(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) **1-0034877**

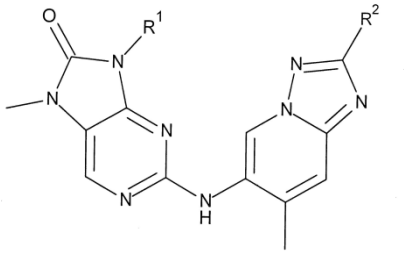
(51)[7] **C07D 473/18**; C07D 519/00; A61K 31/522; A61P 35/00

(13) **B**

(21) 1-2019-03875
(22) 19/12/2017
(86) PCT/EP2017/083625 19/12/2017
(87) WO2018/114999 28/06/2018
(30) 62/436619 20/12/2016 US
(45) 27/02/2023 419
(43) 25/12/2019 381A
(73) ASTRAZENECA AB (SE)
SE-151 85 Södertälje, Sweden
(72) FINLAY Maurice Raymond Verschoyle (GB); GOLDBERG Frederick Woolf (GB); TING Attilla Kuan Tsuei (BE).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT AMINO-TRIAZOLOPYRIDIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) và muối dược dụng của nó, trong R^1 và R^2 được định nghĩa như trong bản mô tả; và dược phẩm chứa hợp chất này.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất amino-triazolopyridin được thế và muối dược dụng của nó; và dược phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất này và các muối dược dụng của nó điều hòa chọn lọc kinaza protein phụ thuộc ADN ("ADN-PK"). Sáng chế cũng đề cập đến dạng tinh thể của hợp chất amino-triazolopyridin được thế này và muối dược dụng của nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

ADN-PK là phức hợp kinaza protein serin/threonin nhân được tạo thành bởi các ADN-PKc tiểu đơn vị xúc tác và dị dimer của các protein Ku (Ku70/Ku80). ADN-PK đóng vai trò quyết định trong việc sửa chữa các đứt gãy sợi kép ADN (DSB), nhằm duy trì sự nguyên vẹn của bộ gen, và trong quá trình tái tổ hợp V(D)J, tạo ra danh mục đa dạng cao của các kháng thể/globulin miễn dịch và các thụ thể tế bào T được tìm thấy lần lượt trên các tế bào B và T. ADN-PK cũng đã được bao hàm trong phạm vi của các quá trình sinh học khác, bao gồm quá trình điều hòa cấu trúc chất nhiễm sắc, duy trì điểm cuối, điều hòa phiên mã, và đáp ứng với các tình trạng căng thẳng tái bản (Smith and Jackson, 1999; Goodwin and Knudsen, 2014).

Các ADN DSB được coi là tổn thương nguy hiểm nhất mà tế bào có thể gặp phải. Để chống lại các mối đe dọa nghiêm trọng do ADN DSB gây ra, các tế bào nhân chuẩn đã tiến hóa một số cơ chế để làm trung gian cho việc sửa chữa của chúng. Ở sinh vật nhân chuẩn bậc cao hơn, cơ chế chiếm ưu thế là sự kết nối các đầu không tương đồng ADN (NHEJ). Đây là con đường sửa chữa DSB dễ bị lỗi liên quan đến việc nối trực tiếp các đầu DSB bị đứt gãy xảy ra ở tất cả các pha của chu kỳ tế bào và ưu tiên sử dụng ở các pha G1/S sớm, trong đó không có nhiễm sắc tử chị em khuôn nào (Hartlerode and Scully, 2009). Điều này đối lập với con đường chính thứ hai của quá trình sửa chữa DSB, sự tái tổ hợp tương đồng (HR), xảy ra chủ yếu ở các pha G2/M của chu kỳ tế bào khi có sẵn các nhiễm sắc tử chị em không bị hư hại (San Filippo et al., 2008). Các cơ chế khác làm cơ sở cho việc chọn lọc NHEJ hoặc HR để sửa chữa DSB chưa được xác định đầy đủ, mặc dù các đầu ADN tù, được xử lý tối thiểu được sửa chữa bởi NHEJ, trong khi đó việc cắt đầu 3' là cần thiết để HR xảy ra (Symington and Gautier, 2011). Việc cắt đầu được kiểm

soát bởi sự tác động của BRCA1 và 53BP1, với 53BP1 hỗ trợ NHEJ bằng cách ngăn chặn sự cắt đầu (E fouano-diaz et al., 2013).

NHEJ được bắt đầu thông qua việc nhận biết và liên kết các đầu ADN bị đứt gãy bởi dị dimer Ku70/Ku80 dạng vòng, sau đó là tuyển chọn ADN-PKcs thông qua sự tương tác của nó với Ku và ADN. Việc tuyển chọn ADN-PKcs thúc đẩy sự di chuyển của dị dimer Ku vào thể kép ADN, cho phép ADN-PKcs đóng vai trò là sợi dây buộc cho các đầu ADN bị đứt gãy và ngăn chặn sự suy biến của các exonucleaza (Yoo and Dynan, 1999). Việc liên kết với ADN thúc đẩy sự hoạt hóa của hoạt tính xúc tác ADN-PKcs. Có lẽ cơ chất quan trọng nhất của ADN-PK là chính tiểu đơn vị kinaza, vì quá trình tự phosphoryl hóa rất quan trọng cho việc điều hòa quá trình xử lý đầu ADN, bất hoạt enzym và phân ly phức hợp (Chan et al., 2002). Các vị trí tự phosphoryl hóa đặc trưng nhất là Ser2056 và Thr2609 (Douglas et al., 2002). ADN-PKcs phosphoryl hóa và thay đổi hoạt tính của rất nhiều hợp chất trung gian cho NHEJ, bao gồm Artemis, Ku70, Ku80, và ADN ligaza 4 (Neal and Meek, 2011); nó cũng phosphoryl hóa Ser139 trên biến thể histon H2AX (γH2AX); đây là chỉ thị đã biết của các đứt gãy sợi kép ADN (An et al., 2010).

Các đứt gãy sợi kép có thể được sinh ra nội sinh thông qua việc sản xuất các loại oxy phản ứng trong quá trình trao đổi chất hoặc thông qua quá trình tái tổ hợp V(D)J phát triển trong hệ miễn dịch, và ngoại sinh bằng sự bức xạ ion hóa, các thuốc phóng xạ như bleomyxin và các chất ức chế topoisomeraza II như etoposit và doxorubixin. Do đó, các chất ức chế ADN-PK có khả năng làm tăng khả năng gây tử vong của các chất này. Các chất ức chế ADN-PK có thể cũng hiệu quả làm các đơn chất trong các khối u có các mức tổn thương ADN nội sinh cao do các thiếu sót trong các con đường sửa chữa ADN khác như sửa chữa HR và sửa chữa không khớp. Ví dụ, các chất ức chế ADN-PK đã được chứng minh là hiệu quả làm các đơn chất chống lại các u lympho khiếm khuyết ATM (Riabinska et al., 2013). ATM rất quan trọng trong sửa chữa HR, và khi các tế bào bệnh ung thư bị thiếu sót ở ATM, các tế bào này sẽ "bị nghiện" NHEJ để cho phép chúng sống sót. Sự tương tác gây tử vong tổng hợp cũng đã được chứng minh giữa ADN-PK và MSH3 (Deitlein et al., 2014). ADN-PK là thành viên của họ kinaza liên quan đến phosphatidylinositol 3-kinaza (PIKK) của các kinaza protein và các chất ức chế ADN-PK thế hệ cũ hơn như NU7026, NU7441, KU-0060648 và CC-115 đã bị chọn lọc kém so với các thành viên họ PIKK khác. Tuy nhiên, các hợp chất này đã chứng tỏ tiềm năng điều trị

hướng đích ADN-PK phù hợp với các cơ chế hoạt động đã biết của protein ADN-PK. Ví dụ, NU7026 và KU-0060648 có thể tạo tiềm năng gây độc tế bào của các chất ức chế topoisomeraza II (Willmore et al, 2004; Munck et al., 2012) và NU7441 đã tạo tiềm năng hiệu quả bức xạ ion hóa ở các mẫu bệnh ung thư vú (Ciszewski et al., 2014). Các ứng dụng khác của các chất ức chế ADN-PK trong bệnh ung thư học có thể bao gồm nhắm đích các khối u có các mức tình trạng căng thẳng tái bản cao (Lin et al., 2014; Ashley et al., 2014; Buisson et al., 2015), là liệu pháp đơn hoặc kết hợp với các chất khác như các chất ức chế Wee1, ATR hoặc CHK, hoặc là liệu pháp kết hợp với các chất nội tiết ở bệnh ung thư tuyến tiền liệt (Goodwin et al., 2013) và bệnh ung thư vú (Medunjanin et al., 2010).

EP2527344 đề cập đến hợp chất pyridin-2(1H)-on hữu ích để sử dụng làm thuốc để điều trị rối loạn tăng sinh tủy, tình trạng thải loại mảnh ghép, bệnh viêm qua trung gian miễn dịch.

US2013/245029 đề cập đến hợp chất ức chế TOR kinaza để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư tổ chức liên kết Ewings biểu hiện quá mức ETS.

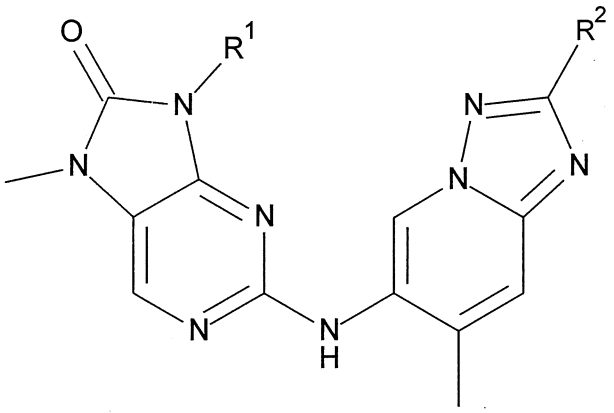
WO2008/043031 đề cập đến hợp chất 6-được thế 2-(benzimidazolyl)purin và purinon hữu ích để phòng ngừa và điều trị bệnh tự miễn, bệnh viêm, bệnh qua trung gian tế bào mast và tình trạng thải loại mảnh ghép.

WO2009/122180 đề cập đến hợp chất pyrimidin hữu ích để điều trị các rối loạn khác nhau dưới dạng chất ức chế một hoặc nhiều kinza.

Do đó, có nhu cầu đối với các chất ức chế ADN-PK có tính chọn lọc, chứng tỏ tính khả dụng sinh học tốt và thích hợp để sử dụng liều.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R^1 là vòng xyclohexyl, vòng tetrahydrofuranyl hoặc vòng oxanyl, mỗi vòng này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl; và

R^2 là hydro hoặc metyl.

Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước sử dụng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện phổ nhiễu xạ bột tia X của dạng A của 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất A, ví dụ 3).

Fig.2 thể hiện biểu đồ DSC của dạng A của 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất A, ví dụ 3).

Fig.3 thể hiện phổ nhiễu xạ bột tia X của dạng A của 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất B, ví dụ 10).

Fig.4 thể hiện biểu đồ DSC của dạng A của 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất B, ví dụ 10).

Fig.5 thể hiện sự ức chế sinh trưởng khối u ở mẫu chuột ghép ngoại lai bởi 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất A, ví dụ 3) kết hợp với Olaparib.

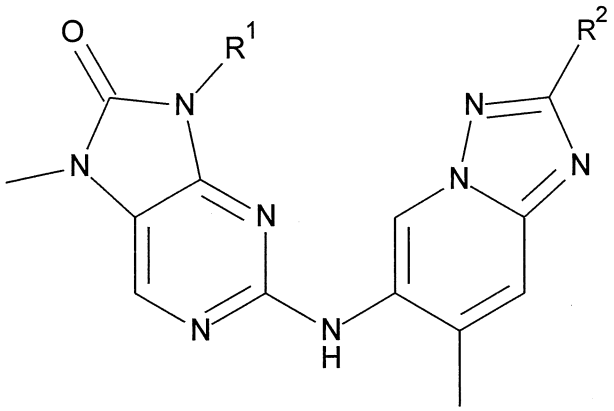
Fig.6 thể hiện hoạt tính *in vitro* của 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất A, ví dụ 3) kết hợp với AZD6738, chất ức chế ATR.

Fig.7 thể hiện hoạt tính *in vitro* của 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (hợp chất A, ví dụ 3) kết hợp với AZD0156, chất ức chế ATM.

Mô tả chi tiết sáng chế

Nhiều phương án của sáng chế được mô tả chi tiết trong bản mô tả này và sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Sáng chế không được hiểu theo nghĩa là bị giới hạn bởi các phương án cụ thể bất kỳ của sáng chế.

Theo phương án thứ nhất, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I):



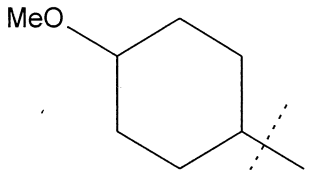
(I)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

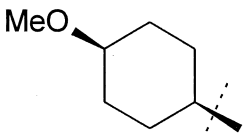
R^1 là vòng xyclohexyl, vòng tetrahydrofuranyl hoặc vòng oxanyl, mỗi vòng này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl; và

R^2 là hydro hoặc metyl.

Thuật ngữ "vòng xyclohexyl" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ vòng carboxyclic chứa sáu nguyên tử cacbon và không chứa các dị nguyên tử. Các nhóm 1-metoxyxyclohex-4-yl và các nhóm 4-metoxyxyclohex-1-yl có cùng cấu trúc, như được thể hiện dưới đây.

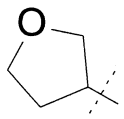


Nhóm *cis*-1-metoxy-xyclohex-4-yl là tương đương với *cis*-4-metoxy-xyclohex-1-yl và có cấu tạo sau đây:



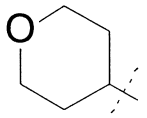
Áp dụng cùng các quy ước cho các nhóm xyclohexyl khác, ví dụ các nhóm 1-hydroxyxyclohex-4-yl và các nhóm 4-hydroxyxyclohex-1-yl.

Thuật ngữ "vòng tetrahydrofuranyl" bao gồm tetrahydrofuran-3-yl, cấu tạo của chúng được thể hiện dưới đây.

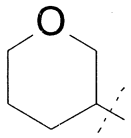


Tetrahydrofuran-3-yl

Thuật ngữ "vòng oxanyl" bao gồm các nhóm oxan-3-yl và oxan-4-yl, các cấu tạo của chúng được thể hiện dưới đây.



Oxan-4-yl



Oxan-3-yl

Trong các cấu tạo trên đây, đường nét đứt chỉ ra vị trí liên kết của nhóm liên quan.

Vòng oxanyl có thể cũng được gọi là vòng tetrahydropyranyl. Tương tự, vòng oxan-4-yl có thể được gọi là vòng tetrahydropyran-4-yl, và vòng oxan-3-yl có thể được gọi là vòng tetrahydropyran-3-yl.

Khi thuật ngữ "tùy ý" được sử dụng, có nghĩa là đặc tính sau đó có thể có hoặc có thể không xảy ra. Do đó, việc sử dụng thuật ngữ "tùy ý" bao gồm các trường hợp khi đặc tính này có mặt, và còn cả các trường hợp khi đặc tính này không có mặt. Ví dụ, nhóm "tùy ý được thế bằng một nhóm metoxy" bao gồm các nhóm có hoặc không có nhóm thế metoxy.

Thuật ngữ "được thế" có nghĩa là một hoặc nhiều hydro (ví dụ 1 hoặc 2 hydro, hoặc tùy chọn là 1 hydro) trên nhóm được chỉ định được thay thế bởi (các) nhóm thế được chỉ định (ví dụ 1 hoặc 2 nhóm thế, hoặc tùy chọn là 1 nhóm thế), miễn là bất kỳ (các) nguyên tử mang nhóm thế đều duy trì hóa trị cho phép. Những sự kết hợp nhóm thế bao gồm chỉ các hợp chất ổn định và các hợp chất trung gian tổng hợp ổn định. "Ổn định" có nghĩa là hợp chất hoặc hợp chất trung gian liên quan đủ mạnh để được phân lập và có công dụng là hợp chất trung gian tổng hợp hoặc chất có công dụng điều trị tiềm năng. Nếu nhóm không được mô tả là "được thế", hoặc "được thế tùy ý", thì nó được coi là không được thế (*tức là* không có hydro nào trên nhóm được chỉ định đã được thay thế).

Thuật ngữ "dược dụng" được sử dụng để xác định rằng đối tượng (ví dụ muối, dạng liều sử dụng, chất pha loãng hoặc chất mang) là thích hợp để sử dụng ở đối tượng bị bệnh. Danh mục ví dụ về các muối dược dụng có thể được tìm thấy trong tài liệu *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl and C. G. Wermuth, chủ bút, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002. Muối dược dụng thích hợp của hợp chất có công thức (I) là, ví dụ, muối cộng axit. Muối cộng axit của hợp chất có công thức (I) có thể được tạo thành bằng cách cho hợp chất này tiếp xúc với axit hữu cơ hoặc axit vô cơ thích hợp trong điều kiện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Muối cộng axit có thể được tạo thành ví dụ như bằng cách sử dụng axit vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric và axit phosphoric. Muối cộng axit cũng có thể được tạo thành bằng cách sử dụng axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit trifloroaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit sucxinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic và axit *para*-toluensulfonic.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó muối dược dụng là muối của axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric, axit phosphoric, axit trifloroaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit sucxinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic hoặc axit *para*-toluensulfonic. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó muối dược dụng này là muối của axit trifloroaxetic, axit formic hoặc axit metansulfonic. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó muối dược dụng này là muối của axit trifloroaxetic hoặc axit metansulfonic. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó muối dược dụng này là muối của axit metansulfonic. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó muối dược dụng này là muối của axit *mono*-metansulfonic, *tức là* hệ số tỉ lượng giữa hợp chất có công thức (I) và axit metansulfonic là 1:1.

Phương án khác tạo ra phương án bất kỳ trong số các phương án được xác định trong bản mô tả (ví dụ phương án theo điểm 1) với điều kiện là một hoặc nhiều Ví dụ cụ

thể (ví dụ, một, hai hoặc ba Ví dụ cụ thể) được chọn từ nhóm bao gồm các Ví dụ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 và 13 bị từ bỏ một cách riêng rẽ.

Phương án khác tạo ra phương án bất kỳ trong số các phương án được xác định trong bản mô tả (ví dụ phương án theo điểm 1) với điều kiện là một hoặc nhiều Ví dụ cụ thể (ví dụ một, hai hoặc ba Ví dụ cụ thể) được chọn từ nhóm bao gồm các Ví dụ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 và 10 bị từ bỏ một cách riêng rẽ.

Một số giá trị của các nhóm biến đổi trong Công thức (I) là như sau. Các giá trị này có thể được sử dụng kết hợp với bất kỳ trong số các định nghĩa, yêu cầu bảo hộ (ví dụ điểm 1), hoặc các phương án được xác định trong bản mô tả để tạo ra các phương án khác.

a) R^1 là vòng xyclohexyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl, hoặc R^1 là vòng tetrahydrofuranyl hoặc oxanyl.

b) R^1 là vòng xyclohexyl tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl.

c) R^1 là vòng tetrahydrofuranyl hoặc oxanyl.

d) R^1 là vòng xyclohexyl tùy ý được thế bằng một nhóm hydroxyl hoặc metoxy.

e) R^1 là vòng xyclohexyl tùy ý được thế bằng nhóm hydroxyl và nhóm metyl.

f) R^1 là 1-metoxy-xyclohex-4-yl, 1-hydroxy-xyclohex-4-yl, 1-hydroxy-1-metylhex-4yl hoặc 1-hydroxy-4-metyl-xyclohex-4-yl.

g) R^1 là 1-metoxy-xyclohex-4-yl, 1-hydroxy-xyclohex-4-yl hoặc 1-hydroxy-1-metyl-xyclohex-4yl.

h) R^1 là 1-hydroxy-1-metyl-xyclohex-4-yl.

i) R^1 là *cis*-1-hydroxy-1-metyl-xyclohex-4-yl.

j) R^1 là *cis*-1-metoxy-xyclobut-4-yl hoặc *cis*-1-hydroxy-xyclohex-4-yl.

k) R^1 là *cis*-1-hydroxy-xyclohex-4-yl.

l) R^1 là vòng oxetanyl.

m) R^1 là oxetan-3-yl.

n) R^1 là vòng xyclohexyl.

o) R^1 là vòng tetrahydrofuranyl.

p) R^1 là tetrahydrofuran-3-yl.

q) R^1 là vòng oxanyl.

r) R^1 là oxan-3-yl.

s) R^1 là oxan-4-yl.

t) R^2 là hydro.

u) R^2 là metyl.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

9-((1r,4r)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

2-((2,7-dimetyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1r,4r)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(R)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on; và

9-xyclohexyl-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on; và

9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on; và

9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này là 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này là 9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong đó hợp chất này là 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

Các hợp chất và các muối được mô tả trong bản mô tả có thể tồn tại dưới các dạng được solvat hóa và các dạng không được solvat hóa. Ví dụ, dạng được solvat hóa có thể là dạng được hydrat hóa, như hemi-hydrat, mono-hydrat, di-hydrat, tri-hydrat hoặc số lượng tùy ý của chúng. Sáng chế bao gồm tất cả các dạng được solvat hóa và không được solvat hóa như vậy của các hợp chất có công thức (I), cụ thể là đến mức độ mà các dạng này có hoạt tính ức chế ADN-PK, như ví dụ được đo bằng cách sử dụng các thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả.

Các nguyên tử của các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả có thể tồn tại dưới dạng các chất đồng vị của chúng. Sáng chế bao gồm tất cả các hợp chất có công thức (I) trong đó nguyên tử được thay thế bởi một hoặc nhiều đồng vị của nó (ví dụ hợp chất có công thức (I) trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon là đồng vị cacbon ^{11}C hoặc ^{13}C, hoặc trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro là đồng vị ^{2}H hoặc ^{3}H, hoặc trong đó một hoặc nhiều nguyên tử nitơ là đồng vị ^{15}N hoặc trong đó một trong số các nguyên tử oxy là đồng vị ^{17}O hoặc ^{18}O).

Các hợp chất và muối được mô tả trong bản mô tả có thể tồn tại dưới dạng hoạt động quang học hoặc dạng triệt quang bởi đặc tính của một hoặc nhiều nguyên tử cacbon bất đối xứng. Sáng chế bao gồm dạng hoạt động quang học hoặc triệt quang của hợp chất có công thức (I) có hoạt tính ức chế ADN-PK, như ví dụ được đo bằng các thử nghiệm được mô tả trong bản mô tả. Quá trình tổng hợp các dạng hoạt động quang học có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật hóa học hữu cơ tiêu chuẩn đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ bằng quá trình tổng hợp sử dụng các nguyên liệu hoạt động quang học hoặc bằng cách phân giải dạng triệt quang.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, là đồng phân quang học đơn ở độ dư đối quang (%ee) là ≥ 95%, ≥ 98% hoặc ≥ 99%. Theo một phương án, đồng phân đối quang đơn này có mặt ở độ dư đối quang (%ee) là ≥ 99%.

Một số hợp chất có công thức (I) có thể kết tinh và có thể nhiều hơn một dạng tinh thể. Được hiểu là sáng chế bao gồm dạng tinh thể hoặc không kết tinh bất kỳ, hoặc hỗn

hợp của chúng, là dạng có các đặc tính hữu dụng trong hoạt tính ức chế ADN-PK. Đã biết làm cách để xác định hiệu quả của dạng tinh thể hoặc không kết tinh bởi các thử nghiệm chuẩn được mô tả sau đây.

Đã biết rằng nguyên liệu kết tinh có thể được phân tích bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường như, ví dụ, phân tích nhiễu xạ bột tia X (sau đây gọi là XRPD) và Phép đo nhiệt lượng Quét Vi sai (sau đây gọi là DSC).

Ví dụ là, hợp chất của ví dụ 3, 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on, thể hiện độ kết tinh và dạng tinh thể, dạng A, đã được xác định.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dạng A của hợp chất A (ví dụ 3, 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on).

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,6°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 18,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,6° và 18,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X với các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 7,6, 9,3, 11,7, 14,3, 15,1, 18,7, 23,2, 24,7, 26,4, 27,2°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản giống với phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,6° cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 18,7° cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,6° và 18,7° trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất A, có phổ nhiễu xạ bột tia X với các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 7,6, 9,3, 11,7, 14,3, 15,1, 18,7, 23,2, 24,7, 26,4, 27,2° trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Phân tích DSC của hợp chất A, dạng A thể hiện sự thu nhiệt tan với điểm bắt đầu ở khoảng 261,8°C cộng hoặc trừ 0,5°C và đỉnh ở khoảng 262,7°C cộng hoặc trừ 0,5°C (Fig.2).

Hợp chất của ví dụ 10, 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on, thể hiện độ kết tinh và dạng tinh thể, dạng A, đã được xác định.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dạng A của hợp chất B (ví dụ 10, 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on).

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 8,8°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 12,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 8,8° và 12,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X với các đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 5,1, 8,8, 10,3, 12,7, 13,0, 13,8, 14,8, 16,5, 23,8, 24,2°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản giống với mô hình nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 8,8° cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm ít nhất một đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 12,7° cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất hai đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 8,8° và 12,7° trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Sáng chế đề cập đến dạng tinh thể, dạng A của hợp chất B, có phổ nhiễu xạ bột tia X với các đỉnh đặc trưng ở 2-theta = 5,1, 8,8, 10,3, 12,7, 13,0, 13,8, 14,8, 16,5, 23,8, 24,2° trong đó các giá trị này có thể cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

Phân tích DSC của hợp chất B, dạng A thể hiện sự thu nhiệt tan với điểm bắt đầu ở khoảng 235,6°C cộng hoặc trừ 0,5°C và đỉnh ở khoảng 236,9°C cộng hoặc trừ 0,5°C (Fig.4).

