



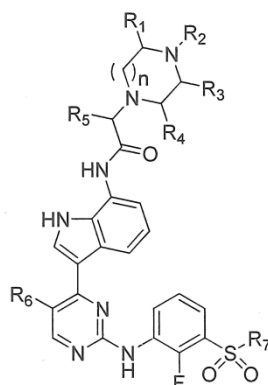
- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)¹⁹ C07D 403/04; A61P 17/14; C07D 403/14; A61K 31/506; A61P 37/00 (13) B



1-0035280

- (21) 1-2019-04440 (22) 16/01/2018
(86) PCT/EP2018/051038 16/01/2018 (87) WO2018/134213 26/07/2018
(30) 62/447,057 17/01/2017 US
(45) 25/04/2023 421 (43) 30/01/2020 382A
(73) ASTRAZENECA AB (SE)
SE-151 85 Södertälje, Sweden
(72) NILSSON, Karl, Magnus (SE); ÅSTRAND, Annika, Birgitta, Margareta (SE);
BERGGREN, Anna, Ingrid, Kristina (SE); JOHANSSON, Johan, R. (SE); LEPISTÖ,
Matti, Juhani (SE); KAWATKAR, Sameer, Pralhad (US); SU, Qibin (US); KETTLE,
Jason, Grant (GB).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

- (54) CHẤT ỨC CHẾ CHỌN LỌC KINAZA LIÊN HỢP VỚI JANUS 1 (JAK1) VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có Công thức (I)



và các muối dược dụng của chúng, trong đó R₁-R₈ có nghĩa bất kỳ trong số các nghĩa được xác định trong bản mô tả. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có Công thức (I).

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có hoạt tính ức chế kinaza liên hợp với Janus 1 (JAK1) chọn lọc. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Họ JAK (kinaza kết hợp với Janus) bao gồm bốn tyrosin kinaza không thụ thể, JAK1, JAK2, JAK3 và Tyk2, mà đóng vai trò quan trọng trong việc biên nạp tín hiệu trung gian bởi xytokin và yếu tố sinh trưởng (Schindler C, và Darnell JE Jr., *Annu. Rev. Biochem.* 1995;64;621-651). Kinaza JAK1 tương tác với, trong số những loại khác, thụ thể của interferon tuýp I (ví dụ, IFNalpha), interferon tuýp II (ví dụ, IFNgamma), chuỗi gamma chung  c (ví dụ, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 và IL-21), và họ interleukin-6 (IL-10, IL-13 và IL-22) (*N Engl J Med* 2013, 368, 161-170). Sau khi các xytokin này liên kết với thụ thể của chúng, xảy ra quá trình oligome hóa thụ thể, dẫn đến đuôi tế bào chất của JAK kinaza được kết hợp di chuyển vào vùng lân cận và tạo điều kiện cho quá trình trans-phosphoryl hóa và hoạt hóa gốc tyrosin trên JAK kinaza. JAK kinaza đã phosphoryl hóa liên kết và hoạt hóa nhiều protein Truyền tín hiệu và hoạt hóa phiên mã (STAT) khác nhau. Các protein STAT này sau đó dime hóa và dịch chuyển vào hạt nhân nơi chúng thực hiện chức năng làm phân tử phát tín hiệu và yếu tố phiên mã và cuối cùng liên kết với trình tự ADN đặc hiệu có mặt trong trình tự khởi động của gen đáp ứng xytokin (Leonard et al., (2000), *J. Allergy Clin. Immunol.* 105:877-888). Nhiều bệnh suy giảm miễn dịch và các bệnh tự miễn khác nhau như dị ứng, bệnh hen, bệnh rụng tóc vùng, từ chối cấy ghép (ghép cùng loài), viêm khớp dạng thấp, teo cơ xơ cứng cột bên và đa xơ cứng, và ung thư rắn và huyết học do gián đoạn tín hiệu trong con đường JAK/STAT. Xem ví dụ, Frank, (1999), *Mol. Med.* 5:432-456 Vijayakrishnan et al, *Trends Pharmacol. Sci* 2011, 32, 25-34 và Flanagan et al., *Open Rheumatol J.* 2012, 6, 232-244; *N Engl J Med* 2013, 368, 161-

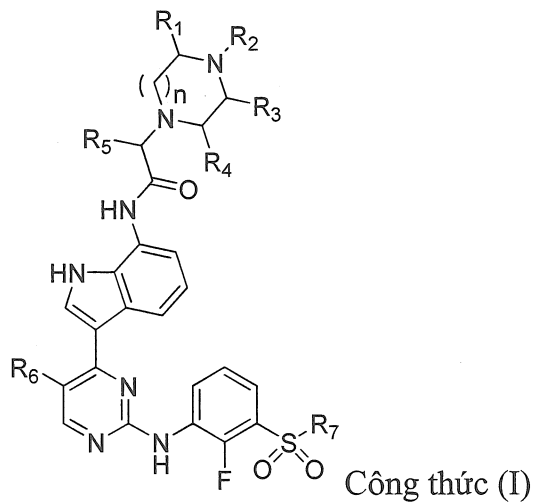
170; *Exp. Dermatol.* 2014, 23, 7-11; *J. Med. Chem.* 2014, 57, 5023-5038, *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1162-74, và *Expert Opin Orp Drug*(2015) 3 (4), 419-431.

Yếu tố quan trọng của JAK1 là khả năng bắt cặp với JAK kinaza khác ở vùng nội bào của các nhóm thụ thể khác nhau. Ví dụ, JAK3 kết hợp với chuỗi gamma chung (γ) của nhiều thụ thể xytokine khác nhau và bắt cặp với JAK1 (*Immunol. Rev.* 2008, 223, 132-142). Đã được chỉ ra rằng JAK1 là có ưu thế so với JAK3, và ức chế JAK1 là đủ để làm bất hoạt sự phát tín hiệu qua chuỗi gamma chung bất kể hoạt tính JAK3 (*Chem. Biol.* 2011, 18 (3), 314-323). Do đó, việc ức chế chọn lọc của JAK1 có thể đủ để điều trị nhiều bệnh viêm và bệnh tự miễn liên quan đến phát tín hiệu xytokin qua con đường JAK1/JAK3-STAT. Tuy nhiên, việc phát triển chất ức chế JAK1 chọn lọc mà có ít đến không có hoạt tính không nhắm đích đối với các JAK kinaza khác là thách thức. Cụ thể là, các hợp chất được xác định là chất ức chế chọn lọc JAK1 hiện trong phát triển lâm sàng chỉ thể hiện tính chọn lọc JAK1 cận biên. (*Future Med. Chem.* (2015) 7(2), 203-235). Ví dụ, tỷ lệ tính chọn lọc JAK1/JAK2 được báo cáo trong thử nghiệm sinh hóa đối với chất ức chế JAK1 trong phát triển hoạt tính để điều trị các bệnh tự miễn, như Filgotinib (*J. Med. Chem.* 2014, 57, 9323-9342) và ABT-494 (WO2015061665 - Fig 1) là 2,8 dựa trên IC_{50} được đo ở xấp xỉ K_m của ATP. Do đó, kỳ vọng là các hợp chất này sẽ có hoạt tính nhắm đích nhất định đối với các JAK kinaza khác và do đó, tác dụng phụ bổ sung mà có thể bị hạn chế với các chất ức chế JAK1 chọn lọc hơn. Do đó, vẫn có nhu cầu để phát triển các chất ức chế JAK1 hiệu lực cao chọn lọc để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1, chẳng hạn, bệnh bạch cầu, u lympho, từ chối cấy ghép (ví dụ, từ chối cấy ghép đảo tụy, ứng dụng cấy ghép tủy xương (ví dụ, bệnh vật chủ với mảnh ghép), các bệnh tự miễn (ví dụ, đái tháo đường tuýp 1), và bệnh viêm (ví dụ, bệnh hen, phản ứng dị ứng), không có tác dụng phụ thực tế hoặc cảm nhận được liên quan đến hoạt tính ngoài mục tiêu, như bệnh thiếu máu.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, mục đích của sáng chế là tạo ra hợp chất có hoạt tính ức chế kinaza liên hợp với Janus 1 (JAK1) chọn lọc.

Sáng chế liên quan đến các hợp chất có hoạt tính ức chế JAK1 chọn lọc. Theo đó, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức (I):



trong đó:

mỗi R₁, R₃, và R₄ độc lập được chọn từ hydro và metyl;

R₂ được chọn từ hydro, metyl, và -CH₂CH₂OH;

n là 1 hoặc 2;

R₅ được chọn từ metyl, etyl, và -CH₂OR₈;

R₆ được chọn từ metyl, clo, và flo;

R₇ được chọn từ metyl, etyl, và xyclopropyl; và

R₈ được chọn từ metyl, etyl và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

Sáng chế còn bộc lộ phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến JAK1 (ví dụ, đái tháo đường tuýp 1, luput, đa xơ cứng, viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh hen, viêm da tạng dị ứng, rối loạn tuyến giáp tự miễn, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, COPD, bệnh đốm bạch tạng, và bệnh rụng tóc vùng) bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I) để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1 bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo phương án

khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc hoặc chế phẩm để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1. Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ được phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1.

Sáng chế còn bộc lộ phương pháp ức chế JAK1 ở đối tượng bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để ức chế JAK1 ở đối tượng bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc hoặc chế phẩm để ức chế JAK1 ở đối tượng. Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ được phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để ức chế JAK1 ở đối tượng.

Sáng chế còn đề xuất quy trình và hợp chất trung gian hữu dụng trong việc điều chế hợp chất có Công thức (I).

Mô tả vắn tắt các Hình vẽ

Fig. 1 minh họa biểu đồ nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của hợp chất tiêu đề được liệt kê ví dụ 35.

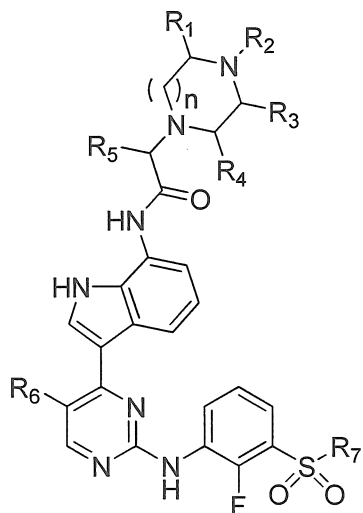
Fig. 2 minh họa điểm chỉ số tóc (HIS) sau khi điều trị chuột C3H/HeJ mắc bệnh rụng tóc vùng được thiết lập với 0,5 mg/kg hợp chất của Ví dụ 35 so với chuột không được điều trị.

Fig. 3 minh họa phần trăm giảm bạch cầu ái toan trong việc rửa phế quản phế nang ở chuột Brown Norway được thử thách OVA sau khi điều trị bằng hợp chất của Ví dụ 35 so với chuột được thử thách, nhưng không được điều trị.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hợp chất

Theo một phương án, sáng chế bộc lộ hợp chất có Công thức (I):



Công thức (I)

trong đó:

mỗi R_1 , R_3 , và R_4 độc lập được chọn từ hydro và metyl;

R_2 được chọn từ hydro, metyl, và $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$;

n là 1 hoặc 2;

R_5 được chọn từ metyl, etyl, và $-\text{CH}_2\text{OR}_8$;

R_6 được chọn từ metyl, clo, và flo;

R_7 được chọn từ metyl, etyl, và xyclopropyl; và

R_8 được chọn từ metyl, etyl và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một số phương án, mỗi trong số R_1 - R_4 độc lập được chọn từ hydro và metyl.

Theo một số phương án, R_1 , R_3 , và R_4 đều là hydro.

Theo một số phương án, n là 1.

Theo một số phương án, R_5 là metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OR}_8$.

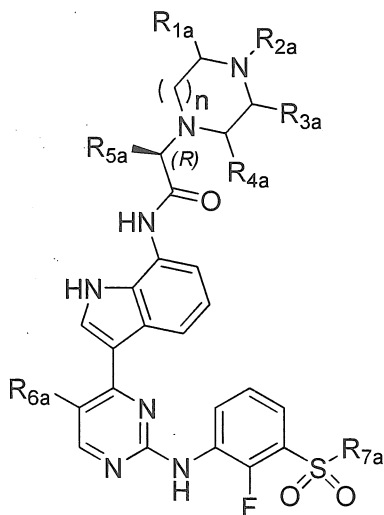
Theo một số phương án, R_6 là metyl hoặc flo.

Theo một số phương án, R_7 là metyl.

Theo một số phương án, R_8 là metyl.

Theo ít nhất một phương án, R_1 , R_3 và R_4 là H; R_2 là metyl; R_6 là flo; R_7 là metyl; R_5 là $-\text{CH}_2\text{OR}_8$; và R_8 là metyl.

Theo một phương án, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (Ia):



Công thức (Ia)

trong đó:

mỗi R_{1a} , R_{3a} , và R_{4a} độc lập được chọn từ hydro và metyl;

R_{2a} được chọn từ hydro, metyl, và $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$;

n là 1 hoặc 2;

R_{5a} được chọn từ metyl, etyl, và $-\text{CH}_2\text{OR}_{8a}$;

R_{6a} được chọn từ metyl, clo, và flo;

R_{7a} được chọn từ metyl, etyl, và xyclopropyl; và

R_{8a} được chọn từ metyl, etyl và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một số phương án, mỗi trong số R_{1a} - R_{4a} độc lập được chọn từ hydro và metyl.

Theo một số phương án, R_{1a} , R_{3a} , và R_{4a} đều là hydro.

Theo một số phương án, n là 1.

Theo một số phương án, R_{5a} là methyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OR}_{8a}$.

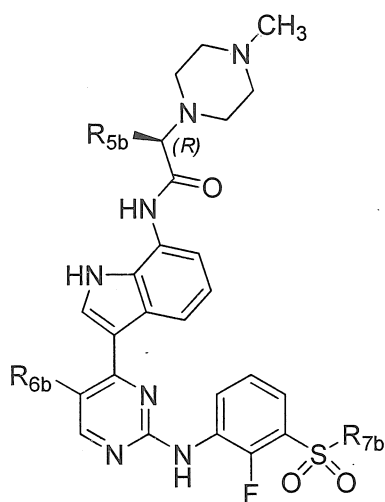
Theo một số phương án, R_{6a} là methyl hoặc flo.

Theo một số phương án, R_{7a} là methyl.

Theo một số phương án, R_{8a} là methyl.

Theo ít nhất một phương án, R_{1a} , R_{3a} và R_{4a} là H; R_{2a} là methyl; R_{6a} là flo; R_{7a} là methyl; R_{5a} là $-\text{CH}_2\text{OR}_{8a}$; và R_{8a} là methyl.

Theo một phương án, hợp chất có Công thức (I) là hợp chất có Công thức (Ib):



Công thức (Ib)

trong đó:

R_{5b} được chọn từ methyl, etyl, và $-\text{CH}_2\text{OR}_{8b}$;

R_{6b} được chọn từ methyl, clo, và flo;

R_{7b} được chọn từ methyl, etyl, và xyclopropyl; và

R_{8b} được chọn từ methyl, etyl và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một số phương án, R_{5b} là methyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OR}_{8b}$.

Theo một số phương án, R_{6b} là methyl hoặc flo.

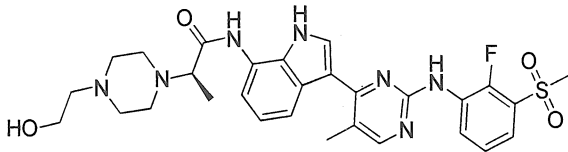
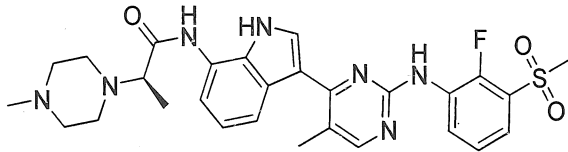
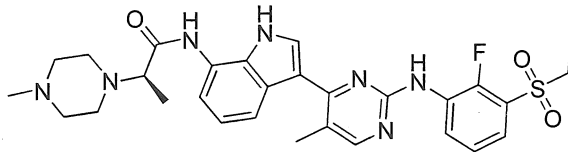
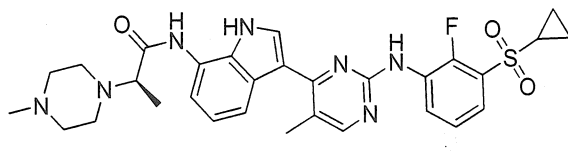
Theo một số phương án, R_{7b} là methyl.

Theo một số phương án, R_{8b} là methyl.

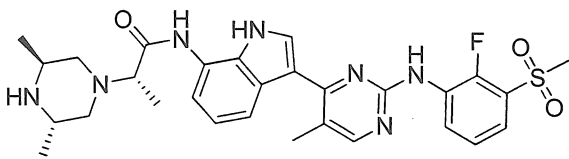
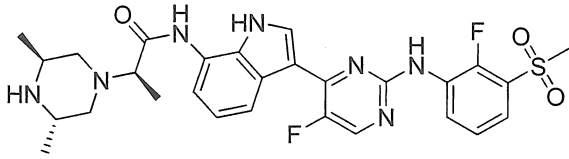
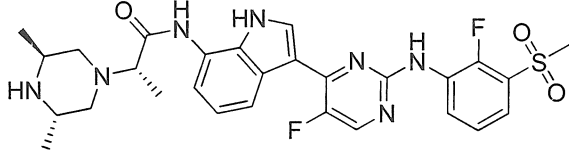
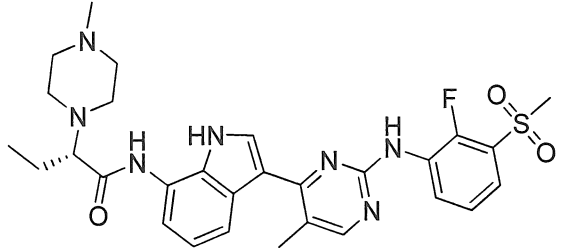
Theo ít nhất một phương án, R_{6b} là flo; R_{7b} là metyl; R_{5b} là $-\text{CH}_2\text{OR}_{8b}$; và R_{8b} là metyl.

Theo một số phương án, sáng chế bộc lộ hợp chất của Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng:

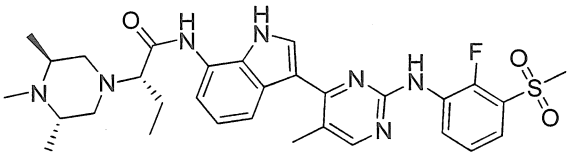
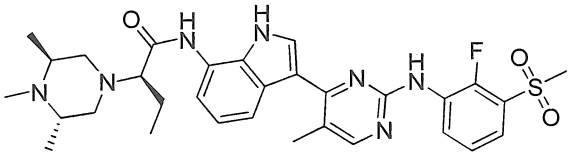
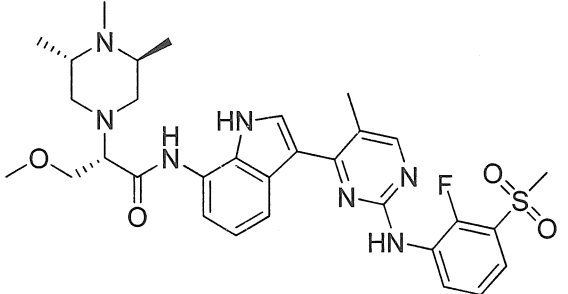
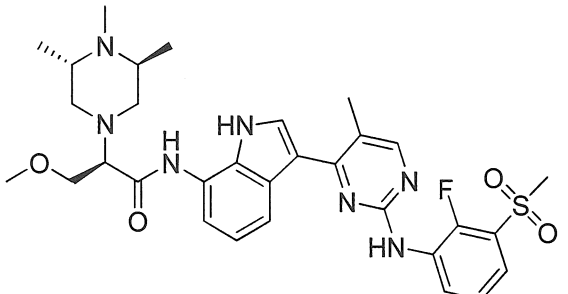
Bảng 1

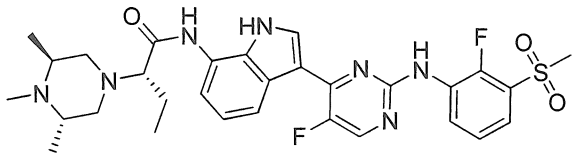
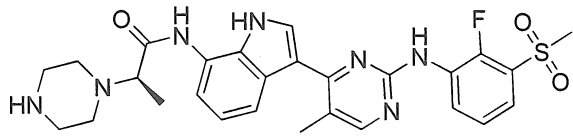
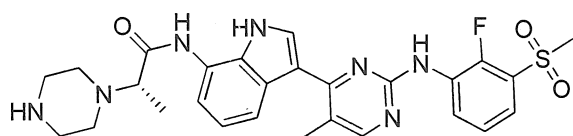
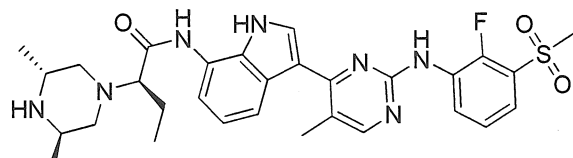
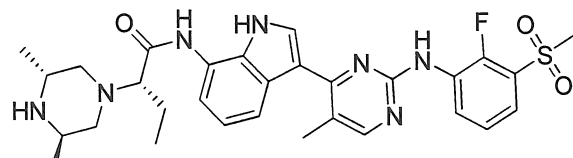
Ví dụ Số	Cấu trúc hóa học	Tên
Ví dụ 1		(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 2		(R)-N-(3-(2-(2-flo-3-(methylsulfonyl)phenylamino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 3		(R)-N-(3-(2-(3-(ethylsulfonyl)-2-flophenylamino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 4		(R)-N-(3-(2-(3-(cyclopropylsulfonyl)-2-flophenylamino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit

		yl)propanamit
Ví dụ 5		(R)-N-(3-(5-chloro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 6		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 7		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 8		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 9		(R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

		indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 10		(S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 11		(R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 12		(S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 13		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamit

Ví dụ 14		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamidit
Ví dụ 15		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 16		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 17		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamidit
Ví dụ 18		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamidit

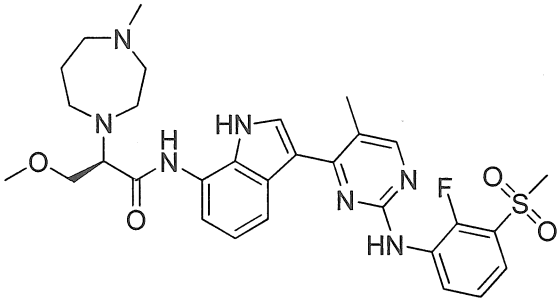
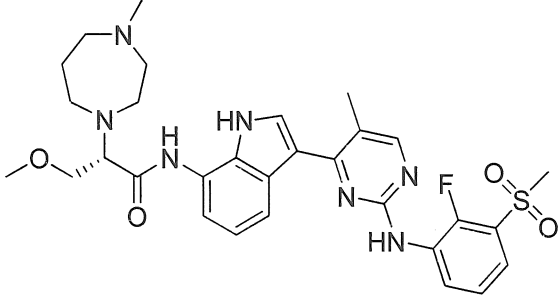
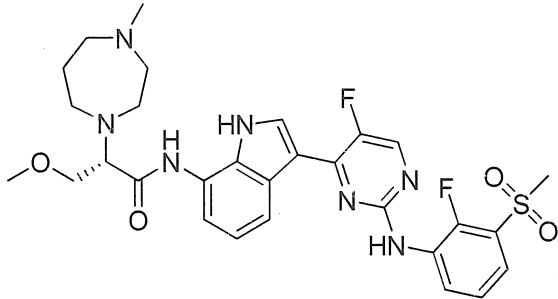
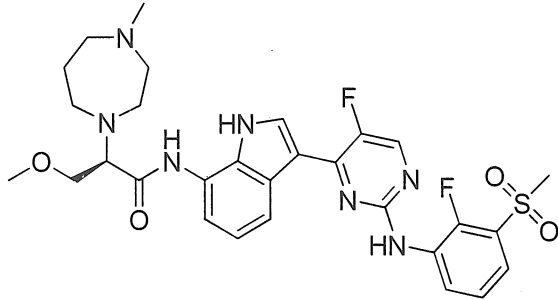
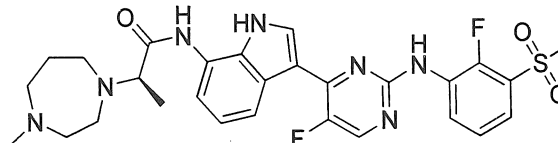
Ví dụ 19		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamidit
Ví dụ 20		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamidit
Ví dụ 21		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 22		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamidit

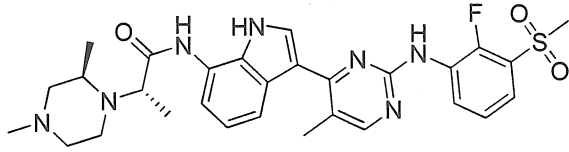
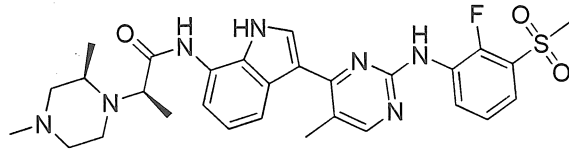
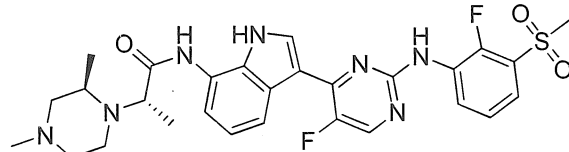
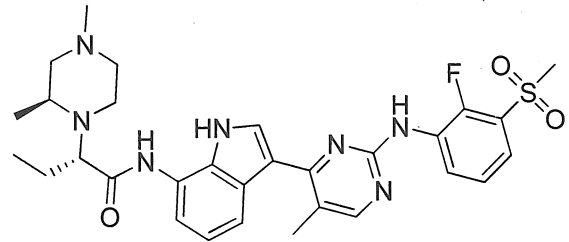
Ví dụ 23		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamide
Ví dụ 24		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamide
Ví dụ 25		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamide
Ví dụ 26		(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamide
Ví dụ 27		(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamide

Ví dụ 28		(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamidit
Ví dụ 29		(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamidit
Ví dụ 30		(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit
Ví dụ 31		(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Ví dụ 32		(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamid
Ví dụ 33		(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamid
Ví dụ 34		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamid
Ví dụ 35		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamid
Ví dụ 36		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamid

Ví dụ 37		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamidit
Ví dụ 38		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamidit
Ví dụ 39		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamidit
Ví dụ 40		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 41		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamidit

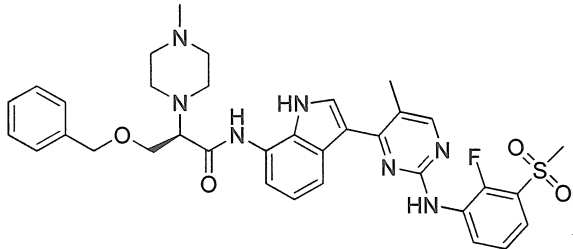
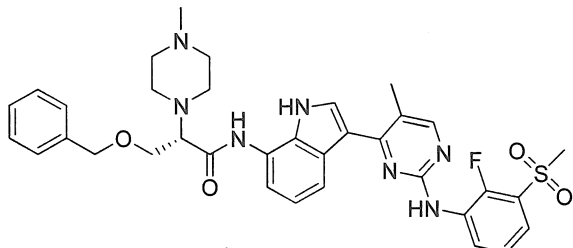
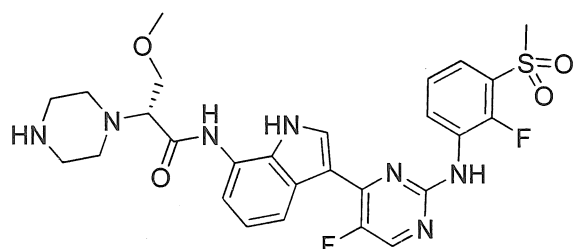
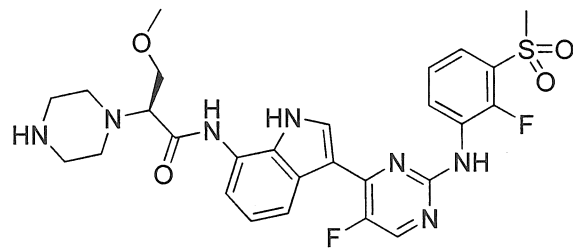
Ví dụ 42		(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamidit
Ví dụ 43		(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamidit
Ví dụ 44		(S)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamidit
Ví dụ 45		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamidit
Ví dụ 46		(R)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)-3-methoxypropanamidit

		yl)propanamit
Ví dụ 47		(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 48		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 49		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 50		(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Ví dụ 51		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamide
Ví dụ 52		(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamide
Ví dụ 53		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamide
Ví dụ 54		(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamide

Ví dụ 55		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamid
Ví dụ 56		(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamid
Ví dụ 57		(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamid
Ví dụ 58		(R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamid
Ví dụ 59		(S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamid

		(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit
Ví dụ 60		(R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit
Ví dụ 61		(S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit
Ví dụ 62		(R)-3-etoxy-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit
Ví dụ 63		(R)-3-etoxy-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit

Ví dụ 64		(R)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 65		(S)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 66		(R)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(piperazin-1-yl)propanamidit
Ví dụ 67		(S)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(piperazin-1-yl)propanamidit

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp và quy trình được mô tả ở đây. Theo một khía cạnh, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 theo sáng chế được điều chế theo quy trình được mô tả trong phần Ví dụ.

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 có khả năng tồn tại ở nhiều dạng đồng phân lập thể khác nhau và sáng chế liên quan đến mỗi trong số các dạng

đồng phân lập thể mà có thể tồn tại đối với mỗi hợp chất và hỗn hợp của chúng bao gồm chất triệt quang. Cần hiểu rằng nhóm thể có thể được gắn vào ở tâm không đối xứng của nguyên tử cacbon và, do đó, hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng phân đối hình, chất đồng phân không đối quang và chất triệt quang. Thuật ngữ “chất đồng phân đối hình” bao gồm các cặp chất đồng phân lập thể mà là ảnh gương không thể siêu đánh tráo của nhau. Hỗn hợp 1:1 của cặp chất đồng phân đối hình là hỗn hợp triệt quang. Thuật ngữ được sử dụng để chỉ hỗn hợp triệt quang khi thích hợp. Thuật ngữ “chất đồng phân không đối quang” hoặc “chất đồng phân không đối quang” bao gồm các chất đồng phân lập thể mà có ít nhất hai nguyên tử không đối xứng, nhưng không phải ảnh của nhau. Hóa học lập thể tuyệt đối được cụ thể hóa theo hệ Cahn-Ingold-Prelog R-S. Khi hợp chất là chất đồng phân đối hình tinh khiết, hóa học lập thể tại mỗi tâm không đối xứng có thể được cụ thể hóa bằng *R* hoặc *S*. Các hợp chất đã giải quyết mà có cấu hình tuyệt đối là chưa biết có thể được nêu là (+) hoặc (-) phụ thuộc vào hướng (quay phải hoặc quay trái) mà khi chúng quay mặt phẳng ánh sáng phân cực ở độ dài sóng của dòng natri D. Trong chừng mực mà cấu trúc hoặc tên hóa học không biểu thị tính không đối xứng, cấu trúc hoặc tên này được dự định bao gồm chất đồng phân lập thể đơn lẻ bất kỳ tương ứng với cấu trúc hoặc tên đó, cũng như hỗn hợp bất kỳ của các chất đồng phân lập thể bao gồm hỗn hợp triệt quang.

