dấu này có thể được chọn từ bromua, clorua, iodua, axetat, trifloaxetat, benzoat, mesylat, tosylat, triflat, hoặc các anion tương tự. Đối với các hợp chất theo sáng chế, ví dụ có thể là như sau:

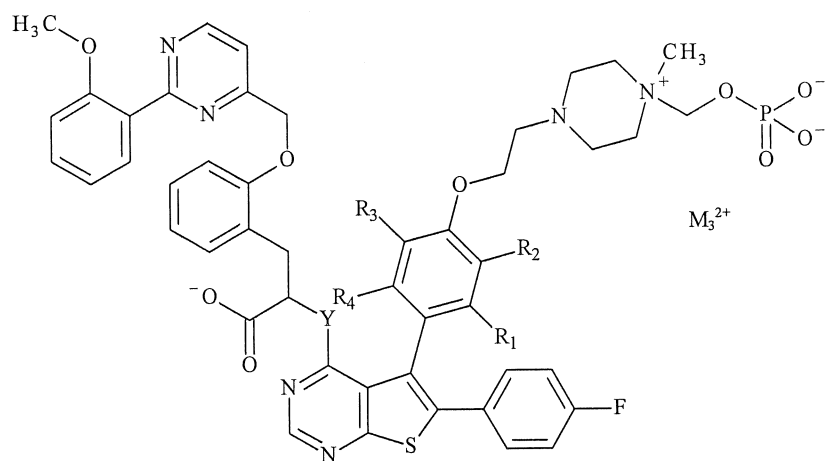


Phụ thuộc vào điện tích của chúng, các hợp chất có công thức (I) có thể chứa một cation trái dấu hóa trị một được dụng M_2^+ , cation này có thể được chọn từ natri, kali, lithi, amoni, axit amin hoặc các cation tương tự. Đối với các hợp chất theo sáng chế, các ví dụ có thể là như sau:





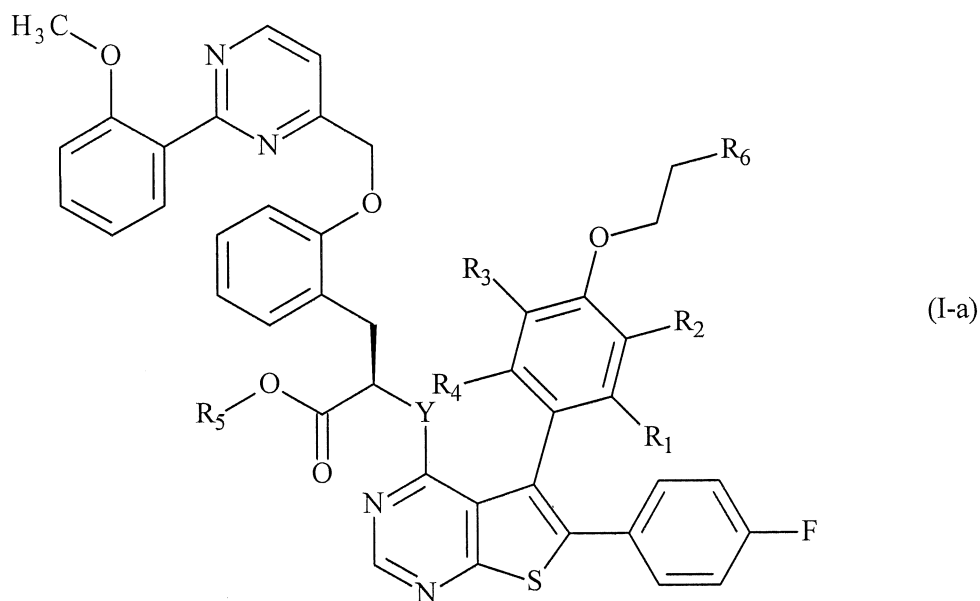
Phụ thuộc vào điện tích của chúng, các hợp chất có công thức (I) có thể chứa một cation trái dấu hóa trị hai được dùng M_3^{2+} , cation này có thể được chọn từ canxi, magie, nhôm, axit amin hoặc các cation tương tự, hoặc hai cation trái dấu hóa trị một được dùng M_2^+ , giống nhau hoặc khác nhau. Đối với các hợp chất theo sáng chế, ví dụ có thể là như sau:



tốt hơn nếu Y là nguyên tử oxy.

Tốt hơn nếu ít nhất một trong số các nhóm được chọn từ R_2 , R_3 và R_4 không phải là nguyên tử hydro.

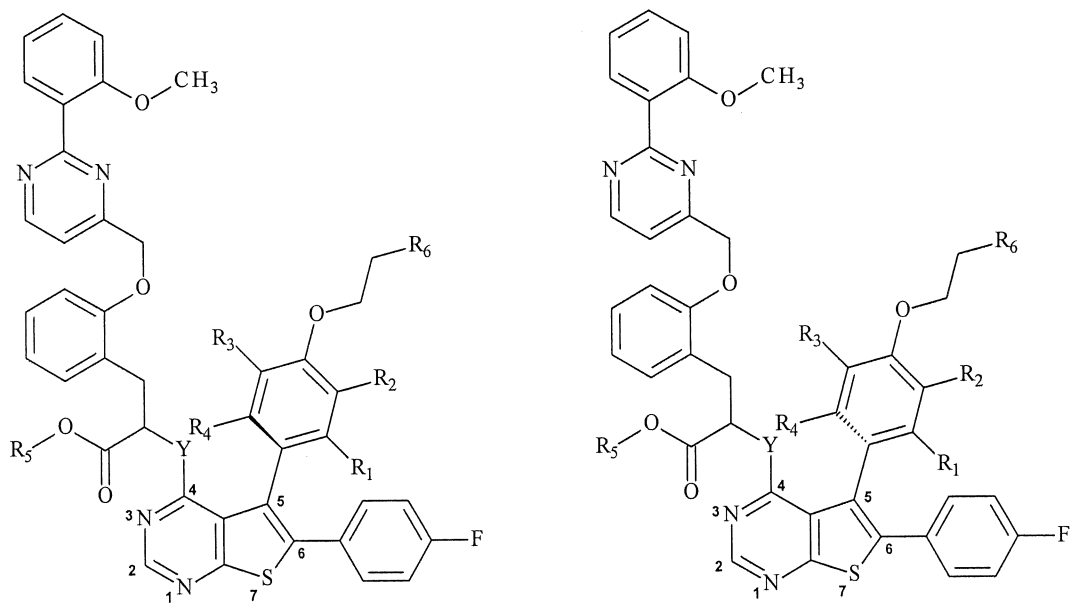
Theo một phương án khác của sáng chế, các hợp chất được ưu tiên là các hợp chất có công thức (I-a):



trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 và Y được định nghĩa như đối với công thức (I).

Trong các hợp chất được ưu tiên của sáng chế, R_1 là nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nguyên tử halogen. Tốt hơn nếu R_1 là nhóm methyl, nhóm ethyl, nguyên tử clo hoặc nguyên tử brom. Tốt hơn nữa nếu R_1 là nhóm ethyl hoặc nguyên tử brom. Tốt hơn nữa nếu R_1 là nguyên tử brom. Có lợi nếu R_1 là nhóm methyl.

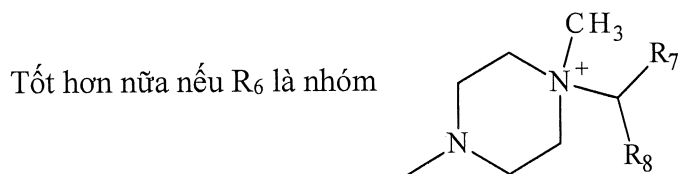
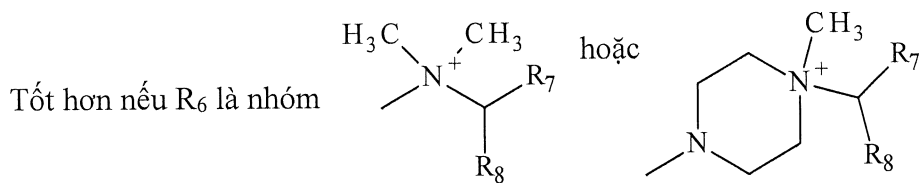
Các chất đồng phân atropi là các chất đồng phân lập thể phát sinh do sự quay quanh liên kết đơn bị hạn chế, trong đó những khác biệt về năng lượng do sức căng lập thể hoặc những yếu tố có ảnh hưởng khác tạo ra một rào cản đối với sự quay mà đủ lớn để có thể tách các chất đồng phân cấu hình riêng (Bringmann et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 5384-5427). Đối với các hợp chất của sáng chế, các chất đồng phân atropi là các chất sau:



Chất đồng phân atropi được ưu tiên là (5*Sa*).

Tốt hơn nếu R_2 là nguyên tử halogen, nhóm hydroxy, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Tốt hơn nữa nếu R_2 là nguyên tử clo.

Tốt hơn nếu R_3 và R_4 là nguyên tử hydro. Theo một phương án được ưu tiên, các phần tử thế của cặp (R_1 , R_4) là giống nhau và các phần tử thế của cặp (R_2 , R_3) là giống nhau. Trong các hợp chất được ưu tiên của sáng chế, các phần tử thế của cặp (R_1 , R_4) là giống nhau và là nhóm (C₁-C₆)alkyl, ưu tiên là nhóm methyl, trong khi các phần tử thế của cặp (R_2 , R_3) là giống nhau và là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử halogen, ưu tiên là nguyên tử clo.



Trong các hợp chất được ưu tiên của sáng chế, R_7 là nhóm methyl hoặc nguyên tử

hydro. R₇ tốt hơn nữa là nguyên tử hydro.

Tốt hơn nếu R₈ là nhóm -O-P(O)(O⁻)(OR₁₀), trong đó tốt hơn nếu R₁₀ là nguyên tử hydro, nhóm benzyl hoặc nhóm methyl. Theo một phương án được ưu tiên khác của sáng chế, R₈ là nhóm -O-SO₂-O⁻. Tốt hơn nếu R₈ là nhóm 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl; nhóm -O-C(O)-CH₃; nhóm -O-C(O)-*t*Bu; nhóm -O-C(O)-CH₂-NH₂; nhóm -O-C(O)-CH[CH(CH₃)₂]-NH₂; nhóm -O-C(O)-O-CH₂CH₃; hoặc nhóm -O-C(O)-N(CH₂CH₃)₂. Tốt hơn nữa nếu R₈ là nhóm -O-P(O)(O⁻)(OH).

Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế là:

- {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- benzyl {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl methyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-ethylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- benzyl {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)

pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-2-clophenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-2-clophenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl metyl
phosphat;

- *N*-[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(4-{[(hydroxyphosphinato)oxy]metyl}-4-
metylpiperazin-4-ium-1-yl)etoxy]-2-metylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}-*D*-phenylalanin;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2,6-diclo-
3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-3,5-
dimetylphenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-
metylphenoxy)etyl](dimetyl)amonio}metyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-
metylphenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}etyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-
metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-
d]pyrimidin-5-yl]-2-clophenoxy)etyl]-1-metylpiperazin-1-ium-1-yl}etyl hydro
phosphat;

- {1-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nol)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-

methylphenoxy)ethyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl} methyl hydro phosphat;

- {1-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl} methyl hydro phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl} methyl sulfat;

- 1-[(axetyloxy)methyl]-4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{[(etoxycarbonyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{[(diethylcarbamoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{1-[(diethylcarbamoyl)oxy]ethyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methyl-1-[(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methyl-1-[(L-valyloxy)methyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-{[(2,2-dimethylpropanoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 1-[(axetyloxy)methyl]-4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{[(etoxycacbonyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{[(diethylcarbamoyleoxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{1-[(diethylcarbamoyleoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-

d]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl-1-[(5-metyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)metyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl-1-[(L-valyloxy)metyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{[(2,2-dimetylpropanoyl)oxy]metyl}-1-metyl-piperazin-1-ium.

Một số trong số các hợp chất được ưu tiên của sáng chế là:

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- benzyl {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl}metyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl}metyl metyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-etylphenoxy)etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-

d]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} metyl hydrophosphat;

- benzyl {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} metyl phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} metyl metyl phosphat;

- *N*-[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(4-{[(hydroxyphosphinato)oxy]metyl}-4-metyl piperazin-4-ium-1-yl)etoxy]-2-metylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-*D*-phenylalanin;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2,6-diclo-3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} metyl hydro phosphat;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} metyl hydro phosphat;

- {[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl](dimetyl)amonio} metyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium-1-yl} etyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-

d]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}etyl hydrophosphat;

- {1-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {1-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat.

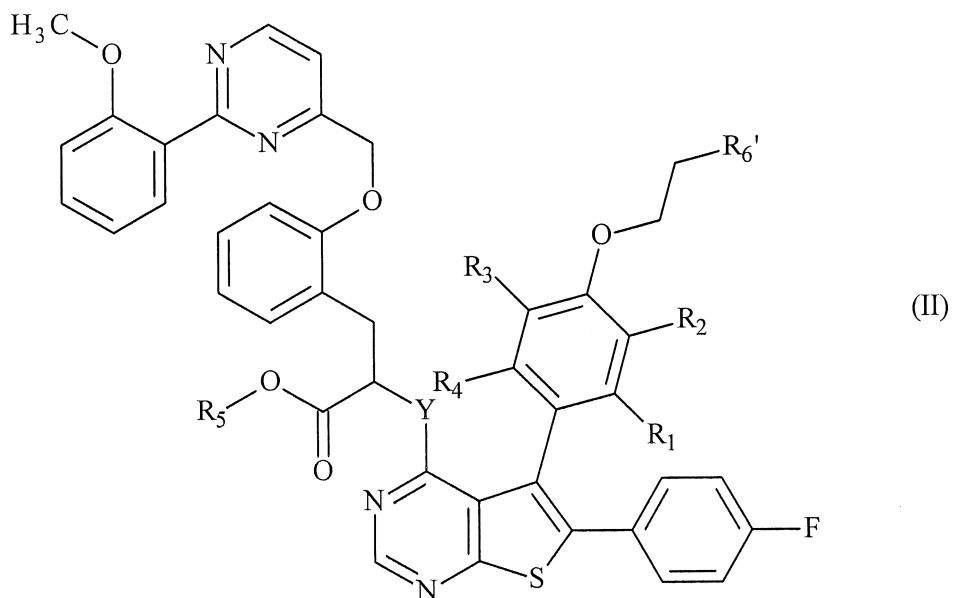
Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế là:

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

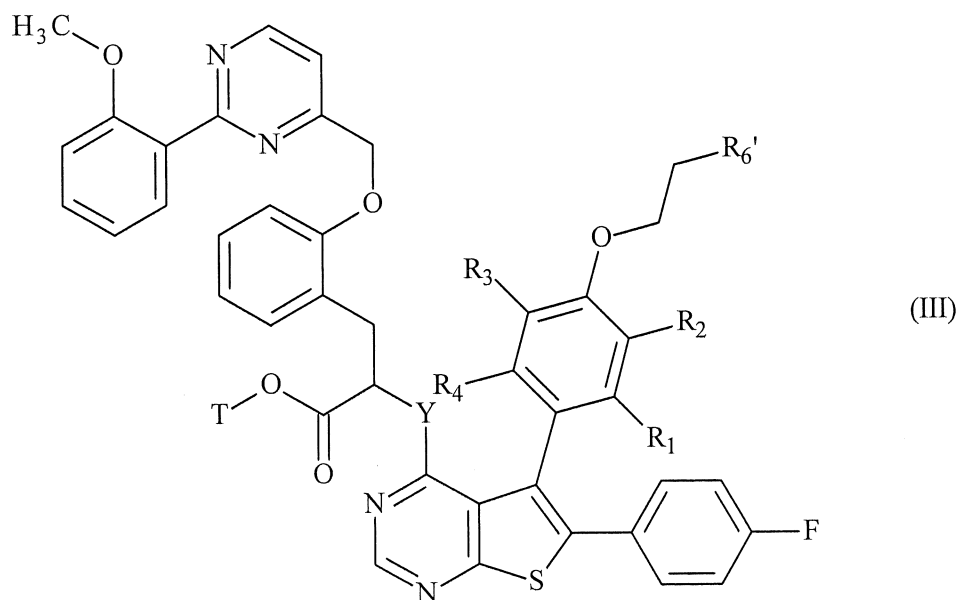
- {[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl](dimetyl)amonio}metyl hydro phosphat.