Khi sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của dạng A của hợp chất A hoặc hợp chất B, thì độ kết tinh thường lớn hơn khoảng 60%, thông thường hơn là lớn hơn khoảng 80%, tốt hơn là lớn hơn khoảng 90% và tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 95%. Tốt nhất là độ kết tinh này lớn hơn khoảng 98%.

Sẽ được hiểu là các 2-theta giá trị của phổ nhiễu xạ bột tia X có thể thay đổi một chút giữa máy này với máy khác hoặc từ mẫu này sang mẫu khác, và do đó các giá trị được đưa ra không được hiểu là tuyệt đối.

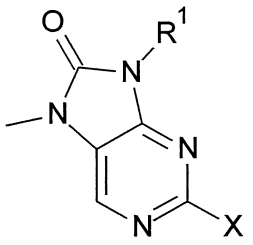
Đã biết là phổ nhiễu xạ bột tia X có thể được thu có một hoặc nhiều sai số phép đo phụ thuộc vào điều kiện đo (như thiết bị hoặc máy móc được sử dụng). Cụ thể là, thường

được biết rằng các cường độ trong phổ nhiễu xạ bột tia X có thể dao động phụ thuộc vào các điều kiện đo. Do đó nên được hiểu rằng Hợp chất A, dạng A và Hợp chất B, dạng A theo sáng chế không bị giới hạn bởi các tinh thể mà tạo ra các phổ nhiễu xạ bột tia X giống với phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trong các Fig.1 và 3, và các tinh thể bất kỳ tạo ra các phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản giống với các mẫu được thể hiện trong các Fig.1 và 3 nằm trong phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực XRPD có thể đánh giá sự giống nhau cơ bản của các phổ nhiễu xạ bột tia X.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực XRPD sẽ hiểu rằng cường độ tương đối của các đỉnh có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ, các hạt có cỡ trên 30 micron và các tỉ lệ các mặt không đồng nhất, có thể ảnh hưởng đến việc phân tích mẫu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cũng sẽ hiểu rằng vị trí của các phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi độ cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiễu xạ kế và sự định cỡ bằng không của nhiễu xạ kế. Độ phẳng bề mặt của mẫu có thể cũng có ảnh hưởng nhỏ. Do đó, dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện không được lấy là các giá trị tuyệt đối. (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, London; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

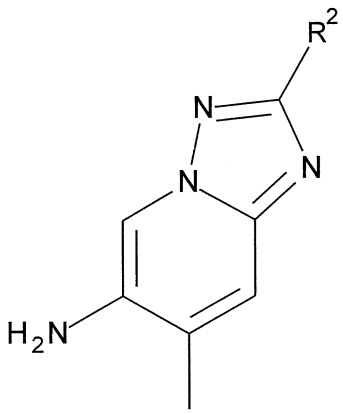
Thông thường, sai số phép đo của góc nhiễu xạ trong biểu đồ nhiễu xạ bột tia X là xấp xỉ cộng hoặc trừ 0,2° 2-theta, và mức độ sai số phép đo này nên được tính đến khi xem xét phổ nhiễu xạ bột tia X trong các Fig.1 và 3 và khi đọc Bảng A và B. Ngoài ra, nên được hiểu rằng các cường độ có thể dao động phụ thuộc vào các điều kiện thử nghiệm và chuẩn bị mẫu (hướng được ưu tiên).

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (II):



(II)

hoặc muối của nó, trong đó R^1 là như được xác định theo phương án bất kỳ trong số các phương án trong bản mô tả, hoặc dạng được bảo vệ của nó, và X là nhóm rời chuyển (ví dụ nguyên tử halogen, như nguyên tử clo) với hợp chất có công thức (III):



(III)

hoặc muối của nó. Phản ứng này thường được thực hiện trong dung môi thích hợp (ví dụ 1,4-dioxan) trong sự có mặt của bazơ (ví dụ xesi cacbonat) và tùy ý trong sự có mặt của chất xúc tác thích hợp (ví dụ Brettphos 3rd Gen) ở nhiệt độ thích hợp (ví dụ nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến nhiệt độ 100°C).

Do đó, hợp chất có công thức (II) hoặc (III), và các muối của chúng, là hữu dụng làm các hợp chất trung gian trong quá trình điều chế các hợp chất có công thức (I) và tạo ra phương án khác. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (II), hoặc muối của nó, trong đó:

R^1 là vòng xyclohexyl, vòng tetrahydrofuranyl hoặc vòng oxanyl, mỗi vòng này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl;

và

X là nhóm rời chuyển.

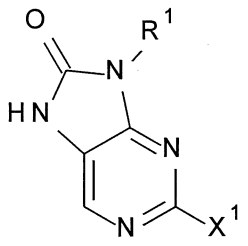
Theo một phương án, X là nguyên tử halogen hoặc nhóm triflat. Theo một phương án, X là nguyên tử clo.

Theo phương án bất kỳ trong số các phương án trong đó hợp chất có công thức (II) hoặc (III) hoặc muối của chúng được đề cập, được hiểu là các muối này không cần phải là các muối dược dụng. Muối thích hợp của hợp chất có công thức (II) hoặc (III) là, ví dụ, ví dụ muối cộng axit. Muối cộng axit của hợp chất có công thức (II) hoặc (III) có thể

được tạo thành bằng cách cho hợp chất này tiếp xúc với axit vô cơ hoặc hữu cơ trong các điều kiện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Muối cộng axit có thể được tạo thành ví dụ như bằng cách sử dụng axit vô cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit clohydric, axit hydrobromic, axit sulphuric và axit phosphoric. Muối cộng axit cũng có thể được tạo thành bằng cách sử dụng axit hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm axit trifloroaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit sucxinic, axit tartaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic và axit *para*-toluensulfonic.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (II) hoặc (III) hoặc muối của nó, trong đó muối này là muối của axit hydrocloric, axit hydrobromic, axit sulphuric, axit phosphoric, axit trifloroaxetic, axit xitric, axit maleic, axit oxalic, axit axetic, axit formic, axit benzoic, axit fumaric, axit sucxinic, axit tactaric, axit lactic, axit pyruvic, axit metansulfonic, axit benzenesulfonic hoặc axit *para*-toluenesulfonic.

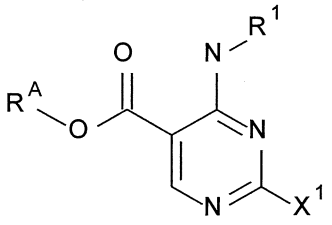
Hợp chất có công thức (II) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (IV):



(IV)

trong đó R^1 là như được xác định theo phương án bất kỳ trong số các phương án trong bản mô tả, và X^1 là nhóm rời chuyển (ví dụ nguyên tử iot, brom, hoặc clo hoặc nhóm triflat) với chất tạo metyl hóa. Các chất tạo metyl hóa thích hợp bao gồm metyl iodua, DMF-DMA.

Hợp chất có công thức (IV) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (V):



(V)

trong đó R^1 là như được xác định theo phương án bất kỳ trong số các phương án trong bản mô tả;

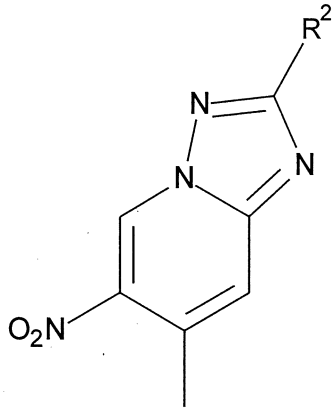
R^A là hydro; và

X^1 là nhóm rời chuyển (ví dụ nguyên tử iot, brom, clo hoặc nhóm triflat)với diphenylphosphoryl azit (DPPA). Phản ứng này có thể được thực hiện trong các điều kiện đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ DPPA, trietylamin, THF, hồi lưu.

Do đó, hợp chất có công thức (IV) và (V) là hữu dụng làm các hợp chất trung gian trong quá trình điều chế các hợp chất có công thức (I) và tạo ra phương án khác.

Hợp chất có công thức (IV) và (V) có thể được điều chế bằng các phương pháp tương tự như được thể hiện trong phần ví dụ thực hiện sáng chế.

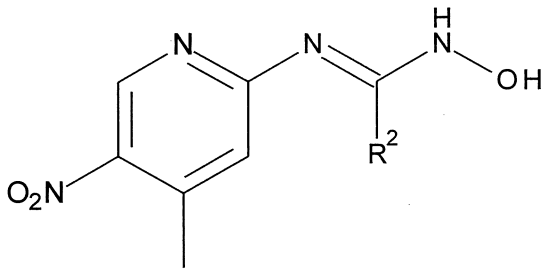
Hợp chất có công thức (III) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (VI):



(VI)

với chất khử. Các chất khử thích hợp bao gồm Pd/C 10% và hydro, Pd/C 10% và amoni focmat, sắt/amoni clorua.

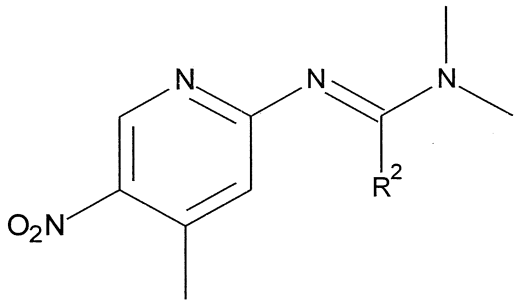
Hợp chất có công thức (VI) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (VII):



(VII)

với chất phản ứng tạo vòng. Các chất phản ứng tạo vòng thích hợp bao gồm trifloroaxetic anhydrit.

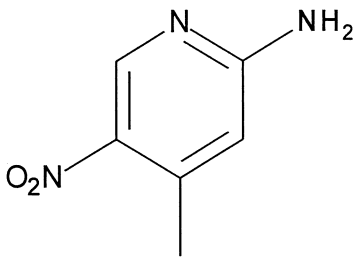
Hợp chất có công thức (VII) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (VIII):



(VIII)

với hydroxylamin hydroclorua.

Hợp chất có công thức (VIII) có thể được điều chế bằng phản ứng của hợp chất có công thức (IX):



(IX)

với 1,1-dimetoxy-N,N-dimetylmetanamin.

Rõ ràng là nhóm thế cụ thể trong số các nhóm thế vòng khác nhau trong hợp chất theo sáng chế có thể được đưa vào bằng phản ứng thế thơm tiêu chuẩn hoặc được tạo ra bằng cách cải biến nhóm chức thường trước hoặc ngay sau các quy trình được đề cập trên đây, và như vậy được bao gồm trong khía cạnh về quy trình của sáng chế. Ví dụ các hợp chất có công thức (I) có thể được chuyển hóa thành các hợp chất khác có công thức (I) bằng các phản ứng thế thơm tiêu chuẩn hoặc bằng các cải biến nhóm chức thông thường. Các phản ứng và các cải biến này bao gồm, ví dụ, việc đưa nhóm thế vào bằng phản ứng thế thơm, khử nhóm thế, alkyl hóa nhóm thế và oxy hóa nhóm thế. Các chất phản ứng và các điều kiện phản ứng cho các quy trình này là đã biết trong lĩnh vực hóa học. Các ví dụ cụ thể về các phản ứng thế thơm bao gồm việc đưa vào nhóm nitro bằng các sử dụng axit nitric đặc, đưa vào nhóm axyl bằng cách sử dụng, ví dụ, axyl halogenua và axit Lewis (như nhôm triclorua) trong các điều kiện Friedel Crafts; đưa vào nhóm alkyl bằng cách sử dụng alkyl halogenua và axit Lewis (như nhôm triclorua) trong các điều kiện Friedel Crafts; và đưa vào nhóm halogen. Các ví dụ cụ thể về các cải biến bao gồm khử nhóm nitro thành nhóm amino bằng ví dụ, sự hydro hóa có xúc tác với chất xúc tác niken hoặc xử lý bằng sắt trong sự có mặt của axit hydrocloric có gia nhiệt; oxy hóa alkylthio thành alkylsulfinyl hoặc alkylsulfonyl.

Cũng rõ ràng rằng trong một số phản ứng nêu trong bản mô tả có thể cần/muốn bảo vệ nhóm nhạy cảm bất kỳ trong các hợp chất. Các trường hợp mà sự bảo vệ là cần thiết hoặc mong muốn và phương pháp bảo vệ thích hợp là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng theo quy trình thực hành tiêu chuẩn (xem minh họa trong tài liệu T.W. Green, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 1991). Do đó, nếu các chất phản ứng bao gồm các nhóm như amino, cacboxy hoặc hydroxy thì có thể mong muốn bảo vệ nhóm này trong một số phản ứng nêu trong bản mô tả.

Các hợp chất có công thức (I), (II) và (III), và hợp chất trung gian bất kỳ được sử dụng để tạo ra các hợp chất này, có thể được điều chế bằng các phương pháp tương tự như được thể hiện trong phần ví dụ thực hiện sáng chế.

Các thử nghiệm sinh học

Các thử nghiệm sau đây được sử dụng để xác định các hiệu quả của các hợp chất được mô tả trong bản mô tả: a) thử nghiệm tiềm năng enzym ADNPK; b) thử nghiệm tiềm năng tế bào ADNPK. Trong phần mô tả về các thử nghiệm, thông thường:

i.Các từ viết tắt sau đây đã được sử dụng; DMSO =Dimetyl Sulphoxit; DTT= Dithiothreitol; EDTA = Axit Etylendiamintetraaxetic, TR-FRET = Chuyển năng lượng cộng hưởng huỳnh quang được quyết định bởi thời gian, ATP = Adenosin triphosphat, DTT = Dithiothreitol, ADN = Axit Deoxyribonucleic, HEPES = axit (2-hydroxyetyl)-1-piperazinetansulfonic

ii.Giá trị IC_{50} là nồng độ của hợp chất thử nghiệm mà ức chế 50% hoạt tính sinh học.

Thử nghiệm a): Thử nghiệm tiềm năng enzym ADNPK (ADN-PK enz)

Hoạt tính ức chế của các hợp chất chống lại ADNPK được xác định bằng TR-FRET đo chất nền peptit được đánh dấu huỳnh quang chuyển hóa thành sản phẩm được phosphoryl hóa. Chất nền peptit được gắn thẻ huỳnh quang được đặt mua từ Thermo Fisher Scientific. Các đường cong đáp ứng nồng độ bán loga 12 điểm, với nồng độ cao nhất 100µM được tạo ra từ 10 mM dung dịch gốc của hợp chất được hòa tan trong DMSO sử dụng Echo 555 (Labcyte Inc., Sunnyvale, CA). Tất cả các thử nghiệm này được thực hiện trong các đĩa thể tích rất nhỏ Greiner 1536 màu trắng (Greiner Bio-One, UK), trong tổng thể tích phản ứng là 3µL và nồng độ DMSO cuối là 1% (thể tích/thể tích). Các enzym và chất được bổ sung riêng rẽ vào các đĩa hợp chất và ủ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, phản ứng kinaza được ngừng lại bằng cách bổ sung 3µL đệm dừng. Các đĩa thử nghiệm đã dừng được đọc bằng cách sử dụng thiết bị BMG Pherastar. Các giá trị IC_{50} được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Switzerland).

Protein ADNPK người chiều dài đầy đủ được tinh chế từ dịch chiết tế bào HeLa bằng cách trao đổi ion. Ban đầu protein ADNPK được ủ với hợp chất trong 30 phút ở nhiệt độ phòng trong đệm phản ứng (50 mM Hepes pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 2µg/ml Calf Thymus ADN). Sau đó, phản ứng này được bắt đầu bằng cách bổ sung ATP và chất nền peptit gắn thẻ huỳnh quang (Fluorescein-EPPLSQEAFADLWKK, Thermo Fisher Scientific). Phản ứng kinaza (18µM ATP, 35 pM ADNPK, 1,6µM chất nền peptit) được ngừng lại sau 40 phút bằng

cách bổ sung 3µL đệm dừng (20 mM Tris pH7,5, 0,02% natri azit, 0,01% Nonidet-P40, 20µm EDTA, 4 nM Tb kháng thể kháng phospho-p53 [Ser15]. Phản ứng này được ủ trong thêm một giờ và các đĩa được đọc trên thiết bị BMG.

Dữ liệu được phân tích và các giá trị IC50 được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Switzerland). Các giá trị pIC_{50} được tính là logarit âm của nồng độ mol của hợp chất cần thiết để giảm 50% sự đáp ứng đo được.

b) Thử nghiệm tiềm năng tế bào ADNPK (tế bào ADN-PK)

Các hợp chất hoặc DMSO (dimetyl sulphoxit) được phân phối từ các đĩa nguồn chứa các hợp chất ở 10 mM trong 100% (thể tích/thể tích) DMSO hoặc 100% DMSO, trực tiếp vào các đĩa phân tích tế bào sử dụng máy phân phối Echo 555 Acoustic (Labcyte Inc™). Các dung dịch gốc 10 mM hợp chất được pha loãng 1:100 bằng cách sử dụng bộ xử lý chất lỏng Agilent VPrep 96 đầu mũi cố định (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) để thu được bốn dung dịch pha loãng trung gian (10mM, 100µM, 1µM, 10nM). Đĩa dung dịch pha loãng hợp chất trung gian 1:100 này sau đó được sử dụng bởi Echo để phân phối các hợp chất và DMSO trực tiếp vào các đĩa tế bào với dải liều 12 điểm (30, 10, 3,125, 1,25, 0,3, 0,1, 0,03125, 0,0125, 0,003, 0,001, 0,0003125, 0,00003µM) để tính các giá trị IC_{50} hợp chất, với tổng nồng độ DMSO trong phép phân tích là 0,3% (thể tích/thể tích).

Thử nghiệm ELISA tế bào ADNPK được thực hiện ở dòng tế bào A549. Các tế bào A549 được nuôi cấy trong các môi trường tế bào bao gồm MEM-F12 (Môi trường cơ bản tối thiểu F12 Sigma #D6421), 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bê bào thai và 1% (thể tích/thể tích) L-Glutamin 200 mM. Sau khi thu hoạch, các tế bào được phân phối vào trong các đĩa Costar 384 giếng màu đen (#3712, Corning) để thu được 15.000 tế bào mỗi giếng trên tổng thể tích là 40 ul môi trường tế bào, và ủ qua đêm ở nhiệt độ 37°C, độ ẩm tương đối 90% và 5% CO_2 trong tủ ủ quay. Các đĩa ELISA 384 giếng liên kết cao toàn bộ màu đen Greiner 781077 được phủ bằng kháng thể 0,5 ug/ml ADNPK (Abcam #ab1832) trong PBS/A qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Ngày hôm sau, các đĩa ELISA Greiner được rửa 3 lần bằng PBS-T và phong bế bằng 3% BSA/PBS trong khoảng 2 giờ, sau đó được rửa thêm 3 lần bằng PBS-T.

Các hợp chất thử nghiệm và các đối chứng tham chiếu được định liều trực tiếp vào các đĩa tế bào bằng cách sử dụng thiết bị phân phối âm thanh Labcyte Echo 555. Sau đó,

các đĩa tế bào này được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C trước khi nhận liều bức xạ 8 Gy (XRAD 320, độ cao bảng 65). Các tế bào được ủ trong thêm 1 giờ sau khi loại bỏ môi trường tế bào. Đệm dung giải (điều chế trong nhà có bổ sung các viên cocktail chất ức chế proteaza, Roche # 04 693 116 001 và viên chất ức chế phosphataza, Roche #04906837001) được phân phối ở 25µL/giếng và các đĩa được ủ ở nhiệt độ 4°C trong 30 phút. Các chất dung giải (20µL/giếng) được chuyển vào các đĩa ELISA được phủ kháng thể ADNPK sử dụng nền xử lý chất lỏng CyBio Felix, và các đĩa ELISA được ủ ở nhiệt độ 4°C qua đêm.

Ngày hôm sau, các đĩa ELISA được rửa 3 lần bằng PBS-T và phân phối với kháng thể pS2056-ADNPK trong nhà (0,5µg/ml trong 3% BSA/PBS) ở 20µL/giếng. Các đĩa được ủ với kháng thể trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng (RT) trước khi rửa 3 lần bằng PBS-T. Kháng thể thứ cấp HRP của dê kháng thỏ (dung dịch pha loãng 1:2000 trong 3% BSA/PBS; Truyền tín hiệu tế bào #7074) được phân phối ở 20µL/giếng và các giếng được ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ trước khi rửa 3 lần bằng PBS-T.

Dung dịch chất nền làm việc QuantaBlu (Thermo Scientific #15169, được điều chế theo chỉ dẫn của nhà sản xuất) được phân phối ở 20µL/giếng và các đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ trước khi phân phối thêm 20µL/giếng với dung dịch ngừng QuantaBlu được tạo ra trong kit (Thermo Scientific #15169). Cường độ huỳnh quang của các giếng đơn lẻ được xác định bằng cách sử dụng máy đọc đĩa PerkinElmer EnVision.

Dữ liệu được phân tích và các giá trị IC_{50} được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener® (Genedata, Inc., Basel, Switzerland). Các giá trị pIC_{50} được tính là logarit âm của nồng độ mol của hợp chất cần thiết để giảm 50% sự đáp ứng đo được.

c) Thử nghiệm enzym TTK

Hoạt tính ức chế của các hợp chất chống lại TTK được xác định trong thử nghiệm liên kết kinaza LanthaScreen® Eu được thực hiện bởi ThermoFisher Scientific là một phần của dịch vụ định hình kinaza hóa sinh SelectScreen® của họ. Định dạng thử nghiệm liên kết kinaza LanthaScreen® Eu này sử dụng liên kết của liên hợp Alexa Fluor® hoặc "chất đánh dấu" với kinaza, mà được phát hiện bằng cách bổ sung kháng thể kháng thẻ được đánh dầu Eu. Liên kết của chất đánh dấu và kháng thể với kinaza tạo ra độ FRET cao, trong khi đó sự đổi chỗ của chất đánh dấu với chất ức chế kinaza dẫn đến làm mất

FRET. Độ FRET được đo trong thử nghiệm được sử dụng để xác định liên kết của hợp chất.

Các đường cong đáp ứng nồng độ hợp chất gấp ba lần 10 điểm, với nồng độ cao nhất là 10μM được tạo ra từ dung dịch gốc 10 mM của hợp chất được hòa tan trong DMSO. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trong các đĩa 384 giếng Greiner thể tích nhỏ, màu trắng (cat. #784207, Greiner), ở tổng thể tích phản ứng là 16μL và nồng độ DMSO cuối 1% (thể tích/thể tích). 3,84μL dung dịch đệm kinaza (50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA), 8μL 2x hỗn hợp Kinaza/Kháng thể (các nồng độ cuối là 5 nM TTK, 2 nM kháng thể kháng GST đánh dầu EU (Eu-anti-GST), được điều chế trong dung dịch đệm kinaza) và 4μL 4x dung dịch chất đánh dấu được đánh dầu AlexaFluor® (nồng độ cuối là 30 nM Chất đánh dấu 236, được điều chế trong dung dịch đệm kinaza) được bổ sung riêng rẽ vào các đĩa hợp chất, được đặt trong máy lắc trong 30 giây, và sau đó được ủ trong 60 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó,các đĩa được đọc bằng cách sử dụng máy đọc đĩa huỳnh quang. Các giá trị IC_{50} được tính bằng cách sử dụng phần mềm XLfit (IDBS Ltd, Surrey, UK), với đường cong khít với mẫu số 205 (mẫu đáp ứng liều sigma).

d) Các thử nghiệm Aurora-A, Aurora-B, JAK1, JAK2, JAK3

Hoạt tính ức chế của các hợp chất chống lại AURKA, AURKB, JAK1, JAK2 và JAK3 được xác định trong các thử nghiệm Z'-LYTE® được thực hiện bởi ThermoFisher Scientific là một phần của dịch vụ định hình kinaza hóa sinh SelectScreen® của họ. Định dạng thử nghiệm hóa sinh Z´-LYTE® này sử dụng định dạng enzym được kết cặp, nền huỳnh quang và dựa vào độ nhạy khác nhau của các peptit được phosphoryl hóa và không được phosphoryl hóa với sự phân tách protein. Chất nền peptit được đánh dầu bằng hai phân tử huỳnh quang (fluorophore)—mỗi phân tử ở một đầu—mà tạo ra cặp FRET. Trong phản ứng sơ cấp, kinaza chuyển gamma-phosphat của ATP thành gốc tyrosin, serin hoặc threonin đơn trong peptit FRET tổng hợp. Trong phản ứng thứ cấp, proteaza đặc hiệu vị trí nhận biết và tách các peptit FRET không được phosphoryl hóa. Quá trình phosphoryl hóa của peptit FRET ngăn chặn sự phân tách bởi Thuốc thử phát triển. Sự phân tách làm gián đoạn FRET giữa các phân tử huỳnh quang cho (tức là, coumarin) và nhận (tức là, floresxein) trên peptit FRET, trong khi các peptit FRET được phosphoryl hóa, chưa phân tách duy trì FRET. Phương pháp đo tỉ lệ, mà tính tỉ lệ (Tỉ lệ phát xạ) của

phát xạ cho đến phát xạ nhận sau khi kích thích phân tử huỳnh quang cho ở 400 nm, được sử dụng để định lượng tiến trình phản ứng. Cả peptit FRET đã phân tách và chưa phân tác đều đóng góp vào các tín hiệu huỳnh quang và do đó đóng góp vào Tỉ lệ phát xạ. Phạm vi của quá trình phosphoryl hóa của peptit FRET có thể được tính từ Tỉ lệ phát xạ. Tỉ lệ phát xạ sẽ giữ ở mức thấp nếu peptit FRET được phosphoryl hóa (tức là, không ức chế kinaza) và sẽ ở mức cao nếu peptit FRET không được phosphoryl hóa (tức là, ức chế kinaza).