Thuật ngữ "muối được dụng" bao gồm muối cộng axit mà giữ lại độ hữu hiệu và tính chất sinh học của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1. Muối được dụng có thể được tạo thành với các axit vô cơ và axit hữu cơ, như muối axetat, aspartat, benzoat, besylat, bromua/hydrobromua, bicarbonat/carbonat, bisulfat/sulfat, camphorsulfonat, clorua/hydroclorua, clortheophyllonat, xitrat, etandisulfonat, fumarat, gluxepat, gluconat, glucuronat, hippurat, hydroiodua/iodua, isethionat, lactat, lactobionat, laurylsulfat, malat, maleat, malonat, mandelat, mesylat, metylsulphat, naphthoat, napsylat, nicotinat, nitrat, octadecanoat, oleat, oxalat, palmitat, palmoat, phosphat/hydro phosphat/dihydro phosphat, polygalacturonat, propionat, stearat, succinat, subsalixylat, tartrat, tosylat và trifloaxetat. Các axit vô cơ mà muối có thể được tạo dẫn xuất từ đó bao gồm, ví dụ, axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric, và axit vô cơ tương tự. Axit hữu cơ mà từ đó muối có thể được tạo dẫn xuất bao gồm, ví dụ, axit axetic, axit propionic, axit glycolic, axit oxalic,

axit maleic, axit malonic, axit succinic, axit fumaric, axit tartaric, axit citric, axit benzoic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit toluen sulfonic, axit trifloaxetic, axit salixylic, và các axit tương tự.

Muối được dụng của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 có thể được tổng hợp từ gốc axit hoặc bazơ, bằng phương pháp hóa học thông thường. Thông thường, muối này có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit tự do của các hợp chất này phản ứng với tỷ lượng bazơ thích hợp (như Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , hoặc K^+ hydroxit, carbonat, bicarbonat hoặc dạng tương tự), hoặc bằng cách cho dạng bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với tỷ lượng axit thích hợp. Các phản ứng này thường được thực hiện trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ, hoặc trong hỗn hợp của hai dung môi này. Thông thường, việc sử dụng môi trường không trong nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril là điều mong muốn, khi có thể thực hiện được. Danh mục của các muối thích hợp khác có thể được tìm thấy, *ví dụ*, trong "Remington's Pharmaceutical Sciences," 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); và trong "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" bởi Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Đức, 2002).

Công thức bất kì được đưa ra trong bản mô tả này cũng được dự định để thể hiện dạng không được gắn nhãn cũng như là dạng được gắn nhãn đồng vị cho hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1. Hợp chất được gắn nhãn đồng vị có cấu trúc được minh họa bởi công thức được đưa ra trong bản mô tả này ngoại trừ một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bởi nguyên tử có nguyên tử khối hoặc số khối được chọn. Ví dụ về các chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 bao gồm các chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, photpho, flo và clo, như ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{16}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl và ^{125}I . Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 có thể bao gồm các hợp chất được gắn nhãn đồng vị khác nhau mà các đồng vị phóng xạ, như ^2H , ^3H , ^{13}C và ^{14}C , có mặt trong đó. Hợp chất được gắn nhãn đồng vị có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 thường có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hoặc bằng quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong

các Ví dụ kèm theo sử dụng chất phản ứng được gắn nhãn đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không được gắn nhãn đã được sử dụng trước đây.

Dược phẩm

Sáng chế bao gồm, theo ít nhất một phương án, dược phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và tá dược, chất mang hoặc chất pha loãng được dụng.

Thuật ngữ "tá dược, chất mang hoặc chất pha loãng được dụng" bao gồm hợp chất, vật liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều lượng mà, trong phạm vi đánh giá y tế hợp lý, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô của người và động vật mà không gây độc, kích ứng, đáp ứng dị ứng quá mức, hoặc các vấn đề hoặc các biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý. Tá dược, chất mang hoặc chất pha loãng được dụng là đã biết trong lĩnh vực và việc chọn lọc bất kỳ của tá dược, chất mang hoặc chất pha loãng được dụng thực tế phụ thuộc vào việc sử dụng dự kiến và phương pháp dùng dược phẩm.

Dược phẩm được bộc lộ có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng (ví dụ như, dưới dạng viên nén, viên thuốc Hình thoi, viên nang cứng hoặc mềm, huyền phù nước hoặc dầu, nhũ tương, bột hoặc hạt có thể phân tán, si rô hoặc cồn ngọt), để dùng tại chỗ (ví dụ như kem, thuốc mỡ, gel, hoặc dung dịch hoặc huyền phù nước hoặc dầu), để sử dụng bằng cách xông (ví dụ như bột tán mịn hoặc sol khí lỏng), để sử dụng bằng cách bơm khí (ví dụ như bột tán mịn) hoặc để sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ như dung dịch nước hoặc dầu tiết trùng để dùng liều lượng trong tĩnh mạch, dưới da, trong cơ hoặc trong cơ hoặc dưới dạng thuốc đạn để dùng liều lượng qua trực tràng).

Dược phẩm được bộc lộ có thể thu được bằng các quy trình thông thường bằng cách sử dụng các tá dược thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực. Do đó, dược phẩm được dự định để dùng qua đường miệng có thể chứa, ví dụ như, một hoặc nhiều chất tạo màu, chất làm ngọt, chất tạo hương và/hoặc chất bảo quản.

Tá dược được dụng thích hợp cho chế phẩm viên nén bao gồm, ví dụ, chất pha loãng tro như lactoza, natri cacbonat, canxi phosphat hoặc canxi cacbonat; chất tạo hạt

và làm phân rã như tinh bột ngô hoặc axit algenic; chất gắn như tinh bột; chất làm trơn như magie stearat, axit stearic hoặc bột talc; chất bảo quản như etyl hoặc propyl p-hydroxybenzoat; và chất chống oxy hóa, như axit ascorbic. Chế phẩm viên nén có thể không được phủ hoặc được phủ để cải biến sự phân rã của chúng và sự hấp thụ tiếp theo của thành phần hoạt tính trong đường dạ dày ruột, hoặc để cải thiện độ ổn định và/hoặc bề ngoài của chúng bằng cách sử dụng các chất và quy trình phủ thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực.

Dược phẩm để dùng qua đường miệng có thể ở dạng viên nang gelatin cứng trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trở, ví dụ, canxi cacbonat, canxi photphat hoặc cao lanh, hoặc ở dạng viên nang gelatin mềm trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc dầu, như dầu lạc, parafin lỏng, hoặc dầu ô liu.

Huyền phù trong nước thường chứa thành phần hoạt tính ở dạng bột mịn hoặc ở dạng hạt nano hoặc được vi hóa cùng với một hoặc nhiều chất tạo huyền phù, như natri cacboxymetylxenluloza, metylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, natri alginat, polyvinyl pyrrolidon, gôm tragacan và gôm acacia; chất phân tán hoặc làm ẩm như lexithin hoặc sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với axit béo (ví dụ polyoxyetylen stearat), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài, ví dụ heptadecaetylenoxyetanol, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần có nguồn gốc từ axit béo và hexitol như polyoxyetylen sorbitol monooleat, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài, ví dụ heptadecaetylenoxyetanol, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần có nguồn gốc từ axit béo và hexitol như polyoxyetylen sorbitol monooleat, hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần có nguồn gốc từ axit béo và hexitol anhydrit, ví dụ polyetylen sorbitan monooleat. Huyền phù trong nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản như etyl hoặc propyl p-hydroxybenzoat; chất chống oxy hóa như axit ascorbic; chất tạo màu; chất tạo vị; và/hoặc chất làm ngọt như sucroza, sacarin hoặc aspartam.

Huyền phù trong dầu có thể được tạo chế phẩm bằng cách tạo huyền phù thành phần hoạt tính trong dầu thực vật như dầu lạc arachis, dầu ô liu, dầu vừng hoặc dầu

dừa hoặc trong dầu khoáng như parafin lỏng. Huyền phù trong dầu cũng có thể chứa chất làm đặc như sáp ong, parafin cứng hoặc rượu xetyl. Chất làm ngọt như các chất nêu ở trên, và chất tạo vị có thể được bổ sung để tạo ra chế phẩm dùng qua đường miệng ngon miệng. Các chế phẩm này có thể được bảo quản bằng cách bổ sung chất chống oxy hóa như axit ascorbic.

Bột và hạt phân tán thích hợp để điều chế huyền phù trong nước bằng cách bổ sung nước thường chứa thành phần hoạt tính cùng với chất phân tán hoặc chất làm ẩm, chất tạo huyền phù và một hoặc nhiều chất bảo quản. Chất phân tán hoặc làm ẩm và chất tạo huyền phù thích hợp được lấy ví dụ bằng các chất đã đề cập đến ở trên. Các tá dược khác nữa như chất làm ngọt, chất tạo vị và chất tạo màu, cũng có thể có mặt.

Dược phẩm cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, như dầu ô liu hoặc dầu lạc arachis, hoặc dầu khoáng, như ví dụ parafin lỏng hoặc hỗn hợp của các chất bất kỳ trong số đó. Chất nhũ tương hóa thích hợp có thể là, ví dụ, gồm có trong tự nhiên như gồm acacia hoặc gồm tragacan, có trong tự nhiên photphatit như đậu nành, lecithin, este hoặc este một phần có nguồn gốc từ axit béo và hexitol anhydrit (ví dụ sorbitan monooleat) và sản phẩm ngưng tụ của este một phần này với etylen oxit như polyoxyetylen sorbitan monooleat. Nhũ tương cũng có thể chứa chất làm ngọt, chất tạo vị và chất bảo quản.

Dược phẩm cũng có thể ở dạng huyền phù trong nước hoặc trong dầu tiêm được tiệt trùng, mà có thể được tạo chế phẩm theo quy trình đã biết bằng cách sử dụng một hoặc nhiều chất phân tán hoặc làm ẩm và chất tạo huyền phù thích hợp, mà đã được đề cập đến ở trên. Chế phẩm tiêm được tiệt trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù tiêm được tiệt trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi chấp nhận được dùng ngoài đường tiêu hóa không độc, ví dụ dung dịch trong 1,3-butandiol.

Các chế phẩm để dùng bằng cách xông và/hoặc bơm vào phổi có thể ở dạng sol khí nén thông thường được bố trí để phân tán thành phần hoạt tính dưới dạng sol khí chứa giọt rắn hoặc lỏng chia nhỏ. Chất đẩy sol khí thông thường như hydrocacbon được flo hóa dễ bay hơi có thể được sử dụng và thiết bị sol khí được bố trí theo cách thuận tiện để phân tán lượng đã được đo của thành phần hoạt tính. Thông tin thêm về việc tạo chế phẩm có thể tham khảo ở Chương 25.2 của Tập 5 của tài liệu

Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Lượng thành phần hoạt tính mà được kết hợp với một hoặc nhiều tá dược để tạo ra dạng liều lượng đơn lẻ sẽ cần thay đổi tùy thuộc vào vật chủ được điều trị và đường dùng cụ thể. Thông tin thêm về Đường Dùng và Chế Độ Liều Lượng người đọc hãy tham khảo Chương 25.3 của Tập 5 của tài liệu Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990. Tùy thuộc vào, chẳng hạn, hiệu lực và tính chất vật lý của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng (tức là, thành phần hoạt tính), dược phẩm mà có thể được kể đến bao gồm hợp chất trong đó thành phần hoạt tính có mặt với lượng bằng ít nhất là 1% (hoặc ít nhất là 10%, ít nhất là 30% hoặc ít nhất là 50%) theo khối lượng. Tức là, tỉ lệ của thành phần hoạt tính so với các thành phần khác (tức là phần bổ sung của tá dược, chất mang, và chất pha loãng) của dược phẩm ít nhất là 1:99 (hoặc ít nhất là 10:90, ít nhất là 30:70 hoặc ít nhất là 50:50) theo khối lượng.

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng có thể được dùng một, hai, ba lần một ngày hoặc nhiều lần trong thời gian 24 giờ khi cần về mặt y tế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ dễ dàng xác định lượng của mỗi liều lượng cụ thể tùy theo đối tượng. Theo một số phương án, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng được dùng dưới dạng một liều dùng, hoặc theo một số phương án, được dùng dưới dạng đa liều dùng.

Phương pháp

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng có thể ức chế JAK1 kinaza, và hoạt tính protein kết hợp liên quan đến JAK1 kinaza, ví dụ như có thể được thể hiện trong các thí nghiệm ví dụ dưới đây, và do đó có thể hữu dụng trong điều trị các tình trạng bệnh trong đó sự ức chế này là mong muốn và/hoặc được yêu cầu. Do đó, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng có thể hữu dụng trong điều trị các tình trạng bệnh trong đó mong muốn và/hoặc được yêu cầu là JAK1 kinaza bị ức chế hoặc bị giảm, hoặc theo một số phương án, các tình trạng bệnh trong đó mong muốn và/hoặc được

yêu cầu là hoạt tính protein liên quan đến JAK1 kinaza bị ức chế hoặc bị giảm. Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng do đó được kỳ vọng là hữu dụng việc điều trị rối loạn mà có thể có lợi từ việc ức chế JAK1 kinaza, ví dụ bệnh/rối loạn đường hô hấp và/hoặc bệnh viêm và/hoặc bệnh mà có thành phần viêm.

Theo đó, theo ít nhất một phương án, sáng chế bộc lộ phương pháp ức chế JAK1 kinaza ở đối tượng bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, để ức chế JAK1 kinaza.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, trong việc sản xuất thuốc để ức chế JAK1 kinaza.

Theo phương án khác nữa, sáng chế bộc lộ dược phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, để ức chế JAK1 kinaza.

Theo ít nhất một phương án theo sáng chế, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế enzym JAK1 (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,010 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM. Theo ít nhất một phương án khác, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,050 micromol trong thử nghiệm JAK-STAT6-luciferaza nhạy IL-13 tế bào.

Theo phương án khác của sáng chế, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế enzym JAK1 (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,010 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, và hoạt tính ức chế enzym JAK2 và JAK3 (IC_{50}) lớn hơn hoặc bằng khoảng 0,5 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM. Theo ít nhất một phương án khác, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế enzym JAK1 (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,010 micromol ở nồng độ ATP sinh

lý bằng 5 mM, hoạt tính ức chế enzym JAK2 và JAK3 (IC_{50}) lớn hơn hoặc bằng khoảng 0,5 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, và hoạt tính ức chế (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,050 micromol trong thử nghiệm JAK-STAT6-luciferaza nhạy IL-13 tế bào.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến JAK1 bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I) (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1 để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1 bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng có hiệu quả của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, trong sản xuất thuốc hoặc chế phẩm để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ việc sử dụng hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, trong việc sản xuất thuốc để điều trị rối loạn liên quan đến JAK.

Theo phương án khác, sáng chế bộc lộ dược phẩm có chứa hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1.

Theo sáng chế, thuật ngữ “rối loạn liên quan đến JAK1” bao gồm, ví dụ, đái tháo đường tuýp 1, luput, đa xơ cứng, viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến, bệnh hen, viêm da tạng dị ứng, rối loạn tuyến giáp tự miễn, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, COPD, bệnh đốm bạch tạng, và bệnh rụng tóc vùng.

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối dược dụng của chúng, có thể được dùng ở liều thay đổi phụ thuộc vào đường dùng. Chẳng hạn, liều dùng qua đường miệng có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 mg/kg trọng lượng cơ thể mỗi ngày (mg/kg/ngày) đến khoảng 100 mg/kg/ngày, như khoảng 0,01 đến khoảng 20 mg/kg/ngày, ví dụ khoảng 1,0 đến khoảng 15 mg/kg/ngày, chẳng hạn khoảng 12,5

mg/kg/ngày. Liều dùng trong tĩnh mạch có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 mg/kg/ngày đến khoảng 50 mg/kg/ngày trong quá trình truyền tốc độ không đổi. Liều dùng hít có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,0001 mg/kg/ngày đến khoảng 0,10000 mg/kg/ngày, như khoảng ,0001 mg/kg/ngày đến khoảng 0,001 mg/kg/ngày, ví dụ khoảng 0,0006 mg/kg/ngày. Liều dùng hít có thể còn thay đổi theo thiết bị phân phối được sử dụng. Ví dụ, liều dùng hít qua thiết bị xông bột khô có thể nằm trong khoảng từ khoảng 0,010 mg/kg/ngày đến khoảng 0,020 mg/kg/ngày.

Trong bất kỳ trường hợp nào, bác sĩ, hoặc người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực, có thể xác định được liều lượng thực sự thích hợp nhất đối với bệnh nhân cụ thể, mà dường như thay đổi theo đường dùng, loại và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh cần điều trị, cũng như là loài, tuổi, khối lượng, giới tính, chức năng thận, chức năng gan và đáp ứng của bệnh nhân cụ thể được điều trị. Các liều lượng nêu trên là ví dụ của trường hợp trung bình; tất nhiên, có thể có các trường hợp cụ thể trong đó khoảng giá trị liều lượng cao hơn hoặc thấp hơn phù hợp, và chúng thuộc phạm vi của sáng chế.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "lượng có hiệu quả" bao gồm lượng của hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối dược dụng của chúng, mà gây ra đáp ứng y học hoặc sinh học ở đối tượng, ví dụ, sự làm giảm hoặc sự ức chế hoạt tính enzym hoặc protein liên quan đến JAK1 và/hoặc sự cải thiện của triệu chứng của rối loạn liên quan đến JAK1 và/hoặc làm chậm hoặc trì hoãn sự tiến triển của rối loạn liên quan đến JAK1. Tác dụng này có thể là khách quan (tức là có thể đo được bằng một số thử nghiệm hoặc vật chỉ thị) hoặc chủ quan (tức là đối tượng tạo ra chỉ thị hoặc cảm giác về tác dụng).

Thuật ngữ "đối tượng" bao gồm động vật máu nóng, ví dụ, động vật linh trưởng, bò, lợn, cừu, chó, mèo, thỏ, chuột cống, và chuột nhắt. Theo một số phương án, đối tượng là động vật linh trưởng, ví dụ, người. Theo một số phương án, đối tượng mắc rối loạn liên quan đến JAK1. Theo một số phương án, đối tượng này cần điều trị (ví dụ, đối tượng hưởng lợi về mặt sinh học hoặc y học từ việc điều trị).

Thuật ngữ "ức chế," "sự ức chế" hoặc "việc ức chế" bao gồm sự giảm hoạt tính cơ sở của hoạt tính hoặc quy trình sinh học. Theo một số phương án, hợp chất có Công

thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng, ức chế JAK1 kinaza. Theo một số phương án, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng, là chất ức chế JAK1 chọn lọc. Thuật ngữ "chất ức chế JAK1 chọn lọc" bao gồm hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối được dụng của chúng, mà ức chế JAK1 nhưng bất hoạt hoặc ít hoạt tính đối với JAK2 hoặc JAK3, hoặc đối với cả JAK2 và JAK3. Do đó, theo một số phương án, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng, ức chế JAK1 kinaza nhưng bất hoạt hoặc ít hoạt tính đối với JAK2 hoặc JAK3, hoặc đối với cả JAK2 và JAK3. Ví dụ, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế enzym JAK1 (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,010 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, và hoạt tính ức chế enzym JAK2 và JAK3 (IC_{50}) lớn hơn hoặc bằng khoảng 0,5 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM. Theo ít nhất một phương án khác, hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, hoặc muối được dụng của chúng, thể hiện hoạt tính ức chế enzym JAK1 (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,010 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, hoạt tính ức chế enzym JAK2 và JAK3 (IC_{50}) lớn hơn hoặc bằng khoảng 0,5 micromol ở nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, và hoạt tính ức chế (IC_{50}) ít hơn hoặc bằng khoảng 0,050 micromol trong thử nghiệm JAK-STAT6-luciferaza nhạy IL-13 tế bào.

Thuật ngữ "điều trị," "việc điều trị" và "sự điều trị" bao gồm việc làm giảm hoặc sự ức chế hoạt tính enzym hoặc protein liên quan đến JAK1 kinaza và sự cải thiện của một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn liên quan đến JAK1 ở đối tượng, hoặc làm chậm hoặc trì hoãn tiến triển của rối loạn liên quan đến JAK1 ở đối tượng. Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối được dụng của chúng, do đó đều được chỉ ra trong điều trị chữa bệnh và/hoặc phòng bệnh của các tình trạng bệnh nêu trên.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Hợp chất có Công thức (I), (Ia), (Ib), hoặc Bảng 1, và các muối được dụng của chúng có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp và quy trình được mô tả ở đây, hoặc sử dụng phương pháp và quy trình tương tự. Cần hiểu rằng khi các điều kiện

quy trình thông thường hoặc ví dụ (tức là, nhiệt độ phản ứng, thời gian, tỷ lệ mol của chất phản ứng, dung môi, áp suất, v.v.) được cho, các điều kiện quy trình khác có thể cũng được sử dụng trừ khi có quy định khác. Các điều kiện phản ứng tối ưu có thể thay đổi với các chất phản ứng hoặc dung môi cụ thể được sử dụng, nhưng các điều kiện phản ứng này có thể được xác định bởi chuyên gia trong lĩnh vực.

Ngoài ra, như đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực, các nhóm bảo vệ thông thường có thể cần để phòng một số nhóm chức nhất định khỏi qua phản ứng không mong muốn. Việc lựa chọn nhóm bảo vệ thích hợp cho nhóm chức cụ thể, cũng như các điều kiện thích hợp để bảo vệ và khử bảo vệ là đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, nhiều nhóm bảo vệ, và việc đưa chúng vào và loại chúng ra, được mô tả trong T. W. Greene và G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tái bản lần thứ ba, Wiley, New York, 1999, và các viện dẫn được nêu ở đây. Quy trình để điều chế hợp chất theo sáng chế được đề xuất là các phương án khác của sáng chế và được minh họa bởi quy trình dưới đây. Các chỉ định hóa học lập thể của chất đồng phân đối hình được phân lập được thực hiện dựa trên hoạt tính sinh học đối với JAK1 trong Nghiên cứu ức chế enzym, như được thể hiện trong Bảng 24.

Hợp chất trung gian 1: 7-nitro-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-tosyl-1H-indol

Bước 1

- 1) Dung dịch của NaOH (599 g, 14986,55 mmol) trong nước (1500mL) được thêm vào hỗn hợp khuấy của 7-nitro-1H-indol (243 g, 1498,65 mmol) và tetrabutylamoni hydro sulfat (50,9 g, 149,87 mmol) trong DCM (3000mL) ở 25°C, qua khoảng thời gian 5 phút trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 20 phút. 4-metylphenylsulfonfyl clorua (371 g, 1948,25 mmol) được thêm trong không khí và hỗn hợp thu được được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (2000mL), và được rửa lần lượt bằng nước (2x500mL), 10 % K₂CO₃ nước (2x500mL), và 1 M HCl (2x500mL) và NaCl bão hòa (2x500mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi. Khi xấp xỉ 200mL DCM còn lại, EtOAc (500mL) được thêm. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. When approximately 200mL EtOAc was left, MTBE (1000mL) được thêm.

Chất kết tủa được gom bằng cách lọc, được rửa bằng MTBE (1000mL) và được làm khô dưới chân không để tạo ra 7-nitro-1-tosyl-1H-indol (402 g, 85 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2,39 (s, 3H), 7,09 (d, 1H), 7,40 - 7,55 (m, 3H), 7,75 - 7,85 (m, 3H), 7,95 - 8,00 (m, 1H), 8,06 (d, 1H).

m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 317$.

Bước 2

Bromine (81mL, 1580 mmol) được thêm nhỏ giọt vào 7-nitro-1-tosyl-1H-indol (50 g, 158 mmol) trong CCl_4 (1000mL) ở 80°C . Dung dịch thu được được khuấy ở 80°C trong 6 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, được cô *trong chân không* và cần được rửa bằng EtOAc để tạo ra 3-bromo-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (53 g, 85%) là chất rắn màu nâu.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2,41 (s, 3H), 7,55 - 7,62 (m, 2H), 7,57 (t, 1H), 7,85 - 7,92 (m, 3H), 7,96 (d, 1H), 8,49 (s, 1H).

m/z (ES-), $[\text{M}-\text{H}]^+ = 393$.

Bước 3

Dung dịch 3-bromo-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (200 g, 506 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (193 g, 759 mmol), kali axetat (99 g, 1012 mmol) và $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (18,5 g, 25,3 mmol) trong 1,4-dioxan (1500mL) được khử khí bằng nitơ ba lần và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 90°C trong 8 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được cô *trong chân không*. Chất rắn được xử lý bằng nước, được lọc, được rửa bằng metanol và được làm khô *trong chân không* để tạo ra 7-nitro-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-tosyl-1H-indol (150 g, 67 %) là chất rắn màu xám.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,41 (s, 12H), 2,47 (s, 3H), 7,38 - 7,43 (m, 3H), 7,66 (d, 1H), 7,87 (d, 2H), 8,24 (s, 1H), 8,29 - 8,32 (d, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 443$.

Hợp chất trung gian 2: 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol

7-nitro-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-tosyl-1H-indol, **Hợp chất trung gian 1** (50 g, 113 mmol) được nạp vào bình phản ứng 1L được trang bị bộ ngưng tụ và cửa nạp nitơ. 2,4-diclo-5-metylpyrimidin (24 g, 147 mmol) và 2-metyltetrahydrofuran (200mL, 4 thể tích) như được thêm vào bình phản ứng. Dung dịch của kali carbonat (46,9 g, 339 mmol) trong nước (10mL, 2 thể tích) được khử khí và được nạp đầy lại với N₂ và được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Bình phản ứng được khử khí và được nạp đầy lại (3xN₂), phụ phẩm diclo[1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]paladi diclometan (4,62 g, 5,65 mmol) được thêm vào hỗn hợp phản ứng, được khử khí và được nạp đầy lại với N₂ (3x) và phản ứng sau đó được gia nhiệt từ từ đến 60°C. Sau 30 phút chất kết tủa được tạo thành. Phản ứng được khuấy trong 1 h và nhiệt độ bình phản ứng được đặt đến 25°C. Sau 30 phút làm lạnh, nhiệt độ bên trong là 42°C và heptan (1 thể tích) được thêm. Nhiệt độ bình phản ứng sau đó được đặt đến +5°C. Ở 20°C, nước (4 thể tích) được thêm và tiếp tục làm lạnh đến + 5°C qua 1 giờ và sau đó được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc trên phễu Büchner và chất rắn được rửa bằng nước (4 thể tích) và EtOAc (2 thể tích) để tạo ra chất rắn màu vàng sáng mà được làm khô dưới dòng nitơ. Chất rắn được khuấy trong EtOAc (1 thể tích), được lọc và chất rắn thu được được làm khô dưới chân không để tạo ra (42,8 g). Rượu gốc được kết hợp và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (20 g). 700 g silic oxit được tạo bột nhão trong heptan được đóng gói lên cột (10x300 mm). Các chất rắn được hòa tan trong DCM, được kết hợp và được tải lên cột. sau khi hoàn thành rửa giải DCM, cột được rửa giải với 20 % EtOAc trong heptan, sau đó là gradien EtOAc từ 20 – 50 % trong heptan. Hợp chất mong muốn được kết hợp và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tạo bột nhão trong 50 % EtOAc trong heptan (0,5 vol), được lọc và được làm khô dưới dòng chảy bằng nitrogen để tạo ra 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (35,6 g, 71 %) là chất rắn.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,40 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 7,54 (d, 2H), 7,61 (t, 1H), 7,91 (d, 2H), 7,95 - 8,04 (m, 1H), 8,40 (dd, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,79 (s, 1H).

m/z (ES+), [M+H]⁺ = 442,9.

Hợp chất trung gian 3: 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol

3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol, **Hợp chất trung gian 2** (2,477 g, 5,59 mmol) được hòa tan trong 1,4-dioxan/nước 2:1 (75mL) và natri hydroxit 3,8 M (22mL, 83,9 mmol) được thêm. Hỗn hợp phản ứng tạo thành được gia nhiệt đến 50°C trong 2 h. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng và được trung hòa bằng cách thêm HCl 2 M. Chất rắn tạo thành được lọc bỏ, được rửa bằng EtOAc, Et₂O và được làm khô dưới chân không để tạo ra 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol (1,894 g, 117 % (ướt)) là chất rắn.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,52 (s, 3H), 7,47 (t, 1H), 8,20 (d, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,90 (d, 1H), 12,66 (s, 1H). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 289,2.

Hợp chất trung gian 4: 3-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol*Bước 1*

PdCl₂(dppf)*CH₂Cl₂ (0,554 g, 0,68 mmol) được thêm vào 7-nitro-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-tosyl-1H-indol, **Hợp chất trung gian 1** (3,00 g, 6,78 mmol), 2,4,5-triclopyrimidin (1,617 g, 8,82 mmol) và K₂CO₃ (2,81 g, 20,35 mmol) trong THF/nước 4:1 (75mL) ở 25°C dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc (150mL) và được rửa bằng nước muối (150mL). Lọc hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh sử dụng gradien của EtOAc 8 – 30 % trong ete dầu mỏ làm pha động. Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi *trong chân không* và cặn được tinh thể hóa từ axetonitril để tạo ra 1-((4-clophenyl)sulfonyl)-3-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol (1,43 g, 43,4 %) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,42 (s, 3H), 7,52 (d, 2H), 7,66 (t, 1H), 7,91 - 8,14 (m, 3H), 8,52 (dd, 1H), 8,90 (s, 1H), 9,08 (s, 1H).

m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 463.

Bước 2

Dung dịch của NaOH (2,202g, 55,05 mmol) trong nước (30mL) được thêm vào huyền phù khuấy của 3-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (1,7 g, 3,67 mmol) trong 1,4-dioxan (30mL) ở 25°C. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 50°C trong 1 giờ và sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với EtOAc (200mL), được rửa bằng nước (50mL), NaHCO₃ bão hòa (50mL), nước muối (50mL). Lốp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 3-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol, (0,500 g, 44,1 %) là chất rắn màu vàng.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,34 (t, 1H), 8,06 (dd, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,78 (s, 1H), 8,87 (dd, 1H).

m/z (ES+), [M+H]⁺ = 309.

Hợp chất trung gian 5: 2-flo-3-(metylsulfonyl)anilin

Bước 1

Đồng (I) iodua (1,002 g, 5,26 mmol) được thêm thành một phần vào 3-bromo-2-floanilin (5 g, 26,31 mmol), N1,N2-dimetyletan-1,2-diamin (0,464 g, 5,26 mmol) và natri iodua (7,89 g, 52,63 mmol) trong 1,4-dioxan (10mL) ở 25°C qua khoảng thời gian 1 phút dưới nitơ. Huyền phù thu được được khuấy ở 110°C trong 1 ngày. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit và được cô *trong chân không*. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh sử dụng gradien EtOAc 5 – 30 % trong ete dầu mỏ làm pha động. Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 2-flo-3-iodoanilin (5,00 g, 80 %) là chất dầu màu nâu.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 5,32 (bs, 2H), 6,59 - 6,83 (m, 2H), 6,83 - 6,93 (m, 1H).

m/z (ES+), [M+H]⁺ = 238.

