



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0036844

(51)⁸

C07D 487/04; C07D 403/04; A61K
31/4985; A61P 35/00

(13) **B**

(21) 1-2018-02214

(22) 08/11/2016

(86) PCT/EP2016/076932 08/11/2016

(87) WO 2017/080979 18/05/2017

(30) 62/252,726 09/11/2015 US; 62/401,351 29/09/2016 US

(45) 25/09/2023 426

(43) 25/10/2018 367A

(73) ASTRAZENECA AB (SE)

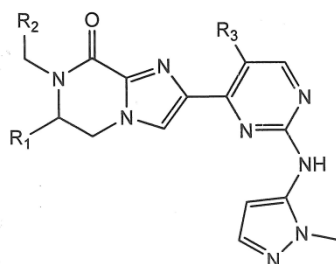
151 85 Södertälje, Sweden

(72) WARD, Richard, Andrew (GB); JONES, Clifford, David (GB); SWALLOW, Steven (GB); GRAHAM, Mark, Andrew (GB); DOBSON, Andrew, Hornby (GB); MCCABE, James, Francis (GB).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT DIHYDROIMIDAZOPYRAZINON VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R¹, R² và R³ như được xác định trong phần mô tả; và dược phẩm chứa hợp chất này.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất dihydroimidazopyrazinon và muối được dụng của nó ức chế chọn lọc ERK và có hoạt tính chống ung thư. Hợp chất dihydroimidazopyrazinon này và muối được dụng của nó hữu dụng trong điều trị cho người hoặc động vật, ví dụ, trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư. Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa hợp chất dihydroimidazopyrazinon này và muối được dụng của nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Protein kinaza đóng vai trò điều hòa then chốt trong hầu hết mọi khía cạnh của sinh học tế bào. MAP kinaza động vật có vú bao gồm protein serin/threonin kinaza tế bào chất mà tham gia vào sự truyền tín hiệu tế bào từ màng huyết tương đến nhân. Có nhiều tiến trình truyền tín hiệu MAPK mỗi tiến trình này bao gồm 3 thành phần: MAPK kinaza (MAP3K), MAPK kinaza (MAP2K) và MAPK. MAP kinaza đã hoạt hóa làm phosphoryl hóa nhiều cơ chất bao gồm các protein kinaza khác, protein phosphatase, yếu tố phiên mã và các protein chức năng khác. Tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK tham gia vào sự điều hòa của sự tiến triển chu trình tế bào, sự tăng sinh tế bào, sự sống sót, sự trao đổi chất và sự phiên mã.

ERK1 và ERK2 là MAPK kinaza được biểu hiện khắp nơi mà tham gia vào tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK, mà cả hai chứa sự kéo dài đầu tận cùng N và C duy nhất mà tạo ra sự đặc hiệu truyền tín hiệu, ngoài sự cài xen 31 gốc axit amin ở trong miền kinaza mà tạo ra sự đặc hiệu chức năng bổ sung. ERK1 và ERK2 được hoạt hóa ở nhiều loại tế bào bởi chất gây phân bào và các kích thích khác, dẫn đến sự hoạt hóa của nhiều đồng phân của RAS (HRAS, NRAS và KRAS). Sự hoạt hóa của RAS dẫn đến sự tuyển mộ và sự hoạt hóa của đồng phân RAF (ARAF, BRAF và CRAF) và sự hoạt hóa tiếp theo của MEK1 và MEK2, protein kinaza đặc hiệu kép mà làm trung gian cho sự phosphoryl hóa của tyrosin và threonin của ERK1 và ERK2. ERK1 và ERK2 có số lượng lớn của cơ chất tế bào chất và nhân được nhận dạng (tham khảo Yoon S, Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions; Growth Factors 2006, 24, 21-44).

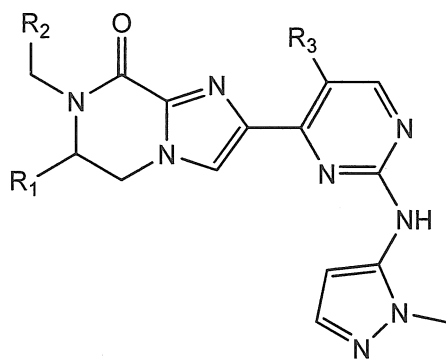
Tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK bị mất điều hòa ở nhiều bệnh bao gồm tổn thương não, bệnh ung thư, phì đại tim, bệnh tiểu đường và viêm. Đặc biệt là ở bệnh ung thư, đột biến trong KRAS xảy ra ở xấp xỉ 58% bệnh ung thư tụy, 33% bệnh ung thư kết trực tràng và 31% bệnh ung thư mật, và đột biến NRAS trong 18% u melanin. Đột biến gen gây ung thư trong RAS dẫn đến hoạt tính ERK cao qua nhiều khối u. Ngoài ra, đột biến BRAF xảy ra ở xấp xỉ 40-60% u melanin, 40% bệnh ung thư tuyến giáp và 20% bệnh ung thư kết trực tràng (tham khảo Vakiani E, Solit DB. KRAS and BRAF; drug targets and predictive biomarkers; Journal of Pathology 2011, 223, 219-29). Các quan sát này tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK là quá trình hấp dẫn cho liệu pháp chống ung thư trong phạm vi rộng của khối u ở người.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra hợp chất hóa học có tính chọn lọc để ức chế ERK hơn là các kinaza khác trên cùng quá trình truyền tín hiệu.

Khi sự ức chế của ERK được đề cập đến trong bản mô tả này, cần hiểu rằng nó có nghĩa là sự ức chế của ERK1 và/hoặc ERK2, cụ thể là ERK2.

Theo một khía cạnh sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

R¹ là hydro, C₁₋₃ alkyl hoặc -CH₂OMe;

R² là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C₁₋₃ alkyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-3} alkyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$; và

R^3 là hydro, C_{1-3} alkyl hoặc clo;

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất muối được dụng của hợp chất có công thức (I).

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa hợp chất nêu trên.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện phổ nhiễu xạ bột tia X của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 18a).

Fig.2 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 18a).

Fig.3 thể hiện phổ nhiễu xạ bột tia X của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 34).

Fig.4 thể hiện biểu đồ nhiệt DSC của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 34).

Fig.5 thể hiện sự ức chế phát triển khối u bằng ví dụ 18a kết hợp với selumetinib (ARRY-142886) trong mô hình ghép ngoại lai A549.

Fig.6: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.7: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.8: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.9: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.10: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.11: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.12: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.13: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.14: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.15: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.16: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.17: Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ “tùy ý được thế” được hiểu có nghĩa là “được thế hoặc không được thế”.

Thuật ngữ “alkyl” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ cả gốc hydrocarbon no mạch thẳng và mạch nhánh có số lượng nguyên tử cacbon nhất định. Việc đề cập đến nhóm alkyl cụ thể như “propyl” chỉ cụ thể đối với phiên bản mạch thẳng và việc đề cập đến nhóm alkyl mạch nhánh cụ thể như “isopropyl” chỉ cụ thể đối với phiên bản mạch nhánh.

Ví dụ về C₁₋₃alkyl là methyl, ethyl, propyl và isopropyl.

Ví dụ về C₁₋₄ alkyl bao gồm methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl và *tert*-butyl.

Thuật ngữ “halogen” hoặc “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ flo, clo, brom và iot. Theo phương án nhất định, thuật ngữ “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ flo, clo, và brom. Theo phương án nhất định, thuật ngữ “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ flo và clo. Theo phương án nhất định, thuật ngữ “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ flo. Theo phương án nhất định, thuật ngữ “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ clo. Theo phương án nhất định, thuật ngữ “halo” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ brom.

Theo một khía cạnh, R^1 là hydro, methyl hoặc $-CH_2OMe$.

Theo một khía cạnh, R^1 là methyl hoặc $-CH_2OMe$.

Theo một khía cạnh, R^1 là hydro.

Theo một khía cạnh, R^1 là methyl.

Theo một khía cạnh, R^1 là $-CH_2OMe$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm methyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm methyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm methyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng methyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm methyl, diflometyl hoặc triflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng methyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, metoxy và $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ flo, clo hoặc metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo và metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo và metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng flo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng metoxy.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng $-OCHF_2$.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng flo.

Theo một khía cạnh, R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng clo.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-metylpyridin-2-yl, 4-(diflometyl)pyridin-2-yl, 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 4-(triflometyl)pyridin-2-yl, 6-(triflometyl)pyridin-2-yl, 2-(triflometyl)pyridin-4-yl, 2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl, 6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl, 3,5-diflophenyl, 3-clo-4-flophenyl, 3-(diflometoxy)phenyl, 3-(diflometyl)phenyl, 3-metoxyphephenyl hoặc 4-flo-3-metoxyphephenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl hoặc 3,5-diflophenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-metylpyridin-2-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 4-(diflometyl)pyridin-2-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 4-(triflometyl)pyridin-2-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-(triflometyl)pyridin-2-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 2-(triflometyl)pyridin-4-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3-clophenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3,4-diflophenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3,5-diflophenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3-clo-4-flophenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3-(diflometoxy)phenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3-(diflometyl)phenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 3-metoxyphenyl.

Theo một khía cạnh, R^2 là 4-flo-3-metoxyphenyl.

Theo một khía cạnh, R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo một khía cạnh, R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo một khía cạnh, R^3 là hydro.

Theo một khía cạnh, R^3 là metyl.

Theo một khía cạnh, R^3 là clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và -OCHF₂; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc -CH₂OMe;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và -OCHF₂; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc -CH₂OMe;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và -OCHF₂; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, metoxy và $-OCHF_2$; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng metyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng diflometyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-\text{OCHF}_2$; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-\text{OCHF}_2$; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và clo; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là 6-methylpyridin-2-yl, 4-(diflometyl)pyridin-2-yl, 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 4-(triflometyl)pyridin-2-yl, 6-(triflometyl)pyridin-2-yl, 2-(triflometyl)pyridin-4-yl, 2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl, 6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl, 3,5-diflophenyl, 3-clo-4-flophenyl, 3-(diflometoxy)phenyl, 3-(diflometyl)phenyl, 3-metoxyphephenyl hoặc 4-flo-3-metoxyphephenyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl hoặc 3,5-diflophenyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl hoặc 3,5-diflophenyl; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-\text{CH}_2\text{OMe}$;

R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3-clophenyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3,4-diflophenyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3,5-diflophenyl; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3-clophenyl; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3,4-diflophenyl; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 là metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là 3,5-diflophenyl; và

R^3 là hydro hoặc metyl.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất một hoặc nhiều ví dụ cụ thể bất kỳ hoặc muối được dụng của chúng. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất ví dụ cụ thể được mô tả trong bản mô tả này hoặc muối được dụng của nó, trong đó một hoặc nhiều ví dụ bất kỳ bị loại trừ. Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ:

2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymetyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-(diflometyl)benzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-metoxibenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(4-flo-3-metoxibenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; và

(*R*)-7-(3-metoxymetyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

hoặc muối được dụng của chúng.

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

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; và

Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

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

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; và

(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

hoặc muối được dụng của chúng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất (*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất (*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất (*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất của ví dụ 18 hoặc sản phẩm cộng hợp được dụng của nó.

Một số hợp chất có công thức (I) có tâm bất đối xứng và sẽ nhận ra rằng hợp chất có công thức (I) này có thể được điều chế, được phân lập và/hoặc được cung cấp với sự có mặt hoặc không có mặt, ngoài ra, của một hoặc nhiều 2 chất đồng phân đối ảnh có thể có khác của hợp chất có công thức (I) ở tỉ lệ tương đối bất kỳ. Việc điều chế hợp chất được làm giàu đồng phân đối ảnh/ tinh khiết về đồng phân đối ảnh có thể được thực hiện bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn của hóa học hữu cơ mà đã được biết rõ trong lĩnh vực, ví dụ bằng cách tổng hợp từ nguyên liệu bắt đầu được làm giàu đồng phân đối ảnh hoặc tinh khiết về đồng phân đối ảnh, việc sử dụng chất xúc tác được làm giàu đồng phân đối ảnh hoặc tinh khiết về đồng phân đối ảnh thích hợp trong quá trình tổng hợp, và/hoặc bằng cách phân giải hỗn hợp triệt quang hoặc được làm giàu một phân của chất đồng phân lập thể, ví dụ thông qua sắc ký bất đối xứng.

Để sử dụng trong lĩnh vực được có thể ưu tiên đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng mà không có lượng lớn của các dạng đồng phân lập thể khác có mặt.

Theo đó, theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng, tùy ý cùng với một hoặc nhiều dạng đồng phân

lập thể khác của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có mặt ở trong chế phẩm với độ dư đồng phân đối ảnh (%ee) bằng $\geq 90\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 95\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 98\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 99\%$.

Theo phương án khác sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, tùy ý còn chứa một hoặc nhiều dạng đồng phân lập thể khác của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có mặt ở trong chế phẩm với độ dư đồng phân đối ảnh (%ee) bằng $\geq 90\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 95\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 98\%$.

Theo phương án khác, %ee trong chế phẩm nêu trên là $\geq 99\%$.

Hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của chúng có thể được điều chế, được sử dụng hoặc được cung cấp ở dạng vô định hình, dạng tinh thể, hoặc dạng bán kết tinh và hợp chất có công thức (I) đã nêu bất kỳ hoặc muối được dụng của chúng có thể có khả năng được tạo thành nhiều hơn một dạng tinh thể/ đa hình, bao gồm hydrat hóa (ví dụ bán hydrat, mono-hydrat, di-hydrat, tri-hydrat hoặc hóa học lượng pháp khác của hydrat) và/hoặc dạng solvat hóa. Cần hiểu rằng sáng chế bao hàm dạng rắn như vậy bất kỳ và tất cả các dạng rắn như vậy của hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), mà thu được bằng phương pháp được mô tả trong phần “Ví dụ thực hiện sáng chế” dưới đây.

Sáng chế được dự định là bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử có mặt trong hợp chất này. Cần hiểu rằng chất đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng có số khối khác. Ví dụ, các đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri. Các đồng vị của cacbon bao gồm ^{13}C và ^{14}C .

Muối được dùng thích hợp của hợp chất có công thức (I) là, ví dụ, muối cộng hợp axit.

Muối được dùng thích hợp khác của hợp chất có công thức (I) là, ví dụ, muối tạo thành ở trong cơ thể người hoặc động vật sau khi sử dụng hợp chất có công thức (I) cho cơ thể của người hoặc động vật này.

Muối được dùng thích hợp của hợp chất có công thức (I) cũng có thể là, ví dụ, muối cộng hợp axit của hợp chất có công thức (I), ví dụ muối cộng hợp axit với axit vô cơ hoặc axit hữu cơ như axit hydrocloric, axit hydrobromic, axit sulphuric hoặc axit trifloaxetic. Muối được dùng của hợp chất có công thức (I) cũng có thể là muối cộng hợp axit với axit như một trong các axit sau: axit axetic, axit adipic, axit benzen sulfonic, axit benzoic, axit xinamic, axit xitric, axit D,L-lactic, axit etan đisulfonic, axit etan sulfonic, axit fumaric, axit L-tartaric, axit maleic, axit malic, axit malonic, axit metan sulfonic, axit napađisyllic, axit phosphoric, saccharin, axit succinic hoặc axit toluen sulfonic (như axit *p*-toluensulfonic). Cần hiểu rằng muối được dùng của hợp chất có công thức (I) tạo thành một khía cạnh của sáng chế.

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế dưới dạng dạng rắn đồng tinh thể. Để tránh sự không rõ ràng, đồng tinh thể sử dụng để chỉ chất rắn mà là nguyên liệu pha đơn kết tinh bao gồm hợp chất có công thức (I) và ít nhất là một phân tử và/hoặc hợp chất ion khác, được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng thành phần đồng cấu tạo, thường ở tỉ lệ tỷ lệ, mà không phải là solvat hay muối đơn. Thường nói rằng, nếu hợp chất có công thức (I) và thành phần đồng cấu tạo của nó có ΔpK_a (pK_a (bazơ) - pK_a (axit)) > 1 , sẽ có sự chuyển proton đáng kể dẫn đến sự ion hóa và sự tạo thành muối có tiềm năng trái ngược với đồng tinh thể. Mặt khác, nếu hợp chất có công thức (I) và thành phần đồng cấu tạo của nó có ΔpK_a (pK_a (bazơ) - pK_a (axit)) < 1 , sẽ có ít hơn sự chuyển proton đáng kể. Nếu tiêu chuẩn này được đáp ứng, thực thể hợp chất-thành phần đồng cấu tạo cần được phân loại là đồng tinh thể. Trong đồng tinh thể, phân tử hợp chất và đồng cấu tạo tương tác bằng liên kết hydro và có thể là bằng tương tác không cộng hóa trị khác. Có thể lưu ý rằng bản thân đồng tinh thể có thể tạo thành solvat, bao gồm hydrat.

Đồng tinh thể được dùng của hợp chất có công thức (I) có thể là, ví dụ, đồng tinh thể axit adipic hoặc axit fumaric. Cần hiểu rằng đồng tinh thể được dùng của hợp chất có công thức (I) tạo thành theo một khía cạnh khác, sáng chế.

Cần hiểu rằng thuật ngữ “sản phẩm cộng hợp”, như được mô tả ở đây, bao hàm cả muối được dụng và đồng tinh thể được dụng của hợp chất có công thức (I). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể xác định được liệu muối hoặc đồng tinh thể có được tạo thành dựa trên sự khác biệt ở pKa của hợp chất và thành phần đồng cấu tạo của nó như được mô tả nêu trên. Theo một khía cạnh, sản phẩm cộng hợp là muối. Theo khía cạnh khác, sản phẩm cộng hợp là đồng tinh thể.

Thông thường, ở đây việc đề cập đến “muối được dụng của hợp chất có công thức (I)” (hoặc một trong nhiều Ví dụ) theo phương án hoặc khía cạnh bất kỳ cần được hiểu là bao gồm hợp chất có công thức (I) (hoặc một hoặc nhiều ví dụ bất kỳ tương ứng) được thể hiện dưới dạng đồng tinh thể được dụng hoặc nhiều thường được mô tả là (được dụng) sản phẩm cộng hợp, trừ khi ngữ cảnh đòi hỏi nghĩa khác.

Thuật ngữ “đồng tinh thể được dụng của hợp chất có công thức (I)” cần được hiểu là sử dụng để chỉ đồng tinh thể tạo thành giữa hợp chất có công thức (I) và đối ion (thành phần đồng cấu tạo) được dụng. Tương tự, thuật ngữ “sản phẩm cộng hợp được dụng của hợp chất có công thức (I)” cần được hiểu là sử dụng để chỉ sản phẩm cộng hợp (muối hoặc đồng tinh thể) tạo thành giữa hợp chất có công thức (I) và đối ion (thành phần đồng cấu tạo) được dụng.

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng Dạng 1, đặc trưng ở chỗ tạo ra ít nhất là một trong các giá trị 2θ sau đây được đo bằng cách sử dụng bức xạ CuKα: 23,3 và 16,7.

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, đặc trưng ở chỗ tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản như được thể hiện trên Fig.1. Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trong Bảng 1:

Bảng 1: Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X đối với sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng

Góc 2-theta (2 θ)	Cường độ (%)
23,3	100
16,7	72
21,6	67
13,6	67
7,3	47
19,6	37
25,8	33
28,1	32
14,5	25
11,0	24

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 23,3°.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 16,7°.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 23,3° và 16,7°.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với đỉnh đặc trưng ở khoảng 2-theta = 23,3, 16,7, 21,6, 13,6, 7,3, 19,6, 25,8, 28,1, 14,5, 11,0°.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 23,3^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 16,7^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 23,3^\circ$ và $16,7^\circ$ trong đó các giá trị này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 23,3, 16,7, 21,6, 13,6, 7,3, 19,6, 25,8, 28,1, 14,5, 11,0^\circ$ trong đó các giá trị này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Phân tích DSC của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $203,8^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $204,6^\circ\text{C}$ (Fig.2).

Do đó phân tích DSC cho thấy sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, là chất rắn có nhiệt độ nóng chảy cao với sự bắt đầu nóng chảy ở khoảng $203,8^\circ\text{C}$ và đỉnh ở khoảng $204,6^\circ\text{C}$.

Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, được đề cập đến trong bản mô tả này dưới dạng Dạng 1, đặc trưng ở chỗ tạo ra ít nhất là một trong các giá trị 2θ sau đây được đo bằng cách sử dụng bức xạ $\text{CuK}\alpha$: 8,6 và 9,8.

Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, đặc trưng ở chỗ tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X, về cơ bản như được thể hiện trên Fig.3. Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trong Bảng 2:

Bảng 2:

Mười đỉnh nhiễu xạ bột tia X đối với sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1

Góc 2-theta (2θ)	Cường độ (%)
8,6	100
9,8	58
17,8	18
6,3	13
10,3	13
25,8	12
19,1	11
22,8	11
25,1	11
13,2	11

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-}\theta = 8,6^\circ$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-}\theta = 9,8^\circ$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-}\theta = 8,6^\circ$ và $9,8^\circ$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với đỉnh đặc trưng ở khoảng $2\text{-}\theta = 8,6, 9,8, 17,8, 6,3, 10,3, 25,8, 19,1, 22,8, 25,1, 13,2^\circ$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 8,6^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là một đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 9,8^\circ$ cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với ít nhất là hai đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 8,6^\circ$ và $9,8^\circ$ trong đó các giá trị này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Sáng chế đề xuất dạng tinh thể, sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, có phổ nhiễu xạ bột tia X với đỉnh đặc trưng ở $2\text{-}\theta = 8,6, 9,8, 17,8, 6,3, 10,3, 25,8, 19,1, 22,8, 25,1, 13,2^\circ$ trong đó các giá trị này có thể là cộng hoặc trừ $0,2^\circ 2\text{-}\theta$.