Các đường cong đáp ứng nồng độ hợp chất gấp ba lần 10 điểm, với nồng độ cao nhất là 10µM được tạo ra từ dung dịch gốc 10 mM của hợp chất được hòa tan trong DMSO. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trong các đĩa 384 giếng Corning thể tích nhỏ, không liên kết, màu đen (cat. #4514, Corning), trong tổng thể tích phản ứng là 10µL và nồng độ DMSO cuối 1% (thể tích/thể tích). 2,4µL dung dịch đệm kinaza (50mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10mM $MgCl_2$, 1 M EGTA), 5µL 2x hỗn hợp peptit/kinaza (được mô tả chi tiết dưới đây cho từng kinaza) và 2,5µL 4x dung dịch ATP (được điều chế trong dung dịch đệm kinaza) được bổ sung riêng rẽ vào các đĩa hợp chất, được đặt trên máy lắc đĩa trong 30 giây, và sau đó được ủ trong 60 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, phản ứng kinaza này được làm ngừng bằng cách bổ sung 5µL thuốc thử phát triển (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific). Các đĩa phân tích được đặt trên máy lắc đĩa trong 30 giây, được ủ trong 60 phút ở nhiệt độ phòng, và sau đó được đọc bằng cách sử dụng máy đọc đĩa huỳnh quang. Các giá trị IC_{50} được tính bằng cách sử dụng phần mềm XLfit (IDBS Ltd, Surrey, UK), với đường cong khít với mẫu số 205 (mẫu đáp ứng liều sigma).

Aurora A (AurA): Hỗn hợp 2X AURKA (Aurora A) / Ser/Thr 01 (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific) được điều chế trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Phản ứng kinaza 10µL cuối bao gồm 15 nM AURKA (Aurora A), 2µM Ser/Thr 01 và 10µM ATP (Km app) trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Sau khi ủ phản ứng kinaza 1 giờ , 5µL dung dịch pha loãng 1:4096 của thuốc thử phát triển được bổ sung.

Aurora B (AurB): Hỗn hợp 2X AURKB (Aurora B) / Ser/Thr 01 (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific) được điều chế trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Phản ứng kinaza 10µL cuối bao gồm 23 nM AURKB

(Aurora B), 2µM Ser/Thr 01 và 75µM ATP (Km app được đo là 81µM ATP) trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Sau khi ủ phản ứng kinaza 1 giờ , 5µL dung dịch pha loãng 1:4096 của thuốc thử phát triển được bổ sung.

JAK1: Hỗn hợp 2X JAK1 / Tyr 06 (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific) được điều chế trong 50 mM HEPES pH 6,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA, 0,02% NaN3. Phản ứng kinaza 10µL cuối bao gồm 74 nM JAK1, 2µM Tyr 06 và 75µM ATP (Km app được đo là 87µM ATP) trong 50 mM HEPES pH 7,0, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA, 0,01% NaN3. Sau khi ủ phản ứng kinaza 1 giờ , 5µL dung dịch pha loãng 1:128 của thuốc thử phát triển được bổ sung.

JAK2: Hỗn hợp 2X JAK2 / Tyr 06 (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific) được điều chế trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Phản ứng kinaza 10µL cuối bao gồm 0,27 nM JAK2, 2µM Tyr 06 và 25µM ATP (Km app được đo là 31µM ATP) trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Sau khi ủ phản ứng kinaza 1 giờ , 5µL dung dịch pha loãng 1:128 của thuốc thử phát triển được bổ sung.

JAK3: Hỗn hợp 2X JAK3 / Tyr 06 (thuộc sở hữu của ThermoFisher Scientific) được điều chế trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Phản ứng kinaza 10µL cuối bao gồm 2,4 nM JAK3, 2µM Tyr 06 và 10µM ATP (Km app được đo là 14µM ATP) trong 50 mM HEPES pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 mM $MgCl_2$, 1 mM EGTA. Sau khi ủ phản ứng kinaza 1 giờ , 5µL dung dịch pha loãng 1:128 của thuốc thử phát triển được bổ sung.

e) Sự kết hợp mẫu chuột ghép ngoại lai - Olaparib

Chuột scid cái được cấy dưới da bằng 5 triệu tế bào của dòng tế bào bệnh ung thư vòm họng vô hiệu ATM FaDu ATM KO để xác định hoạt tính *in-vivo* kháng khối u của chất ức chế ADN-PK và sự kết hợp của nó với olaparib.

Các chuột đầu tiên được ngẫu nhiên hóa thành các nhóm 15 con khi khối u đạt đến thể tích 290 mm^3 và quá trình điều trị được bắt đầu. Mẫu khối u này có tốc độ mất khối u là 50%, trong khi có tới 8 con vật mỗi nhóm được dự kiến là bị mất khỏi phân tích nguyên cứu do loét tự phát của khối u của chúng. Các chuột được sử dụng liều hai lần một ngày với hợp chất có công thức (I) qua đường miệng, với cả hai liều qua miệng cách nhau 8 giờ. Olaparib được cho sử dụng liều hàng ngày 1 giờ sau khi liều hàng ngày thứ

nhất của hợp chất có công thức (I). Các khối u được đo ba lần một tuần bằng thước kẹp và thể tích khối u được tính bằng cách sử dụng công thức [chiều dài x chiều rộng^2]/2 được sử dụng, trong đó chiều dài và chiều rộng lần lượt là đường kính dài nhất và ngắn nhất của khối u. Olaparib được bào chế trong 10% (khối lượng/thể tích) DMSO/ 10% (khối lượng/thể tích) HP-b-CD (*Kleptose*), 80% nước cho dung dịch tiêm. Các hợp chất có công thức (I) được bào chế trong 0,5% (khối lượng/thể tích) hydroxypropyl metylxenluloza (HPMC), 0,1% (thể tích/thể tích) Tween 80.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 3 trong thử nghiệm e) được thể hiện trên Fig.5. "qd" có nghĩa là liều sử dụng một lần mỗi ngày. "bid" có nghĩa là liều sử dụng hai lần mỗi ngày.

f) Các thử nghiệm sinh trưởng tế bào - hoạt tính *in vitro* của sự kết hợp với chất ức chế ATR hoặc ATM

Các thử nghiệm sinh trưởng tế bào được sử dụng để xác định hoạt tính *in vitro* của hợp chất có công thức (I) và sự kết hợp của nó với chất ức chế ATR (AZD6738) và ATM (AZD0156).

Dòng tế bào bệnh ung thư vòm họng FaDu được nuôi cấy thông thường trong môi trường RPMI không chứa phenol đỏ (Sigma) được bổ sung bằng 10% huyết thanh thai bê và 1% GlutaMAX (Thermo Fisher). Các thể nuôi cấy được giữ ở nhiệt độ 37°C trong không khí ẩm với 5% CO_2. Các tế bào được phân tách bằng cách sử dụng dung dịch TryLE Express (Thermo Fisher) và cấy ở 500 tế bào mỗi giếng trong 70µl môi trường nuôi cấy trong hai đĩa 384 giếng đáy phẳng (Greiner, Catalogue Number 781090). Trong đĩa thử nghiệm, các tế bào được xử lý vào ngày hôm sau (Day 0) bằng Ví dụ 3 (3µM), AZD6738 (1µM), AZD0156 (0,3µM), hỗn hợp của các hợp chất ức chế hoặc tá dược lỏng ở thể tích thích hợp làm thử nghiệm đối chứng, sử dụng bộ xử lý chất lỏng Echo 555 (Labcyte). Tất cả các chất ức chế được tái lập trong tá dược lỏng 100 % DMSO.

Số lượng tế bào được xác định bằng cách sử dụng thuốc nhuộm axit nucleic xanh SYTOX (Thermo Fisher, Số Catalog S7020). Các tế bào được ủ bằng 5µl dung dịch xanh SYTOX (1:2500 trong nước muối đệm Tris và 5 mM EDTA) trong 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng trong tối và số lượng tế bào chết được định lượng bằng cách sử dụng máy chụp hình dung lượng cao Acumen (TTP LabTech). Tổng số tế bào được định tính 16 giờ sau

khi ủ ở nhiệt độ phòng trong tối với 10µl dung dịch Saponin (0,25 % trong mước muối đệm Tris và 5 mM EDTA) trên Acumen.

Dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng phần mềm máy quét GeneData (Assay Analyzer). Tóm lại, số lượng tế bào sống được tính bằng cách lấy tổng số lượng tế bào trừ đi số lượng tế bào chết. Số lượng tế bào sống được chuẩn hóa so với số lượng tế bào Ngày 0. Sự sinh trưởng tế bào trong sự đáp ứng với xử lý bằng chất ức chế (hoạt tính %) được xác định bằng cách làm khít dữ liệu đến thang từ 0 đến 200 % so với các thử nghiệm đối chứng, trong đó 0 % thể hiện không có sự thay đổi nào so với đối chứng, 100 % thể hiện sự ức chế toàn bộ sinh trưởng tế bào và 200 % thể hiện chết toàn bộ tế bào. Dữ liệu được lập đồ thị là hoạt tính % trung bình ±SD của ba thử nghiệm độc lập.

Các kết quả của ví dụ thử nghiệm 3 trong thử nghiệm f) được thể hiện trong các Fig.6 và 7.

Các ví dụ này được thử nghiệm trong các thử nghiệm a) b) c) và d) và các dữ liệu sau đây được quan sát. Các giá trị pIC50 được báo cáo dưới đây là kết quả trung bình tính được của ít nhất 2 thử nghiệm.

Ví dụ	ADN-PK enz pIC50	ADN-PK tế bào pIC50	TTK enz pIC50	JAK1 enz pIC50	JAK2 enz pIC50	JAK3 enz pIC50	AurA enz pIC50	AurB enz pIC50
1	>10	7,3	5,5	<5	<5	<5	<5	<5
2	9,8	7,3	6,1	<5	<5	<5	<5	<5
3	9,2	7,1	5,3	<5	<5	<5	<5	<5
4	8,9	6,8	5,1	<5	<5	<5	<5	<5
5	9	6,9	5,3	<5	<5	<5	<5	<5
6	9,6	7,4	5,9	<5	<5	<5	<5	<5
7	9,8	7,3	5,2	<5	<5	<5	<5	<5
8	9,4	7,2	5,2	<5	<5	<5	<5	<5
9	9,5	6,9	5,4	<5	<5	<5	<5	<5
10	9,4	7,2	6,3	<5	<5	<5	<5	<5
11	9,3	6,8	<5,1	<5	<5	<5	<5	<5
12	9,7	7,4	5,8	<5	<5	<5	<5	<5
13	9,8	7,6	6,3	<5	<5	<5	5,4	<5

Từ dữ liệu đo được, có thể nhìn thấy rằng phần ví dụ là các chất ức chế ADN-PK mà chọn lọc chống lại các đích cụ thể này - TTK, JAK1, JAK2, JAK3, Aurora A, Aurora B. So sánh các giá trị pIC50 enzym chỉ ra rằng phần Ví dụ có đơn vị >3 log của sự chọn lọc từ ADN-PK với các đích khác được thể hiện. Điều này tương đương với tính chọn lọc gấp >1000 lần giữa các giá trị IC50.

Các hợp chất có thể còn được chọn trên cơ sở các đặc tính sinh học và vật lý khác có thể được đo bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này và có thể được sử dụng trong việc đánh giá hoặc chọn lọc các hợp chất để sử dụng trong điều trị hoặc phòng ngừa.

Theo kết quả của hoạt tính ức chế ADN-PK của chúng, các hợp chất có công thức (I), và các muối dược dụng của chúng được mong đợi là hữu dụng trong điều trị.

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng các hợp chất có công thức (I) có hoạt tính kháng khối u tiềm năng mà được tin là thu được bằng cách ức chế ADN-PK.

Do đó, các hợp chất theo sáng chế là có giá trị làm các tác nhân kháng khối u. Đặc biệt là, các hợp chất theo sáng chế là có giá trị làm các tác nhân kháng tăng sinh, chết theo chương trình và/hoặc chống xâm lấn trong việc ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh khối u rắn và/hoặc lỏng. Đặc biệt là, các hợp chất theo sáng chế được mong đợi là hữu dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị các khối u nhạy với sự ức chế ADN-PK. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế được mong đợi là hữu dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị các khối u mà được trung gian một mình hoặc một phần bởi ADN-PK. Do đó, các hợp chất này có thể được sử dụng để tạo ra hiệu quả enzym ADN-PK ở động vật máu nóng cần được điều trị.

Như được nêu trong bản mô tả, các chất ức chế ADN-PK nên có giá trị điều trị để điều trị bệnh tăng sinh như bệnh ung thư và cụ thể là các khối u rắn như bệnh ung thư biểu mô và bệnh ung thư tổ chức liên kết và bệnh bạch cầu cấp và lympho ác tính và cụ thể là để điều trị, ví dụ, bệnh ung thư vú, trực tràng, phổi (bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ và bệnh ung thư phế quản) và tuyến tiền liệt, và bệnh ung thư tuyến mật, xương, bàng quang, đầu và cổ, thận, gan, mô đường tiêu hóa, thực quản, buồng trứng, tụy, da, tinh hoàn, tuyến giáp, tử cung, cổ tử cung và âm hộ, và bệnh bạch cầu cấp [bao gồm bệnh bạch cầu cấp dòng lympho mãn tính (CLL), bệnh bạch cầu cấp dòng lympho cấp tính (ALL) và bệnh bạch cầu dòng tủy mãn tính (CML)], u đa tủy và u lympho.

Do đó, hiệu quả kháng khối u mà hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư ở đối tượng bị bệnh bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các hiệu quả kháng khối u, tỉ lệ đáp ứng, thời gian tiến triển bệnh và tỉ lệ sống sót. Hiệu quả kháng khối u của phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm nhưng không bị giới hạn ở, sự ức chế sự sinh trưởng khối u, làm chậm sự sinh trưởng khối u, thoái lui khối u, co lại khối u, tăng thời gian tái phát

khối u khi ngừng điều trị, làm chậm tiến triển bệnh. Hiệu quả kháng khối u bao gồm phương pháp điều trị phòng ngừa cũng như điều trị bệnh đang tồn tại.

Chất ức chế ADN-PK, hoặc muối dược dụng của chúng, có thể cũng hữu dụng để điều trị cho đối tượng bị bệnh bị bệnh ung thư, bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các bệnh về huyết học ác tính như bệnh bạch cầu cấp tính, đa u tủy, các khối u lympho như bệnh Hodgkin, các khối u lympho không phải Hodgkin (bao gồm u lympho tế bào vỏ), và hội chứng rối loạn sinh tủy, và cả các khối u rắn và các di căn của chúng như bệnh ung thư vú, bệnh ung thư phổi (bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ (NSCLC), bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy), bệnh ung thư nội mạc tử cung, các khối u của hệ thần kinh trung ương như u thần kinh đệm, khối u mô thần kinh loạn sản phôi, đa dạng bệnh u nguyên bào đệm, u thần kinh đệm hỗn hợp, u nguyên bào tủy, u nguyên bào võng mạc, u nguyên bào thần kinh, u tế bào mầm và u quái, các bệnh ung thư đường tiêu hóa như bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư đường mật, bệnh ung thư biểu mô trực tràng, bệnh ung thư ruột non, bệnh ung thư tuyến tụy, bệnh ung thư da như u melanin (cụ thể là u melanin ác tính), bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư đầu và cổ và bệnh ung thư tuyến nước bọt, tuyến tiền liệt, tinh hoàn, buồng trứng, cổ tử cung, tử cung, âm hộ, bàng quang, thận (bao gồm bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư tế bào thận và tế bào trong), bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy, bệnh ung thư tổ chức liên kết như bệnh ung thư tổ chức liên kết xương, bệnh ung thư tổ chức liên kết sụn, bệnh ung thư tổ chức liên kết cơ trơn, bệnh ung thư tổ chức liên kết mô mềm, bệnh ung thư tổ chức liên kết Ewing, khối u cơ chất đường tiêu hóa (GIST), bệnh ung thư tổ chức liên kết Kaposi, và bệnh ung thư nhi khoa như bệnh ung thư tổ chức liên kết cơ vân và u nguyên bào thần kinh. Khi "bệnh ung thư" được đề cập, điều này bao gồm cả không phải bệnh ung thư di căn và cả bệnh ung thư di căn, để điều trị bệnh ung thư bao gồm cả các khối u sơ cấp và cả các di căn khối u.

"Hoạt tính ức chế ADN-PK" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ bệnh về hoạt tính ADN-PK là sự đáp ứng trực tiếp hoặc gián tiếp với sự có mặt của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, so với hoạt tính kinaza ADN-PK khi không có mặt hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó. Việc làm giảm hoạt tính này có thể là do tương tác trực tiếp của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó với ADN-PK, hoặc do sự tương tác của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó với một hoặc nhiều yếu tố khác lần lượt ảnh hưởng đến hoạt tính ADN-PK. Ví dụ,

hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó có thể làm giảm ADN-PK bằng cách liên kết trực tiếp với ADN-PK, bởi việc gây cho (trực tiếp hoặc gián tiếp) yếu tố khác làm giảm hoạt tính ADN-PK, hoặc bằng cách làm giảm (trực tiếp hoặc gián tiếp) lượng ADN-PK có mặt trong tế bào hoặc cơ quan.

Thuật ngữ "điều trị" được dự định có nghĩa thông thường là đối phó với bệnh để làm giảm toàn bộ hoặc một phần một, một số hoặc tất cả các triệu chứng của nó, hoặc để điều chỉnh hoặc bù đắp cho bệnh lý cơ bản. Thuật ngữ "điều trị" còn bao gồm "phòng bệnh" trừ khi có quy định cụ thể khác. Thuật ngữ "thuộc điều trị" và " theo điều trị" nên được hiểu theo cách tương ứng.

Thuật ngữ "phòng bệnh" được dự định có nghĩa thông thường và bao gồm phòng bệnh sơ cấp để ngăn chặn sự phát triển của bệnh và phòng bệnh thứ cấp trong đó bệnh đã phát triển và đối tượng bị bệnh được bảo vệ tạm thời hoặc vĩnh viện chống lại sự trầm trọng hoặc làm xấu đi của bệnh hoặc sự phát triển các triệu chứng mới liên quan đến bệnh.

Thuật ngữ "điều trị" được sử dụng đồng nghĩa với "điều trị". Tương tự, thuật ngữ "điều trị" có thể coi là "áp dụng điều trị" khi "điều trị" được xác định trong bản mô tả.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh được trung gian bởi ADN-PK. Theo một phương án, bệnh được trung gian bởi ADN-PK là bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa,

bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu là bệnh ung thư trực tràng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc để điều trị bệnh được trung gian bởi ADN-PK. Theo một phương án, bệnh được trung gian bởi ADN-PK là bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu là bệnh ung thư trực tràng.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh trong đó sự ức chế ADN-PK là có lợi ở động vật máu nóng cần được điều trị, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó. Theo một phương án, bệnh đã nêu là bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm,

bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu là bệnh ung thư trực tràng.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu điều trị" được sử dụng trong bản mô tả để chỉ lượng hợp chất có công thức (I) được mô tả trong phương án bất kỳ trong số các phương án trong bản mô tả có hiệu quả để tạo ra "sự điều trị" ở đối tượng, hoặc để "điều trị" bệnh hoặc rối loạn ở đối tượng. Trong trường hợp bệnh ung thư, lượng hữu hiệu điều trị này có thể gây ra sự thay đổi bất kỳ có thể quan sát thấy hoặc đo được ở đối tượng như được mô tả trong phần định nghĩa về "điều trị" và "phòng bệnh" trên đây. Ví dụ, lượng hữu hiệu này có thể làm giảm số lượng tế bào bệnh ung thư hoặc tế bào khối u; làm giảm kích thước khối u tổng thể; ức chế hoặc làm dừng sự xâm nhập tế bào khối u vào các cơ quan ngoại vi bao gồm, ví dụ, mô mềm và xương; ức chế và ngừng sự di căn khối u; ức chế và ngừng sự sinh trưởng khối u; làm giảm đến một mức độ nào đó một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến bệnh ung thư; làm giảm tỉ lệ mắc bệnh và tỉ lệ tử vong; cải thiện chất lượng cuộc sống; hoặc tổ hợp các hiệu quả này. Lượng hữu hiệu có thể là lượng để làm giảm các triệu chứng của bệnh đáp ứng với sự ức chế hoạt tính ADN-PK. Để điều trị bệnh ung thư, hiệu quả *in-vivo* có thể, ví dụ, được đo bằng cách đánh giá khoảng thời gian sống sót, thời gian tiến triển bệnh (TTP), tỉ lệ đáp ứng (RR), khoảng thời gian đáp ứng, và/hoặc chất lượng cuộc sống. Được nhận biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này là, lượng hữu hiệu có thể thay đổi phụ thuộc vào con đường sử dụng, cách sử dụng tá dược, và đồng sử dụng với các tác nhân khác. Ví dụ, khi điều trị kết hợp được sử dụng, lượng hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng được mô tả trong bản mô tả và lượng (các) tác nhân dược dụng khác là, khi được kết hợp, có hiệu quả kết hợp để điều trị rối loạn nhắm đích ở đối tượng bị bệnh là động vật. Trong ngữ cảnh này, lượng kết hợp là ở "lượng hữu hiệu điều trị" nếu chúng, khi được kết hợp, đủ để làm giảm các triệu chứng của bệnh đáp ứng sự ức chế hoạt tính ADN-PK như được mô tả ở trên. Thông thường, lượng này có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ, bắt đầu với khoảng liều sử dụng được mô tả trong bản mô tả cho hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó và (các) khoảng liều sử dụng được công bố đã được phê chuẩn hoặc quy định khác của (các) hoạt chất dược dụng khác.

"Động vật máu nóng" bao gồm, ví dụ, người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu là bệnh ung thư trực tràng.

Theo phương án bất kỳ trong đó bệnh ung thư được đề cập theo nghĩa thông thường, bệnh ung thư này có thể được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ and bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Bệnh ung thư này có thể cũng được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi.

Theo phương án bất kỳ trong đó bệnh ung thư được đề cập theo nghĩa chung mà các phương án sau đây có thể áp dụng:

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư trực tràng.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư dạ dạy.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư thực quản.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư buồng trứng.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư nội mạc tử cung.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư cổ tử cung.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là u lympho tế bào B lớn lan tỏa.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ.

Theo một phương án bệnh ung thư này là bệnh ung thư vú.

Theo một phương án bệnh ung thư này là bệnh ung thư vú âm tính thể ba.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư tuyến tiền liệt.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư bàng quang.

"Bệnh ung thư vú âm tính thể ba" là bệnh ung thư vú bất kỳ không biểu hiện các gen cho thụ thể oestrogen, thụ thể progesteron và Her2/neu.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư biểu mô tế bào gan.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư phổi.

Theo một phương án, bệnh ung thư phổi này là bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ.

Theo một phương án, bệnh ung thư phổi này là bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn.

Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương.

Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não.

Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

"Các di căn màng não mềm" xuất hiện khi bệnh ung thư lan tỏa đến màng não, các lớp mô mà bao phủ não và tủy sống. Các di căn có thể lan tỏa đến màng não qua máu hoặc chúng có thể di chuyển từ các di căn não, được dịch não tủy (CSF) mà chảy qua màng não mang theo.

Theo một phương án, bệnh ung thư này là không phải bệnh ung thư di căn.

Điều trị chống bệnh ung thư được mô tả trong bản mô tả có thể hữu dụng là điều trị nền, hoặc có thể bao gồm, ngoài việc sử dụng hợp chất có công thức (I), phẫu thuật thông thường, xạ trị hoặc hóa trị; hoặc kết hợp các điều trị bổ sung này. Phẫu thuật, xạ trị hoặc hóa trị thông thường này có thể được sử dụng đồng thời, lần lượt hoặc tách riêng với điều trị bằng hợp chất có công thức (I).

Xạ trị có thể bao gồm một hoặc nhiều loại điều trị sau đây:

i.Liệu pháp chiếu xạ bên ngoài sử dụng chiếu xạ điện từ, và liệu pháp chiếu xạ trong phẫu thuật bằng cách sử dụng chiếu xạ điện từ;

ii.Liệu pháp chiếu xạ bên trong hoặc xạ trị chiếu trong; bao gồm liệu pháp chiếu xạ kẽ hoặc liệu pháp chiếu xạ trong khoang; hoặc

iii.Liệu pháp chiếu xạ toàn thân, bao gồm nhưng không bị giới hạn ở iot 131 và stronti 89.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và xạ trị, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư NSCLC, SCLC, bàng quang, tuyến tiền liệt, thực quản, đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư vú. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức

(I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với xạ trị. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư NSCLC, SCLC, bàng quang, tuyến tiền liệt, thực quản, đầu và cổ, hoặc bệnh ung thư vú. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và xạ trị, để sử dụng trong điều trị đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư phổi (ví dụ bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ), bệnh ung thư vú (ví dụ bệnh ung thư vú âm tính thể ba), bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư cổ tử cung và bệnh ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Theo một phương án sáng, chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp với xạ trị. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư phổi (ví dụ bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ), bệnh ung thư vú (ví dụ bệnh ung thư vú âm tính thể ba), bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư cổ tử cung và bệnh ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh

trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng mà cần điều trị này, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó và xạ trị, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và xạ trị này có hiệu quả kết hợp để tạo ra hiệu quả chống bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư phổi (ví dụ bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ hoặc bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ), bệnh ung thư vú (ví dụ bệnh ung thư vú âm tính thể ba), bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư cổ tử cung và bệnh ung thư nội mạc tử cung. Theo một phương án bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng mà cần được điều trị, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó và sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp xạ trị, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và xạ trị có hiệu quả kết hợp để tạo ra hiệu quả chống bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh u nguyên bào đệm. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư di căn này bao gồm các di căn của hệ thần kinh trung ương. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm các di căn não. Theo một phương án, các di căn của hệ thần kinh trung ương bao gồm di căn màng não mềm.

Theo phương án bất kỳ, xạ trị được chọn từ nhóm bao gồm một hoặc nhiều loại xạ trị được liệt kê trong các điểm (i) - (iii) trên đây.