Sáng chế còn đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất có công thức (I), quy trình này được đặc trưng bằng việc sử dụng hợp chất có công thức (II) làm nguyên liệu ban đầu:



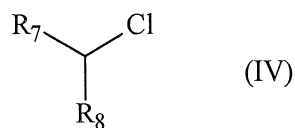
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và Y được định nghĩa như đối với công thức (I), và R_6' là nhóm $-N(CH_3)_2$ hoặc nhóm 4-metyl-piperazinyl,

cho hợp chất này thực hiện phản ứng bảo vệ nhóm chức axit carboxylic để tạo ra hợp chất có công thức (III):



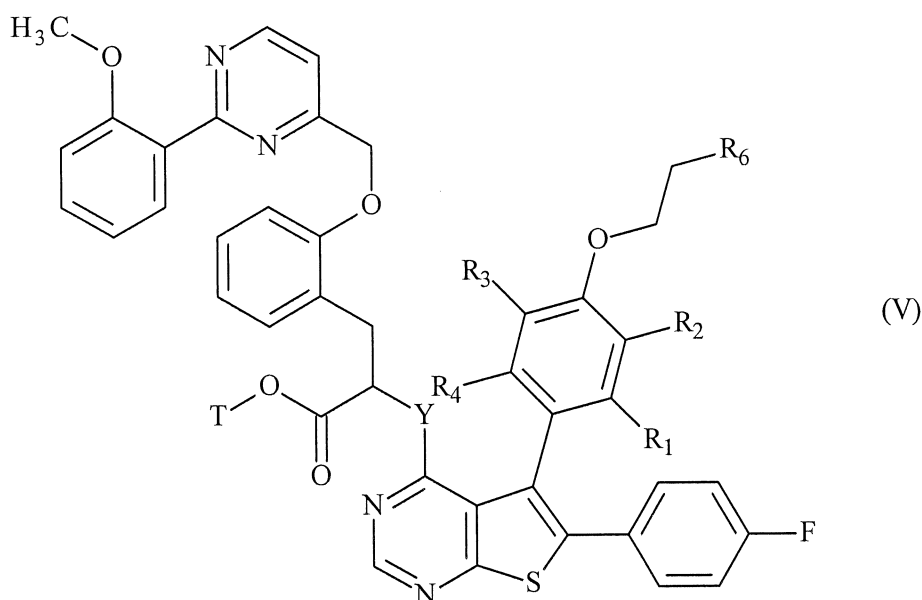
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_6' và Y được định nghĩa như trên đây, và T là nhóm bảo vệ cho chức axit carboxylic như, ví dụ, nhóm *para*-metoxybenzyl,

cho hợp chất này kết hợp với hợp chất có công thức (IV):



trong đó R₇ và R₈ được định nghĩa như đối với công thức (I),

để tạo ra hợp chất có công thức (V):



trong đó R₁, R₂, R₃, R₄, T và Y được định nghĩa như trên đây, và R₆ được định nghĩa như trong công thức (I),

sau đó, thực hiện phản ứng khử bảo vệ nhóm chức axit carboxylic,

để tạo ra hợp chất có công thức (I), hợp chất này có thể được tinh chế theo các kỹ thuật tách thông thường, được chuyển hóa, nếu muốn, thành các muối cộng của nó với bazơ hoặc axit được dùng và tùy ý, được tách thành các chất đồng phân của nó theo các kỹ thuật tách thông thường,

cần phải hiểu rằng tại thời điểm thích hợp bất kỳ trong quy trình nêu trên, một số nhóm (hydroxy, amino, v.v.) của các tác nhân phản ứng ban đầu hoặc của các hợp chất trung gian có thể được bảo vệ, sau đó khử bảo vệ và chức hóa, theo yêu cầu của quy

trình tổng hợp.

Các hợp chất có công thức (II) và (IV) có bán trên thị trường hoặc có thể được điều chế bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này theo các quy trình phản ứng hóa học thông thường được mô tả trong các tài liệu chuyên ngành.

Nghiên cứu về tính chất dược lý của các hợp chất của sáng chế cho thấy rằng chúng có hoạt tính thúc đẩy quá trình chết tế bào theo chương trình. Khả năng tái kích hoạt quá trình chết tế bào theo chương trình ở các tế bào ung thư là mục đích y học chính trong điều trị các bệnh ung thư và các bệnh miễn dịch và tự miễn dịch.

Đặc biệt, các hợp chất của sáng chế sẽ hữu dụng trong điều trị các bệnh ung thư kháng xạ trị hoặc hóa trị.

Các bệnh ung thư có thể được điều trị theo sáng chế gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bệnh ung thư bàng quang, não, vú và tử cung, các bệnh bạch cầu dạng bạch huyết mãn tính, bệnh ung thư ruột kết, thực quản và gan, các bệnh bạch cầu nguyên bào lympho, các bệnh bạch cầu tủy xương cấp tính, các u bạch huyết, các u hắc sắc tố, các bệnh máu ác tính, các u tủy, ung thư buồng trứng, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

Sáng chế còn đề xuất các dược phẩm chứa ít nhất một hợp chất có công thức (I) kết hợp với một hoặc nhiều tá dược dược dụng.

Trong số các dược phẩm theo sáng chế, ưu tiên là các dược phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, qua mũi, ở da hoặc qua da, qua trực tràng, qua lưỡi, ở mắt hoặc qua đường hô hấp, đặc biệt là viên nén hoặc viên trứng, viên nén ngâm dưới lưỡi, bột đóng gói, gói, viên nang, kẹo glossette, viên thuốc hình thoi, thuốc đạn, kem, thuốc mỡ, gel dùng trên da, và ống thuốc để uống hoặc tiêm.

Liều lượng thay đổi theo giới tính, tuổi tác và trọng lượng của bệnh nhân, đường dùng, bản chất của chỉ định điều trị, hoặc các việc điều trị kết hợp, và nằm trong khoảng từ 0,01mg đến 1 g cho 24 giờ với một hoặc nhiều lần dùng.

Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với một tác nhân chống ung thư được chọn từ các tác nhân gây độc gen, các chất độc gián phân, các chất chống chuyển hóa, các chất ức chế proteasom, các chất ức chế kinaza và các kháng thể, và cả các dược phẩm chứa tổ hợp này. Tổ hợp này là hữu dụng để sản xuất thuốc dùng trong điều trị bệnh ung thư.

Thuận lợi là, sáng chế đề cập đến tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế EGFR, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế mTOR/PI3K, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế MEK, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Tốt hơn là, sáng chế đề cập đến tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế HER2, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Thuận lợi là, sáng chế đề cập đến tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế RAF, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế EGFR/HER2, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với taxan, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất ức chế proteasom, chất điều biến miễn dịch hoặc một tác nhân alkyl hóa, và các dược phẩm chứa tổ hợp này.

Có thể dùng đồng thời hoặc lần lượt tổ hợp hợp chất có công thức (I) với một tác nhân chống ung thư. Tốt hơn nếu dùng là đường miệng, và các dược phẩm tương ứng có thể giải phóng tức thời hoặc giải phóng chậm các hoạt chất. Ngoài ra, có thể dùng các hợp chất của tổ hợp ở dạng hai dược phẩm riêng rẽ, mỗi dược phẩm chứa một trong số các hoạt chất, hoặc ở dạng dược phẩm đơn nhất, trong đó các hoạt chất được

trộn lẫn.

Cũng có thể sử dụng các hợp chất theo sáng chế kết hợp với liệu pháp xạ trị trong điều trị bệnh ung thư.

Cuối cùng, có thể liên kết các hợp chất theo sáng chế với các kháng thể đơn dòng hoặc các đoạn của chúng hoặc với các protein khung mà có thể liên quan hoặc không liên quan đến các kháng thể đơn dòng.

Các đoạn kháng thể cần được hiểu là các đoạn loại Fv, scFv, Fab, F(ab')₂, F(ab'), scFv-Fc hoặc các diabody mà nói chung có cùng tính đặc hiệu liên kết như kháng thể mà từ nó các đoạn kháng thể này được tạo ra. Theo sáng chế, có thể thu được các đoạn kháng thể theo sáng chế từ các kháng thể bằng các phương pháp như thủy phân bằng các enzym, như pepsin hoặc papain, và/hoặc bằng cách phân cắt các cầu disulfua bằng các quá trình khử hóa học. Theo cách khác, có thể thu được các đoạn kháng thể theo sáng chế bằng các phương pháp tái tổ hợp gen đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc bằng quá trình tổng hợp peptit sử dụng các phương tiện, ví dụ, các thiết bị tổng hợp peptit tự động như các thiết bị được cung cấp bởi công ty Applied Biosystems, v.v..

Các protein khung mà có thể liên quan hoặc không liên quan đến các kháng thể đơn dòng được hiểu là protein mà chứa hoặc không chứa cuộn globulin miễn dịch và tạo ra khả năng liên kết tương tự với kháng thể đơn dòng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết cách chọn khung protein. Cụ thể hơn, đã biết rằng, để được chọn, khung như vậy cần có một vài dấu hiệu sau (Skerra, J. *Mol. Recogn.* 2000, 13, 167-187): tính bảo toàn tốt về mặt phát sinh chủng loại, cấu trúc chắc chắn với cấu tạo phân tử ba chiều đã biết rõ (ví dụ, tinh thể học hoặc NMR), kích cỡ nhỏ, không biến đổi hoặc biến đổi sau dịch mã chỉ ở mức độ thấp, dễ sản xuất, biểu hiện và tinh chế. Khung protein như vậy có thể là, nhưng không chỉ giới hạn ở, cấu trúc được chọn từ nhóm gồm có fibronectin và ưu tiên là vùng fibronectin typ III thứ mười (FNfn10), lipocalin, anticalin (Skerra, J. *Biotechnol.* 2001, 74, 257-75), dẫn xuất protein Z từ vùng B của staphylococcal protein A, thioredoxin A hoặc protein bất kỳ có vùng lặp như “đơn vị lặp lại ankyrin” (Kohl et al. *PNAS* 2003, 100, 1700-1705), “đơn vị lặp lại armadillo”,

“đơn vị lặp lại giàu leuxin” hoặc “đơn vị lặp lại tetratricopeptit”. Cũng có thể là dẫn xuất khung từ các chất độc (ví dụ, các nọc độc bò cạp, côn trùng, các chất độc thực vật hoặc động vật thân mềm) hoặc các chất ức chế protein của nitơ oxit synthaza tế bào thần kinh (PIN).

Các ví dụ điều chế chuẩn bị và ví dụ dưới đây nhằm minh họa sáng chế, nhưng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Quy trình chung

Tất cả các chất phản ứng từ các nguồn thương mại được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Các dung môi khan là từ các nguồn thương mại và được sử dụng không cần làm khô thêm.

Sắc ký nhanh được thực hiện trên ISCO CombiFlash Rf 200i với các hộp silicagel được nhồi trước (RediSep® Rf Gold High Performance).

Sắc ký lớp mỏng được thực hiện trên các đĩa 5 x 10 cm có phủ silicagel Merck Type 60 F254.

Việc gia nhiệt bằng vi sóng được thực hiện bằng thiết bị Anton Parr MonoWave hoặc CEM Discover®.

Việc tinh chế HPLC điều chế được thực hiện trên hệ sắc ký lỏng Armen Spot với cột Gemini-NX® 10 µM C18, 250 mm × 50 mm i.d., chạy ở tốc độ dòng 118 mL phút⁻¹ có bộ dò mảng điốt UV (210 – 400 nm) sử dụng dung dịch nước NH₃HCO₃ 25 mM và dung môi rửa giải là MeCN trừ khi có quy định khác.

LC-MS phân tích: Các hợp chất của sáng chế được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao-phổ khối (HPLC-MS) trên Agilent HP1200 với LC/MS bốn cực Agilent 6140, vận hành ở chế độ ion hóa phun điện tử âm hoặc dương. Khoảng quét khối lượng phân tử là từ 100 đến 1350. Việc dò UV song song được thực hiện ở 210 nm và 254 nm. Các mẫu được cung cấp dưới dạng dung dịch 1 mM trong axetonitril, hoặc trong tetrahydrofuran/H₂O (1:1) với chu kỳ bơm 5 µL. Các phân tích LCMS được thực hiện

trên hai thiết bị, một trong hai thiết bị này được vận hành với dung môi rửa giải bazơ, và thiết bị kia với dung môi rửa giải axit.

LCMS bazơ: Cột Gemini-NX, 3 μm , C18, 50 mm $\times$ 3,00 mm i.d. ở 23°C, với tốc độ dòng 1 mL phút⁻¹ sử dụng amoni bicacbonat 5 mM (Dung môi A) và axetonitril (Dung môi B) với gradien từ 100 % Dung môi A và kết thúc ở 100 % Dung môi B trong khoảng thời gian nhất định/khác nhau.

LCMS axit: Cột ZORBAX Eclipse XDB-C18, 1,8 μm , 50 mm $\times$ 4,6 mm i.d. ở 40 °C, với tốc độ dòng 1 mL.phút⁻¹ sử dụng axit formic trong nước 0,02 % thể tích/thể tích (Dung môi A) và axit formic trong axetonitril 0,02 % thể tích/thể tích (Dung môi B) với gradien từ 100 % Dung môi A và kết thúc ở 100 % Dung môi B trong khoảng thời gian nhất định/khác nhau.

Việc xác định ¹H-NMR được thực hiện trên phổ kế Bruker Avance III 500 MHz và phổ kế Bruker Avance III 400 MHz, sử dụng dung môi DMSO-d₆ hoặc CDCl₃. Dữ liệu ¹H NMR là ở dạng các giá trị delta, đơn vị phần triệu (ppm), sử dụng đỉnh còn lại của dung môi (2,50 ppm đối với DMSO-d₆ và 7,26 ppm đối với CDCl₃) làm chuẩn nội. Các kiểu chia tách được ký hiệu là: s (vạch đơn), d (vạch đôi), t (vạch ba), q (vạch bốn), quint (vạch năm), m (đa vạch), br s (vạch rộng), dd (hai vạch đôi), td (ba vạch đôi), dt (hai vạch ba), ddd (hai vạch hai vạch đôi).