Phân tích DSC của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, cho thấy sự thu nhiệt nóng chảy với sự bắt đầu ở $185,4^\circ\text{C}$ và đỉnh ở $186,2^\circ\text{C}$ (Fig.4).

Do đó phân tích DSC cho thấy sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, là chất rắn có nhiệt độ nóng chảy cao với sự bắt đầu ở 185,4°C và đỉnh ở 186,2°C.

Khi nói rằng sáng chế đề cập đến dạng tinh thể của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, và/hoặc dạng tinh thể của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, độ kết tinh thường là lớn hơn khoảng 60%, thông thường hơn nữa là lớn hơn khoảng 80%, tốt hơn là lớn hơn khoảng 90% và tốt hơn nữa là lớn hơn khoảng 95%. Tốt nhất là, mức độ kết tinh lớn hơn khoảng 98%.

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1 và có mười (giá trị góc 2-theta) được thể hiện trên Bảng 1. Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3 và có mười (giá trị góc 2-theta) được thể hiện trên Bảng 2. Cần hiểu rằng các giá trị 2-theta của phổ nhiễu xạ bột tia X có thể thay đổi một chút giữa thiết bị này với thiết bị kia hoặc giữa mẫu này với mẫu kia, và do đó các giá trị đưa ra không được hiểu là tuyệt đối chính xác.

Đã biết rằng có thể thu được phổ nhiễu xạ bột tia X có một hoặc nhiều sai số đo tùy thuộc vào điều kiện đo (như thiết bị hoặc thiết bị móc được sử dụng). Cụ thể là, đã biết rằng cường độ trong phổ nhiễu xạ bột tia X có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện đo. Do đó cần hiểu rằng sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, theo sáng chế không bị giới hạn ở các tinh thể mà tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.1, và tinh thể bất kỳ tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như

mẫu được thể hiện trên Fig.1 nằm trong phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, cần hiểu rằng sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1, theo sáng chế không bị giới hạn ở các tinh thể mà tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X tương tự như phổ nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.3, và tinh thể bất kỳ tạo ra phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản tương tự như mẫu được thể hiện trên Fig.3 nằm trong phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhiễu xạ bột tia X có thể đánh giá sự giống nhau thực chất của các phổ nhiễu xạ bột tia X.

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

Nên chung, sai số đo của góc nhiễu xạ trong biểu đồ nhiễu xạ bột tia X bằng xấp xỉ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-theta, và mức độ sai số đo này phải được tính đến khi xem xét phổ nhiễu xạ bột tia X trên Fig.1 và khi đọc Bảng 1. Ngoài ra, cần hiểu rằng cường độ có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện thí nghiệm và sự điều chế mẫu (sự định hướng được ưu tiên).

Dạng tinh thể bất kỳ mà tạo ra biểu đồ nhiễu xạ XRPD hoặc biểu đồ nhiệt DSC về cơ bản tương tự như dạng tinh thể được bộc lộ trong bản mô tả này, nằm trong phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng xác định sự giống nhau thực chất của các biểu đồ nhiễu xạ, phổ và biểu đồ nhiệt.

Các điều kiện phương pháp XRPD và DSC được mô tả trong bản mô tả này trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Cần hiểu rằng tiền dược chất được dụng thích hợp của hợp chất có công thức (I) cũng tạo thành một khía cạnh của sáng chế. Theo đó, hợp chất theo sáng chế có thể được

sử dụng ở dạng tiền dược chất, mà là hợp chất mà bị phá vỡ trong cơ thể người hoặc động vật để giải phóng hợp chất theo sáng chế. Tiền dược chất có thể được sử dụng để làm thay đổi tính chất vật lý và/hoặc tính chất dược động học của hợp chất theo sáng chế. Tiền dược chất có thể được tạo thành khi hợp chất theo sáng chế chứa nhóm hoặc phần tử thích hợp mà nhóm làm thay đổi tính chất có thể được gắn vào. Ví dụ về tiền dược chất bao gồm các dẫn xuất este hoặc amit có thể phân cắt được *in-vivo* có thể được tạo thành ở nhóm carboxy trong hợp chất có công thức (I).

Theo đó, một khía cạnh của sáng chế bao gồm các hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên khi được làm cho có sẵn bằng cách tổng hợp hữu cơ và khi được làm cho có sẵn ở trong cơ thể người hoặc động vật bằng cách phân cắt tiền dược chất của chúng. Theo đó, sáng chế bao gồm các hợp chất có công thức (I) mà được sản xuất bằng cách tổng hợp hữu cơ và cũng như là hợp chất mà được sản xuất trong cơ thể người hoặc động vật bằng sự chuyển hóa của hợp chất tiền chất, mà là hợp chất có công thức (I) có thể là hợp chất được sản xuất bằng cách tổng hợp hoặc hợp chất được sản xuất bằng cách chuyển hóa.

Tiền dược chất được dụng thích hợp của hợp chất có công thức (I) là chất mà dựa trên đánh giá y tế hợp lý là thích hợp để sử dụng cho cơ thể người hoặc động vật mà không có hoạt tính dược lý không mong muốn và không gây độc quá mức.

Các dạng khác nhau của tiền dược chất đã được mô tả, ví dụ trong các tài liệu sau đây:

a) Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, *et al.* (Academic Press, 1985);

b) Design of Pro-drugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);

c) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen and

H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Pro-drugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);

d) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992);

e) H. Bundgaard, *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988);

f)N. Kakeya, *et al.*, Chem. Pharm. Bull., 32, 692 (1984);

g)T. Higuchi and V. Stella, “Pro-Drugs as Novel Delivery Systems”, A.C.S. Symposium Series, Volume 14; và

h)E. Roche (editor), “Bioreversible Carriers in Drug Design”, Pergamon Press, 1987.

Tiền dược chất được dùng thích hợp của hợp chất có công thức (I) có nhóm carboxy là, ví dụ, este có thể phân cắt được *in-vivo* của chúng. Este có thể phân cắt được *in-vivo* của hợp chất có công thức (I) chứa nhóm carboxy là, ví dụ, este được dùng mà được phân cắt trong cơ thể người hoặc động vật để tạo ra axit mẹ. Este được dùng thích hợp đối với nhóm carboxy bao gồm (1-6C)alkyl este như metyl, etyl và *tert*-butyl, (1-6C)alkoxymetyl este như metoxymetyl este, (1-6C)alkanoyloxymetyl este như pivaloyloxymetyl este, 3-phthalidyl este, (3-8C)xycloalkylcarbonyloxy-(1-6C)alkyl este như xyclopentylcarbonyloxymetyl và 1-xyclohexylcarbonyloxyetyl este, 2-oxo-1,3-dioxolenylmetyl este như 5-metyl-2-oxo-1,3-dioxolen-4-ylmetyl este và (1-6C)alkoxycarbonyloxy-(1-6C)alkyl este như metoxycarbonyloxymetyl và 1-metoxycarbonyloxyetyl este.

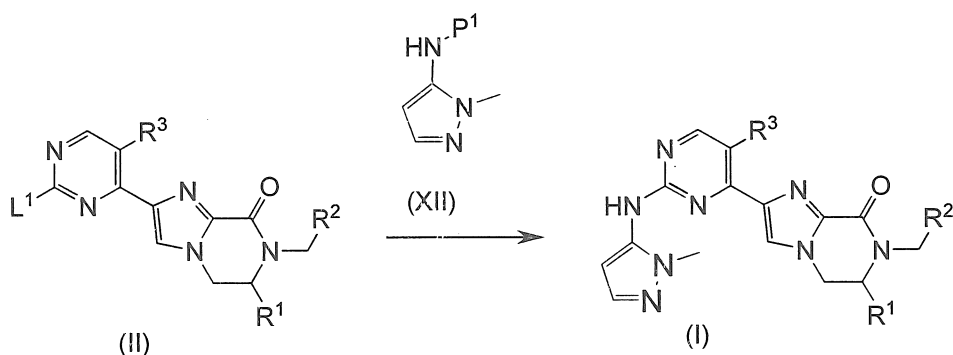
Tiền dược chất được dùng thích hợp của hợp chất có công thức (I) có nhóm carboxy là ví dụ như amit có thể phân cắt được *in-vivo* như

N-C₁₋₆alkyl và *N,N*-di-(C₁₋₆alkyl)amit như *N*-metyl, *N*-etyl, *N*-propyl, *N,N*-dimetyl, *N*-etyl-*N*-metyl hoặc *N,N*-dietylmit.

Hiệu quả *in-vivo* của hợp chất có công thức (I) có thể được gây ra một phần bởi một hoặc nhiều chất chuyển hóa mà được tạo thành ở trong cơ thể người hoặc động vật sau khi sử dụng hợp chất có công thức (I). Như nêu ở trên, hiệu quả *in-vivo* của hợp chất có công thức (I) cũng có thể được gây ra bởi sự chuyển hóa của hợp chất tiền chất (tiền dược chất).

Để tránh sự không rõ ràng cần hiểu rằng trong bản mô tả này khi một nhóm được nêu là “được xác định ở trên” hoặc “được xác định trong bản mô tả này” thì nhóm này bao hàm định nghĩa xuất hiện đầu tiên và rộng nhất cũng như là mỗi và tất cả các định nghĩa thay thế của nhóm đó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó. Quy trình thích hợp được minh họa bằng các biến thể quy trình đại diện sau đây trong đó, trừ khi có chỉ dẫn khác từ R^1 đến R^3 có nghĩa bất kỳ được xác định ở trên. Các nguyên liệu bắt đầu cần thiết có thể thu được bằng các quy trình tiêu chuẩn của hóa hữu cơ hoặc có sẵn trên thị trường. Việc điều chế các nguyên liệu bắt đầu này được mô tả kết hợp với các biến thể quy trình đại diện sau đây và trong các ví dụ kèm theo. Theo cách khác, các nguyên liệu bắt đầu cần thiết có thể thu được bằng các quy trình tương tự đối với các quy trình được minh họa mà thuộc kỹ năng thông thường của nhà hóa học hữu cơ.

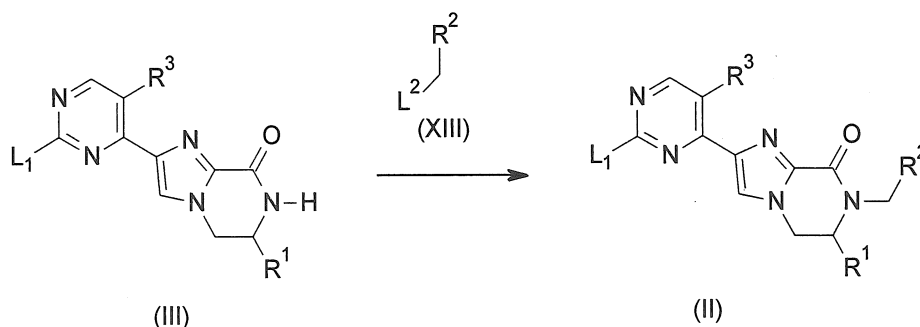


Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (II), trong đó L^1 là nhóm rời chuyển thích hợp (như halogen, hoặc $-\text{SO}_2\text{Me}$, v.v.), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XII), trong đó P^1 là hydro, với bazơ thích hợp (như NaH , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 hoặc K_2CO_3) trong dung môi thích hợp (như *N,N*-dimetylformamit hoặc *N,N*-dimetylaxetamit) hoặc trong sự có mặt của chất xúc tác Pd và phối tử phosphin thích hợp với bazơ thích hợp (ví dụ Cs_2CO_3) trong dung môi thích hợp (như đioxan), trong điều kiện nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ tăng (như đạt được bằng cách gia nhiệt hoặc bằng cách chiếu xạ vi sóng). Theo cách khác, hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (II), trong đó L^1 là nhóm rời chuyển thích hợp (như halo, hoặc $-\text{SO}_2\text{Me}$, v.v.), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XII), trong đó P^1 là nhóm thích hợp không phải là hydro (như formyl hoặc trifloaxetamit) với bazơ thích hợp (như NaH , Na_2CO_3 , Cs_2CO_3 hoặc K_2CO_3) trong dung môi thích hợp (như *N,N*-dimetylformamit hoặc *N,N*-dimetylaxetamit) hoặc trong sự có mặt của chất xúc tác Pd và phối tử phosphin thích hợp với bazơ thích hợp (ví dụ Cs_2CO_3) trong dung môi thích hợp (như đioxan), trong điều kiện nhiệt độ tăng (như đạt được bằng cách gia nhiệt hoặc bằng cách chiếu xạ vi

sóng), sau đó là sự loại bỏ nhóm bảo vệ P¹ trong sự có mặt của bazơ thích hợp như natri hydroxit trong dung môi thích hợp và nước.

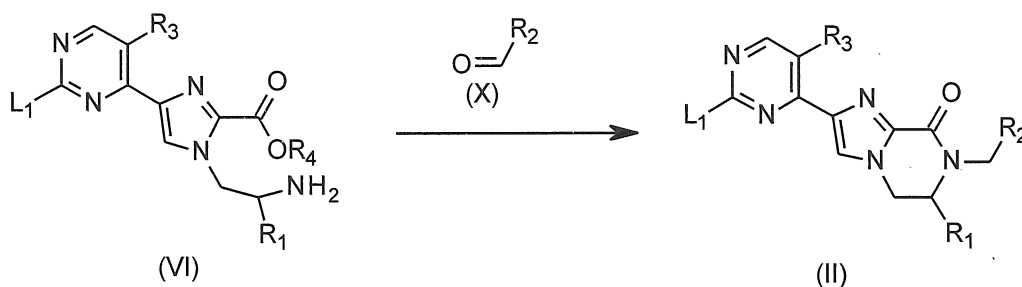
Hiểu rõ rằng hợp chất có công thức (I) có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) khác bằng cách sử dụng điều kiện đã biết rõ trong lĩnh vực.

Hợp chất có công thức (XII) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.



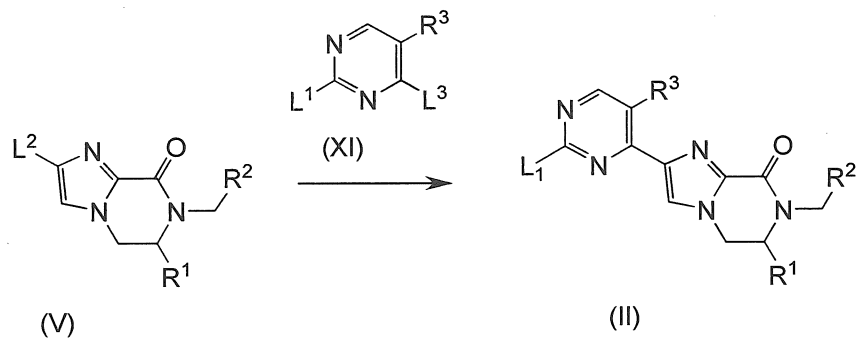
Hợp chất có công thức (II) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (III), trong đó L¹ là nhóm rời chuyển thích hợp (như Cl hoặc -SO₂Me), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XIII) trong đó L² là nhóm rời chuyển thích hợp (như halogen, hoặc -OSO₂Me, -Tos, v.v.), trong sự có mặt của bazơ thích hợp (như natri hydrua hoặc K₂CO₃) và dung môi thích hợp (như *N,N*-dimetylformamit).

Hợp chất có công thức (XIII) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.



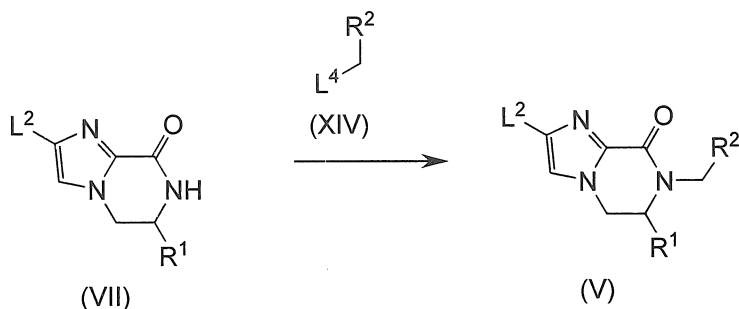
Theo cách khác hợp chất có công thức (II) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (VI), trong đó R⁴ là nhóm alkyl (như metyl hoặc etyl), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (X) trong sự có mặt của chất phản ứng khử thích hợp (như NaBH₃CN) và dung môi thích hợp (như tetrahydrofuran) sau đó là điều kiện lactam hóa tiếp theo trong dung môi thích hợp (như MeOH) với bazơ thích hợp (như amoniac), hoặc với chất xúc tác axit Lewis (như trimetyl nhôm).

Hợp chất có công thức (X) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.



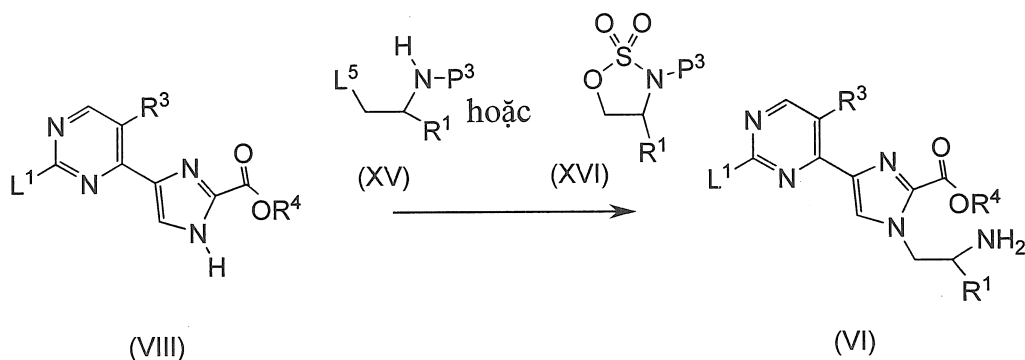
Hợp chất có công thức (II) trong đó L^1 là tiền chất đối với nhóm dimer chuyển thích hợp (như-SMe, v.v.) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (V), trong đó L^3 là nhóm kim loại thích hợp (như trimethyl stannane, v.v.), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XI) trong đó L^2 là nhóm dimer chuyển thích hợp (như halo, hoặc OSO_2CF_3), trong sự có mặt của chất xúc tác Pd và phối tử phosphin thích hợp trong dung môi thích hợp (như hỗn hợp của *N,N*-dimethylformamit, dimetoxietan, nước và etanol) trong điều kiện thích hợp như gia nhiệt hoặc trong bình phản ứng vi sóng.

Hợp chất có công thức (XI) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.



Hợp chất có công thức (V), trong đó R^1 là hydro hoặc nhóm alkyl (như methyl), có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (VII), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XIV) trong đó L^4 là nhóm dimer chuyển thích hợp (như halo, hoặc OSO_2CF_3), trong sự có mặt của bazơ thích hợp (như natri hydrua hoặc K_2CO_3) và dung môi thích hợp (như *N,N*-dimethylformamit hoặc axeton).

Hợp chất có công thức (XIV) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.



Hợp chất có công thức (VI), trong đó R^4 là nhóm alkyl (như methyl hoặc ethyl), có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (VIII), bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XV), trong đó L^5 là nhóm rời chuyển thích hợp (như halo,

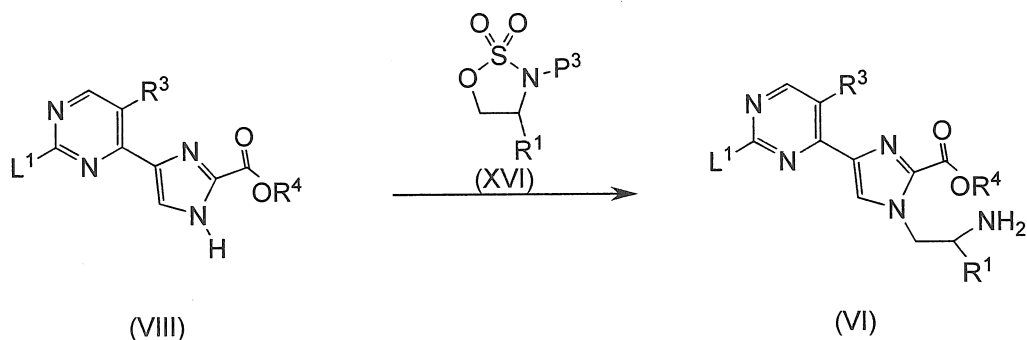
$-OSO_2Me$ hoặc $-OSO_2CF_3$) và P^3 là nhóm bảo vệ thích hợp (như -Boc), hoặc hợp chất có công thức (XVI) trong đó P^3 là nhóm bảo vệ thích hợp (như -Boc), trong sự có mặt của bazơ thích hợp (như natri hydrua hoặc K_2CO_3) trong dung môi thích hợp (như đioxan hoặc MeCN) trong điều kiện nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ tăng (như đạt được bằng cách gia nhiệt hoặc bằng cách chiếu xạ vi sóng); trong trường hợp mà hợp chất có công thức (XVI) được sử dụng có thể cần phải loại bỏ axit sulfamic trung gian trong điều kiện axit trong nước (như HCl) trong dung môi thích hợp (như etanol). Nhóm bảo vệ P^3 có thể được loại bỏ khỏi hợp chất có công thức (XV) và (XVI) bằng cách sử dụng axit thích hợp (như HCl) trong dung môi thích hợp (như đioxan hoặc etanol), trong điều kiện nhiệt độ môi trường. Hợp chất có công thức (VI) có thể được phân lập dưới dạng muối, như muối hydroclorua hoặc dihydroclorua.