Hóa trị có thể bao gồm một hoặc nhiều các loại chất kháng khối u sau đây:

i.Các chất chống ung thư và sự kết hợp của chúng, như các chất alkyl hóa ADN (ví dụ cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, xyclophosphamit, mù tạt nitơ như ifosfamit,

bendamustin, melphalan, clorambuxil, busulphan, temozolamit và các nguồn nitơ như carmustin); các chất chống chuyển hóa (ví dụ gemxitabin và antifolat như floropyrimidin như 5-florouraxil và tegafur, raltitrexed, methotrexat, xytosin arabinosit, và hydroxyure); chất kháng sinh kháng khối u (ví dụ anthraxyclin như adriamyxin, bleomyxin, doxorubixin, liposomal doxorubixin, pirarubixin, daunomyxin, valrubixin, epirubixin, idarubixin, mitomyxin-C, dactinomyxin, amrubixin và mithramyxin); các chất chống giản phân (ví dụ vinca alkaloit như vincristin, vinblastin, vindesin và vinorelbin và taxoit như các chất ức chế taxol và taxotere và polokinaza); và các chất ức chế topoisomeraza (ví dụ epipodophyllotoxin như etoposit và teniposit, amsacrin, irinotecan, topotecan và camptothexin); các chất ức chế cơ chế sửa chữa ADN như CHK kinaza; chất ức chế ATM (như AZD0156 và AZD1390); chất ức chế poly (ADP-riboza) polymeraza (chất ức chế PARP, bao gồm olaparib); và chất ức chế Hsp90 như tanespimyxin và retaspimyxin, chất ức chế ATR kinaza (như AZD6738); và các chất ức chế WEE1 kinaza (như AZD1775/MK-1775);

ia.Các chất chống ung thư và sự kết hợp của chúng, như các chất alkyl hóa ADN (ví dụ cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, xyclophosphamit, mù tạp nitơ như ifosfamit, bendamustin, melphalan, clorambuxil, busulphan, temozolamit và các nguồn nitơ như carmustin); các chất chống chuyển hóa (ví dụ gemxitabin và antifolat như floropyrimidin như 5-florouraxil và tegafur, raltitrexed, methotrexat, xytosin arabinosit, và hydroxyure); chất kháng sinh kháng khối u (ví dụ anthraxyclin như adriamyxin, bleomyxin, doxorubixin, liposomal doxorubixin, pirarubixin, daunomyxin, valrubixin, epirubixin, idarubixin, mitomyxin-C, dactinomyxin, amrubixin và mithramyxin); các chất chống giản phân (ví dụ vinca alkaloit như vincristin, vinblastin, vindesin và vinorelbin và taxoit như các chất ức chế taxol và taxotere và polokinaza); và các chất ức chế topoisomeraza (ví dụ epipodophyllotoxin như etoposit và teniposit, amsacrin, irinotecan, topotecan và camptothexin); các chất ức chế cơ chế sửa chữa ADN như CHK kinaza; chất ức chế ATM (như AZD0156); chất ức chế poly (ADP-riboza) polymeraza (chất ức chế PARP, bao gồm olaparib); và chất ức chế Hsp90 như tanespimyxin và retaspimyxin, chất ức chế ATR kinaza (như AZD6738); và các chất ức chế WEE1 kinaza (như AZD1775/MK-1775);

ii.Các chất chống ung thư như các chất ức chế hiệu quả của yếu tố sinh trưởng màng trong mạch, ví dụ kháng thể kháng yếu tố sinh trưởng tế bào màng trong mạch

bevacizumab và ví dụ, chất ức chế tyrosin kinaza thụ thể VEGF như vandetanib (ZD6474), sorafenib, vatalanib (PTK787), sunitinib (SU11248), axitinib (AG-013736), pazopanib (GW 786034) và cediranib (AZD2171); các hợp chất như các hợp chất được bộc lộ trong Công bố đơn sáng chế quốc tế số WO97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 và WO 98/13354; và các hợp chất làm việc theo các cơ chế khác (ví dụ linomit, chất ức chế chức năng integrin αvβ3 và angiostatin), hoặc các chất ức chế angiopoietin và các thụ thể của chúng (Tie-1 và Tie-2), các chất ức chế PDGF, các chất ức chế phối tử giống delta (DLL-4);

iii.Các phương pháp tiếp cận điều trị miễn dịch, bao gồm ví dụ các phương pháp *ex-vivo* và *in-vivo* để làm tăng khả năng gây miễn dịch các tế bào khối u của đối tượng bị bệnh, như sự chuyển nạp bằng xytokin như yếu tố kích thích interleukin 2, interleukin 4 hoặc khuẩn lạc bạch cầu hạt-đại thực bào; phương pháp để giảm suy giảm tế bào T hoặc chức năng tế bào T điều hòa; phương pháp để tăng cường sự đáp ứng tế bào T với khối u, như các kháng thể phong bế kháng CTLA4 (ví dụ ipilimumab và tremelimumab), B7H1, PD-1 (ví dụ BMS-936558 hoặc AMP-514), PD-L1 (ví dụ MEDI4736 (durvalumab)) và các kháng thể đối vận kháng CD137; phương pháp sử dụng các tế bào miễn dịch chuyển nạp như các tế bào đuôi gai chuyển nạp xytokin; phương pháp sử dụng dòng tế bào khối u chuyển nạp xytokin, phương pháp sử dụng kháng thể kháng kháng nguyên liên kết khối u, và kháng thể làm suy kiệt các kiểu tế bào đích (chẳng hạn, các kháng thể kháng CD20 không tiếp hợp như Rituximab, kháng thể kháng CD20 được đánh dầu phóng xạ Bexxar và Zevalin, và kháng thể kháng CD54 Campath); phương pháp sử dụng kháng thể kháng idiotyp; phương pháp tăng cường chức năng tế bào sát thủ tự nhiên; và phương pháp sử dụng các thể liên hợp kháng thể-độc tố (chẳng hạn kháng thể kháng CD33 Mylotarg); các độc tố miễn dịch như moxetumumab pasudotox; các chất chủ vận của thụ thể giống toll 7 hoặc thụ thể giống toll 9;

iv.Các chất tăng cường hiệu quả, như leucovorin.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó được sử dụng kết hợp với chất chống khối

u bổ sung. Theo một phương án, có một chất chống khối u bổ sung. Theo một phương án, có hai chất chống khối u bổ sung. Theo một phương án, có ba hoặc nhiều chất chống khối u bổ sung.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung để sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp với chất chống khối u bổ sung.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng cần điều trị, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó và ít nhất một chất chống khối u bổ sung, trong đó lượng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và chất chống khối u bổ sung có hiệu quả kết hợp để tạo ra hiệu quả chống bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng cần được điều trị, bao gồm bước sử dụng cho động vật máu nóng này hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp ít nhất một chất chống khối u bổ sung cho động vật máu nóng này, trong đó lượng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và chất chống khối u bổ sung có hiệu quả kết hợp trong việc tạo ra hiệu quả chống bệnh ung thư.

Theo phương án bất kỳ, chất chống khối u bổ sung này được chọn từ nhóm bao gồm một hoặc nhiều chất chống ung thư được liệt kê trong các điểm (i) - (iv) trên đây.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống ung thư để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống ung thư. Theo một phương án, chất chống ung thư này được chọn từ danh mục các chất chống ung thư trong điểm (i) trên đây.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống ung thư để sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc

liên tiếp trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc liên tiếp với ít nhất một chất chống ung thư. Theo một phương án, chất chống ung thư này được chọn từ danh mục các chất chống ung thư trong điểm (i) trên đây.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubixin, idarubixin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775, AZD6738, AZD1390 và AZD0156, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubixin, idarubixin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775 và AZD6738, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, AZD1775, AZD6738, AZD1390 và AZD0156 để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit,

ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, AZD1775 và AZD6738, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và olaparib để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và AZD6738 để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và AZD0156 để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubixin, idarubixin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775, AZD6738, AZD1390 và AZD0156.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm cisplatin, oxaliplatin, carboplatin, valrubixin, idarubixin, doxorubixin, pirarubixin, irinotecan, topotecan, amrubixin, epirubixin, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin, olaparib, MEDI4736 (durvalumab), AZD1775 và AZD6738.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với olaparib.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với AZD6738.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với AZD0156.

Theo một phương án sáng, chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm doxorubixin, irinotecan, topotecan, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin và olaparib để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm doxorubixin, irinotecan, topotecan, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan, bleomyxin và olaparib.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm doxorubixin, irinotecan, topotecan, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan và bleomyxin, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm doxorubixin, irinotecan, topotecan, etoposit, mitomyxin, bendamustin, clorambuxil, xyclophosphamit, ifosfamit, carmustin, melphalan và bleomyxin.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với ít nhất một chất chống khối u bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm doxorubixin, pirarubixin, amrubixin và epirubixin. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính. Theo

một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư vú (ví dụ bệnh ung thư vú âm tính thể ba). Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư biểu mô tế bào gan.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và irinotecan, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với irinotecan. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư trực tràng.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và FOLFIRI, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với FOLFIRI. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư trực tràng.

FOLFIRI là phác đồ sử dụng liều bao gồm sự kết hợp của eucovorin, 5-florouraxil và irinotecan.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và R-CHOP, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với R-CHOP. Theo một phương án, bệnh ung thư này là u lympho không phải Hodgkin.

R-CHOP là phác đồ sử dụng liều bao gồm sự kết hợp của rituximab, xyclophosphamit, hydroxydaunomyxin (doxorubixin hydroclorua), onvavin (vincristin) và prednisolon.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với olaparib. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư dạ dạy.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với topotecan. Theo một phương án, bệnh ung thư này là bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, được sử dụng kết hợp với liệu pháp miễn dịch. Theo một phương án, liệu pháp miễn dịch này là một hoặc nhiều chất được liệt kê trong điểm (iii) trên đây. Theo một phương án, liệu pháp miễn dịch này là kháng thể kháng PD-L1 (ví dụ MEDI4736 (durvalumab)).

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và ít nhất một chất chống khối u bổ sung. Theo một phương án, dược phẩm này còn chứa ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng. Theo một phương án, chất chống khối u là chất chống ung thư.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và ít nhất một chất chống khối u bổ sung, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, dược phẩm này còn chứa ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng. Theo một phương án, chất chống khối u là chất chống ung thư.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến kit chứa:

a) Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, ở dạng liều sử dụng đơn vị thứ nhất;

b) Chất chống khối u bổ sung khác ở dạng liều sử dụng đơn vị bổ sung;

c) Vật chứa là phương tiện để chứa dạng liều sử dụng đơn vị thứ nhất và dạng liều sử dụng đơn vị bổ sung; và tùy ý

d) Hướng dẫn sử dụng. Theo một phương án, chất chống khối u này bao gồm chất chống ung thư.

Theo phương án bất kỳ, trong đó chất chống ung thư được đề cập, chất chống ung thư này là một hoặc nhiều chất được liệt kê trong điểm (i) trên đây.

Các hợp chất có công thức (I), và các muối dược dụng của chúng, có thể được sử dụng dưới dạng các dược phẩm, chứa một hoặc nhiều chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Các chế phẩm này có thể dưới dạng thích hợp để sử dụng đường miệng (ví dụ dạng viên nén, hình thoi, viên nang cứng hoặc mềm, các chất hỗn dịch dạng nước hoặc dầu, chất nhũ tương, bột hoặc hạt phân tán, xirô hoặc cồn ngọt), để sử dụng tại chỗ (ví dụ dạng kem, thuốc mỡ, dạng gel, hoặc dung dịch hoặc hỗn dịch dạng lỏng hoặc dạng dầu), để sử dụng bằng cách hít (ví dụ dạng hạt được chia mịn hoặc sol khí lỏng), để sử dụng bằng cách bơm vào (ví dụ dạng bột chia mịn) hoặc để sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ dung dịch dạng chứa nước hoặc dầu vô trùng để sử dụng liều trong tĩnh mạch, dưới da hoặc trong cơ), hoặc dưới dạng thuốc đạn để sử dụng liều trong trực tràng. Các chế phẩm này có thể thu được bằng các quy trình thông thường sử dụng các tá dược dược dụng thông thường, đã biết trong lĩnh vực này. Do đó, chế phẩm được dự định để sử dụng đường miệng có thể, chứa, ví dụ, một hoặc nhiều chất tạo màu, tạo ngọt, tạo hương vị và/hoặc chất bảo quản.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong điều trị.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh bạch cầu cấp tính dạng tủy cấp tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Theo một phương án, bệnh ung thư này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư trực tràng, bệnh u nguyên bào đệm, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư buồng trứng, u lympho tế bào B lớn lan tỏa, bệnh bạch cầu cấp tính dạng lympho bào mãn tính, bệnh ung thư biểu mô tế bào vẩy đầu và cổ và bệnh ung thư phổi. Theo một phương án, bệnh ung thư đã nêu là bệnh ung thư trực tràng.

Hợp chất có công thức (I) thông thường sẽ được sử dụng cho động vật máu nóng ở liều đơn vị nằm trong khoảng từ 2,5 đến 5000mg/m^2 diện tích cơ thể động vật, hoặc nằm trong khoảng từ 0,05 đến 100 mg/kg, và điều này thường tạo ra liều có hiệu quả điều trị. Dạng liều đơn vị như viên nén hoặc viên nang sẽ luôn chứa hoạt chất ở lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 250mg. Liều hàng ngày về cơ bản sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị, con đường sử dụng cụ thể, liệu pháp bất kỳ được đồng sử dụng, và mức độ nghiêm trọng của bệnh đang được điều trị. Do đó, nhân viên y tế đang điều trị cho đối tượng bị bệnh cụ thể bất kỳ có thể xác định liều sử dụng tối ưu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương án khác nhau được minh họa bằng các ví dụ sau đây. Sáng chế không được hiểu là bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Trừ khi có quy định khác, các nguyên liệu ban đầu là có bán sẵn. Tất cả các dung môi và các chất phản ứng thương mại là ở cấp độ phòng thử nghiệm và sử dụng như đã nhận.Trong quá trình điều chế các ví dụ, thông thường:

(i) các hoạt động được thực hiện ở nhiệt độ phòng (rt), tức là nằm trong khoảng từ 17°C đến 25°C và trong điều kiện khí trơ như N_2 hoặc Ar trừ khi có quy định khác;

(ii) thông thường, quá trình phản ứng được kế tiếp bằng sắc ký lớp mỏng (TLC) và/hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao phân tích (HPLC hoặc UPLC) thường được ghép cặp phép đo khối phổ (LCMS). Thời gian phản ứng được đưa ra không nhất thiết phải đạt được tối thiểu;

(iii) khi cần, các dung dịch hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$ hoặc Na_2SO_4 khan , các quy trình xử lý được thực hiện bằng cách sử dụng các kỹ thuật phân phân tách pha truyền thống hoặc bằng cách sử dụng SCX như được mô tả trong (xiii), các quá trnh bay hơi được thực hiện bằng quy trình bay hơi quay trong chân không hoặc trong thiết bị Genevac HT-4 / EZ-2 hoặc Biotage V10;

(iv) hiệu suất, khi có, không cần đạt được tối đa, và khi cần, các phản ứng được lặp lại nếu yêu cầu lượng sản phẩm phản ứng lớn;

(v) thông thường, các cấu tạo của các sản phẩm cuối có công thức (I) được xác nhận bằng cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) và/hoặc các kỹ thuật khối phổ; dữ liệu khối phổ tia điện thu được bằng cách sử dụng UPLC Waters Acquity kết hợp với phép đo khối

phổ mạch bốn cực đơn Waters thu được cả dữ liệu ion dương và âm, và nhìn chung, chỉ các ion liên quan đến cấu trúc gốc được báo cáo; các giá trị nhảy hóa học NMR proton được đo trên thang delta bằng cách sử dụng máy đo phổ Bruker AV500 hoạt động ở trường lực 500 MHz, Bruker AV400 hoạt động ở 400 MHz hoặc Bruker AV300 hoạt động ở 300 MHz. Trừ khi có quy định khác, phổ NMR thu được ở 500 MHz trong d6-dimetylsulfoxit. Các từ viết tắt sau đây được sử dụng: s, vạch đơn; d, vạch đôi; t, vạch ba; q, vạch bốn; m, đa vạch; br, phổ rộng; qn, vạch năm; (vi) Trừ khi có quy định khác, các hợp chất chứa nguyên tử cacbon và/hoặc lưu huỳnh phân tách đồng phân quang học không được phân giải;

(vii) Hợp chất trung gian không cần phải tinh chế hoàn toàn nhưng các cấu trúc và độ tinh khiết của chúng được đánh giá bằng phép phân tích TLC, HPLC/UPLC phân tích, và/hoặc NMR và/hoặc phép đo khối phổ;

(viii) trừ khi có quy định khác, sắc ký cột nhanh (fcc) được thực hiện trên silic dioxit Merck Kieselgel (Art. 9385) hoặc trên silic dioxit pha đảo (Fluka silica gel 90 C18) hoặc trên các ống Silicycle (silic dioxit 40-63µm, khối lượng từ 4 đến 330 g) hoặc trên các ống phân giải Grace (4 - 120 g) hoặc trên các cột RediSep Rf 1,5 Flash hoặc trên các cột Gold Flash hiệu năng cao RediSep Rf (khối lượng 150 - 415 g) hoặc trên các cột pha đảo RediSep Rf Gold C18 (silic dioxit 20 - 40µm) thủ công hoặc tự động bằng cách sử dụng hệ thống Isco CombiFlash Companion hoặc hệ thống tương tự;

(ix) HPLC pha đảo điều chế (RP HPLC) được thực hiện trên silic dioxit pha đảo C18 thường sử dụng cột Waters XSelect CSH C18 (silic dioxit 5µm, đường kính 30 mm, chiều dài 100 mm) sử dụng hỗn hợp phân cực thấp làm chất rửa giải, ví dụ [chứa 0,1% axit formic hoặc 0,3-5% amoni hydroxit nước (d=0,91)] làm dung môi A và axetonitril làm dung môi B; quy trình thông thường sẽ là như sau: gradien dung môi trong 10-20 phút, ở 40-50mL trên phút, từ hỗn hợp 95:5 của các dung môi A và B tương ứng đến hỗn hợp 5:95 của các dung môi A và B (hoặc tỉ lệ thay đổi thích hợp).

(x) Các phương pháp UPLC phân tích sau đây được sử dụng; nhìn chung, silic dioxit C18 pha đảo được sử dụng với tốc độ dòng chảy là 1 mL/phút và phát hiện bằng phép đo khối phổ điện từ và bằng độ hấp thụ UV ghi khoảng bước sóng 220-320 nm. UPLC phân tích được thực hiện trên silic dioxit pha đảo CSH C18, sử dụng cột Waters XSelect CSH C18 với kích thước 2,1 x 50mm và cỡ hạt 1,7 micron). Phân tích gradien

được thực hiện bằng cách sử dụng các hỗn hợp phân cực thấp làm chất rửa giải, ví dụ hỗn hợp phân cực thấp của nước (chứa 0,1% axit formic hoặc 0,1% amoniac) làm dung môi A và axetonitril làm dung môi B. Phương pháp UPLC phân tích 2 phút thông thường sẽ sử dụng gradien dung môi trong 1,3 phút, ở xấp xỉ 1 mL trên phút, từ hỗn hợp 97:3 của các dung môi A và B tương ứng đến hỗn hợp 3:97 của các dung môi A và B.

(xi) Khi các hợp chất cụ thể thu được là muối bổ sung axit, ví dụ muối mono-hydroclorua hoặc muối di-hydroclorua, đồng phân lập thể của muối này được dựa trên số lượng và bản chất của các nhóm bazơ trong hợp chất này, đồng phân lập thể chính xác của muối này thường không được xác định, ví dụ bằng dữ liệu phân tích nguyên tố

(xii) Khi các phản ứng đề cập đến việc sử dụng vi sóng, một trong những lò phản ứng vi sóng sau đây được sử dụng: Biotage Initiator, Personal Chemistry Emrys Optimizer, Personal Chemistry Smithcreator hoặc CEM Explorer;

(xiii) Các hợp chất được tinh chế bằng sắc ký trao đổi cation mạnh (SCX) sử dụng các cột Isolute SPE nhanh SCX-2 hoặc SCX-3 (International Sorbent Technology Limited, Mid Glamorgan, UK);

(xiv) các phương pháp HPLC phân tách đồng phân quang học điều chế sau đây được thực hiện bằng cách sử dụng Gilson GX-281 HPLC và DAICEL CHIRALPAK IC (2 x 25cm,5um) hoặc DAICEL CHIRALPAK IF (2 x 25cm,5um); thông thường tốc độ dòng chảy trong khoảng 10-350mL/phút và phát hiện bằng độ hấp thụ UV ở bước sóng thông thường là 254nm. Nồng độ mẫu khoảng 1-100mg/mL được sử dụng trong hỗn hợp dung môi thích hợp với thể tích tiêm lnằm trong khoảng 0,5-10mL và thời gian chạy nằm trong khoảng 10-150 phút và nhiệt độ lò thường nằm trong khoảng từ 25°C đến 35°C;

(xv) các phương pháp HPLC phân tách đồng phân quang học phân tích sau đây được thực hiện bằng cách sử dụng Shimadzu UFLC và Daicel CHIRALPAK IC-3 (50 x 4,6mm 3um) hoặc Daicel CHIRALPAK IF-3 (50 x 4,6mm 3um); thông thường tốc độ dòng chảy là 1 ml/phút và phát hiện bằng cách sử dụng độ hấp thụ UV ở bước sóng thông thường là 254 nm. Nồng độ mẫu khoảng 1mg/mL được sử dụng trong hỗn hợp dung môi như EtOH với thể tích tiêm khoảng 10µL và thời gian chạy nằm trong khoảng 10-60 phút và nhiệt độ lò thông thường là 25-35°C;

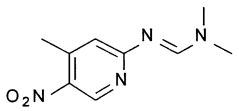
(xvi) các phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn phân tách đồng phân quang học điều chế (SFC) sau đây được sử dụng; thông thường tốc độ dòng chảy là khoảng 70mL/phút và phát hiện bằng độ hấp thụ UV ở bước sóng thông thường là 254 nm. Nồng độ mẫu khoảng 100mg/mL được sử dụng trong hỗn hợp dung môi như MeOH với thể tích tiêm khoảng 0,5 ml và thời gian chạy nằm trong khoảng 10-150 phút và nhiệt độ lò thông thường là 25-35°C;

(xvii) nhìn chung các hợp chất Ví dụ và các hợp chất trung gian được đặt tên sử dụng Tên ACD, "Structure to Name" là bộ phận của ChemDraw Ultra (CambridgeSoft), Biovia Draw 2016 hoặc Open Eye OEChem 2.0.2;

(xviii) Ngoài các từ viết tắt được đề cập ở trên, các từ viết tắt sau đây cũng được sử dụng:

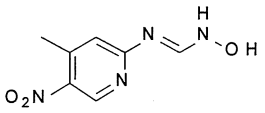
DMF	N,N-dimetylformamit	DMA	N,N-dimetylaxetamit
DCM	diclometan	THF	tetrahydrofuran
conc.	đặc	m/z	(các) đỉnh khối phổ
TBAF	tetra n-butylamoni florua	NMP	1-metylpyrrolidin-2-on
EtOAc	etyl axetat	DIPEA	N,N-diisopropyletylamin
DME	1,2-dimetoxyetan	MeOH	metanol
MeCN	axetonitril	TBAB	tetra n-butylamoni bromua
Et2O	dietyl ete	DBU	1,8-diazabixyclo[5,4,0]undec-7-en
Ac2O	axetic anhydrit	DMAP	4-dimetylaminopyridin
h	(các) giờ	EtOH	etanol
MTBE	metyl tert-butyl ete	Sat.	bão hòa
rt	Nhiệt độ phòng	fcc	sắc ký cột nhanh

Hợp chất trung gian 1: (E)-N,N-dimetyl-N'-(4-metyl-5-nitropyridin-2-yl)formimidamit



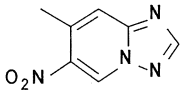
1,1-dimetoxy-N,N-dimetylmetanamin (26,0mL, 196mmol) được bổ sung vào 4-metyl-5-nitropyridin-2-amin (10,0g, 65,3mmol) trong toluen (100mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ hồi lưu trong 2 giờ và hỗn hợp phản ứng này được để nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được cô để thu được hợp chất mong muốn (13,5g, 99%) dưới dạng chất rắn màu vàng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,53 (3H, d), 3,06 (3H, d), 3,17 (3H, s), 6,79 - 6,84 (1H, m), 8,69 (1H, s), 8,88 (1H, s); *m/z* MH^+ 209.

Hợp chất trung gian 2: (E)-N-hydroxy-N'-(4-metyl-5-nitropyridin-2-yl)formimidamit



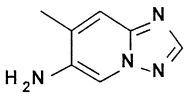
Hydroxylamin hydroclorua (9,01g, 130mmol) được bổ sung vào (E)-N,N-dimetyl-N'-(4-metyl-5-nitropyridin-2-yl)formimidamit (13,5g, 64,8mmol) trong MeOH (100mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ hồi lưu trong 1 giờ và sau đó được để nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng này được chia phần giữa EtOAc (200mL) và nước (100mL). Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối bão hòa (50mL), chảy qua giấy lọc phân tách pha và cô để thu được hợp chất mong muốn (11,9g, 94%) dưới dạng chất rắn màu vàng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,52 (3H, s), 7,06 (1H, s), 7,89 (1H, d), 8,89 (1H, s), 10,10 (1H, d), 10,53 (1H, s); *m/z* MH^+ 197.