Sắc ký khí kết hợp và phổ khối phân giải thấp được thực hiện trên thiết bị sắc ký khí Agilent 6850 và khối phổ kế Agilent 5975C sử dụng cột 15 m $\times$ 0,25 mm phủ 0,25 μm HP-5MS và dùng heli làm khí mang. Nguồn ion: EI⁺, 70 eV, 230 °C, bốn cực: 150 °C, mặt phân cách: 300 °C.

HRMS được thực hiện trên Shimadzu IT-TOF, nhiệt độ nguồn ion 200 °C, ESI +/-, điện áp ion hóa: (+/-)4,5 kV. Phân giải khối tối thiểu 10000.

Những phân tích cơ bản được thực hiện trên thiết bị phân tích cơ bản Thermo Flash EA 1112.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat

Bước A: 4-metoxybenzyl (2*R*)-2-{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoat

Hòa tan 1,75 g axit (2*R*)-2-{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic (2 mmol, 1 đương lượng; được tổng hợp theo WO 2015/097123), 1,05 g triphenylphosphin (4 mmol, 2 đương lượng) và 0,5 mL rượu 4-metoxybenzylic (4 mmol, 2 đương lượng) trong 20 mL toluen khô, sau đó cho 0,92 g di-*tert*-butyl azodicarboxylat (4 mmol, 2 đương lượng) vào trong 3 phút. Khuấy hỗn hợp thu được ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 120 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải, thu được tinh thể màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,63 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,68 (dd, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,21-7,13 (m, 5H), 7,10-7,04 (m, 2H), 6,99-6,80 (m, 7H), 6,24 (d, 1H), 5,68 (dd, 1H), 5,25-5,16 (m, 3H), 5,09 (d, 1H), 4,29-4,18 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,38 (dd, 1H), 2,96-2,89 (m, 2H), 2,69 (br s, 4H), 2,56 (dd, 2H), 2,46 (br s, 4H), 2,28 (s, 3H), 1,90 (s, 3H)

Bước B: *tert*-butyl [4-[2-[2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(1*R*)-2-[(4-metoxyphe-nyl)metoxy]-1-[[2-[[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]metyl]-2-oxo-etoxy]-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-metyl-phenoxy]etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl]metyl phosphat

Khuấy 249 mg 4-metoxybenzyl (2*R*)-2-{[(5*S*_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoat (0,25 mmol, 1 đương lượng), 194 mg di-*tert*-butyl clometyl phosphat (0,75 mmol, 3 đương lượng), 112

mg natri iodua (0,75 mmol, 3 đương lượng) và 62 mg NaHCO₃ (0,75 mmol, 3 đương lượng) trong 3 mL axeton khô ở nhiệt độ trong phòng qua đêm (không cho ánh sáng chiếu vào). Cho 2 mL nước vào hỗn hợp phản ứng và bơm trực tiếp vào cột RP18, sử dụng axetonitril / 5 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải theo phương pháp gradien. Sau khi làm đông khô, thu được chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,64 (d, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,68 (dd, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,21-7,16 (m, 5H), 7,11-7,05 (m, 2H), 6,98 (t, 2H), 6,89-6,79 (m, 5H), 6,22 (d, 1H), 5,66 (dd, 1H), 5,20 (dd, 2H), 5,15 (dd, 2H), 5,08 (d, 1H), 4,26-4,16 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,70-3,65 (m, 2H), 3,38 (dd, 2H), 3,32 (br s, 1H), 3,19-3,09 (m, 1H), 3,15 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 2,98-2,91 (m, 2H), 2,55 (dd, 1H), 1,90 (s, 3H), 1,87 (br s, 4H), 1,46 (s, 9H)

Bước C: Ví dụ 1

Cho 0,5 mL axit trifloaxetic (6,6 mmol, 50 đương lượng) vào 150 mg *tert*-butyl [4-[2-[2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(1*R*)-2-[(4-metoxypheyl)methoxy]-1-[[2-[(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]methoxy]phenyl]methyl]-2-oxo-etoxy]-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methyl-phenoxy]ethyl]-1-methyl-piperazin-1-ium-1-yl]methyl phosphat (0,13 mmol, 1 đương lượng) được hòa tan trong 4 mL diclometan khô và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 5 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 1 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₄₈H₄₈ClFN₆O₁₀PS: 984,2485; theo thực tế: 471,1189 (M+2H)

Ví dụ 2: benzyl {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl phosphat

Bước A: benzyl [4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxypheyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy}ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl]methyl phosphat

Khuấy 995 mg 4-metoxybenzyl (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoat (1 mmol, 1 đương lượng) và 392 mg dibenzyl clometyl phosphat (1,2 mmol, 1,2 đương lượng) trong 5 mL axetonitril khô ở 80 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 80 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu được sản phẩm ở dạng tinh thể màu trắng nhạt. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): 8,66 (d, 1H), 8,54 (s, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,49 (dd, 1H), 7,45 (tm, 1H), 7,34-7,2 (m, 5H), 7,29 (m, 2 H), 7,24 (d, 1H), 7,22 (m, 2H), 7,19 (m, 1H), 7,15 (m, 2H), 7,14 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,04 (m, 1H), 7,02 (tm, 1H), 6,88 (d, 2H), 6,74 (t, 1H), 6,21 (d, 1H), 5,55 (dd, 1H), 5,23 (d, 1H), 5,17 (d, 1H), 5,10 (d, 1H), 5,01 (d, 1H), 4,86 (d, 2H), 4,75 (d, 2H), 4,26-4,14 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,38-3,22 (m, 4H), 3,22-2,54 (m, 2 H), 2,96-2,74 (br s, 4H), 2,93 (s, 3H), 2,87 (t, 2H), 1,84 (s, 3H)

Bước B: Ví dụ 2

Khuấy 435 mg benzyl [4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxybenzyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-metylphenoxy}etyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl]metyl phosphat (0,36 mmol, 1 đương lượng) và 560 µL axit trifloaxetic (7,28 mmol, 20 đương lượng) ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 5 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 2 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₅H₅₃ClFN₆O₁₀PS: 1074,2954; theo thực tế: 538,1565 (M+2H)

Trong các ví dụ 3 và 4 dưới đây, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II).

Ví dụ 3: {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl metyl phosphat

Ví dụ 4: {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-etylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat

Ví dụ 5: {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat

Bước A: 4-metoxymethyl (2*R*)-2-[(5*S_a*)-5-{3-bromo-2-methyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoat

Hòa tan 1,75 g axit (2*R*)-2-[(5*S_a*)-5-{3-bromo-2-methyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic (2 mmol, 1 đương lượng; được tổng hợp theo WO 2015/097123), 1,05 g triphenylphosphin (4 mmol, 2 đương lượng) và 0,5 mL rượu 4-metoxymethyl (4 mmol, 2 đương lượng) trong 20 mL toluen khô, sau đó cho 0,92 g di-*tert*-butyl azodicarboxylat (4 mmol, 2 đương lượng) vào trong 3 phút. Khuấy hỗn hợp thu được ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 120 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải, thu được tinh thể màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,63 (d, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,68 (dd, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,21-7,13 (m, 5H), 7,10-7,04 (m, 2H), 6,99-6,80 (m, 7H), 6,24 (d, 1H), 5,68 (dd, 1H), 5,25-5,16 (m, 3H), 5,09 (d, 1H), 4,29-4,18 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,38 (dd, 1H), 2,96-2,89 (m, 2H), 2,69 (br s, 4H), 2,56 (dd, 2H), 2,46 (br s, 4H), 2,28 (s, 3H), 1,90 (s, 3H)

Bước B: *tert*-butyl [4-[2-[2-bromo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(1*R*)-2-[(4-metoxyphe-nyl)metoxy]-1-[[2-[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]metyl]-2-oxo-

etoxy]-(5S_a)-thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-3-methyl-phenoxy]etyl]-1-methyl-piperazin-1-ium-1-yl]methyl phosphat

Khuấy 265 mg hợp chất của bước A trên đây (0,25 mmol, 1 đương lượng), 194 mg di-*tert*-butyl clometyl phosphat (0,75 mmol, 3 đương lượng), 112 mg natri iodua (0,75 mmol, 3 đương lượng) và 62 mg NaHCO₃ (0,75 mmol, 3 đương lượng) trong 3 mL axeton khô ở nhiệt độ trong phòng qua đêm (không cho ánh sáng chiếu vào). Cho 2 mL nước vào hỗn hợp phản ứng và bơm trực tiếp vào cột RP18, sử dụng axetonitril / 5 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải theo phương pháp gradien. Sau khi làm đông khô, thu được chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 8,64 (d, 1H), 8,46 (s, 1H), 7,68 (dd, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,45 (t, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,21-7,16 (m, 5H), 7,11-7,05 (m, 2H), 6,98 (t, 2H), 6,89-6,79 (m, 5H), 6,22 (d, 1H), 5,66 (dd, 1H), 5,20 (dd, 2H), 5,15 (dd, 2H), 5,08 (d, 1H), 4,26-4,16 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,70-3,65 (m, 2H), 3,38 (dd, 2H), 3,32 (br s, 1H), 3,19-3,09 (m, 1H), 3,15 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 2,98-2,91 (m, 2H), 2,55 (dd, 1H), 1,90 (s, 3H), 1,87 (br s, 4H), 1,46 (s, 9H)

Bước C: Ví dụ 5

Cho 0,5 mL axit trifloaxetic (6,6 mmol, 50 đương lượng) vào 150 mg hợp chất của bước B trên đây (0,13 mmol, 1 đương lượng) được hòa tan trong 4 mL diclometan khô và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 5 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 5. HRMS theo tính toán cho C₄₇H₄₄ClFN₆O₁₀PS: 1048,1433; theo thực tế: 525,0791 (M+2H)

Ví dụ 6: benzyl {4-[2-(3-bromo-4-{(5S_a)-4-[(1R)-1-carboxy-2-(2-{2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl phosphat

Bước A: benzyl [4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2R)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]phenoxy)etyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl]methyl phosphat

Khuấy 318 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,30 mmol, 1 đương lượng) và 147 mg dibenzyl clometyl phosphat (0,45 mmol, 1,5 đương lượng) trong 1,5 mL axetonitril khô ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bom trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 80 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu được sản phẩm của bước A ở dạng các tinh thể màu trắng. MS: M+H = 1260,6

Bước B: Ví dụ 6

Cho 334 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 275 mg hợp chất của bước B trên đây (0,218 mmol, 1 đương lượng) trong 3,5 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Sau đó, tinh chế sản phẩm này bằng sắc ký pha đảo, sử dụng dung dịch NH₄HCO₃ 25 mM trong nước và MeCN làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 6 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₄H₅₀BrClFN₆O₁₀PS: 1138,1903; theo thực tế: 570,1018 (M+2H)

Ví dụ 7: {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl metyl phosphat

Trong ví dụ 7, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II).

Ví dụ 8: *N*-[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(4-{[(hydroxyphosphinato)oxy]metyl}-4-methylpiperazin-4-ium-1-yl)etoxy]-2-methylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphe-
nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalanin

Bước A: 6-iodo-3H-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-on

Nạp 433 mL dung dịch axit axetic, 13 mL axit sulfuric và 87 mL nước vào bình đáy 2 L có lắp thiết bị khuấy cơ học, nhiệt kế và thiết bị ngưng tụ hồi lưu. Cho 69,3 g

3*H*-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-on (0,46 mol), 51,9 g axit periodic (0,23 mol) và 104 g iotine (0,41 mol) vào dung dịch được khuấy này, mà được gia nhiệt đến 60 °C trong 1 giờ. Làm lạnh huyền phù thu được xuống nhiệt độ trong nhiệt độ trong phòng, lọc ra, rửa bằng hỗn hợp axit axetic và nước (5:1) và sau đó bằng dietyl ete. Làm khô bằng không khí chất rắn dạng tinh thể màu be thu được. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12,57 (br s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,65 (s, 1H)

Bước B: 4-clo-6-iodo-thieno[2,3-*d*]pyrimidin

Nạp 113 mL phosphor oxyclorea và 35 mL *N,N*-dimetylanilin (0,29 mol) vào bình đáy tròn 1 L có lắp cánh khuấy cơ khí, nhiệt kế, dụng cụ ngưng tụ hồi lưu và ống CaCl₂. Cho từng phần 75,54 g hợp chất của bước A trên đây (0,27 mol) vào hỗn hợp trong 5 phút. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 105 °C trong 1 giờ. Làm lạnh huyền phù thu được xuống 10 °C, lọc và rửa bằng hexan. Cho sản phẩm thô vào nước đá và khuấy trong 10 phút, lọc ra, rửa bằng nước lạnh, dietyl ete và làm khô bằng không khí. Thu được chất rắn dạng tinh thể màu be. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8,89 (s, 1H), 7,98 (s, 1H)

Bước C: 5-Bromo-4-clo-6-iodo-thieno[2,3-*d*]pyrimidin

Nạp 600 mL axetonitril vào bình đáy trong 2 L có lắp thiết bị khuấy cơ học, nhiệt kế và thiết bị sục. Cho 84,9 g hợp chất của bước B trên đây (0,29 mol), 50,9 g *N*-bromosuccinimit (0,29 mol) và 8,5 mL phức chất axit tetrafloroboric dietyl ete vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Lại cho làm ba lần 22,9 g (0,12 mol) *N*-bromosuccinimit vào hỗn hợp. Sau khi làm lạnh huyền phù xuống 0 °C và khuấy trong 1 giờ, lọc chất kết tủa ra, rửa bằng axetonitril và làm khô bằng không khí. Thu được sản phẩm ở dạng chất rắn tinh thể màu be. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8,88 (s, 1H)

Bước D: 5-bromo-4-clo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin

Cho 75,08 g hợp chất của bước C trên đây (200 mmol), 53,63 g 2-(4-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (240 mmol), 130 g xesi cacbonat (400 mmol), 2,245 g Pd(OAc)₂ (10 mmol) và 8,50 g 2-di-*tert*-butylphosphino-2',4',6'-

triisopropylbiphenyl (20 mmol) vào bình 2 L. Cho 600 mL tetrahydrofuran và 200 mL nước vào, và sau đó khuấy qua đêm ở 70 °C trong khí quyển argon. Làm bay hơi tetrahydrofuran, và sau đó thu gom sản phẩm bằng cách lọc. Chiếu sóng siêu âm vào sản phẩm thô trong 250 mL axetonitril và lọc lại. Sau đó, kết tinh 5-bromo-4-clo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin từ etanol / tetrahydrofuran (2:1). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9,02 (s, 1H), 7,80-7,77 (m, 2H), 7,47-7,43 (m, 2H)

Bước E: Axit (2*R*)-2-[[5-Bromo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic

Trộn 1 đương lượng hợp chất của bước D trên đây, 2 đương lượng axit (2*R*)-2-amino-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic và 3 đương lượng K₂CO₃ trong dimetyl sulfoxit (10 mL/mmol) và khuấy ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, pha loãng hỗn hợp bằng nước, axit hóa bằng dung dịch HCl 1M (đến độ pH = 1, hoặc đến độ pH = 6 với sự có mặt của nhóm amino bazơ) và chiết bằng etyl axetat, hoặc tách chất kết tủa tạo ra sau khi axit hóa bằng cách lọc. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký pha đảo điều chế, sử dụng NH₄HCO₃ 25 mM trong nước và axetonitril làm các dung môi rửa giải, thu được axit (2*R*)-2-[[5-bromo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12,90 (br s, 1H), 9,65 (br s, 1H), 8,41 (s, 1H), 7,70 (m, 2H), 7,45-7,34 (m, 3H), 7,18 (dd, 1H), 7,04 (td, 1H), 6,80 (d, 1H), 6,72 (t, 1H), 4,96 (m, 1H), 3,31 (dd, 1H), 3,08 (dd, 1H)