Bước 2

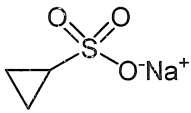
Đồng (I) iodua (0,402 g, 2,11 mmol) được thêm vào 2-flo-3-iodoanilin (5,00 g, 21,10 mmol), natri metansulfinat (3,23 g, 31,64 mmol), N1,N2-dimetyletan-1,2-diamin (0,558 g, 6,33 mmol) trong DMSO (20mL) dưới nitơ. Huyền phù thu được được

khuấy ở 95°C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với EtOAc (50mL), được rửa bằng nước (50mL) và nước muối (50mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng EtOAc/ete dầu hỏa 1:1 để tạo ra 2-flo-3-(metylsulfonyl)anilin (3,20 g, 80 %) là dầu không màu mà hóa rắn khi để yên.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3,20 (s, 3H), 3,96 (bs, 2H), 6,97 - 7,13 (m, 2H), 7,20 - 7,31 (m, 1H). m/z (ES+), [M+H]⁺ = 190.

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng sulfinat được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 6 được mô tả trong Bảng 2:

Bảng 2

Hợp chất trung gian	Sulfinat	¹ H NMR δ (CDCl ₃ , 400 MHz)	m/z (ES+), [M+H] ⁺	Hiệu suất %
6 3- (xyclopropylsulfonyl)- 2-floanilin		0,95 - 1,15 (m, 2H), 1,30 - 1,43 (m, 2H), 2,65 - 2,80 (m, 1H), 4,01 (bs, 2H), 6,91 - 7,11 (m, 2H), 7,11 - 7,25 (m, 1H).	216	60

Hợp chất trung gian 7: (3-bromo-2-flophenyl)(etyl)sulfan

Lithi diisopropylamit (17,14mL, 34,29 mmol) được thêm nhỏ giọt vào 1-bromo-2-flobenzen (5,00 g, 28,57 mmol) trong THF (250mL) ở -78°C qua khoảng thời gian 10 phút dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 60 phút. 1,2-dietylđisulfan (5,20 g, 42,54 mmol) được thêm nhỏ giọt qua 20 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở -78°C trong 60 phút và sau đó ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng nước (50mL) và được chiết bằng EtOAc (2x250mL). Các chất chiết hữu cơ kết hợp được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh sử dụng gradien của EtOAc 0 – 10 % trong pentan làm chất rửa giải. Các phân đoạn tinh khiết được làm

bay hơi *trong chân không* để tạo ra (3-bromo-2-flophenyl)(etyl)sulfan (5,27 g, 78 %) là dầu không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 1,32 (t, 3H), 2,95 (q, 2H), 6,90 - 7,04 (m, 1H), 7,22 - 7,34 (m, 1H), 7,35 - 7,47 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 8: *tert*-butyl (3-(etylthio)-2-flophenyl)carbamát

(3-bromo-2-flophenyl)(etyl)sulfan, Hợp chất trung gian 7 (4,14 g, 17,61 mmol) được thêm thành một phần vào xyclohexan-1,2-diamin (6,03 g, 52,82 mmol), phosphoric axit, muối kali (3,74 g, 17,61 mmol), đồng (I) iodua (8,38 g, 44,02 mmol) và *tert*-butyl carbamat (10,31 g, 88,04 mmol) trong 1,4-dioxan (80mL) ở 25°C dưới nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 100°C trong 6 giờ và sau đó được để nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh sử dụng gradien của EtOAc 0 – 10 % trong pentan. Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra *tert*-butyl (3-(etylthio)-2-flophenyl)carbamát (1,412 g, 29,6 %) là chất dầu màu vàng.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,31 (t, 3H), 1,55 (s, 9H), 2,94 (q, 2H), 6,73 (bs, 1H), 6,91 - 7,19 (m, 2H), 7,92 - 8,05 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 9: *tert*-butyl (3-(etylsulfonyl)-2-flophenyl)carbamát

tert-butyl (3-(etylthio)-2-flophenyl)carbamát, Hợp chất trung gian 8 (1,4 g, 5,16 mmol) được thêm thành một phần to 3-clobenzen-1-carboperoxoic axit (2,67 g, 15,48 mmol) trong DCM (15mL) ở 0°C dưới nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (50mL), được lọc, được rửa bằng NaHCO_3 bão hòa (2x50mL) và nước muối (50mL). Lốp hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế được phát triển bằng ete dầu hỏa/ EtOAc 3:1 để tạo ra *tert*-butyl (3-(etylsulfonyl)-2-flophenyl)carbamát, (1,650 g, 105 %) là chất dầu màu vàng. m/z (ES-), $[\text{M}-\text{H}]^+ = 302$.

Hợp chất trung gian 10: 3-(etylsulfonyl)-2-floanilin

2,2,2-trifloaxetic axit (10,0 g, 87,70 mmol) được thêm vào *tert*-butyl (3-(etylsulfonyl)-2-flophenyl)carbamát, Hợp chất trung gian 9 (1,65 g, 5,44 mmol) trong DCM (20mL)

ở 20°C. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 25°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi *trong chân không*, được hòa tan lại trong DCM (50mL), được rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (2x100mL) và nước muối (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 3-(ethylsulfonyl)-2-floanilin (0,786 g, 71,1 %) là chất dầu màu vàng.

¹H NMR δ (CDCl₃, 400 MHz) δ 1,32 (t, 3H), 3,32 (q, 2H), 3,60 - 4,10 (bs, 2H), 7,00 - 7,17 (m, 2H), 7,17 - 7,34 (m, 1H). m/z (ES+), [M+H]⁺ = 204.

Hợp chất trung gian 11: 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin

Bước 1

3-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol, Hợp chất trung gian 2 (20,0 g, 45,16 mmol), 2-flo-3-(metylsulfonyl)anilin hydroclorua, Hợp chất trung gian 5 (11,2 g, 49,68 mmol), xêsi carbonat 30,9 g, 94,8 mmol), Pd₂(dba)₃ (4,14 g, 4,52 mmol) và 2'-(dixyclohexylphosphino)-N,N-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (3,55 g, 9,03 mmol) được nạp trong bình phản ứng 1L dưới nitơ. 2-metyltetrahydrofuran (200mL) và nước (100mL) được thêm ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được rút ra hết và được nạp đầy lại bằng N₂ (3x) và sau đó được gia nhiệt đến 72,5°C (T_r= 80°C) và được khuấy trong 4 h (chất kết tủa màu nâu tạo thành sau 3 h). Heptan (400mL, 20 thể tích) được thêm, dừng gia nhiệt và phản ứng được làm lạnh đến 17°C qua 30 phút. Chất kết tủa được khuấy trong 10 phút và sau đó được lọc trên phễu büchner. Bánh lọc được rửa bằng nước (2 thể tích x 3), EtOAc/heptan 1:2 (3 thể tích x3) và sau đó được làm khô dưới chân không/nitơ để tạo ra N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1-tosyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (25,93 g, 96 %) là chất rắn màu nâu. Tiếp tục mà không cần tinh chế thêm. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 596,2.

Bước 2

Trong bình phản ứng 1L, 3-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (27,0 g, 45,3 mmol) được nạp ở nhiệt độ phòng, 2-metyltetrahydrofuran (250mL) và NaOH 3,8 M (chứa nước) (250mL) được thêm để tạo ra hỗn hợp không tan màu nâu. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 85°C và được khuấy qua đêm. Heptan (10 thể tích) được

nap vào hỗn hợp phản ứng, được làm lạnh đến 17°C qua 40 phút và được khuấy trong 30 phút. Chất rắn được lọc bằng phễu büchner và bánh lọc được rửa bằng nước (3x40mL). pH của việc rửa có nước: 10-11 bằng giấy pH. Nạp 40mL nước vào bánh lọc và tạo bột nhão trong khi điều chỉnh độ pH đến 7 bằng Hcl 0,5 N. Chất rắn được lọc lại bằng phễu büchner, được rửa bằng nước (50mL), được làm khô dưới nitơ/chân không trong 20 phút và sau đó được rửa bằng heptan/EtOAc (4x40mL). (45 % vật liệu khởi đầu không phản ứng bằng LCMS, hợp chất được phản ứng lại dưới cùng điều kiện). Chất rắn được nạp vào bình phản ứng 1 L và 2-metyltetrahydrofuran (250mL) và NaOH 3,8 M (chứa nước) (250mL) được thêm để tạo ra hỗn hợp không tan màu nâu. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 85°C và được khuấy qua đêm. Heptan (10 thể tích) được nạp vào hỗn hợp phản ứng, được làm lạnh đến 17°C qua 40 phút và được khuấy trong 30 phút. Chất rắn được lọc bằng phễu büchner và bánh lọc được rửa bằng nước (3x40mL). pH của việc rửa có nước: 10-11 bằng giấy pH. Nạp 40mL nước vào bánh lọc và tạo bột nhão trong khi điều chỉnh độ pH đến 7 bằng Hcl 0,5 N. Chất rắn được lọc lại bằng phễu büchner, được rửa bằng nước (50mL), được làm khô dưới nitơ/chân không trong 20 phút và sau đó được rửa bằng heptan/EtOAc (4x40mL) và được làm khô để tạo ra N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (20,0 g, 100 %).

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 442,1$.

Bước 3

N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (11,0 g, 24,9 mmol) được nạp vào bình phản ứng 1L và 2-metyltetrahydrofuran/EtOH 2:1 (330mL) được thêm. Bình phản ứng được gia nhiệt đến 80°C, được khuấy trong 10 phút để tan và sau đó từ từ được làm lạnh đến 30°C. 10 % Pd-C (2,00 g, 24,9 mmol, 50 % ướt) và dung dịch của amoni format (9,43 g, 149,5 mmol) trong nước (10mL) (thu nhiệt) được thêm ở nhiệt độ phòng dưới nitơ. Hỗn hợp phản ứng từ từ được gia nhiệt đến 80°C và được khuấy trong 15 phút. Sau đó nó được để nguội đến 40-50°C, được lọc trên phễu büchner dưới nitơ (caution), rửa bánh bằng THF nóng/EtOH 1:1 (50mL) và phần lọc được cô và được làm cùng bay hơi *trong chân không* với DCM

(50mL) để tạo ra 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin 10,0 g, 98 %) là chất rắn màu nâu.

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 412,4$.

Hợp chất trung gian 12: N-(3-(etylsulfonyl)-2-flophenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin

$Pd_2(dba)_3$ (159 mg, 0,17 mmol) và 2'-(dixyclohexylphosphino)-N,N-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (136 mg, 0,35 mmol) được thêm vào 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol, Hợp chất trung gian 3 (500 mg, 1,73 mmol), 3-(etylsulfonyl)-2-floanilin, Hợp chất trung gian 10 (352 mg, 1,73 mmol) và xêsi carbonat (1693 mg, 5,20 mmol) trong DMF (15mL) ở 23°C dưới nitơ. Dung dịch thu được được khuấy ở 80°C trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit và dung môi được làm bay hơi trong chân không để tạo ra N-(3-(etylsulfonyl)-2-flophenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (1,22 g, 155 %) là chất rắn tối màu. Được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 456$.

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian khởi đầu được cho để tạo ra Hợp chất trung gian 13-14 được mô tả trong Bảng 6:

Bảng 6

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	^1H NMR (300 MHz) δ	m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$	Hiệu suất %
13 ^a N-(3-(xyclopropylsulfonyl)-2-flophenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin	3, 6		468	103
14 ^b 5-clo-N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin	4, 5	(DMSO- <i>d</i> ₆) 3,30 (s, 3H), 7,24 - 7,34 (m, 1H), 7,44 - 7,52 (m, 1H), 7,64 - 7,73 (m, 1H), 8,08 - 8,30 (m, 2H), 8,55 - 8,62 (m, 2H), 8,83 (d, 1H), 9,77 (s, 1H), 12,59 (s, 1H).	462	40

^a Hỗn hợp phản ứng được cô *trong chân không*.

^b Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với EtOAc (200mL), được rửa bằng nước (50mL) và nước muối (200mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 5:1 làm chất rửa giải.

Hợp chất trung gian 15: 3-(2-((3-(etylulfonyl)-2-flophenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin

N-(3-(etylulfonyl)-2-flophenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin, Hợp chất trung gian 12 (1,406 g, 3,09 mmol), amoni clorua (0,991 g, 18,52 mmol) và sắt (1,034 g, 18,52 mmol) trong MeOH/THF/nước 1:1:1 (75mL) được khuấy

ở 60°C trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit và dung môi được loại dưới áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 10:1 làm chất rửa giải để tạo ra 3-(2-((3-(ethylsulfonyl)-2-flophenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin (0,600 g, 46 %) là chất rắn màu nâu.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,11 (t, 3H), 2,37 (s, 3H), 3,33 (q, 2H), 5,12 (bs, 2H), 6,39 (d, 1H), 6,74 (t, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,44 - 7,66 (m, 2H), 7,94 (d, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,34 (t, 1H), 9,03 (s, 1H), 11,34 (s, 1H). m/z (ES+), [M+H]⁺ = 426.

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian khởi đầu được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 16-17 được mô tả trong Bảng 7:

Bảng 7

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	m/z (ES+), [M+H] ⁺	Hiệu suất %
16 ^b 3-(2-((3-(xyclopropylsulfonyl)-2-flophenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin	13	438	63
17 ^a 3-(5-clo-2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin	14	432	87

^a Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit, được làm bay hơi *trong chân không* và được hòa tan lại trong DCM (50mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước (2x50mL), được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*.

^b Phản ứng được khuấy trong 2 h. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit, được pha loãng bằng EtOAc (100mL). Lốp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*.

Hợp chất trung gian 18: 3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin

Bước 1

Dung dịch của kali carbonat (40,9mL, 678,28 mmol) được nạp vào bình phản ứng 1L được trang bị nhiệt kế và cửa nạp nitơ. Hỗn hợp được khử khí ba lần bằng N₂ ở nhiệt độ phòng (23°C). 7-nitro-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-1-tosyl-1H-indol, Hợp chất trung gian 1 (100 g, 226,09 mmol), 2,4-diclo-5-flopyrimidin (49,1 g, 293,92 mmol) và metyl THF (1000mL) được thêm và được khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp thu được được khử khí 3 lần bằng nitơ. Phụ phẩm diclo[1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]paladi diclometan (9,23 g, 11,30 mmol) được thêm vào hỗn hợp phản ứng và hỗn hợp thu được được khử khí và được nạp đầy lại (3xN₂) và được khuấy ở 23°C qua đêm để tạo ra chất kết tủa màu vàng. Heptan (500mL) được nạp vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng và được khuấy trong 10 phút. sau đó dừng khuấy và chất kết tủa được để cho lắng xuống. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 5°C và được khuấy trong 1 h. Chất kết tủa được lọc qua phễu thủy tinh, được rửa bằng nước đến khi nước đạt độ pH trung tính (13 thể tích, rửa chuyển vị, 1,3L). Bánh lọc sau đó được rửa bằng hỗn hợp EtOAc/heptan 1:1 (5x2 thể tích, 1 L) ở nhiệt độ phòng, heptan (2x200mL, 2x2vol) và chất rắn được làm khô dưới chân không ở 35°C qua đêm để tạo ra 3-(2-clo-5-flopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (97 g, 89 % hiệu suất có hiệu quả).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,41 (s, 3H), 7,51 (d, 2H), 7,69 (t, 1H), 7,95 (d, 2H), 8,01 (dd, 1H), 8,75 (d, 1H), 8,81 (dd, 1H), 9,01 (d, 1H). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 447,2.

Bước 2

3-(2-clo-5-flopyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-tosyl-1H-indol (89,5 g, 200,30 mmol), 2-flo-3-(metylsulfonyl)anilin hydroclorua, Hợp chất trung gian 5 (54,2 g, 240,36 mmol), Pd₂(dba)₃ (9,17 g, 10,01 mmol) và 2'-(dixyclohexylphosphino)-N,N-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (7,88 g, 20,03 mmol) được thêm vào bình phản ứng 2 L dưới nitơ. 2,2-metyltetrahydrofuran được khử khí (1000mL) và dung dịch của xêsi carbonat (137 g, 420,62 mmol) trong nước (450mL) được thêm ở nhiệt độ phòng và hỗn hợp

phản ứng được khử khí (x7). Phản ứng sau đó được gia nhiệt đến 72,6°C và sau đó được khuấy qua đêm. Phản ứng được làm lạnh đến 4-5°C và được khuấy trong ít nhất 30 phút. Chất rắn được lọc trên phễu büchner, được rửa bằng 2-2-metyltetrahydrofuran lạnh (300mL, 3 thể tích), nước (3x300mL, 3 thể tích) và hỗn hợp EtOAc/heptan 1:2 (3x300mL, 3 thể tích) và được làm khô dưới chân không ở 40°C để tạo ra 5-flo-N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4-(7-nitro-1-tosyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (77,89 g, 65 % hiệu suất có hiệu quả) là chất rắn màu nâu.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 2,56 - 2,64 (m, 3H), 3,42 (d, 3H), 7,52 - 7,64 (m, 4H), 7,73 (t, 1H), 7,98 - 8,09 (m, 3H), 8,22 (t, 1H), 8,71 (s, 1H), 8,79 (d, 1H), 8,94 (d, 1H), 9,89 (s, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 600,2$.

Bước 3

5-flo-N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4-(7-nitro-1-tosyl-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (97,7 g, 129,87 mmol) được nạp vào bình phản ứng 5 L ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp của THF (100mL) và NaOH 3,8 M (chứa nước) (1000mL) được thêm để tạo ra hỗn hợp không tan màu nâu. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 75°C với hồi lưu và được khuấy qua cuối tuần. THF (10 thể tích) và heptan (10 thể tích) được nạp vào hỗn hợp phản ứng. Sau đó nó được để nguội đến 17°C qua 40 phút, được khuấy trong 60 phút và chất rắn được lọc trên phễu büchner. Bánh lọc được rửa bằng axit xitric 1M (500mL, đến độ pH trung tính), nước (5x300mL, đến độ pH trung tính) sau đó là heptan/EtOAc (4x400mL). Chất rắn được làm khô dưới chân không để tạo ra 5-flo-N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (55,0 g, 95 %).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3,27 - 3,38 (m, 3H), 7,30 (t, 1H), 7,47 (t, 1H), 7,64 (t, 1H), 8,11 - 8,29 (m, 3H), 8,52 (d, 1H), 8,98 (d, 1H), 9,60 (s, 1H), 12,57 (s, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 446,2$.

Bước 4

Huyền phù được khuấy của 5-flu-N-(2-flu-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4-(7-nitro-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (59,5 g, 123,5 mmol, 92,5 % khối lượng) trong THF/EtOH 2:1 (600mL) ở nhiệt độ phòng và dưới nitơ được thêm 10 % Pd/C (12,0 g, 123,5 mmol, 50 % ướt) và dung dịch của amoni format (46,8 g, 741,4 mmol) trong nước (50mL). Hỗn hợp phản ứng từ từ được gia nhiệt đến 70°C và được khuấy trong 30 phút. 12 g cacbon hoạt tính được thêm và hỗn hợp được khuấy trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 40°C và được lọc trên phễu büchner (giấy) dưới nitơ. Bánh lọc được rửa bằng THF/EtOH (160mL). Phần lọc được cô đến 4 thể tích và bột nhão tạo thành được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được lọc dưới nitơ. Chất rắn được rửa bằng nước (2 thể tích), etanol (2 thể tích) và được làm khô dưới nitơ/chân không ở 40°C để tạo ra 3-(5-flu-2-((2-flu-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin (44,3 g, 86 %) là chất rắn màu nâu sáng.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3,28 (s, 3H), 5,20 (bs, 2H), 6,43 (dd, 1H), 6,78 (t, 1H), 7,44 (t, 1H), 7,57 - 7,63 (m, 1H), 7,66 (d, 1H), 8,09 - 8,25 (m, 2H), 8,38 (d, 1H), 9,34 (s, 1H), 11,57 (s, 1H). m/z (ES $^+$), $[M+H]^+ = 416,3$.

Hợp chất trung gian 19: 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol

Natri hydrua (60% phân tán trong dầu khoáng) (1,32 g, 33,10 mmol) được thêm từng phần vào huyền phù khuấy màu vàng của 3-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1H-indol, Hợp chất trung gian 3 (6,37 g, 22,07 mmol) trong THF khan (150mL) ở 0°C. Sau khi khuấy trong 25 phút (dùng bay hơi khí) (2-(clometoxy)etyl)trimetylsilan (4,10mL, 23,17 mmol) được thêm nhanh nhỏ giọt. Sau 5 phút, bể làm lạnh được loại và phản ứng để khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 1,5 giờ. Natri hydrua bổ sung (60% phân tán trong dầu khoáng) (130 mg, 3,3 mmol) và (2-(clometoxy)etyl)trimetylsilan (0,4mL, 2,3 mmol) được thêm. Phản ứng được khuấy thêm 40 phút sau đó được dừng bằng NaHCO_3 bão hòa (chứa nước) và hỗn hợp vàng nhạt pha loãng bằng Et_2O . Các lớp được tách và lớp nước được chiết bằng Et_2O (x2). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô qua MgSO_4 , được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong cloform và được tinh chế bằng sắc ký nhanh silic oxit gel tự động sử dụng cột 120 g. Gradient của EtOAc 5 %

trong hexan trong 3 phút sau đó là EtOAc 5 – 45 % trong hexan qua 25 phút được dùng làm pha động. Sản phẩm được gom sử dụng độ dài bước sóng 254 nm để tạo ra 3-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol (9,21 g, 100 %) là chất rắn màu vàng.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ -0,16 (s, 9H) 0,60 - 0,73 (m, 2H) 2,51 - 2,52 (m, 3H) 3,11 - 3,22 (m, 2H) 5,72 (s, 2H) 7,48 (t, 1H) 7,94 (d, 1H) 8,57 (s, 1H) 8,64 (s, 1H) 8,84 (d, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 419,2$.

Hợp chất trung gian 20: 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-amin

Bước 1

Xêsi carbonat (2,333 g, 7,16 mmol) được thêm vào 3-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-nitro-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol, Hợp chất trung gian 19 (1,0 g, 2,39 mmol), 2-flo-3-(metylsulfonyl)anilin, Hợp chất trung gian 5 (0,542 g, 2,86 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,219 g, 0,24 mmol) và 2-dixyclohexylphosphino-2'-(N,N-dimethylamino)-biphenyl (Davephos) (0,188 g, 0,48 mmol) trong DMF (20mL) ở 25°C dưới nito. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 80°C trong 3 giờ và được để nguội đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với EtOAc (200mL), được rửa bằng nước (50mL), NaHCO_3 bão hòa (50mL) và nước muối (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh sử dụng gradien của EtOAc từ 5 - 60% trong ete dầu mỏ làm pha động. Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (0,940 g, 69 %) là chất rắn màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ -0,08 (s, 9H), 0,74 - 0,87 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 3,22 - 3,38 (m, 5 H), 5,67 (s, 2H), 7,21 - 7,33 (m, 2H), 7,42 (s, 1H), 7,48 - 7,60 (m, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,89 (d, 1H), 8,39 (s, 1H), 8,62 (d, 1H), 8,89 (t, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 572,2$.

Bước 2

N-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)-5-metyl-4-(7-nitro-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-3-yl)pyrimidin-2-amin (2,76 g, 4,83 mmol), sắt (11,59 g, 207,59 mmol) và amoni hydroclorua (11,10 g, 207,59 mmol) được hòa tan trong MeOH/THF/nước 1:1:1 (120mL) và được khuấy ở 70°C trong 4 h. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng. Chất rắn được lọc bỏ, phân lọc được rót vào nước (200mL) và được chiết bằng DCM (8x40mL). Các chất chiết hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-amin (2,52 g, 96 %) là gồm màu cam.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ -0,05 (s, 9H), 0,87 - 0,93 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 3,56 - 3,65 (m, 2H), 5,05 (s, 2H), 5,73 (s, 2H), 6,53 (d, 1H), 6,78 (t, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,28 (d, 2H), 9,13 (s, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 542,3$.

Hợp chất trung gian 21: (S)-2-bromo-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

DIPEA (0,679mL, 3,89 mmol) được thêm thành một phần vào 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (200 mg, 0,49 mmol) và (S)-2-bromopropanoic axit (149 mg, 0,97 mmol) trong DMF (3mL) ở 25°C. Dung dịch thu được được làm lạnh đến -40°C và 1-propanephosphonic axit xyclic anhydrit (619 mg, 0,97 mmol) được thêm nhỏ giọt ở -40°C và tiếp tục khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (25mL) và được rửa bằng nước muối (2x50mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng MeOH/DCM 1:20 làm chất rửa giải để tạo ra (S)-2-bromo-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, (224 mg, 84 %) là chất rắn màu nâu.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 1,86 (d, 3H), 2,42 (s, 3H), 3,26 (s, 3H), 4,78 - 4,90 (m, 1H), 7,01 (t, 1H), 7,38 - 7,52 (m, 2H), 7,57 (t, 1H), 8,09 (d, 1H), 8,18 (d,

1H), 8,25 - 8,34 (m, 2H), 9,21 (s, 1H), 10,20 (s, 1H), 11,37 (s, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 546$.

Hợp chất trung gian 22: (R)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua

Bước 1

(S)-metyl 2-hydroxypropanoat (250 g, 2,40 mol), DCM (1500mL) và 2,6-dimethylpyridin (656,7 g, 6,13 mol) được đặt trong bình thót cổ đáy tròn 4 cổ 3000mL và hỗn hợp được làm lạnh đến -78°C . Triflometansulfonic anhydrit (630 g, 2,23 mol) được thêm nhỏ giọt kèm khuấy ở -78°C và dung dịch thu được sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 h. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (1000mL), được rửa bằng 1M HCl (3x500mL) và nước muối (1x500mL). Pha hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 khan, được lọc và được cô *trong chân không*. Cặn sau đó được thêm nhỏ giọt vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ 3000mL được khuấy, chứa 1-methylpiperazin (213,3 g, 2,13 mol), DCM (800mL), nước (400mL) và kali carbonat (491,3 g, 3,53 mol) ở 0°C . Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm và sau đó được pha loãng bằng DCM (500mL). Hỗn hợp thu được được rửa bằng nước (1x500mL) và nước muối (500mL). Pha hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit gel điều chế sử dụng gradien của etyl axetat 17 – 50 % trong ete dầu mỏ làm pha động để tạo ra (R)-metyl 2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoat (226 g, 68%) là dầu màu vàng sáng. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 187$.

Bước 2

Trong bình thót cổ đáy tròn 4 cổ 3000mL, được đặt hydro clorua (2000mL, 60,34 mol, 6M/L) sau đó là (R)-metyl 2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoat (226 g, 1,21 mol). Dung dịch thu được được khuấy qua đêm ở 100°C và sau đó được cô *trong chân không*. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng axetonitril (1000mL) và chất rắn được gom bằng cách lọc. Sản phẩm được kết tinh lại (x5) ở nhiệt độ phòng từ etanol (1 g/20mL) để tạo ra (R)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua (124 g, 42 %) là chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300MHZ, CD_3OD) δ 1,69 - 1,71 (d, 3H), 3,04 (s, 3H), 3,83 (m, 8H), 4,35 - 4,42 (m, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 173$.

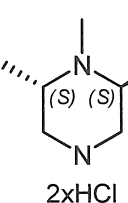
Hợp chất trung gian 23: (R)-metyl 2-((S)-3,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat

2,6-dimethylpyridin (0,672mL, 5,77 mmol) được thêm vào dung dịch đã làm lạnh -78°C của (S)-metyl 2-hydroxypropanoat (500 mg, 4,81 mmol) trong DCM (5mL). Hỗn hợp được khuấy trong 5 phút và triflometansulfonic anhydrit (0,974mL, 5,77 mmol) sau đó được thêm nhỏ giọt. Phản ứng được khuấy trong 30 phút, bỏ làm lạnh và hỗn hợp phản ứng để đạt đến nhiệt độ phòng qua 30 phút. Dung dịch được rửa bằng 1M HCl (chứa nước) (20mL), được làm khô bằng thiết bị tách pha và sau đó được thêm từ từ vào hỗn hợp của (S)-1,2-dimethylpiperazin dihydroclorua (0,944 g, 5,05 mmol) được tạo huyền phù trong DCM (10mL) và dung dịch của kali carbonat (1,993 g, 14,42 mmol) trong nước (10mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 h. Các pha được tách. Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (25mL), được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-metyl 2-((S)-3,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat (0,726 g, 75 %) là chất dầu màu cam sáng.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 1,05 (d, 3H), 1,29 (d, 3H), 2,1 - 2,25 (m, 2H), 2,25 - 2,37 (m, 4H), 2,46 (t, 1H), 2,69 - 2,83 (m, 3H), 3,28 (q, 1H), 3,70 (s, 3H).

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng amin được cho để tạo ra Hợp chất trung gian 24 được mô tả trong Bảng 8:

Bảng 8

Hợp chất trung gian	Amin khởi đầu	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H] $^{+}$	Hiệu suất %
24 ^a (R)-metyl 2-((3S,5S)- 3,4,5-trimethylpiperazin- 1-yl)propanoat	 2xHCl	1,03 (d, 6H), 1,25 (d, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,36 - 2,46 (m, 2H), 2,60 (d, 2H), 2,76 - 2,88 (m, 2H), 3,27 (q, 1H), 3,68 (s, 3H).	NV	91

Hợp chất trung gian 25: (R)-2-((S)-3,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua

(R)-metyl 2-((S)-3,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 23 (726 mg, 3,62 mmol) được khuấy trong HCl 6M (6mL, 36,00 mmol) ở hồi lưu trong 16 h. (Phản ứng chạy khô). Thêm nước (6mL) và được khuấy trong 2 h. Phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và dung môi được cô *trong chân không*. Cặn được tạo huyền phù trong axetonitril và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 h. Chất rắn được lọc bỏ, được rửa bằng axetonitril và được làm khô *trong chân không* để tạo ra (R)-2-((S)-3,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua (626 mg, 66,6 %) là chất rắn. ¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 1,33 (d, 3H), 1,37 - 1,48 (m, 3H), 2,88 (s, 3H), 3,07 - 3,23 (m, 1H), 3,28 - 3,85 (m, 7H).

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian khởi đầu được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 26 được mô tả trong Bảng 9:

Bảng 9

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	¹ H NMR δ (500 MHz, D ₂ O)	m/z (ES+) [M+H] ⁺	Hiệu suất %
26 ^a (R)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua	24	1,3 - 1,47 (m, 9H), 2,82 (s, 3H), 3,05 - 4,05 (m, 7H).	NV	91

^a Cặn được hòa tan trong nước/axetonitril và được làm khô lạnh. Chất bán rắn dư được tạo huyền phù trong axetonitril và được khuấy trong 1 h ở nhiệt độ phòng. Chất rắn được lọc bỏ, được rửa bằng axetonitril và được làm khô *trong chân không*.