Hợp chất trung gian 3: 7-metyl-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin



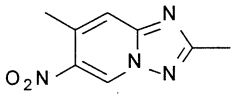
2,2,2-trifloroaxetic anhydrit (10,1 mL, 72,8mmol) được bổ sung vào (E)-N-hydroxy-N'-(4-metyl-5-nitropyridin-2-yl)formimidamit (11,9g, 60,7mmol) trong THF (100mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ và sau đó được cô. Hỗn hợp thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng EtOAc 0-100% trong heptan, để thu được chất rắn màu cam nhạt có tạp chất. Chất rắn này được tái kết tinh từ heptan:EtOAc, lọc và làm khô trong điều kiện chân không, sau đó được thu trong EtOAc (100mL), rửa bằng dung dịch nước HCl 0,1M (50mL), nước (50mL) và nước muối bão hòa (50mL). Lớp hữu cơ được cho chảy qua giấy lọc phân tách pha và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (3,42g, 32%); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,67 (3H, s), 7,88 - 8,01 (1H, m), 8,73 (1H, s), 9,97 (1H, s); *m/z* MH^+ 179.

Hợp chất trung gian 4: 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin



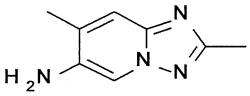
Pd/C (10%, hỗ trợ ẩm) (0,409g, 3,84mmol) được bổ sung vào 7-metyl-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin (3,42g, 19,2mmol) và amoni focmat (6,05g, 96,0mmol) trong etanol (150mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ hồi lưu trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc và cô để thu được hợp chất mong muốn (2,60g, 91%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,26 (3H, s), 5,00 (2H, s), 7,47 (1H, s), 8,10 (2H, d).

Hợp chất trung gian 5: 2,7-dimetyl-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin



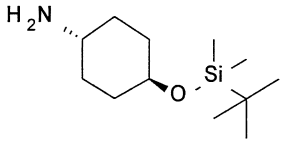
Hỗn hợp chứa 2-clo-4-metyl-5-nitropyridin (1499mg, 8,68mmol), 5-metyl-1,3,4-thiadiazol-2-amin (500mg, 4,34mmol) và N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (1,51 mL, 8,68mmol) trong toluen (5mL) được đặt trong ống kín và gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong 2 ngày. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng và cô trong điều kiện chân không. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 100% EtOAc trong heptan để thu được hợp chất mong muốn (275mg, 33%); ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,51 (3H, s), 2,64 (3H, s), 7,78 (1H, s), 9,83 (1H, s); *m/z* MH^+ 193.

Hợp chất trung gian 6: 2,7-dimetyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin



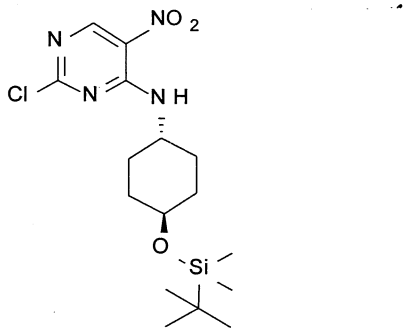
Nước (2,32mL) được bổ sung vào hỗn hợp được khuấy chứa 2,7-dimetyl-6-nitro-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin (312mg, 1,62mmol), sắt (544mg, 9,74mmol) và amoniac hydroclorua (60,8mg, 1,14mmol) trong EtOH (13,9mL) và hỗn dịch đặc thu được được gia nhiệt đến nhiệt độ 90°C trong 2 giờ. Hỗn hợp đã được làm nguội được nạp lên cột SCX 10g, rửa bằng MeOH, sau đó rửa giải bằng $NH_3$1M /MeOH để thu được hợp chất thô. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (108mg, 41%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,24 (3H, s), 2,35 (3H, s), 4,90 (2H, s), 7,33 (1H, s), 8,00 (1H, s); *m/z* MH^+ 163.

Hợp chất trung gian 7: (1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexanamin (trans-4-{[dimetyl(2-metyl-2-propanyl)silyl]oxy}xyclohexanamin)



Imidazol (29,6g, 434mmol) được bổ sung vào (trans)-4-aminoxyclohexanol (20g, 174mmol), trong DCM (200mL). TBDMS-Cl (39,3g, 260mmol) được bổ sung từng phần và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khô và hòa tan lại trong EtOAc (200mL) và rửa liên tục bằng nước (100mL), dung dịch nước NaOH 2M (100mL), nước (100mL) và nước muối bão hòa (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$, lọc và dung môi được loại bỏ trong điều kiện chân không. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% metanolic amoniac 1M trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (30g, 75%) dưới dạng dầu màu vàng thẫm; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 0,05 (6H, s), 0,88 (9H, s), 1,05 - 1,22 (2H, m), 1,26 - 1,43 (2H, m), 1,44 - 1,76 (1H, br s) 1,76 - 1,81 (4H, m), 1,82 - 2,29 (1H, br s), 2,67 (1H, tt), 3,51 - 3,63 (1H, m).

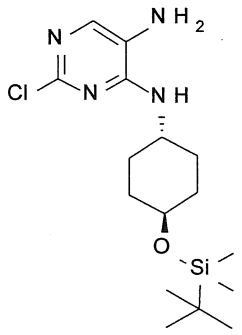
Hợp chất trung gian 8: N-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clo-5-nitropyrimidin-4-amin (2-clo-N-(trans-4-{[dimetyl(2-metyl-2-propanyl)silyl]oxy}xyclohexyl)-5-nitro-4-pyrimidinamin)



2,4-diclo-5-nitropyrimidin (20g, 103mmol), được hòa tan trong DCM (400mL), được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C. DIPEA (35,9 mL, 206mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung từng giọt (1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexanamin (23,7g, 103mmol), được hòa tan trong DCM (50mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -78°C trong 30 phút sau đó ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rửa liên tiếp bằng nước (200mL) và nước muối bão hòa (200mL). Lớp hữu cơ được lọc qua

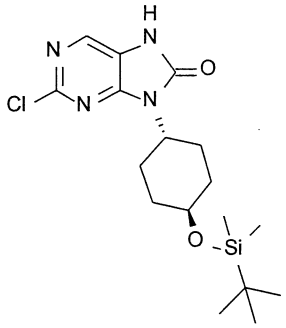
giấy lọc phân tách pha và dung môi đươc loại bỏ trong điều kiện chân không và phần cắn được nghiền trong EtOAc:heptan (~1:1) và chất rắn thu được được lọc ra và làm khô để thu được hợp chất mong muốn (32,0g, 80%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 0,07 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,36 - 1,48 (2H, m), 1,49 - 1,6 (2H, m), 1,84 - 1,96 (2H, m), 2,06 - 2,19 (2H, m), 3,70 (1H, td), 4,17 - 4,3 (1H, m), 8,30 (1H, d), 9,03 (1H, s); *m/z* MH+ 387.

Hợp chất trung gian 9: N4-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clopyrimidin-4,5-diamin (2-clo-N~4~-(trans-4-{[dimetyl(2-metyl-2-propanyl)silyl]oxy}xyclohexyl)-4,5-pyrimidindiamin)



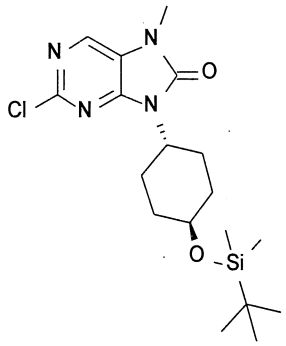
Platin (10% trên cacbon) (0,207g, 1,06mmol) được bổ sung vào N-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clo-5-nitropyrimidin-4-amin (8,20g, 21,2mmol) trong EtOAc (100mL) ở nhiệt độ phòng trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được được sục khí hydro và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc, rửa bằng EtOAc và dung môi được loại bỏ trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (7,40g, 98%); ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 0,05 (6H, d), 0,89 (9H, d), 1,2 - 1,32 (2H, m), 1,51 (2H, tdd), 1,87 (2H, dd), 2,06 - 2,15 (2H, m), 2,91 (2H, br s), 3,63 (1H, ddd), 3,99 (1H, dtd), 4,90 (1H, d), 7,59 (1H, s); *m/z* MH+ 357.

Hợp chất trung gian 10: 9-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clo-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (2-clo-9-(trans-4-{[dimetyl(2-metyl-2-propanyl)silyl]oxy}xyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on)



N4-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clopyrimidin-4,5-diamin (21,8g, 61,1mmol) được đặt trong bình trong EtOAc (400mL) ở nhiệt độ phòng. Di(1H-imidazol-1-yl)metanon (15,84g, 97,71mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ. Dung môi (khoảng một nửa) được loại bỏ trong điều kiện chân không và dung dịch được làm nguội trên nước đá trong 30 phút. Chất rắn thu được được lọc ra và làm khô để thu được hợp chất mong muốn (10,2g, 44%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 0,09 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,45 - 1,56 (2H, m), 1,81 (2H, d), 2,01 (2H, d), 2,45 (2H, qd), 3,75 (1H, ddd), 4,35 (1H, tt), 8,10 (1H, s) NH không được quan sát thấy; *m/z* MH^+ 383.

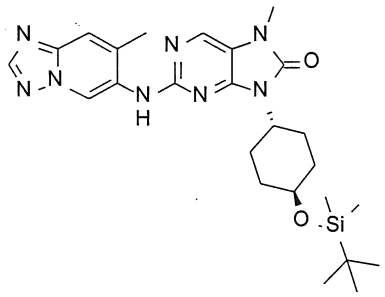
Hợp chất trung gian 11: 9-((1r,4r)-4-(tert-butyldimetylsilyloxy)xyclohexyl)-2-clo-7-metyl-7H-purin-8(9H)-on (2-clo-9-(trans-4-{[dimetyl(2-metyl-2-propanyl)silyl]oxy}xyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on)



Natri hydrit (60%) (2,26g, 56,4mmol) được bổ sung theo phần 9-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-2-clo-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (14,4g, 37,6mmol) trong DMF (150mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút, được làm nguội trên nước đá và sau đó iodometan (3,92 mL, 62,7mmol) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (500mL), và rửa liên tiếp bằng nước (3 x 200mL) và nước muối bão hòa (200mL). Lớp hữu cơ được lọc qua giấy lọc phân tách pha và dung

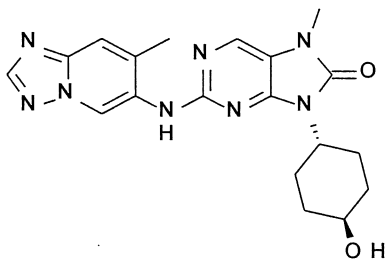
môi được loại bỏ trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (10,4g, 67%) dưới dạng chất rắn màu nâu nhạt; ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 0,09 (6H, s), 0,90 (9H, s), 1,44 - 1,54 (2H, m), 1,78 (2H, d), 1,99 (2H, d), 2,43 (2H, qd), 3,43 (3H, s), 3,74 (1H, ddd), 4,36 (1H, tt), 7,98 (1H, s); *m/z* MH^+ 397.

Hợp chất trung gian 12: 9-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (9-(trans-4-{[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxy}xyclohexyl)-7-metyl-2-[(7-metyl[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino]-7,9-dihydro-8H-purin-8-on)



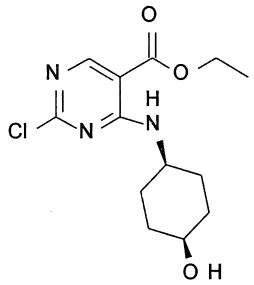
Xesi cacbonat (328mg, 1,01mmol) được bổ sung vào 9-((1r,4r)-4-(tert-butyldimetylsilyloxy)xyclohexyl)-2-clo-7-metyl-7H-purin-8(9H)-on (200mg, 0,50mmol) và 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (112mg, 0,76mmol) trong 1,4-dioxan (4mL). Phản ứng được khử khí và Brettphos precat G3 (45,7mg, 0,05mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 18 giờ. Phản ứng được dừng ở mức biến đổi khoảng 60%. Bổ sung thêm 10% chất xúc tác và khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc (10mL), lọc và cô đến khô. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% MeOH trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (190mg, 74%) dưới dạng chất rắn màu nâu; *m/z* MH+ 509.

Ví dụ 1: 9-((1r,4r)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



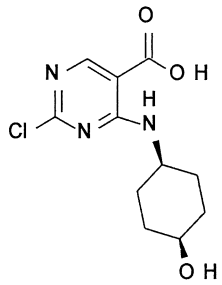
Axit hydrocloric đặc (0,011 mL, 0,37mmol) được bổ sung vào 9-((1r,4r)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)xyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (190mg, 0,37mmol) trong EtOH (5mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ hồi lưu trong 1 giờ, sau đó được tinh chế bằng HPLC pha đảo điều chế. Hợp chất chưa tinh chế thu được được nghiền nhỏ trong MeCN, lọc và làm khô để thu được hợp chất mong muốn (55mg, 37%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt; ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO) 1,17 - 1,34 (2H, m), 1,68 (2H, d), 1,90 (2H, d), 2,21 - 2,33 (2H, m), 2,39 (3H, d), 3,28 (3H, s), 3,35 - 3,46 (1H, m), 4,11 (1H, ddt), 4,61 (1H, d), 7,63 - 7,71 (1H, m), 8,08 (1H, s), 8,36 (1H, s), 8,61 (1H, s), 9,15 (1H, s); *m/z* MH+ 395.

Hợp chất trung gian 13: etyl 2-clo-4-[(cis-4-hydroxyxyclohexyl)amino]pyrimidin-5-carboxylat



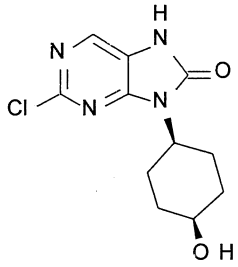
Kali cacbonat (78g, 565mmol) được bổ sung vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (50,0g, 226mmol) và cis-4-aminoxyclohexanol hydroclorua (34,3g, 226mmol) trong axetonitril (700mL) ở nhiệt độ phòng trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp được lọc qua đệm Celite. Chất lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng MeCN (100mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (41,0g, 61%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,32 (3H, t), 1,42 - 1,58 (2H, m), 1,60 - 1,75 (6H, m), 3,66 (1H, d), 4,06 (1H, dd), 4,33 (2H, q), 4,57 (1H, d), 8,46 (1H, d), 8,63 (1H, s); *m/z* MH+ 300.

Hợp chất trung gian 14: Axit 2-clo-4-[(cis-4-hydroxyxyclohexyl)amino]pyrimidin-5-carboxylic



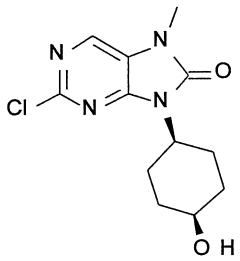
LiOH (9,75g, 407mmol) được bổ sung vào etyl 2-clo-4-[(cis-4-hydroxyxyclohexyl)amino]pyrimidin-5-carboxylat (61,0g, 204mmol) trong THF (400mL) và nước (400mL) ở nhiệt độ phòng trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hh được cô trong điều kiện áp suất giảm và điều chỉnh đến pH=2 bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (500mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (52g, 94%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,51 (2H, d), 1,58 - 1,75 (6H, m), 3,63 - 3,69 (1H, m), 4,00 - 4,07 (1H, m), 4,56 (1H, s), 8,59 (1H, s), 8,69 (1H, d), 13,82 (1H, s); *m/z* MH+ 272.

Hợp chất trung gian 15: 2-clo-9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



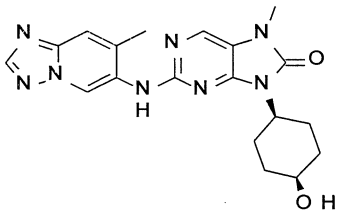
Trietylamin (28,2 mL, 202mmol) được bổ sung vào axit 2-clo-4-[(cis-4-hydroxyxyclohexyl)amino]pyrimidin-5-carboxylic (55,0g, 202mmol) trong axetonitril (550mL) ở nhiệt độ phòng trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. DPPA (55,7g, 202mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút và sau đó ở nhiệt độ 90°C trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (4L). Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (1L) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (34,9g, 64%) dưới dạng chất rắn màu trắng; *m/z* MH+ 269.

Hợp chất trung gian 16: 2-clo-9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Iodometan (31,7g, 223mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (30,0g, 112mmol), NaOH (22,3g, 558mmol) trong THF (300mL) và nước (150mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện chân không. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (250mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (24,0g, 76%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,43 - 1,61 (4H, m), 1,79 (2H, d), 2,54 - 2,68 (2H, m), 3,34 (3H, s), 3,87 (1H, s), 4,15 - 4,21 (1H, m), 4,46 (1H, d), 8,34 (1H, s); *m/z* MH+ 283.

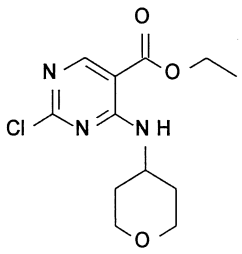
Ví dụ 2: 9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Brettphos precat G3 (64,1mg, 0,07mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (100mg, 0,35mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (62,9mg, 0,42mmol) và xesi cacbonat (230mg, 0,71mmol) trong 1,4-dioxan (3mL) trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 16 giờ. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất mong muốn (102mg, 73%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,41 - 1,57 (4H, m), 1,74 - 1,85 (2H, m), 2,39 (3H, s), 2,58 - 2,74 (2H, m), 3,29

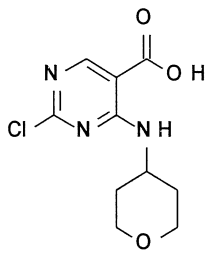
(3H, s), 3,84 - 3,91 (1H, m), 4,11 - 4,24 (1H, m), 4,34 (1H, d), 7,69 (1H, s), 8,05 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,61 (1H, s), 9,13 (1H, s); *m/z* MH+ 395.

Hợp chất trung gian 17: etyl 2-clo-4-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-5-carboxylat



Kali cacbonat (62,5g, 452mmol) được bổ sung vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (40g, 181mmol) và tetrahydro-2H-pyran-4-amin hydroclorua (24,9g, 181mmol) trong axetonitril (1000mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng THF (750mL) và các lớp hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 2% THF trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (37,7g, 73%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,32 (3H, t), 1,54 - 1,63 (2H, m), 1,85 - 1,89 (2H, m), 3,46 (2H, td), 3,85 (2H, dt), 4,19 (1H, dtt), 4,31 (2H, q), 8,34 (1H, d), 8,64 (1H, s); *m/z* MH^+ 286.

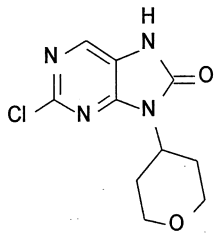
Hợp chất trung gian 18: Axit 2-clo-4-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-5-carboxylic



Dung dịch chứa LiOH (13,1g, 547mmol) trong nước (800mL) được bổ sung vào dung dịch được khuấy chứa etyl 2-clo-4-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-5-carboxylat (78,2g, 273mmol) trong THF (800mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Các lớp hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng dung dịch nước HCl 2M. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (500mL) và làm khô trong điều kiện chân không để

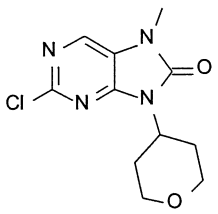
thu được hợp chất mong muốn (66,4g, 92%) dưới dạng chất rắn màu trắng;^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,5 - 1,63 (2H, m), 1,85 - 1,95 (2H, m), 3,47 (2H, td), 3,85 (2H, dt), 4,08 - 4,26 (1H, m), 8,57 (1H, dd), 8,60 (1H, s), 13,76 (1H, s); *m/z* MH^+ 258.

Hợp chất trung gian 19: 2-clo-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Trietylamin (25,4g, 251mmol) được bổ sung vào axit 2-clo-4-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-5-carboxylic (64,8g, 251mmol) và DPPA (69,2g, 251mmol) trong DMA (330mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó được khuấy ở 120°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào đá (2L), chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (400mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (44,8g, 70%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,66 - 1,70 (2H, m), 2,43 (2H, td), 3,45 (2H, t), 3,97 (2H, dd), 4,42 (1H, tt), 8,14 (1H, s), 11,65 (1H, s); *m/z* MH^+ 255.

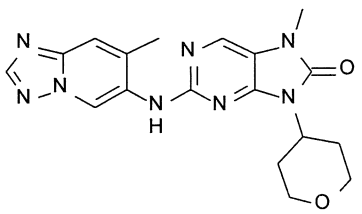
Hợp chất trung gian 20: 2-clo-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Dung dịch chứa NaOH (31,0g, 776mmol) trong nước (80mL) được bổ sung vào dung dịch được khuấy chứa 2-clo-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (39,5g, 155mmol) và MeI (48,5 mL, 776mmol) trong THF (720mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Lớp hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (300mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (32,5g, 69%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400

MHz, DMSO) 1,67-1,71 (2H, m), 2,39 - 2,48 (2H, m), 3,37 (3H, s), 3,46 (2H, td), 3,97 (2H, dd), 4,45 (1H, tt), 8,37 (1H, s); *m/z* MH^+ 269.

Ví dụ 3: 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Xesi cacbonat (24,3g, 74,4mmol) được bổ sung vào 2-clo-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (10,0g, 37,2mmol) và 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (5,51g, 37,2mmol) trong 1,4-dioxan (200mL). Brettphos precat G3 (1,69g, 1,86mmol) được bổ sung vào và hỗn dịch thu được được khuấy mạnh ở nhiệt độ 100°C trong 1 giờ. Bổ sung thêm 1% chất xúc tác và khuấy thêm trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng, lọc và chất rắn được rửa bằng 10% MeOH trong DCM (100mL). Chất lọc được lấy và dung môi được loại bỏ trong điều kiện chân không. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0-10% MeOH trong DCM, sau đó bằng cách tái kết tinh từ MeOH và DCM để thu được hợp chất mong muốn (7,59g, 54%) dưới dạng chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,63 - 1,72 (2H, m), 2,40 (3H, s), 2,52 - 2,58 (2H, m), 3,31 (3H, s), 3,42 (2H, t), 3,97 (2H, dd), 4,42 (1H, tt), 7,70 (1H, s), 8,08 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,65 (1H, s), 9,11 (1H, s); *m/z* MH^+ 381.

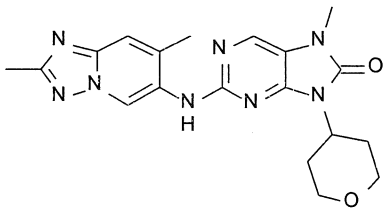
Dạng A

Hợp chất cuối cùng, 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on, được phân tích bằng XRPD và DSC và tìm thấy dưới dạng tinh thể. XRPD của mẫu của nguyên liệu thu được sinh ra mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Fig.1. 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on ở dạng A đặc trưng bởi ít nhất một đỉnh ở giá trị 2θ là 7,6° và 18,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα. Mười đỉnh rõ nhất của XRPD được trình bày trong Bảng A.

Bảng A: Mười đỉnh XRPD rõ nhất của 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on ở dạng A

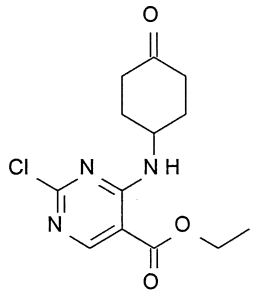
Góc 2-Theta (2θ)	Cường độ %
18,7	100
7,6	71,4
11,7	45,2
9,3	27,5
26,4	22,3
14,3	21,0
27,2	20,3
24,7	19,5
23,2	15,5
15,1	6,3

Ví dụ 4: 2-((2,7-dimetyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



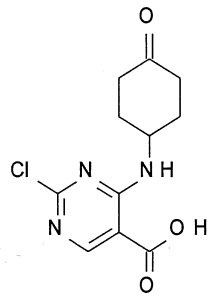
Xesi cacbonat (388mg, 1,19mmol) được bổ sung một phần vào 2-clo-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (160mg, 0,60mmol) và 2,7-dimetyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (97mg, 0,60mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ phòng và khử khí bằng cách xục nitơ từ hỗn hợp trong 5 phút. Brettphos precat G3 (54,0mg, 0,06mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng DCM và lọc. Lớp hữu cơ được làm bay hơi và phần cắn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM, sau đó được nghiền nhỏ bằng MeCN, để thu được hợp chất mong muốn (125mg, 53%) dưới dạng chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,69 - 1,79 (2H, m), 2,49 (3H, s), 2,58 (3H, s), 2,76 (2H, qd), 3,41 (3H, s), 3,55 (2H, t), 4,14 (2H, dd), 4,55 (1H, tt), 6,60 (1H, s), 7,43 (1H, s), 7,87 (1H, s), 9,60 (1H, s); *m/z* MH^+ 395.

Hợp chất trung gian 21: etyl 2-clo-4-((4-oxoxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat



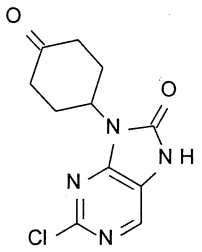
DIPEA (8,38 mL, 48,0mmol) được bổ sung từng giọt vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (8,84g, 40mmol) và 4-aminoxyclohexan-1-on hydroclorua (5,98g, 40,0mmol) trong axetonitril (200mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 2 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0 - 5% EtOAc trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (6,13g, 52%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,41 (3H, t), 1,84 - 1,97 (2H, m), 2,28 - 2,41 (2H, m), 2,44 - 2,62 (4H, m), 4,38 (2H, q), 4,53 - 4,66 (1H, m), 8,55 (1H, d), 8,72 (1H, s); *m/z* MH^+ 298.

Hợp chất trung gian 22: Axit 2-clo-4-((4-oxoxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic



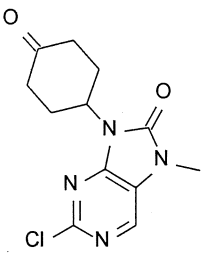
LiOH (0,981g, 41,0mmol) được bổ sung một phần vào etyl 2-clo-4-((4-oxoxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat (6,10g, 20,5mmol) trong THF (50mL) và nước (50mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng 2M HCl nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (20mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (3,50g, 63%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,79 - 1,93 (2H, m), 2,11 - 2,31 (4H, m), 2,50 - 2,63 (2H, m), 4,37 - 4,51 (1H, m), 8,60 (1H, s), 8,70 (1H, d), 13,90 (1H, s); *m/z* MH^+ 270.