MS (M+H): 488,0

Bước F: (4-bromo-2-clo-phenoxy)-trimetyl-silan

Hòa tan 20,8 g 4-bromo-2-clo-phenol (100 mmol) trong 150 mL tetrahydrofuran khô, sau đó cho 24,2 g hexametyldisilazan (150 mmol) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 85 °C trong khí quyển argon trong 1,5 giờ, sau đó cô đặc bằng áp suất thấp. Sản phẩm thô thu được được sử dụng không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 7,49 (d, 1H), 7,23 (dd, 1H), 6,75 (d, 1H), 0,26 (s, 9H)

Bước G: 4-bromo-2-clo-3-metyl-phenol

Cho nhỏ giọt 48 mL dung dịch *n*-butyl lithi (120 mmol, 2,5 M trong hexan) vào dung dịch 12,1 g diisopropylamin khô (120 mmol) trong 250 mL tetrahydrofuran khô ở -78 °C trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp trong 30 phút cũng ở nhiệt độ này, sau đó cho nhỏ giọt 28,0 g hợp chất của bước F trên đây (100 mmol) vào. Sau 2,5 giờ, cho nhỏ giọt 21,3 g methyl iodua (150 mmol) vào, sau đó lấy bể làm lạnh ra và khuấy hỗn hợp qua đêm. Tồi đập tắt phản ứng hỗn hợp bằng 100 mL dung dịch NH₄OH và 200 mL NH₄Cl, sau đó chiết bằng ethyl axetat. Làm khô pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Hồi lưu vài lần sản phẩm tối màu thu được với hexan tinh khiết (những phần phân ước 150-150 mL) và lắng gạn, thu được nhựa màu đen ở bên dưới. Cô đặc các pha hữu cơ thu gom được bằng áp suất thấp, thu được 19,0 g sản phẩm thô, sản phẩm này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 7,32 (d, 1H), 6,76 (d, 1H), 5,62 (s, 1H), 2,49 (s, 3H)

Bước H: (4-bromo-2-clo-3-metyl-phenoxy)-trimetyl-silan

Cho 20,8 g hexametyldisilazan (129 mmol) vào dung dịch 19,0 g hợp chất của bước H trên đây (86,0 mmol) trong 150 mL tetrahydrofuran khô. Khuấy hỗn hợp ở 85 °C trong bình khí argon trong 1,5 giờ và sau đó cô đặc bằng áp suất thấp. Sản phẩm thu được được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ: 7,30 (d, 1H), 6,63 (d, 1H), 2,50 (s, 3H), 0,28 (s, 9H)

Bước I: 2-clo-3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol

Làm lạnh dung dịch 25,2 g hợp chất của bước H trên đây (86,0 mmol) trong 250 mL tetrahydrofuran khô xuống -78 °C trong argon và sau đó cho nhỏ giọt 38 mL dung dịch *n*-butyl lithi (94,6 mmol, 2,5M trong hexan) vào. Sau 5 phút, cho nhỏ giọt 19,2 g 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (103 mmol) vào. Lấy bể làm lạnh ra và để ấm từ từ hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng. Sau đó, cho hỗn hợp vào 200 mL dung dịch NH₄Cl và chiết bằng ethyl axetat. Cô đặc các lớp hữu cơ thu gom được bằng áp suất thấp và cho qua đệm silica gel sử dụng hexan và ethyl axetat làm dung môi rửa giải. Tái kết tinh sản phẩm thô từ hỗn hợp ethyl axetat và hexan, thu được 2-clo-3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenol. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 10,40 (s, 1H), 7,42 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 2,49 (s, 3H), 1,27 (s, 12H)

Bước J: 1-[2-[2-clo-3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenoxy]etyl]-4-metyl-piperazin

Hòa tan 10,0 g hợp chất của bước I trên đây (37,2 mmol), 8,7 g 2-(4-metylpiperazin-1-yl)etanol (60,3 mmol) và 15,8 g triphenylphosphin (60,3 mmol) trong 100 mL toluen khô và sau đó cho nhỏ giọt 27 mL diethyl azodicarboxylat (60,3 mmol, dung dịch 40 % trong toluen) vào. Khuấy hỗn hợp ở 50 °C trong khí quyển argon cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi các chất dễ bay hơi bằng áp suất thấp và cho 100 mL diethyl ete vào. Lọc các tinh thể màu trắng được kết tủa ra và rửa bằng diethyl ete. Cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp và tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng clorofom và metanol làm các dung môi rửa giải. Kết tinh dầu màu nâu sáng thu được từ hexan, thu được 1-[2-[2-clo-3-metyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenoxy]etyl]-4-metyl-piperazin ở dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 7,56 (d, 1H), 6,99 (d, 1H), 4,15 (t, 2H), 2,72 (t, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,50 (br s, 4H), 2,29 (br s, 4H), 2,13 (s, 3H), 1,29 (s, 12H)

Bước K: Axit (2R)-2-[[5-(5S_a)-5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic

Hòa tan 1 đương lượng hợp chất của bước E trên đây và 3 đương lượng hợp chất của bước J trên đây trong hỗn hợp dioxan:nước 2:1 (10 mL/mmol), sau đó cho 2 đương lượng Cs₂CO₃, 5 mol% Pd(OAc)₂ và 0,2 đương lượng tri-*tert*-butylphosphoni tetraflorolat vào và khuấy hỗn hợp ở 120 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong khí quyển nitơ cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Trung hòa hỗn hợp bằng dung dịch HCl 1M và chiết bằng diclometan. Làm khô các pha hữu cơ thu gom được trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký pha đảo điều chế, sử dụng dung dịch axit trifloaxetic 0,1 % trong nước và axetonitril làm các dung môi rửa giải, thu được axit (2R)-2-[[5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic ở dạng hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang. Tách hỗn hợp bằng sắc ký nhanh, sử dụng các dung môi rửa giải HILIC. Thu gom chất đồng phân không đối quang rửa giải ra trước ở dạng axit (2R)-2-[[5(R_a)-5-[3-

clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic. MS (M+H): 676,2

Thu gom chất đồng phân không đối quang rửa giải ra sau ở dạng axit (2*R*)-2-[[[(5*S_a*)-5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic. MS (M+H): 676,2

Bước L: etyl (2*R*)-2-[[[(5*S_a*)-5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoat

Hòa tan 4,51 g axit (2*R*)-2-[[[(5*S_a*)-5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoic (6,67 mmol) trong 85 mL HCl 1,25M trong etanol và khuấy ở 40 °C qua đêm. Sau đó, pha loãng từ từ hỗn hợp bằng dung dịch NaHCO₃ và chiết bằng diclometan. Làm khô các pha hữu cơ thu gom được trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng diclometan và metanol làm các dung môi rửa giải, thu được etyl (2*R*)-2-[[[(5*S_a*)-5-[3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]amino]-3-(2-hydroxyphenyl)propanoat.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9,49 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,27-7,21 (m, 3H), 7,20-7,14 (m, 2H), 7,00 (td, 1H), 6,71 (dd, 1H), 6,60 (td, 1H), 6,39 (dd, 1H), 5,03 (d, 1H), 4,92 (m, 1H), 4,26 (t, 2H), 4,03 (m, 2H), 3,03 (dd, 1H), 2,78 (t, 2H), 2,54 (br, 4H), 2,36 (dd, 1H), 2,30 (br, 4H), 2,12 (s, 3H), 1,83 (s, 3H), 1,10 (t, 3H)

HRMS theo tính toán cho C₃₇H₃₉ClFN₅O₄S: 703,2395; theo thực tế 704,2450 (M+H)

Bước M: (E)-4-(dimetylamino)-1,1-dimetoxy-but-3-en-2-on

Trộn 502,1 g 1,1-dimetoxypropan-2-on (4,25 mol) và 506,4 g 1,1-dimetoxy-*N,N*-dimetyl-metanamin (4,25 mol) trong bình 2 L và khuấy ở 105 °C trong 3 giờ. Loại bỏ liên tục metanol được tạo ra bằng cách chưng cất. Khi việc tạo metanol dừng lại (ở nhiệt

độ đỉnh 65 °C), chưng cất chân không hỗn hợp phản ứng (giảm từ từ áp suất xuống 30 mbar (3 kPa)) để loại bỏ các sản phẩm phụ và các nguyên liệu chưa phản ứng. Chưng cất sản phẩm thô ở 0,1 mbar (10 Pa). Thu gom các phân đoạn ở nhiệt độ đỉnh trong khoảng 107-118 °C (nhiệt độ bể trong khoảng 160-165 °C), thu được dầu màu vàng. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 7,59 (d, 1H), 5,17 (d, 1H), 4,42 (s, 1H), 3,25 (s, 6H), 3,09 (s, 3H), 2,78 (s, 3H)

Bước N: 4-(Dimetoxymetyl)-2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin

Cho 1,2 đương lượng natri metoxit vào hỗn hợp 1,2 đương lượng muối 2-metoxybenzamidin của axit axetic và 1 đương lượng hợp chất của bước M trên đây trong metanol khô (0,5 mL/mmol), và khuấy hỗn hợp ở 75 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng và cô đặc bằng áp suất thấp. Cho nước vào phần cặn, và chiết bằng diclometan. Các Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO₄, lọc và dịch lọc được cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được 4-(dimetoxymetyl)-2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,93 (d, 1H), 7,55-7,44 (m, 3H), 7,16 (d, 1H), 7,06 (m, 1H), 5,31 (s, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,37 (s, 6H)

Bước O: [2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metanol

Hòa tan 261 mg hợp chất của bước N trên đây (1,0 mmol) trong 2 mL dung dịch HCl 4M (trong dioxan), sau đó cho 2 mL nước vào và khuấy hỗn hợp ở 50 °C trong 16 giờ. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C, sau đó cho từng phần 320 mg NaOH (8,0 mmol) vào. Điều chỉnh độ pH đến 8 bằng dung dịch K₂CO₃ 10 %, sau đó cho 76 mg natri bohryua (2,0 mmol) vào và khuấy hỗn hợp trong 30 phút ở 0 °C. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng 5 mL nước và chiết bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ thu gom được trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được [2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metanol. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,84 (d, 1H), 7,50-7,42 (m, 3H), 7,14 (d, 1H), 7,03 (m, 1H), 5,66 (t, 1H), 4,58 (d, 2H), 3,75 (s, 3H)

Bước P: N-[(5S_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalanin

Hòa tan 1 đương lượng hợp chất của bước L trên đây, 2 đương lượng hợp chất của bước O trên đây, và 3 đương lượng triphenylphosphin trong toluen khô (7 mL/mmol) trong khí quyển nitơ, sau đó cho 3 đương lượng di-*tert*-butyl azodicarboxylat vào ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, khuấy hỗn hợp ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Loại bỏ các chất dễ bay hơi bằng áp suất thấp và tinh chế phần cặn bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải.

Hòa tan 1 đương lượng dẫn xuất este được tạo ra trong tetrahydrofuran (15 mL/mmol) sau đó cho 10 đương lượng lithi hydroxit monohydrat và nước (15 mL/mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Điều chỉnh độ pH đến 6 bằng dung dịch HCl 1M, sau đó pha loãng hỗn hợp bằng nước muối, chiết bằng diclometan. Làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký pha đảo điều chế, sử dụng dung dịch NH₄HCO₃ 25 mM trong nước và axetonitril làm các dung môi rửa giải, thu được N-[(5S_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalanin. HRMS theo tính toán cho C₄₇H₄₅ClFN₇O₅S: 873,2875, theo thực tế: 437,6498 (M+2H)

Bước Q: 4-metoxymetyl N-[(5S_a)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpipezazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalaninat

Hòa tan 1677 mg hợp chất của bước P trên đây (1,92 mmol, 1 đương lượng), 1,51 g triphenylphosphin (5,76 mmol, 3 đương lượng) và 796 mg rượu 4-metoxymetylic (5,76 mmol, 3 đương lượng) trong 20 mL toluen khô, sau đó cho một lần 1,33 g di(*tert*)butyl azodicarboxylat (5,76 mmol, 3 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp thu được ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 %

NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu được sản phẩm của bước Q ở dạng các tinh thể màu trắng nhạt. HRMS theo tính toán cho C₅₅H₅₃ClFN₇O₆S: 993,3450; theo thực tế: 497,6814 (M+2H)

Bước R: 4-metoxymethyl N-[(5S_a)-5-{4-[2-(4-{[(benzyloxy)phosphinato]oxy}-4-methylpiperazin-4-ium-1-yl)etoxy]-3-clo-2-methylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxymethylphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalaninat

Khuấy 300 mg hợp chất của bước Q trên đây (0,301 mmol, 1 đương lượng) và 148 mg dibenzyl clometyl phosphat (0,451 mmol, 1,5 đương lượng) trong 1,5 mL axetonitril khô ở 40 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 24 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước R ở dạng các tinh thể màu trắng nhạt. HRMS theo tính toán cho C₆₃H₆₂ClFN₇O₁₀PS: 1193,3689; theo thực tế: 597,6928 (M+2H)

Bước S: Ví dụ 8

Cho 152 µL HBr 33 % trong axit axetic vào dung dịch 100 mg hợp chất của bước R trên đây (0,0837 mmol) trong 840 µL diclometan và khuấy ở 0 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Sau đó, tinh chế sản phẩm thu được bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 5mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 8 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₄₈H₄₈BrClFN₇O₉PS: 983,2645; theo thực tế: 492,6377 (M+2H)

Ví dụ 9: {4-[2-(4-{4-[(1R)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxymethylphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl}-2,6-diclo-3,5-dimethylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat

Bước A: 4-Bromo-2,6-diclo-3,5-dimethyl-phenol

Hòa tan 30,16 g 4-bromo-3,5-dimethyl-phenol (150 mmol) trong hỗn hợp 75 mL 1,2-dicloetan và 75 mL axetonitril, sau đó cho từng phần 40,06 g N-closuxinimit (300

mmol, 2,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng bằng áp suất thấp và hòa tan phần cặn trong diclometan, rửa bằng nước và nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 và cô đặc bằng áp suất thấp và được sử dụng ở bước kế tiếp mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 10,10 (s, 1H), 2,46 (s, 6H)

Bước B: 1-Bromo-3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-benzen

Cho 6,6 mL metyl iodua (105,9 mmol, 1,1 đương lượng) vào dung dịch 26,0 g hợp chất của bước A trên đây (96,3 mmol, 1,0 đương lượng) và 26,60 g K_2CO_3 (192,6 mmol, 2,0 đương lượng) trong 300 mL axetonitril và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Lọc các chất rắn ra và cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp. Hòa tan sản phẩm thô trong diclometan, rửa bằng nước và nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 và cô đặc bằng áp suất thấp và được sử dụng ở bước kế tiếp mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 3,78 (s, 3H), 2,49 (s, 6H)

Bước C: 2-(3,5-Diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan

Hòa tan 10,0 g hợp chất của bước B trên đây (35,2 mmol, 1,0 đương lượng) trong 360 mL tetrahydrofuran khô trong khí quyển nitơ và làm lạnh xuống -78°C bằng đá-axeton khô. Cho 23,2 mL *n*-butyl lithi (1,6M trong hexan) (37,0 mmol, 1,05 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp trong 15 phút, sau đó cho 8,6 mL 2-isopropoxy-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (42,24 mmol, 1,2 đương lượng) vào và để ấm hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng. Tồi dập tắt phản ứng bằng nước muối, chiết bằng diclometan, làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được 2-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 3,81 (s, 3H), 2,33 (s, 6H), 1,34 (s, 12H)

Bước D: etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 3,92 g ethyl 4-bromothiophen-3-carboxylat (16,68 mmol, 1,0 đương lượng) và 9,9 g hợp chất của bước C trên đây (30,0 mmol, 1,8 đương lượng) trong 140 mL dioxan, sau đó cho 10,87 g Cs_2CO_3 (33,36 mmol, 2,0 đương lượng) được hòa tan trong 40 mL nước vào. Sau đó, cho 590 mg bis(di-*tert*-butyl(4-dimethylaminophenyl)phosphin) diclopaladi(II) (0,83 mmol, 0,05 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp trong nitơ ở nhiệt độ hồi lưu cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, pha loãng bằng diclometan và nước muối. Sau khi tách pha, chiết pha nước bằng diclometan. Thu gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và ethyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được ethyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetylphenyl)thiophen-3-carboxylat.