Hợp chất có công thức (XV) và (XVI) có sẵn trên thị trường hoặc đã biết rõ trong lĩnh vực.

Phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) để điều chế hợp chất có công thức (VI) là mới và tạo ra theo một khía cạnh khác, sáng chế.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (VI), quy trình này bao gồm:

a) phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) trong sự có mặt của bazơ thích hợp trong dung môi thích hợp, trong điều kiện nhiệt độ môi trường hoặc nhiệt độ tăng;



trong đó R^1 và R^3 được xác định đối với hợp chất có công thức (I) nêu trên;

L^1 là nhóm dimer chuyển hoặc tiền chất đối với nhóm dimer chuyển;

P^3 là nhóm bảo vệ; và

R^4 là nhóm alkyl; và

b) tùy ý, axit sulfamic trung gian được loại bỏ trong điều kiện axit trong nước trong dung môi thích hợp; và

c) loại bỏ nhóm bảo vệ P^3 trong sự có mặt của axit thích hợp trong dung môi thích hợp, ở nhiệt độ môi trường.

Theo một phương án, L^1 là -SMe hoặc halogen.

Theo một phương án, L^1 là -SMe hoặc Cl.

Theo một phương án, R^4 là nhóm alkyl.

Theo một phương án, R^4 là C_{1-4} alkyl.

Theo một phương án, R^4 là metyl hoặc etyl.

Theo một phương án, R^4 là metyl.

Theo một phương án, R^4 là etyl.

Theo một phương án, bazơ thích hợp là natri hydrua hoặc K_2CO_3 .

Theo một phương án, bazơ thích hợp là natri hydrua.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện trong đioxan hoặc MeCN.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện trong đioxan.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện trong MeCN.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ ở khoảng 20°C.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ 18-25°C.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ > 20°C.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ >50°C.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ >80°C.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ $\geq 85^\circ\text{C}$.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ $\geq 85^\circ\text{C}$ và $\leq 100^\circ\text{C}$.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ $\leq 100^\circ\text{C}$.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ $\geq 80^\circ\text{C}$ và $\leq 110^\circ\text{C}$.

Theo một phương án, phản ứng của hợp chất có công thức (VIII) với hợp chất có công thức (XVI) được thực hiện ở nhiệt độ $\leq 110^\circ\text{C}$.

Theo một phương án, axit trong nước thích hợp là HCl.

Theo một phương án, việc loại bỏ axit sulfamic trung gian được thực hiện trong etanol.

Theo một phương án, P³ là -Boc.

Theo một phương án, bazơ thích hợp là K₂CO₃.

Theo một phương án, axit thích hợp là HCl.

Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ được thực hiện trong đioxan hoặc etanol.

Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ được thực hiện trong etanol.

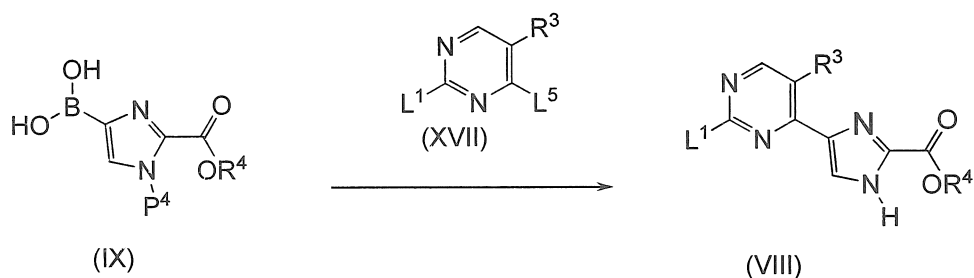
Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ được thực hiện trong đioxan.

Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ là ở nhiệt độ 18-25°C.

Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ là ở nhiệt độ 22-28°C.

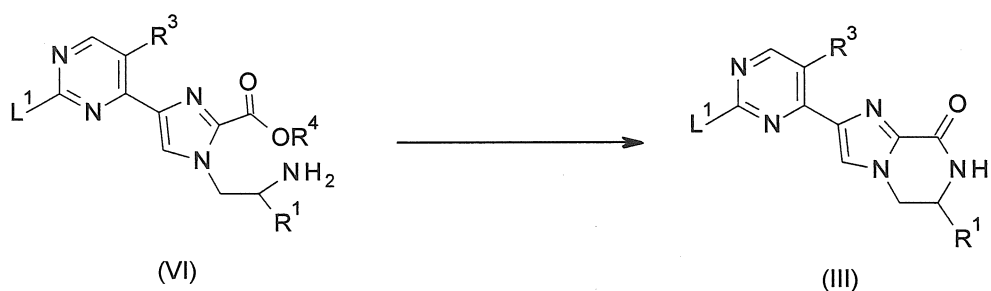
Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ là ở nhiệt độ ở khoảng 20°C.

Theo một phương án, việc loại bỏ nhóm bảo vệ P³ là ở nhiệt độ ở khoảng 25°C.



Hợp chất có công thức (VIII) trong đó L¹ là nhóm dời chuyển thích hợp (như halogen, hoặc -SO₂Me, v.v.) có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (IX), trong đó R⁴ là nhóm alkyl (như metyl, v.v.) và P⁴ là nhóm bảo vệ (như SEM) bằng phản ứng với hợp chất có công thức (XVII) trong đó L⁵ là nhóm dời chuyển thích hợp (như halo, hoặc OSO₂CF₃), trong sự có mặt của chất xúc tác Pd và phối tử phosphin thích hợp, với bazơ thích hợp (như xesi carbonat) trong dung môi thích hợp (như hỗn hợp của đioxan và nước), trong điều kiện thích hợp (như gia nhiệt hoặc trong bình phản ứng vi sóng).

Hợp chất có công thức (IX) có thể được điều chế bằng phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực.



Hợp chất có công thức (III) cũng có thể được điều chế từ hợp chất có công thức (VI) trong đó R^4 là nhóm alkyl (như methyl hoặc ethyl) bằng cách xử lý bằng bazơ thích hợp (như amoniac) trong dung môi thích hợp (như MeOH).

Khi muối được dùng của hợp chất có công thức (I) là cần thiết có thể thu được bằng, ví dụ, phản ứng của hợp chất này với axit thích hợp hoặc bazơ thích hợp.

Khi tiền dược chất được dùng của hợp chất có công thức (I) là cần thiết, có thể thu được bằng cách sử dụng quy trình thông thường. Ví dụ, este có thể phân cắt được *in-vivo* của hợp chất có công thức (I) có thể thu được bằng, ví dụ, phản ứng của hợp chất có công thức (I) chứa nhóm carboxy với rượu được dùng. Thông tin thêm về tiền dược chất đã được nêu ở trên.

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

Nhóm bảo vệ thích hợp đối với nhóm amino hoặc alkylamino là, ví dụ, nhóm axyl, ví dụ nhóm alkanoyl như axetyl, nhóm alkoxycarbonyl, ví dụ nhóm metoxycarbonyl, etoxycarbonyl hoặc *t*-butoxycarbonyl, nhóm arylmetoxycarbonyl, ví dụ benzyloxycarbonyl, hoặc nhóm aroyl, ví dụ benzoyl. Điều kiện khử bảo vệ đối với nhóm bảo vệ nêu trên cần thay đổi theo sự lựa chọn nhóm bảo vệ. Do đó, ví dụ, nhóm axyl như nhóm alkanoyl hoặc nhóm alkoxycarbonyl hoặc nhóm aroyl có thể được loại bỏ ví dụ, bằng cách thủy phân với bazơ thích hợp như kim loại kiềm hydroxit, ví dụ lithi hoặc natri hydroxit. Theo cách khác nhóm axyl như nhóm *t*-butoxycarbonyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách xử lý bằng axit thích hợp như axit clohydric, axit sulphuric hoặc axit phosphoric hoặc axit trifloaxetic và nhóm arylmetoxycarbonyl như nhóm benzyloxycarbonyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách hydro hóa qua chất xúc tác như paladi-trên-cacbon, hoặc bằng cách xử lý bằng axit Lewis ví dụ bo tris(trifloaxetat). Nhóm bảo vệ thay thế thích hợp đối với nhóm amino bậc một là, ví dụ, nhóm phthaloyl

có thể được loại bỏ bằng cách xử lý bằng alkylamin, ví dụ dimetylaminopropylamin, hoặc bằng hydrazin.

Nhóm bảo vệ thích hợp đối với nhóm hydroxy là, ví dụ, nhóm axyl, ví dụ nhóm alkanoyl như axetyl, nhóm aroyl, ví dụ benzoyl, hoặc nhóm arylmetyl, ví dụ benzyl. Điều kiện khử bảo vệ đối với nhóm bảo vệ nêu trên cần thay đổi theo sự lựa chọn nhóm bảo vệ. Do đó, ví dụ, nhóm axyl như nhóm alkanoyl hoặc aroyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách thủy phân bằng bazơ thích hợp như kim loại kiềm hydroxit, ví dụ lithi hoặc natri hydroxit. Theo cách khác nhóm arylmetyl như nhóm benzyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách hydro hóa qua chất xúc tác như paladi-trên-cacbon.

Nhóm bảo vệ thích hợp đối với nhóm cacboxy là, ví dụ, nhóm este hóa, ví dụ nhóm metyl hoặc etyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách thủy phân bằng bazơ như natri hydroxit, hoặc ví dụ nhóm *t*-butyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách xử lý bằng axit, ví dụ axit hữu cơ như axit trifloaxetic, hoặc ví dụ nhóm benzyl có thể được loại bỏ, ví dụ, bằng cách hydro hóa qua chất xúc tác như paladi-trên-cacbon.

Nhóm bảo vệ có thể được loại bỏ ở giai đoạn thuận tiện bất kỳ trong quá trình tổng hợp bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực hóa học.

Các hợp chất trung gian nhất định (ví dụ, hợp chất có công thức (I)I, III, IV, V, VI và VII, cụ thể là Công thức II và VI) được xác định trong bản mô tả này là mới và chúng được đề xuất dưới dạng các dấu hiệu khác của sáng chế.

Thử nghiệm sinh học

Các thử nghiệm sau đây được sử dụng để đánh giá hiệu quả của các hợp chất theo sáng chế.

Xử lý hợp chất

Tất cả các hợp chất hoặc DMSO (dimetyl sulphoxit) cho các thử nghiệm Đo Khối phổ ERK2 và A375 phospho-p90RSK được phân tán từ các đĩa nguồn chứa hợp chất ở 10 mM trong DMSO 100% (thể tích/thể tích) hoặc DMSO 100%, trực tiếp vào đĩa thử nghiệm bằng cách sử dụng thiết bị phân tán Echo 555 Acoustic (Labcyte Inc™). Tùy thuộc vào thử nghiệm, hai chế phẩm đĩa riêng rẽ được tuân theo. Trong Tiến trình A, 10 mM nguyên liệu dự trữ hợp chất được pha loãng 1:100 bằng cách sử dụng bộ xử lý dịch lỏng Agilent VPrep 96 đầu có đỉnh cố định (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) để

tạo ra bốn dịch pha loãng trung gian (10mM, 100 μ M, 1 μ M, 10nM). Trong Tiến trình B, 10 mM nguyên liệu dự trữ hợp chất được pha loãng 1:10 bằng cách sử dụng Tecan Freedom Evo (Tecan Group Ltd., Thụy Sĩ), và sau đó 1:100 bằng cách sử dụng Echo 555 và Labcyte LX để tạo ra ba dịch pha loãng trung gian qua ba đĩa nguồn được định lượng Labcyte (1mM, 10 μ M, 100nM). Sau đó các đĩa pha loãng trung gian này được sử dụng bằng Echo 555 để tạo ra đĩa hợp chất sẵn sàng để thử nghiệm với khoảng liều lượng 12 điểm (10, 3, 1, 0,25, 0,1, 0,03, 0,01, 0,0025, 0,001, 0,0003, 0,0001, 0,0000125 μ M) để tính IC₅₀ của hợp chất, với tổng nồng độ DMSO trong thử nghiệm bằng 1%. Đối với thử nghiệm Đo Khối phổ ERK2 Tiến trình B được sử dụng. Đối với thử nghiệm tế bào A375 phospho-p90RSK, đĩa pha loãng 1:100 trung gian được mô tả trong Tiến trình A được sử dụng bằng Echo để làm phân tán hợp chất và DMSO trực tiếp vào đĩa tế bào với khoảng liều lượng 12 điểm (30, 10, 3,125, 1,25, 0,3, 0,1, 0,03125, 0,0125, 0,003, 0,001, 0,0003125, 0,00003 μ M) để tính IC₅₀ của hợp chất, với tổng nồng độ DMSO trong thử nghiệm bằng 0,3%.

Sự ức chế đo khối phổ ERK2 trapidfire của thử nghiệm xúc tác

Protein ERK2 được hoạt hóa bằng MEK U911 được biểu hiện và được tinh chế nội bộ. Các dung dịch enzym và cơ chất được tạo thành trong chất đệm thử nghiệm bao gồm 50 mM Tris (độ pH 7,5), 10 mM MgCl₂, 0,1 mM EGTA (axit etylen glycol tetraaxetic), 10mM DTT (dithiothreitol) và 0,01% (thể tích/thể tích) CHAPS (3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonat). 1,2 nM protein ERK2 được điều chế trong chất đệm thử nghiệm và 10 μ L được phân tán vào mỗi giếng của polypropylen, đĩa 384 giếng (#781201, Greiner) chứa hợp chất thử nghiệm và hợp chất đối chứng tham chiếu. Sau khi ủ trước 15 phút enzym và hợp chất ở nhiệt độ phòng, 10 μ L dung dịch cơ chất được bổ sung bao gồm 16 μ M Erktide (IPTTPITTTYFFFK, #61777, AnaSpec) và 120 μ M ATP (adenosin triphosphat) (Km được đo) trong chất đệm thử nghiệm. Để cho phản ứng diễn ra trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ phòng trước khi được làm dừng bằng cách bổ sung 80 μ L axit formic 1% (thể tích/thể tích). Sau đó đĩa thử nghiệm được chạy trên thiết bị đo khối phổ RapidFire (Agilent) để đo hàm lượng cơ chất (Erktide không được phosphoryl hóa) và sản phẩm (Erktide được phosphoryl hóa). Dữ liệu được phân tích và IC₅₀ (nồng độ ức chế nửa lớn nhất) được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener®.

Thử nghiệm tế bào A375 phospho-p90RSK

Thử nghiệm tế bào phospho-p90RSK được thực hiện ở dòng tế bào A375, u melanin ác tính ở người có đột biến BRAF làm điều hòa tăng quá trình MAPK và, do đó, hàm lượng nội sinh của phospho-ERK và phospho-p90RSK tăng lên. Tế bào A375 được nuôi cấy trong môi trường tế bào bao gồm DMEM (môi trường Eagle được cải biến Dulbecco), Huyết Thanh Thai Bò 10% (thể tích/thể tích) và L-Glutamin 1% (thể tích/thể tích). Sau khi thu hoạch, tế bào được phân tán vào đĩa Costar 384 giếng, màu đen (#3712, Corning) để tạo ra 2400 tế bào mỗi giếng trong tổng thể tích bằng 40 μ L môi trường tế bào, và được ủ qua đêm ở nhiệt độ 37°C, độ ẩm tương đối 90% và CO₂ 5% trong thiết bị ủ quay. Hợp chất thử nghiệm và đối chứng tham chiếu được sử dụng liều lượng trực tiếp vào đĩa tế bào bằng cách sử dụng thiết bị phân tán Labcyte Echo 555 acoustic. Sau đó đĩa tế bào được ủ trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ 37°C trước khi được cố định bằng cách bổ sung 20 μ L formaldehyt 12% trong PBS/A (nồng độ cuối cùng 4%), sau đó là ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, và sau đó 2x rửa bằng 150 μ L PBS/A (nước muối đệm phosphat chứa albumin) bằng cách sử dụng thiết bị rửa đĩa BioTek ELx405. Tế bào được thấm hóa bằng 20 μ L Triton X-100 0,1% trong PBS/A trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ phòng, và sau đó rửa 1x bằng 100 μ L PBS/A. Kháng thể đơn dòng thổ phospho-p90RSK (Thr359) (D1E9) sơ cấp (#8753, Cell Signaling Technology) được pha loãng 1:1000 trong chất đệm thử nghiệm (Tween 0,05% (thể tích/thể tích), Huyết Thanh Thai Bò 5% (thể tích/thể tích), trong PBS/A), 20 μ L được bổ sung vào mỗi giếng, và đĩa được ủ ở nhiệt độ 4°C qua đêm. Rửa đĩa tế bào 2x bằng 200 μ L PBS/T (nước muối đệm phosphat chứa Tween-20), sau đó 20 μ L dịch pha loãng 1:500 trong chất đệm thử nghiệm kháng thể thứ cấp của dê kháng IgG của thổ Alexa Fluor® 647 (#A31573, Molecular Probes, Life Technologies), với dịch pha loãng 1:5000 của Hoechst 33342, được bổ sung cho mỗi giếng. Sau khi ủ 90 phút ở nhiệt độ phòng, rửa đĩa 2x bằng 200 μ L PBS/T, và bổ sung 40 μ L PBS/A cho mỗi giếng. Đĩa tế bào đã nhuộm màu được đặt bằng cái bịt nắp màu đen, và sau đó đọc trên nền tảng chụp ảnh Cellomics ArrayScan™ VTI (Thermo Scientific), bằng cách sử dụng bộ lọc XF53 với vật kính 10x, với thiết lập nguồn sáng LED để phân tích sự bắt màu nhân bằng Hoechst 33342 (405nm) và sự bắt màu kháng thể thứ cấp của phospho-p90RSK (647nm). Dữ liệu được phân tích và IC50 được tính bằng cách sử dụng phần mềm Genedata Screener®.

Hợp chất được yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này thường có hoạt tính enzym trong thử nghiệm nêu trên $<0,5$ mM, như $<0,2$ mM.

Dữ liệu sau đây được tạo ra cho các Ví dụ (dữ liệu dưới đây có thể là kết quả từ thí nghiệm đơn lẻ hoặc giá trị trung bình của hai hoặc nhiều thí nghiệm; sự biến đổi từ dữ liệu được thể hiện trong các đơn mà đơn này yêu cầu hưởng quyền ưu tiên từ đó là do sự lặp lại thêm của thử nghiệm gây ra sự thay đổi nhỏ ở giá trị trung bình):

Ví dụ	IC ₅₀ Enzym đo khối phổ ERK2 (μM)	IC ₅₀ tế bào p90RSK (μM)
1	0,0174	17
2	0,0007	0,086
3	0,0005	0,081
4	0,0018	0,63
5	0,002	0,11
6	0,0006	0,025
7	0,0005	0,038
8	0,0011	0,21
9	0,0005	0,19
10	0,0011	0,055
11	0,0008	0,15
12	0,0006	0,003
13	0,0003	0,012
14	0,0003	0,024
15	0,0006	0,15
16	0,0011	0,12
17	0,0009	0,0052
18	0,0006	0,0057
18a	0,0006	0,0074
19	0,0005	0,0053
20	0,0004	0,038
21	0,0006	0,011
22	0,0008	0,019
23	0,0006	0,04
24	0,0005	0,084
25	0,0007	0,13
26	0,0011	0,2
27	0,0008	0,077
28	0,0005	0,11
29	0,0009	0,13
30	0,0007	0,2
31	0,0008	0,14
32	0,0009	0,099
33	0,0008	0,031
35	-	0,093
36	0,0014	0,051
37	0,0007	0,064
38	0,0007	0,008
39	0,0018	0,070
40	0,0011	0,032
41	0,0015	0,130

Hợp chất của các ví dụ 1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27 và 28 đã được thể hiện là có độ chọn lọc lớn hơn ít nhất là 500 lần đối với ERK2 so với MEK trong thử nghiệm ADP-Glo Tự Phosphoryl Hóa MEK dưới đây.