Hợp chất trung gian 23: 2-clo-9-(4-oxoxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Diphenylphosphoryl azit (2,80mL, 13,0mmol) được bổ sung một phần vào axit 2-clo-4-((4-oxoxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic (3,5g, 13,0mmol) và Et_3N (1,81 mL, 13,0mmol) trong THF (70mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0 - 40% EtOAc trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (2,00g, 58%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,03 - 2,13 (2H, m), 2,25 - 2,36 (2H, m), 2,51 - 2,65 (2H, m), 2,65 - 2,77 (2H, m), 4,72 - 4,85 (1H, m), 8,15 (1H, s), 11,68 (1H, s); *m/z* MH^+ 267.

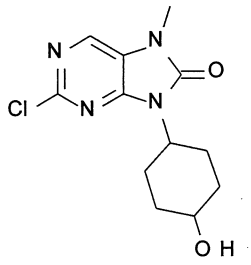
Hợp chất trung gian 24: 2-clo-7-metyl-9-(4-oxoxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



NaH (0,420g, 10,5mmol) được bổ sung theo phần vào 2-clo-9-(4-oxoxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (2,8g, 10,5mmol) trong DMF (50mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. MeI (1,97 mL, 31,5mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (150mL) và chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (1,80g, 61%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,03 - 2,14 (2H, m), 2,26 - 2,36 (2H, m), 2,53 -

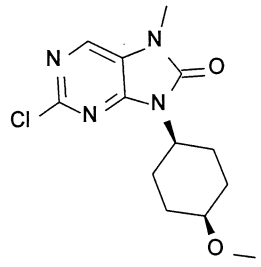
2,65 (2H, m), 2,65 - 2,78 (2H, m), 3,37 (3H, s), 4,76 - 4,89 (1H, m), 8,38 (1H, s); *m/z* MH^+ 281.

Hợp chất trung gian 25: 2-clo-9-(4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



$NaBH_4$ (121mg, 3,21mmol) được bổ sung vào 2-clo-7-metyl-9-(4-oxoxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (900mg, 3,21mmol) trong MeOH (15mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (100mL), và rửa bằng nước (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô trên Na_2SO_4, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp chưa biết của đồng phân cis và trans (800mg, 88%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^1H NMR (chủ yếu đồng phân) (300 MHz, $CDCl_3$) 0,83 - 0,90 (1H, m), 1,42 - 1,52 (2H, m), 1,78 - 1,87 (2H, m), 2,11 - 2,17 (2H, m), 2,41 - 2,58 (2H, m), 3,44 (3H, s), 3,78 - 3,87 (1H, m), 4,33 - 4,44 (1H, m), 8,02 (1H, s); *m/z* MH^+ 283.

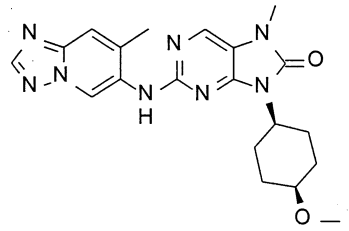
Hợp chất trung gian 26: 2-clo-9-((1s,4s)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



NaH (113mg, 2,83mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-(4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (800mg, 2,83mmol) trong THF (15mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. MeI (0,531 mL, 8,49mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 h. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được 2-clo-9-((1r,4r)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-

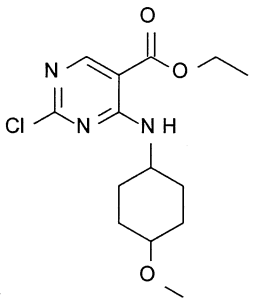
7,9-dihydro-8H-purin-8-on (220mg, 26%) dưới dạng chất rắn màu trắng và hợp chất mong muốn (60mg, 0,202mmol, 7%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,46 - 1,59 (4H, m), 1,95 - 2,05 (2H, m), 2,37 - 2,48 (2H, m), 3,26 (3H, s), 3,35 (3H, s), 3,40 - 3,45 (1H, m), 4,22 (1H, tt), 8,34 (1H, s); *m/z* MH^+ 297.

Ví dụ 5: 9-((1s,4s)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Brettphos precat G3 (14mg, 0,02mmol) và 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-di-i-propoxy-1,1'-biphenyl (7,9mg, 0,02mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-((1s,4s)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (50mg, 0,17mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (25,0mg, 0,17mmol) và xesi cacbonat (110mg, 0,34mmol) trong 1,4-dioxan (2mL) trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 4 giờ. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất mong muốn (0,054g, 78%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,36 - 1,50 (4H, m), 1,90 - 1,99 (2H, m), 2,37 (3H, s), 2,38 - 2,50 (2H, m), 3,06 (3H, s), 3,29 (3H, s), 3,35 - 3,38 (1H, m), 4,10 - 4,23 (1H, m), 7,71 (1H, s), 8,07 (1H, s), 8,38 (1H, s), 8,66 (1H, s), 9,02 (1H, s); *m/z* MH^+ 409.

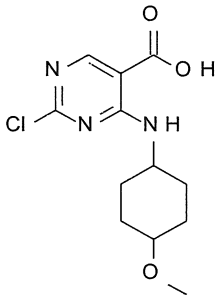
Hợp chất trung gian 27: etyl 2-clo-4-((4-metoxyxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat



DIPEA (3,24 mL, 18,58mmol) được bổ sung vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (3,42g, 15,5mmol) và 4-metoxyxyclohexan-1-amin (2,0g, 15,5mmol) trong

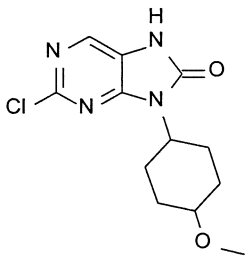
axetonitril (80mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0 - 5% EtOAc trong ete dầu mỏ, để thu được hợp chất mong muốn (3,60g, 74%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,26 - 1,50 (4H, m), 1,38 (3H, t), 2,02 - 2,18 (4H, m), 3,15 - 3,27 (1H, m), 3,37 (3H, s), 4,04 - 4,18 (1H, m), 4,35 (2H, q), 8,34 (1H, d), 8,66 (1H, s); *m/z* MH^+ 314.

Hợp chất trung gian 28: Axit 2-clo-4-((4-metoxyxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic



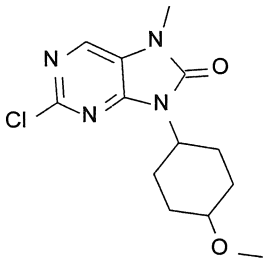
LiOH (0,549g, 22,95mmol) được bổ sung vào etyl 2-clo-4-((4-metoxyxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat (3,6g, 11,5mmol) trong THF (25mL) và nước (25mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Dung môi hữu cơ được loại bỏ và hỗn hợp được axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa thu được được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (20mL) và làm khô*trong chân không* để thu được hợp chất mong muốn (3,10g, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) 1,19 - 1,49 (4H, m), 1,91 - 2,04 (4H, m), 3,14 - 3,20 (1H, m), 3,25 (3H, s), 3,85 - 4,02 (1H, m), 8,51 (1H, d), 8,59 (1H, s), 13,8 (1H, s); *m/z* MH^+ 286.

Hợp chất trung gian 29: 2-clo-9-(4-metoxyxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



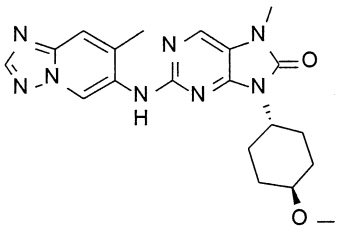
Diphenylphosphoryl azit (2,34 mL, 10,9mmol) được bổ sung vào axit 2-clo-4-((4-metoxyxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic (3,1g, 10,9mmol) và Et_3N (1,51 mL, 10,9mmol) trong THF (50mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (150mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (2,50g, 82%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) 1,21 - 1,35 (2H, m), 1,79 (2H, dd), 2,13 (2H, dd), 2,15 - 2,35 (2H, m), 3,15 - 3,25 (1H, m), 3,28 (3H, s), 4,09 - 4,26 (1H, m), 8,13 (1H, s), 11,64 (1H, s); *m/z* MH^+ 283.

Hợp chất trung gian 30: 2-clo-9-(4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



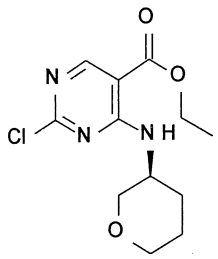
NaH (0,240g, 6,01mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-(4-metoxyxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (1,7g, 6,01mmol) trong DMF (25mL) ở nhiệt độ 0°C trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút. MeI (1,13 mL, 18,0mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 h. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (75mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (1,33g, 75%) dưới dạng chất rắn màu trắng, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) 1,17 - 1,37 (2H, m), 1,79 (2H, dd), 2,10 (2H, dd), 2,17 - 2,36 (2H, m), 3,15 - 3,24 (1H, m), 3,27 (3H, s), 3,35 (3H, s), 4,12 - 4,29 (1H, m), 8,35 (1H, s); *m/z* MH^+ 297.

Ví dụ 6: 9-((1r,4r)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Brettphos precat G3 (45,8mg, 0,05mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-(4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (150mg, 0,51mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (74,9mg, 0,51mmol) và xesi cacbonat (329mg, 1,01mmol) trong 1,4-dioxan (4mL) trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 16 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất mong muốn (136mg, 66%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,21 (2H, qd), 1,75 (2H, dd), 2,07 (2H, dd), 2,30 (2H, qd), 2,41 (3H, s), 3,11 (1H, tt), 3,24 (3H, s), 3,30 (3H, s), 4,10 - 4,23 (1H, m), 7,71 (1H, s), 8,11 (1H, s), 8,38 (1H, s), 8,66 (1H, s), 9,21 (1H, s); *m/z* MH^+ 409.

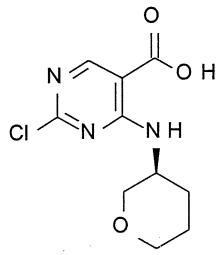
Hợp chất trung gian 31: etyl 2-clo-4-[[(3*S*)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat



(3*S*)-Tetrahydro-2H-pyran-3-amin hydroclorua (1,99g, 14,5mmol) trong MeCN (10mL) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp chứa DIPEA (6,30mL, 36,2mmol) và etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (3,2g, 14,5mmol) trong MeCN (60mL) ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 5 phút trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ, cho phép làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng trong bể nước đá tan. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khô để loại bỏ MeCN, được pha loãng bằng EtOAc (100mL), và rửa bằng nước sau đó là nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0 - 40% EtOAc trong heptan để thu được hợp chất mong muốn (3,24g, 78%)

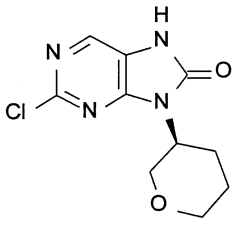
dưới dạng dầu màu vàng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,32 (3H, t), 1,49 - 1,6 (1H, m), 1,63 - 1,79 (2H, m), 1,83 - 1,94 (1H, m), 3,48 (1H, dd), 3,54 - 3,65 (2H, m), 3,74 (1H, dd), 4,08 - 4,19 (1H, m), 4,33 (2H, q), 8,57 (1H, d), 8,64 (1H, s); *m/z* $[M-H]^-$ 284.

Hợp chất trung gian 32: Axit 2-clo-4-[[(3S)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic



Lithi hydroxit hydrat (0,933g, 22,23mmol) được bổ sung theo phần vào etyl 2-clo-4-[[(3S)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat (3,24g, 11,1mmol) trong THF (20mL) và nước (20mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Lớp hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện chân không. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô không khí trong chân không qua đêm. Chất rắn màu trắng thu được được làm khô thêm *trong chân không* ở 50°C trong 24 h để thu được hợp chất mong muốn (2,40g, 84%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,55 (1H, dq), 1,61 - 1,77 (2H, m), 1,85 - 1,95 (1H, m), 3,45 (1H, dd), 3,59 (2H, t), 3,75 (1H, dd), 4,06 - 4,16 (1H, m), 8,60 (1H, s), 8,76 (1H, d), 13,62 (1H, s); *m/z* MH^+ 258.

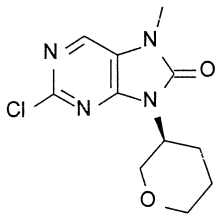
Hợp chất trung gian 33: (S)-2-clo-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Diphenylphosphoryl azit (2,00mL, 9,29mmol) được bổ sung theo phần vào dung dịch chứa axit 2-clo-4-[[(3S)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic (2,40g, 9,29mmol) và trietylamin (1,30mL, 9,29mmol) trong THF (50mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 24 h. Hỗn hợp phản ứng được cho làm nguội sau

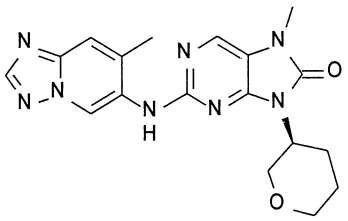
đó được rót vào nước (40mL). THF được rửa trong điều kiện chân không để thu được chất kết tủa trắng để tạo thành trong nước mà được lọc ra trong chân không, rửa bằng nước, được làm khô không khí trong điều kiện chân không trong 2 giờ, sau đó được làm khô trong điều kiện chân không ở 50°C để thu được hợp chất mong muốn (1,84g, 78%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,61 - 1,82 (2H, m), 1,88 - 1,99 (1H, m), 2,40 - 2,49 (1H, m), 3,3 - 3,37 (1H, m), 3,78 - 3,93 (3H, m), 4,2 - 4,32 (1H, m), 8,13 (1H, s), 11,63 (1H, s); *m/z* MH^+ 255.

Hợp chất trung gian 34: 2-clo-7-metyl-9-[(3S)-tetrahydropyran-3-yl]purin-8-on



Natri hydrit (60%) (0,434g, 10,9mmol) được bổ sung theo phần vào (S)-2-clo-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (1,84g, 7,24mmol) trong DMF (25mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút sau đó iodometan (1,36 mL, 21,7mmol) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng nước (50mL) và chất kết tủa thu được được lọc ra và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (1,62g, 83%) dưới dạng chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,64 - 1,82 (2H, m), 1,90 - 1,98 (1H, m), 2,41 - 2,48 (1H, m), 3,32 - 3,38 (4H, m), 3,79 - 3,91 (3H, m), 4,25 - 4,34 (1H, m), 8,35 (1H, s); *m/z* MH^+ 269

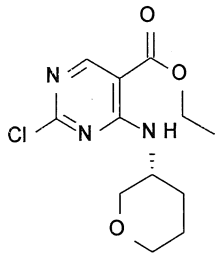
Ví dụ 7: (S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Xesi cacbonat (303mg, 0,93mmol) được bổ sung vào 2-clo-7-metyl-9-[(3S)-tetrahydropyran-3-yl]purin-8-on (125mg, 0,47mmol) và 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (68,9mg, 0,47mmol) trong 1,4-dioxan (4mL). Phản ứng được khử khí

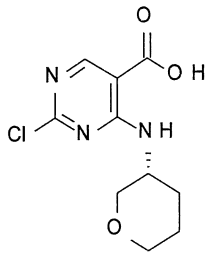
và Brettphos precat G3 (42,2mg, 0,05mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ phòng và cô. Chất rắn được hòa tan lại trong DCM và lọc qua celite. Chất lọc được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0 - 8% MeOH trong DCM, và chất rắn thu được được nghiền bằng dietyl ete, lọc và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (110mg, 62%) dưới dạng chất rắn màu cam; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,62 - 1,74 (2H, m), 1,89 (1H, d), 2,41 (3H, s), 2,42 - 2,47 (1H, m), 3,19 - 3,26 (1H, m), 3,30 (3H, s), 3,76 - 3,86 (2H, m), 3,92 (1H, t), 4,22 - 4,32 (1H, m), 7,71 (1H, s), 8,11 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,65 (1H, s), 9,18 (1H, s); *m/z* MH^+ 381.

Hợp chất trung gian 35: etyl 2-clo-4-[[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat



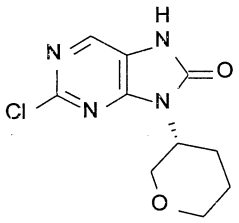
(R)-tetrahydro-2H-pyran-3-amin hydroclorua (1,00g, 7,27mmol) trong axetonitril (5mL) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp chứa DIPEA (3,16 ml, 18,2mmol) và etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (1,61g, 7,27mmol) trong axetonitril (30mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 5 phút trong không khí. Hỗn dịch thu được được khuấy trong 4 giờ, cho phép làm ấm chậm đến nhiệt độ phòng và khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khô để loại bỏ MeCN, được pha loãng bằng EtOAc (100mL), và rửa bằng nước sau đó là nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$, lọc và làm bay hơi. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 50% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất mong muốn (0,936g, 45%) dưới dạng dầu màu vàng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,33 (3H, t), 1,57 (1H, dt), 1,71 (2H, dtd), 1,91 (1H, ddt), 3,48 (1H, dd), 3,55 - 3,66 (2H, m), 3,75 (1H, dd), 4,11 - 4,2 (1H, m), 4,33 (2H, q), 8,58 (1H, d), 8,65 (1H, s); *m/z* MH^+ 286.

Hợp chất trung gian 36: Axit 2-clo-4-[[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic



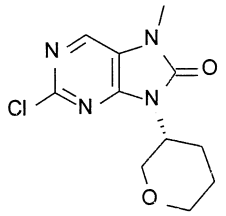
Lithi hydroxit hydrat (276mg, 6,57mmol) được bổ sung theo phần vào etyl 2-clo-4-[[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat (939mg, 3,29mmol) trong THF (1,23mL) và nước (4,10mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất rắn màu trắng thu được được lọc để thu được hợp chất mong muốn (806mg, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng mà được làm khô trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 45°C qua đêm; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,56 (1H, dq), 1,70 (2H, ddt), 1,91 (1H, ddt), 3,46 (1H, dd), 3,60 (2H, t), 3,76 (1H, dd), 4,12 (1H, d), 8,61 (1H, s), 8,77 (1H, d); *m/z* MH^+ 258.

Hợp chất trung gian 37: 2-clo-9-[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]-7H-purin-8-on



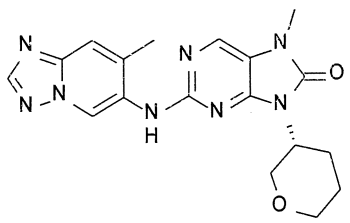
Diphenylphosphoryl azit (0,674 mL, 3,13mmol) được bổ sung theo phần vào dung dịch chứa axit 2-clo-4-[[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic (806mg, 3,13mmol) và trietylamin (0,436 mL, 3,13mmol) trong THF (17,3mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 24 h, sau đó được để nguội và rót vào nước (20mL). THF được loại bỏ trong điều kiện chân không làm cho chất kết tủa trắng được tạo thành trong nước. Chất kết tủa được thu nhận bằng cách lọc và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (565mg, 71%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,64 - 1,83 (2H, m), 1,93 (1H, d), 2,42 - 2,49 (1H, m), 3,35 (1H, dd), 3,8 - 3,92 (3H, m), 4,21 - 4,36 (1H, m), 8,13 (1H, s), 11,6 (1H, s); *m/z* MH^+ 255.

Hợp chất trung gian 38: 2-clo-7-metyl-9-[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]purin-8-on



Natri hydrit (60%) (133mg, 3,33mmol) được bổ sung theo phần vào 2-clo-9-[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]-7H-purin-8-on (565mg, 2,22mmol) trong DMF (5,13mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút sau đó là iodometan (416µL, 6,66mmol) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ bể đá trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ngừng bằng nước (50mL) và kết tủa thu được được lọc ra và làm khô qua đêm để thu được hợp chất mong muốn (535mg, 90%) dưới dạng chất rắn màu trắng mà được sử dụng trực tiếp ở bước tiếp theo; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,73 (2H, dddd), 1,94 (1H, d), 2,41 - 2,49 (1H, m), 3,34 - 3,38 (1H, m), 3,36 (3H, s), 3,81 - 3,92 (3H, m), 4,24 - 4,36 (1H, m), 8,36 (1H, s); *m/z* MH^+ 269.

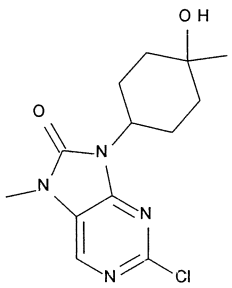
Ví dụ 8: (R)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Xesi cacbonat (364mg, 1,12mmol) được bổ sung theo phần vào 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (83mg, 0,56mmol) và 2-clo-7-metyl-9-[(3R)-tetrahydropyran-3-yl]purin-8-on (150mg, 0,56mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ phòng và khử khí bằng cách xục nitơ qua hỗn hợp trong 5 phút. Brettphos precat G3 (51mg, 0,06mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng DCM và lọc. Lớp DCM được làm bay hơi và phần cắn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM, sau đó được nghiền nhỏ bằng MeCN, lọc và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (92mg, 43%) là chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,59 - 1,77 (2H, m), 1,90 (1H, d), 2,41 (3H, s), 2,43 - 2,49 (1H,

m), 3,25 (1H, td), 3,31 (3H, s), 3,76 - 3,88 (2H, m), 3,92 (1H, t), 4,27 (1H, ddt), 7,72 (1H, s), 8,12 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,66 (1H, s), 9,19 (1H, s); *m/z* MH^+ 381.

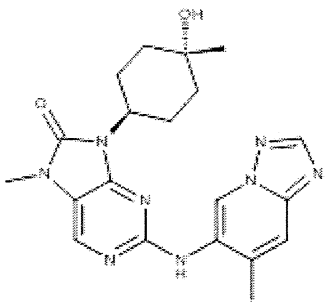
Hợp chất trung gian 39: 2-clo-9-(4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



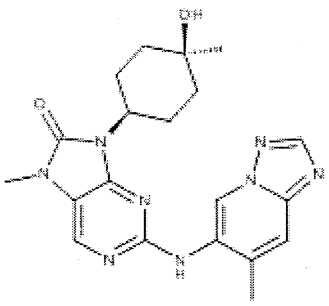
Metyl magie bromua (3M, 0,89 mL, 2,67mmol) được bổ sung vào 2-clo-7-metyl-9-(4-oxoxyclohexyl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (500mg, 1,78mmol) trong THF (10mL) ở nhiệt độ 0°C trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 4 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất mong muốn (400mg, 76%) dưới dạng chất rắn màu trắng (hỗn hợp của các đồng phân không đối quang); ^{1}H NMR (Chất đồng phân không đối quang chính) (300 MHz, $CDCl_3$) 1,30 (3H, s), 1,47 (1H, s), 1,51 - 1,74 (4H, m), 1,76 - 92 (2H, m), 2,62 - 2,83 (2H, m), 3,44 (3H, s), 4,26 - 4,50 (1H, m), 8,01 (1H, s); *m/z* MH^+ 297.

Ví dụ 9: 9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on và

Ví dụ 10:9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Ví dụ 9



Ví dụ 10

Brettphos precat G3 (169mg, 0,20mmol) và 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-di-i-propoxy-1,1'-biphenyl (94mg, 0,20mmol) được bổ sung vào 2-clo-9-(4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (300mg, 1,01mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (180mg, 1,21mmol) và xesi cacbonat (659mg, 2,02mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) trong nitơ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 5 h. Hợp chất thô này được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được 9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (73mg, 18%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 0,66 (3H, s), 1,33 - 1,45 (2H, m), 1,45 - 1,57 (4H, m), 2,11 - 2,27 (2H, m), 2,33 (3H, s), 3,29 (3H, s), 3,99 - 4,13 (1H, m), 4,33 (1H, s), 7,71 (1H, s), 8,10 (1H, s), 8,38 (1H, s), 8,70 (1H, s), 8,97 (1H, s); *m/z* MH^+ 409; và 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (190mg, 46%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,15 (3H, s), 1,34 - 1,51 (4H, m), 1,66 (2H, d), 2,39 (3H, s), 2,57 - 2,73 (2H, m), 3,29 (3H, s), 4,04 (1H, s), 4,08 - 4,21 (1H, m), 7,70 (1H, s), 8,05 (1H, s), 8,38 (1H, s), 8,59 (1H, s), 9,14 (1H, s); *m/z* MH^+ 409.

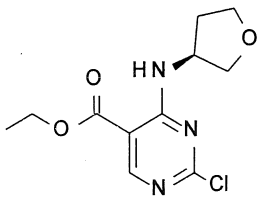
Dạng A

Hợp chất cuối cùng, 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on, được phân tích bằng XRPD và DSC và tìm thấy dưới dạng tinh thể. XRPD của mẫu của nguyên liệu thu được sinh ra mẫu nhiễu xạ như được thể hiện trên Fig.3. 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on ở dạng A được đặc trưng bởi ít nhất một đỉnh ở giá trị 2θ là 8,8° và 12,7°, như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα. 10 đỉnh rõ nhất của XRPD được trình bày trong Bảng B.

Bảng B: Mười đỉnh XRPD rõ nhất của 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on ở dạng A.

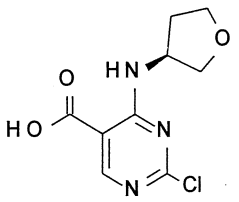
Góc 2-Theta (2θ)	Cường độ %
12,7	100
14,8	83,3
8,8	82,3
23,8	57,4
16,5	53,1
5,1	43,6
13,0	42,6
10,3	42
13,8	40,3
24,2	38,6

Hợp chất trung gian 40: etyl 2-clo-4-[[(3*S*)-tetrahydrofuran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat



DIPEA (4,74 mL, 27,1mmol) được bổ sung từng giọt vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (5g, 22,6mmol) và (*S*)-tetrahydrofuran-3-amin (1,97g, 22,6mmol) trong axetonitril (100mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 2 phút. Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% EtOAc trong ete dầu mỏ, để thu được hợp chất mong muốn (4,60g, 75%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz , DMSO) 1,32 (3H, t), 1,83 - 1,95 (1H, m), 2,21 - 2,35 (1H, m), 3,65 (1H, dd), 3,69 - 3,92 (3H, m), 4,27 - 4,37 (2H, m), 4,57 - 4,68 (1H, m), 8,44 (1H, d), 8,63 (1H, s); *m/z* MH^+ 272.