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 8,53 (d, 1H), 7,47 (d, 1H), 4,02 (q, 2H), 3,83 (s, 3H), 1,95 (s, 6H), 1,00 (t, 3H)

HRMS ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$ = 376,0538

Bước E: ethyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetylphenyl)-2,5-diiodo-thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 2,65 g hợp chất của bước D trên đây (7,38 mmol, 1,0 đương lượng) trong 75 mL axetonitril, sau đó cho 2,2 mL phức chất axit floboric diethyl ete (16,23 mmol, 2,2 đương lượng) và 3,65 g *N*-iodosuccinimit (16,23 mmol, 2,2 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng bằng áp suất thấp, và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và ethyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được ethyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetylphenyl)-2,5-diiodo-thiophen-3-carboxylat. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): 3,98 (q, 2H), 3,84 (s, 3H), 1,92 (s, 6H), 0,84 (t, 3H)

Bước F: ethyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetylphenyl)-5-iodo-thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 5,29 g hợp chất của bước E trên đây (8,66 mmol, 1,0 đương lượng) trong 90 mL tetrahydrofuran khô, sau đó làm lạnh xuống $-78\text{ }^\circ\text{C}$ trong khí quyển argon. Cho 6,7 mL phức chất isopropyl magie clorua lithi clorua (1,3M trong tetrahydrofuran) (8,66

mmol, 1,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp ở -78°C trong 30 phút. Sau đó, cho NH_4Cl bão hòa trong nước vào và chiết hỗn hợp bằng etyl axetat. Lóp hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4 và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-iodo-thiophen-3-carboxylat. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 8,71 (s, 1H), 4,01 (q, 2H), 3,86 (s, 3H), 1,89 (s, 6H), 0,99 (t, 3H)

Bước G: etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)-thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 4,20 g hợp chất của bước F trên đây (8,66 mmol, 1,0 đương lượng) và 1,82 g axit 4-flophenylboronic (13,00 mmol, 1,5 đương lượng) trong 80 mL dioxan, sau đó cho 5,64 g Cs_2CO_3 (17,32 mmol, 2,0 đương lượng) được hòa tan trong 20 mL nước vào. Sau đó, cho 500 mg tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (0,43 mmol, 1,15 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp trong nitơ ở 80°C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, pha loãng bằng diclometan và nước muối. Sau khi tách pha, chiết pha nước bằng diclometan. Thu gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)thiophen-3-carboxylat.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): 8,58 (s, 1H), 7,22-7,10 (m, 4H), 4,03 (q, 2H), 3,82 (s, 3H), 1,92 (s, 6H), 1,00 (t, 3H)

HRMS $(\text{M}+\text{H})^+ = 453,0498$

Bước H: etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)-2-nitro-thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 1,97 g hợp chất của bước G trên đây (4,34 mmol, 1,0 đương lượng) trong 40 mL axetonitril khô, sau đó cho 576 mg nitroni tetrafloroborat (4,34 mmol, 1,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, pha loãng bằng diclometan và nước muối. Sau khi tách pha, chiết pha nước bằng diclometan. Thu gom các lớp hữu cơ và làm khô trên Na_2SO_4 ,

lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được etyl 4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)-2-nitro-thiophen-3-carboxylat. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7,37-7,33 (m, 2H), 7,32-7,26 (m, 2H), 4,14 (q, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,06 (s, 6H), 0,88 (t, 3H)

Bước I: etyl 2-amino-4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)-thiophen-3-carboxylat

Hòa tan 1,85 g hợp chất của bước H trên đây (3,71 mmol, 1,0 đương lượng) trong hỗn hợp 90 mL axit axetic và 18 mL nước, sau đó cho từng phần 2,43 g bụi kẽm (37,1 mmol, 10 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng bằng áp suất thấp, và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh sử dụng heptan và etyl axetat làm dung môi rửa giải, thu được etyl 2-amino-4-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-5-(4-flophenyl)thiophen-3-carboxylat.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 7,73 (s, 2H), 7,12-7,06 (m, 2H), 7,02-6,97 (m, 2H), 3,86-3,80 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,01 (s, 6H), 0,72 (t, 3H)

HRMS (M+H) $^+$ = 456,0598

Bước J: 5-(3,5-Diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-6-(4-flophenyl)-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-4-on

Hòa tan 1,10 g hợp chất của bước I trên đây (2,35 mmol, 1,0 đương lượng) trong 20 mL formamit và khuấy ở 150 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, rót vào nước và thu gom sản phẩm kết tủa ra bằng cách lọc, thu được 5-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-6-(4-flophenyl)-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-4-on.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 12,53 (br s, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,23-7,16 (m, 4H), 3,84 (s, 3H), 1,96 (s, 6H)

HRMS (M+H) $^+$ = 449,0289

Bước K: 4-clo-5-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-6-(4-flophenyl)-thieno[2,3-d]pyrimidin

Hòa tan 700 mg hợp chất của bước J trên đây (1,56 mmol, 1,0 đương lượng) trong 6 mL phosphor oxyclo-rua và khuấy ở 90 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng bằng áp suất thấp, cho nước đóng băng vào sản phẩm thô và chiếu sóng siêu âm trong 10 phút. Thu gom sản phẩm kết tủa ra bằng cách lọc, thu được 4-clo-5-(3,5-diclo-4-metoxi-2,6-dimetyl-phenyl)-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 9,02 (s, 1H), 7,38-7,26 (m, 4H), 3,86 (s, 3H), 1,99 (s, 6H)

HRMS (M+H) $^+$ = 466,9954

Bước L: 2,6-Diclo-4-[4-clo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-3,5-dimetyl-phenol và 4-[4-bromo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-2,6-diclo-3,5-dimetyl-phenol

Cho 3,0 mL bo tribromua (1M trong diclometan) (3,0 mmol, 2,0 đương lượng) vào dung dịch được khuấy 700 mg hợp chất của bước K trên đây (1,50 mmol, 1,0 đương lượng) trong 15 mL diclometan ở 0 °C và để ấm hỗn hợp đến nhiệt độ trong phòng và khuấy cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Chấm dứt phản ứng bằng cách tôi hỗn hợp bằng NH_4Cl bão hòa trong nước và chiết bằng diclometan. Làm khô các pha hữu cơ thu gom được trên Na_2SO_4 và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký nhanh, sử dụng heptan và etyl axetat làm các dung môi rửa giải, thu được 2,6-diclo-4-[4-clo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-3,5-dimetyl-phenol và 4-[4-bromo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-2,6-diclo-3,5-dimetyl-phenol ở dạng hỗn hợp sản phẩm 37:63.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): 10,14 (br s, 1H), 9,01 (s, 1H), 7,40-7,23 (m, 4H), 1,95 (s, 6H) và 10,14 (br s, 1H), 8,93 (s, 1H), 7,40-7,23 (m, 4H), 1,93 (s, 6H)

HRMS (M+H) $^+$ = 452,9800 và 496,9287

Bước M: 4-clo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin và 4-bromo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin

Hòa tan 300 mg hỗn hợp 2,6-diclo-4-[4-clo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3,5-dimetyl-phenol và 4-[4-bromo-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-2,6-diclo-3,5-dimetyl-phenol (0,62 mmol), 286 mg 2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etanol (1,98 mmol, 3,0 đương lượng) và 520 mg triphenyl phosphin (1,98 mmol, 3,0) trong 10 mL toluen khô, sau đó cho 460 mg di-*tert*-butyl azodicarboxylat (1,98 mmol, 3,0 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp ở 50 °C trong khí quyển nitơ cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi các chất dễ bay hơi bằng áp suất thấp và tinh chế hợp chất trung gian thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng ethyl axetat và metanol làm các dung môi rửa giải, thu được 4-clo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin và 4-bromo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin ở dạng hỗn hợp sản phẩm 35:65.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): 9,02 (s, 1H), 7,40-7,22 (m, 4H), 4,11 (t, 2H), 2,78 (t, 2H), 2,63-2,20 (m, 8H), 2,17 (br s, 3H), 1,98 (s, 6H) và 8,94 (s, 1H), 7,40-7,22 (m, 4H), 4,11 (t, 2H), 2,78 (t, 2H), 2,63-2,20 (m, 8H), 2,15 (br s, 3H), 1,98 (s, 6H)

HRMS (M+H)⁺ = 579,0968 và 623,0455

Bước N: ethyl (2R)-2-[5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoat

Hòa tan 200 mg hỗn hợp 4-clo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin và 4-bromo-5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-metyl)piperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin (0,33 mmol, 1,0 đương lượng), 211 mg ethyl (2R)-2-hydroxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoat (0,52 mmol, 1,58 đương lượng) và 202 mg Cs₂CO₃ (0,62 mmol, 1,88 đương lượng) trong 5 mL *tert*-butanol và

khuấy hỗn hợp ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Pha loãng bằng ethyl axetat và sau đó rửa bằng nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc bằng áp suất thấp và tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng ethyl axetat và metanol làm các dung môi rửa giải, thu được ethyl (2*R*)-2-[5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoat. MS: (M+H) = 951,0

Bước O: Axit (2*R*)-2-[5-[3,5-Diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoic

Hòa tan 200 mg hợp chất của bước N trên đây trong 5 mL dioxan-nước 1:1 và cho 145 mg lithi hydroxit monohydrat (3,45 mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Sau đó, pha loãng bằng nước muối, trung hòa bằng HCl 2M, chiết bằng diclometan, làm khô trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc bằng áp suất thấp. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký pha đảo điều chế, sử dụng dung dịch NH₄HCO₃ 5 mM trong nước và axetonitril, thu được axit (2*R*)-2-[5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoic. HRMS theo tính toán cho C₄₈H₄₅N₆O₆FSCl₂: 922,2482, theo thực tế: 462,1310 (M+2H)

Bước P: (4-Metoxyphenyl)metyl (2*R*)-2-[5-[3,5-diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoat

Hòa tan 400 mg hợp chất của bước O trên đây (0,433 mmol, 1 đương lượng), 341 mg triphenylphosphin (1,30 mmol, 3,0 đương lượng) và 180 mg rượu 4-metoxybenzyllic (1,30 mmol, 3,0 đương lượng) trong 5 mL toluen khô, sau đó cho một lần 300 mg di(*tert*)butyl azodicarboxylat (1,30 mmol, 3,0 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp thu được ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng diclometan/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải, thu được (4-metoxyphenyl)metyl (2*R*)-2-[5-[3,5-

diclo-2,6-dimetyl-4-[2-(4-methylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy-3-[2-[[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]propanoat. MS: (M+H) = 1043,2

Bước Q: Benzyl [4-[2-[2,6-diclo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(1*R*)-2-[(4-metoxyphe-nyl)metoxy]-1-[[2-[[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]metyl]-2-oxo-etoxy]thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3,5-dimetyl-phenoxy]etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl]metyl phosphat

Khuấy 428 mg hợp chất của bước P trên đây (0,62 mmol, 1,5 đương lượng) trong 4 mL axetonitril khô ở 40 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 24 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải, thu được benzyl [4-[2-[2,6-diclo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(1*R*)-2-[(4-metoxyphe-nyl)metoxy]-1-[[2-[[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy]phenyl]metyl]-2-oxo-etoxy]thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3,5-dimetyl-phenoxy]etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl]metyl phosphat. MS: (M+H) = 1243,2

Bước R: Ví dụ 9

Cho 110 µL HBr 33 % trong axit axetic vào dung dịch 230 mg hợp chất của bước P trên đây (0,185 mmol) trong 3 L diclometan và khuấy ở 0 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng đến khô và tinh chế sản phẩm thu được bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 25 mM NH₄HCO₃ làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 9 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₄₉H₄₈ Cl₂FN₆O₁₀PS: 1032,2251, theo thực tế: 517,1213 (M+2H)

Ví dụ 10: {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-metyl-piperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat

Trong ví dụ 10, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II).

Ví dụ 11: {[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl](dimetyl)amonio}metyl hydro phosphat

Bước A: 4-metoxymethyl (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(dimethylamino)etoxy]-2-methylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoat

Hòa tan 928 mg axit (2*R*)-2-{[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(dimethylamino)etoxy]-2-methylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic (1,13 mmol, 1 đương lượng; được tổng hợp theo WO 2015/097123), 889 mg triphenylphosphin (3,39 mmol, 3 đương lượng) và 468 mg rượu 4-metoxymethyl (3,39 mmol, 3 đương lượng) trong 12 mL toluen khô, sau đó cho một lần 781 mg di(*tert*)butyl azodicarboxylat (3,39 mmol, 3 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp thu được ở 50 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu được sản phẩm của bước A ở dạng các tinh thể màu trắng nhạt. HRMS theo tính toán cho C₅₂H₄₇ClFN₅O₇S: 939,2869; theo thực tế: 470,6511 (M+2H)

Bước B: Benzyl [(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy)etyl)(dimetyl)amonio]metyl phosphat

Khuấy 282 mg hợp chất của bước A trên đây (0,300 mmol, 1 đương lượng) và 147 mg dibenzyl dimetyl phosphat (0,450 mmol, 1,5 đương lượng) trong 1,5 mL axetonitril khô ở 40 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Bơm trực tiếp hỗn hợp phản ứng vào cột silic oxit 24 g được chuẩn bị trước, sau đó tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH₃) làm dung môi rửa giải. Thu

được hợp chất của bước B ở dạng các tinh thể màu trắng nhạt. HRMS theo tính toán cho $C_{60}H_{56}ClFN_5O_{11}PS$: 1139,3107; theo thực tế: 570,6613 (M+2H)

Bước C: Ví dụ 11

Cho 175 μ L HBr 33 % trong axit axetic vào dung dịch 110 mg hợp chất của bước B trên đây (0,0964 mmol) trong 1 L diclometan và khuấy ở 0 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, tinh chế bằng sắc ký nhanh, sử dụng etyl axetat/metanol (chứa 1,2 % NH_3) làm dung môi rửa giải. Sau đó, tinh chế sản phẩm thu được bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axetonitril / 5mM NH_4HCO_3 làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 11 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho $C_{45}H_{42}BrClFN_5O_{10}PS$: 929,2062; theo thực tế: 465,6087 (M+2H)

Trong các ví dụ từ 12 đến 16 dưới đây, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II).