Hợp chất trung gian 27: (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua

Bước 1

2,6-dimethylpyridin (0,868mL, 7,45 mmol) được thêm vào dung dịch đã làm lạnh -78°C của (S)-metyl 2-hydroxypropanoat (0,646 g, 6,21 mmol) trong DCM (10mL). Hỗn hợp được khuấy trong 5 phút và triflometansulfonic anhydrit (1,259mL, 7,45 mmol) sau đó được thêm nhỏ giọt. Phản ứng được khuấy trong 45 phút, bỏ làm lạnh và hỗn hợp phản ứng để đạt đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong 1 h. Dung dịch được rửa bằng HCl 1M (chứa nước) (20mL), được làm khô bằng thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong axetonitril (5mL) và được thêm vào huyền phù của (R)-1,3-dimethylpiperazin dihydroclorua (1,22 g, 6,52 mmol) và kali carbonat (2,57 g, 18,63 mmol) trong axetonitril (10mL). Phản ứng được gia nhiệt đến 60°C dưới khí quyển N_2 trong 20 h. Phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, chất rắn được lọc bỏ, được rửa bằng axetonitril và phần lọc được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong DCM (10mL) và 8 % NaHCO_3 (chứa nước) (10mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (10mL). Các chất chiết được kết hợp được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-metyl 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat (0,589 g, 47,4 %, 80 % de) là chất dầu nhạt

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,94 (d, 3H), 1,06 (d, 3H), 1,82 (t, 1H), 2,03 (t, 1H), 2,10 (s, 3H), 2,37 - 2,55 (m, 3H), 2,55 - 2,67 (m, 2H), 3,61 (s, 3H), 3,66 - 3,74 (m, 1H). (Most(chất đồng phân không đối quang phong phú nhất được mô tả)

Bước 2

(R)-metyl 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat (589 mg, 2,94 mmol) được hòa tan trong 6 M HCl (chứa nước) (5mL, 30,00 mmol) và được hồi lưu trong 18 h. Phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và dung môi được làm bay hơi *trong chân không* thành cặn bán rắn. Diethyl ete được thêm vào cặn, được khuấy trong 30 phút và chất rắn được lọc bỏ và được làm khô *trong chân không* để tạo ra (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua (623 mg, 82 %) là chất rắn nhạt.

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 1,32 (d, 3H), 1,41 (d, 3H), 2,89 (s, 3H), 3,08 - 3,91 (m, 7H), 4,25 - 4,51 (m, 1H). (chất đồng phân không đối quang phong phú nhất được mô tả)

Hợp chất trung gian 28: metyl 3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat

1-metylpiperazin (100 g, 988,4 mmol) và kali carbonat (164 g, 1186 mmol) được tạo bột nhão trong axetonitril khô (800mL) dưới nitơ. Metyl 2-bromo-3-metoxipropanoat (201g, 988,4 mmol) được thêm vào bột nhão ở 50 – 60°C qua khoảng thời gian 40 phút. Hỗn hợp thu được được gia nhiệt dưới nitơ ở 61°C trong 23 giờ và sau đó được làm lạnh đến 20°C. Chất rắn được lọc bỏ. Phần lọc được làm bay hơi thành cặn dầu mà được hòa tan trong HCl 1M (1000mL). Sau đó độ pH được điều chỉnh đến 1 bằng HCl 4M (~300mL). Dung dịch thu được được chiết bằng DCM (200mL). Dung dịch nước được làm bazơ bằng Na₂CO₃ bão hòa (1000mL) đến pH 9 và được chiết bằng DCM (2x500mL). Độ pH của pha nước sau đó được tăng đến 10 - 11 bằng natri hydroxit và được chiết bằng DCM (2x500mL). Bốn pha hữu cơ được kết hợp và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra metyl 3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat (181 g, 85 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2,07 (s, 3H), 2,14 - 2,34 (m, 4H), 2,39 - 2,52 (m, 4H), 3,14 (s, 3H), 3,22 (dd, 1H), 3,42 (dd, 1H), 3,48 - 3,56 (m, 4H).

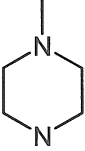
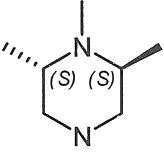
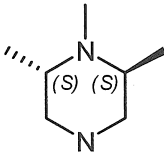
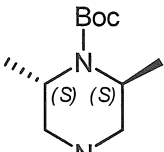
Hợp chất trung gian 29: metyl 2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat

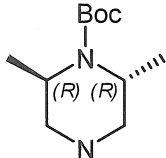
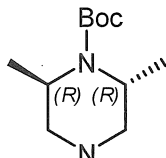
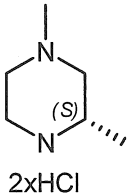
Kali carbonat (1,987 g, 14,38 mmol) được thêm vào metyl 2-bromopropanoat (2,041 g, 12,22 mmol) và 1-metylpiperazin (1,20 g, 11,98 mmol) trong axetonitril (20mL) ở 20°C dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp màu cam rực được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, pha loãng bằng etyl axetat và được lọc. Dung dịch màu cam được cô *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong dietyl ete và được lọc. Phần lọc được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra metyl 2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat, (2,2 g, 99 %) là chất dầu.

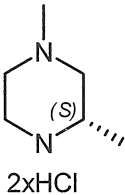
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1,23 (dd, 3H), 2,21 (d, 3H), 2,28 - 2,65 (m, 8H), 3,16 - 3,27 (m, 1H), 3,63 (s, 3H). m/z (ES+), [M+H]⁺ = 187.

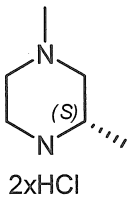
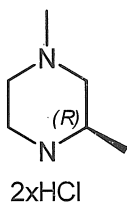
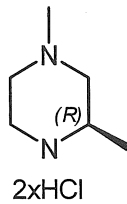
Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng chất phản ứng được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 30-44 được mô tả trong Bảng 10:

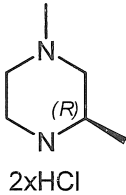
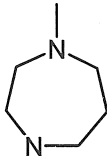
Bảng 10

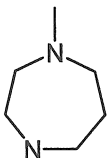
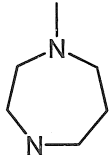
Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H] J^+	Hiệu suất %
30 ^a etyl 2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanoat	etyl 2-bromobutanoat		(400 MHz) 0,91 (t, 3H), 1,28 (t, 3H), 1,58 - 1,83 (m, 2H), 2,28 (s, 3H), 2,32 - 2,75 (m, 8H), 3,05 (dd, 1H), 4,17 (q, 2H).	NV	96
31 ^{b,c} etyl 2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanoat	etyl 2-bromobutanoat		0,87 - 1,10 (m, 9H), 1,15 - 1,35 (m, 3H), 1,58 - 1,79 (m, 2H), 2,20 - 2,37 (m, 4H), 2,45 (dd, 1H), 2,55 - 2,66 (m, 1H), 2,69 - 2,89 (m, 3H), 2,90 - 3,15 (m, 1H), 3,50 (s, 2H), 4,07 - 4,24 (m, 2H).	243	89
32 ^{b,d} metyl 3-metoxi-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanoat	metyl 2-bromo-3-metoxipropanoat		0,95 - 1,10 (m, 6H), 2,29 (s, 3H), 2,35 - 2,50 (m, 2H), 2,55 - 2,90 (m, 4H), 3,25 - 3,50 (m, 4H), 3,50 - 3,80 (m, 5H)	245	88
33 ^e (2S,6S)-tert-butyl 4-(1-metoxi-1-oxopropan-2-yl)-	metyl 2-bromopropanoat		1,23 - 1,31 (m, 9H), 1,42 - 1,51 (m, 9H), 2,33 - 2,47 (m, 2H), 2,65 (dd, 1H), 2,75 (dd, 1H), 3,27 -	NV	91

Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H]] $^+$	Hiệu suất %
2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat			3,36 (m, 1H), 3,69 (d, 3H), 3,82 - 3,92 (m, 2H).		
34 (2R,6R)-tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat	etyl 2-bromobutanoat		(400 MHz) 0,87 - 1,06 (m, 3H), 1,19 - 1,37 (m, 9H), 1,38 - 1,53 (m, 9H), 1,54 - 1,97 (m, 2H), 2,31 - 2,52 (m, 2H), 2,65 (dd, 1H), 2,82 (dd, 1H), 2,97 - 3,14 (m, 1H), 3,48 - 3,94 (m, 2H), 4,05 - 4,29 (m, 2H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang	329	91
35 ^a (2R,6R)-tert-butyl 2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat	metyl 2-bromo-3-metoxypianoat		NV	331	98
36 ^e metyl 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat	metyl 2-bromopropanoat		($\text{DSMO}-d_6$) 0,92 - 0,99 (m, 6H), 1,06 (d, 3H), 1,17 (d, 3H), 1,64 (t, 1H), 1,78 - 1,85 (m, 1H), 1,85 - 1,92 (m, 1H), 1,99 -	201	95

Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H]] $^+$	Hiệu suất %
			2,07 (m, 1H), 2,08 - 2,12 (m, 6H), 2,26 - 2,33 (m, 1H), 2,38 - 2,44 (m, 1H), 2,44 - 2,54 (m, 3H), 2,55 - 2,65 (m, 4H), 2,73 - 2,77 (m, 1H), 3,61 (s, 6H), 3,65 - 3,77 (m, 2H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang		
37 ^f metyl 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat	metyl 2-bromobutanoat		(DMSO- d_6) 0,77 - 0,87 (m, 6H), 0,97 (t, 6H), 1,45 - 1,72 (m, 5H), 1,82 - 1,97 (m, 2H), 2,09 (d, 6H), 2,22 - 2,3 (m, 1H), 2,3 - 2,38 (m, 1H), 2,38 - 2,44 (m, 1H), 2,44 - 2,66 (m, 6H), 2,66 - 2,77 (m, 3H), 3,47 (t, 1H), 3,61 (d, 6H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang	215	47

Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H] ⁺	Hiệu suất %
38 metyl 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-3-metoxypromat	metyl 2-bromo-3-metoxypromat	 2xHCl	NV	231	30
39 ^e metyl 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)promat	metyl 2-bromopromat	 2xHCl	($\text{DSMO}-d_6$) 0,91 - 0,99 (m, 6H), 1,06 (d, 3H), 1,17 (d, 3H), 1,64 (t, 1H), 1,82 (t, 1H), 1,85 - 1,93 (m, 1H), 2,03 (t, 1H), 2,10 (d, 6H), 2,25 - 2,34 (m, 1H), 2,38 - 2,44 (m, 1H), 2,44 - 2,54 (m, 3H), 2,54 - 2,67 (m, 4H), 2,72 - 2,79 (m, 1H), 3,61 (s, 6H), 3,66 - 3,79 (m, 2H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang	201	47
40 ^{e,f} metyl 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat	metyl 2-bromobutanoat	 2xHCl	($\text{DMSO}-d_6$) 0,76 - 0,87 (m, 3H), 0,97 (t, 3H), 1,45 - 1,71 (m, 2H), 1,8 - 1,97 (m, 1H), 2,09 (d, 3H), 2,2 - 2,38 (m, 1H), 2,38 - 2,77 (m, 5H), 3,27	NV	46

Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H] J^+	Hiệu suất %
			- 3,51 (m, 1H), 3,61 (d, 3H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang		
41 ^{b,f} metyl 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-3-metoxypromanoat	metyl 2-bromo-3-metoxypromanoat		(DMSO- d_6) 0,98 (dd, 3H), 1,61 - 1,69 (m, 1H), 1,85 - 1,93 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,31 - 2,39 (m, 1H), 2,39 - 2,68 (m, 3H), 2,71 - 2,79 (m, 1H), 3,21 - 3,24 (m, 3H), 3,43 (dd, 1H), 3,55 - 3,71 (m, 4H), 3,76 (dd, 1H). Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang	NV	58
42 ^e metyl 2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanoat	metyl 2-bromopromanoat		1,29 (d, 3H), 1,71 - 1,87 (m, 2H), 2,34 (s, 3H), 2,46 - 2,55 (m, 1H), 2,56 - 2,66 (m, 3H), 2,73 - 2,82 (m, 2H), 2,83 - 2,92 (m, 2H), 3,44 (q, 1H), 3,68 (s, 3H).	NV	86

Hợp chất trung gian	2-bromo-axetat	Amin	^1H NMR δ (500 MHz, CDCl_3)	m/z (ES+) [M+H]] $^+$	Hiệu suất %
43 ^a ethyl 2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanoat	ethyl 2-bromobutanoat		(400 MHz) 0,95 (t, 3H), 1,27 (t, 3H), 1,55 - 1,93 (m, 4H), 2,38 (s, 3H), 2,47 - 3,00 (m, 8H), 3,13 (t, 1H), 4,15 (q, 2H).	NV	88
44 methyl 3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanoat	methyl 2-bromo-3-methoxypropanoat		(300 MHz) 1,76 - 1,86 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,53 - 2,57 (m, 1H), 2,62 - 2,67 (m, 3H), 2,83 - 2,99 (m, 4H), 3,37 (s, 3H), 3,53 - 3,56 (m, 1H), 3,63 - 3,70 (m, 1H), 3,71 - 3,76 (m, 4H).	231	97

^a Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với ethyl axetat (50mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit. Dung môi được loại bằng cách chưng cất dưới chân không. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với Et_2O (50mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không.

^b 3 đương lượng của kali carbonat được sử dụng.

^c Hỗn hợp phản ứng được lọc. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp được hòa tan lại trong EA và được rửa bằng HCl. Lớp nước được kết hợp và độ pH của nó được điều chỉnh đến 8 bằng Na_2CO_3 . Lớp nước được rửa bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được kết hợp và được làm bay hơi trong chân không.

^d Hỗn hợp phản ứng được lọc và dung môi được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được pha loãng với EtOAc (50mL), được lọc qua xêlit và phần lọc được làm bay hơi *trong chân không*.

^e 2 đương lượng của kali carbonat được sử dụng.

^f Sau đó cô phần lọc. Cặn được hòa tan trong DCM (150mL), được chiết lại thành HCl 0,1 M (chứa nước) (200mL) và các pha được tách. Pha nước được rửa bằng DCM (150mL) và sau đó được bazơ hóa bằng cách thêm K₂CO₃ (s) đến pH 10. Hợp chất sau đó được chiết bằng DCM (3x125mL) và được làm bay hơi *trong chân không*.

Hợp chất trung gian 45: 2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua

Metyl 2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 29 (6,00 g, 32,21 mmol) được thêm nhỏ giọt vào 6M HCl (70mL, 420,00 mmol) ở 0°C. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 100°C trong 12 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được rửa bằng DCM (2x2000mL). Pha nước được loại dưới áp suất giảm để tạo ra 2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua (6,00 g, 76 %) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,54 (d, 3H), 2,83 (s, 3H), 3,47 - 3,90 (m, 8H), 4,25 - 4,45 (m, 1H), 12,21 (bs, 1H). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 173.

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian khởi đầu được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 46-47 được mô tả trong Bảng 11:

Bảng 11

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	^1H NMR δ (500 MHz, D_2O)	m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$	Hiệu suất %
46 ^a 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoic axit dihydroclorua	40	0,80 - 1,01 (m, 3H), 1,17 - 1,48 (m, 3H), 1,6 - 2,03 (m, 2H), 2,87 (d, 3H), 3,05 - 4,15 (m, 8H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	NV	87
47 ^a 2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanoic axit dihydroclorua	42	1,47 (d, 3H), 2,15 - 2,29 (m, 2H), 2,85 (s, 3H), 3,4 - 3,8 (m, 8H), 4,10 (q, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	NV	37

^a Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và sau đó được cô *trong chân không*. Cặn được tạo huyền phù trong axetonitril hoặc diethyl ete và được khuấy ở nhiệt độ phòng. Chất rắn được lọc bỏ và được làm khô *trong chân không*.

Hợp chất trung gian 48: Lithi 3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat

Dung dịch của lithi hydroxit (0,321 g, 13,39 mmol) trong nước (5mL) được thêm vào dung dịch của metyl 3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 28 (1,93 g, 8,92 mmol) trong THF (5mL). Vài giọt MeOH được thêm đến khi hỗn hợp phản ứng trở nên trong. Phản ứng được gia nhiệt ở 40°C trong 24 h. Các chất hữu cơ được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được pha loãng bằng nước và được đông khô (x3) để tạo ra lithi 3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat, (1,92 g, 103 %) là chất rắn.

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 2,06 (s, 3H), 2,48 (bs, 8H), 2,99 (t, 1H), 3,20 (s, 3H), 3,46 - 3,57 (m, 2H).

Quy trình được mô tả ở trên được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian khởi đầu được nêu để tạo ra Hợp chất trung gian 49-59 được mô tả trong Bảng 12:

Bảng 12

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	^1H NMR δ (500 MHz, D_2O)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất %
49 ^{a,b} lithi 2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanoat	31	0,75 - 1,10 (m, 9H), 1,22 - 1,66 (m, 2H), 2,00 - 2,45 (m, 5H), 2,45 - 2,75 (m, 5H).	215	lượng
50 ^{a,b,c} lithi 3-metoxi-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanoat	32	0,88 (dd, 6H), 2,11 (s, 3H), 2,18 - 2,37 (m, 2H), 2,43 - 2,90 (m, 4H), 3,18 (d, 3H), 3,30 - 3,59 (m, 3H).	NV	lượng
51 ^{d,e} lithi 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat	36	(DMSO- d_6) 0,9 - 1,01 (m, 9H), 1,04 (d, 3H), 1,72 (t, 1H), 1,85 - 1,98 (m, 2H), 2,08 (d, 6H), 2,18 - 2,26 (m, 1H), 2,26 - 2,35 (m, 1H), 2,39 - 2,72 (m, 7H), 2,72 - 2,81 (m, 1H), 3,06 - 3,23 (m, 3H). hỗn hợp của chất đồng phân	187	lượng

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	^1H NMR δ (500 MHz, D_2O)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất %
		không đối quang.		
52 ^{d,e} lithi 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat	37		201	lượng
53 ^{a,f} lithi 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat	39	(DMSO- d_6) 0,86 - 0,98 (m, 9H), 1,02 (d, 3H), 1,3 - 1,48 (m, 1H), 1,70 (t, 1H), 1,82 - 1,97 (m, 2H), 2,08 (d, 6H), 2,16 - 2,25 (m, 1H), 2,31 (t, 1H), 2,38 - 2,72 (m, 6H), 2,72 - 2,82 (m, 1H), 3,06 - 3,2 (m, 3H). hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang	NV	lượng
54 ^{b,d,e,g} 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-3-metoxypropanoic axit dihydroclorua	41		217	lượng
55	33	1,17 (dd, 3H), 1,2 - 1,31 (m, 6H), 1,36 - 1,47 (m,	NV	lượng

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	^1H NMR δ (500 MHz, D_2O)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất %
lithi 2-((3S,5S)-4-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat		9H), 2,40 (dd, 1H), 2,48 (dd, 1H), 2,58 - 2,71 (m, 2H), 2,85 - 3,01 (m, 1H), 3,82 - 3,94 (m, 2H).		
56 lithi 2-((3R,5R)-4-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat	34	(400 MHz) 0,67 - 0,89 (m, 3H), 1,05 - 1,22 (m, 6H), 1,26 - 1,38 (m, 9H), 1,38 - 1,76 (m, 2H), 2,31 (dd, 1H), 2,40 (dd, 1H), 2,50 - 2,63 (m, 1H), 2,63 - 2,75 (m, 1H), 3,72 - 3,84 (m, 2H).	301	98
57 ^{a,f,h} lithi 2-((3R,5R)-4-(<i>tert</i> -butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-3-metoxypropanoat	35	(DMSO- d_6) 1,11 - 1,23 (m, 6H), 1,37 (s, 9H), 2,33 - 2,49 (m, 2H), 2,60 - 2,75 (m, 2H), 2,82 - 3,10 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,32 - 3,62 (m, 2H), 3,63 - 3,75 (m, 2H).	317	97
58 ^{a,c} lithi 2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-	43	(400 MHz, DMSO- d_6) 0,87 (t, 3H), 1,35 - 1,53 (m, 1H), 1,57 - 1,80 (m, 3H), 2,25 (3 H, s), 2,40 - 2,65 (m, 4H),	NV	lượng

Hợp chất trung gian	Hợp chất trung gian khởi đầu	¹ H NMR δ (500 MHz, D ₂ O)	m/z (ES+) [M+H] ⁺	Hiệu suất %
yl)butanoat		2,70 - 2,93 (m, 5H).		
59 ^{a,f} lithi 3-metoxi-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanoat	44	(300 MHz) 1,63 - 1,74 (m, 2H), 2,18 (s, 3H), 2,50 - 2,65 (m, 4H), 2,74 - 2,86 (m, 4H), 3,17 - 3,31 (m, 4H), 3,50 - 3,60 (dd, 2H).	217	95

^a THF/MeOH 1:1 được dùng làm dung môi.

^b 3 đương lượng LiOH được sử dụng.

^c Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (30mL). Lớp nước được rửa bằng EtOAc hoặc diethyl ete và được đông khô.

^d MeOH được dùng làm dung môi.

^e Nhiệt độ phản ứng: 50°C

^f Nhiệt độ phản ứng: 60°C

^g 1M HCl (10mL) được thêm vào hỗn hợp phản ứng mà sau đó được đông khô.

^h 2 đương lượng LiOH được sử dụng.

Hợp chất trung gian 60: (S)-metyl 3-etoxy-2-hydroxypropanoat

Magie triflat (1,577 g, 4,90 mmol) được thêm vào (S)-metyl oxiran-2-carboxylat (2,00 g, 19,59 mmol) được hòa tan trong ethanol (10mL) ở 25°C dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 30 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với EtOAc (50mL) và được rửa bằng nước muối (25mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều

chế sử dụng EtOAc/ete dầu hỏa 1:1, để tạo ra (S)-metyl 3-etoxy-2-hydroxypropanoat, (1,788 g, 61,6 %) là dầu không màu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,20 (t, 3H), 2,46 (bs, 1H), 3,45 - 3,67 (m, 2H), 3,74 (d, 2H), 3,83 (s, 3H), 4,19 - 4,41 (m, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 203$.

Hợp chất trung gian 61: (S)-metyl 3-etoxy-2-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)propanoat

2,6-dimetylpyridin (1,643mL, 14,11 mmol) được thêm vào (S)-metyl 3-etoxy-2-hydroxypropanoat, Hợp chất trung gian 60 (1,9 g, 12,82 mmol) trong DCM (30mL) ở -78°C dưới nitơ. sau khi duy trì làm mát hoàn toàn, triflometansulfonic anhydrit (2,341mL, 14,11 mmol) được thêm nhỏ giọt qua bơm ống tiêm qua 1 giờ. Dung dịch thu được được khuấy ở -78°C trong 30 phút sau đó được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy thêm 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (100mL), được rửa bằng HCL 1 M (75mL) và pha hữu cơ được làm khô dưới chân không để tạo ra (S)-metyl 3-etoxy-2-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)propanoat (3,30 g, 92 %) là dầu nâu sáng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,23 (t, 3H), 3,48 - 3,75 (m, 2H), 3,82 - 4,01 (m, 3H), 4,23 - 4,46 (m, 2H), 5,22 - 5,36 (m, 1H).

Hợp chất trung gian 62: (R)-metyl 3-etoxy-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanoat

Kali carbonat (3,26 g, 23,55 mmol) được hòa tan trong nước (420mL) và được thêm nhỏ giọt vào dung dịch của (S)-metyl 3-etoxy-2-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)propanoat, Hợp chất trung gian 61 (3,3 g, 11,78 mmol) và 1-metylpipezazin (1,769 g, 17,66 mmol) trong DCM (15mL) ở 0°C qua khoảng thời gian 5 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (500mL) và được rửa bằng nước (100mL) và nước muối (100mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi trong chân không. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc 1:1, để tạo ra (R)-metyl 3-etoxy-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanoat (2,40 g, 88 %) là chất dầu màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,18 (t, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,36 - 2,60 (m, 4H), 2,60 - 2,79 (m, 4H), 3,35 - 3,60 (m, 3H), 3,61 - 3,84 (m, 4H), 4,21 (q, 1H).

m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 231$.

Hợp chất trung gian 63: Lithi (R)-3-etoxy-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat

Lithi hydroxit (204 mg, 8,51 mmol) trong nước (6mL) được thêm vào (R)-metyl 3-etoxy-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 62 (980 mg, 4,26 mmol) trong THF/MeOH 1:1 (12mL) ở 25°C. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 giờ. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được pha loãng với MeOH (50mL), được rửa bằng ete dầu hỏa (2x50mL) và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-3-etoxy-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoic axit (421 mg, 45,7 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,19 (t, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,34 - 2,78 (m, 8H), 2,97 - 3,08 (m, 1H), 3,42 - 3,59 (m, 2H), 3,70 (dd, 1H), 3,76 - 3,87 (m, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 217$.

Hợp chất trung gian 64: Natri 3-(benzyloxy)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat

Bước 1

Trong bình thót cổ đáy tròn được trang bị nhiệt kế, (S)-2-amino-3-(benzyloxy)propanoic axit (3,00 g, 15,37 mmol) được hòa tan trong sulfuric axit (18,44mL, 36,88 mmol) và được làm nguội bằng bể nước đá đến 0°C. Dung dịch của natri nitrit (1,696 g, 24,59 mmol) trong nước (10mL) được thêm thành các phần nhỏ qua 60 phút, giữ nhiệt độ bên trong dưới 3°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C và được để ấm từ từ đến nhiệt độ phòng qua đêm. NaOH (50%, nước, khối lượng/khối lượng, 2,8mL) được thêm đến khi pH 4. Etyl axetat (25mL) sau đó được thêm và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh trong khi độ pH giảm xuống pH 3 bằng cách thêm H_2SO_4 2 M (chứa nước). Các pha được tách và pha nước được chiết bằng EtOAc (3x25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO_4 , được lọc qua bộ tách pha và được cô *trong chân không* để tạo ra (S)-3-(benzyloxy)-2-hydroxypropanoic axit (2,55 g, 85 %, 98,0 % ee).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 3,78 (dd, 1H), 3,83 (dd, 1H), 4,37 (t, 1H), 4,61 (d, 2H), 7,28 - 7,4 (m, 5H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

Bước 2

Axetyl clorua (4,28mL, 60,14 mmol) được thêm nhỏ giọt vào bể nước đá, 0°C , làm lạnh metanol (14mL). Hỗn hợp được khuấy ở 0°C trong 5 phút và sau đó được chuyển sang dung dịch của (S)-3-(benzyloxy)-2-hydroxypropanoic axit (2,36 g, 12,03 mmol) trong metanol (14,00mL) ở 0°C . Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 40 phút. Trimetyl orthoformat (2,66mL, 24,06 mmol) được thêm và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh tự động trên cột Biotage® KP-SIL 50 g sử dụng EtOAc 50 % trong heptan qua 12 CV làm pha động. Hợp chất được dò sử dụng độ dài bước sóng bằng 257 nm. sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-metyl 3-(benzyloxy)-2-hydroxypropanoat (1,94 g, 77 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 3,04 (d, 1H), 3,76 (d, 2H), 3,79 (s, 3H), 4,31 - 4,36 (m, 1H), 4,54 (d, 1H), 4,61 (d, 1H), 7,27 - 7,37 (m, 5H).

Bước 3

Triflic anhydrit (1,543mL, 9,13 mmol) được thêm nhỏ giọt vào bể nước đá, 0°C , làm nguội dung dịch của (S)-metyl 3-(benzyloxy)-2-hydroxypropanoat (1,92 g, 9,13 mmol) và DIPEA (1,595mL, 9,13 mmol) trong toluen (20mL). Phản ứng được khuấy ở 25°C trong 30 phút và sau đó được làm lạnh đến -78°C . Hỗn hợp của 1-metylpiperazin (1,013mL, 9,13 mmol) và DIPEA (1,595mL, 9,13 mmol) trong toluen (20mL) được thêm (giữ nhiệt độ dưới -70°C). Hỗn hợp phản ứng được khuấy kèm làm nguội qua đêm trong thời gian đó bể làm lạnh đạt -40°C . Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng, được lọc và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh tự động trên cột Biotage® KP-SIL 50 g sử dụng EtOAc 66 % trong heptan qua 12 CV sau đó là NH_3 0,2 M trong MeOH qua 10 CV làm pha động. Sản phẩm được dò sử dụng độ dài bước sóng 250 nm. Các phân đoạn sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-metyl 3-(benzyloxy)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat (1,32 g, 66 %, 96,0 % ee).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2,42 (s, 3H), 2,5 - 2,71 (m, 4H), 2,71 - 2,83 (m, 4H), 3,49 (t, 1H), 3,66 - 3,74 (m, 4H), 3,78 (dd, 1H), 4,53 (dd, 2H), 7,24 - 7,39 (m, 5H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 293,6$.

Bước 4

(R)-metyl 3-(benzyloxy)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat (308 mg, 1,05 mmol) được hòa tan trong metanol (1,5mL) và natri hydroxit 1M chứa nước (1,05mL) và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 h. natri hydroxit 1M chứa nước bổ sung (0,2mL) được thêm và hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm 2 h ở nhiệt độ phòng và 3 h ở 45°C. Phản ứng sau đó để đạt nhiệt độ phòng và được pha loãng bằng nước (5mL) và được đông khô để tạo ra chất thô natri-3-(benzyloxy)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat (356 mg) là chất rắn.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 2,10 (s, 3H), 2,16 - 2,34 (m, 4H), 2,52 - 2,63 (m, 4H), 2,91 (dd, 1H), 3,58 (dd, 1H), 3,65 (dd, 1H), 4,39 - 4,48 (m, 2H), 7,23 - 7,28 (m, 1H), 7,28 - 7,36 (m, 4H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 279,2$.

Hợp chất trung gian 65: lithi 2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanoat

Lithi hydroxit (0,335 g, 14,00 mmol) được thêm vào etyl 2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 30 (2,00 g, 9,33 mmol) trong THF (6mL), nước (6mL) và MeOH (1mL) dưới nitơ. Huyền phù thu được được khuấy ở 40°C trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô *trong chân không*. Cặn được pha loãng với nước (10mL), được chiết bằng dietyl ete (2x10mL) và lớp nước được làm khô lạnh để tạo ra lithi 2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanoat (1,680 g, 97 %) là chất rắn màu vàng nhạt.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,82 (t, 3H), 1,38 - 1,68 (m, 2H), 2,11 (s, 3H), 2,16 - 2,48 (m, 4H), 2,49 - 2,67 (m, 5H).

Hợp chất trung gian 66: lithi 2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)propanoat

Bước 1

Kali carbonat (0,890 g, 6,44 mmol) được thêm vào metyl 2-bromopropanoat (0,897 g, 5,37 mmol) và *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (1,00 g, 5,37 mmol) trong

axetonitril (10mL) ở 20°C dưới nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với etyl axetat (50mL), được lọc qua xêlit và phân lọc được làm bay hơi *trong chân không*. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với diethyl ete (50mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit và phân lọc được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra *tert*-butyl 4-(1-metoxi-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (1,80 g, 123 %) là dầu không màu, được lấy trực tiếp cho bước tiếp theo.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 1,33 (d, 3H), 1,46 (s, 9H), 2,45 - 2,75 (m, 4H), 3,25 - 3,60 (m, 5H), 3,72 (s, 3H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 273$.