Thử nghiệm ADP-Glo tự phosphoryl hóa MEK

Protein MEK đã hoạt hóa được cung cấp bởi MRC-PPU (DU911, Dundee, Vương Quốc Anh) hoặc được biểu hiện và được tinh chế nội bộ. Thử nghiệm MEK được thực hiện với Kit Thử nghiệm Kinaza ADP-Glo™ (Promega, Madison, WI, Mỹ), trong đĩa thể tích thấp màu trắng 384 giếng Greiner. 2μL protein MEK đã hoạt hóa 6 nM, trong chất đệm thử nghiệm bao gồm 50 mM Tris (độ pH 7,5), 10 mM DTT, 0,1 mM EGTA, Tween20 0,01% thể tích/thể tích và 10 mM MgCl₂, được phân tán vào mỗi giếng của đĩa chứa hợp chất thử nghiệm và hợp chất đối chứng tham chiếu. Sau khi ủ trước 15 phút enzym và hợp chất ở nhiệt độ phòng, 2μL dung dịch cơ chất được bổ sung bao gồm 20μM ATP (K_{Mapp}^{ATP}) trong chất đệm thử nghiệm. Để cho phản ứng thử nghiệm diễn ra trong thời gian 90 phút ở nhiệt độ phòng trước khi làm dừng phản ứng bằng cách bổ sung 2μL chất phản ứng ADP-Glo. Sau đó đậy đĩa và ủ trong thời gian 40 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó bổ sung 4μL Chất Phản Ứng Phát Hiện kinaza và ủ đĩa trong thời gian 30 phút, trước khi đọc tín hiệu phát quang bằng thiết bị đọc đĩa PHERAstar (BMG Labtech GmbH, Offenburg, Đức).

Nghiên cứu kết hợp

Nguyên liệu và phương pháp

A549 là dòng ung thư phổi tế bào không nhỏ ở người mang đột biến gen gây ung thư trong gen KRAS (G12S). Chuột cái trụi lông (Harlan, Vương Quốc Anh) được cấy dưới da (s.c.) ở sườn trái, với 5×10^6 A549 tế bào (ATCC) cho mỗi con chuột.

Theo dõi sự phát triển khối u bằng cách đo bằng thước cặp hai lần mỗi tuần và tính thể tích bằng cách sử dụng công thức elip ($\pi/6 \times \text{chiều rộng} \times \text{chiều rộng} \times \text{chiều dài}$). Khi khối u đạt đến thể tích bằng $\sim 200\text{-}300\text{mm}^3$ các con vật được chia ngẫu nhiên vào các nhóm gồm 7-11 con và được điều trị với chế độ kết hợp liên tục của selumetinib (ARRY-142886) 25 mg/kg BiD và Ví dụ 18a 25 mg/kg QD (bốn giờ sau liều selumetinib thứ nhất), cả hai được sử dụng liều lượng theo đường miệng. Đo thể tích khối u hai lần mỗi tuần sau khi bắt đầu sử dụng liều lượng.

Selumetinib được tạo chế phẩm trong HPMC/Tween (Methocel [hydroxypropyl methoxenluloza] 0,5%/ Polysorbate 80 0,1%), khuấy hỗn dịch qua đêm. Ví dụ 18a được tạo chế phẩm trong 10% DMSO, 90% dung dịch kleptose 40% (Kleptose có nguồn gốc từ Roquette -Pharma [Trademarked] hydroxypropyl betaxyclodextrin - thích hợp để sử dụng *in-vivo* và tạo chế phẩm).

Sự ức chế phát triển khối u bằng ví dụ 18a kết hợp với chất ức chế MEK (selumetinib)

Các nghiên cứu được thực hiện trong mô hình ghép ngoại lai A549. Sử dụng liều lượng selumetinib hai lần mỗi ngày (BiD) cách nhau 8 giờ và sử dụng liều lượng Ví dụ 18a một lần mỗi ngày (QD) 4 giờ sau liều lượng selumetinib thứ nhất. Cả hai hợp chất được sử dụng liều lượng liên tục trong 3 tuần. Cả hai tá dược lỏng được sử dụng liều lượng trong nhóm tá dược lỏng. Cả selumetinib và Ví dụ 18a đều làm giảm sự phát triển khối u tương đối so với đối chứng chỉ sử dụng tá dược lỏng (được thể hiện trên Fig.5). Sự kết hợp của selumetinib cộng với Ví dụ 18a dẫn đến sự giảm hơn nữa của sự phát triển khối u, với bằng chứng về sự thoái triển ở một số con vật.

Các nghiên cứu kết hợp - ức chế phát triển tế bào

Các dòng tế bào và điều trị

A549 là dòng ung thư phổi tế bào không nhỏ ở người mang đột biến gen gây ung thư trong gen KRAS (G12S). H2122 là dòng ung thư phổi tế bào không nhỏ ở người mang đột biến gen gây ung thư trong gen KRAS (G12C). H2009 là dòng ung thư phổi tế bào không nhỏ ở người mang đột biến gen gây ung thư trong gen KRAS (G12A). Calu6 là dòng ung thư phổi tế bào không nhỏ ở người mang đột biến trong gen KRAS (G13K). Tất cả các dòng tế bào đều thu được từ Ngân hàng giống và vi sinh vật Hoa Kỳ (American Type Culture Collection).

Tất cả các dòng tế bào được duy trì ở nhiệt độ 37 °C và CO₂ 5% trong khí quyển được làm ẩm và sinh trưởng trong môi trường sinh trưởng RPMI-1640 có bổ sung FBS 10% và 2mmol/L glutamin. Độ tương đồng của tất cả các dòng tế bào được xác nhận bằng cách sử dụng phân tích đoạn lặp nối tiếp ngắn như được mô tả trước đây (Davies BR, Greenwood H, Dudley P, *et al*: Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: Pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity

with genetic background. *Mol Cancer Ther* 11(4):873-87, 2012). Hòa tan hợp chất trong DMSO đến nồng độ bằng 10mmol/L và lưu trữ trong điều kiện khí nitơ.

Xác định sự sinh trưởng tế bào

Cây tế bào trong đĩa đáy trong, màu đen 384 giếng (Greiner Bio-One, Stonehouse, Vương Quốc Anh), nuôi cấy trong thời gian 18-24 giờ và xử lý bằng nồng độ tăng dần của ví dụ 18 và selumetinib (0 - 10 $\mu\text{mol/L}$) trong chất nền liều lượng 6x6. Cây tế bào ở nồng độ sao cho tế bào trong các giếng chưa xử lý có độ hợp lưu xấp xỉ 80% khi kết thúc thử nghiệm. Sau khi xử lý 3 ngày, xác định số lượng tế bào sống bằng cách sử dụng điểm cuối Sytox Green như được mô tả trước đây (“Davies BR, Greenwood H, Dudley P, *et al*: Preclinical pharmacology of AZD5363, an inhibitor of AKT: Pharmacodynamics, antitumor activity, and correlation of monotherapy activity with genetic background. *Mol Cancer Ther* 11(4):873-87, 2012”). Một cách vắn tắt, thuốc nhuộm axit nucleic Sytox Green (Invitrogen) được pha loãng trong chất đệm TBS-EDTA được bổ sung vào tế bào ở nồng độ cuối cùng bằng 0,13 $\mu\text{mol/L}$ và số lượng tế bào chết được phát hiện bằng cách sử dụng Acumen Explorer (TTP Labtech, Melbourne, Vương Quốc Anh). Sau đó tế bào được nhuộm bằng cách bổ sung qua đệm saponin (nồng độ cuối cùng 0,03%, được pha loãng trong chất đệm TBS-EDTA) và tổng số đếm tế bào được đo. Sau đó xác định số đếm tế bào sống bằng cách trừ đi số lượng tế bào chết mỗi giếng từ tổng số tế bào. Các phép đo trước khi sử dụng liều lượng được thực hiện để chỉ ra số lượng tế bào sống khi bắt đầu thí nghiệm và do đó chỉ ra chế độ điều trị có dẫn đến sự chết tế bào hay không. Dữ liệu được thể hiện dưới dạng % sinh trưởng bằng cách sử dụng công thức NCI như sau;

$\{[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100\} + 100$, đối với các giá trị mà $Ti \geq Tz$ đối với nó

$\{[(Ti-Tz)/Tz] \times 100\} + 100$, đối với các nồng độ mà $Ti < Tz$ đối với nó

trong đó, Tz là số lượng tế bào sống ở thời điểm không, C là sinh trưởng đối chứng và Ti là số lượng tế bào sống trong sự có mặt của mỗi chế độ thuốc. Công thức này cho ra tỉ lệ phần trăm nằm trong khoảng từ 0% đến 200%. Tác dụng chống tăng sinh được chỉ ra bằng điểm từ 0% (không tác dụng lên sự sinh trưởng tế bào) đến 100% (sự ức chế hoàn toàn của sự sinh trưởng tế bào); sự giết chết tế bào được chỉ ra bằng điểm từ 100% (không giết chết tế bào) đến 200% (giết chết tất cả các tế bào).

Phân tích hoạt tính kết hợp

Hoạt tính kết hợp (hiện tượng hiệp đồng), qua ma trận liều lượng 6x6, được phân tích ở Genedata Screener12 (Genedata, Basel, Thụy Sĩ) bằng cách sử dụng mô hình cộng gộp liều lượng Loewe như được mô tả trước đây (Lehar J, Krueger AS, Avery W, *et al*: Dược phẩm kết hợp thuốc hiệp đồng có xu hướng cải thiện tính chọn lọc tương đối về mặt trị liệu. *Nat Biotechnol* 27(7):659-66, 2009 và Rickles RJ, Tam WF, Giordano TP, 3rd, *et al*: Adenosine A2A and beta-2 adrenergic receptor agonists: Novel selective and synergistic multiple myeloma targets discovered through systematic combination screening. *Mol Cancer Ther* 11(7):1432-42, 201229). Mô hình cộng gộp này tạo ra sự tham khảo bằng không mà được dự đoán bằng đáp ứng mong đợi nếu hai chất này là cùng một thuốc. Bề mặt mô Fig.3 chiều, được dự đoán từ hai đường cong đáp ứng chất đơn lẻ, được trừ đi từ bề mặt tác dụng liều lượng 3 chiều có nguồn gốc từ thí nghiệm để tạo ra thể tích khác biệt. Thể tích ma trận dư này có thể được hợp nhất để tạo ra điểm hiệp đồng. Sự cắt điểm hiệp đồng >5 được sử dụng để nhận diện sự kết hợp được quan tâm trong sàng lọc thông lượng cao ban đầu.

Kết quả (được thể hiện trên Fig.6-17) chứng tỏ rằng Ví dụ 18 có thể ức chế sự sinh trưởng của danh sách các dòng tế bào ung thư có đột biến KRAS làm đơn liệu pháp và tác dụng này được tăng cường hiệp đồng bằng cách điều trị bằng selumetinib. Điểm hiệp đồng đối với mỗi dòng tế bào là 25 (A549), 14,3 (H2122), 67,5 (H2009), và 3 (Calu6). Điểm hiệp đồng ở trên là giá trị trung bình của ba hoặc nhiều thí nghiệm độc lập.

Theo theo một khía cạnh khác, sáng chế sáng chế đề xuất dược phẩm, chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, như được xác định nêu trên kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Tá dược dược dụng thích hợp cho chế phẩm viên nén bao gồm, ví dụ, chất pha loãng trợ, chất tạo hạt và làm tan rã, chất gắn kết, chất làm trơn, chất bảo quản và chất chống oxy hóa. Tá dược dược dụng thích hợp khác có thể là chất tạo phức chelat. 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, trong một trong các trường hợp, bằng cách sử dụng các chất và quy trình phủ thông thường đã biết rõ trong lĩnh vực.

Chế phẩm để sử dụng qua đường miệng theo cách khác có thể ở dạng viên nang cứng gelatin trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trợ, hoặc

dưới dạng viên nang mềm gelatin trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc dầu.

Hỗn dịch trong nước thường chứa thành phần hoạt tính ở dạng bột mịn cùng với một hoặc nhiều chất tạo hỗn dịch, chất phân tán hoặc làm ẩm. Hỗn dịch trong nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất tạo màu, chất tạo vị, và/hoặc chất làm ngọt.

Hỗn dịch trong dầu có thể được tạo chế phẩm bằng cách tạo hỗn dịch thành phần hoạt tính trong dầu thực vật hoặc trong dầu khoáng. Hỗn dịch trong dầu cũng có thể chứa chất làm đặc. Chất làm ngọt như các chất nêu ở trên, và chất tạo vị có thể được bổ sung để tạo ra chế phẩm sử dụng qua đường miệng ngon. Các chế phẩm này có thể được bảo quản bằng cách bổ sung chất chống oxy hóa.

Bột và hạt phân tán thích hợp để điều chế hỗn dịch trong nước bằng cách bổ sung nước thường chứa thành phần hoạt tính cùng với chất phân tán hoặc chất làm ẩm, chất tạo hỗn dịch và một hoặc nhiều chất bảo quản. Các tá dược khác như chất làm ngọt, chất tạo vị và chất tạo màu, cũng có thể có mặt.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật hoặc dầu khoáng hoặc hỗn hợp của chất bất kỳ trong số chúng. Nhũ tương cũng có thể chứa chất làm ngọt, chất tạo vị và chất bảo quản.

Sirô và cốm ngọt có thể được tạo chế phẩm với chất làm ngọt, và cũng có thể chứa chất làm dịu, chất bảo quản, chất tạo vị và/hoặc chất tạo màu.

Dược phẩm cũng có thể ở dạng hỗn dịch trong nước hoặc trong dầu tiêm được tiệt trùng, 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 hỗn dịch thích hợp, mà đã được đề cập đến ở trên. Chế phẩm tiêm được tiệt trùng cũng có thể là dung dịch hoặc hỗn dịch tiêm được tiệt trùng trong hệ thống chất pha loãng hoặc dung môi chấp nhận được sử dụng ngoài đường tiêu hóa không độc.

Các chế phẩm để sử dụng bằng cách xông 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 hydrocarbon được flo hóa dễ bay hơi hoặc hydrocarbon 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. Dụng cụ xông bột khô cũng có thể thích hợp.

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 sử dụng cụ thể. Ví dụ, việc sử dụng theo đường miệng cho người thường đòi hỏi, ví dụ, từ 1 mg đến 2 g hoạt chất (thích hợp hơn là từ 100mg đến 2g, ví dụ từ 250 mg đến 1,8g, như từ 500mg đến 1,8g, cụ thể là từ 500mg đến 1,5g, thuận lợi là từ 500mg đến 1g) để sử dụng hợp chất với lượng thích hợp và thuận tiện của tá dược có thể thay đổi từ khoảng 3 đến khoảng 98 phần trăm theo khối lượng của toàn bộ chế phẩm. Cần hiểu rằng, nếu liều lượng lớn là cần thiết, nhiều dạng liều lượng có thể cần thiết, ví dụ hai hoặc nhiều viên nén hoặc viên nang, với liều lượng của thành phần hoạt tính được chia một cách thuận lợi là ở giữa chúng. Thông thường, dạng liều đơn vị sẽ chứa khoảng từ 10 mg đến 0,5 g hợp chất theo sáng chế, mặc dù dạng liều đơn vị có thể chứa lên đến 1g. Thuận lợi là, dạng liều rắn đơn lẻ có thể chứa từ 1 đến 300mg thành phần hoạt tính.

Kích thước của liều lượng cho mục đích trị liệu hoặc phòng ngừa của hợp chất theo sáng chế sẽ thay đổi tự nhiên theo bản chất và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh, tuổi và giới tính của động vật hoặc bệnh nhân và đường sử dụng, theo nguyên tắc y tế đã biết rõ.

Khi sử dụng hợp chất theo sáng chế cho mục đích trị liệu hoặc phòng ngừa nó thường được sử dụng sao cho liều lượng mỗi ngày nằm trong khoảng, ví dụ, từ 1 mg/kg đến 100 mg/kg khối lượng cơ thể được tiếp nhận, được cung cấp ở các liều lượng chia nhỏ nếu cần. Nhìn chung, liều lượng thấp hơn được sử dụng khi sử dụng cho đường ngoài đường tiêu hóa. Do đó, ví dụ, để sử dụng trong tĩnh mạch, liều lượng nằm trong khoảng, ví dụ, từ 1 mg/kg đến 25 mg/kg khối lượng cơ thể thường được sử dụng. Tương tự, để sử dụng bằng cách xông, liều lượng nằm trong khoảng, ví dụ, từ 1 mg/kg đến 25 mg/kg khối lượng cơ thể sẽ được sử dụng. Tuy nhiên, việc sử dụng theo đường miệng được ưu tiên, cụ thể là ở dạng viên nén.

Theo một khía cạnh của sáng chế, hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng, được sử dụng dưới dạng viên nén chứa từ 10mg đến 500mg hợp chất có công thức (I) (hoặc muối dược dụng của chúng), trong đó một hoặc nhiều viên nén được sử dụng khi cần để đạt được liều lượng mong muốn.

Như nêu trên, đã biết rằng việc truyền tín hiệu qua ERK gây ra sự tạo khối u bởi một hoặc nhiều của tác dụng làm trung gian cho sự tăng sinh của tế bào ung thư và tế bào khác, làm trung gian cho sự kiện tạo mạch và làm trung gian cho sự di động, sự di chuyển và sự xâm lấn của tế bào ung thư. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng hợp chất theo sáng chế có hoạt tính kháng khối u có hiệu lực mà được tin là đạt được bằng sự ức chế của ERK mà tham gia vào các bước truyền tín hiệu mà dẫn đến sự tăng sinh và sự sống sót của tế bào khối u và khả năng xâm lấn và di chuyển của tế bào khối u di căn.

Theo đó, hợp chất theo sáng chế có thể có giá trị làm dược chất kháng khối u, cụ thể là làm chất ức chế chọn lọc của sự tăng sinh, sự sống sót, sự di động, sự phân tán và sự xâm lấn của tế bào ung thư động vật có vú dẫn đến sự ức chế của sự phát triển khối u và sự sống sót và dẫn đến sự ức chế của sự phát triển khối u di căn. Cụ thể là, hợp chất theo sáng chế có thể có giá trị làm chất chống tăng sinh và chống xâm lấn trong sự ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh khối u rắn. Cụ thể là, hợp chất theo sáng chế có thể hữu dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị các khối u mà nhạy cảm đối với sự ức chế của ERK và mà tham gia vào các bước truyền tín hiệu mà dẫn đến sự tăng sinh và sự sống sót của tế bào khối u và khả năng di chuyển và sự xâm lấn của tế bào khối u di căn. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có thể hữu dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị khối u mà được làm trung gian một mình hoặc một phần bởi sự ức chế của ERK, tức là hợp chất có thể được sử dụng để tạo ra tác dụng ức chế ERK ở động vật máu nóng cần điều trị.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, như được xác định nêu trên để sử dụng làm thuốc ở động vật máu nóng như người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, như được xác định nêu trên để sử dụng trong tạo ra tác dụng chống tăng sinh ở động vật máu nóng như người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên để sử dụng ở động vật máu nóng như người làm chất chống xâm lấn trong sự ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh khối u rắn.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để tạo ra tác dụng chống tăng sinh ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong tạo ra tác dụng chống tăng sinh ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng ở động vật máu nóng như người làm chất chống xâm lấn trong sự ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh khối u rắn.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp tạo ra tác dụng chống tăng sinh ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp tạo ra tác dụng chống xâm lấn bằng sự ngăn chặn và/hoặc điều trị bệnh khối u rắn ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên để sản xuất thuốc để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh khối u rắn ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh khối u rắn ở động vật máu nóng như người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh khối u rắn ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm số lượng tế bào ung thư ở đối tượng cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm kích thước của khối u cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm hoặc ức chế sự sinh trưởng hoặc sự tăng sinh của khối u cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa sự di căn hoặc làm giảm phạm vi di căn cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp kéo dài sự sống sót (bao gồm nhưng không giới hạn ở sự sống sót không tiến triển (PFS) hoặc sự sống sót nói chung) ở đối tượng mắc hoặc có nguy cơ mắc bệnh ung thư cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu” hoặc “lượng hữu hiệu để điều trị” có nghĩa là lượng mà (i) điều trị bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn cụ thể, (ii) làm thuyên giảm, làm cải thiện hoặc làm triệt tiêu một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối

loạn cụ thể, (iii) làm trì hoãn hoặc phòng ngừa sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh hoặc rối loạn cụ thể được mô tả trong bản mô tả này. Trong trường hợp của bệnh ung thư, lượng hữu hiệu có thể làm giảm số lượng tế bào ung thư; làm giảm kích thước khối u; ức chế (ví dụ làm chậm đến mức độ nào đó và tốt hơn là làm dừng) sự thâm nhiễm của tế bào ung thư vào cơ quan ngoại vi; ức chế sự di căn khối u; ức chế đến mức độ nào đó sự phát triển khối u; và/hoặc làm giảm đến mức độ nào đó một hoặc nhiều triệu chứng kết hợp với bệnh ung thư. Để điều trị ung thư, hiệu quả có thể được đo bằng cách đánh giá, ví dụ thời gian để tiến triển bệnh (TTP) và/hoặc đánh giá tốc độ đáp ứng (RR).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được điều hòa bởi RAS/RAF/MEK/ERK kinaza.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được điều hòa bởi RAS/RAF/MEK/ERK kinaza.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được điều hòa bởi RAS/RAF/MEK/ERK kinaza bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được làm trung gian bởi ERK.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được làm trung gian bởi ERK.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn siêu tăng sinh được làm trung gian bởi ERK bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị các khối u mà nhạy cảm đối với sự ức chế của ERK.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong phòng ngừa hoặc điều trị các khối u mà nhạy cảm đối với sự ức chế của ERK.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị các khối u mà nhạy cảm đối với sự ức chế của ERK bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên để sử dụng để tạo ra tác dụng ức chế lên ERK.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên để sản xuất thuốc để sử dụng để tạo ra tác dụng ức chế lên ERK.