Ví dụ 12: 1-{4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}ethyl hydro phosphat

Ví dụ 13: 1-{4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}ethyl hydro phosphat

Ví dụ 14: {1-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat

Ví dụ 15: {1-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat

Ví dụ 16: {4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl sulfat

Ví dụ 17: 1-[(axetyloxy)metyl]-4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 1-[(axetyloxy)metyl]-4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy)etyl)-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 22 mg natri iodua (0,15 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 149 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,150 mmol, 1 đương lượng) và 33 mg clometyl axetat (0,300 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được sản phẩm của bước A ở dạng muối trifloaxetat. MS: M = 1067,2

Bước B: Ví dụ 17

Cho 300 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 73 mg hợp chất của bước A trên đây (0,062 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 17 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₀H₄₉ClFN₆O₈S: 947,3000; theo thực tế 947,3001 (M)

Ví dụ 18: 4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-{[(etoxycacbonyl)oxy]metyl}-1-metyl piperazin-1-ium

Bước A: 4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxybenzyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy)etyl)-1-{[(etoxycacbonyl)oxy]metyl}-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,201 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 200 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,201 mmol, 1 đương lượng) và 56 mg etyl clometyl cacbonat (0,402 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70°C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho C₅₉H₅₉ClFN₆O₁₀S: 1097,3680; theo thực tế 1097,3694 (M)

Bước B: Ví dụ 18

Cho 300 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 162 mg hợp chất của bước A trên đây (0,134 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 18 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₁H₅₁ClFN₆O₉S: 977,3105; theo thực tế 977,3122 (M)

Ví dụ 19: 4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-{[(dietylcarbamo-yl)oxy]metyl}-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{{(2R)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}}-(5S_a)-thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy}ethyl)-1-{{[(diethylcarbamoyl)oxy]methyl}}-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,201 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 200 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,201 mmol, 1 đương lượng) và 67 mg clometyl *N,N*-diethylcarbamate (0,402 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho C₆₁H₆₄ClFN₇O₉S: 1124,4153; theo thực tế 1124,4209 (M)

Bước B: Ví dụ 19

Cho 300 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 192 mg hợp chất của bước A trên đây (0,155 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 19 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₃H₅₆ClFN₇O₈S: 1004,3578; theo thực tế 1004,3579 (M)

Ví dụ 20: 4-[2-(4-{{(5S_a)-4-[(1R)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl}}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl)-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium

Trong ví dụ 20, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II). Hợp chất thu được là muối amoni bậc bốn, trong đó các ion trái dấu có thể được chọn từ bromua, clorua, iodua, axetat, trifloaxetat, benzoat, mesylat, tosylat, triflat, hoặc các ion tương tự.

Ví dụ 21: 4-[2-(4-((5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl)-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{1-[(diethylcarbamoyl)oxy]ethyl}-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 1-cloetyl *N,N*-diethylcarbammat

Cho nhỏ giọt 3,574 g 1-cloetyl carbonoclorua (25 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 1,828 g diethylamin (25 mmol, 1,0 đương lượng) trong tetrahydrofuran ở -78 °C, sau đó cho nhỏ giọt pyridin vào ở -78 °C. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ này trong 30 phút, sau đó để ấm từ từ đến nhiệt độ trong phòng (3 giờ) và khuấy qua đêm. Cô đặc hỗn hợp phản ứng, pha loãng sản phẩm thô bằng 70 mL diclometan, sau đó rửa bằng 50 mL HCl 1N trong nước, sau đó rửa hai lần bằng 50 mL nước muối. Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄, lọc, cô đặc dịch lọc bằng áp suất thấp, thu được 1-cloetyl *N,N*-diethylcarbammat ở dạng dầu màu nâu nhạt. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 6,64 (q, 1H), 3,34 (m, 4H), 1,83 (d, 3H), 1,17 (t, 6H).

Bước B: 4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxybenzyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy}ethyl)-1-{1-[(diethylcarbamoyl)oxy]ethyl}-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 75 mg natri iodua (0,50 mmol, 2,0 đương lượng) vào dung dịch 250 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,251 mmol, 1,0 đương lượng) và 225 mg hợp chất của bước A trên đây (1,26 mmol, 5,0 đương lượng) trong 5 mL axetonitril và khuấy ở 45 °C trong 45 phút. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng, lọc, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được các hợp chất của bước B ở dạng các muối trifloaxetat của các chất đồng phân không đối quang (các chất đồng phân không đối quang không được tách). MS: M = 1138,4

Bước C: Ví dụ 21

Cho 800 μL axit trifloaxetic vào dung dịch 81 mg các hợp chất của bước B trên đây (0,0647 mmol, 1 đương lượng) trong 5 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/ H_2O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 21 ở dạng chất rắn màu trắng (các chất đồng phân không đối quang không được tách). HRMS theo tính toán cho $\text{C}_{54}\text{H}_{58}\text{ClFN}_7\text{O}_8\text{S}$: 1018,3735; theo thực tế 509,6925 ($\text{M}+\text{H}$) $^{2+}$

Ví dụ 22: 4-[2-(4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl)-1-methyl-1-[(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl]piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxybenzyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy}ethyl)-1-methyl-1-[(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl]piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 52 mg natri iodua (0,35 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 348 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,350 mmol, 1 đương lượng) và 104 mg 4-(clometyl)-5-methyl-1,3-dioxol-2-on (0,700 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/ H_2O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. MS: $\text{M} = 1107,2$

Bước B: Ví dụ 22

Cho 600 μL axit trifloaxetic vào dung dịch 250 mg hợp chất của bước A trên đây (0,205 mmol, 1 đương lượng) trong 8 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/ H_2O (0,5 mL/L) làm các dung môi

rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 22 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho $C_{52}H_{49}ClFN_6O_9S$: 987,2949; theo thực tế 987,2961 (M)

Ví dụ 23: 4-[2-(4-((5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-metyl-1-[(L-valyloxy)metyl]piperazin-1-ium

Trong ví dụ 23, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II). Hợp chất thu được là muối amoni bậc bốn, trong đó các ion trái dấu có thể được chọn từ bromua, clorua, iodia, axetat, trifloaxetat, benzoat, mesylat, tosylat, triflat, hoặc các ion tương tự.

Ví dụ 24: 4-[2-(4-((5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-{[(2,2-dimetylpropanoyl)oxy]metyl}-1-metyl-piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]-3-methylphenoxy)etyl)-1-{[(2,2-dimetylpropanoyl)oxy]metyl}-1-metyl-piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 37 mg natri iodia (0,25 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 249 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 1 (0,250 mmol, 1 đương lượng) và 75 mg clometyl 2,2-dimetylpropanoat (0,500 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho $C_{61}H_{63}ClFN_6O_9S$: 1109,4044; theo thực tế 1109,4040 (M)

Bước B: Ví dụ 24

Cho 600 μ L axit trifloaxetic vào dung dịch 216 mg hợp chất của bước A trên đây (0,177 mmol, 1 đương lượng) trong 8 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 24 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₃H₅₅ClFN₆O₈S: 989,3469; theo thực tế 989,3480 (M)

Ví dụ 25: 1-[(axetyloxy)metyl]-4-[2-(3-bromo-4-{(5S_a)-4-[(1R)-1-carboxy-2-(2-{2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 1-[(axetyloxy)metyl]-4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2R)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5S_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]phenoxy)etyl)-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,20 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 212 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,20 mmol, 1 đương lượng) và 43 mg clometyl axetat (0,40 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. MS: M = 1131,0

Bước B: Ví dụ 25

Cho 300 μ L axit trifloaxetic vào dung dịch 105 mg hợp chất của bước A trên đây (0,0842 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 25 ở dạng chất rắn màu

trắng. HRMS theo tính toán cho $C_{49}H_{46}BrClFN_6O_8S$: 1011,1948; theo thực tế 1011,1949 (M)

Ví dụ 26: 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-[[etoxycacbonyl]oxy]metyl]-1-metylpi-perazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxycacbonyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]phenoxy)etyl)-1-[[etoxycacbonyl]oxy]metyl]-1-metylpi-perazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,20 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 252 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,20 mmol, 1 đương lượng) và 55 mg etyl clometyl cacbonat (0,40 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho $C_{58}H_{56}BrClFN_6O_{10}S$: 1161,2629 theo thực tế 1161,2674 (M)

Bước B: Ví dụ 26

Cho 300 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 240 mg hợp chất của bước A trên đây (0,188 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 26 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho $C_{50}H_{48}BrClFN_6O_9S$: 1041,2054; theo thực tế 1041,2049 (M)

Ví dụ 27: 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-

clophenoxy)etyl]-1-[[[(diethylcarbamoyl)oxy]methyl]-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2R)-1-[(4-metoxymethyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5S_a)-thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl]phenoxy}etyl)-1-[[[(diethylcarbamoyl)oxy]methyl]-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,20 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 212 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,20 mmol, 1 đương lượng) và 66 mg clometyl *N,N*-diethylcarbamate (0,40 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho C₆₀H₆₁BrClFN₇O₉S: 1188,3102; theo thực tế 1188,3101 (M)

Bước B: Ví dụ 27

Cho 300 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 208 mg hợp chất của bước A trên đây (0,160 mmol, 1 đương lượng) trong 4 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 27 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₂H₅₃BrClFN₇O₈S: 1068,2527; theo thực tế 1068,2514 (M)

Ví dụ 28: 4-[2-(3-bromo-4-{(5S_a)-4-[(1R)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxymethyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-d]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium

Trong ví dụ 28, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có

công thức (II). Hợp chất thu được là muối amoni bậc bốn, trong đó các ion trái dấu có thể được chọn từ bromua, clorua, iodua, axetat, trifloaxetat, benzoat, mesylat, tosylat, triflat, hoặc các ion tương tự.

Ví dụ 29: 4-[2-(3-bromo-4-((5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{1-[(diethylcarbamoyl)oxy]etyl}-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxybenzyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]phenoxy)etyl)-1-{1-[(diethylcarbamoyl)oxy]etyl}-1-metyl piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 71 mg natri iodua (0,471 mmol, 2,0 đương lượng) vào dung dịch 250 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 21 (0,236 mmol, 1,0 đương lượng) và 212 mg hợp chất của bước A trên đây (1,18 mmol, 5,0 đương lượng) trong 5 mL axetonitril và khuấy ở 45 °C trong 45 phút. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng, lọc, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được các hợp chất của bước A ở dạng các muối trifloaxetat của các chất đồng phân không đối quang (các chất đồng phân không đối quang không được tách). MS: (M+H)²⁺=602,8

Bước B: Ví dụ 29

Cho 800 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 51 mg các hợp chất của bước A trên đây (0,0387 mmol, 1 đương lượng) trong 5 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 29 ở dạng chất rắn màu trắng (các chất đồng phân không đối quang không được tách). HRMS theo tính toán cho C₅₃H₅₅BrClFN₇O₈S: 1082,2683; theo thực tế 541,6396 (M+H)²⁺ và 541,6389 (M+H)²⁺

Ví dụ 30: 4-[2-(3-bromo-4-((5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl-1-[(5-metyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)metyl]piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-{[(2*R*)-1-[(4-metoxymetyl)oxy]-3-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-(5*S_a*)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]phenoxy)etyl)-1-metyl-1-[(5-metyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)metyl]piperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,20 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 212 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,200 mmol, 1 đương lượng) và 59 mg 4-(clometyl)-5-metyl-1,3-dioxol-2-on (0,40 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho C₅₉H₅₄BrClFN₆O₁₀S: 1171,2473; theo thực tế 1171,2461 (M)

Bước B: Ví dụ 30

Cho 600 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 225 mg hợp chất của bước A trên đây (0,175 mmol, 1 đương lượng) trong 8 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 30 ở dạng chất rắn màu trắng. HRMS theo tính toán cho C₅₁H₄₆BrClFN₆O₉S: 1051,1897; theo thực tế 1051,1891 (M)

Ví dụ 31: 4-[2-(3-bromo-4-((5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-metyl-1-[(*L*-valyloxy)metyl]piperazin-1-ium

Trong ví dụ 31, quy trình thực hiện là giống như quy trình trong ví dụ 1, sử dụng dẫn xuất clorua thích hợp có công thức (IV) và hợp chất thienopyrimidin thích hợp có công thức (II). Hợp chất thu được là muối amoni bậc bốn, trong đó các ion trái dấu có thể được chọn từ bromua, clorua, iodua, axetat, trifloaxetat, benzoat, mesylat, tosylat, triflat, hoặc các ion tương tự.

Ví dụ 32: 4-[2-(3-bromo-4-((5*S*_a)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl)-2-
clophenoxy)ethyl]-1-[(2,2-dimethylpropanoyl)oxy]methyl}-1-methyl
piperazin-1-ium trifloaxetat

Bước A: 4-(2-{3-bromo-2-clo-4-[6-(4-flophenyl)-4-[(2*R*)-1-[(4-metoxycarbonyl)-
3-(2-{[2-(2-metoxyphe-
nyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)-1-oxopropan-2-yl]oxy}-
(5*S*_a)-thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl]phenoxy)ethyl)-1-[(2,2-
dimethylpropanoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium trifloaxetat

Cho 30 mg natri iodua (0,20 mmol, 1,0 đương lượng) vào dung dịch 212 mg hợp chất thu được ở bước A của ví dụ 5 (0,200 mmol, 1 đương lượng) và 60 mg clometyl 2,2-dimethylpropanoat (0,40 mmol, 2,0 đương lượng) trong 2 mL axetonitril khô và khuấy hỗn hợp phản ứng ở 70 °C cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Thu được hợp chất của bước A ở dạng muối trifloaxetat. HRMS theo tính toán cho C₆₀H₆₀BrClFN₆O₉S: 1173,2993; theo thực tế 1173,2994 (M)

Bước B: Ví dụ 32

Cho 600 µL axit trifloaxetic vào dung dịch 215 mg hợp chất của bước A trên đây (0,167 mmol, 1 đương lượng) trong 8 mL diclometan, và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi quan sát thấy không còn chuyển hóa nữa. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô, sau đó tinh chế bằng sắc ký pha đảo, sử dụng axit trifloaxetic/axetonitril (0,5 mL/L) và axit trifloaxetic/H₂O (0,5 mL/L) làm các dung môi rửa giải. Sau khi làm đông khô, thu được hợp chất của ví dụ 32 ở dạng chất rắn màu

trắng. HRMS theo tính toán cho $C_{52}H_{52}BrClFN_6O_8S$: 1053,2418; theo thực tế 1053,2405 (M)

Phụ thuộc vào điện tích của chúng và độ pH trong dung dịch, các hợp chất của các ví dụ 1, 4, 5 và từ 8 đến 15 có thể tồn tại ở bốn dạng ion (lưỡng tính, dianion, anion hoặc cation); các hợp chất của các ví dụ 2, 3, 6 và 7 có thể tồn tại ở ba dạng (lưỡng tính, anion hoặc cation); và các hợp chất của các ví dụ từ 16 đến 32 có thể tồn tại ở hai dạng (lưỡng tính hoặc cation).