Bước 2

Dung dịch của lithi hydroxit (0,158 g, 6,61 mmol) trong nước (5mL) được thêm vào dung dịch khuấy của *tert*-butyl 4-(1-metoxi-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (1,80 g, 6,61 mmol) trong THF/MeOH 1:1 (10mL). Dung dịch thu được được khuấy ở 60°C trong 4 giờ. Dung môi được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được pha loãng với nước (15mL) và được đông khô để tạo ra lithi 2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)propanoat,

(1,60 g, 91 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, D_2O) 1,13 (d, 3H), 1,35 (s, 9H), 2,40 - 2,55 (m, 4H), 2,89 (q, 1H), 3,26 - 3,47 (m, 4H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 259$.

Ví dụ 1

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-yl)propanamit

Kali carbonat (101 mg, 0,73 mmol) được thêm vào (S)-2-bromo-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Hợp chất trung gian 21 (200 mg, 0,37 mmol) và 2-(piperazin-1-yl)etanol trong DMF (5mL) ở 0°C dưới nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở 0°C trong 18 giờ và sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng, được lọc qua xêlit và được làm bay hơi *trong chân không*. Sản phẩm được tinh chế bằng achiral-HPLC điều chế trên cột XBridge C18 OBD sử dụng gradien của 41-58% axetonitril trong nước (0,05%

$\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$) qua 7 phút với dòng chảy bằng 30mL/phút. Sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-yl)propanamid (100 mg, 50 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1,47 (d, 3H), 2,47 (s, 3H), 2,85 – 3,43 (m, 13H), 3,45 - 3,60 (m, 1H), 3,86 (t, 2H), 7,06 (t, 1H), 7,20 (d, 1H), 7,30 - 7,54 (m, 1H), 7,54 - 7,72 (m, 1H), 7,94 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,47 (bs, 1H), 8,58 (t, 1H). m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 596$.

Ví dụ 2

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metypiperazin-1-yl)propanamit

DIPEA (13,9mL, 78,08 mmol) được thêm thành một phần vào (R)-2-(4-metypiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 22 (3,34 g, 13,64 mmol) và 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (4,00 g, 9,72 mmol) trong DCM (70mL) ở 25°C. Dung dịch thu được được khuấy ở 25°C trong 10 phút. Sau đó 1-propanephosphonic axit xyclic anhydrit, T3P (50 % khối lượng) (12,37 g, 19,44 mmol) được thêm nhỏ giọt ở 0°C. Dung dịch được khuấy ở 0°C trong 1 giờ và sau đó được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh C18 sử dụng gradien của MeOH 5 – 60 % trong nước làm pha động. Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên ChiralCel OD-H (20x250 mm) sử dụng EtOH 40 % trong CO_2 và dòng chảy bằng 40mL/phút. Chất đồng phân đối hình được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 nm. Chất đồng phân chính (chất đồng phân 1) được gom để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metypiperazin-1-yl)propanamit (1,85 g, 30 %) là chất rắn màu vàng.

^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,26 (d, 3H), 2,16 (s, 3H), 2,30 - 2,75 (m, 11H), 3,25 (s, 3H), 3,27 - 3,40 (m, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,30 - 7,48 (m, 2H), 7,48 - 7,65 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,23 - 8,40 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,66 (s, 1H), 11,38 (s, 1H).

^{19}F NMR (282 MHz, DMSO- d_6) δ -121,22. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 566$.

Quy trình được mô tả ví dụ 2 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian đã nêu để tạo ra Ví dụ 3-5 được mô tả trong Bảng 17 dưới đây:

Bảng 17

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (300 MHz, MeOD)	^{19}F NMR δ (282 MHz, MeOD)	m/z (ES+) [M+H] ⁺	Hiệu suất %
3 ^{a,b,c} (R)-N-(3-(2-((3- (ethylsulfonyl)-2- flophenyl)amino)- 5-methylpyrimidin- 4-yl)-1H-indol-7- yl)-2-(4- methylpiperazin-1- yl)propanamit	15, 22	1,22 (t, 3H), 1,42 (d, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,51 - 2,90 (m, 8H), 3,24 - 3,46 (m, 3H), 7,05 (t, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,34 (t, 1H), 7,48 - 7,60 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,13 (dd, 1H), 8,28 (d, 1H), 8,55 - 8,68 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-125,57	580	45
4 ^{b,d,g,f} (R)-N-(3-(2-((3- (xyclopropylsulfonyl)-2- flophenyl)amino)- 5-methylpyrimidin- 4-yl)-1H-indol-7- yl)-2-(4- methylpiperazin-1- yl)propanamit	16, 22	(400 MHz) 0,99 (m, 2H), 1,16 - 1,27 (m, 2H), 1,40 (dd, 3H), 2,33 (m, 3H), 2,39 - 2,47 (m, 3H), 2,48 - 2,90 (m, 9H), 3,33 - 3,45 (m, 1H), 6,95 - 7,08 (m, 1H), 7,08 - 7,18 (m, 1H), 7,21 - 7,37 (m, 1H), 7,43 - 7,58 (m, 1H), 7,80 - 8,00 (m, 1H), 8,05 - 8,17 (m, 1H), 8,22 - 8,32 (m, 1H), 8,50 - 8,63 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	(376 MHz) -124,95	592	25

5 ^{b,d,e,f} (R)-N-(3-(5-clo-2- (2-flo-3- (methylsulfonyl)phe nyl)amino)pyrimidi n-4-yl)-1H-indol-7- yl)-2-(4- methylpiperazin-1- yl)propanamit	17, 22	1,40 (d, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,50 - 2,90 (m, 8H), 3,12 (s, 3H), 3,40 (q, 1H), 7,01 (t, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,63 - 7,72 (m, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,34 - 8,44 (m, 2H), 8,51 (s, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-123,46	586	18
---	--------	--	---------	-----	----

^a T3P được thêm ở nhiệt độ phòng.

^b Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi đến khô và được hòa tan lại trong EtOAc hoặc DCM (50mL), và được rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (2x100mL) và nước muối (2x100mL). Lóp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 10:1 hoặc 20:1 làm chất rửa giải.

^c Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột ChiralPak IA (21,2x150 mm, 5 µm) sử dụng hexan 50 % (DEA 0,1%) trong IPA và dòng chảy bằng 20mL/phút. Hợp chất được dò sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm. chất đồng phân chính được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^d Thời gian phản ứng: 2 giờ.

^e Tinh chế bằng HPLC điều chế không bất đối xứng trên cột XBridge C18 OBD sử dụng gradien tăng của axetonitril trong nước (0,05 % NH₃xH₂O).

^f Tinh chế bất đối xứng trên Phenomenex Lux 5u Xenluloza-4, AXIA Packed, (250x21,2 mm, 5 µm) sử dụng hexan 50 % (DEA 0,1 %) trong EtOH/MeOH 35:15 và dòng chảy bằng 20mL/phút qua 30 phút. Các chất đồng phân được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân chính được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^g Tinh chế bằng HPLC điều chế không bất đối xứng trên cột XBridge C18 OBD Prep (100 Å, 5 µm, 19x250 mm) sử dụng gradien tăng của axetonitril trong nước (FA 0,1 %) với dòng chảy bằng 20mL/phút. Hợp chất được dò ở độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm.

Ví dụ 6

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit

Chất đồng phân 2 từ phản ứng của Ví dụ 2 được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế lại bằng sắc ký nhanh C18 sử dụng gradien của MeOH 10 – 60 % trong nước (FA 0,1%). Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế lại bằng SFC điều chế trên ChiralCel OD-H (20x250 mm) sử dụng EtOH 40 % trong CO₂ và dòng chảy bằng 40mL/phút. Cc chất đồng phân được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 nm. Chất đồng phân 2 được gom để tạo ra (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit (40 mg)

là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,41 (d, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,49 - 2,87 (m, 8H), 3,15 (s, 3H), 3,39 (q, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,14 (dd, 1H), 7,28 - 7,38 (m, 1H), 7,53 - 7,63 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,09 (dd, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,51 - 8,61 (m, 1H).

¹⁹F NMR (400 MHz, CD₃OD) δ -125,65. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 566.

Ví dụ 7

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit

Bước 1

(R)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 26 (113,0 mg, 0,42 mmol) và di(1H-imidazol-1-yl)metanon (127 mg, 0,78 mmol) được hòa tan trong DMF (3mL) và được khuấy 1 h ở nhiệt độ phòng. 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-((2-

(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (90,0 mg, 0,17 mmol) được thêm và hỗn hợp được khuấy ở 50°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc (10,0mL) và được rót vào Na₂CO₃ bão hòa (30mL). Các pha được lắc, được tách và pha nước được chiết bằng EtOAc (3x15mL). Các chất chiết hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế đảo pha trên cột Waters Sunfire C18 ODB (5µm, 19x150mm) sử dụng gradien của axetonitril 5 – 95 % trong HCO₂H 0,1 M (chứa nước), pH3. Các phân đoạn sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit (125 mg, 104 % (nước present)) là chất rắn màu vàng nhạt.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ -0,07 (s, 9H), 0,85 - 0,92 (m, 2H), 0,98 (d, 6H), 1,24 (d, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,20 - 2,33 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,64 (d, 2H), 2,72 - 2,82 (m, 2H), 3,10 (q, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,45 - 3,57 (m, 2H), 5,68 (d, 1H), 5,78 (d, 1H), 7,06 (t, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,55 (t, 1H), 8,16 - 8,22 (m, 2H), 8,28 (t, 1H), 8,33 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 9,45 (s, 1H).

m/z (ES+), [M+H]⁺ = 724.

Bước 2

(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit (97,0 mg, 0,13 mmol) được hòa tan trong DCM (1,3mL) và TFA (0,25mL, 3,37 mmol) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 60 h. Phản ứng được pha loãng với DCM và được rót vào NaHCO₃ bão hòa (10mL). Các pha được lắc, được tách và pha nước được chiết bằng DCM (3x5mL). Các chất chiết hữu cơ được kết hợp, được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng SFC bất đối xứng trên cột Cellucoat (250x30 mm, 5 µm) sử dụng EtOH 35 %/DEA 100:0,5 trong CO₂ ở 120 bar và dòng chảy bằng 140mL/phút. Đỉnh sản phẩm được dò ở 270 nm. sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế lại bằng SFC trên cột Waters BEH (5µm,

30x250 mm) sử dụng pha động bằng 20 mM MeOH/NH₃ trong CO₂. Các phân đoạn sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 7 (21 mg, 27 %).

¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0,98 (d, 6H), 1,28 (d, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,21 - 2,35 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,62 - 2,69 (m, 2H), 2,71 - 2,81 (m, 2H), 3,19 (q, 1H), 3,25 (s, 3H), 6,98 (t, 1H), 7,35 - 7,44 (m, 2H), 7,51 - 7,58 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,25 - 8,35 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,57 (s, 1H), 11,39 (s, 1H). m/z (ES+), [M+H]⁺ = 594.

Ví dụ 8

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanamit

(R)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 26 (199 mg, 0,73 mmol) và 1,1'-carbonyldiimidazol (91 mg, 0,56 mmol) được hòa tan trong DMF (2mL) và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1,5 giờ. 3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 18 (202 mg, 0,49 mmol) được thêm và phản ứng được gia nhiệt đến 60°C trong 3 h. Phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng. DCM (25mL) được thêm và pha hữu cơ được rửa bằng 8 % NaHCO₃ (3x25mL), được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μm, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 25 - 65% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 229 nm. Sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 8 (188 mg, 65 %, 99,4 % de) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 0,98 (d, 6H), 1,28 (d, 3H), 2,17 (s, 3H), 2,2 - 2,34 (m, 2H), 2,65 (d, 2H), 2,7 - 2,81 (m, 2H), 3,19 (q, 1H), 3,27 - 3,34 (m, 3H), 7,03

(t, 1H), 7,38 - 7,5 (m, 2H), 7,58 - 7,66 (m, 1H), 8,14 - 8,25 (m, 2H), 8,28 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,62 (s, 1H), 11,60 (s, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 598,3$.

Ví dụ 9

(R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit,
Chất đồng phân 1

Bước 1

3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (225 mg, 0,42 mmol), lithi 2-((3S,5S)-4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 55 (143 mg, 0,50 mmol) và pyridin (0,088mL, 1,04 mmol) được hòa tan trong DCM (5,0mL) và hỗn hợp phản ứng tạo thành được làm lạnh đến 0°C. Hỗn hợp phản ứng đã làm nguội, 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit, T3P (0,371mL, 1,25 mmol) được thêm và hỗn hợp phản ứng từ từ để đạt nhiệt độ phòng. Phản ứng được khuấy trong 16 h. Phản ứng được dừng bằng nước, được pha loãng bằng DCM (5mL), được rót vào Na₂CO₃ 10 % (30mL), được lắc, các pha được tách và pha nước được chiết bằng DCM (3x10mL). Các chất chiết hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 µm, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 45 - 95% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 270 nm. Các phân đoạn sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (2S,6S)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat (256 mg, 76 %) là chất rắn.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ -0,08 (d, 9H), 0,78 - 0,97 (m, 2H), 1,18 - 1,31 (m, 9H), 1,39 (s, 9H), 2,32 - 2,47 (m, 5H), 2,61 - 2,78 (m, 2H), 3,18 - 3,36 (m, 4H), 3,42 - 3,57 (m, 2H), 3,77 - 3,89 (m, 2H), 5,70 (d, 1H), 5,75 - 5,86 (m, 1H), 7,06 (t, 1H), 7,27 - 7,45 (m, 2H), 7,55 (t, 1H), 8,14 - 8,23 (m, 2H), 8,27 (t, 1H), 8,33 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 9,53 (d, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 810$.

Bước 2

(2S,6S)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-*flu*-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat (179,8 mg, 0,22 mmol) được hòa tan trong DCM (2,0mL) được thêm TFA (0,5mL, 6,73 mmol) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 96 h. Phản ứng được pha loãng với DCM, được dừng bằng cách thêm nước, được rót vào NaHCO₃ bão hòa (10mL), được lắc, các pha được tách và pha nước được chiết bằng EtOAc (3x5mL). Các chất chiết hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Các chất đồng phân được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột Chiralpak IB (250x30 mm, 5 μ m) sử dụng EtOH 30 %/DEA 100: 0,5 trong CO₂ ở 120 bar và dòng chảy bằng 150mL/phút. Chất đồng phân 1 được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-*flu*-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 1, Ví dụ 9 (50 mg, 41 %, 97 % ee).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,22 - 1,33 (m, 6H), 1,39 (d, 3H), 2,19 - 2,36 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,69 - 2,8 (m, 2H), 3,14 - 3,28 (m, 4H), 3,29 - 3,41 (m, 2H), 6,77 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 7,20 - 7,31 (m, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,73 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,99 (t, 1H), 9,83 (s, 1H), 11,45 (s, 1H). Một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

Ví dụ 10

(S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-*flu*-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

Chất đồng phân 2 từ việc tổng hợp Ví dụ 9, bước 2 được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-*flu*-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 10 (48 mg, 36 %, 90 % ee).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 1,24 - 1,32 (m, 6H), 1,35 (d, 3H), 2,33 - 2,47 (m, 5H), 2,61 - 2,78 (m, 2H), 3,24 (s, 3H), 3,33 - 3,44 (m, 3H), 6,79 (d, 1H), 7,11 (t,

1H), 7,2 - 7,31 (m, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,72 (d, 1H), 8,19 (d, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,99 (t, 1H), 9,87 (s, 1H), 11,45 (s, 1H). Một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

Ví dụ 11

(R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 1

Bước 1

3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 18 (318 mg, 0,77 mmol), lithi 2-((3S,5S)-4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 55 (235 mg, 0,80 mmol) và DIPEA (0,535mL, 3,06 mmol) được hòa tan trong DMF (2mL) và 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouroni hexaflophosphat(V) (306 mg, 0,80 mmol) được thêm. Phản ứng được gia nhiệt đến 50°C trong 1,5 giờ và sau đó được làm nguội đến nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (25mL) và 5 % Na₂CO₃ (chứa nước) (25mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (2x25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 µm, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 45 – 85 % trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 230 nm. Sản phẩm được gom và được đông khô. Chất đồng phân không đối quang được tách sử dụng SFC bất đối xứng trên cột CelluCoat (250x20 mm, 5µm) sử dụng EtOH 35 %/DEA 100:0,5 trong CO₂ ở 120 bar làm chất rửa giải và dòng chảy bằng 70mL/phút. Chất đồng phân không đối quang được dò ở 300 nm. Hợp chất rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* là chất đồng phân 1. Cặn được hòa tan trong axetonitril/nước và được đông khô để tạo ra (2S,6S)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat Chất đồng phân 1 (62,0 mg, 25,3 %, 99,9 % de) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,19 - 1,34 (m, 9H), 1,39 (s, 9H), 2,40 (dd, 2H), 2,75 (dd, 2H), 3,26 - 3,37 (m, 4H), 3,75 - 3,87 (m, 2H), 7,04 (t, 1H), 7,39 - 7,51 (m, 2H), 7,62 (t, 1H), 8,14 - 8,25 (m, 2H), 8,28 (d, 1H), 8,44 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,68 (s, 1H), 11,54 (s, 1H).

m/z (ES $^+$), $[M+H]^+ = 684,3$.

Bước 2

Tert-butyl (2S,6S)-4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat (62 mg, 0,09 mmol) được hòa tan trong DCM (4mL) và TFA (1mL, 12,98 mmol) được thêm. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 h và sau đó được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong DCM (25mL), 8 % NaHCO₃ (chứa nước) (25mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng SFC trên cột Waters BEH 2-EP (5 μm , 30x250 mm) sử dụng MeOH/NH₃ 20 mM làm chất rửa giải. Sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 11 (32,7 mg, 61,8 %).

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 1,06 (d, 6H), 1,26 (d, 3H), 2,12 - 2,21 (m, 2H), 2,61 (dd, 2H), 3,06 - 3,14 (m, 2H), 3,20 (q, 1H), 3,30 (s, 3H), 7,03 (t, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,59 - 7,65 (m, 1H), 8,16 - 8,24 (m, 2H), 8,27 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,65 (s, 1H), 11,63 (bs, 1H). m/z (ES $^+$), $[M+H]^+ = 584,2$.

Ví dụ 12

(S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 2

Bước 1

Hợp chất rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 11, bước 1 được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong axetonitril/nước - chất rắn màu trắng rơi ra. Chất rắn được lọc, được rửa bằng axetonitril/nước và được làm khô *trong chân không* để tạo ra (2S,6S)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat Chất đồng phân 2 (89 mg, 36,3 %, 99,3 % de) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,18 - 1,31 (m, 9H), 1,39 (s, 9H), 2,44 (dd, 2H), 2,69 (dd, 2H), 3,26 - 3,36 (m, 3H), 3,49 (q, 1H), 3,78 - 3,89 (m, 2H), 7,03 (t, 1H), 7,38 - 7,51 (m, 2H), 7,62 (t, 1H), 8,15 - 8,24 (m, 2H), 8,27 (d, 1H), 8,44 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 11,60 (s, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 684,2$.

Bước 2

Tert-butyl (2S,6S)-4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat Chất đồng phân 2 (89 mg, 0,13 mmol) được hòa tan trong DCM (4mL) và TFA (1mL, 12,98 mmol) được thêm. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 h và sau đó được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong DCM (25mL), 8 % NaHCO_3 (chứa nước) (25mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong DMSO và được tinh chế bằng SFC trên cột Waters BEH 2-EP (5 μm , 30x250 mm) sử dụng MeOH/NH_3 20 mM làm chất rửa giải. Sản phẩm được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-2-((3S,5S)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 12 (32,4 mg, 42,6 %).

^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ 1,06 (d, 6H), 1,19 (d, 3H), 2,21 (dd, 2H), 2,52 - 2,59 (m, 2H), 3,08 - 3,17 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,37 - 3,5 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,58 - 7,67 (m, 1H), 8,13 - 8,23 (m, 2H), 8,26 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,72 (s, 1H), 11,67 (bs, 1H).

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 584,2$.

Ví dụ 13

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanamit,

DIPEA (2,54mL, 14,58 mmol) được thêm vào lithi 2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 65 (1,81 g, 9,72 mmol) và 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (2,00 g, 4,86 mmol) trong DCM (50mL) ở 15°C dưới nitơ. Hỗn hợp được khuấy trong 10 phút, T3P (50% trong EtOAc) (6,18 g, 9,72 mmol) được thêm nhỏ giọt ở 0°C và phản ứng được khuấy ở 0°C trong 1 giờ. Sau đó dung môi được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh C18 nhanh sử dụng gradien từ 5 - 80% MeON trong nước (NH₄HCO₃). Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi đến khô. Cặn được tinh chế lại bằng HPLC điều chế trên SunFire Prep C18 OBD column (5μm, 30x100 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa % NH₄HCO₃) trong axetonitril làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*. Chất đồng phân đối hình được tách bằng SFC điều chế bất đối xứng trên cột ChiralPak AD-H (50x250 mm, 5 μm) sử dụng IPA 50 % (DEA 0,1 %) trong CO₂ và dòng chảy bằng 150mL/phút. Chất đồng phân đối hình được dò bằng cách sử dụng UV ở 254 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanamit, Ví dụ 13 (200 mg, 7 %, 96,4 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,05 (t, 3H), 1,77 - 1,99 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,45 - 2,90 (m, 8H), 3,11 - 3,23 (m, 4H), 7,02 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,32 (t, 1H), 7,52 - 7,62 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,06 - 8,15 (m, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,51 - 8,61 (m, 1H). proton có thể trao đổi không được quan sát thấy. ¹⁹F NMR (400 MHz, CD₃OD) δ -125,77. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 580$.

Ví dụ 14

(R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamide

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ việc tổng hợp Ví dụ 13 được gom và được làm bay hơi trong chân không để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamide. Chất đồng phân 2, Ví dụ 14 (200 mg, 7 %, 92,8 % ee) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,05 (t, 3H), 1,77 - 1,99 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,45 - 2,95 (m, 8H), 3,11 - 3,23 (m, 4H), 7,02 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,52 - 7,62 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,06 - 8,15 (m, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,51 - 8,61 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy. ^{19}F NMR (400 MHz, CD_3OD) δ -125,72. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 580$.

Quy trình được mô tả ở trên ví dụ 13 và 14 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian đã nêu để tạo ra Ví dụ 15-18 được mô tả trong Bảng 18 dưới đây:

Bảng 18

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (300 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
15 ^{a,b} (S)-N-(3-(2-((2- flo-3- (methylsulfonyl)p henyl)amino)-5- methylpyrimidin- 4-yl)-1H-indol-7- yl)-3-methoxy-2- (4- methylpiperazin- 1-yl)propanamit Chất đồng phân 1	11, 48	2,31 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,52 - 2,71 (m, 4H), 2,72 - 2,95 (m, 4H), 3,15 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 3,49 (t, 1H), 3,75 - 3,95 (m, 2H), 7,03 (t, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,32 (t, 1H), 7,57 (t, 1H), 7,90 (d, 1H), 8,07 (d, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,55 (t, 1H). proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-125,78	596	11 (99,9)
16 ^{a,b} (R)-N-(3-(2-((2- flo-3- (methylsulfonyl)p henyl)amino)-5- methylpyrimidin- 4-yl)-1H-indol-7- yl)-3-methoxy-2- (4- methylpiperazin- 1-yl)propanamit	11, 48	2,31 (d, 3H), 2,44 (d, 3H), 2,49 - 2,72 (m, 4H), 2,73 - 2,98 (m, 4H), 3,15 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 3,49 (t, 1H), 3,77 - 3,97 (m, 2H), 6,97 - 7,07 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,28 - 7,38 (m, 1H), 7,52 - 7,65 (m, 1H), 7,92 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,56 (t, 1H). proton có thể trao đổi	-125,63	596	11 (93,6)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (300 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$	Hiệu suất % (% ee)
Chất đồng phân 2		không được quan sát thấy			
$17^{\text{c,d}}$ (R)-N-(3-(5-fluoromethyl)-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamine Chất đồng phân 1	18, 58	1,08 (t, 3H), 1,74 -2,05 (m, 4H), 2,47 (s, 3H), 2,75 - 2,90 (m, 4H), 2,92 - 3,12 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,26 - 3,42 (m, 1H), 7,07 (t, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,36 - 7,48 (m, 1H), 7,60 - 7,71 (m, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,25 - 8,36 (m, 2H), 8,37 - 8,49 (m, 1H). proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	(376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -120,50, -147,72	598	2 (99,9)
$18^{\text{c,d}}$ (S)-N-(3-(5-fluoromethyl)-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamine	18, 58	1,08 (t, 3H), 1,74 -2,05 (m, 4H), 2,51 (s, 3H), 2,75 - 2,90 (m, 4H), 2,92 - 3,14 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,26 - 3,42 (m, 1H), 7,08 (t, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,60 - 7,73 (m, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,25 - 8,36 (m, 2H), 8,37 - 8,49 (m, 1H). proton có thể trao đổi không được	(376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -120,49, -147,72	598	2 (98,5)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (300 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
Chất đồng phân 2		quan sát thấy			

^a Tinh chế HPLC đảo pha không được sử dụng.

^b Các chất đồng phân được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột Chiralpak AS-H (50x250mm, 5 μm) sử dụng 50 % MeOH (DEA 0,1 %) trong CO_2 làm pha động và dòng chảy bằng 150mL/phút. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^c DMF được dùng làm dung môi.

^d Hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μm , 19x150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,1 %) trong axetonitril làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*.

^e Các chất đồng phân được tách bằng SFC điều chế bất đối xứng trên cột ChiralPak AD-H (20x250 mm, 5 μm) sử dụng IPA 45 % (DEA 0,1 %) trong CO_2 và dòng chảy bằng 40mL/phút. Các chất đồng phân được dò bằng cách sử dụng UV ở 220 nm. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

Ví dụ 19

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)butanamit

3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (300mg, 0,73 mmol) được thêm vào lithi 2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 49 (313 mg, 1,46 mmol), 1-propanephosphonic axit xyclic anhydrit, T3P (50% trong EtOAc) (928 mg, 1,46 mmol) và DIPEA (1,019mL, 5,83 mmol) trong DCM (1mL) dưới nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha

loãng với DCM (50mL), được rửa bằng NaHCO₃ bão hòa (2x100mL), nước muối (2x100mL), được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 10:1. Các phân đoạn sản phẩm được làm bay hơi *trong chân không*. Chất đồng phân không đối quang được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột ChiralPak-AD-H-SL001 (20x250 mm) sử dụng IPA 50 % trong hexan (DEA 0,1 %) làm pha động và dòng chảy bằng 15mL/phút. Các chất đồng phân không đối quang được dò bằng cách sử dụng UV ở 254 và 220 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit, Ví dụ 19 (30 mg, 24 %, 99,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1,07 (t, 3H), 1,17 (d, 6H), 1,75 - 1,98 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 2,45 (s, 3H), 2,52 - 2,70 (m, 2H), 2,89 (dd, 2H), 2,93 - 3,10 (m, 2H), 3,11 - 3,25 (m, 4H), 7,03 (t, 1H), 7,17 (dd, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,54 - 7,64 (m, 1H), 7,93 (s, 1H), 8,10 (dd, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,52 - 8,62 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -121,25. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 608.

Ví dụ 20

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ việc tổng hợp Ví dụ 19 được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit Chất đồng phân 2, Ví dụ 20

(5 mg, 4 %, 90 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 1,09 (t, 3H), 1,25 - 1,45 (m, 6H), 1,70 - 1,98 (m, 2H), 2,45 (s, 3H), 2,74 (s, 3H), 2,98 - 3,13 (m, 2H), 3,16 (s, 3H), 3,15 - 3,60 (m, 5H), 7,03 (t, 1H), 7,21 (d, 1H), 7,35 (t, 1H), 7,53 - 7,65 (m, 1H), 7,93 (s, 1H), 8,10 (d,

1H), 8,30 (s, 1H), 8,50 - 8,65 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

^{19}F NMR (282 MHz, DMSO- d_6) δ -121,11. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 608$.

Quy trình được mô tả ở trên ví dụ 19 và Ví dụ 20 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian được nêu để tạo ra Ví dụ 21-23 được mô tả trong Bảng 19 dưới đây:

Bảng 19

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (376 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$	Hiệu suất % (% ee)
21 ^{a,b} (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 1	11, 50	0,96 (d, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,45 - 2,60 (m, 2H), 2,61 - 2,85 (m, 4H), 3,20 - 3,38 (m, 6H), 3,52 (t, 1H), 3,69 (dd, 1H), 3,80 (dd, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,35 - 7,50 (m, 2H), 7,55 (t, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,24 - 8,38 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,75 (s, 1H), 11,33 (d, 1H).	-121,20	624	12 (99,9)
22 ^{a,b} (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-	11, 50	0,96 (d, 6H), 2,16 (s, 3H), 2,28 - 2,43 (m, 5H), 2,65 - 2,83 (m, 4H), 3,23 - 3,37 (m, 6H), 3,44 (t, 1H), 3,64 (dd, 1H), 3,79 (dd, 1H),	-121,20	624	6 (96,6)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (376 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxo-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 2		6,98 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,51 - 7,58 (m, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,25 - 8,35 (m, 2H), 9,18 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 11,29 (s, 1H).			
23° (S)-N-(3-(5-fluor-2-((2-fluor-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit	18, 49	(300 MHz) 0,84 - 1,05 (m, 9H), 1,57 - 1,85 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,29 - 2,47 (m, 2H), 2,57 - 2,80 (m, 4H), 3,14 (t, 1H), 3,25 - 3,40 (m, 3H), 7,03 (t, 1H), 7,40 - 7,68 (m, 3H), 8,10 - 8,35 (m, 3H), 8,44 (d, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 11,52 (s, 1H).	(282 MHz) -147,70, -120,51	612	27

^a Cặn được tinh chế lại bằng HPLC điều chế trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μm , 19x150 mm) rửa giải bằng gradien của axetonitril 30 – 55 % trong nước (0,05% $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$) và dòng chảy bằng 30mL/phút. Hợp chất được dò ở độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được gom và được làm bay hơi trong chân không.

^b Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột Phenomenex Lux 5u xenluloza-4, AXIA Packed (250x21,2 mm, 5 μ m) sử dụng hexan(DEA 0,1%)/EtOH/MeOH 50:35:15 và dòng chảy bằng 20mL/phút. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^c Được tinh chế bằng HPLC điều chế trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μ m, 19x150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,1%) trong axetonitril làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*.

Ví dụ 24

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit

Bước 1

DIPEA (0,637mL, 3,65 mmol) được thêm vào 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (500 mg, 1,22 mmol), lithi 2-(4-(*tert*-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)propanoat,

Hợp chất trung gian 66 (628 mg, 2,43 mmol), EDC (349 mg, 1,82 mmol) và HOBT (279 mg, 1,82 mmol) trong DMF (10mL) dưới nitơ. Dung dịch thu được được khuấy ở 25°C trong 15 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (75mL), được chiết bằng EtOAc (2x75mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (3x100mL), được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 8:1 để tạo ra *tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (440 mg, 55,6 %) là chất rắn màu vàng nhạt. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 652.