Theo khía cạnh khác, sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra tác dụng ức chế lên ERK bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng để tạo ra tác dụng ức chế chọn lọc lên ERK2.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng để tạo ra tác dụng ức chế chọn lọc lên ERK2.

Theo khía cạnh khác, sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra tác dụng ức chế chọn lọc lên ERK2 bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Hợp chất có công thức (I) có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh ung thư bất kỳ trong đó quá trình RAS/RAF/MEK/ERK kinaza được hoạt hóa. Ví dụ về bệnh ung thư mà đã được báo cáo là có sự hoạt hóa này bao gồm bệnh bạch cầu tủy cấp tính (acute myelogenous leukemia - AML), bệnh bạch cầu mãn tính dòng bạch cầu đơn nhân, đa u

tủy xương, bệnh bạch cầu tủy mãn tính, bệnh ung thư kết trực tràng (colorectal cancer - CRC), bệnh ung thư vú, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư đầu và cổ, bệnh ung thư não, u nguyên bào đệm, u nguyên bào thần kinh, u lympho không Hodgkins, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ (non-small cell lung cancer - NSCLC), bệnh ung thư phổi tế bào nhỏ, u melanin, bệnh u xơ thần kinh typ 1 (neurofibromatosis type 1 - NF1), đường dẫn mật.

Theo một khía cạnh, hợp chất có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư CRC, u melanin, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Theo một khía cạnh, hợp chất có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh ung thư đột biến KRAS hoặc BRAF.

Theo một khía cạnh, hợp chất có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh ung thư phụ thuộc quá trình MAPK như bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư CRC; theo một số phương án bệnh ung thư này là bệnh ung thư đột biến KRAS như được mô tả dưới đây.

Theo khía cạnh khác, hợp chất có thể hữu hiệu trong điều trị u melanin đột biến BRAF.

Theo khía cạnh khác, hợp chất có thể hữu hiệu trong điều trị bệnh ung thư được chọn từ u melanin đột biến NRAS, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư CRC, u melanin, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư CRC.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong điều trị u melanin đột biến BRAF.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong điều trị u melanin đột biến NRAS, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư được làm trung gian bởi ERK, trong đó bệnh ung thư này phát triển tính kháng đối với một hoặc nhiều chất ức chế quá trình MAPK khác.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư CRC, u melanin, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư CRC, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị u melanin đột biến BRAF, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư được chọn từ u melanin đột biến NRAS, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư được làm trung gian bởi ERK, trong đó bệnh ung thư này đã phát triển tính kháng đối với một hoặc nhiều chất ức

chế quá trình MAPK khác, bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư CRC, u melanin, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư được chọn từ bệnh ung thư NSCLC, bệnh ung thư tụy và bệnh ung thư CRC.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị u melanin đột biến BRAF.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị u melanin đột biến NRAS, u melanin màng bồ đào, NF1 ở trẻ em, bệnh ung thư tuyến giáp và đường dẫn mật biệt hóa.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, như được xác định nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư được làm trung gian bởi ERK, trong đó bệnh ung thư này đã phát triển tính kháng đối với một hoặc nhiều chất ức chế quá trình MAPK khác.

Như nêu ở trên, tác dụng *in-vivo* của hợp chất có công thức (I) có thể được gây ra một phần bởi một hoặc nhiều chất chuyển hóa mà được tạo thành ở trong cơ thể người hoặc động vật sau khi sử dụng hợp chất có công thức (I).

Trong chế phẩm, phương pháp và sử dụng nêu trên, hợp chất có công thức (I) cụ thể là hợp chất của các Ví dụ, hoặc muối được dụng của chúng. Các ví dụ minh họa khác về chế phẩm, phương pháp và sử dụng này là:

2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymetyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clobenzyl)-2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-(diflometyl)benzyl)-2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-metoxibenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(4-flo-3-metoxibenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; và

(*R*)-7-(3-metoxybenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

Việc điều trị chống ung thư được xác định trong bản mô tả này có thể được áp dụng dưới dạng liệu pháp duy nhất hoặc có thể bao gồm, ngoài hợp chất theo sáng chế, phẫu thuật hoặc xạ trị hoặc hóa trị thông thường. Theo phương án nhất định, hợp chất có

công thức (I) được kết hợp với hợp chất khác có tính chất chống siêu tăng sinh hoặc hữu dụng trong điều trị rối loạn siêu tăng sinh. Các hợp chất khác có thể có một cách thích hợp hoạt tính bổ sung cho hợp chất có công thức (I) sao cho chúng không có ảnh hưởng bất lợi với nhau. Theo một số khía cạnh liệu pháp kết hợp này có thể phòng ngừa hoặc làm trì hoãn tính kháng vốn có hoặc mắc phải có thể quy cho sự hoạt hóa của quá trình RAS/RAF/MEK/ERK quan sát được với sự ức chế MEK và để phòng ngừa hoặc làm trì hoãn tính kháng vốn có hoặc mắc phải được làm trung gian thông qua sự hoạt hóa quá trình RAS.

Ngoài việc tạo ra sự điều trị được cải thiện đối với rối loạn siêu tăng sinh nhất định, việc sử dụng các dược phẩm kết hợp nhất định có thể cải thiện chất lượng cuộc sống của bệnh nhân so với chất lượng cuộc sống trải nghiệm bởi cùng bệnh nhân tiếp nhận sự điều trị khác. Ví dụ, việc sử dụng dược phẩm kết hợp cho bệnh nhân có thể mang lại chất lượng cuộc sống được cải thiện so với chất lượng cuộc sống của cùng bệnh nhân đó sẽ trải qua nếu họ tiếp nhận chỉ một trong các chất cụ thể để trị liệu. Ví dụ, trị liệu kết hợp có thể làm giảm liều lượng của chất trị liệu cần thiết. Dược phẩm kết hợp này cũng có thể làm cho gánh nặng khối u giảm và bằng cách đó làm giảm các tác dụng có hại kèm theo.

Theo đó, theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, và dược chất kháng khối u bổ sung để điều trị kết hợp bệnh ung thư.

Việc điều trị chống ung thư được xác định ở trên có thể được áp dụng dưới dạng liệu pháp duy nhất hoặc có thể bao gồm, ngoài hợp chất theo sáng chế, phẫu thuật hoặc xạ trị hoặc hóa trị thông thường. Hóa trị này có thể bao gồm một hoặc nhiều loại dược chất kháng khối u sau đây:

(i) thuốc chống tăng sinh/chống tạo khối u và dược phẩm kết hợp của chúng, như được sử dụng trong ngành ung thư, như chất alkyl hóa (ví dụ cis-platin, oxaliplatin, carboplatin, cyclophosphamid, mù tạc nitơ, melphalan, clorambuxil, busulphan, temozolamid và nitrosoure); chất chống chuyển hóa (ví dụ gemxitabin và kháng folat như flopyrimidin như 5-flouraxin và tegafur, raltitrexed, methotrexat, xytosin arabinosit, và hydroxyure); chất kháng sinh kháng khối u (ví dụ anthracyclin như adriamycin, bleomycin, doxorubicin, daunomycin, epirubicin, idarubicin, mitomycin-C,

đactinomycin và mithramycin); chất chống phân bào (ví dụ vinca alkaloid như vincristin, vinblastin, vindesin và vinorelbin và taxoid như taxol và taxotere và chất ức chế polokinaza); và chất ức chế topoisomeraza (ví dụ epipodophyllotoxin như etoposid và teniposid, amsacrin, topotecan và camptothecin);

(ii) chất kháng hormon như kháng oestrogen (ví dụ tamoxifen, fulvestrant, toremifen, raloxifen, droloxifen và idoxifen), kháng androgen (ví dụ bicalutamid, flutamid, nilutamid và xyproteron axetat), chất đối kháng LHRH hoặc chất chủ vận LHRH (ví dụ goserelin, leuprorelin và buserelin), progestogen (ví dụ megestrol axetat), chất ức chế aromataza (ví dụ như anastrozol, letrozol, vorazol và exemestan) và chất ức chế của 5 α -reductaza như finasterit;

(iii) chất ức chế của chức năng yếu tố sinh trưởng và các quá trình tín hiệu xuôi chiều của chúng:

được bao gồm là chất điều hòa Ab của các đích yếu tố sinh trưởng hoặc thụ thể yếu tố sinh trưởng bất kỳ, được xem xét bởi Stern *et al.* Critical Reviews in Oncology/Haematology, 2005, 54, pp11-29); cũng được bao gồm là chất ức chế phân tử nhỏ của các đích này, ví dụ chất ức chế kinaza - các ví dụ bao gồm kháng thể kháng-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], kháng thể kháng-EGFR panitumumab, kháng thể kháng-EGFR cetuximab [Erbix, C225] và chất ức chế tyrosin kinaza bao gồm chất ức chế của họ thụ thể erbB, như chất ức chế tyrosin kinaza thụ thể họ yếu tố sinh trưởng biểu bì (EGFR/erbB1) như gefitinib hoặc erlotinib, chất ức chế tyrosin kinaza erbB2 như lapatinib, và chất ức chế erb1/2 hỗn hợp như afatinib; các chiến lược tương tự có sẵn đối với các nhóm yếu tố sinh trưởng khác và thụ thể của chúng, ví dụ chất ức chế của họ yếu tố sinh trưởng tế bào gan hoặc thụ thể của chúng bao gồm c-met và ron; chất ức chế của insulin và họ yếu tố sinh trưởng insulin hoặc thụ thể của chúng (IGFR, IR) chất ức chế của họ yếu tố sinh trưởng có nguồn gốc tiểu cầu hoặc thụ thể của chúng (PDGFR), và chất ức chế truyền tín hiệu được làm trung gian bởi tyrosin kinaza thụ thể khác như c-kit, AnLK, và CSF-1R;

cũng được bao gồm là chất điều hòa mà nhắm đích vào các protein truyền tín hiệu trong quá trình truyền tín hiệu PI3-kinaza rộng hơn, ví dụ, chất ức chế của đồng phân PI3-kinaza khác như PI3K- β , và ser/ thr kinaza như AKT, mTOR, PDK, SGK, PI4K hoặc PIP5K;

cũng được bao gồm là chất ức chế của serin/threonin kinaza không được liệt kê ở trên, ví dụ chất ức chế raf như vemurafenib, chất ức chế MEK như selumetinib (AZD6244, ARRY-142886), cobimetinib hoặc GDC-0623 (xem tài liệu ví dụ WO2015/0832840), chất ức chế Abl như imatinib hoặc nilotinib, chất ức chế Btk như ibrutinib, chất ức chế Syk như fostamatinib, chất ức chế aurora kinaza (ví dụ AZD1152), chất ức chế của ser/thr kinaza khác như JAK, STAT và IRAK4, và chất ức chế kinaza phụ thuộc xyclin;

iv) chất điều hòa của quá trình truyền tín hiệu hư hỏng ADN, ví dụ chất ức chế PARP (ví dụ Olaparib), chất ức chế ATR hoặc chất ức chế ATM;

v) chất điều hòa của các quá trình chết tế bào theo chương trình và sự chết tế bào như chất điều hòa họ Bcl (ví dụ ABT-263/ Navitoclax, ABT-199);

(vi) chất chống tạo mạch như các chất ức chế tác dụng của yếu tố sinh trưởng nội mô mạch, [ví dụ kháng thể yếu tố sinh trưởng tế bào kháng-nội mô mạch bevacizumab (Avastin™) và ví dụ, chất ức chế thụ thể VEGF tyrosin kinaza như sorafenib, axitinib, pazopanib, sunitinib và vandetanib (và hợp chất mà hoạt động theo cơ chế khác (ví dụ linomit, chất ức chế của chức năng integrin $\alpha\beta 3$ và angiostatin)];

(vii) chất gây hư hỏng mạch, như Combretastatin A4;

(viii) chất chống xâm lấn, ví dụ chất ức chế họ c-Src kinaza như (dasatinib, J. Med. Chem., 2004, 47, 6658-6661) và bosutinib (SKI-606), và chất ức chế kim loại proteinaza như marimastat, chất ức chế của chức năng thụ thể chất hoạt hóa urokinaza plasminogen hoặc kháng thể đối với Heparanaza];

(ix) cách tiếp cận liệu pháp miễn dịch, bao gồm ví dụ cách tiếp cận ex-vivo và *in-vivo* để làm tăng khả năng gây miễn dịch của tế bào khối u của bệnh nhân, như sự chuyển nhiễm với xytokin như interleukin 2, interleukin 4 hoặc yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt-đại thực bào, cách tiếp cận để làm giảm chứng mất ứng tế bào T, cách tiếp cận bằng cách sử dụng tế bào miễn dịch được chuyển nhiễm như tế bào phân nhánh được chuyển nhiễm xytokin, cách tiếp cận bằng cách sử dụng dòng tế bào khối u được chuyển nhiễm xytokin và các tiếp cận bằng cách sử dụng kháng thể kháng-idiotyp. Ví dụ cụ thể bao gồm kháng thể đơn dòng nhắm đích PD-1 (ví dụ BMS-936558), PDL-1 hoặc CTLA4 (ví dụ ipilimumab và tremelimumab);

(x) liệu pháp dựa trên đối nghĩa và ARNi, ví dụ liệu pháp mà được định hướng đến các đích được liệt kê.

(x) phương pháp liệu pháp gen, bao gồm ví dụ như các phương pháp thay thế gen khác thường như p53 khác thường hoặc BRCA1 hoặc BRCA2 khác thường, phương pháp GDEPT (liệu pháp tiền được chất enzym định hướng gen) như phương pháp sử dụng xytosin deaminaza, tymidin kinaza hoặc enzym nitroreductaza vi khuẩn và phương pháp làm tăng khả năng dung chịu của bệnh nhân đối với việc hóa trị hoặc xạ trị như liệu pháp gen kháng đa thuốc;

Theo khía cạnh này sáng chế đề xuất được phẩm kết hợp thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên hoặc muối được dụng của chúng và được chất kháng khối u khác, cụ thể là được chất kháng khối u bất kỳ trong số các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên. Cụ thể là, được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i)-(xi) nêu trên là tiêu chuẩn chăm sóc đối với bệnh ung thư cụ thể cần điều trị; người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu nghĩa của “tiêu chuẩn chăm sóc”.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u khác, cụ thể là được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u khác, cụ thể là được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm kết hợp thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên hoặc muối được dụng của chúng và được chất kháng khối u bất kỳ trong số các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang được dụng để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng kết hợp với được chất kháng khối u khác, cụ thể là được chất kháng khối u được chọn từ các được chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm kết hợp thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên hoặc muối dược dụng của chúng và dược chất kháng khối u bất kỳ trong số các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên, kết hợp với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên, để sản xuất thuốc để sử dụng trong bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở động vật máu nóng, như người, cần điều trị bao gồm bước sử dụng cho động vật này lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên.

Theo một khía cạnh, ví dụ thích hợp về dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên là các chất mà cũng tác động lên MAPK kinaza, cụ thể là lên tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK như chất ức chế MEK.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm kết hợp thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định nêu trên hoặc muối dược dụng của chúng và chất ức chế MEK, như selumetinib (ARRY-142886).

Theo một khía cạnh, dược phẩm kết hợp chứa hợp chất có công thức (I) và selumetinib (ARRY-142886) nêu trên thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư bất kỳ phụ thuộc vào quá trình MAPK, như bệnh ung thư NSCLC, tụy hoặc CR, tùy ý kết hợp với trị liệu tiêu chuẩn chăm sóc.

Dược phẩm kết hợp chứa hợp chất có công thức (I) và dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (iii) nêu trên, cụ thể là chất khác tác động lên MAPK kinaza, cụ thể là lên tiến trình truyền tín hiệu RAS-RAF-MEK-ERK như chất ức chế MEK/ có thể đặc biệt hữu dụng trong điều trị khối u với tỉ lệ lưu hành cao hơn của đột biến ở KRAS hoặc BRAF.

Dược phẩm kết hợp cụ thể theo sáng chế chứa hợp chất bất kỳ của các Ví dụ trong bản mô tả này (hoặc muối dược dụng của chúng) và chất ức chế MEK như selumetinib (ARRY-142886) như được mô tả nêu trên. Các ví dụ minh họa khác đối với dược phẩm kết hợp theo sáng chế và chất ức chế MEK như selumetinib (ARRY-14288) là:

2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymetyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-clobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3-(diflometyl)benzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-metoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(4-flo-3-metoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; và

(*R*)-7-(3-metoxymetyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

Trong tất cả các dược phẩm kết hợp ở trên, cần hiểu rằng dược phẩm kết hợp này cũng có thể được sử dụng liều lượng với việc điều trị tiêu chuẩn chăm sóc, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, như các điều trị khác từ (i) đến (xi) nêu trên. Theo khía cạnh khác, thích hợp là tiêu chuẩn chăm sóc có thể được chọn từ (i) nêu trên.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm kết hợp chứa ba thành phần thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư, bao gồm:

- a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng;
- b) hợp chất được chọn từ (iii) nêu trên (như hợp chất khác tác động lên MAPK kinaza) hoặc muối dược dụng của chúng; và
- c) trị liệu tiêu chuẩn chăm sóc đối với bệnh ung thư cần điều trị.

Một cách thích hợp trị liệu tiêu chuẩn chăm sóc có thể được sử dụng liều lượng theo chế độ liều lượng thông thường của nó, như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng kết hợp với dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit chứa:

a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng ở dạng liều đơn vị thứ nhất;

b) dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên ở dạng liều đơn vị thứ hai; và

c) đồ chứa để chứa dạng liều lượng thứ nhất và dạng liều lượng thứ hai này.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất kit chứa:

a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng ở dạng liều đơn vị thứ nhất;

b) dược chất kháng khối u được chọn từ các dược chất kháng khối u liệt kê ở mục (i) - (xi) nêu trên ở dạng liều đơn vị thứ hai;

c) đồ chứa để chứa dạng liều lượng thứ nhất và thứ hai này; và tùy ý

d) hướng dẫn sử dụng.

Trong bản mô tả này, khi thuật ngữ “dược phẩm kết hợp” được sử dụng cần hiểu rằng nó sử dụng để chỉ việc sử dụng đồng thời, riêng rẽ hoặc tuần tự. Theo một khía cạnh của sáng chế “dược phẩm kết hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc sử dụng đồng thời. Theo một khía cạnh khác, sáng chế “dược phẩm kết hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc sử dụng riêng rẽ. Theo khía cạnh khác theo sáng chế “dược phẩm kết hợp” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc sử dụng tuần tự. Khi việc sử dụng là tuần tự hoặc riêng rẽ, việc trì hoãn sử dụng thành phần thứ hai không như làm mất tác dụng có lợi.

Mặc dù hợp chất có công thức (I) chủ yếu có giá trị làm chất trị liệu để sử dụng ở động vật máu nóng (bao gồm con người), chúng cũng hữu dụng bất cứ khi nào cần ức chế ERK. Do đó, chúng hữu dụng làm tiêu chuẩn được để sử dụng trong phát triển thử nghiệm sinh học mới và trong việc tìm kiếm tác nhân được mới.

Chăm sóc sức khỏe cá nhân hóa

Theo một khía cạnh khác, sáng chế dựa trên việc xác định mối liên hệ giữa tình trạng của gen mã hóa cho KRAS và tính nhạy cảm với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I). Do đó điều này mang lại cơ hội, phương pháp và công cụ để chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I), cụ thể là bệnh nhân ung thư, và/hoặc

tránh điều trị cho bệnh nhân ít có khả năng đáp ứng trị liệu với điều trị do đó tránh việc điều trị không cần thiết và tác dụng phụ bất kỳ có thể được kết hợp với việc điều trị không hiệu quả này.

Sáng chế đề cập đến công cụ và phương pháp chọn lọc bệnh nhân (bao gồm y học cá nhân hóa). Việc lựa chọn này dựa trên việc liệu tế bào khối u cần điều trị có gen KRAS kiểu dại hoặc đột biến. Do đó tình trạng gen KRAS có thể được sử dụng làm chỉ thị sinh học của tính nhạy cảm với điều trị bằng chất ức chế ERK.

Có nhu cầu rõ ràng đối với các chỉ thị sinh học mà sẽ làm giàu đối với hoặc chọn lọc bệnh nhân mà khối u của họ sẽ đáp ứng với điều trị bằng chất ức chế ERK, như hợp chất có công thức (I). Chỉ thị sinh học chọn lọc bệnh nhân mà nhận diện bệnh nhân có khả năng nhất để đáp ứng với chất là lý tưởng trong điều trị bệnh ung thư, vì chúng làm giảm việc điều trị không cần thiết của bệnh nhân có khối u không đáp ứng đối với các tác dụng phụ tiềm tàng của chất này.