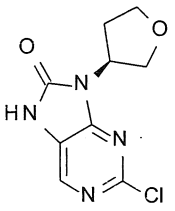
Hợp chất trung gian 41: Axit 2-clo-4-[[(3*S*)-tetrahydrofuran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic



LiOH (0,811g, 33,9mmol) được bổ sung theo phần vào etyl 2-clo-4-[[(3*S*)-tetrahydrofuran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylat (4,60g, 16,93mmol) trong THF

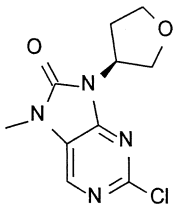
(50mL) và nước (25mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng cho phép làm ấm đến nhiệt độ phòng, được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, một phần được cô trong điều kiện chân không và axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa thu được được phân tách bằng cách lọc, rửa bằng nước (20mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (3,50g, 85%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,81 - 1,93 (1H, m), 2,21 - 2,35 (1H, m), 3,60 - 3,68 (1H, m), 3,69 - 3,94 (3H, m), 4,56 - 4,68 (1H, m), 8,61 (1H, s), 8,65 (1H, s) 13,84 (1H, s); *m/z* MH^+ 244.

Hợp chất trung gian 42: 2-clo-9-[(3*S*)-tetrahydro-3-furanyl]-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on



Diphenylphosphoryl azit (3,10mL, 14,37mmol) được bổ sung theo phần vào axit 2-clo-4-[[(3*S*)-tetrahydrofuran-3-yl]amino]pyrimidin-5-carboxylic (3,5g, 14,4mmol) và Et_3N (2,00mL, 14,4mmol) trong THF (100mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 80°C trong 2 ngày. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 50% EtOAc trong ete dầu mỏ, để thu được hợp chất mong muốn (3,20g, 93%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,16 - 2,32 (1H, m), 2,35 - 2,48 (1H, m), 3,81 - 3,92 (2H, m), 3,97 (1H, t), 4,10 (1H, q), 4,91 - 5,03 (1H, m), 8,14 (1H, s), 11,66 (1H, s); *m/z* MH^+ 241.

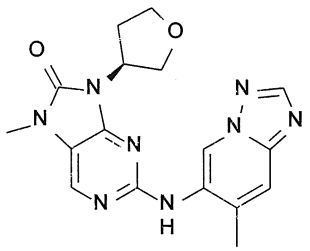
Hợp chất trung gian 43: 2-clo-7-metyl-9-[(3*S*)-tetrahydro-3-furanyl]-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on



NaH (0,532g, 13,30mmol) được bổ sung theo phần vào 2-clo-9-[(3S)-tetrahydro-3-furanyl]-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (3,2g, 13,30mmol) trong DMF (30mL) ở nhiệt độ

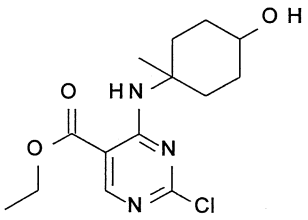
0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. MeI (2,49 mL, 39,9mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, sau đó được cho ngừng bằng (5mL) và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 40% EtOAc trong ete dầu mỏ, để thu được hợp chất mong muốn (2,90g, 86%) dưới dạng chất rắn màu vàng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 2,18 - 2,32 (1H, m), 2,35 - 2,48 (1H, m), 3,36 (3H, s), 3,82 - 3,94 (2H, m), 3,98 (1H, t), 4,11 (1H, q), 4,95 - 5,07 (1H, m), 8,36 (1H, s); *m/z* MH^+ 255.

Ví dụ 11: (S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



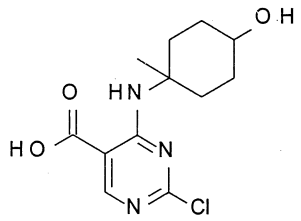
RuPhos Pd (13,96mg, 0,02mmol) được bổ sung vào 2-clo-7-metyl-9-[(3*S*)-tetrahydro-3-furanyl]-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (85mg, 0,33mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (49,5mg, 0,33mmol), RuPhos (15,57mg, 0,03mmol) và Cs_2CO_3 (326mg, 1,00mmol) trong 1,4-dioxan (1mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 16 giờ, sau đó được để nguội đến nhiệt độ phòng và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng sắc ký C18 nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 55% MeOH trong nước với 0,1% axit formic để thu được hợp chất mong muốn (87mg, 71%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (300 MHz, CD_3OD) 2,30 - 2,40 (1H, m), 2,47 - 2,55 (1H, m), 2,51 (3H, s), 3,42 (3H, s), 3,87 (1H, q), 4,00 - 4,14 (2H, m), 4,20 (1H, q), 5,02 - 5,30 (1H, m), 7,64 (1H, s), 8,07 (1H, s), 8,33 (1H, s), 9,43 (1H, s), proton NH không được quan sát thấy; *m/z* MH^+ 367.

Hợp chất trung gian 44: etyl 2-clo-4-((4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat



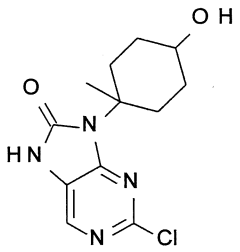
DIPEA (4,28 mL, 24,5mmol) được bổ sung từng giọt vào etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (2,46g, 11,1mmol) và 4-amino-4-metyl-xyclohexanol hydroclorua (2,00g, 11,1mmol) trong axetonitril (40mL) ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được phép làm ấm đến nhiệt độ phòng, sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ và cô trong điều kiện chân không, được pha loãnh bằng EtOAc (300mL) và rửa bằng nước muối bão hòa (100mL x 2). Lớp hữu cơ được tách và làm khô qua $MgSO_4$ và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 20% EtOAc trong n-heptan, để thu được hợp chất mong muốn (2,82g, 81%) là gôm vàng nhạt; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,36 - 1,44 (3H, m), 1,44 - 1,58 (6H, m), 1,57 - 1,71 (1H, m), 1,72 - 2,13 (3H, m), 2,41 - 2,54 (2H, m), 3,63 - 3,75 (1H, m), 4,36 (2H, q), 8,52 - 8,59 (1H, m), 8,67 (1H, d); *m/z* MH^+ 314.

Hợp chất trung gian 45: Axit 2-clo-4-((4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic



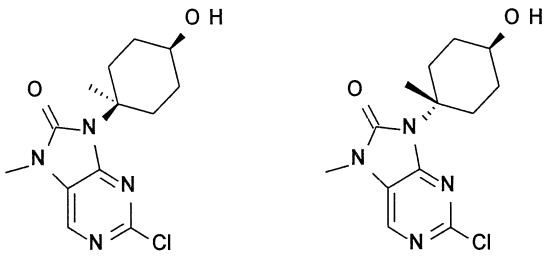
LiOH (0,43g, 17,97mmol) được bổ sung theo phần vào etyl 2-clo-4-((4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylat (2,82g, 8,99mmol) trong THF (25mL) và nước (25mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 h, sau đó một phần được cô trong điều kiện chân không và axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa thu được được tách bằng cách lọc, rửa bằng nước (20mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn (2,17g, 85%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,18 - 1,32 (2H, m), 1,34 - 1,52 (2H, m), 1,43 (3H, s), 1,52 - 1,79 (2H, m), 2,21 - 2,30 (2H, m), 3,37 - 3,49 (1H, m), 4,55 (1H, s), 8,59 (1H, d), 8,74 (1H, s), 13,85 (1H, s); *m/z* MH^+ 286.

Hợp chất trung gian 46: 2-clo-9-(4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on



Diphenylphosphoryl azide (1,64 mL, 7,59mmol) được bổ sung theo phần vào axit 2-clo-4-((4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)amino)pyrimidin-5-carboxylic (2,17g, 7,59mmol) và Et_3N (1,06 mL, 7,59mmol) trong THF (20mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 80°C trong 2 ngày, sau đó được cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 50% EtOAc trong DCM, để thu được hợp chất mong muốn (1,79g, 83%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,09 - 1,25 (2H, m), 1,34 (3H, s), 1,36 - 1,64 (2H, m), 1,65 - 1,77 (2H, m), 3,17 (2H, d), 3,41 - 3,57 (1H, m), 4,07 - 4,15 (1H, m), 8,10 (1H, d), 11,61 (1H, s); *m/z* MH^+ 283.

Hợp chất trung gian 47 và 48: 2-clo-9-((1*s*,4*s*)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on và 2-clo-9-((1*r*,4*r*)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on



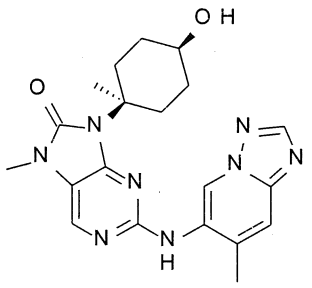
Dung dịch chứa NaOH (1,27g, 31,66mmol) trong nước (24mL) được bổ sung vào hỗn hợp được khuấy chứa 2-clo-9-(4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (1,79g, 6,33mmol), iodometan (1,97 mL, 31,66mmol) và tetrabutylamoni bromua (0,204g, 0,63mmol) trong DCM (40mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, sau đó được chiết bằng DCM (3 x 50mL). Các lớp kết hợp được làm khô trên $MgSO_4$, lọc và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô

thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 40% EtOAc trong DCM, để thu được các hợp chất mong muốn:

Sản phẩm phụ 2-clo-9-((1*s*,4*s*)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (0,26g, 14%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,66 (3H, s), 1,67 - 1,85 (4H, m), 2,19 - 2,31 (2H, m), 2,91 - 3,02 (2H, m), 3,41 (3H, s), 3,89 - 3,99 (1H, m), 7,99 (1H, s), một proton có khả năng trao đổi không được quan sát thấy; *m/z* MH^+ 297.

Sản phẩm chính 2-clo-9-((1*r*,4*r*)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (1,44g, 77%) dưới dạng chất rắn màu trắng.; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,42 - 1,50 (2H, m), 1,51 (3H, s), 1,58 - 1,88 (2H, m), 1,88 - 2,00 (2H, m), 3,40 (3H, s), 3,52 - 3,63 (2H, m), 3,72 - 3,84 (1H, m), 7,99 (1H, s), một proton có khả năng trao đổi không được quan sát thấy; *m/z* MH^+ 297.

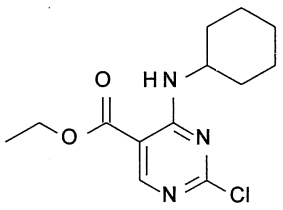
Ví dụ 12: 9-((1s,4s)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



RuPhos Pd (5,64mg, 6,74µmol) được bổ sung vào 2-clo-9-((1*s*,4*s*)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-7,9-dihydro-8*H*-purin-8-on (40mg, 0,13mmol), 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (22mg, 0,15mmol), Cs_2CO_3 (132mg, 0,40mmol) và RuPhos (6,3mg, 0,01mmol) trong 1,4-dioxan (4mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong 3 giờ, được để nguội đến nhiệt độ phòng và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô này được tinh chế bằng sắc ký nhanh C18 nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 90% MeOH trong nước, rửa giải bằng 0,1% axit formic, sau đó được tinh chế thêm bằng HPLC điều chế, để thu được hợp chất mong muốn (20mg, 36%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO) 1,34 - 1,43 (2H, m), 1,43 (3H, s), 1,50 - 1,58 (2H, m), 1,96 (2H, t), 2,38 (3H, s), 2,78 - 2,83 (2H, m), 3,26 (3H, s), 3,60 - 3,61 (1H, m),

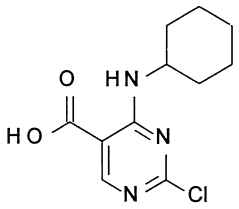
4,40 (1H, d), 7,70 (1H, m), 8,09 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,55 (1H, s), 9,04 (1H, s); *m/z* MH^+ 409.

Hợp chất trung gian 49: etyl 2-clo-4-(xyclohexylamino)pyrimidin-5-carboxylat



Xyclohexanamin (4,92 ml, 43,0mmol) trong axetonitril (30mL) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp chứa DIPEA (11,2 mL, 64,5mmol) và etyl 2,4-diclopyrimidin-5-carboxylat (9,5g, 43,0mmol) trong axetonitril (200mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 5 phút trong không khí. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 4 giờ, cho phép làm ấm chậm đến nhiệt độ phòng trong bể nước đá tan. Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện chân không, được pha loãng bằng EtOAc (200mL), và rửa bằng nước (75mL) và nước muối bão hòa (50mL). Lớp hữu cơ được làm khô trên $MgSO_4$ và cô trong điều kiện chân không. Sản phẩm thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 50% EtOAc trong heptan, để thu được hợp chất mong muốn (8,84g, 73%) dưới dạng dầu không màu mà được hóa rắn khi để lắng; ^1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 1,24 - 1,35 (3H, m), 1,38 (3H, t), 1,38 -1,51 (2H, m), 1,63 (1H, dt), 1,75 (2H, dq), 1,92 - 2,02 (2H, m), 4,06 - 4,21 (1H, m), 4,35 (2H, q), 8,36 (1H, d), 8,64 (1H, s); *m/z*: MH^+ 284.

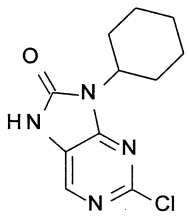
Hợp chất trung gian 50: Axit 2-clo-4-(xyclohexylamino)pyrimidin-5-carboxylic



Lithi hydroxit hydrat (2,61g, 62,3mmol) được bổ sung theo phần vào etyl 2-clo-4-(xyclohexylamino)pyrimidin-5-carboxylat (8,84g, 31,2mmol) trong THF (50mL) và nước (50mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ, sau đó một phần được cô trong điều kiện chân không, và axit hóa bằng 2 M HCl nước. Chất kết tủa thu được được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô

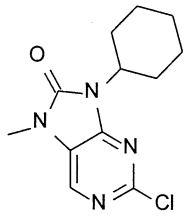
trong điều kiện chân không ở 50°C trong 2 ngày để thu được hợp chất mong muốn (7,58g, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,18 - 1,45 (5H, m), 1,52 - 1,62 (1H, m), 1,64 - 1,73 (2H, m), 1,83 - 1,95 (2H, m), 3,91 - 4,04 (1H, m), 8,54 - 8,6 (2H, m), 13,74 (1H, s); *m/z*: MH^+ 256.

Hợp chất trung gian 51: 2-clo-9-xyclohexyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Diphenylphosphoryl azit (6,39 ml, 29,6mmol) được bổ sung theo phần vào dung dịch chứa axit 2-clo-4-(xyclohexylamino)pyrimidin-5-carboxylic (7,58g, 29,6mmol) và trietylamin (4,1 ml, 29,6mmol) trong THF (150mL) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 26 h. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng sau đó được rót vào nước (80mL), và hỗn hợp thu được một phần được cô trong điều kiện chân không. Chất kết tủa thu được được thu nhận bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô trong điều kiện chân không qua đêm ở 50°C để thu được hợp chất mong muốn (7,69g, 103%) dưới dạng chất rắn màu trắng; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,12 - 1,27 (1H, m), 1,36 (2H, qd), 1,63 - 1,7 (1H, m), 1,71 - 1,79 (2H, m), 1,79 - 1,88 (2H, m), 2,18 (2H, qd), 4,14 (1H, tt), 8,11 (1H, s), 11,57 (1H, s); *m/z* MH^+ 253.

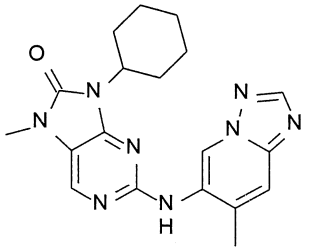
Hợp chất trung gian 52: 2-clo-9-xyclohexyl-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Natri hydrit (60%) (0,261g, 6,53mmol) được bổ sung từng phần vào 2-clo-9-xyclohexyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (1,1g, 4,35mmol) trong DMF (10mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút sau đó iodometan (0,817 mL, 13,16mmol) được bổ sung từng giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, sau đó được làm ngừng bằng nước (50mL) và kết tủa thu được được thu nhận bằng cách lọc và làm khô trong điều kiện chân không qua đêm để thu được hợp chất

mong muốn (1,08g, 93%) dưới dạng chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,21 (1H, ddd), 1,38 (2H, tdd), 1,65 (1H, d), 1,74 (2H, d), 1,83 (2H, d), 2,09 - 2,26 (2H, m), 3,30 (3H, s), 4,18 (1H, tt), 8,34 (1H, s); *m/z* MH^+ 267.

Ví dụ 13: 9-xyclohexyl-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on



Xesi cacbonat (733mg, 2,25mmol) được bổ sung theo phần vào 2-clo-9-xyclohexyl-7-metyl-7,9-dihydro-8H-purin-8-on (300mg, 1,12mmol) và 7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-amin (167mg, 1,12mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được khử khí bằng cách xục nitơ qua hỗn hợp trong 5 phút. Brettphos precat G3 (102mg, 0,11mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng DCM và lọc. Chất lọc được cô trong điều kiện chân không và phần cắn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM, sau đó được tinh chế thêm bằng cách tán nhỏ bằng MeCN và làm khô trong điều kiện chân không ở nhiệt độ 45°C qua đêm để thu được hợp chất mong muốn (233mg, 55%) dưới dạng chất rắn màu kem; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) 1,16 (1H, q), 1,33 (2H, q), 1,62 (1H, d), 1,71 (2H, d), 1,80 (2H, d), 2,14 - 2,3 (2H, m), 2,42 (3H, s), 3,31 (3H, s), 4,16 (1H, ddd), 7,71 (1H, s), 8,11 (1H, s), 8,37 (1H, s), 8,60 (1H, s), 9,20 (1H, s); *m/z* MH^+ 379.

Tài liệu tham khảo

An J et al. DNA-PKcs plays a dominant role in the regulation of H2AX phosphorylation in response to DNA damage and cell cycle progression. BMC Mol Biol 2010; 11: 18

Ashley AK. DNA-PK phosphorylation of RPA32 Ser4/Ser8 regulates replication tình trạng căng thẳng checkpoint activation, fork restart, homologous recombination and mitotic catastrophe. DNA Repair 2014; 21: 131-139

Buisson R et al. Distinct but concerted roles of ATR, DNA-PK and Chk1 in countering replication tình trạng căng thẳng during S phase. Molecular Cell 2015; 59: 1011-1024

Chan DW et al. Autophosphorylation of the DNA-dependent protein kinase catalytic subunit is required for rejoining of DNA double-strand breaks. Genes Dev 2002; 16: 2333-2338

Ciszewski WM et al. DNA-PK inhibition by NU7441 sensitizes breast cancer cells to ionizing radiation and doxorubicin. Breast Cancer Res Treat 2014; 143: 47-55

Deitlein F et al. A functional cancer genomics screen identifies a druggable synthetic lethal interaction between MSH3 and PRKDC. Cancer Discovery 2014; 4: 592-605

Douglas P et al. Identification of in vitro and in vivo phosphorylation sites in the catalytic subunit of the DNA dependent protein kinase. Biochem J 2002; 368: 243-251

Escribano-diaz C.et a. A cell cycle dependentregulatory cicuit composed of 53BP1-RIF1 and BRCA1-CtIP controls DNA reapir pathway choice. Mol Cell 2013; 49: 872-883

Goodwin JF and Knudsen KE. Beyond DNA repair: DNA-PK function in cancer. Cancer Discovery 2014; 4: 1126-1139

Goodwin JF et al. A hormone-DNA repair circuit governs the response to genotoxic insult. Cancer Discovery 2013; 3: 1254-1271

Hartlerode AJ and Scully R. Mechanisms of double-strand break repair in somatic mammalian cells. Biochem J 2009; 423: 157-168

Lin Y-F et al. DNA-PKcs is required to maintain stability of Chk1 and claspin for optimal replication tình trạng căng thẳng response. Nucleic Acids Res 2014; 42: 4463-4473

Medunjanin S et al. Interaction of the double strand break repair kinase DNA-PK and estrogen receptor alpha. Mol Biol Cell 2010; 21: 1620-1628

Munck JM et al. Chemosensitization of cancer cells by KU-0060648, a dual inhibitor of DNA-PK and PI-3K. Mol Cancer Ther 2012; 11: 1789-1798

Neal JA and Meek K. Choosing the right path: does DNA-PK help make the decision? Mutat Res 2011; 711: 73-86

Riabinska A et al. Therapeutic targeting of a robust non-oncogene addiction to PRKDC in ATM-defective tumors. Science Translational Medicine 2013; 189: 189ra78

San Filippo J et al. Mechanism of ukaryotic homologous recombination. Annu Rev Biochem 2008; 77: 229-257

Smith GCM and Jackson SP. The DNA dependent kinaza protein. Genes and Development 1999; 13: 916-934

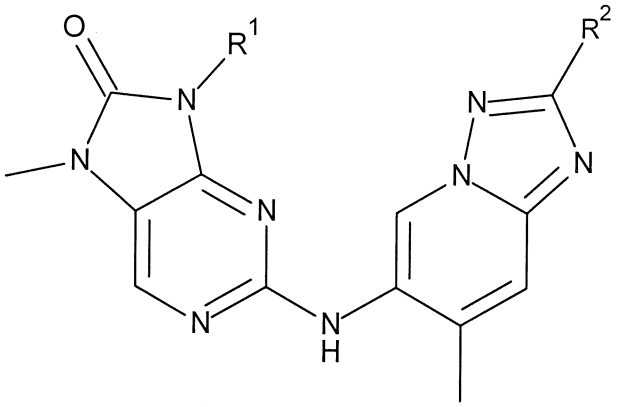
Symington LS and Gautier J. Double strand break end resection and repair pathway choice. Annu Rev Genet 2011; 45: 247-271

Willmore E et al. A novel DNA-dependent protein kinase inhibitor, NU7026, potentiates the cytotoxicity of topoisomerase II poisons used in the treatment of leukemia Blood 2004; 103: 4659-4665

Yoo S and Dynan WS. Geometry of a complex formed by double strand break repair proteins at a single DNA end: recruitment of DNA-PKcs induces inward translocation of Ku protein. Nucleic Acids Res 1999; 27: 4679-4686

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R^1 là vòng xyclohexyl, vòng tetrahydrofuranyl hoặc vòng oxanyl, mỗi vòng này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ hydroxyl, metoxy và metyl; và

R^2 là hydro hoặc metyl.

2. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm 1, trong đó R^1 là oxanyl.

3. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm 2, trong đó R^1 là oxan-4-yl.

4. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm 1, trong đó R^1 là xyclohexyl.

5. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm 4, trong đó R^1 là 1-hydroxy-1-metyl-xyclohex-4-yl.

6. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R^2 là hydro.

7. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

9-((1r,4r)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

2-((2,7-dimetyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7-metyl-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1r,4r)-4-metoxyxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(R)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1r,4r)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

(S)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydrofuran-3-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on;

9-((1s,4s)-4-hydroxy-1-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on; và

9-xyclohexyl-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

8. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on hoặc muối dược dụng của nó.

9. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on.

10. Hợp chất tinh thể có công thức (I), theo điểm 8, trong đó hợp chất tinh thể này là trong đó hợp chất này là 7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-9-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on và có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh ở góc 2-theta bằng 7,6° và 18,7° ± 0,2° như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

11. Hợp chất tinh thể có công thức (I), theo điểm 10, trong đó hợp chất này là có phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1 như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

12. Hợp chất tinh thể có công thức (I), theo điểm 7, trong đó hợp chất này là 9-((1s,4s)-4-hydroxy-4-metylxyclohexyl)-7-metyl-2-((7-metyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-6-yl)amino)-7,9-dihydro-8H-purin-8-on và có phổ nhiễu xạ bột tia X bao gồm các đỉnh ở góc 2-theta bằng 8,8° và 12,7° ± 0,2° như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

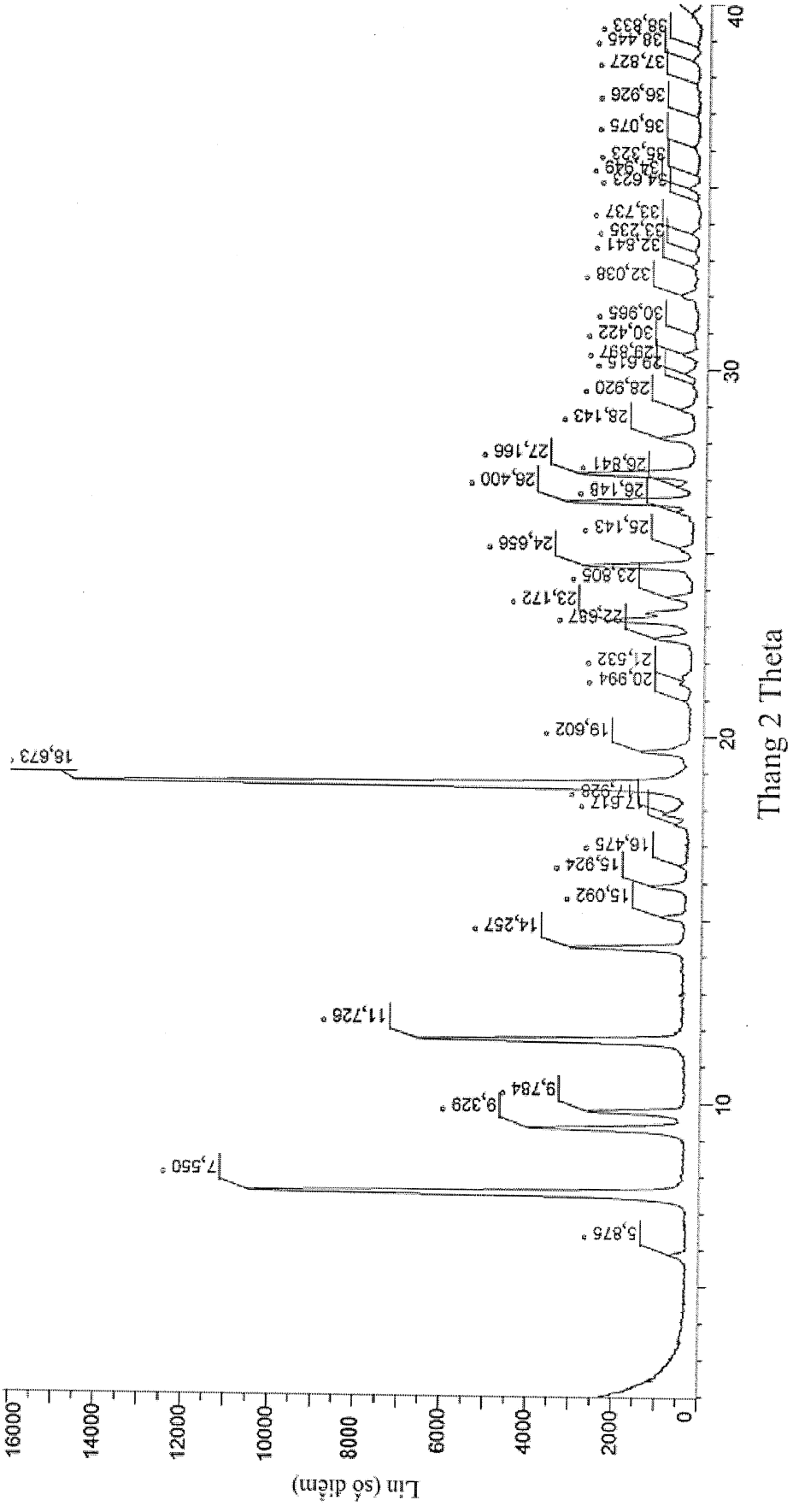
13. Hợp chất tinh thể có công thức (I), theo điểm 12, trong đó hợp chất có phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3 như được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα.

14. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 13, và ít nhất một chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

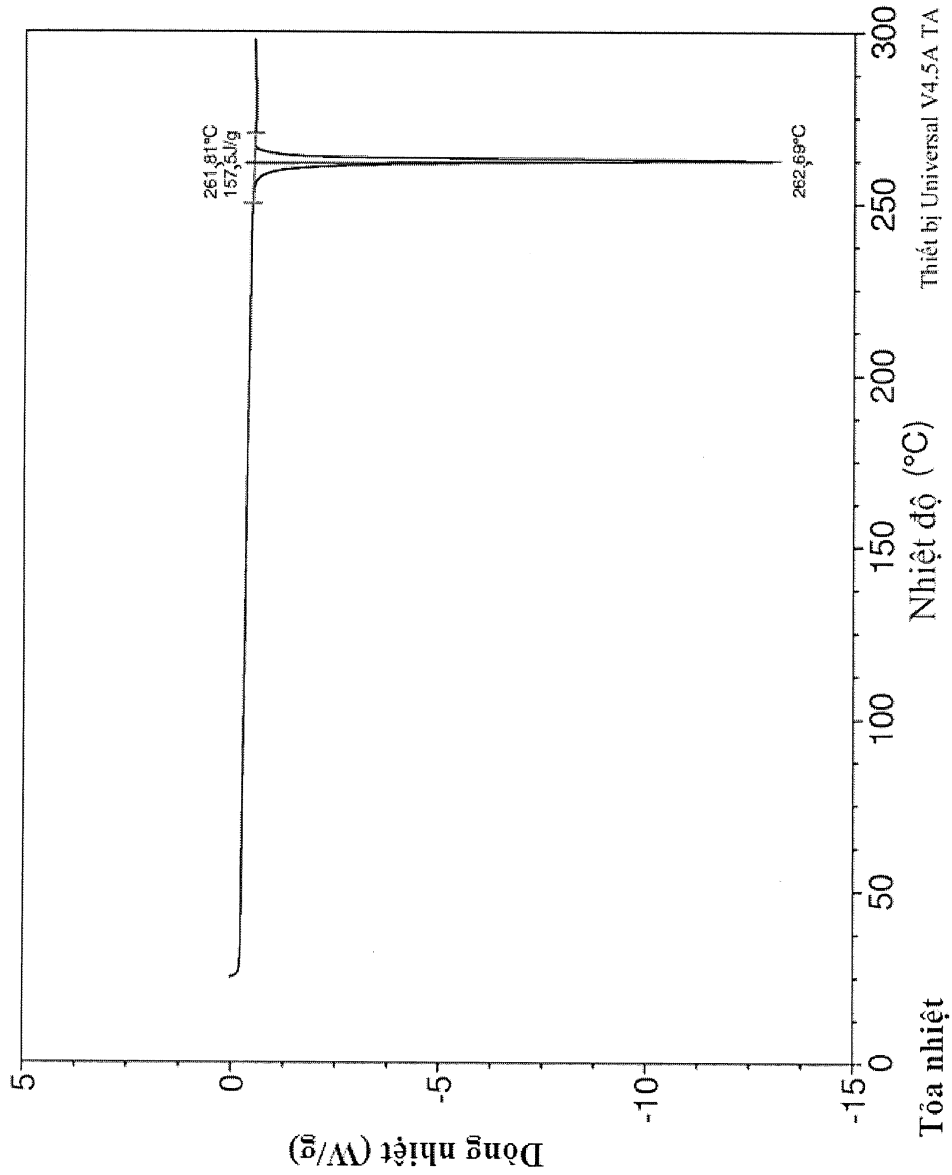
<110> ASTRAZENECA AB
<120> HỢP CHẤT AMINO-TRIAZOLOPYRIDIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
<130> 200585-WO-PCT
<140> PCT/EP2017/083625
<141> 2017-12-19
<150> US62/436619
<151> 2016-12-20
<160> 1
<210> 1
<211> 15
<212> PRT
<213> Trình tự nhân tạo
<220> Peptit nền cho peptit đánh dầu huỳnh quang
<400> 1

Glu	Pro	Pro	Leu	Ser	Gln	Glu	Ala	Phe	Ala	Asp	Leu	Trp	Lys	Lys
1				5				10					15	



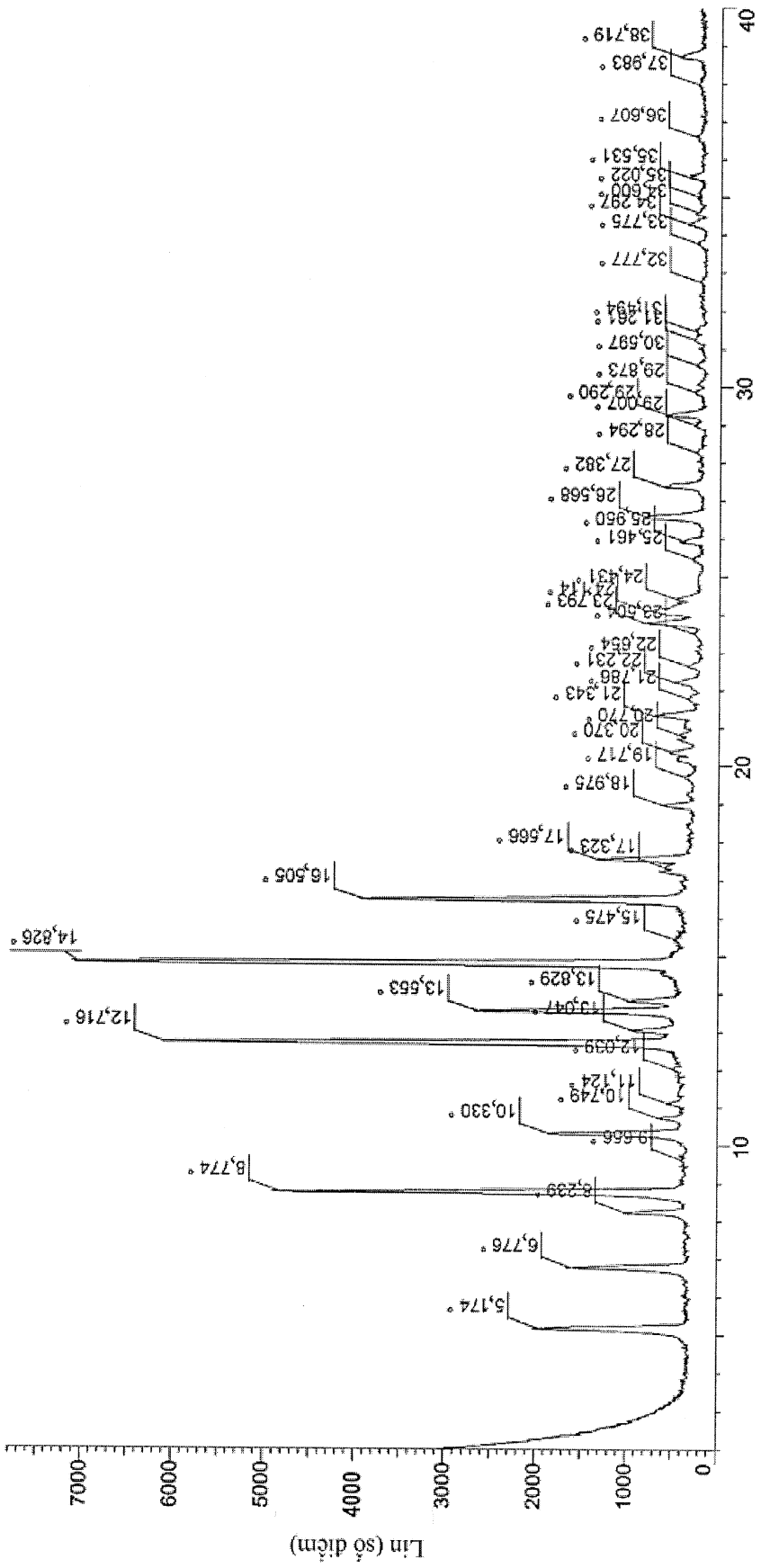
Phổ nhiễu xạ bột tia X của hợp chất A ở dạng A

Fig.1



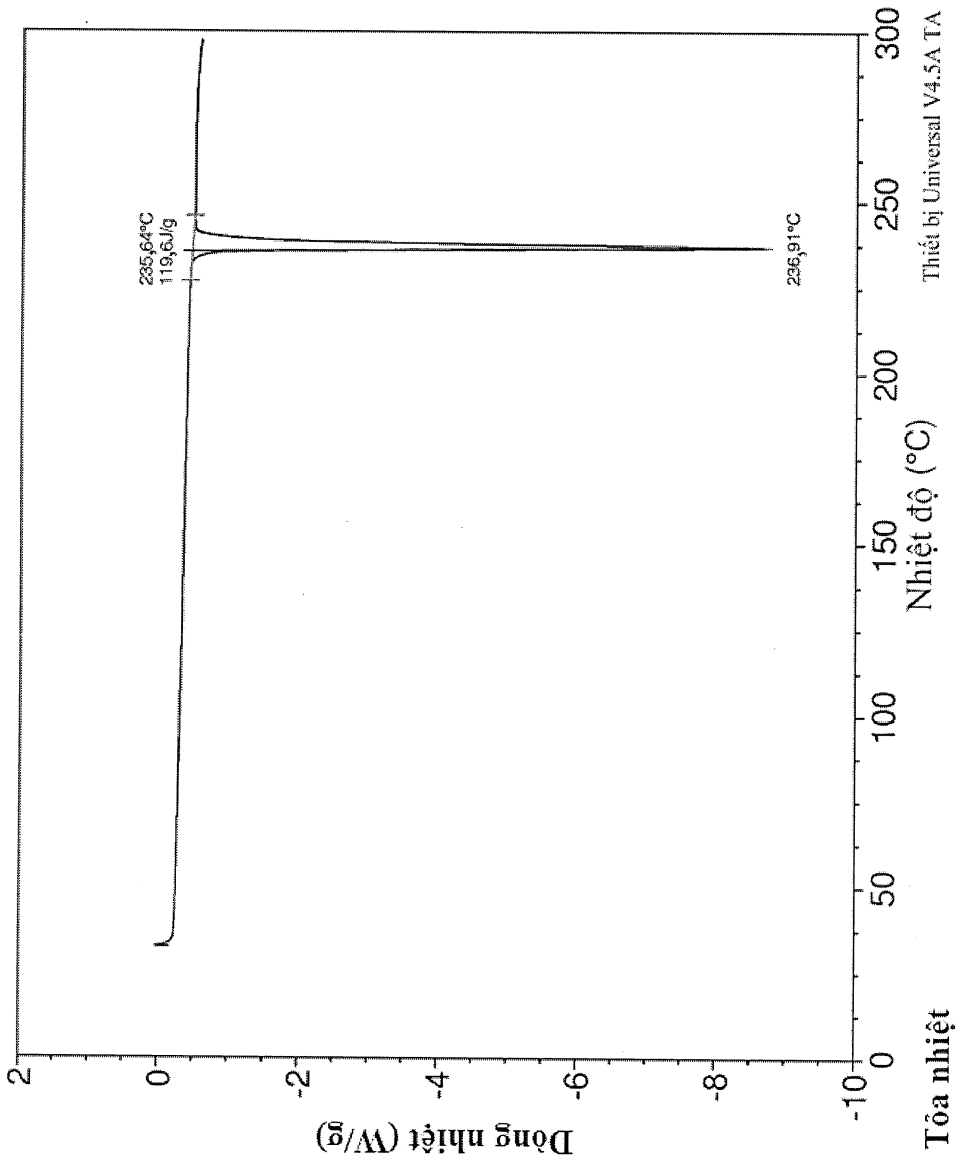
Biểu đồ nhiệt DSC của hợp chất A ở dạng A

Fig.2



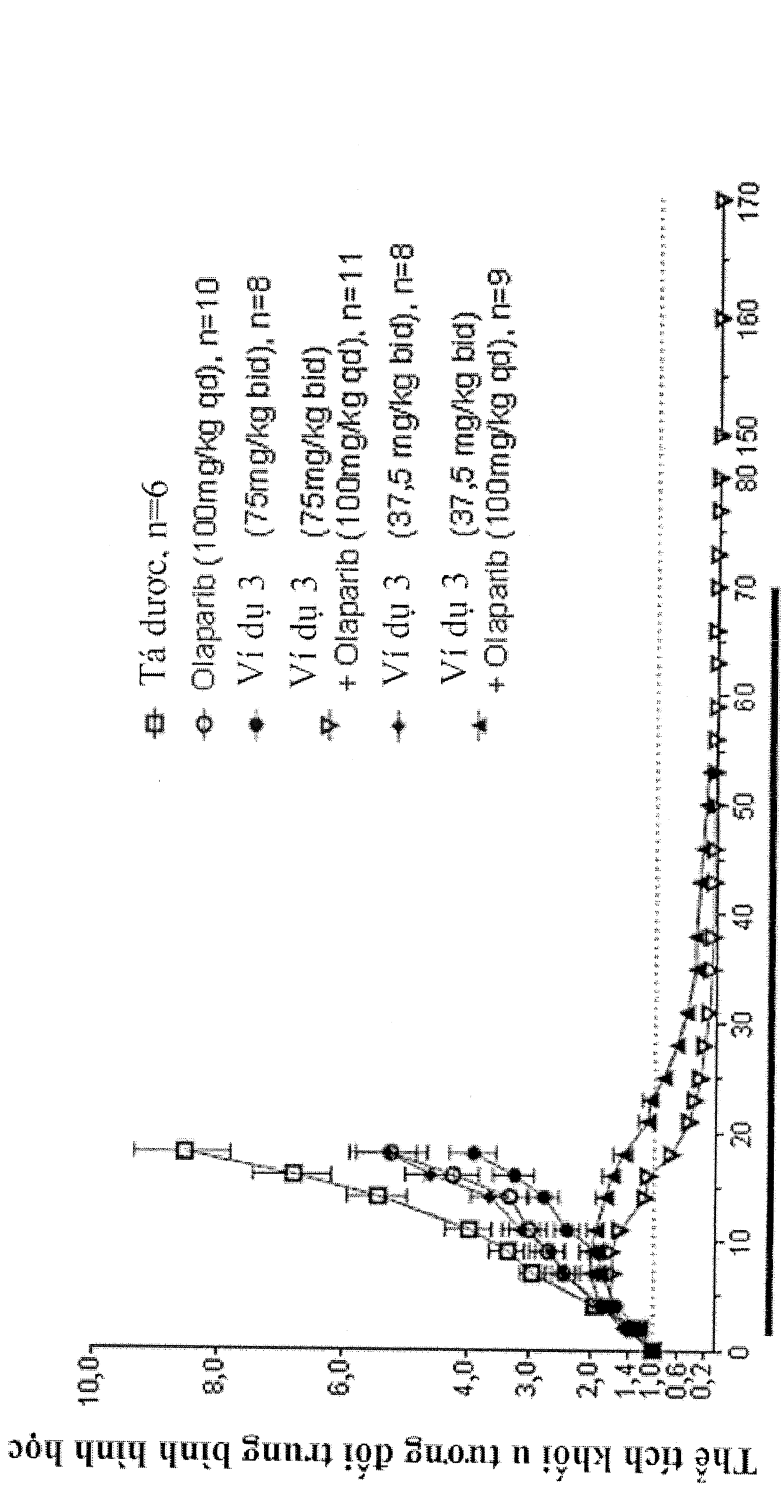
Phổ nhiễu xạ bột tia X của hợp chất B ở dạng A

Fig.3



Biểu đồ nhiệt DSC của hợp chất B ở dạng A

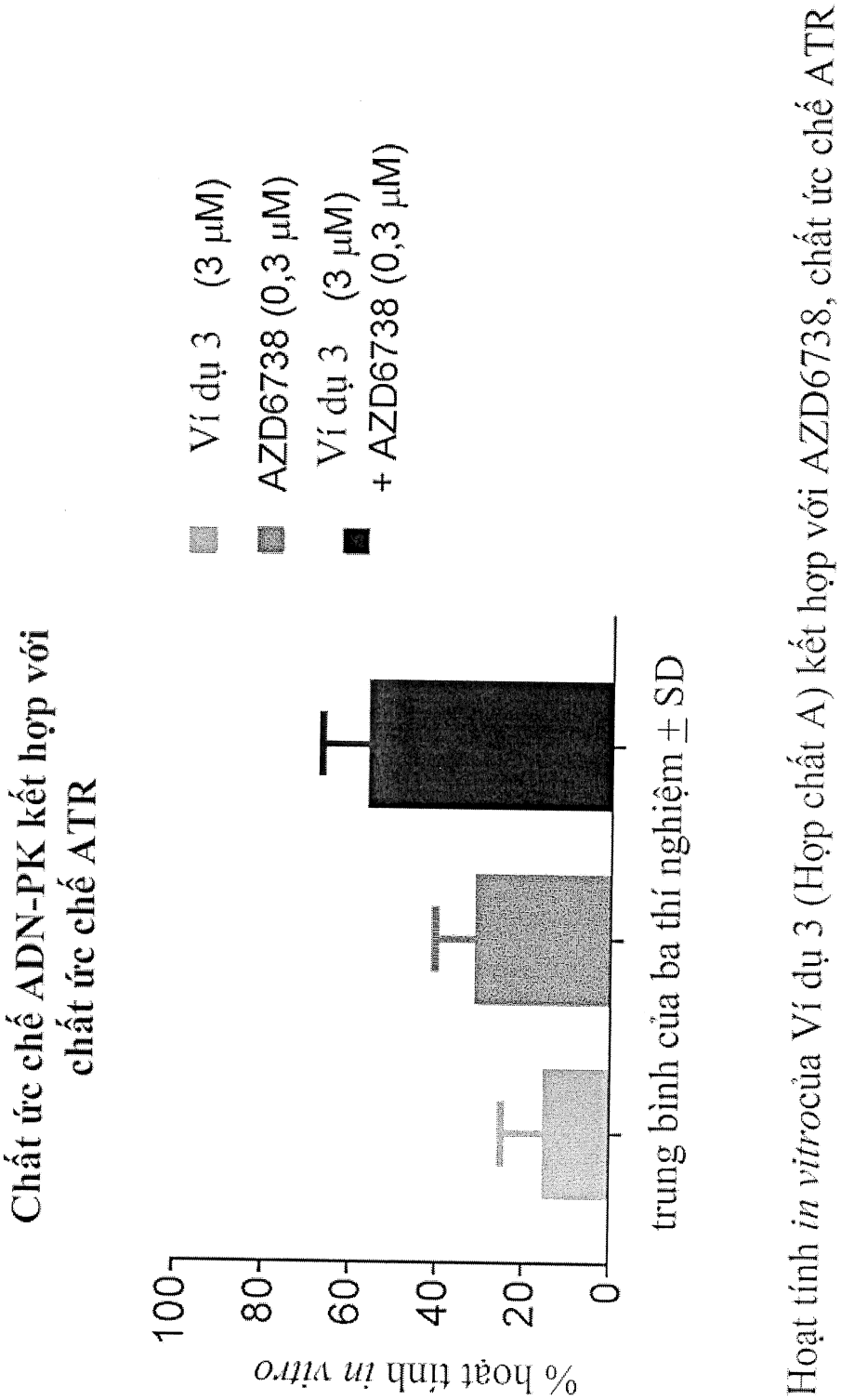
Fig.4



Kích thước khối u 0,23 cm^3 +/- 0,01, thanh sai số=SEM

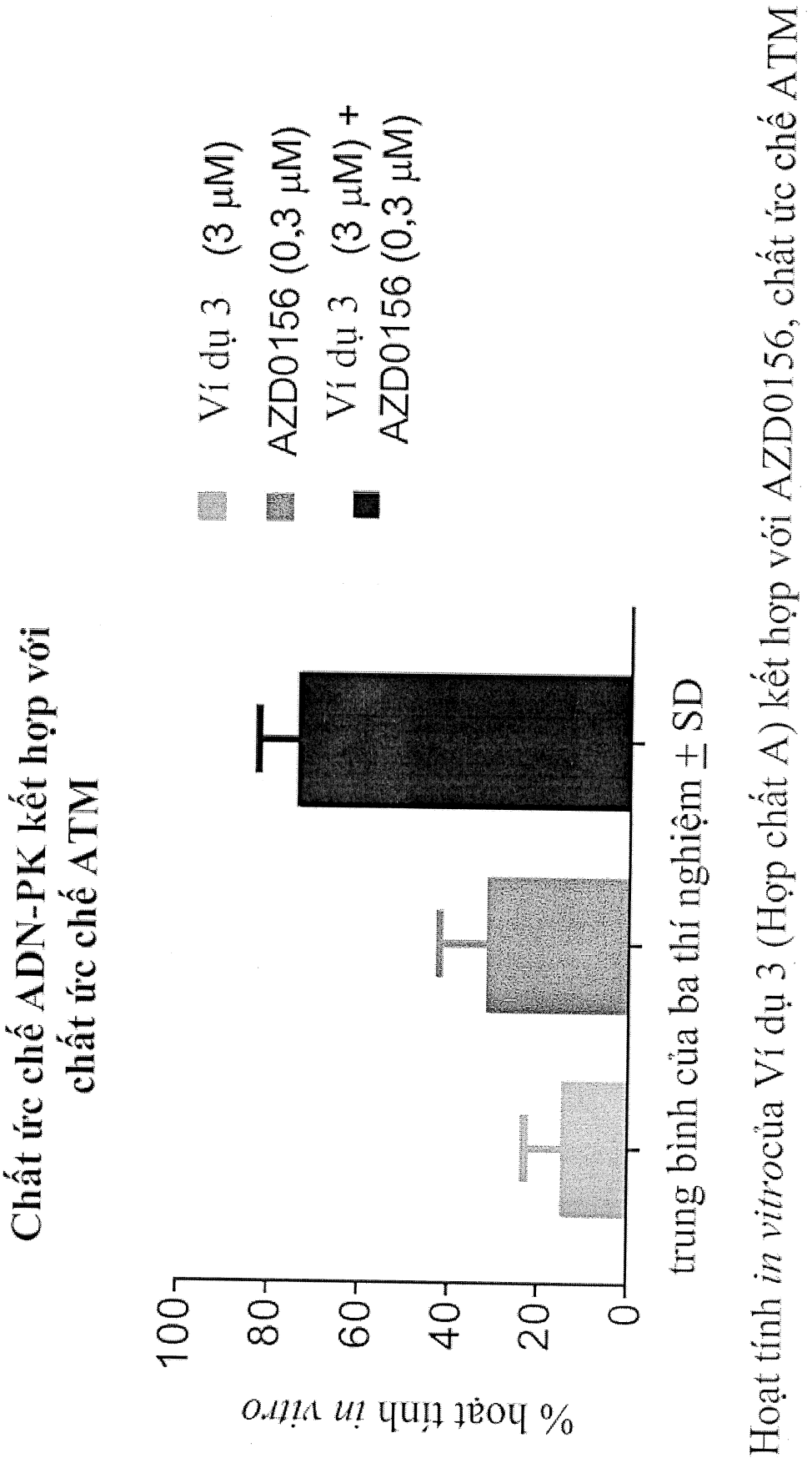
Fig.5

Sự ức chế sinh trưởng khối u ở mẫu chuột ghép ngoại lai bởi Ví dụ 3 (Hợp chất A) kết hợp với Olaparib



Hoạt tính *in vitro* của Ví dụ 3 (Hợp chất A) kết hợp với AZD6738, chất ức chế ATR

Fig.6



Hoạt tính *in vitro* của Ví dụ 3 (Hợp chất A) kết hợp với AZD0156, chất ức chế ATM

Fig.7