Thử nghiệm được lý

Ví dụ A: Ức chế Mcl-1 theo phương pháp phân cực phát huỳnh quang

Khả năng liên kết tương đối của mỗi hợp chất được xác định bằng phương pháp phân cực phát huỳnh quang (FP - Fluorescence Polarisation). Phương pháp này sử dụng phối tử được đánh dấu Fluorescein (Fluorescein - β Ala-Ahx-A-REIGAQLRRMADDLNAQY-OH; mw 2,765), phối tử này liên kết với protein Mcl-1 (sao cho Mcl-1 tương ứng với số truy cập gốc UniProtKB®: Q07820), dẫn đến tăng tính dị hướng như xác định được ở các đơn vị phân cực mili (mP - milli-polarisation) bằng thiết bị đọc. Việc bổ sung hợp chất mà liên kết cạnh tranh với cùng một vị trí với phối tử này sẽ dẫn đến tỷ lệ phối tử không liên kết cao hơn trong hệ thống như được minh chứng bởi sự giảm đơn vị mP.

Chuẩn bị dịch pha loãng theo chuỗi 11 điểm của mỗi hợp chất trong DMSO và chuyển 2 μ l vào đĩa 384 lỗ, liên kết yếu, đáy phẳng (nồng độ DMSO cuối là 5%). Sau đó, cho 38 μ l dung dịch đệm (10 mM axit 4-(2-hydroxyetyl)-1-piperazinetsulfonic [HEPES], 150 mM NaCl, 0,05 % Tween 20, pH 7,4), chứa phối tử được đánh dấu fluorescein (nồng độ cuối là 1 nM) và protein Mcl-1 (nồng độ cuối là 5 nM) vào.

Ủ các đĩa thử nghiệm trong khoảng 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi xác định FP bằng thiết bị đọc Biomek Synergy2 (Kích thích 528 nm, Phát xạ 640 nm, Ngưỡng 510 nm) và tính toán các đơn vị mP. Sự liên kết khi tăng liều lượng hợp chất thử nghiệm được biểu thị dạng mức giảm phần trăm mP so với khoảng được thiết lập giữa 'chỉ 5 % DMSO' và các đối chứng 'ức chế 100 %'. Đường cong đáp ứng liều 11

điểm được vẽ bằng phần mềm XL-Fit sử dụng mô hình logistic 4 thông số (Sigmoidal Dose-Response Model) và xác định nồng độ ức chế mà tại nồng độ này mP (IC₅₀) giảm 50%. Các kết quả được nêu trong Bảng 1 dưới đây.

Các kết quả này cho thấy các hợp chất của sáng chế ức chế sự tương tác giữa protein Mcl-1 và peptit phát huỳnh quang được mô tả trên đây.

Ví dụ B: Tính độc hại tế bào in vitro

Các thử nghiệm về tính độc hại tế bào được thực hiện trên dòng tế bào đa u tủy H929.

Các tế bào này được phân phối vào các vi đĩa và được cho tiếp xúc với các hợp chất thử nghiệm trong 48 giờ. Sau đó, khả năng sống sót của tế bào được định lượng bằng thử nghiệm so màu, thử nghiệm vi cấy tetrazoli (Carmichael et al. *Cancer Res.* 1987, 47, 936-942).

Các kết quả được biểu thị bằng IC₅₀ (nồng độ của hợp chất mà ức chế khả năng sống sót của tế bào khoảng 50%) và được nêu trong Bảng 1 dưới đây.

Các kết quả cho thấy các hợp chất của sáng chế là các chất gây độc hại tế bào.

Bảng 1: IC₅₀ đối với ức chế Mcl-1 (thử nghiệm phân cực phát huỳnh quang) và đối với tính độc hại tế bào trên cơ sở các tế bào H929

	IC ₅₀ (M) Mcl-1 FP	IC ₅₀ (M) MTT H929		IC ₅₀ (M) Mcl-1 FP	IC ₅₀ (M) MTT H929
Ví dụ 1	1,03E-09	2,84E-08	Ví dụ 17	1,12E-09	2,15E-09
Ví dụ 2	9,48E-10	1,09E-08	Ví dụ 18	9,48E-10	1,74E-09
Ví dụ 3	ND	ND	Ví dụ 19	1,2E-09	1,64E-06
Ví dụ 4	ND	ND	Ví dụ 20	ND	ND
Ví dụ 5	1,06E-09	5,54E-08	Ví dụ 21	1,96E-09	7,04E-08
Ví dụ 6	ND	ND	Ví dụ 22	9,48E-10	2,23E-09
Ví dụ 7	ND	ND	Ví dụ 23	ND	ND
Ví dụ 8	9,48E-10	2,29E-07	Ví dụ 24	1,04E-09	2,52E-09
Ví dụ 9	ND	ND	Ví dụ 25	1,07E-09	1,95E-09

	IC ₅₀ (M) Mcl-1 FP	IC ₅₀ (M) MTT H929		IC ₅₀ (M) Mcl-1 FP	IC ₅₀ (M) MTT H929
Ví dụ 10	ND	ND	Ví dụ 26	9,48E-10	2,29E-09
Ví dụ 11	1,06E-09	3,93E-08	Ví dụ 27	1,17E-09	1,9E-06
Ví dụ 12	ND	ND	Ví dụ 28	ND	ND
Ví dụ 13	ND	ND	Ví dụ 29	1,36E-09	1,36E-07
Ví dụ 14	ND	ND	Ví dụ 30	9,48E-10	2,81E-09
Ví dụ 15	ND	ND	Ví dụ 31	ND	ND
Ví dụ 16	ND	ND	Ví dụ 32	1,77E-09	2,11E-09

ND: không xác định

VÍ DỤ C: Định lượng dạng phân cắt của PARP *in vivo*

Khả năng của các hợp chất của sáng chế trong việc gây ra quá trình chết tế bào theo chương trình, được xác định bằng cách xác định mức PARP được phân cắt, được đánh giá trên mô hình ghép khác loại các tế bào đa u tủy AMO-1.

5.10⁶ tế bào AMO-1 được ghép dưới da vào chuột được ức chế miễn dịch (giống SCID). Từ 12 đến 14 ngày sau khi ghép, xử lý những con vật này bằng cách cho dùng các hợp chất khác nhau theo đường tĩnh mạch. Sau khi xử lý, khối u được thu hồi và phân giải, và dạng được phân cắt của PARP được định lượng trong các sản phẩm phân giải khối u.

Việc định lượng được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm "Meso Scale Discovery (MSD) ELISA platform", thử nghiệm này dành riêng để xác định dạng phân cắt của PARP. Nó được biểu thị ở dạng yếu tố hoạt hóa tương ứng với tỷ lệ giữa lượng PARP được phân cắt trong các khối u từ chuột được xử lý chia cho lượng PARP được phân cắt trong các khối u từ chuột không được xử lý.

Các kết quả cho thấy các hợp chất của sáng chế có khả năng gây ra quá trình chết tế bào theo chương trình ở các tế bào khối u AMO-1 *in vivo*.

Ví dụ D: Hoạt tính chống khối u *in vivo*

Hoạt tính chống khối u của các hợp chất của sáng chế được đánh giá bằng mẫu ghép khác loại của các tế bào đa u tủy AMO-1.

1×10^7 tế bào AMO-1 được ghép dưới da vào chuột được ức chế miễn dịch (giống SCID). Từ 6 đến 8 ngày sau khi ghép, khi khối u đạt khoảng 150 mm^3 , chuột được xử lý bằng cách cho dùng các hợp chất khác nhau hàng ngày (5 ngày xử lý). Khối lượng khối u được xác định hai lần một tuần từ khi bắt đầu xử lý.

Các kết quả thu được bằng cách sử dụng tỷ lệ $\Delta T/C$ (tức là thông số định lượng về hoạt tính của một sản phẩm, được định nghĩa là tỷ lệ khối lượng khối u của nhóm được xử lý / khối lượng khối u của nhóm đối chứng không được xử lý) cho thấy các hợp chất của sáng chế làm giảm gần như hoàn toàn và lâu dài khối u sau giai đoạn xử lý.

Ví dụ E: Thử nghiệm độ hòa tan

Phương pháp 1: Các dung dịch mẫu (khoảng $16,7 \text{ mg/ml}$) trong propylen glycol được hòa tan bằng nước (30 % propylen glycol). Sau đó, các mẫu được lắc trong 72 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau giai đoạn lắc, các mẫu được quay ly tâm, sau đó pha lỏng được lọc và được phân tích bằng HPLC có dò UV. Để xác định nồng độ thực tế, đường chuẩn 5 điểm được thiết lập.

Ví dụ, trong những điều kiện này, độ hòa tan của hợp chất của ví dụ 1 cao hơn đáng kể ($\geq 4907 \text{ } \mu\text{M}$) so với axit (2*R*)-2-{[(5*S*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic ($63,3 \text{ } \mu\text{M}$) được bộc lộ trong WO 2015/097123.

Phương pháp 2: Các mẫu (40 mg/mL) được pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat trong nước ($67,7 \text{ mM}$, với độ pH được điều chỉnh đến 7,4) được sử dụng cho các thử nghiệm *in vivo*. Các mẫu được lắc ở nhiệt độ trong phòng, sau đó lọc. Phần được hòa tan được định lượng bằng phân tích LC-MS-MS.

Trong những điều kiện này, các hợp chất của ví dụ 1 và ví dụ 11 có độ hòa tan cao ($> 35 \text{ mg/mL}$), lần lượt cao hơn so với axit (2*R*)-2-{[(5*S*)-5-{3-clo-2-metyl-4-[2-(4-metylpiperazin-1-yl)etoxy]phenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphephenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic và axit (2*R*)-2-{[(5*S*)-5-{3-clo-4-[2-(dimetylamino)etoxy]-2-metylphenyl}-6-(4-

flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]oxy}-3-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)propanoic, được bộc lộ trong WO 2015/097123.

Ví dụ F: Dược phẩm: Viên nén

1000 viên nén chứa liều lượng 5 mg hợp chất được chọn từ các hợp chất của các ví dụ từ 1 đến 32 5 g

Tinh bột mỳ 20 g

Tinh bột ngô 20 g

Lactoza 30 g

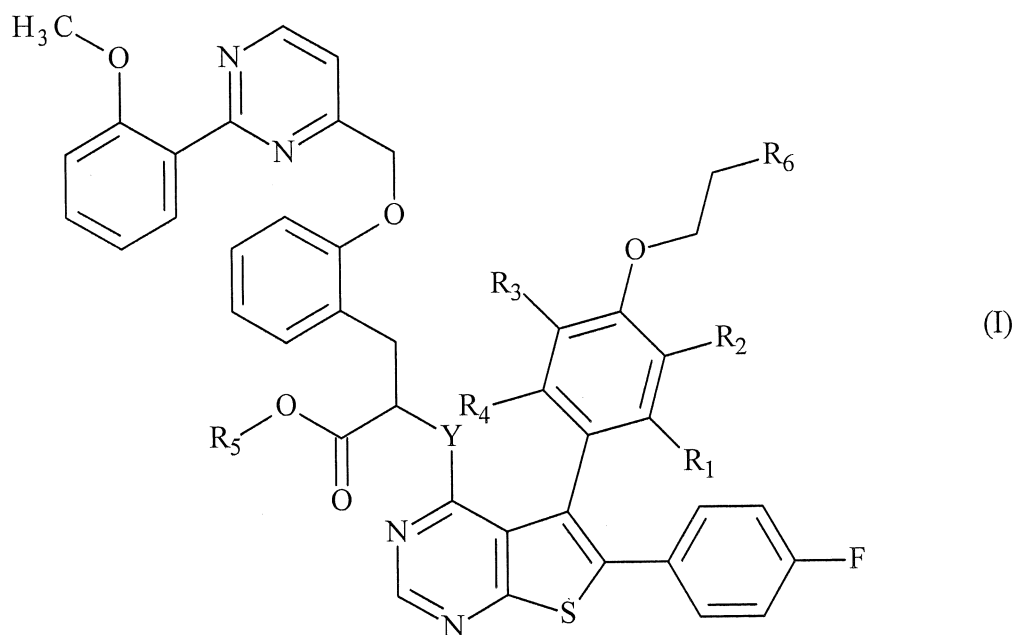
Magie stearat 2 g

Silic oxit 1 g

Hydroxypropylxeluloza 2 g

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):

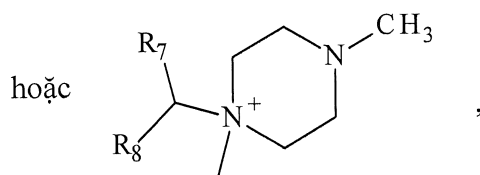
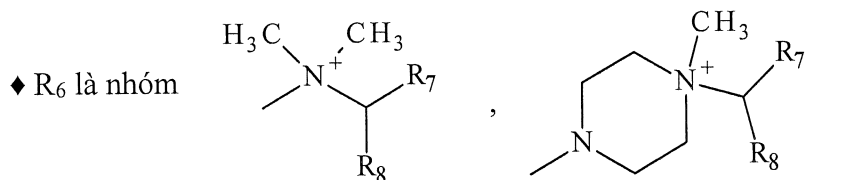


trong đó:

- ◆ Y là nhóm -NH- hoặc nguyên tử oxy,
- ◆ R₁ là nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm -S-(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm xyano, -NR₉R₉', -Cy₁ hoặc nguyên tử halogen,
- ◆ R₂, R₃ và R₄, độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm hydroxy, nhóm hydroxy(C₁-C₆)alkyl, nhóm (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc

mạch nhánh, nhóm $-S-(C_1-C_6)\text{alkyl}$, nhóm xyano, nhóm nitro, $-\text{alkyl}(C_0-C_6)-NR_9R_9'$, $-\text{O-alkyl}(C_1-C_6)-NR_9R_9'$, $-\text{C(O)-OR}_9$, $-\text{O-C(O)-R}_9$, $-\text{C(O)-NR}_9R_9'$, $-\text{NR}_9-\text{C(O)-R}_9'$, $-\text{NR}_9-\text{C(O)-OR}_9'$, $-\text{alkyl}(C_1-C_6)-\text{NR}_9-\text{C(O)-R}_9'$, $-\text{SO}_2-\text{NR}_9R_9'$, $-\text{SO}_2-\text{alkyl}(C_1-C_6)$,

♦ R_5 là nguyên tử hydro,



♦ R_7 là nguyên tử hydro hoặc nhóm $(C_1-C_6)\text{alkyl}$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

♦ R_8 là nhóm $-\text{O-P(O)}(\text{O}^-)(\text{O}^-)$, nhóm $-\text{O-P(O)}(\text{O}^-)(\text{OR}_{10})$, nhóm $-\text{O-P(O)}(\text{OR}_{10})(\text{OR}_{10}')$, nhóm $-\text{O-SO}_2-\text{O}^-$, nhóm $-\text{O-SO}_2-\text{OR}_{10}$, $-\text{Cy}_2$, nhóm $-\text{O-C(O)-R}_9$, nhóm $-\text{O-C(O)-OR}_9$ hoặc nhóm $-\text{O-C(O)-NR}_9R_9'$;