Chỉ thị sinh học có thể được mô tả dưới dạng “đặc điểm mà khách quang được đo và đánh giá dưới dạng chất chỉ thị của quy trình sinh học bình thường, quy trình gây bệnh, hoặc đáp ứng được lý với sự can thiệp trị liệu”. Chỉ thị sinh học là chất chỉ thị có thể nhận diện và đo được bất kỳ đi kèm theo tình trạng bệnh hoặc bệnh cụ thể trong đó có sự tương quan giữa sự có mặt hoặc hàm lượng của chỉ thị sinh học và một số khía cạnh của tình trạng bệnh hoặc bệnh (bao gồm sự có mặt, hàm lượng hoặc hàm lượng thay đổi, loại, giai đoạn, tính nhạy cảm đối với tình trạng bệnh hoặc bệnh, hoặc sự đáp ứng với thuốc được sử dụng để điều trị tình trạng bệnh hoặc bệnh). Sự tương quan có thể là định tính, định lượng, hoặc cả định tính và định lượng. Thông thường chỉ thị sinh học là hợp chất, mảnh hợp chất hoặc nhóm của hợp chất. Hợp chất này có thể là hợp chất bất kỳ tìm thấy trong hoặc sản xuất bởi sinh vật, bao gồm protein (và peptit), axit nucleic và hợp chất khác.

Chỉ thị sinh học có thể có khả năng dự đoán, và như vậy có thể được sử dụng để dự đoán hoặc phát hiện sự có mặt, hàm lượng, loại hoặc giai đoạn của tình trạng bệnh và bệnh cụ thể (bao gồm sự có mặt hoặc hàm lượng của vi sinh vật hoặc độc tố cụ thể), tính nhạy cảm (bao gồm tính nhạy cảm di truyền) đối với tình trạng bệnh và bệnh cụ thể, hoặc đáp ứng với việc điều trị cụ thể (bao gồm việc điều trị bằng thuốc). Người ta cho rằng chỉ thị sinh học sẽ có vai trò ngày càng quan trọng trong tương lai phát hiện và phát triển

thuốc, bằng cách cải thiện hiệu quả của chương trình nghiên cứu và phát triển. Chỉ thị sinh học có thể được sử dụng làm chất chẩn đoán, theo dõi sự tiến triển của bệnh, theo dõi việc điều trị và dự đoán kết quả lâm sàng. Ví dụ, các dự án nghiên cứu chỉ thị sinh học khác nhau cố gắng để nhận diện chỉ thị của bệnh ung thư cụ thể và của các bệnh tim mạch và miễn dịch đặc hiệu. Tin rằng sự phát triển của chỉ thị sinh học được kiểm chứng mới sẽ đều dẫn đến sự giảm đáng kể ở chi phí chăm sóc sức khỏe và phát triển thuốc và sự cải thiện đáng kể ở việc điều trị đối với nhiều loạn bệnh và tình trạng bệnh.

Để thiết kế tối ưu thử nghiệm lâm sàng và để có được thông tin tốt nhất từ các thử nghiệm này, chỉ thị sinh học có thể cần thiết. Chỉ thị có thể đo được ở mô khối u và mô thay thế. Lý tưởng là các chỉ thị này cũng sẽ tương quan với hiệu quả và do đó cuối cùng có thể được sử dụng để chọn lọc bệnh nhân.

Do đó, vấn đề kỹ thuật bên dưới khía cạnh này của sáng chế là việc xác định phương tiện để phân tầng bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I). Vấn đề kỹ thuật này được giải quyết bằng các phương án nêu trong yêu cầu bảo hộ và/hoặc phần mô tả của sáng chế.

Sáng chế đề xuất phương pháp xác định tính nhạy cảm của tế bào với hợp chất có công thức (I). Phương pháp này bao gồm bước xác định tình trạng của gen KRAS trong tế bào đó. Tế bào được nhận dạng là dương tính nhạy cảm với hợp chất có công thức (I) nếu tế bào này có gen KRAS đột biến. Do đó các bệnh nhân có gen KRAS đột biến được dự đoán là đặc biệt nhạy cảm với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I). Tế bào được xác định là nhạy cảm với hợp chất có công thức (I) nếu nó ức chế sự tăng lên của số lượng tế bào trong thử nghiệm sinh trưởng tế bào (thông qua sự ức chế của sự tăng sinh tế bào và/hoặc thông qua sự chết tế bào tăng lên). Phương pháp theo sáng chế hữu dụng để dự đoán mà tế bào có khả năng hơn để đáp ứng với hợp chất có công thức (I) bằng cách ức chế sinh trưởng.

Sáng chế cũng dựa trên, một phần, phương pháp có thể được sử dụng để xác định sự đáp ứng của bệnh nhân với hợp chất có công thức (I) bao gồm việc xác định có sử dụng hợp chất có công thức (I) hay không. Cụ thể là phương pháp theo sáng chế bao gồm việc xác định tình trạng gen của KRAS. Sự có mặt của gen KRAS đột biến chỉ ra rằng tế bào khối u có khả năng hơn để đáp ứng bằng cách ức chế sinh trưởng khi tiếp xúc với

hợp chất có công thức (I). Do đó tình trạng gen KRAS có thể được sử dụng để chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I).

Mẫu “đại diện của khối u” có thể là mẫu khối u thực sự được phân lập, hoặc có thể mẫu mà đã được xử lý thêm, ví dụ mẫu của axit nucleic được khuếch đại bằng PCR từ mẫu khối u.

Định nghĩa:

Trong phần chăm sóc sức khỏe cá nhân hóa này:

“Alen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ dạng cụ thể của locut di truyền, phân biệt với các dạng khác bởi trình tự nucleotit hoặc axit amin của nó.

“Phản ứng khuếch đại” là phản ứng axit nucleic mà dẫn đến sự khuếch đại đặc hiệu của axit nucleic đích để lại axit nucleic không phải đích. Phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) là phản ứng khuếch đại đã được biết rõ.

“Bệnh ung thư” được sử dụng trong bản mô tả này để chỉ sự sinh trưởng khối u phát sinh từ sự biến đổi tế bào thành kiểu hình khối u. Sự biến đổi tế bào này thường bao gồm đột biến di truyền.

“Gen” là đoạn ADN mà chứa tất cả thông tin để sinh tổng hợp có điều hòa sản phẩm ARN, bao gồm vùng khởi động, exon, intron, và các thành phần trình tự khác có thể nằm ở trong các vùng củng cố bên lên 5’ hoặc 3’ (không ở trong phần được phiên mã của gen) mà kiểm soát sự biểu hiện.

“Tình trạng gen” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc gen là kiểu dại hay không (tức là đột biến).

“Nhãn” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ chế phẩm có khả năng tạo ra tín hiệu có thể phát hiện được chỉ ra sự có mặt của polynucleotit đích trong mẫu thử nghiệm. Nhãn thích hợp bao gồm đồng vị phóng xạ, nhóm mang màu nucleotit, enzym, cơ chất, phân tử huỳnh quang, gốc phát quang hóa học, hạt từ tính, gốc phát quang sinh học, và dạng tương tự. Như vậy, nhãn là chế phẩm bất kỳ có thể phát hiện được bằng phương tiện quang phổ, quang hóa, hóa sinh, hóa miễn dịch, điện, quang hoặc hóa học.

“Biến dị không đồng nghĩa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ biến dị (biến đổi) ở trong hoặc gói lên trình tự mã hóa của gen mà dẫn đến sự sản xuất ra trình tự

polypeptit khác biệt (được thay đổi). Sự biến đổi này có thể ảnh hưởng hoặc không ảnh hưởng đến chức năng protein và bao gồm các biến thể sai nghĩa (dẫn đến sự thay thế của một axit amin bằng axit amin khác), biến thể vô nghĩa (dẫn đến polypeptit bị cắt cụt do sự tạo ra bộ ba kết thúc sớm) và biến thể cài xen/Làm khuyết.

“Biến dị đồng nghĩa” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ biến dị (biến đổi) trong trình tự mã hóa của gen mà không ảnh hưởng đến trình tự của polypeptit được mã hóa. Các biến đổi này có thể ảnh hưởng đến chức năng protein một cách gián tiếp (ví dụ bằng cách làm thay đổi sự biểu hiện của gen), nhưng, không có bằng chứng về điều ngược lại, thường được giả định là vô thưởng vô phạt.

“Axit nucleic” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ phân tử ADN và ARN sợi đơn hoặc sợi kép bao gồm axit nucleic tự nhiên tìm thấy trong tự nhiên và/hoặc được cải biến, axit nucleic nhân tạo có khung hoặc bazơ được cải biến, như đã biết trong lĩnh vực.

“Đoạn nối” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ trình tự oligonucleotit ADN sợi đơn có khả năng tác động như là điểm bắt đầu để tổng hợp sản phẩm kéo dài đoạn nối mà bổ sung với sợi axit nucleic cần sao chép. Chiều dài và trình tự của đoạn nối phải phù hợp sao cho chúng có thể làm nối cho sự tổng hợp của sản phẩm kéo dài. Đoạn nối điển hình có chiều dài chứa ít nhất là khoảng 7 nucleotit của trình tự về cơ bản bổ sung với trình tự đích, nhưng đoạn nối dài hơn một chút được ưu tiên. Thông thường đoạn nối chứa khoảng 15-26 nucleotit, nhưng đoạn nối dài hơn hoặc ngắn hơn cũng có thể được sử dụng.

“Vị trí đa hình” là vị trí ở trong locut mà ít nhất là hai trình tự thay thế được tìm thấy ở đó trong quần thể.

“Hiện tượng đa hình” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ sự biến đổi trình tự quan sát được ở đối tượng ở vị trí đa hình. Hiện tượng đa hình bao gồm sự thay thế, sự cài xen, sự làm khuyết và vi vệ tinh nucleotit và có thể, nhưng không cần thiết, dẫn đến sự khác biệt có thể phát hiện được ở sự biểu hiện gen hoặc chức năng protein. Khi không có bằng chứng về ảnh hưởng lên sự biểu hiện hoặc chức năng protein, hiện tượng đa hình phổ biến, bao gồm biến thể không đồng nghĩa, thường được coi là được bao gồm trong định nghĩa về trình tự gen kiểu đại. Danh mục hiện tượng đa hình ở người và chú thích đi kèm, bao gồm kiểm chứng, tần suất quan sát được, và sự kết hợp bệnh, được duy trì bởi NCBI (dbSNP: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>). Lưu ý rằng thuật ngữ “hiện

tượng đa hình” khi được sử dụng trong ngữ cảnh của trình tự gen không được nhầm lẫn với thuật ngữ “hiện tượng đa hình” khi được sử dụng trong ngữ cảnh của dạng trạng thái rắn của hợp chất, có bản chất kết tinh hoặc vô định hình của hợp chất. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu được nghĩa được dự định theo ngữ cảnh.

“Đoạn dò” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ oligonucleotit đặc hiệu trình tự sợi đơn có trình tự bổ sung chính xác với trình tự đích của alen cần được phát hiện.

“Đáp ứng” được xác định bằng phép đo được thực hiện theo Tiêu Chuẩn Đánh Giá Đáp Ứng Ở Khối U Rắn (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours - RECIST) bao gồm việc phân loại bệnh nhân vào hai nhóm chính: các bệnh nhân thể hiện đáp ứng một phần hoặc bệnh ổn định và bệnh nhân thể hiện dấu hiệu của bệnh tiến triển.

“Điều kiện lai hóa nghiêm ngặt” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ việc ủ qua đêm ở nhiệt độ 42°C trong dung dịch chứa 50% formamit, 5x SSC (750 mM NaCl, 75 mM trinati xitrat), 50 mM natri phosphat (độ pH 7,6), 5x dung dịch Denhardt, 10% dextran sulphat, và 20 pg/ml ADN tinh trùng cá hồi đã được cắt, được biến tính, sau đó rửa bộ lọc trong 0,1x SSC ở khoảng 65°C.

“Sự sống sót” bao hàm sự sống sót nói chung của bệnh nhân và sự sống sót không tiến triển.

“Sự sống sót nói chung” (OS) được định nghĩa là thời gian từ khi bắt đầu sử dụng thuốc đến khi tử vong do nguyên nhân bất kỳ. “Sự sống sót không tiến triển” (PFS) được định nghĩa là thời gian từ khi bắt đầu sử dụng thuốc đến khi xuất hiện lần đầu tiên bệnh tiến triển hoặc tử vong do nguyên nhân bất kỳ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp chọn lọc bệnh nhân ung thư thích hợp để điều trị bằng hợp chất có công thức (I), phương pháp này bao gồm bước:

(a) thử nghiệm bệnh nhân ung thư để xác định liệu gen KRAS trong khối u của bệnh nhân là kiểu dại hay đột biến; và chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I) dựa trên đó.

Theo một phương án, tình trạng của gen KRAS trong khối u của bệnh nhân được xác định từ mẫu sinh học thu được từ bệnh nhân đó. Theo một phương án mẫu sinh học là mẫu chứa tế bào khối u. Theo một phương án mẫu sinh học là mẫu chứa ADN khối u, như mẫu máu. Theo một khía cạnh của sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp chọn lọc

bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I), phương pháp này bao gồm bước thu lấy mẫu từ bệnh nhân chứa tế bào khối u hoặc axit nucleic từ tế bào khối u; việc xác định liệu gen KRAS trong tế bào khối u của bệnh nhân là kiểu đại hay đột biến; và chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I) dựa trên đó.

Phương pháp này có thể bao gồm hoặc không bao gồm bước phân lập mẫu bệnh nhân thực sự. Do đó, theo một khía cạnh của sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I), phương pháp bao gồm bước xác định liệu gen KRAS trong mẫu chứa tế bào khối u hoặc axit nucleic được phân lập từ trước từ bệnh nhân là kiểu đại hay đột biến; và chọn lọc bệnh nhân để điều trị bằng hợp chất có công thức (I) dựa trên đó.

Theo một phương án, bệnh nhân được chọn để điều trị bằng hợp chất có công thức (I) nếu tế bào khối u có đột biến gen KRAS.

Theo theo một khía cạnh khác, sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp dự đoán sự đáp ứng của bệnh nhân với hợp chất có công thức (I), phương pháp này bao gồm bước xác định liệu gen KRAS trong tế bào khối u của bệnh nhân là kiểu đại hay đột biến và dựa trên đó, dự đoán sự đáp ứng của bệnh nhân với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I).

Theo theo một khía cạnh khác, sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp xác định khả năng xảy ra của hiệu quả của việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I) ở người bệnh bị ảnh hưởng bởi bệnh ung thư bao gồm bước: xác định liệu (các) gen KRAS trong tế bào khối u của bệnh nhân là kiểu đại hay đột biến và dựa trên đó, dự đoán sự đáp ứng của bệnh nhân với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I).

Để đạt được mục đích của sáng chế, tình trạng gen kiểu đại có nghĩa là sử dụng để chỉ ra sự biểu hiện bình thường hoặc phù hợp của gen và chức năng bình thường của protein được mã hóa. Ngược lại, tình trạng đột biến có nghĩa là sử dụng để chỉ ra sự biểu hiện gen bất thường hoặc không phù hợp, hoặc sự biểu hiện của protein với chức năng thay đổi, thống nhất với vai trò đã biết của đột biến KRAS ở bệnh ung thư (như được mô tả trong bản mô tả này). Số lượng bất kỳ của các thay đổi di truyền hoặc biểu sinh, bao gồm nhưng không giới hạn ở đột biến, khuếch đại, làm khuyết, tái sắp xếp hệ gen, hoặc sự thay đổi ở biên dạng metyl hóa, có thể dẫn đến tình trạng đột biến. Tuy nhiên, nếu sự thay đổi này tuy vậy dẫn đến sự biểu hiện phù hợp của protein bình thường, hoặc biến thể

có chức năng tương đương, thì tình trạng gen được coi là kiểu đại. Ví dụ về các biến thể mà thường không dẫn đến tình trạng gen đột biến chức năng bao gồm biến thể mã hóa đồng nghĩa và hiện tượng đa hình phổ biến (đồng nghĩa hoặc không đồng nghĩa). Như thảo luận dưới đây, tình trạng gen có thể được đánh giá bằng thử nghiệm chức năng, hoặc nó có thể được suy ra từ bản chất của sự sai lệch được phát hiện từ trình tự tham chiếu.

Theo phương án nhất định tình trạng kiểu đại hoặc đột biến của gen KRAS được xác định bằng sự có mặt hoặc vắng mặt của sự biến đổi axit nucleic không đồng nghĩa trong gen. Sự biến đổi không đồng nghĩa quan sát được tương ứng với hiện tượng đa hình phổ biến đã biết không có tác dụng chức năng được chỉ ra không góp phần vào tình trạng gen của đột biến.

Chi tiết về mã số truy cập ngân hàng Gen KRAS: KRAS NM_004985

Rõ ràng là mỗi trình tự gen và mRNA được bộc lộ đối với trình tự KRAS và protein KRAS là trình tự đại diện. Ở các đối tượng bình thường có hai bản sao của mỗi gen, bản sao của bố và của mẹ, mà dường như có một số sự khác biệt trình tự, hơn nữa ở trong quần thể sẽ có tồn tại một số biến thể alen của trình tự gen này. Các trình tự khác được coi như là kiểu đại bao gồm các trình tự có một hoặc nhiều sự thay đổi đồng nghĩa đối với trình tự axit nucleic (mà sự thay đổi này không làm thay đổi trình tự protein được mã hóa), hiện tượng đa hình phổ biến không đồng nghĩa (ví dụ hiện tượng đa hình dòng mầm) mà làm thay đổi trình tự protein nhưng không ảnh hưởng đến chức năng protein, và sự thay đổi trình tự ở vị trí không ghép nối intron.

Theo theo một khía cạnh khác, sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp xác định khả năng xảy ra của hiệu quả của việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I) ở người bệnh bị ảnh hưởng bởi bệnh ung thư bao gồm bước: phát hiện sự có mặt hoặc vắng mặt của ít nhất là một biến đổi axit nucleic không đồng nghĩa trong gen KRAS của bệnh nhân này tương đối so với gen kiểu đại, trong đó sự có mặt của ít nhất là một biến đổi axit nucleic không đồng nghĩa sinh dưỡng trong gen KRAS chỉ ra rằng việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I) dường như là có hiệu quả.

Theo theo một khía cạnh khác, sáng chế sáng chế đề xuất phương pháp đánh giá tính nhạy cảm của đối tượng đối với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I), phương pháp này bao gồm bước:

(i)xác định tình trạng đột biến không đồng nghĩa của gen KRAS ở axit nucleic tế bào khối u từ đối tượng; và,

(ii)xác định tính nhạy cảm có thể có của đối tượng đối với việc điều trị bằng hợp chất có công thức (I) bằng cách tham chiếu đến tình trạng đột biến không đồng nghĩa của gen KRAS trong tế bào khối u.

Có nhiều kỹ thuật có sẵn đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để xác định tình trạng gen của KRAS. Tình trạng gen có thể được xác định bằng cách xác định trình tự axit nucleic. Điều này có thể là thông qua việc xác định trình tự trực tiếp của gen chiều dài đầy đủ hoặc phân tích các vị trí đặc hiệu ở trong gen, ví dụ các vị trí đột biến thông thường.

Phương thức thay thế để xác định gen KRAS là kiểu đại hay đột biến là đánh giá chức năng của gen được phiên mã. Đột biến chức năng của gen KRAS này sản xuất protein có khả năng thủy phân GTP suy giảm. Đột biến KRAS vẫn còn ở tình trạng liên kết GTP, hoạt tính, dẫn đến sự kích thích cơ bản và mất điều hòa của việc truyền tín hiệu xuôi chiều của quá trình trong tế bào, bao gồm nhưng không giới hạn ở sự hoạt hóa của các quá trình Raf, PI3K và Ral.

Thử nghiệm đánh giá tình trạng chức năng của biến thể KRAS khi được biểu hiện trong tế bào bao gồm nhưng không giới hạn ở:

- (i) liên kết với miền liên kết Ras (RBD) của Raf1 tăng lên
- (ii) hàm lượng của ERK1/2, MEK1/2, hoặc Akt được phosphoryl hóa tăng lên;
- (iii) sự tập trung và sự tạo thành khuẩn lạc của tế bào NIH-3T3 được chuyển nạp với biến thể của KRAS tăng lên

Mẫu

Mẫu của bệnh nhân cần được thử nghiệm về tình trạng gen có thể là mẫu mô khối u, chứa tế bào khối u hoặc chứa axit nucleic khối u bất kỳ thu được hoặc có thể thu được từ đối tượng. Mẫu thử nghiệm thuận lợi là mẫu máu, mẫu gạc miệng, mẫu sinh thiết, hoặc mẫu dịch hoặc mô cơ thể khác thu được từ đối tượng. Các ví dụ cụ thể bao gồm: tế bào khối u tuần hoàn, ADN tuần hoàn trong huyết tương hoặc huyết thanh, tế bào được phân lập từ dịch báng của bệnh nhân ung thư buồng trứng, đờm phổi đối với bệnh nhân

có khối u ở trong phổi, kim nhỏ hút ra từ bệnh nhân ung thư vú, nước tiểu, máu ngoại vi, nạo tế bào, nang lông, miếng đột da hoặc mẫu má.