Bước 2

TFA (0,050mL, 0,64 mmol) được thêm nhỏ giọt vào *tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (420 mg, 0,64 mmol) trong DCM (20mL) ở

20°C. Dung dịch thu được được khuấy ở 20°C trong 2 giờ. Dung môi được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được pha loãng với DCM (50mL), được rửa bằng NaHCO₃ (2x50mL) và các chất hữu cơ được làm bay hơi *trong chân không*. Chất đồng phân đối hình được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên Phenomenex Lux 5u xenluloza-4, AXIA Packed (250x21,2 mm, 5 µm) sử dụng MeOH 100 % (DEA 0,1 %) làm chất rửa giải và dòng chảy bằng 20mL/phút. Các chất đồng phân được dò ở độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 1, Ví dụ 24 (53 mg, 27 %, 99,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,26 (d, 3H), 2,41 (s, 3H), 2,45 - 2,65 (m, 4H), 2,73 - 2,85 (m, 4H), 3,22 - 3,40 (m, 4H), 6,98 (t, 1H), 7,35 - 7,50 (m, 2H), 7,50 - 7,62 (m, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,25 - 8,37 (m, 2H), 9,18 (s, 1H), 9,73 (s, 1H), 11,48 (bs, 1H). Một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-*d*₆) -121,21. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 552.

Ví dụ 25

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 24, bước 2, được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 25 (47 mg, 24 %, 92,6 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,25 (d, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,43 - 2,65 (m, 4H), 2,68 - 2,85 (m, 4H), 3,22 - 3,40 (m, 4H), 6,97 (t, 1H), 7,35 - 7,50 (m, 2H), 7,50 - 7,62 (m, 1H), 8,02 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,25 - 8,37 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,69 (s, 1H), 11,43 (bs, 1H). Một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

¹⁹F NMR (282 MHz, DMSO-*d*₆) -121,20. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 552.

Ví dụ 26

(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Bước 1

DIPEA (1,02mL, 5,83 mmol) được thêm thành một phần vào lithi 2-((3R,5R)-4-(*tert*-butoxycarbonyl)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 56 (438 mg, 1,46 mmol) và 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (300 mg, 0,73 mmol) trong DCM (5mL) ở 25°C. Dung dịch thu được được khuấy ở 25°C trong 10 phút. 1-propanephosphonic axit xyclic anhydrit, T3P (928 mg, 1,46 mmol) được thêm nhỏ giọt ở 0°C và phản ứng được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng MeOH/DCM 1:10 để tạo ra (2R,6R)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxobutan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat (200 mg, 39,5 %) là chất rắn màu vàng.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,03 - 1,11 (m, 3H), 1,18 - 1,52 (m, 15H), 1,81 - 1,92 (m, 2H), 2,35 - 2,80 (m, 5H), 2,82 - 2,93 (m, 2H), 3,15 (s, 3H), 3,75 - 3,99 (m, 2H), 4,08 - 4,21 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,18 (dd, 1H), 7,32 (t, 1H), 7,52 - 7,61 (m, 1H), 7,91 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,51 - 8,61 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy. Hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang.

m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 694.

Bước 2

TFA (5mL, 64,90 mmol) được thêm vào (2R,6R)-*tert*-butyl 4-(1-((3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-1-oxobutan-2-yl)-2,6-dimethylpiperazin-1-carboxylat (370 mg, 0,53 mmol) trong DCM (20mL) ở 25°C. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Dung môi được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng sắc ký điều chế đảo pha trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μm, 19x150 mm) sử dụng gradien của axetonitril 30 – 50 % trong nước (0,03 % NH₃H₂O) qua 7 phút với dòng chảy bằng 30mL/phút. Hợp chất

được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm. Chất đồng phân không đối quang được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên ChiralPak-AD-H-SL001 (20x250 mm) sử dụng EtOH 50 % trong hexan (DEA 0,1 %) qua 85 phút và dòng chảy bằng 15mL/phút. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm. Hợp chất rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra R-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit, Ví dụ 26 (78 mg, 28 %, 99,0 % ee).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,09 (t, 3H), 1,41 (d, 6H), 1,80 - 2,00 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,77 (dd, 2H), 3,07 (dd, 2H), 3,15 (s, 3H), 3,28 - 3,40 (m, 1H), 3,55 - 3,72 (m, 2H), 7,02 (t, 1H), 7,23 (d, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,53 - 7,62 (m, 1H), 7,92 (d, 1H), 8,05 - 8,13 (m, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,40 - 8,49 (m, 2H), 8,50 - 8,60 (m, 1H).

^{19}F NMR (376 MHz, CD_3OD) δ -125,59. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594$.

Ví dụ 27

(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Hợp chất rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 26, *bước 2* được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit Ví dụ 27 (30,0 mg, 13 %, 99,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,07 (t, 3H), 1,22 (d, 6H), 1,80 - 1,93 (m, 2H), 2,40 - 2,58 (m, 5H), 2,81 (dd, 2H), 3,07 - 3,18 (m, 4H), 3,19 - 3,29 (m, 2H), 7,03 (t, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,35 (t, 1H), 7,53 - 7,63 (m, 1H), 7,94 (s, 1H), 8,05 - 8,15 (m, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,52 - 8,62 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594$.

Quy trình được mô tả ở trên ví dụ 26 và 27 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian đã nêu để tạo ra Ví dụ 28-33 được mô tả trong Bảng 20 dưới đây:

Bảng 20

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (282 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
28 ^{a,b} (S)-2-((3R,5R)- 3,5- dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(2- ((2-flo-3- (methylsulfonyl)p henyl)amino)-5- methylpyrimidin- 4-yl)-1H-indol-7- yl)-3- metoxypropanam it Chất đồng phân 1	11, 57	1,05 (d, 6H), 2,20 - 2,33 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,65 - 2,78 (m, 2H), 3,00 - 3,20 (m, 2H), 3,21 - 3,50 (m, 7H), 3,57 - 3,70 (m, 1H), 3,72 - 3,86 (m, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,33 - 7,60 (m, 3H), 8,07 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,22 - 8,37 (m, 2H), 9,19 (s, 1H), 9,72 (s, 1H), 11,31 (s, 1H). một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.	-121,19	610	6 (99,9)
29 ^{a,b} (R)-2-((3R,5R)- 3,5- dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(2- ((2-flo-3- (methylsulfonyl)p henyl)amino)-5- methylpyrimidin-	11, 57	1,04 (d, 6H), 2,32 - 2,45 (m, 5H), 2,58 - 2,71 (m, 2H), 3,00 - 3,20 (m, 2H), 3,21 - 3,45 (m, 6H), 3,52 (t, 1H), 3,62 - 3,74 (m, 1H), 3,75 - 3,88 (m, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,33 - 7,49 (m, 2H), 7,50 -	-121,19	610	6 (99,9)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (282 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxypentan-2-amin Chất đồng phân 2		7,51 (m, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,22 - 8,38 (m, 2H), 9,18 (s, 1H), 9,76 (s, 1H), 11,35 (s, 1H). một proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.			
30 ^{a,c,d} (S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butan-1-amin Chất đồng phân 1	18, 56	(300 MHz, CD ₃ OD) 1,06 (t, 3H), 1,20 (d, 6H), 1,76 - 1,95 (m, 2H), 2,33 - 2,55 (m, 2H), 2,79 (dd, 2H), 3,05 - 3,45 (m, 6H), 7,07 (t, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,63 - 7,75 (m, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,25 - 8,38 (m, 2H), 8,39 - 8,50 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.	(CD ₃ OD) -148,96, -124,64	598	6 (99,9)
31 ^{a,c,d} (R)-2-((3R,5R)-3,5-	18, 56	(300 MHz, CD ₃ OD) 1,07 (t, 3H), 1,21 (d, 6H), 1,73 - 1,98 (m,	-147,73, -120,51	598	24 (99,8)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (282 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(5-flo- 2-((2-flo-3- (metylsulfonyl)p henyl)amino)pyri midin-4-yl)-1H- indol-7- yl)butanamit Chất đồng phân 2		2H), 2,45 (dd, 2H), 2,79 (dd, 2H), 3,13 - 3,40 (m, 6H), 7,07 (t, 1H), 7,18 (dd, 1H), 7,35 - 7,48 (m, 1H), 7,58 - 7,72 (m, 1H), 8,17 (d, 1H), 8,23 - 8,37 (m, 2H), 8,38 - 8,50 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.			
32 ^{a,b,e} (S)-2-((3R,5R)- 3,5- dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(5-flo- 2-((2-flo-3- (metylsulfonyl)p henyl)amino)pyri midin-4-yl)-1H- indol-7-yl)-3- metoxypropanam it Chất đồng phân 1	18, 57	(300 MHz, CD ₃ OD) 1,29 (d, 6H), 2,53 (dd, 2H), 2,96 (dd, 2H), 3,21 (s, 3H), 3,28 - 3,55 (m, 6H), 3,81 (dd, 1H), 3,91 (dd, 1H), 7,07 (t, 1H), 7,14 (d, 2H), 7,40 (t, 1H), 7,58 - 7,75 (m, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,14 - 8,50 (m, 2H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.	(376 MHz) -147,73, -120,49	614	12 (99,9)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (282 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
33 ^{a,b,e} (R)-2-((3R,5R)- 3,5- dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(5-flu- 2-((2-flu-3- (methylsulfonyl)p henyl)amino)pyri midin-4-yl)-1H- indol-7-yl)-3- metoxypropanam it Chất đồng phân 2	18, 57	(300 MHz, CD ₃ OD) 1,39 (d, 6H), 2,86 (dd, 2H), 3,04 (dd, 2H), 3,22 (s, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,55 - 3,78 (m, 3H), 3,80 - 4,05 (m, 2H), 7,07 (t, 1H), 7,15 (dd, 1H), 7,41 (t, 1H), 7,60 - 7,75 (m, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,25 - 8,52 (m, 3H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.	(376 MHz) -147,74, -120,53	614	13 (99,9)

^a Hỗn hợp phản ứng từ bước 1 được pha loãng với EtOAc hoặc DCM (300mL), được rửa bằng nước (150mL) và nước muối (125mL). Lốp hữu cơ được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 20:1 hoặc 30:1.

^b Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột Phenomenex Lux 5u xenluloza-4, AXIA Packed (250x21,2 mm, 5 μ m) sử dụng hexan:EtOH:MeOH 50:35:15 làm pha động và dòng chảy bằng 20mL/phút. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^c bước 2: Được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge Shield RP18 OBD (5 μ m, 19x150 mm) sử dụng axetonitril 15 – 45 % trong nước (10mmol/L

NH_4HCO_3) làm pha động và dòng chảy bằng 25mL/phút. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*.

^d Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên (R,R)-WHELK-O1-Kromasil (50x250 mm, 5 μm) sử dụng MeOH 100 % (DEA 0,1 %) làm pha động và dòng chảy bằng 20mL/phút qua 21 phút. Các chất đồng phân được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^e bước 2: Tinh chế bằng HPLC điều chế trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μm , 19x150 mm) bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa Formic axit 0,05 %) trong axetonitril làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*.

Ví dụ 34

(S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanamit

Lithi 3-metoxi-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 48 (430 mg, 2,06 mmol), 2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouronium hexaflophosphat(V) (785 mg, 2,06 mmol) và DIPEA (1,068mL, 6,11 mmol) và được hòa tan trong DMF (10mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 phút và 3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 18 (635 mg, 1,53 mmol) sau đó được thêm. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 h sau đó được pha loãng bằng DCM (75mL) và 5 % Na_2CO_3 (chứa nước) (50mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (2x50mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng thiết bị tách pha, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μm , 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 15 - 65% trong chất đậm $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/\text{NH}_3$ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 220 nm. Đỉnh sản phẩm được gom và được đông khô. Sau đó được tinh thể hóa từ axetonitril và chất rắn được gom bằng cách lọc, được rửa bằng lượng tối thiểu của axetonitril và được làm khô *trong chân*

không. Chất đồng phân đối hình được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột CelluCoat (250x30 mm, 5 μ m) sử dụng IPA 25 %/DEA 100: 0,5 trong CO₂ ở 150 bar với dòng chảy bằng 140mL/phút. Chất đồng phân đối hình được dò bằng UV ở 270 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất đối hình được gom và được đông khô để tạo ra N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metox-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 34 (213 mg, 23 %, 99,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,14 (s, 3H), 2,24 - 2,44 (m, 4H), 2,56 - 2,67 (m, 2H), 2,68 - 2,8 (m, 2H), 3,24 - 3,35 (m, 6H), 3,50 (t, 1H), 3,67 (dd, 1H), 3,79 (dd, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,41 - 7,55 (m, 2H), 7,62 (t, 1H), 8,19 (t, 1H), 8,22 - 8,32 (m, 2H), 8,44 (d, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 11,47 (s, 1H). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 600,2.

Ví dụ 35

(R)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metox-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ hai đối hình từ Ví dụ 34 được gom và được đông khô. Cặn được kết tinh lại bằng cách khuấy huyền phù trong EtOH/nước (3:1) (5mL), được gia nhiệt đến 70°C sử dụng bể dầu và hạt được thêm. Nhiệt độ bể dầu sau đó được đặt đến 23°C và huyền phù từ từ để đạt đến nhiệt độ phòng. Tiếp tục khuấy trong 5 ngày để tạo ra bột nhão giống sữa chứa tinh thể có dạng kim ngắn vùi lẫn trong các tinh thể có dạng hình kim dài hơn. Huyền phù được gia nhiệt đến 70°C kèm khuấy, gia nhiệt và khuấy sau đó tắt đi và hỗn hợp được để từ từ đạt nhiệt độ phòng (2x). Chỉ có tinh thể hình kim dài đẹp. Huyền phù được để yên thêm một tuần không khuấy. Chất rắn được lọc bỏ và được làm khô *trong chân không* ở 40°C để tạo ra (R)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metox-2-(4-metylpipezazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 35 (186 mg, 20 %, 99,4 % ee) là tinh thể hình kim màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,14 (s, 3H), 2,23 - 2,45 (m, 4H), 2,57 - 2,67 (m, 2H), 2,69 - 2,78 (m, 2H), 3,26 - 3,34 (m, 6H), 3,50 (t, 1H), 3,67 (dd, 1H), 3,79 (dd, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,4 - 7,55 (m, 2H), 7,62 (t, 1H), 8,13 - 8,33 (m, 3H), 8,44

(d, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,84 (s, 1H), 11,48 (s, 1H). ^{19}F NMR (470 MHz, DMSO- d_6) δ - 120,52, -147,75. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 600,5$.

Mẫu của Ví dụ 35 được gắn lên bề mặt tinh thể silic đơn (SSC) và nhiễu xạ bột tia X được ghi lại bằng Theta-Theta PANalytical X'Pert PRO (chiều dài bước của tia X là 1,5418 Å bức xạ Cu lọc qua niken, Điện áp 45kV, phát xạ sợi nung 40 mA). Phân kỳ khả biến tự động và khe chống phân tán được sử dụng và mẫu được quay trong quá trình đo. Các mẫu được quét từ 2 - 50° 2Theta bằng cách sử dụng chiều rộng bước 0,013° và thời gian đo mỗi bước 233 giây bằng cách sử dụng máy phát hiện PIXCEL (độ dài hoạt tính 3,35° 2Theta). Các vị trí đỉnh đặc trưng của tinh thể được liệt kê trong Bảng 21 dưới đây (được xác định bằng XRPD) và được thể hiện trong Fig. 1:

Bảng 21 – Năm đỉnh đặc trưng nhất của Ví dụ 35:

$^{\circ}2\text{-teta}$
7,6
12,7
14,8
19,3
25,5

Do đó người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rõ rằng dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện ở đây không được hiểu là tuyệt đối và dạng kết tinh bất kỳ mà tạo ra mẫu nhiễu xạ bột về cơ bản giống với mẫu nhiễu xạ bột được bộc lộ ở đây cũng thuộc phạm vi của sáng chế (thông tin thêm xem trong tài liệu Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons, 1996).

Ví dụ 36

(S)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit

HATU((1-[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxid hexaflophosphat) (832 mg, 2,19 mmol) được thêm vào 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (300 mg, 0,73 mmol), lithi 2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 58 (511 mg, 2,55 mmol) và DIPEA (1,273mL, 7,29 mmol) trong DMF (1mL). Dung dịch thu được được khuấy ở 25°C trong 16 giờ. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký điều chế đảo pha trên Cột XBridge Prep C18 OBD (5 μ m, 19x150 mm) sử dụng gradien của axetonitril 30 – 55 % trong nước (NH₃H₂O 0,03 %) làm chất rửa giải và dòng chảy bằng 30mL/phút. Hợp chất được dò sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 và 254 nm. Chất đồng phân đối hình được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột (R,R)WHELK-01 5/100 Kromasil (250x21,1 mm) sử dụng MeOH 50 %/axetonitril 1:1 (DEA 0,1 %) trong CO₂ và dòng chảy bằng 50mL/phút;. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 220 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit, Ví dụ 36 (40 mg, 6 %, 99,9 % ee).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 1,08 (t, 3H), 1,72 - 2,02 (m, 4H), 2,38 - 2,50 (m, 6H), 2,70 - 2,85 (m, 4H), 2,88 - 3,10 (m, 4H), 3,15 (s, 3H), 3,27 - 3,40 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,26 (d, 1h), 7,34 (t, 1H), 7,52 - 7,65 (m, 1H), 7,92 (s, 1H), 8,08, (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,52 - 8,63 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy.

¹⁹F NMR (376 MHz, CD₃OD) δ -125,64. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 594.

Ví dụ 37

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ việc tổng hợp Ví dụ 36 được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit, (40 mg, 6 %, 99,9 % ee).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,07 (t, 3H), 1,73 - 2,03 (m, 4H), 2,39 - 2,49 (m, 6H), 2,68 - 2,83 (m, 4H), 2,88 - 3,09 (m, 4H), 3,15 (s, 3H), 3,27 - 3,40 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,34 (t, 1H), 7,52 - 7,62 (m, 1H), 7,92 (s, 1H), 8,08, (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,50 - 8,63 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy. ^{19}F NMR (376 MHz, CD_3OD) δ -125,70.

m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594$.

Quy trình được mô tả ở trên ví dụ 36 và 37 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian đã nêu để tạo ra Ví dụ 38-45 được mô tả trong Bảng 22 dưới đây:

Bảng 22

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (376 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
$38^{\text{a,c,d}}$ (R)-N-(3-(5-fluor-2-((2-fluor-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamine Chất đồng phân 1	18, 65	(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 0,94 (t, 3H), 1,60 - 1,85 (m, 2H), 2,14 (s, 3H), 2,22 - 2,45 (m, 4H), 2,47 - 2,75 (m, 4H), 3,10 - 3,50 (m, 4H), 7,02 (t, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,53 - 7,68 (m, 2H), 8,12 - 8,35 (m, 3H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,86 (s, 1H), 11,65 (bs, 1H).	(282 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -147,72, -120,51	584	27 (99,9)
$39^{\text{a,c,d}}$ (S)-N-(3-(5-fluor-2-((2-fluor-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamine Chất đồng phân 2	18, 65	(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 0,94 (t, 3H), 1,60 - 1,87 (m, 2H), 2,13 (s, 3H), 2,22 - 2,45 (m, 4H), 2,47 - 2,75 (m, 4H), 3,16 (dd, 1H), 3,32 (s, 3H), 7,03 (t, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,51 - 7,68 (m, 2H), 8,10 - 8,35 (m, 3H), 8,43 (d, 1H), 9,46 (s, 1H), 9,78 (s, 1H), 11,48 (bs, 1H).	(282 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -147,72, -120,54	584	16 (99,8)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (376 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
40 ^{a,e,c,d} (S)-N-(3-(5-fluorophenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 1	18, 50	(300 MHz) 1,15 (d, 6H), 2,35 (s, 3H), 2,63 - 2,79 (m, 2H), 2,80 - 3,07 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 3,55 (t, 1H), 3,83 (dd, 1H), 3,94 (dd, 1H), 7,00 - 7,17 (m, 2H), 7,42 (t, 1H), 7,60 - 7,73 (m, 1H), 8,17 (d, 1H), 8,23 - 8,38 (m, 2H), 8,39 - 8,48 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	(282 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -147,70, -120,51	628	16 (99,9)
41 ^{a,e,c,d} (R)-N-(3-(5-fluorophenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 2	18, 50	(300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 0,96 (d, 6H), 2,05 - 2,47 (m, 5H), 2,62 - 2,90 (m, 4H), 3,23 - 3,50 (m, 7H), 3,63 (dd, 1H), 3,77 (dd, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,40 - 7,55 (m, 2H), 7,56 - 7,70 (m, 1H), 8,12 - 8,34 (m, 3H), 8,44 (d, 1H), 9,47 (s, 1H), 9,78 (s, 1H), 11,49 (s, 1H)	(282 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) -147,70, -120,50	628	17 (99,7)

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (376 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất % (% ee)
42^{b,f} (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit Chất đồng phân 1	11, 59	1,82 - 1,95 (m, 2H), 2,39 - 2,49 (m, 6H), 2,65 - 2,85 (m, 4H), 2,95 - 3,01 (m, 1H), 3,02 - 3,22 (m, 6H), 3,41 (s, 3H), 3,68 - 3,77 (m, 1H), 3,78 - 3,89 (m, 1H), 3,90 - 4,00 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,34 (t, 1H), 7,50 - 7,65 (m, 1H), 7,92 (s, 1H), 8,09 (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,51 - 8,60 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-125,61	610	5
43^{b,f} (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-	11, 59	1,82 - 1,95 (m, 2H), 2,38 - 2,48 (m, 6H), 2,65 - 2,85 (m, 4H), 2,90 - 3,00 (m, 1H), 3,00 - 3,20 (m, 6H), 3,41 (s, 3H), 3,72 (t, 1H), 3,78 - 3,89 (m,	-125,67	610	5

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (400 MHz, CD_3OD)	^{19}F NMR δ (376 MHz, CD_3OD)	m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+$	Hiệu suất % (% ee)
4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metox-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit Chất đồng phân 2		1H), 3,90 - 4,00 (m, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,50 - 7,63 (m, 1H), 7,91 (s, 1H), 8,09 (d, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,50 - 8,63 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy			
44 ^{a,e,g} (S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metox-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit Chất đồng phân 1	18, 59	1,80 - 1,97 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 2,65 - 2,87 (m, 4H), 2,88 - 3,18 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 3,72 (t, 1H), 3,78 - 3,89 (m, 1H), 3,90 - 4,00 (m, 1H), 7,08 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,42 (t, 1H), 7,57 - 7,72 (m, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,23 - 8,37 (m, 2H), 8,38 - 8,50 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-149,00, -124,62	614	14 (99,7)
45 ^{a,e,g} (R)-N-(3-(5-flo-	18, 59	1,80 - 1,97 (m, 2H), 2,43 (s, 3H), 2,65 -	-148,97,	614	14

Ví dụ	Hợp chất trung gian	¹ H NMR δ (400 MHz, CD ₃ OD)	¹⁹ F NMR δ (376 MHz, CD ₃ OD)	m/z (ES+) [M+H] ⁺	Hiệu suất % (% ee)
2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxo-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit Chất đồng phân 2		2,85 (m, 4H), 2,88 - 3,18 (m, 4H), 3,22 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 3,72 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,95 (dd, 1H), 7,08 (t, 1H), 7,25 (dd, 1H), 7,36 - 7,50 (m, 1H), 7,59 - 7,71 (m, 1H), 8,16 (d, 1H), 8,23 - 8,37 (m, 2H), 8,38 - 8,50 (m, 1H). Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy	-124,66		(99,1)

^a Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (50mL) và được chiết bằng EtOAc (2x75mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc 10:1.

^b Chất thô được tinh chế bằng sắc ký điều chế đảo pha trên cột Sunfire Prep C18 OBD (19x150 mm, 5 μm) sử dụng gradien của axetonitril 35 – 50 % trong nước (0,03 % NH₃H₂O) và dòng chảy bằng 20mL/phút.

^c Được tinh chế bằng HPLC điều chế trên Cột XBridge Prep C18 OBD, (5μm, 19 x150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,5 %) trong axetonitril làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi *trong chân không*.

^d Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột Phenomenex Lux 5u xenluloza-4, AXIA Packed (250x21,2 mm, 5 μm) sử dụng hexan

50 % (DEA 0,1 %) trong EtOH/MeOH 35:15 làm pha động và dòng chảy bằng 20mL/phút. Các chất đồng phân được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^e Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 10:1, 8:1 hoặc 7:1.

^f Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên Chiralpak IC (20x250 mm, 5 μ m) sử dụng 100 % MeOH và dòng chảy bằng 18mL/phút. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

^g Các chất đồng phân được tách bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên Chiralpak IA (21,2x150 mm, 5 μ m) sử dụng 100 % MeOH (được biến đổi bằng DEA) làm pha động. Chất đồng phân mong muốn được gom và được làm bay hơi *trong chân không*.

Ví dụ 46

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit

2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 47 (175 mg, 0,68 mmol) và CDI (84 mg, 0,52 mmol) được hòa tan trong DMF (2mL) và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1,5 h. 3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 18 (187 mg, 0,45 mmol) được thêm và phản ứng được gia nhiệt đến 60°C trong 4 h. Phản ứng được để nguội đến nhiệt độ phòng. DCM (25mL) được thêm và pha hữu cơ được rửa bằng 8 % NaHCO₃ (3x25mL), được làm khô bằng thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Hợp chất được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 25 - 70% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 228 nm. Sản phẩm được gom và được đông khô. Chất đồng phân đối hình được tách sử dụng SFC bất đối xứng trên cột CelluCoat (250x20

mm, 5 μ m) sử dụng IPA 40 %/DEA 100:0,5 trong CO₂ ở 120 bar làm chất rửa giải và dòng chảy bằng 140mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 270 nm. Hợp chất rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế lại bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 25 - 70% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Hợp chất được dò bằng UV ở 228 nm. Các phân đoạn sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit, Ví dụ 46 (40 mg, 30 %, 99,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,25 (d, 3H), 1,71 - 1,82 (m, 2H), 2,26 (s, 3H), 2,52 - 2,67 (m, 4H), 2,77 - 2,89 (m, 4H), 3,23 - 3,39 (m, 3H), 3,57 (q, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,37 - 7,51 (m, 2H), 7,62 (t, 1H), 8,13 - 8,24 (m, 2H), 8,27 (d, 1H), 8,44 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,77 (s, 1H), 11,61 (bs, 1H). ¹⁹F NMR (470 MHz, DMSO-*d*₆) δ -120,55, -147,73. m/z (ES+), [M+H]⁺ = 584,4.

Ví dụ 47

(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

Bước 1

3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (300 mg, 0,55 mmol) và lithi 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 69 (103 mg, 0,55 mmol) được tạo huyền phù trong DCM (5mL) và pyridin (0,134mL, 1,66 mmol) được thêm. Hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C và 2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan 2,4,6-trioxit, T3P (0,989mL, 1,66 mmol) được thêm nhỏ giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 1 h. phần khác của lithi 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 53 (20 mg, 0,11 mmol) và T3P (200 μ L, 0,34 mmol) được thêm. Hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (15mL) và được dừng bằng NaHCO₃ bão hòa (5mL) và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 phút. Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (2x5mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO₄, được lọc

và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit (377 mg, 96 %).

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 710,5$.

Bước 2

2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit (335 mg, 0,47 mmol) được hòa tan trong DCM (3,5mL), được làm nguội bằng bể nước đá và TFA (1,083mL, 14,16 mmol) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. DCM (5mL) được thêm sau đó là TFA (1mL) và tiếp tục khuấy trong 5 h. Hỗn hợp phản ứng sau đó được gia nhiệt ở 40°C qua đêm. DCM (25mL) được thêm sau đó là NaHCO₃ (10mL) và MeOH (1mL). Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (2x20mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan lại trong DCM (25mL), NaHCO₃ bão hòa (10mL) và MeOH (1mL), được lắc và lớp hữu cơ được tách. Lớp nước được chiết bằng DCM (2x20mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng MgSO₄, được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Hợp chất được gom bằng UV ở 269 nm và được làm bay hơi *trong chân không*. Chất đồng phân không đối quang được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột Chiralpak IB (30x250 mm, 5 μ m) sử dụng EtOH 35 %/TEA 100:0,5 trong CO₂ ở 120 bar làm pha động và dòng chảy bằng 80mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 260 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 47 (20 mg, 8 %, 99,9 % de).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,03 (d, 3H), 1,30 (d, 3H), 1,86 (t, 1H), 2,07 - 2,23 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,54 - 2,63 (m, 2H), 2,68 - 2,78 (m, 1H), 2,79 - 2,91 (m,

2H), 3,25 (s, 3H), 3,69 (q, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,32 - 7,47 (m, 2H), 7,49 - 7,61 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,22 - 8,35 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,65 (s, 1H), 11,38 (s, 1H). m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 580,4$.

Ví dụ 48

(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 47, bước 2 được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit (22 mg, 9 %, 99,2 % de).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,11 (d, 3H), 1,16 (d, 3H), 2,02 (t, 1H), 2,11 - 2,23 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,44 - 2,49 (m, 1H), 2,54 - 2,66 (m, 3H), 2,66 - 2,78 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,76 - 3,89 (m, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,51 - 7,59 (m, 1H), 8,00 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,23 - 8,36 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 11,37 (s, 1H). m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 580,4$.

Ví dụ 49

(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 27 (573 mg, 2,21 mmol) và CDI (275 mg, 1,70 mmol) được khuấy trong DMF (2mL) ở nhiệt độ phòng trong 1 h (tỏa khí). 3-(5-flo-2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 18 (816 mg, 1,47 mmol) được hòa tan trong DMF (2mL) được thêm và phản ứng được khuấy ở 50°C trong 5 h. Phản ứng được pha loãng với DCM (25mL) và 5% Na₂CO₃ (chứa nước) (25mL), được lắc và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (2x25mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế hai lần bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 15 - 65% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất

được dò bằng UV ở 235 nm. Sản phẩm được đông khô để tạo ra (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 49 (234 mg, 32 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 1,11 (d, 3H), 1,16 (d, 3H), 2,02 (t, 1H), 2,1 - 2,23 (m, 4H), 2,42 - 2,54 (m, 1H), 2,54 - 2,67 (m, 3H), 2,67 - 2,78 (m, 1H), 3,25 - 3,36 (m, 3H), 3,77 - 3,88 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,28 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,57 - 7,68 (m, 1H), 8,15 - 8,24 (m, 2H), 8,29 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 11,55 (s, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 584,3$.

Ví dụ 50

(S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (387 mg, 0,94 mmol) và 2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoic axit dihydroclorua, Hợp chất trung gian 46 (300 mg, 1,10 mmol) được tạo huyền phù trong DCM khan (25mL) và pyridin (0,3mL, 3,71 mmol) được thêm. Hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C trong bể nước đá và T3P (1,5mL, 2,52 mmol) được thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 23°C trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO_3 bão hòa (20mL) và được khuấy ở 23°C trong 30 phút. Lớp hữu cơ được tách và pha nước được chiết bằng DCM (2x20mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trong hai lần tiêm trên cột XBridge C18 (10 μm , 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 70% trong chất đệm $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/\text{NH}_3$ 95/5/0,2 qua 25 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được đông khô để tạo ra (S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit, Ví dụ 50 (205 mg, 37 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0,97 (t, 3H), 1,10 (d, 3H), 1,65 - 1,77 (m, 2H), 1,77 - 1,87 (m, 1H), 1,91 - 2,01 (m, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,55 - 2,67

(m, 2H), 2,67 - 2,77 (m, 1H), 2,81 - 2,94 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,55 (t, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,5 - 7,58 (m, 1H), 8,05 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,24 - 8,34 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,62 (s, 1H), 11,20 (s, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 594,4$.