♦ R_9 và R_9' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm $(C_1-C_6)\text{alkyl}$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm amino $(C_1-C_6)\text{alkyl}$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh,

♦ R_{10} và R_{10}' , độc lập với nhau, là nguyên tử hydro, nhóm $(C_1-C_6)\text{alkyl}$ mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nhóm arylalkyl (C_1-C_6) ,

♦ Cy_1 và Cy_2 , độc lập với nhau, là nhóm xycloalkyl, nhóm heteroxycloalkyl, nhóm aryl hoặc nhóm heteroaryl,

amoni được định nghĩa như trên có thể tồn tại ở dạng cation ion lưỡng tính hoặc có anion trái dấu hóa trị một,

trong đó:

- “aryl” là nhóm phenyl hoặc naphthyl,
- “heteroaryl” là nhóm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ có từ 5 đến 10 nguyên tử vòng, có ít nhất một gốc thơm và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ,
- “xycloalkyl” là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 nguyên tử vòng,
- “heteroxycloalkyl” là nhóm vòng cacbon không thơm hai vòng hoặc đơn vòng bất kỳ chứa từ 3 đến 10 nguyên tử vòng, và chứa từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại được chọn từ oxy, lưu huỳnh và nitơ, chúng có thể gồm các hệ vòng ngưng tụ, nối cầu hoặc spiro,

các nhóm aryl, heteroaryl, xycloalkyl và heteroxycloalkyl được định nghĩa như vậy và các nhóm alkyl, alkenyl, alkynyl, alkoxy có thể được thế bằng từ 1 đến 4 nhóm được chọn từ (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkenyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, nhóm (C₂-C₆)alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh, (C₁-C₆)alkyl-S-, hydroxy, oxo (or *N*-oxit nếu thích hợp), nitro, xyano, -C(O)-OR', -O-C(O)-R', -C(O)-NR'R'', -NR'R'', -(C=NR')-OR'', (C₁-C₆)polyhaloalkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, triflometoxy hoặc halogen, trong đó R' và R'', độc lập với nhau, là nguyên tử hydro hoặc nhóm (C₁-C₆)alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon của các phần tử thế khả thi trên đây có thể được đoteri hóa,

các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang và các chất đồng phân atropi của chúng, và các muối cộng của chúng với bazơ hoặc axit được dùng.

2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó Y là nguyên tử oxy.

3. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó ít nhất một trong số các nhóm được

chọn từ R_2 , R_3 và R_4 không phải là nguyên tử hydro.

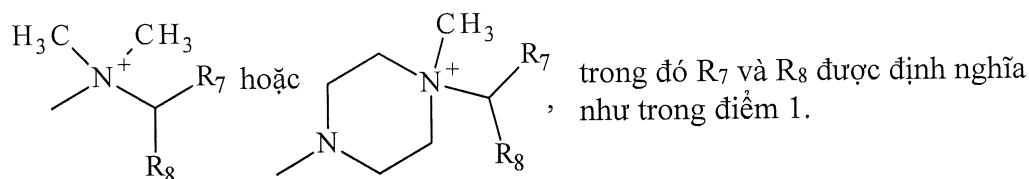
4. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_1 là nhóm (C_1-C_6) alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh hoặc nguyên tử halogen.

5. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_2 là nguyên tử halogen, nhóm hydroxy, nhóm (C_1-C_6) alkoxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

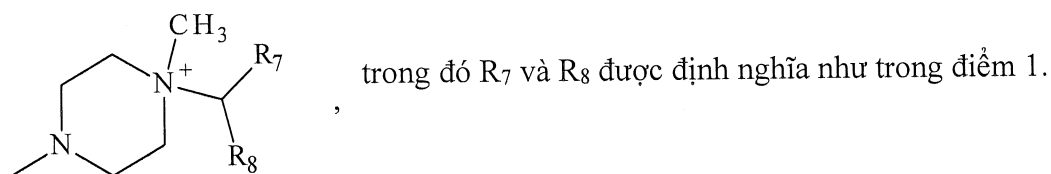
6. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_3 và R_4 là nguyên tử hydro.

7. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó các phần tử thế của cặp (R_1, R_4) là giống nhau và các phần tử thế của cặp (R_2, R_3) là giống nhau.

8. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_6 là nhóm:



9. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_6 là nhóm:



10. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_7 là nhóm methyl hoặc nguyên tử hydro.

11. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_8 là nhóm $-O-P(O)(O^-)(OR_{10})$, trong đó R_{10} là nguyên tử hydro, nhóm benzyl hoặc nhóm methyl.

12. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó R_8 là nhóm 5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl; nhóm $-O-C(O)-CH_3$; nhóm $-O-C(O)-tBu$; nhóm $-O-C(O)-CH_2-NH_2$; nhóm $-O-C(O)-CH[CH(CH_3)_2]-NH_2$; nhóm $-O-C(O)-O-CH_2CH_3$; hoặc nhóm $-O-C(O)-N(CH_2CH_3)_2$.

13. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- benzyl {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl methyl phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-ethylphenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- benzyl {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl phosphat;

- {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl)-1-methylpiperazin-1-

ium-1-yl}metyl metyl phosphat;

- *N*-[(5*S_a*)-5-{3-clo-4-[2-(4-{[(hydroxyphosphinato)oxy]metyl}-4-methylpiperazin-4-ium-1-yl)etoxy]-2-methylphenyl}-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-4-yl]-2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}-D-phenylalanin;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2,6-diclo-3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {4-[2-(4-{4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-3,5-dimetylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl](dimetyl)amonio}metyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}etyl hydro phosphat;

- 1-{4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}etyl hydro phosphat;

- {1-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-metoxypheyl)pyrimidin-4-yl]metoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-metylphenoxy)etyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}metyl hydro phosphat;

- {1-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-4-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat;

- {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl sulfat;

- 1-[(axetyloxy)methyl]-4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-[(etoxycacbonyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-[(diethylcarbamoil)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{1-[(diethylcarbamoil)oxy]ethyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-

3-methylphenoxy)ethyl]-1-methyl-1-[(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-methyl-1-[(L-valyloxy)methyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)ethyl]-1-{[(2,2-dimethylpropanoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 1-[(axetyloxy)methyl]-4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-{[(etoxycarbonyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-{[(diethylcarbamoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)ethyl]-1-[(glyxyloxy)methyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)ethoxy]-6-(4-

flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{1-
[(diethylcarbamoxy)oxy]etyl]-1-methylpiperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methyl-1-[(5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-yl)methyl]piperazin-1-ium;

- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methyl-1-[(L-valyloxy)methyl]piperazin-1-ium;

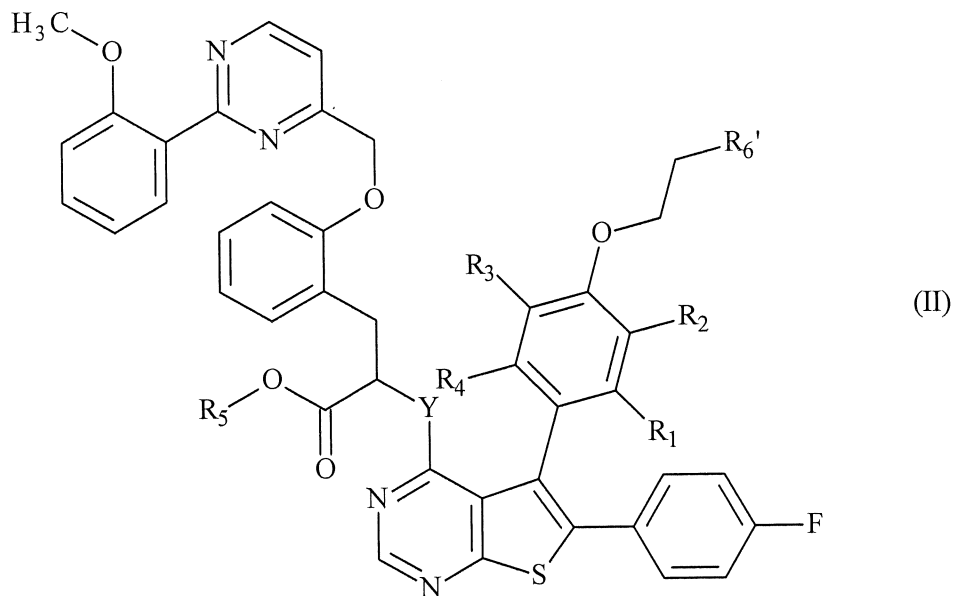
- 4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-{[(2,2-dimethylpropanoyl)oxy]methyl}-1-methylpiperazin-1-ium.

14. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là {4-[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat.

15. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là {4-[2-(3-bromo-4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clophenoxy)etyl]-1-methylpiperazin-1-ium-1-yl}methyl hydro phosphat.

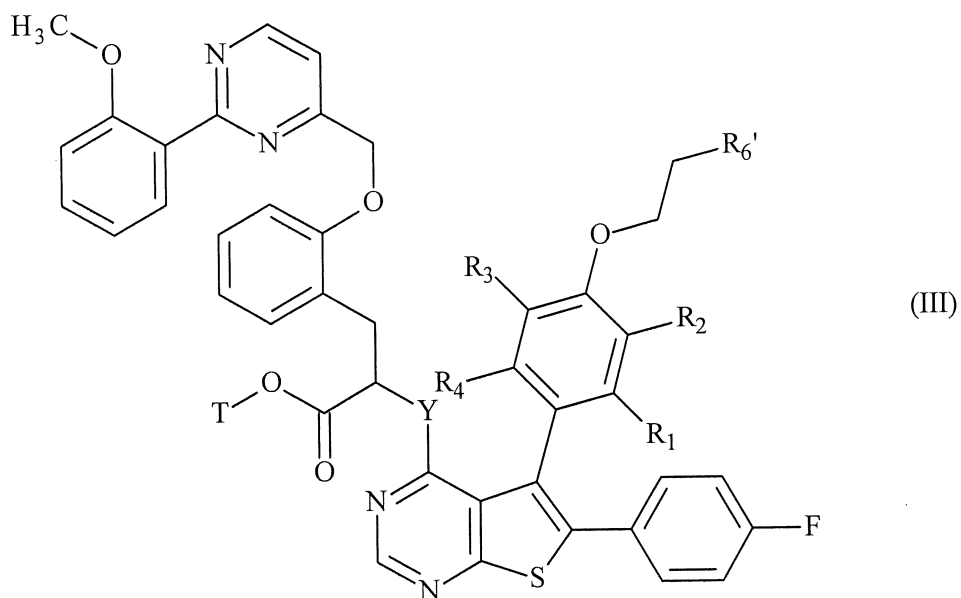
16. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là {[2-(4-{(5*S_a*)-4-[(1*R*)-1-carboxy-2-(2-{[2-(2-methoxyphenyl)pyrimidin-4-yl]methoxy}phenyl)etoxy]-6-(4-flophenyl)thieno[2,3-*d*]pyrimidin-5-yl}-2-clo-3-methylphenoxy)etyl](dimethyl)amonio}methyl hydro phosphat.

17. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, khác biệt ở chỗ, hợp chất có công thức (II) được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu:



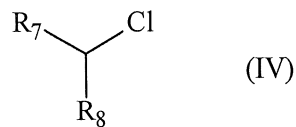
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và Y được định nghĩa như đối với công thức (I), và R_6' là nhóm $-N(CH_3)_2$ hoặc nhóm 4-metyl-piperazinyl,

cho hợp chất này thực hiện phản ứng bảo vệ nhóm chức axit carboxylic để tạo ra hợp chất có công thức (III):



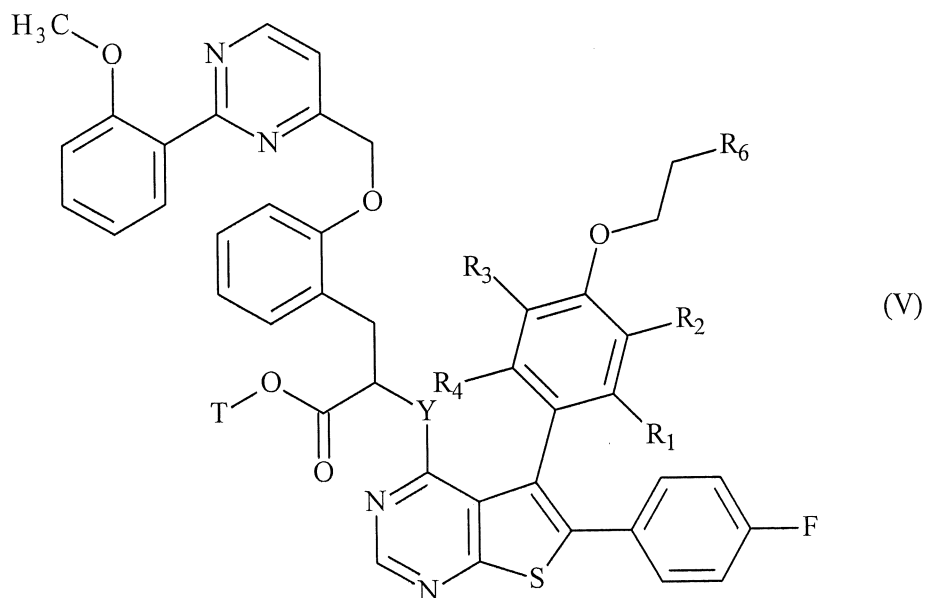
trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_6' và Y được định nghĩa như trên đây, và T là nhóm bảo vệ cho chức axit carboxylic như, ví dụ, nhóm *para*-metoxybenzyl,

cho hợp chất này liên hợp với hợp chất có công thức (IV):



trong đó R₇ và R₈ được định nghĩa như đối với công thức (I),

để tạo ra hợp chất có công thức (V):



trong đó R₁, R₂, R₃, R₄, T và Y được định nghĩa như trên đây, và R₆ được định nghĩa như trong điểm 1,

sau đó, thực hiện phản ứng khử bảo vệ nhóm chức axit carboxylic,

để tạo ra hợp chất có công thức (I), hợp chất này có thể được tinh chế theo các kỹ thuật tách thông thường, được chuyển hóa, nếu muốn, thành các muối cộng của nó với bazơ hoặc axit được dụng và tùy ý, được tách thành các chất đồng phân của nó theo các kỹ thuật tách thông thường,

trong đó tại thời điểm thích hợp bất kỳ trong quy trình nêu trên, một số nhóm (hydroxy, amino ...) của các tác nhân phản ứng ban đầu hoặc của các hợp chất trung gian tổng hợp có thể được bảo vệ, sau đó được khử bảo vệ và chức hóa, theo yêu

cầu của quy trình tổng hợp.

18. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc muối cộng của nó với bazơ hoặc axit được dùng, kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

19. Tổ hợp của hợp chất có công thức (I), theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, với tác nhân chống ung thư được chọn từ các tác nhân gây độc gen, các chất độc gián phân, các chất chống chuyển hóa, các chất ức chế proteasom, các chất ức chế kinaza và các kháng thể.

20. Dược phẩm chứa tổ hợp theo điểm 19 kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dùng.