Hiểu rõ rằng mẫu thử nghiệm có thể đều là trình tự axit nucleic tương ứng với trình tự trong mẫu thử nghiệm, có thể nói rằng tất cả hoặc một phần của vùng trong axit nucleic mẫu có thể trước hết được khuếch đại bằng cách sử dụng kỹ thuật thuận tiện bất kỳ ví dụ phản ứng chuỗi polymeraza (PCR), trước khi phân tích. Axit nucleic có thể là ADN hệ gen hoặc ARN tế bào được phân đoạn hoặc toàn bộ ARN tế bào. Theo các phương án cụ thể ARN là toàn bộ ARN tế bào và được sử dụng trực tiếp làm khuôn để gắn nhãn cADN sợi thứ nhất bằng cách sử dụng đoạn môi ngẫu nhiên hoặc đoạn môi poly A. Axit nucleic hoặc protein trong mẫu thử nghiệm có thể được chiết từ mẫu theo phương pháp tiêu chuẩn (xem tài liệu Green & Sambrook, Eds., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4th edition, Vol. 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.).

Phương pháp chẩn đoán theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách sử dụng mẫu được lấy từ trước từ đối tượng hoặc bệnh nhân. Các mẫu này có thể được bảo quản bằng cách làm đông lạnh hoặc được cố định và được nhúng trong formalin-parafin hoặc môi trường khác. Theo cách khác, mẫu mới chứa tế bào khối u có thể được thu lấy và được sử dụng.

Phương pháp theo sáng chế có thể được áp dụng bằng cách sử dụng tế bào từ khối u bất kỳ. Khối u thích hợp để điều trị bằng hợp chất có công thức (I) đã được mô tả ở trên.

Phương pháp phát hiện axit nucleic

Việc phát hiện axit nucleic KRAS đột biến có thể được sử dụng, trong ngữ cảnh theo sáng chế, để dự đoán đáp ứng với việc điều trị bằng thuốc. Vì đột biến trong các gen này xảy ra ở cấp độ ADN, phương pháp theo sáng chế có thể dựa trên sự phát hiện của đột biến hoặc sự biến đổi ở ADN hệ gen, cũng như là bản thân bản phiên mã và protein. Điều mong muốn là xác nhận đột biến trong ADN hệ gen bằng cách phân tích bản phiên mã và/hoặc polypeptit, để đảm bảo rằng đột biến được phát hiện quả thật được biểu hiện ở đối tượng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rõ rằng có số lượng lớn các quy trình phân tích có thể được sử dụng để phát hiện sự có mặt hoặc vắng mặt của

nucleotit biến đổi ở một hoặc nhiều vị trí trong gen. Nhìn chung, việc phát hiện biến đổi alen cần kỹ thuật phân biệt đột biến, tùy ý phản ứng khuếch đại (như phản ứng khuếch đại dựa trên phản ứng chuỗi polymeraza) và tùy ý hệ thống tạo tín hiệu. Có vô số kỹ thuật phát hiện đột biến có sẵn trong lĩnh vực và các kỹ thuật này có thể được sử dụng kết hợp với hệ thống tạo tín hiệu, có nhiều hệ thống này có sẵn trong lĩnh vực. Nhiều phương pháp phát hiện biến đổi alen đã được bàn luận bởi Nollau et al., Clin. Chem., 1997, 43, 1114-1120; Anderson SM. Expert Rev Mol Diagn., 2011, 11, 635-642; Meyerson M. et al., Nat Rev Genet., 2010, 11, 685-696; và trong các sách giáo khoa tiêu chuẩn, ví dụ như “Laboratory Protocols for Mutation Detection”, Ed. by U. Landegren, Oxford University Press, 1996 và “PCR”, 2nd Edition by Newton & Graham, BIOS Scientific Publishers Limited, 1997.

Như lưu ý ở trên, việc xác định sự có mặt hoặc vắng mặt của sự biến đổi cụ thể hoặc nhiều sự biến đổi trong gen KRAS ở bệnh nhân mắc ung thư có thể được thực hiện theo nhiều cách. Các thử nghiệm này thường được thực hiện bằng cách sử dụng ADN hoặc ARN thu gom từ mẫu sinh học, ví dụ, mảnh sinh thiết mô, nước tiểu, phân, đờm, máu, tế bào, nạo mô, chọc hút vú hoặc các nguyên liệu tế bào khác, và có thể được thực hiện bằng nhiều phương pháp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, PCR, lai hóa với đoạn dò đặc hiệu alen, phát hiện đột biến enzym, phân cắt hóa học chỗ bắt cặp nhầm, đo khối phổ hoặc xác định trình tự ADN, bao gồm xác định trình tự nhỏ.

Kỹ thuật phát hiện đột biến thích hợp bao gồm các kỹ thuật hệ thống gây đột biến chịu nhiệt khuếch đại (ARMSTM), sự kéo dài tuyến tính hệ thống gây đột biến chịu nhiệt khuếch đại (ALEXTM), hệ thống môi oligonucleotit cạnh tranh (COPS), Taqman, Beacons Phân tử, hiện tượng đa hình chiều dài mảnh giới hạn (RFLP), và PCR dựa trên vị trí giới hạn và chuyển giao năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (FRET).

Theo các phương án cụ thể phương pháp sử dụng để xác định (các) nucleotit ở trong chỉ thị sinh học gen được chọn từ: sự khuếch đại đặc hiệu alen (PCR đặc hiệu alen) - như hệ thống gây đột biến chịu nhiệt khuếch đại (ARMS), xác định trình tự, thử nghiệm phân biệt alen, lai hóa, hiện tượng đa hình chiều dài mảnh giới hạn (RFLP) hoặc thử nghiệm nối oligonucleotit (OLA).

Tạo ra axit nucleic để phân tích từ mẫu thường cần khuếch đại axit nucleic. Nhiều phương pháp khuếch đại dựa trên phản ứng chuỗi enzym (như phản ứng chuỗi

polymeraza, phản ứng chuỗi ligaza, hoặc sao chép trình tự tự duy trì) hoặc từ sự sao chép của tất cả hoặc một phần của vật truyền mà nó đã được tách dòng vào. Tốt hơn là, khuếch đại theo sáng chế là khuếch đại theo hàm mũ, như được thể hiện ví dụ bằng phản ứng chuỗi polymeraza.

Nhiều phương pháp khuếch đại đích và tín hiệu đã được mô tả trong tài liệu, ví dụ, tổng quan về các phương pháp này trong Landegren, U., et al., *Science*, 1988 242, 229-237 và Lewis, R., *Genetic Engineering News* 1990, 10, 54-55. Các phương pháp khuếch đại này có thể được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế, và bao gồm phản ứng chuỗi polymeraza (PCR), PCR in situ, phản ứng khuếch đại ligaza (LAR), lai hóa ligaza, Q β replicaza thể thực khuẩn, hệ thống khuếch đại dựa trên sự phiên mã (TAS), khuếch đại hệ gen với xác định trình tự bản phiên mã (GAWTS), khuếch đại dựa trên trình tự axit nucleic (NASBA) và lai hóa in situ. Đoạn môi thích hợp để sử dụng trong các kỹ thuật khuếch đại khác nhau có thể được điều chế theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực.

Phản ứng chuỗi polymeraza (PCR) PCR là phương pháp khuếch đại axit nucleic được mô tả không kể những thứ khác trong Bằng Sáng Chế Mỹ số 4,683,195 và 4,683,202. PCR bao gồm các chu kỳ lặp lại của phản ứng kéo dài đoạn môi được tạo ra bằng ADN polymeraza. ADN đích được làm biến tính nhiệt và hai oligonucleotit, mà bao quanh trình tự đích trên các sợi đối ngược của ADN cần được khuếch đại, được lai hóa. Các oligonucleotit này trở thành đoạn môi để sử dụng với ADN polymeraza. ADN này được sao chép bằng cách kéo dài đoạn môi để tạo ra bản sao thứ hai của cả hai sợi. Bằng cách lặp lại chu kỳ biến tính nhiệt, lai hóa và kéo dài đoạn môi, ADN đích có thể được khuếch đại hàng triệu lần hoặc nhiều hơn trong khoảng từ hai đến bốn giờ. PCR là công cụ sinh học phân tử, mà phải được sử dụng kết hợp với kỹ thuật phát hiện để xác định kết quả của sự khuếch đại. Ưu điểm của PCR là nó làm tăng tính nhạy cảm bằng cách khuếch đại lượng ADN đích lên từ 1 triệu đến 1 tỉ lần trong xấp xỉ 4 giờ. PCR có thể được sử dụng để khuếch đại axit nucleic đã biết bất kỳ trong trường hợp chẩn đoán (Mok et al., *Gynaecologic Oncology*, 1994, 52: 247-252,).

Kỹ thuật khuếch đại đặc hiệu alen như Hệ thống Gây đột biến Chịu nhiệt Khuếch đại (ARMSTTM) (Newton et al., *Nucleic Acids Res.*, 1989, 17, 2503-2516) cũng có thể được sử dụng để phát hiện đột biến bazơ đơn lẻ. Trong điều kiện khuếch đại PCR thích

hợp sự bắt cặp nhằm bazơ đơn lẻ nằm ở đầu 3' của đoạn môi là đủ để khuếch đại ưu tiên alen được bắt cặp hoàn hảo (Newton et al., 1989, *supra*), cho phép phân biệt các loài có quan hệ gần gũi. Cơ sở của hệ thống khuếch đại bằng cách sử dụng đoạn môi được mô tả ở trên là oligonucleotit với gốc 3' bắt cặp nhằm sẽ không đóng vai trò làm đoạn môi trong PCR trong điều kiện thích hợp. Hệ thống khuếch đại này cho phép tạo kiểu gen chỉ bằng cách kiểm tra hỗn hợp phản ứng sau khi điện di trên gel agarosa.

Phân tích sản phẩm khuếch đại có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ có khả năng tách sản phẩm khuếch đại theo kích thước của chúng, bao gồm sắc ký trên gel tự động và bằng tay, đo khối phổ, và phương pháp tương tự.

Phương pháp phân lập, khuếch đại và phân tích axit nucleic là quen thuộc đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và ví dụ về các quy trình này có thể tìm thấy trong, ví dụ, Green & Sambrook, Eds., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (2012, 4th edition, Vol. 1-3, ISBN 9781936113422), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) Nguồn quy trình đặc biệt hữu dụng cho phương pháp được sử dụng trong khuếch đại PCR là PCR (Basics: From Background to Bench) by M. J. McPherson, S. G. Mailer, R. Beynon, C. Howe, Springer Verlag; 1st edition (October 15, 2000), ISBN: 0387916008.

Sáng chế cũng mô tả sử dụng hợp chất có công thức (I) để điều trị bệnh nhân ung thư mà tế bào khối u của họ đã được nhận dạng là có đột biến gen KRAS.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) để điều trị bệnh ung thư với tế bào khối u được nhận dạng là chứa đột biến gen KRAS.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong phòng ngừa và điều trị bệnh ung thư với tế bào khối u được nhận dạng là chứa đột biến gen KRAS.

Đối với tất cả các khía cạnh ở trên, dạng đột biến của KRAS được xác định/được nhận dạng là ở tất cả các vị trí trong toàn bộ gen.

Theo khía cạnh khác, hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư đột biến BRAF. Thông tin nêu ở trên ở trong phần Chăm sóc sức khỏe cá nhân hóa này về bệnh ung thư đột biến KRAS có thể được áp dụng tương tự cho bệnh ung thư

kháng BRAF, khác với chi tiết Mã số truy cập Ngân hàng Gen. Chi tiết về mã số truy cập ngân hàng gen BRAF: BRAF NM_004333.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được minh họa trong các Ví dụ dưới đây trong đó, nhìn chung:

(i) các hoạt động được thực hiện ở nhiệt độ môi trường xung quanh, *tức là* trong khoảng từ 17 đến 25°C và dưới khí quyển của khí trơ như nitơ trừ khi có chỉ dẫn khác;

(ii) sự bay hơi được thực hiện bằng sự bay hơi quay hoặc sử dụng thiết bị Genevac hoặc thiết bị làm bay hơi Biotage v10 *trong chân không* và các quy trình phụ được thực hiện sau khi loại bỏ chất rắn còn lại bằng cách lọc;

(iii) tinh chế bằng sắc ký nhanh được thực hiện trên Teledyne Isco CombiFlash® Rf tự động hoặc Teledyne Isco CombiFlash® Companion® bằng cách sử dụng Cột Silic Oxit RediSep Rf Gold™ Silica đóng gói (20-40 µm, hạt hình cầu), GraceResolv™ Cartridges (silic oxit Davisil®) hoặc hộp chứa Silicycle (40 - 63 µm).

(iv) sắc ký điều chế được thực hiện trên thiết bị Gilson prep HPLC với tập hợp UV;

(v) sắc ký điều chế phân tách đồng phân quang học được thực hiện trên thiết bị Gilson với tập hợp UV (233 bộ phun/ bộ tập hợp phân đoạn, 333 & 334 bơm, 155 bộ phát hiện UV), hoặc hệ thống Interchim PuriFlash 4250-250 hoặc hệ thống Novasep LC50 với bộ phát hiện UV Knauer K2501;

(vi) hiệu suất, khi có mặt, không cần phải có thể đạt được lớn nhất;

(vii) nhìn chung, cấu trúc của hợp chất cuối cùng có công thức (I) được xác nhận bằng quang phổ cộng hưởng từ nhân (NMR); giá trị dịch chuyển hóa học NMR được đo trên thang delta [phổ cộng hưởng từ proton được xác định bằng cách sử dụng thiết bị Bruker Avance 500 (500 MHz) hoặc Bruker Avance 400 (400 MHz)]; các phép đo được thực hiện ở nhiệt độ môi trường xung quanh trừ khi có chỉ dẫn khác; các chữ viết tắt sau đây được sử dụng: s, một vạch; d, hai vạch; t, ba vạch; q, bốn vạch; m, nhiều vạch; dd, hai vạch của hai vạch; ddd, hai vạch của hai vạch của hai vạch; dt, hai vạch của ba vạch; bs, tín hiệu rộng; trong đó “DMSO” được đề cập đến dưới dạng dung môi sử dụng trong NMR nó được hiểu là d6-DMSO;

(viii) nhìn chung, hợp chất cuối cùng có công thức (I) còn được xác định đặc điểm bằng khối phổ sau khi sắc ký lỏng (LCMS hoặc UPLC); UPLC được thực hiện bằng cách sử dụng Waters UPLC lắp với khối phổ kế Waters SQ (Nhiệt độ cột 40, UV = 220-300 nm, Khối phổ = ESI với sự chuyển mạch dương/âm) ở tốc độ dòng bằng 1 ml/phút bằng cách sử dụng hệ dung môi của 97% A + 3% B đến 3% A với 97% B trong 1,50 phút (tổng thời gian chạy với sự làm cân bằng trở lại điều kiện ban đầu v.v. là 1,70 phút), trong đó A = axit formic 0,1% trong nước (đối với hoạt động axit) hoặc amoniac 0,1% trong nước (đối với hoạt động bazơ) B = axetonitril. Để phân tích axit cột được sử dụng là Waters Acquity HSS T3 1,8 μ m 2,1 x50mM, để phân tích bazơ cột được sử dụng là Waters Acquity BEH 1,7 μ m 2,1x50mm; LCMS được thực hiện bằng cách sử dụng Waters Alliance HT (2795) được lắp với khối phổ kế Waters ZQ ESCi và cột Phenomenex Gemini -NX (50x2,1mm 5 μ m) ở tốc độ dòng bằng 1,1 ml/phút 95%A đến 95%B trong 4 phút có giữ 0,5 phút. Bộ hiệu chỉnh được giữ ở hằng số 5% C (axetonitril:nước 50:50 axit formic 0,1%) hoặc D (axetonitril:nước 50:50 amoni hydroxit 0,1% (0,88 SG) tùy thuộc vào việc phương pháp này là phương pháp axit hay bazơ.

(ix) tinh chế trao đổi ion thường được thực hiện bằng cách sử dụng hộp chứa SCX-2 (Biotage, Silic oxit chức năng hóa axit propylsulfonic. Được sản xuất bằng cách sử dụng silan ba chức. Không có đầu được đẩy mũ).

(x) độ tinh khiết hợp chất trung gian được đánh giá bằng sắc ký lớp mỏng, khối phổ, HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao) và/hoặc phân tích NMR.

(xi) Nhiễu xạ bột tia X được thực hiện bằng cách sử dụng Bruker D4. Biểu đồ nhiễu xạ bột tia X được xác định bằng cách đặt mẫu của nguyên liệu kết tinh lên trên bề mặt tinh thể silic đơn (single silicon crystal - SSC) Bruker và trải mẫu ra thành lớp mỏng với sự hỗ trợ của lam kính kính hiển vi. Quay mẫu ở tốc độ 30 vòng quay trên/phút (để cải thiện việc đếm các số liệu thống kê) và được chiếu xạ bằng tia X được tạo ra bởi ống tu tiêu dài bằng đồng hoạt động ở 40kV và 40mA với chiều dài bước sóng bằng 1,5418 ăngstrom. Nguồn tia X chuẩn trực được cho đi qua khe phân kỳ khả biến tự động đặt ở V20 và tia bức xạ phản xạ trực tiếp qua khe chống phân tán 5,89 mm và khe dò phát hiện 9,55 mm. Đo mẫu trong hình phản xạ ở cấu hình θ - 2θ trong phạm vi quét từ 2° đến $40^\circ 2\theta$ với độ bậc lộ 0,12 giây danh nghĩa trong mỗi gia lượng $0,02^\circ$. Thiết bị được trang bị với bộ phát hiện cảm biến Positron (Lynxeye). Người có hiểu biết trung

bình trong lĩnh vực nhiễu xạ bột tia X sẽ hiểu rằng cường độ tương đối của các đỉnh có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ như, các hạt có kích thước trên 30 micromet và tỷ lệ các mặt không đồng nhất có thể ảnh hưởng đến sự phân tích mẫu. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cũng sẽ hiểu rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi chiều cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiễu xạ kế và sự định cỡ bằng không của nhiễu xạ kế. Tính phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ. Do đó dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện không được lấy dưới dạng giá trị tuyệt đối.

(xii) Đo nhiệt lượng quét vi sai (differential Scanning Calorimetry - DSC) được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị TA Q2000 DSC. Thông thường ít hơn 5 mg nguyên liệu được chứa trong bẻ bằng nhôm tiêu chuẩn được lắp với nắp được gia nhiệt trong khoảng nhiệt độ từ 25°C đến 300°C ở tốc độ gia nhiệt không đổi bằng 10°C/phút. Khí đẩy sử dụng nitơ được sử dụng - tốc độ dòng là 50mL/phút.

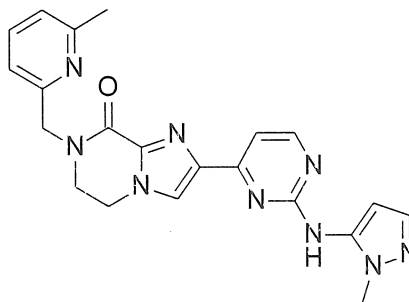
(xiii) các chữ viết tắt sau đây được sử dụng:

Chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2	clo[(4,5-bis(diphenylphosphino)-9,9-dimethylxanthen)-2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II)
18-mạch vòng-6	1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecan
aq.	dạng nước
atm	đơn vị áp suất khí quyển
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos	[2-(di-1-adamantylphosphino)-2',4',6'-triisopropyl-3,6-dimethoxybiphenyl][2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) metansulfonat
CDCl ₃	đeteri-cloroform
DAST	(diethylamino) lưu huỳnh triflorua
DCM	diclometan
DIEA	N,N-diisopropyletylamin
DIPEA	diisopropyletylamin
DMF	dimetylformamit
DMSO	dimetyl sulphoxit
DSC	phép đo nhiệt lượng quét vi sai
EtOH	etanol
EtOAc	etyl axetat
IPA	rượu <i>iso</i> -propylic
MeOH	metanol
MeTHF	<i>rac</i> -2-metyltetrahydrofuran
NBS	<i>N</i> -bromsucinimit
Pd ₂ dba ₃	tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi(0)
rt/RT	nhiệt độ phòng
sat.	bão hòa
SEM-Cl	2-(trimetylsilyl)etoxymetyl clorua
TEA	trietylamin
THF	tetrahydrofuran
Tos	tosyl

Chất tiền xúc tác thế hệ thứ 2 XPhos	Clo(2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II)
XRPD	Nhiều xạ bột tia X

Ví dụ 1

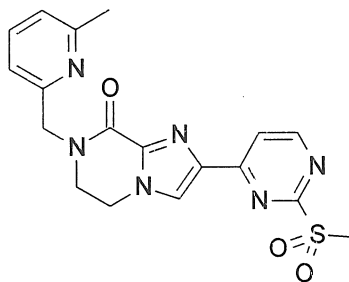
2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NaH (12,05mg, 0,50mmol) vào 7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-2-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 1; 100mg, 0,25mmol) và *N*-(1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)formamit (hợp chất trung gian 2; 94mg, 0,75mmol) trong THF (1,5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Bổ sung EtOH (2mL), và khuấy trong thời gian 10 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50mL) và chiết vào EtOAc (30 x 25mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 1; 40mg, 38%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹HNMR (300 Mhz, DMSO, 26°C) δ 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,84-3,88 (2H, m), 4,40-4,44 (2H, m), 4,76 (2H, s), 6,30 (1H, s), 7,14-7,18(2H, m), 7,32-7,35 (2H, m), 7,64-7,69 (1H, m), 7,93 (1H, s), 8,46 (1H, d), 9,38 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 416.