Ví dụ 51

(R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

chất đồng phân rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 50 được gom và được đông khô để tạo ra (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit, Ví dụ 51 (210 mg, 38 %).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0,95 (t, 3H), 1,13 (d, 3H), 1,57 - 1,69 (m, 1H), 1,72 - 1,86 (m, 1H), 2,00 - 2,09 (m, 1H), 2,09 - 2,23 (m, 4H), 2,38 - 2,58 (m, 6H), 2,72 - 2,81 (m, 1H), 2,81 - 2,91 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,44 - 3,53 (m, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,35 - 7,45 (m, 2H), 7,51 - 7,6 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,24 - 8,36 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,61 (s, 1H), 11,32 (s, 1H).

m/z (ES+), $[M+H]^+ = 594,4$.

Quy trình được mô tả ở trên ví dụ 50-51 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian đã nêu để tạo ra Ví dụ 52-57 được mô tả trong Bảng 23 dưới đây

Bảng 23

Ví dụ	Hợp chất trung gian	^1H NMR δ (500 MHz, DMSO- d_6)	^{19}F NMR δ (471 MHz, DMSO- d_6)	m/z (ES+) [M+H] $^+$	Hiệu suất %
52 ^a (S)-2-((R)-2,4- dimethylpiperazin- 1-yl)-N-(3-(5-flu- 2-((2-flu-3- (methylsulfonyl)ph enyl)amino)pyrimi din-4-yl)-1H- indol-7- yl)butanamit Chất đồng phân 1	18, 46	0,96 (t, 3H), 1,10 (d, 3H), 1,65 - 1,77 (m, 2H), 1,78 - 1,87 (m, 1H), 1,9 - 2,01 (m, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,55 - 2,66 (m, 2H), 2,66 - 2,77 (m, 1H), 2,82 - 2,95 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,55 (t, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,42 - 7,53 (m, 2H), 7,58 - 7,67 (m, 1H), 8,14 - 8,22 (m, 1H), 8,22 - 8,31 (m, 2H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 11,40 (s, 1H).		598,4	19

53^a (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit Chất đồng phân 2	18, 46	0,95 (t, 3H), 1,13 (d, 3H), 1,57 - 1,69 (m, 1H), 1,72 - 1,85 (m, 1H), 2,00 - 2,09 (m, 1H), 2,09 - 2,24 (m, 4H), 2,39 - 2,58 (m, 3H), 2,72 - 2,81 (m, 1H), 2,81 - 2,91 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,45 - 3,54 (m, 1H), 7,03 (t, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,57 - 7,68 (m, 1H), 8,13 - 8,25 (m, 2H), 8,27 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 11,50 (s, 1H).		598,3	34
54^b (S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamit Chất đồng phân 1	11, 54	1,10 (d, 3H), 1,77 - 1,86 (m, 1H), 1,99 - 2,09 (m, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,40 (s, 3H), 2,43 - 2,6 (m, 2H), 2,71 - 2,88 (m, 2H), 2,97 (t, 1H), 3,21 - 3,44 (m, 6H), 3,61 - 3,7 (m, 1H), 3,79 - 3,89 (m, 2H), 6,98 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,25 - 8,35 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,71 (s, 1H), 11,23 (s, 1H).		610,4	5

55^b (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamit Chất đồng phân 2	11, 54	1,14 (d, 3H), 1,95 (t, 1H), 2,09 - 2,22 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,55 - 2,66 (m, 3H), 2,8 - 2,88 (m, 1H), 2,92 - 3,03 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,30 (s, 3H), 3,77 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,95 (t, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,50 - 7,60 (m, 1H), 8,01 (d, 1H), 8,15 (d, 1H), 8,25 - 8,35 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,71 (s, 1H), 11,27 (s, 1H).	610,4	22
56^a (S)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamit Chất đồng phân 1	18, 54	1,10 (d, 3H), 1,81 (t, 1H), 2,04 (t, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,48 - 2,6 (m, 2H), 2,72 - 2,86 (m, 2H), 2,93 - 3,02 (m, 1H), 3,28 - 3,32 (m, 6H), 3,61 - 3,69 (m, 1H), 3,8 - 3,88 (m, 2H), 7,03 (t, 1H), 7,40 - 7,55 (m, 2H), 7,58 - 7,67 (m, 1H), 8,14 - 8,23 (m, 1H), 8,23 - 8,32 (m, 2H), 8,44 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,76 (s, 1H), 11,44 (s, 1H).	614,3	38

57 ^a (R)-2-((R)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxypropanamit Chất đồng phân 2	18, 54	1,14 (d, 3H), 1,95 (t, 1H), 2,09 - 2,21 (m, 4H), 2,53 - 2,66 (m, 3H), 2,79 - 2,88 (m, 1H), 2,92 - 3,02 (m, 1H), 3,24 - 3,43 (m, 6H), 3,77 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,95 (t, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,29 (d, 1H), 7,46 (t, 1H), 7,59 - 7,67 (m, 1H), 8,14 - 8,24 (m, 2H), 8,29 (d, 1H), 8,43 (d, 1H), 9,45 (s, 1H), 9,76 (s, 1H), 11,47 (s, 1H).	-120,54, -147,72	614,3	24
---	--------	---	---------------------	-------	----

^a T3P nữa được thêm thành các phần.

^b Sau 1 h ở 0°C, DIPEA (0,9mL, 5,15 mmol) và T3P bổ sung (3,0mL, 5,04 mmol) được thêm vào hỗn hợp phản ứng thành các phần nhỏ ở nhiệt độ phòng qua 3 h.

Ví dụ 58

(R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit

Bước 1

3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (210 mg, 0,39 mmol) và lithi 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 51 (97 mg, 0,44 mmol, ~84%khối lượng) được tạo huyền phù trong DCM (10mL) và pyridin (0,10mL, 1,24 mmol) được thêm. Hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C và T3P (0,9mL, 1,51 mmol, 50 % khối lượng trong EtOAc) được thêm nhỏ giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 1 giờ. Lithi 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 51 (24 mg, 0,11 mmol) được thêm sau đó là T3P (0,2mL, 0,34 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được dừng

bằng NaHCO_3 bão hòa (20mL) và được khuấy ở 22°C trong 15 phút. Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (2x10mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Chất đồng phân không đối quang được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột CelluCoat (5 μm , 250x30 mm) sử dụng EtOH 32 %/DEA 100:0,5 trong CO_2 ở 120 bar và dòng chảy bằng 140mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 220 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 1 (125 mg, 45 %, 99,9 % de).

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -0,09 (s, 9H), 0,77 - 0,89 (m, 1H), 0,92 - 1,17 (m, 4H), 1,25 (d, 3H), 1,81 - 1,95 (m, 1H), 2,13 (s, 3H), 2,22 - 2,34 (m, 1H), 2,39 (s, 3H), 2,43 - 2,62 (m, 3H), 2,67 - 2,86 (m, 2H), 3,07 - 3,65 (m, 6H), 5,72 (d, 1H), 5,87 (d, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,35 - 7,48 (m, 2H), 7,51 - 7,6 (m, 1H), 8,15 (d, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,23 - 8,31 (m, 1H), 8,31 - 8,41 (m, 1H), 9,23 (s, 1H), 9,86 (s, 1H).

Bước 2

2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 1 (123 mg, 0,17 mmol) được hòa tan trong DCM khan (2mL) và TFA (3mL) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 19 h. DCM (10mL) được thêm sau đó là NaHCO_3 (10mL) và MeOH (1mL). Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng hỗn hợp của DCM/MeOH 5:1 (2x6mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μm , 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/\text{NH}_3$ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 58 (63 mg, 63 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 1,03 (d, 3H), 1,30 (d, 3H), 1,86 (t, 1H), 2,08 - 2,22 (m, 4H), 2,40 (s, 3H), 2,46 - 2,62 (m, 2H), 2,68 - 2,78 (m, 1H), 2,79 - 2,91 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,69 (q, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,33 - 7,45 (m, 2H), 7,5 - 7,59 (m, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,25 - 8,36 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,64 (s, 1H), 11,36 (s, 1H). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 580,3$.

Ví dụ 59

(S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 2

Bước 1

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ phản ứng của Ví dụ 58, bước 1, được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 2 (120 mg, 43 %, 99,7 % de).

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -0,09 (s, 9H), 0,81 - 0,91 (m, 1H), 0,95 - 1,16 (m, 7H), 1,95 (t, 1H), 2,03 - 2,18 (m, 4H), 2,33 - 2,43 (m, 4H), 2,43 - 2,57 (m, 1H), 2,58 - 2,72 (m, 3H), 3,25 (s, 3H), 3,4 - 3,56 (m, 2H), 3,84 (s, 1H), 5,73 (d, 1H), 5,87 (d, 1H), 7,04 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 8,11 - 8,22 (m, 2H), 8,27 (t, 1H), 8,33 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 9,84 (s, 1H).

Bước 2

2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)propanamit Chất đồng phân 2 (118 mg, 0,17 mmol) được hòa tan trong DCM khan (2mL) và TFA (3mL) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 19 giờ. DCM (10mL) được thêm sau đó là NaHCO_3 (10mL) và MeOH (1mL). Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng hỗn hợp của DCM/MeOH 5:1 (2x6mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên

cột XBridge C18 (10 μ m, 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Các phân đoạn sản phẩm được đông khô để tạo ra

(S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit, Ví dụ 59 (74 mg, 77 %) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,12 (d, 3H), 1,16 (d, 3H), 2,02 (t, 1H), 2,15 (s, 3H), 2,16 - 2,22 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,43 - 2,48 (m, 1H), 2,54 - 2,66 (m, 3H), 2,67 - 2,77 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,76 - 3,88 (m, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,51 - 7,59 (m, 1H), 8,00 (s, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,26 - 8,34 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 11,36 (s, 1H).

m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 580,5.

Ví dụ 60

(R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Bước 1

Lithi 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)butanoat, Hợp chất trung gian 52 (104 mg, 0,52 mmol) và 3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (210 mg, 0,39 mmol) được hòa tan trong DCM (10mL) và pyridin (0,1mL, 1,24 mmol) được thêm sau đó là T3P (1,0mL, 1,68 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng NaHCO₃ (15mL) được khuấy thêm 10 phút và được chiết bằng DCM (3x7mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô trong chân không. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Các phân đoạn tinh khiết được gộp lại và được đông khô. Chất đồng phân không đối quang được tách bằng SFC bất đối xứng trên cột ChiralPak IB (5 μ m, 250x30 mm) sử dụng EtOH 23 %/DEA 100:0,5 trong CO₂ ở 120

bar và dòng chảy bằng 150mL/phút. Hợp chất được dò bằng cách sử dụng UV ở 270 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ nhất được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)butanamid. Chất đồng phân 1 (69 mg, 24 %, 99,3 % de).

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ -0,08 (s, 9H), 0,80 - 0,96 (m, 2H), 0,99 (t, 3H), 1,06 (d, 3H), 1,63 - 1,87 (m, 3H), 2,06 - 2,16 (m, 4H), 2,39 (s, 3H), 2,56 (d, 2H), 2,73 - 2,86 (m, 3H), 3,25 (s, 3H), 3,31 (s, 1H), 3,47 - 3,56 (m, 2H), 5,78 (dd, 2H), 7,05 (t, 1H), 7,37 - 7,44 (m, 2H), 7,52 - 7,59 (m, 1H), 8,13 - 8,21 (m, 2H), 8,28 (t, 1H), 8,33 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 9,61 (s, 1H).

Bước 2

2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)butanamid. Chất đồng phân 1 (67 mg, 0,09 mmol) được hòa tan trong DCM (2mL) và TFA (3mL) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 17 h. DCM (10mL) và NaHCO_3 (15mL) được thêm, được lắc, các pha được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (2x5mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μm , 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}/\text{NH}_3$ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Đỉnh sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamid, Ví dụ 60 (31 mg, 56%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 0,97 (t, 3H), 1,10 (d, 3H), 1,62 - 1,88 (m, 3H), 1,97 (t, 1H), 2,11 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,55 - 2,67 (m, 2H), 2,67 - 2,77 (m, 1H), 2,82 - 2,95 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,56 (t, 1H), 6,97 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 8,05 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 8,24 - 8,37 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,63 (s, 1H), 11,22 (s, 1H). m/z (ES $^+$), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594,4$.

Ví dụ 61

(S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit

Bước 1

Chất đồng phân rửa giải thứ hai từ Ví dụ 60, bước 1, được gom và được làm bay hơi *trong chân không* để tạo ra 2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)butanamit (133 mg, 47 %, 95,9 % de).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ -0,09 (s, 9H), 0,82 - 0,91 (m, 1H), 0,92 - 1,02 (m, 4H), 1,12 (d, 3H), 1,53 - 1,66 (m, 1H), 1,69 - 1,84 (m, 1H), 1,91 - 2,02 (m, 1H), 2,02 - 2,1 (m, 1H), 2,12 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,43 - 2,66 (m, 4H), 2,74 - 2,84 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,48 - 3,56 (m, 3H), 5,77 (d, 1H), 5,84 (d, 1H), 7,05 (t, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,49 (d, 1H), 7,52 - 7,59 (m, 1H), 8,15 (d, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,24 - 8,31 (m, 1H), 8,33 (s, 1H), 9,23 (s, 1H), 9,73 (s, 1H).

Bước 2

2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1H-indol-7-yl)butanamit Chất đồng phân 2 (131 mg, 0,18 mmol) được hòa tan trong DCM (2mL) và TFA (3mL) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 17 h. DCM (10mL) và NaHCO₃ (15mL) được thêm, được lắc, các pha được tách và lớp nước được chiết bằng DCM (2x5mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha và được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μm, 250x19 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 20 phút với dòng chảy bằng 19mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Sản phẩm được gom và được đông khô để tạo ra (S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit Chất đồng phân 2, Ví dụ 61 (65 mg, 60 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,95 (t, 3H), 1,13 (d, 3H), 1,56 - 1,70 (m, 1H), 1,72 - 1,85 (m, 1H), 2,01 - 2,09 (m, 1H), 2,09 - 2,23 (m, 4H), 2,34 - 2,58 (m, 6H), 2,73 - 2,81 (m, 1H), 2,81 - 2,91 (m, 1H), 3,25 (s, 3H), 3,45 - 3,54 (m, 1H), 6,98 (t, 1H), 7,36 - 7,46 (m, 2H), 7,50 - 7,59 (m, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,25 - 8,37 (m, 2H), 9,16 (s, 1H), 9,62 (s, 1H), 11,33 (s, 1H).

m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 594,5$.

Ví dụ 62

(R)-3-etoxy-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit

DIPEA (688 μl , 3,94 mmol) được thêm thành một phần vào lithi (R)-3-etoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 63 (237 mg, 1,09 mmol) và 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 11 (180 mg, 0,44 mmol) trong DCM (1mL) ở 0°C . Dung dịch thu được được khuấy ở 0°C trong 10 phút. Sau đó 1-Propanephosphonic axit xyclic anhydrit, T3P (835 mg, 1,31 mmol) được thêm nhỏ giọt ở 0°C . Dung dịch được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với DCM (50mL), được rửa bằng NaHCO_3 bão hòa (2x50mL) và nước muối (2x50mL). Lớp hữu cơ được làm khô qua Na_2SO_4 , được lọc và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng TLC điều chế sử dụng DCM/MeOH 20:1 làm chất rửa giải. Sản phẩm (50 % ee) được tinh chế bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên Chiralpak IA (20x250 mm, 5 μm) sử dụng IPA 20 % trong MTBE (DEA 0,1 %) làm chất rửa giải với dòng chảy bằng 20mL/phút qua 19 phút. Sản phẩm được dò sử dụng độ dài bước sóng bằng 254 và 220 nm. Chất đồng phân chính được gom để tạo ra (R)-3-etoxy-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 62 (40 mg, 15 %, 99,7 % ee) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1,21 (t, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,42 (s, 6H), 2,50 - 2,73 (m, 4H), 2,74 - 3,02 (m, 2H), 3,15 (s, 3H), 3,45 - 3,65 (m, 3H), 3,86 (dd, 1H), 3,97 (dd, 1H), 7,02 (t, 1H), 7,13 (d, 2H), 7,31 (t, 1H), 7,49 - 7,63 (m, 1H), 7,90 (s, 1H),

8,10 (d, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,47 - 8,52 (m, 1H). ^{19}F NMR (282 MHz, CD_3OD) δ -125,71. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 610$.

Ví dụ 63

(R)-3-etoxy-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanamit

Quy trình được mô tả ở trên cho Ví dụ 62 được lặp lại sử dụng hợp chất trung gian 18 và 63 để tạo ra Ví dụ 63 (80 mg, 24 %, 97,9 % ee) là chất rắn màu trắng.

Được tinh chế bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên ChiralPak-AD-H-SL002, (20x250 mm) sử dụng IPA 50 % trong hexan (DEA 0,1 %) và dòng chảy bằng 14mL/phút qua 56 phút. Hợp chất được dò sử dụng 254 và 220 nm. Chất đồng phân chính được làm bay hơi *trong chân không*.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 1,21 (t, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,45 - 2,72 (m, 4H), 2,73 - 3,02 (m, 4H), 3,21 (s, 3H), 3,44 - 3,66 (m, 3H), 3,78 - 4,04 (m, 2H), 7,00 - 7,21 (m, 2H), 7,42 (t, 1H), 7,58 - 7,73 (t, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,23 - 8,37 (m, 2H), 8,42 (t, 1H).

Proton có thể trao đổi không được quan sát thấy ^{19}F NMR (282 MHz, CD_3OD) δ -149,01, -124,61

m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 614$.

Ví dụ 64

(R)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpirimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanamit

Bước 1

Natri 3-(benzyloxy)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanoat, Hợp chất trung gian 64 (317 mg, 0,93 mmol) và 3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpirimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-amin, Hợp chất trung gian 20 (448 mg, 0,83 mmol) được tạo huyền phù trong etyl axetat (20mL) và pyridin (0,25mL, 3,09 mmol) được thêm. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và T3P (1,0mL, 1,68 mmol, 50% khối lượng trong etyl axetat) được thêm nhỏ giọt.

Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 10 phút và sau đó ở 22°C trong 14 h. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C, T3P (1,0mL, 1,68 mmol) được thêm nhỏ giọt và tiếp tục khuấy ở 22°C trong 3 h. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội lại đến 0°C, T3P (0,5mL, 0,84 mmol) được thêm nhỏ giọt và stirring ở 22°C trong 2 h. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội lại đến 0°C, T3P (0,5mL, 0,84 mmol) được thêm nhỏ giọt và tiếp tục khuấy ở 22°C trong 16 h. Nước (5mL) được thêm và hỗn hợp được khuấy ở 22°C trong 30 phút. NaHSO₄ (20mL) được thêm sau đó là DCM (10mL) và các pha được tách. Pha nước được chiết bằng DCM (2x10mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô qua Na₂SO₄, được lọc và được cô *trong chân không* để tạo ra 3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit (690 mg, lượng) được lấy trực tiếp cho bước tiếp theo. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 802,3$.

Bước 2

3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit Chất đồng phân 2 (600 mg, 0,75 mmol) được hòa tan trong DCM khan (3mL) và TFA (3mL, 26 mmol) được thêm vào dung dịch khuấy ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 4 h. TFA (2mL) được thêm và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 22°C trong 3 ngày. TFA (2mL) được thêm và tiếp tục khuấy trong 4 ngày. TFA (2mL) được thêm và hỗn hợp được khuấy ở 22°C qua đêm. DCM (20mL) được thêm và hỗn hợp được trung hòa bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL) và MeOH (3mL) được thêm. Lớp hữu cơ được tách và pha nước được chiết bằng 10 % MeOH trong DCM (2x11mL). Pha hữu cơ kết hợp được lọc qua thiết bị tách pha sau đó là một nút nhỏ silic oxit, mà được rửa bằng hỗn hợp của DCM và MeOH. Phần lọc được kết hợp được cô *trong chân không*. Cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m 250x50 mm) sử dụng gradien của axetonitril 20 - 80% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 30 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 269 nm. Đỉnh sản phẩm được gom và được đông khô. Chất đồng phân đối hình được tách bằng HPLC điều chế bất đối xứng trên cột Lux C4 (30x250 mm, 5 μ m) sử dụng MeOH 100 %/NH₃ 100:0,1

làm chất rửa giải và dòng chảy bằng 40mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 260 nm. Chất đồng phân rửa giải thứ hai được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được tinh chế lại bằng HPLC điều chế trên cột XBridge C18 (10 μ m, 250x50 ID mm) sử dụng gradien của axetonitril 25 - 75% trong chất đệm H₂O/ACN/NH₃ 95/5/0,2 qua 25 phút với dòng chảy bằng 100mL/phút. Các hợp chất được dò bằng UV ở 270 nm. Các phân đoạn tinh khiết được đông khô để tạo ra (R)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit, Ví dụ 64 (161 mg, 32 %) là chất rắn.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,15 (s, 3H), 2,26 - 2,44 (m, 7H), 2,59 - 2,69 (m, 2H), 2,71 - 2,82 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,58 (t, 1H), 3,79 (dd, 1H), 3,91 (dd, 1H), 4,54 (s, 2H), 6,98 (t, 1H), 7,24 - 7,36 (m, 5H), 7,40 (t, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,52 - 7,58 (m, 1H), 8,01 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,26 - 8,33 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 11,21 (s, 1H).

m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 672,5.

Ví dụ 65

(S)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit

Chất đồng phân rửa giải thứ nhất từ phản ứng của Ví dụ 64, bước 2 được gom và được làm bay hơi *trong chân không*. Cặn được hòa tan trong axetonitril/nước và được đông khô để tạo ra (S)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit Ví dụ 65 (63 mg, 12 %) là chất rắn.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,15 (s, 3H), 2,27 - 2,44 (m, 7H), 2,59 - 2,69 (m, 2H), 2,72 - 2,82 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,58 (t, 1H), 3,79 (dd, 1H), 3,91 (dd, 1H), 4,54 (s, 2H), 6,98 (t, 1H), 7,24 - 7,37 (m, 5H), 7,40 (t, 1H), 7,44 (d, 1H), 7,51 - 7,58 (m, 1H), 8,01 (d, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,26 - 8,33 (m, 2H), 9,17 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 11,21 (s, 1H). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 672,4.

Ví dụ 66

(R)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(piperazin-1-yl)propanamit

Bước 1

Kali carbonat (4,21 g, 30,45 mmol) được thêm vào methyl 2-bromo-3-methoxypropanoat (3 g, 15,23 mmol) và tert-butyl piperazin-1-carboxylat (3,12 g, 16,75 mmol) trong axetonitril (60mL) ở 25°C trong không khí. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xêlit và bánh lọc được rửa bằng axetonitril bổ sung. Phần lọc được kết hợp và dung môi được loại dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký alumina nhanh, gradient rửa giải EtOAc từ 0 đến 100% trong ete dầu mỏ. Các phân đoạn tinh khiết được làm bay hơi đến khô để tạo ra tert-butyl 4-(1,3-dimethoxy-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (2,300 g, 50,0 %) là dầu không màu.

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 303$.

Bước 2

Lithi hydroxit (0,238 g, 9,92 mmol) được thêm vào bột nhão của tert-butyl 4-(1,3-dimethoxy-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (1,0 g, 3,31 mmol) trong hỗn hợp dung môi của MeOH (5mL), THF (5,00mL) và nước (25mL), sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Dung môi được cô trong chân không để tạo ra chất thô lithi 2-(4-(tert-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)-3-methoxypropanoat (1,200 g) là chất rắn màu vàng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 289$.

Bước 3

2,4,6-tripropyl-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan (5398 mg, 9,99 mmol) được thêm vào dung dịch của Hợp chất trung gian 33 (415 mg, 1,00 mmol), lithi 2-(4-(tert-butoxycarbonyl)piperazin-1-yl)-3-methoxypropanoat (588 mg, 2,00 mmol) và DIPEA (1,745mL, 9,99 mmol) trong DCM (30mL) ở nhiệt độ phòng, sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được pha loãng với nước (100mL), được chiết bằng DCM (3 x 20mL). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (10mL) và nước muối (10mL), sau đó được làm khô bằng Na₂SO₄, được lọc và được cô trong chân

không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Cột XBridge Prep C18 OBD, 5 μ silic oxit, đường kính 19 mm, chiều dài 150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được làm bay hơi đến khô để tạo ra tert-butyl 4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-3-metoxi-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (305 mg, 44,5 %) là chất rắn màu vàng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 686$.

Bước 4

tert-butyl 4-(1-((3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)amino)-3-metoxi-1-oxopropan-2-yl)piperazin-1-carboxylat (300 mg, 0,44 mmol) được thêm vào dung dịch của 1:3 TFA-DCM (10mL), sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1h. Sau đó dung môi được cô trong chân không và sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế (Cột XBridge Prep C18 OBD, 5 μ silic oxit, đường kính 19 mm, chiều dài 150 mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,1%) và MeCN làm chất rửa giải. Các phân đoạn thích hợp được cô đến khô để tạo ra N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-(piperazin-1-yl)propanamit (200 mg, 78 %) là chất rắn màu vàng. Hợp chất còn được tinh chế bằng HPLC bất đối xứng điều chế trên cột chiralpak ID-3, rửa giải đẳng dòng bằng 10% MeOH trong MTBE (được cải biến bằng DEA 0,1%)) làm chất rửa giải. Các phân đoạn chứa hợp chất rửa giải thứ nhất được cô đến khô để tạo ra ví dụ 66, (R)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-(piperazin-1-yl)propanamit (39,0 mg, 19,43 %) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,50 (s, 3H), 2,68-2,71 (m, 2H), 2,80 - 2,90 (m, 6H), 3,30 (s, 3H), 3,62 - 3,69 (m, 2H), 3,76 - 3,83 (m, 1H), 7,00-7,06 (t, 1H), 7,44-7,49 (t, 1H), 7,60 - 7,65 (m, 2H), 8,16 - 8,27 (m, 3H), 8,40 - 8,44 (m, 2H), 9,47 (s, 1H), 10,25 (s, 1H), 12,20 (s, 1H).

m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 586$.

Ví dụ 67

Các phân đoạn của chất đồng phân rửa giải thứ hai của Ví dụ 66 được cô đến khô để tạo ra Ví dụ 67, (S)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxo-2-(piperazin-1-yl)propanamit (35,0 mg, 17,50 %) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 2,50 (s, 3H), 2,73 (m, 2H), 2,83 - 2,92 (m, 6H), 3,30 (s, 3H), 3,64 - 3,69 (m, 2H), 3,76 - 3,82 (m, 1H), 7,00-7,06 (t, 1H), 7,44-7,49 (t, 1H), 7,60 - 7,65 (m, 2H), 8,16 - 8,27 (m, 3H), 8,41 - 8,44 (m, 2H), 9,47 (s, 1H), 10,30 (s, 1H), 12,29 (s, 1H).

m/z (ES $^+$), $[M+H]^+ = 586$.

Ví dụ 68: Nghiên cứu ức chế enzym

Nghiên cứu ức chế enzym được thực hiện sử dụng JAK1 tái tổ hợp (axit amin 866-1154, Life Technologies, #PV4774, Carlsbad, CA), JAK2 (axit amin 831-1132, AstraZeneca R&D Boston), hoặc JAK3 (axit amin 781-1124, AstraZeneca R&D Boston) dưới điều kiện đệm bằng HEPES 50 mM pH 7,3, 1 mM DTT, Tween-20 0,01%, 50 $\mu\text{g/ml}$ BSA, và 10 mM MgCl_2 . Enzym JAK được biểu hiện là dung hợp GST đầu N ở tế bào côn trùng và được tinh chế bằng sắc ký ái lực glutathion và loại kích cỡ. Enzym được thử ở đầu cao xấp xỉ của nồng độ ATP sinh lý bằng 5 mM, với sự có mặt của chất ức chế với liều dùng ở 30, 3, 0,3, 0,03, 0,003 và nồng độ thử cuối 0 μM .

Đối với JAK1, 4 nM enzym được ủ với 1,5 μM cơ chất peptit (FITC-C6-KKHTDDGYMPMSPGVA-NH₂ (SEQ ID NO:1), Intonation, Boston, MA). Đối với JAK2, 0,3 nM enzym được ủ với peptit substrat 1,5 μM (5FAM-GEEPLYWSFPAKKK-NH₂ (SEQ ID NO:2), Intonation, Boston, MA). Đối với JAK3, 0,1 nM enzym được ủ với peptit substrat 1,5 μM (5FAM-GEEPLYWSFPAKKK-NH₂ (SEQ ID NO:2), Intonation, Boston, MA). Peptit được phosphoryl hóa và không được phosphoryl hóa được tách và định lượng bằng hệ Caliper LC3000 (Caliper Life Sciences, MA) để tính toán phần trăm ức chế. Các kết quả của thử nghiệm này được thể hiện trong Bảng 24.

Ví dụ 69: Thử nghiệm JAK-STAT6-luciferaza nhạy interleukin tế bào (pSTAT6)

Dòng tế bào thích hợp dựa trên bạch cầu đơn nhân U937 được tạo ra mà có gen báo cáo luciferaza được kết hợp về bộ gen dưới sự kiểm soát của trình tự khởi động STAT6 (U937-STAT6-Luc). Tế bào được nuôi lớn trong huyền phù trong môi trường Sinh trưởng(RPMI 1640 với GlutaMAX và 25 mM Hepes, 10 % FCS, 1 % Natri, 1 % axit amin không thiết yếu và 0,5 mg/ml genetixin (để lựa chọn)) ở 37 °C và 5 % CO₂.

Các tế bào được thu hoạch bằng cách ly tâm ở 250 g trong 5 phút và tạo huyền phù lại trong chất đệm thử (20 mM HEPES, 1 x HBSS và 0,1 % BSA) đến 1000 tế bào pr μ l. Để kích thích tế bào sử dụng interleukin (IL-13) còn được hòa tan trong chất đệm thử đến 300 pM hoặc 7 nM, tương ứng. Việc này tạo ra 150 pM và 3,5 nM, tương ứng trong thử nghiệm cuối, bao gồm tín hiệu đến 80 % E_{max}. Hợp chất thử và đối chứng được áp dụng để thử các tấm (tấm 384 giếng trắng thể tích thấp) trong dịch pha loãng hàng loạt từ 10 mM đến 0,5 nM ở 5 nl mỗi giếng trong DMSO.

Mỗi giếng được thêm 4 μ l tế bào và 4 μ l interleukin (IL-13) và các tấm được bịt kín và được ủ ở 37 °C trong 4½ h và sau đó ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Thử nghiệm được phát triển bằng cách thêm 4 μ l mỗi giếng SteadyGlo (Promega) và sau 20 phút các tấm được đọc ở máy đọc tấm Envision với bộ lọc phát quang.

Trong các hợp chất được pha loãng 1600 lần và đường cong đáp ứng liều đối với ức chế tín hiệu nhạy interleukin xác định IC₅₀ cho các hợp chất. Thử nghiệm xác định các hợp chất trong khoảng IC₅₀ từ 2 nM đến 2 μ M, liên quan đối với hợp chất đối chứng và hợp chất thử.

Bảng 24

Ví dụ	pSTAT6 (IC ₅₀ , μM)	JAK1 (IC ₅₀ , μM)	JAK2 (IC ₅₀ , μM)	JAK3 (IC ₅₀ , μM)
Tofacitinib	0,118	0,030	0,130	0,074
Filgotinib	NA	0,814	6,77	>30
ABT-494 (cơ sở)	NA	0,005	0,064	0,864
1	0,041	<0,003	1,58	>30
2	0,032	≤0,003	7,35	>30
3	0,039	<0,003	4,12	>30
4	0,027	<0,003	1,60	>30
5	0,029	0,0051	5,02	>30
6	0,172	0,0574	>30	>30
7	0,057	0,0066	14,5	>30
8	0,078	0,0245	>30	>30
9	0,055	0,0034	5,73	>30
10	0,352	0,0398	21	>30
11	0,085	0,0131	11,1	>30
12	>4,95	1,13	>30	>30
13	0,097	0,0224	26,1	>30
14	0,021	<0,003	2,43	>30

Ví dụ	pSTAT6 (IC ₅₀ , μM)	JAK1 (IC ₅₀ , μM)	JAK2 (IC ₅₀ , μM)	JAK3 (IC ₅₀ , μM)
15	0,465	0,213	>30	>30
16	0,018	<0,003	0,725	>30
17	0,090	0,0036	4,86	>30
18	1,280	0,403	>30	>30
19	0,423	0,143	>30	>30
20	0,051	N/A	N/A	N/A
21	2,23	0,986	>30	>30
22	0,029	<0,003	2,56	>30
23	0,866	0,183	>30	>30
24	0,042	0,0042	3,46	>30
25	0,063	0,0228	6,59	>30
26	0,038	<0,003	0,456	>30
27	0,041	<0,003	0,162	>30
28	0,147	0,0452	7,41	>30
29	0,0399	<0,003	1,20	>30
30	0,072	0,0142	1,16	>30
31	0,074	0,0064	1,79	>30
32	0,933	0,482	>30	>30

Ví dụ	pSTAT6 (IC ₅₀ , μM)	JAK1 (IC ₅₀ , μM)	JAK2 (IC ₅₀ , μM)	JAK3 (IC ₅₀ , μM)
33	0,055	<0,003	1,93	>30
34	>4,20	1,84	>30	>30
35	0,034	<0,003	1,22	>30
36	0,167	0,0703	>30	>30
37	0,0269	<0,003	0,968	>30
38	0,0426	0,0033	6,87	>30
39	0,446	0,256	>30	>30
40	>6,25	3,28	>30	>30
41	0,058	0,00395	4,82	>30
42	0,036	<0,003	0,604	>30
43	0,477	0,095	>30	>30
44	3,05	0,953	>30	>30
45	0,036	<0,003	0,718	>30
46	0,083	0,0198	17,8	>30
47	0,619	0,180	>30	>30
48	0,082	0,003	8,230	>30
49	0,093	0,013	12,3	>30
50	0,362	0,0485	>30	>30

Ví dụ	pSTAT6 (IC ₅₀ , μM)	JAK1 (IC ₅₀ , μM)	JAK2 (IC ₅₀ , μM)	JAK3 (IC ₅₀ , μM)
51	0,024	<0,003	0,612	>30
52	1,07	0,348	>30	>30
53	0,048	<0,003	2,08	>30
54	0,258	0,014	6,72	>30
55	0,026	<0,003	0,293	>30
56	0,745	0,123	>30	>30
57	0,021	<0,003	0,709	>30
58	0,130	0,0486	25,3	>30
59	>6,25	0,145	>30	>30
60	0,0642	0,0074	11,9	>30
61	0,163	0,0428	>30	>30
62	0,054	<0,003	4,14	>30
63	0,099	NA	NA	NA
64	0,026	<0,03	0,910	>30
65	0,508	0,073	>30	>30
66	0,051	NA	NA	NA
67	1,39	NA	NA	NA

Ví dụ 70 – Nghiên cứu chuẩn độ liều *in vivo* cho bệnh rụng tóc vùng

Hợp chất thuộc phạm vi sáng chế được cho theo đường miệng cho chuột C3H/HeJ mắc bệnh rụng tóc vùng được thiết lập (AA) ở liều tăng dần đến khi quan sát được mọc tóc rõ ràng. Mọc tóc được biểu hiện là điểm chỉ số tóc (HIS) được đánh giá trên cơ sở tuần và so với chuột khỏe mạnh (lông đầy đủ = HIS bằng 300) và chuột với AA hoàn toàn (không có lông = HIS bằng 0).

A. Nhóm động vật

Nhóm 1 - (n=6) nhóm chuột mắc bệnh rụng tóc vùng được điều trị

Nhóm 2 – (n=6) chuột mắc bệnh rụng tóc vùng không được điều trị (nhóm đối chứng)

Nhóm 3 – (n=6) đối chứng khỏe mạnh

B. Điều trị

Tất cả ba nhóm được giữ 6 trên 6 trong các lồng macrolon với tiện ích chu kỳ 12h/12h sáng/tối ở $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ và với độ ẩm tương đối $55\pm 15\%$. Thức ăn cho động vật gặm nhấm và nước được phục vụ *tùy thích*. Ảnh chụp được thực hiện trước khi bắt đầu nghiên cứu và ngay trước khi kết thúc. Thể trọng (BW) và HIS được theo dõi một lần mỗi tuần. Một ngày, nhóm 1 chuột được phục vụ 5 g thức ăn cho động vật gặm nhấm nghiền ngâm với hợp chất của ví dụ 35 trong 10mL nước máy ở liều tăng dần theo từng bước (BW và HIS được theo dõi một lần mỗi tuần):

1. 2 tuần ở 0,5 mg/kg thể trọng (BW),
2. 2 tuần ở 2,5 mg/kg BW, và
3. 2 tuần ở 12,5 mg/kg BW.

C. Kết thúc

Ở 1-2h sau liều cuối dùng ở nồng độ cao nhất của hợp chất của Ví dụ 35, nhờ đó sự mọc tóc rõ ràng đã quan sát được và điểm mọc tóc đã được ghi, nhóm 1 chuột được an tử. Máu được lấy mẫu từ sau mắt trong ống thử nghiệm phủ EDTA (Multivette 300, Sarstedt) và được giữ trên đá lạnh. Huyết tương được thu bằng ly tâm

(4°C, 4000G, 5 phút) và 50 µL được chuyển sang tấm NUNC 96 giếng và lưu trữ ở -20°C đến khi được phân tích về nồng độ thuốc bằng LC-MSMS.

D. Các kết quả

Các kết quả cho ba nhóm được thể hiện là đồ thị trên Fig. 2, với HIS trên trục Y và thời gian (tuần) trên trục X.

E. các kết quả

Phơi lộ huyết tương trung bình (tổng nồng độ) của hợp chất của Ví dụ 35 ở thời điểm kết thúc là 338 nM, và HIS = 218.

Các kết quả chỉ ra rằng:

1. Hợp chất của Ví dụ 35 tạo ra đáp ứng mong muốn ở liều cao nhất, mặc dù điều trị dài hơn là cần thiết để đạt HIS = 300.
2. 12,5 mg/kg BW sẽ là liều được ưu tiên cho toàn bộ thử nghiệm (12 tuần) chứng minh tác dụng đầy đủ (HIS = 300).

Ví dụ 71 – Nghiên cứu đặc tính dược động học *in vivo* của Mô hình bệnh viêm phổi OVA

Chuột Brown Norway được làm cho nhạy và thử thách với albumin buồng trứng của gà (OVA). (Clinical and Experimental Allergy, 37 (2007) 973-988). Sau khi hít lượng hợp chất micro hóa thuộc phạm vi sáng chế, sự giảm về bệnh viêm đường thở ở phổi của chuột Brown Norway được thử thách OVA được đo là % giảm bạch cầu ái toan trong việc rửa phế quản phế nang (BAL) so với chuột được thử thách, nhưng không được điều trị sử dụng phương pháp sau đây. Làm đối chứng mẫu, i.t. qua liều (2 * 300 µg/kg) của hợp chất tham khảo mẫu, Budesonide, được sử dụng.

A. Nhóm động vật

74 động vật được chia thành 8 nhóm thử nghiệm và được điều trị như sau:

Nhóm 1 (Nước muối/Nước muối/Không khí), n=6 - Sham (nước muối) nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) và Giả (nước muối) được thử thách ở Ngày14 (P1). Điều trị – khí phòng

Nhóm 2 (OVA/Nước muối/Lactoza), n=8 - được nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Giả (nước muối) thử thách ở Ngày 14 (P1). Điều trị – DPI Lactoza.

Nhóm 3 (OVA/OVA/Lactoza), n=12 - Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – DPI Lactoza.

Nhóm 4 (OVA/OVA/Ví dụ 35), n=10 - Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – DPI; Hợp chất của Ví dụ 35, liều nhắm đích 0,03 $\mu\text{g/kg}$

Nhóm 5 (OVA/OVA/Ví dụ 35), n=10– Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – DPI; Hợp chất của Ví dụ 35, liều nhắm đích 0,3 $\mu\text{g/kg}$

Nhóm 6 (OVA/OVA/Ví dụ 35), n=10 - Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – DPI; Hợp chất của Ví dụ 35, liều nhắm đích 3 $\mu\text{g/kg}$

Nhóm 7 (OVA/OVA/Ví dụ 35), n=10 - Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – DPI; Hợp chất của Ví dụ 35, liều nhắm đích 30 $\mu\text{g/kg}$

Nhóm 8 (OVA/OVA/Budesonide), n=8 - Nhạy ở Ngày0 (S1) và Ngày7 (S2) với hỗn hợp $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{OVA}$ sau đó là i.t. Thử thách OVA ở Ngày14 (P1). Điều trị – i.t. Với Budesonide (hợp chất tham khảo mẫu) ở 2x 300 $\mu\text{g/kg}$ Ngày14. hai lần mỗi ngày.

B. Quy trình thử nghiệm

Trước khi bắt đầu nhạy lần đầu (S1), thể trọng (BW) được ghi lại và tất cả chuột có đuôi được đánh dấu bằng số nhận diện. BW được ghi bổ sung trước S2 và trước thời điểm kết thúc (D15). Tất cả trong các BAL của chuột được xác định. Vào

thời điểm kết thúc, người thực hiện (người khảo sát) bịt mắt đối với tình trạng của từng chuột,

i. Làm nhạy

Chuột mà được tiêm dưới da (s.c.) bằng hỗn hợp của OVA/Al(OH)₃ (100 µg OVA : 100 mg Alum trong 1mL nước muối/chuột), và tiêm trong màng bụng (i.p.) với 0,5mL/chuột chất độc *B. Pertussis* (0,1µg /ml) vào Ngày 0 và Ngày 7. Làm nhạy giả được thực hiện bằng cách tiêm s.c. và i.p. nước muối đẳng trương với cùng thể tích và chiến lược.

ii. Dùng hợp chất

Quy trình thực hiện xông bột khô (DPI)

Mỗi hệ phơi lộ có chứa buồng xông phơi lộ sau dòng chảy, ống hãm chuột và cơ chế nạp bụi Wright cải biến. Đo nồng độ sol khí trong buồng xông cho mỗi mức liều dùng được thực hiện bằng cách lấy mẫu lọc ở một trong các cửa xông (AP40, 47 mm, Millipore). Các liều dùng khác nhau của hợp chất của Ví dụ 35 được thu bằng cách thay đổi thời gian phơi lộ trong khi giữ nồng độ của vật thử và dòng chảy trong buồng phơi lộ không đổi. Chuột từ nhóm 2 và 3 được phơi lộ ra lactoza trong ống hãm (buồng Battelle). Các liều xông đích (µg/kg) được tính toán giả định thời gian phơi lộ bằng 2-10 phút và thể trọng bằng 250g sử dụng công thức sau đây:

$$\text{Liều (mg/kg/ngày)} = \frac{C \times \text{RMV} \times D}{\text{BW} \times 1000}$$

Trong đó C = nồng độ sol khí (µg/L). RMV: Thể tích phút hô hấp (L/phút) = 4,19 x BW (g) 0,66/1000 (McMahon 1977) D=Thời gian phơi lộ. BW Thể trọng (kg).

Dựa trên các kết quả phân tích lọc, sự phong phú của phổi (liều dùng phổi) có thể được tính theo công thức:

$$\text{Liều dùng phổi} = \text{liều hít} * \text{phân đoạn được nạp lưu trong phổi}$$

Dùng thông khí quản của hợp chất tham khảo mẫu (Budesonide)

Chuột được cân vào ngày trước thử thách OVA. Khi thử thách chuột được gây mê bằng hỗn hợp Isofluran (khí và 4% isofluran) đặt trong vị trí nằm ngửa với góc 30-

40 và thẩm chất dẫn thuốc hoặc hợp chất. Thực hiện thẩm nội khí quản bằng cách sử dụng ống thông kim loại cải biến với bóng thuốc ở một đầu. Chuột được đặt trong chuồng ở vị trí nằm ngửa với đầu cao đến khi ý thức trở lại. Hợp chất tham khảo được dùng hai lần mỗi ngày với lần dùng hàng ngày thứ hai 6 giờ sau lần dùng hàng ngày thứ nhất. Thể tích ngấm dần: 0,25mL/chuột.

iii. Thử thách (khiêu khích với OVA)

Năm phút (5') trước thử thách OVA, máu được gom (0,2ml) từ tĩnh mạch lười và huyết tương (60ul/giếng) được gom trên tấm 96 giếng sâu. Sự khiêu khích xảy ra ở Ngày 14 (P1) và được áp dụng 2 giờ sau khi dùng hợp chất. Chuột được gây mê bằng hỗn hợp Isofluran (khí và 4% isofluran) đặt ở vị trí nằm ngửa với góc 30-40 và thẩm nước muối đẳng trương hoặc OVA (0,1 mg/ml). Thực hiện thẩm nội khí quản bằng cách sử dụng ống thông kim loại cải biến với bóng thuốc ở một đầu. Chuột được đặt trong chuồng ở vị trí nằm ngửa với đầu cao đến khi ý thức trở lại. Thử thách giả được thực hiện bằng cách ngấm dần i.t. của nước muối đẳng trương với cùng thể tích và chiến lược. Thể tích ngấm dần: 0,25ml/chuột

iv. Kết thúc và rửa phế quản - phế nang

Vào 22 giờ sau thử thách OVA (P1), chuột được phú dưỡng bằng tiêm trong phúc mạc 1ml pentobarbital (50 mg/ml). Máu được lấy từ v. tĩnh mạch cánh trong ống bao EDTA, được ly tâm (Rotanta 46R, 480 xg, 10 phút, 20°C) và mẫu huyết tương sẽ được gom trên 2 x tấm 96-giếng sâu (60ul/giếng) đặt trên đá khô và được lưu trữ ít nhất ở -70°C để phân tích tiếp. Rửa phế quản - phế nang (BAL) được thực hiện bằng sự tưới máu thủ công của tổng thể phổi với PBS. Sau khi khi quản được phơi lộ, ống polyetylen (PE120) được chèn và thắt bằng cách khâu. Ống được nối với ống tiêm, được nạp trước với 4,2mL PBS ở nhiệt độ phòng, tiêm từ từ vào phổi, với thời gian 10 giây trong phổi. Dịch được gom lại bằng cách hút chậm vào ống tiêm. Quy trình này được thực hiện hai lần. Dịch BAL cuối được chuyển sang ống thử (4mL, polypropylen (PP)). Ống với các mẫu BAL được cân (giả sử là 1ml BALF bằng 1g). BAL được giữ trên đá lạnh đến khi ly tâm (Rotanta 46R, 300 xg, 10 phút, 4°C). Sau khi ly tâm dịch nổi bề mặt được chia trên 4 x tấm 96 giếng (0,1ml/giếng) được đặt trong đá khô, được giữa và lưu trữ trong ở ít nhất - 70°C đến khi phân tích chất trung gian. Viên tế bào sau

đó tạo huyền phù lại trong 0,5mL PBS và giữ trên đá lạnh đến khi đếm tế bào. Tổng số và chênh lệch tế bào được đếm sử dụng máy SYSMEX XT-1800i Vet bán tự động (Sysmex, Kobe Nhật Bản) với chương trình của: *BALrOVAi*.

C. Các kết quả

Dựa trên phân tích lọc, các liều trong phổi sau đây ($\mu\text{g/kg}$ thể trọng) của ví dụ 35 được tán vụn thu được:

Nhóm 4: 0,08

Nhóm 5: 0,11

Nhóm 6: 0,6

Nhóm 7: 4,76

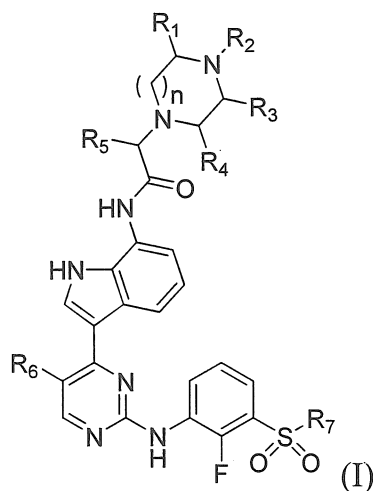
Các kết quả được thể hiện là đồ thị thanh với giá trị p ở trên, theo cách khác n.s. thể hiện là không đáng kể, và % giảm bạch cầu ái toan so với nhóm 3 không được xử lý (OVA/OVA) của mỗi nhóm thử nghiệm trong Fig. 3.

Các kết quả chỉ ra rằng:

1. Hợp chất của Ví dụ 35 làm giảm bạch cầu ái toan ở BAL đi 7, (không đáng kể), 28 (không đáng kể), 68 ($p < 0,01$) và 61 ($p < 0,01$) % ở liều trong phổi bằng 0,08, 0,11, 0,6 và 4,76 $\mu\text{g/kg}$ tương ứng.
2. Sự khiêu khích OVA (nhóm 3) làm tăng đáng kể số bạch cầu ái toan ở BAL.
3. Hợp chất của Ví dụ 35 làm giảm đáng kể sự có mặt của bạch cầu ái toan theo cách phụ thuộc liều với ức chế tối đa bằng 68 % so với đối chứng OVA (nhóm 3), và trạng thái ổn định ức chế quan sát thấy từ 0,6 $\mu\text{g/kg}$ liều.
4. Hợp chất tham khảo mẫu Budesonide ở qua liều $2 * 300 \text{ mg/kg}$ (nhóm 8) thể hiện 97 % ức chế bạch cầu ái toan, trong khoảng được quan sát cho mẫu này.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất có Công thức (I):



trong đó:

mỗi R₁, R₃, và R₄ độc lập được chọn từ hydro và metyl;

R₂ được chọn từ hydro, metyl, và -CH₂CH₂OH;

n là 1 hoặc 2;

R₅ được chọn từ metyl, etyl, và -CH₂OR₈;

R₆ được chọn từ metyl, clo, và flo;

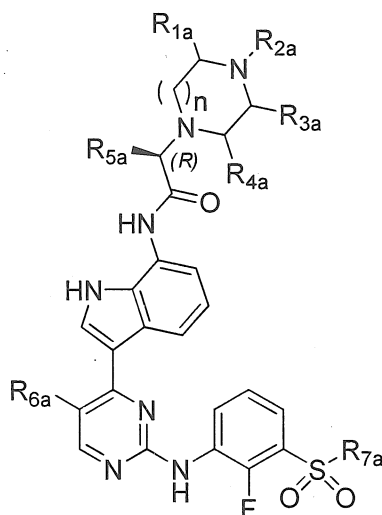
R₇ được chọn từ metyl, etyl, và xyclopropyl; và

R₈ được chọn từ metyl, etyl, và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó mỗi trong số R₁-R₄ độc lập được chọn từ hydro và metyl.
3. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 2, trong đó R₁, R₃, và R₄ đều là hydro.
4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R₂ là metyl.
5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R₅ là metyl hoặc -CH₂OR₈.
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó R₈ là metyl.

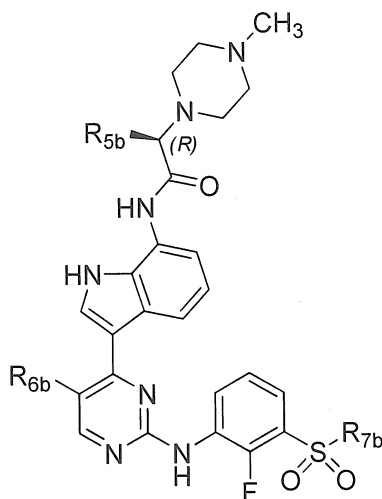
7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R_6 là metyl hoặc nguyên tử flo.
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R_6 là nguyên tử flo.
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R_7 là metyl.
10. Hợp chất theo điểm 1, có cấu trúc có công thức (Ia):



Công thức (Ia)

trong đó:

- R_{1a} , R_{3a} , và mỗi R_{4a} độc lập được chọn từ hydro và metyl;
 - R_{2a} được chọn từ hydro, metyl, và $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$;
 - n là 1 hoặc 2;
 - R_{5a} được chọn từ metyl, etyl, và $-\text{CH}_2\text{OR}_{8a}$;
 - R_{6a} được chọn từ metyl, clo, và flo;
 - R_{7a} được chọn từ metyl, etyl, và xyclopropyl; và
 - R_{8a} được chọn từ metyl, etyl và benzyl;
 - hoặc muối được dụng của chúng.
11. Hợp chất theo điểm 1, có cấu trúc có công thức (Ib):



Công thức (Ib)

trong đó:

R_{5b} được chọn từ methyl, ethyl, và -CH₂OR_{8b};

R_{6b} được chọn từ methyl, clo, và flo;

R_{7b} được chọn từ methyl, ethyl, và xyclopropyl; và

R_{8b} được chọn từ methyl, ethyl và benzyl;

hoặc muối được dụng của chúng.

12. Hợp chất được chọn theo điểm 1, được chọn từ:

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl piperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(2-(3-(etyl sulfonyl)-2-flophenylamino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl piperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(2-(3-(xyclopropylsulfonyl)-2-flophenylamino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl piperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(5-clo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl piperazin-1-yl)propanamit;

- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimetylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-2-((3S,5S)-3,5-dimetylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
- (S)-2-((3S,5S)-3,5-dimetylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
- (R)-2-((3S,5S)-3,5-dimetylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
- (S)-2-((3S,5S)-3,5-dimetylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metylpiperazin-1-yl)butanamit;
- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-(4-metylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit;
- (S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit;

- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit;
- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxi-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit;
- (S)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)butanamit;
- (R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit;
- (S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(piperazin-1-yl)propanamit;
- (R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;
- (S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;
- (S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxipropanamit;
- (R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxipropanamit;
- (S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;
- (R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;

(S)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxipropanamit;

(R)-2-((3R,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxipropanamit;

(S)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(5-flo-2-(2-flo-3-(metylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit;

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)butanamit;

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamit;

(S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)butanamit;

(S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-((3S,5S)-3,4,5-trimethylpiperazin-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit;

(S)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit;

(S)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxy-2-(4-methyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxo-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit;

(R)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-metyl-1,4-diazepan-1-yl)propanamit;

(S)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;

(S)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;

(S)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;

(S)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxopropanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxopropanamit;

(S)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxopropanamit;

(R)-2-((R)-2,4-dimetylperazin-1-yl)-N-(3-(5-flo-2-((2-flo-3-(metylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-metoxopropanamit;

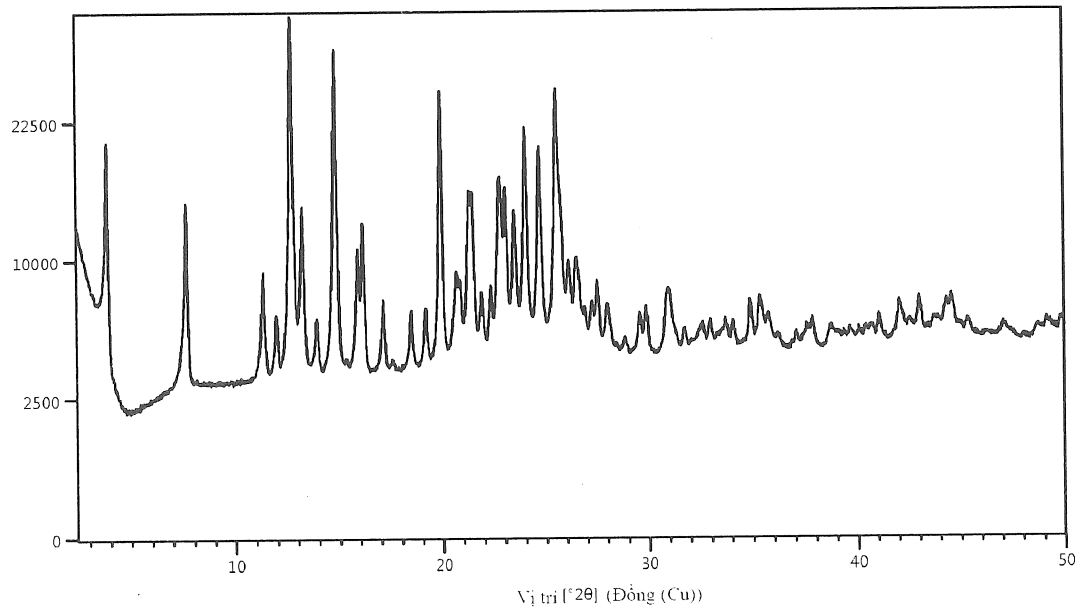
(R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
 (S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)propanamit;
 (R)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;
 (S)-2-((S)-2,4-dimethylpiperazin-1-yl)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)butanamit;
 (R)-3-etoxy-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;
 (R)-3-etoxy-N-(3-(5-fluoro-2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;
 (R)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;
 (S)-3-(benzyloxy)-N-(3-(2-((2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenyl)amino)-5-methylpyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit;
 (R)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(piperazin-1-yl)propanamit;
 (S)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(piperazin-1-yl)propanamit;

hoặc muối được dụng của chúng.

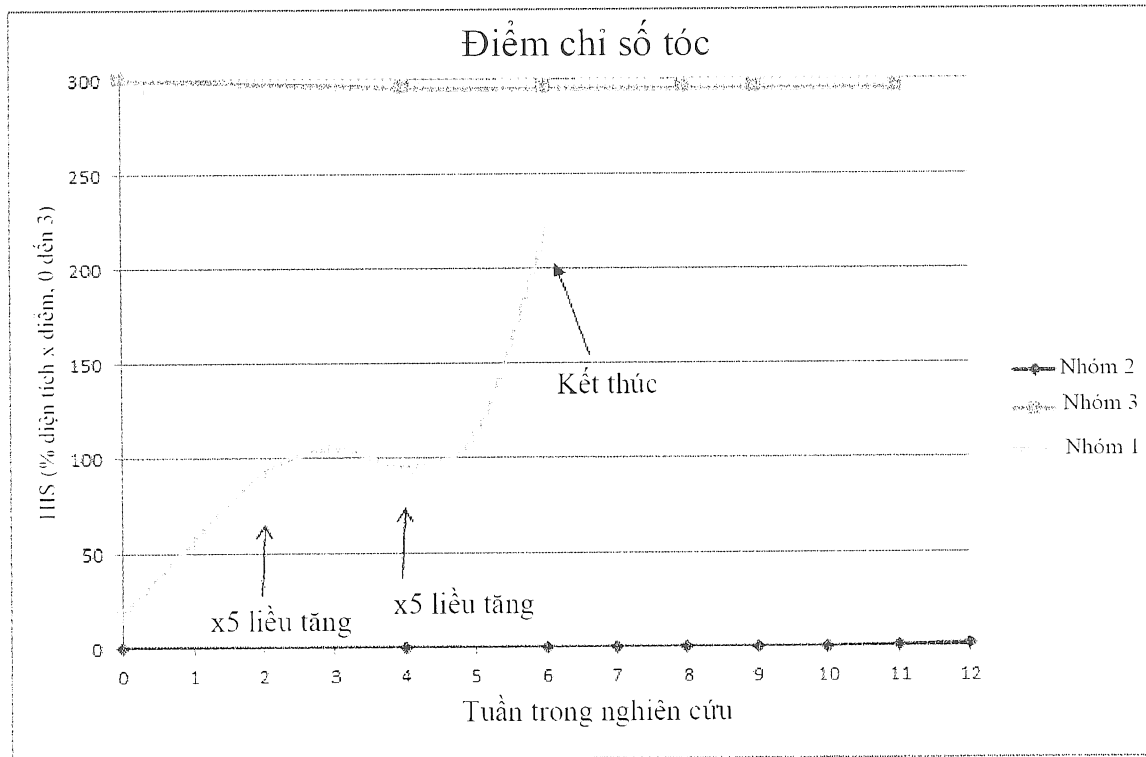
13. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, hoặc muối được dụng của chúng, và chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.
14. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12, hoặc muối được dụng của chúng, để điều trị rối loạn liên quan đến JAK1.
15. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là (R)-N-(3-(5-fluoro-2-(2-fluoro-3-(methylsulfonyl)phenylamino)pyrimidin-4-yl)-1H-indol-7-yl)-3-methoxy-2-(4-methylpiperazin-1-yl)propanamit, hoặc muối được dụng của nó.

HÌNH VẼ

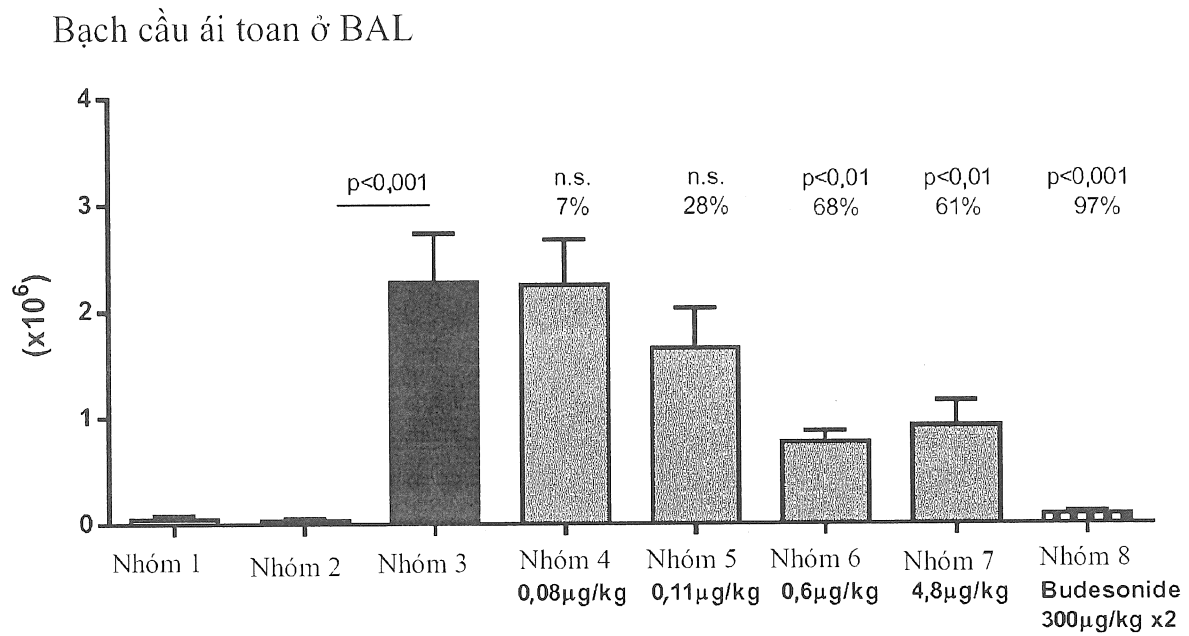
Đếm



HÌNH 1



HÌNH 2



HÌNH 3