Hợp chất trung gian 1

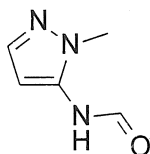
7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-2-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung từng phần kali persulfat (1,01g, 3,75mmol) vào 7-(((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-2-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 3; 275mg, 0,75mmol) trong MeOH (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Sau đó gia nhiệt phản ứng đến nhiệt độ 40°C và khuấy trong thời gian 6 giờ nữa. Sau đó pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (100mL), và rửa bằng nước (25 ml x 2). Làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradient rửa giải MeOH từ 0 đến 10% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 7-(((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-2-(2-(methylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 1; 210mg, 70%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹HNMR (300 Mhz, DMSO, 26°C) δ 2,50 (3H, s), 3,46 (3H, s), 3,85-3,95 (2H, m), 4,42-4,46 (2H, m), 4,86 (2H, s), 7,15-7,20 (2H, m), 7,64-7,69 (1H, m), 8,15 (1H, d), 8,40 (1H, s), 9,05 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 399.

Hợp chất trung gian 2

N-(1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)formamit

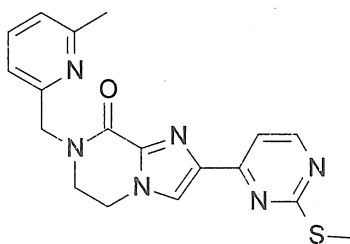


Bổ sung axit formic (3,1mL, 67,35mmol) vào axetic anhydrua (7,7mL, 75,42mmol) để tạo ra dung dịch không màu. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 45°C trong thời gian 45 phút. Sau đó làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C và bổ sung 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (2g, 20,59mmol). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 10 phút. Sau đó rót hỗn hợp phản ứng vào hỗn hợp của nước (50mL) và EtOAc (50mL) và điều chỉnh hỗn hợp phản ứng về độ pH 8 bằng K₂CO₃ bão hòa. Chiết

lớp nước bằng EtOAc (6 x 50mL) và rửa bằng nước (2 x 50mL). Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất mong muốn *N*-(1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)formamit (hợp chất trung gian 2; 1,21g, 47%) dưới dạng chất rắn màu trắng. $^1\text{H-NMR}$ (300 Mhz, CDCl_3 , 26°C) 3,80 (3H, s), 6,11 (1H, s), 7,44 (2H, s), 8,35 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 126$.

Hợp chất trung gian 3

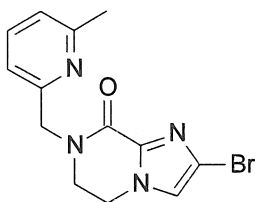
7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-2-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 4-tributylstannyl-2-thiomethylpyrimidin (2,66g, 6,41mmol) vào 2-brom-7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 4; 1,87g, 5,82mmol) và Pd-118 ([1,1'-Bis(di-*tert*-butylphosphino)feroxen]diclopaladi(II)) (0,204g, 0,29mmol) trong DMF (5mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 150°C trong bình phản ứng vi sóng trong thời gian 8 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit, pha loãng bằng EtOAc (200mL), và rửa tuần tự bằng nước (50 ml x 2). Làm khô các lớp hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký nhanh C18, gradien rửa giải từ 0 đến 50% MeCN trong nước. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-2-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 3; 0,28g, 13%) dưới dạng chất rắn màu xám. $^1\text{H-NMR}$ (400 Mhz, CDCl_3 , 22°C) δ 2,50 (3H, s), 2,63 (3H, s), 3,85-3,89 (2H, m), 4,39-4,43 (2H, m), 4,85 (2H, s), 7,15-7,19 (2H, m), 7,59-7,69 (2H, m), 8,23 (1H, s), 8,63 (1H, d). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 367$.

Hợp chất trung gian 4

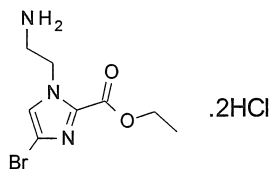
2-brom-7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung từng phần natri axetat (3,24g, 39,6mmol) vào etyl 1-(2-aminoethyl)-4-brom-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 5; 5,3g, 15,8mmol) và 6-metyl-2-pyridincarboxaldehyt (1,92g, 15,8mmol) trong MeOH (100mL) được làm lạnh xuống 0°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút. Bổ sung từng phần natri triaxetoxibohydrua (10,1g, 47,5mmol) ở nhiệt độ 0°C và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ phòng trong thời gian 12 giờ. Sau đó điều chỉnh hỗn hợp phản ứng về độ pH 7-8 bằng NaHCO₃ bão hòa và pha loãng bằng DCM (250mL). Sau đó rửa pha DCM tuần tự bằng nước (50 ml x 2). Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 9% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 2-brom-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 4; 2,5g, 49%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H-NMR (300 Mhz, DMSO, 27°C) δ 2,44 (3H, s), 3,80-3,84 (2H, m), 4,28-4,32 (2H, m), 4,73 (2H, s), 7,13-7,16 (2H, m), 7,63-7,68 (1H, m), 7,96 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 321.

Hợp chất trung gian 5

Etyl 1-(2-aminoethyl)-4-brom-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua

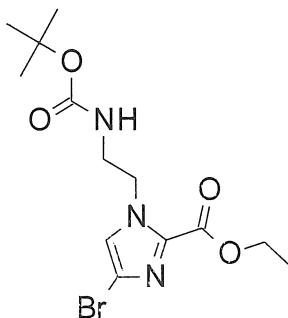


Bổ sung etyl 4-brom-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 6; 4,6g, 12,70mmol) vào HCl (dư) trong 1,4-dioxan (40mL) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và chuẩn độ chất rắn thu được bằng heptan và lọc để thu được etyl 1-(2-aminoethyl)-4-brom-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian

5; 5,30g, 140%) dưới dạng chất rắn màu trắng. $^1\text{H-NMR}$ (300 Mhz, DMSO, 25°C) δ 1,33 (3H, t), 3,03-3,16 (2H, m), 4,35 (2H, q), 4,63 (2H, t), 7,34 (1H, s).

Hợp chất trung gian 6

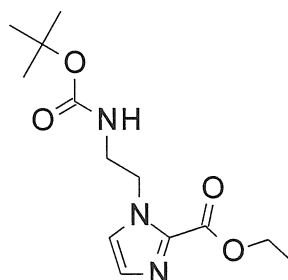
Etyl 4-brom-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung từng phần NBS (10,05g, 56,5mmol) vào etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 7; 16g, 56,5mmol) trong DCM (80mL) và DMF (80mL) ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 12 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng DCM (300mL), và rửa tuần tự bằng nước (100 ml x 2). Làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải EtOAc từ 0 đến 20% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được etyl 4-brom-1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 6; 4,60g, 22,49%) dưới dạng chất rắn màu trắng. $^1\text{H-NMR}$ (300 Mhz, DMSO, 27°C) δ 1,39-1,44 (12H, m), 3,47-3,53 (2H, m), 4,37-4,44 (2H, q), 4,53 (1H, s), 7,04 (1H, s). m/z (ES $^+$), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 7

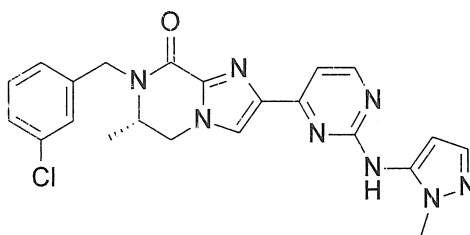
Etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



tert-butyl (2-brometyl)carbamate (17,59g, 78,49mmol) được bổ sung vào ethyl 1*H*-imidazol-2-carboxylat (10g, 71,36mmol) và K₂CO₃ (11,83g, 85,63mmol) trong DMF (200mL) trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 8 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (300mL), và rửa tuần tự bằng nước (50 ml x 2). Sau đó chiết lớp nước thêm bằng EtOAc (50 ml x 5). Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 100% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 7; 10,7g, 53%) dưới dạng chất lỏng không màu. ¹HNMR (400 Mhz, DMSO, 21°C) δ 1,20 (3H, t), 1,29 (9H, s), 3,26-3,34 (2H, m) 4,27 (2H, q), 4,32-4,40 (2H, m), 6,90 (1H, s), 7,06 (1H, s), 7,32 (1H, s).

Ví dụ 2

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

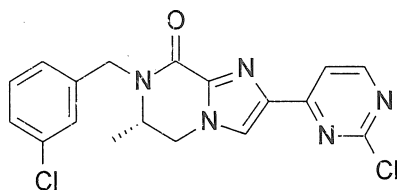


Tạo hỗn dịch (*S*)-7-(3-clobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 8; 216mg, 0,56mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (59,4mg, 0,61mmol), xesi carbonat (363mg, 1,11mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (25,2mg, 0,03mmol) trong *tert*-butanol (8mL) và khử khí bằng nitơ trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng đến 80°C trong thời gian 2 ngày trong điều kiện khí nitơ. Sau đó để phản ứng nguội xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng ethyl axetat (100mL) và rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và cô trong chân không để tạo ra chất rắn màu nâu (250 mg). Lấy chất rắn ra trong DMSO (5mL) và lọc. Sau đó tinh chế dung dịch DMSO của hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 30mm, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Loại bỏ dung môi từ các phân đoạn

chứa sản phẩm và hòa tan chất rắn trong hỗn hợp của DCM và metanol, sau đó hấp thụ lên trên gel silic oxit. Sau đó tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 15% MeOH trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 2; 43mg, 17,22%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,95 - 4,02 (1H, m), 4,28 - 4,45 (3H, m), 5,07 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,32 - 7,43 (5H, m), 7,46 (1H, s), 7,92 (1H, s), 8,48 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 449.

Hợp chất trung gian 8

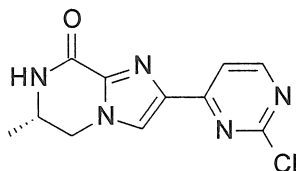
(*S*)-7-(3-clobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri hydrua (dịch phân tán 60%) (25,03mg, 0,63mmol) vào (*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 9; 150mg, 0,57mmol) trong DMF (12mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 3-clobenzyl clorua (101mg, 0,63mmol) sau đó là tetrabutylamoni iodua (42,0mg, 0,11mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NH₄Cl bão hòa trong nước (25mL) và chiết pha nước bằng EtOAc (75mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và cô trong chân không để tạo ra (*S*)-7-(3-clobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 8; 221mg, 100%) dưới dạng chất rắn màu nâu sáng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 21°C) 1,13 (3H, d), 4,00 (1H, td), 4,27 (1H, dd), 4,38 (1H, d), 4,46 (1H, dd), 5,07 (1H, d), 7,36 - 7,4 (2H, m), 7,41 (1H, dd), 7,47 (1H, s), 7,93 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,75 (1H, d). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 388.

Hợp chất trung gian 9

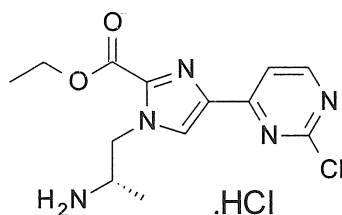
(*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy hỗn hợp của (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat. HCl (hợp chất trung gian 10; 2,16g, 6,24mmol) và amoniac 7N trong metanol (107mL, 748,7mmol) trong điều kiện khí nito ở nhiệt độ phòng trong thời gian 1 giờ. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tán nhỏ chất rắn thu được với dietylete và DCM để thu được chất rắn màu trắng nhạt. Tán nhỏ chất rắn thêm bằng nước và rửa bằng dietylete và sau đó hấp thụ lên trên silic oxit từ hỗn hợp DCM/metanol. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên gel silic oxit, rửa giải bằng 0-10% metanol trong DCM. Kết hợp các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi để thu được chất rắn màu trắng, tán nhỏ nó với dietylete để thu được (*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 9; 0,6g, 37%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 1,22 (3H, d), 3,93 - 4,08 (2H, m), 4,39 (1H, d), 7,89 (1H, d), 8,23 (1H, s), 8,36 (1H, s), 8,73 (1H, d). m/z : ES+ [M+H]⁺ 264.

Hợp chất trung gian 10

(*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat hydroclorua

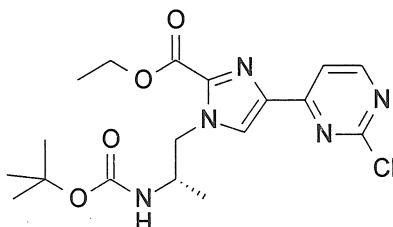


Bổ sung HCl (4N trong 1,4-dioxan, 39mL, 156,2mmol) vào dung dịch chứa (*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 11; 2,56g, 6,25mmol) trong 1,4-dioxan (50mL) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 2 giờ. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat. HCl (hợp chất trung gian 10; 2,16 g) dưới dạng gói mà được sử

dụng cho việc điều chế Hợp chất trung gian 9 mà không cần tinh chế thêm. m/z : ES+ [M+H]⁺ 310.

Hợp chất trung gian 11

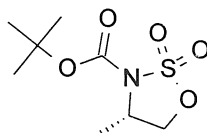
(*S*)-etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung K₂CO₃ (4,32g, 31,3mmol) vào (*S*)-*tert*-butyl 4-metyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 12; 2,23g, 9,38mmol), etyl 4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 14; 1,58g, 6,25mmol) và 1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecan (0,413g, 1,56mmol) trong 1,4-dioxan (50mL) ở nhiệt độ 22°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 3 giờ. Sự bay hơi của pha hữu cơ tạo ra gôm, mà được tạo hỗn dịch trong diclometan và được chiết bằng nước và được làm khô bằng cách cho đi qua hộp tách pha. Sự bay hơi tạo ra (*S*)-etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 11; 2,56g, 100%) dưới dạng chất rắn. m/z : ES+ [M+H]⁺ 410.

Hợp chất trung gian 12

(4*S*)-*tert*-butyl 4-metyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit

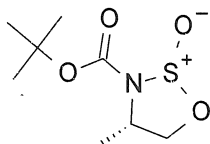


Bổ sung ruteni(III) clorua hydrat (0,062g, 0,28mmol) vào hỗn hợp có khuấy của *tert*-butyl (4*S*)-4-metyl-2-oxido-oxathiazolidin-2-ium-3-carboxylat (hợp chất trung gian 13; 87,36g, 394,80mmol) trong axetonitril (778mL) và nước (419mL) ở nhiệt độ 15 °C, sau đó là bổ sung từng phần natri periodat (93g, 434,29mmol). Khuấy hỗn hợp hai pha này ở nhiệt độ 20 °C trong thời gian 1 giờ. Bổ sung nước (600mL) và chiết hỗn hợp vào etyl axetat (3 x 600mL). Rửa các chất hữu cơ kết hợp bằng nước (500mL), nước muối

(250mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và cô trong chân không để tạo ra (*S*)-*tert*-butyl 4-metyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 12; 84,3g, 355mmol, 90%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 30°C) 1,51 (3H, d), 1,55 (9H, s), 4,19 (1H, dd), 4,37 - 4,46 (1H, m), 4,66 (1H, dd).

Hợp chất trung gian 13

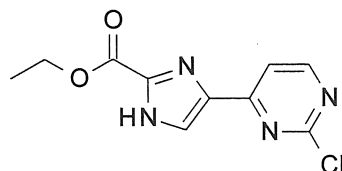
tert-butyl (4*S*)-4-metyl-2-oxido-oxathiazolidin-2-ium-3-carboxylat



Bổ sung thionyl clorua (32,6mL, 446,54mmol) từng giọt (tỏa nhiệt, giữ $T < -40^\circ\text{C}$) vào dung dịch chứa 1*H*-imidazol (106g, 1553,20mmol) và triethylamin (124mL, 893,09mmol) trong diclometan khan (1427mL) ở nhiệt độ -55°C . Khuấy hỗn hợp trong thời gian 5 phút trong khi làm lạnh xuống -60°C và bổ sung từng giọt dung dịch chứa (*S*)-*tert*-butyl 1-hydroxypropan-2-ylcarbammat (Sigma-Aldrich; 68,04g, 388,30mmol) trong diclometan khan (1427mL) trong thời gian 3,5 giờ thông qua phễu nhỏ giọt. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong khi làm ấm lên nhiệt độ phòng qua đêm. Bổ sung nước (750mL) và các pha tách riêng. Chiết pha nước thêm vào diclometan (500mL). Rửa các chất hữu cơ kết hợp bằng nước (250mL), nước muối bão hòa (250mL), làm khô trên MgSO_4 , lọc và cô trong chân không để tạo ra *tert*-butyl (4*S*)-4-metyl-2-oxido-oxathiazolidin-2-ium-3-carboxylat (hợp chất trung gian 13; 87,3g, 395mmol, 100%) dưới dạng dầu màu nhạt. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 30°C) 1,50 (3H, d), 4,29 (1H, d), 4,68 (1H, t), 4,77 (1H, dd).

Hợp chất trung gian 14

Etyl 4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

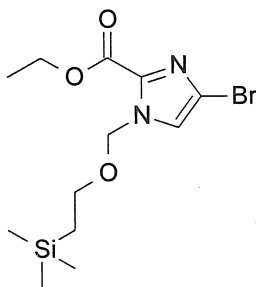


Bổ sung chất tiền xúc tác thế hệ thứ 2 XPhos (0,435g, 0,55mmol) vào dung dịch đã khử khí của etyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 15; 3,86g, 11,05mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-

dioxabolan) (4,21g, 16,58mmol) và KOAc (2,17g, 22,10mmol) trong đioxan (100mL) ở nhiệt độ môi trường trong điều kiện khí nitơ và gia nhiệt dung dịch thu được đến nhiệt độ 85°C trong thời gian 3 giờ. Để hỗn hợp phản ứng nguội xuống 50 °C và bổ sung xesi carbonat (7,20g, 22,10mmol), 2,4-diclopyrimidin (1,646g, 11,05mmol) và nước (20mL) sau đó là Pd(PPh₃)₄ (0,638g, 0,55mmol) và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 85 °C trong thời gian 2 giờ. Sau đó cho hỗn hợp phản ứng đi qua xelit và rửa bằng MeOH và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung nước và DCM và chiết lớp hữu cơ và làm khô bằng cách cho đi qua hộp tách pha. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được chất rắn màu nâu không tinh khiết etyl 4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (4,24g, 11,07mmol). Bổ sung axit 2,2,2-trifloaxetic (8,48mL, 110,73mmol) vào etyl 4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (4,24g, 11,07mmol) trong DCM (100mL) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 2 giờ và sau đó để yên ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, hòa tan chất rắn thu được trong DCM và nước và lọc qua lớp xelit. Lớp nước được tách ra và được bazơ hóa bằng natri bicarbonat bão hòa và chiết vào DCM, sau đó được làm khô bằng cách cho đi qua hộp tách pha và loại bỏ dung môi để thu được chất rắn. Cho lớp hữu cơ đi qua hộp tách pha, kết hợp với chất rắn và hấp thụ sơ bộ lên trên silic oxit và đưa đi sắc ký silic oxit rửa giải bằng 0-100% dietylete trong DCM. Kết hợp các phân đoạn tinh khiết và làm bay hơi để thu được etyl 4-(2-clopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 14; 1,58g, 57%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 1,35 (3H, t), 4,38 (2H, q), 7,93 (1H, d), 8,19 (1H, s), 8,73 (1H, d), 13,95 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 253.

Hợp chất trung gian 15

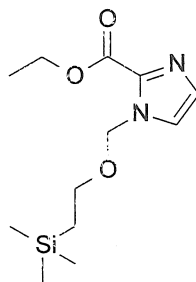
Etyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung NBS (26,3g, 147,93mmol) vào ethyl 1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 16; 40g, 147,93mmol) trong DMF (150mL) trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 20 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (200mL), chiết bằng EtOAc (2 x 300mL), rửa các lớp hữu cơ bằng nước muối và làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được ethyl 4-brom-1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 15; 21g, 41%) dưới dạng dầu không màu mà hóa rắn khi để yên. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 25°C) δ 0,02 (9H, s), 0,92 - 1,01 (2H, m), 1,45 (3H, t), 3,56 - 3,65 (2H, m), 4,45 (2H, q), 5,79 (2H, s), 7,28 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 349/351.

Hợp chất trung gian 16

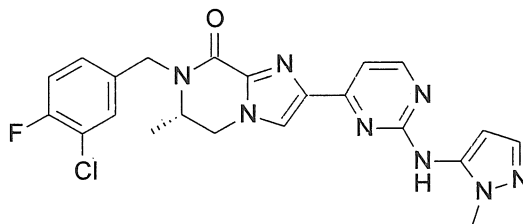
Ethyl 1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung SEM-Cl (18,98mL, 107,04mmol) vào ethyl 1*H*-imidazol-2-carboxylat (10g, 71,36mmol) và NaH (4,28g, 107mmol) trong DMF (50mL) ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50mL), chiết bằng EtOAc (2 x 100mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 30 đến 70% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được ethyl 1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 16; 20g, 100%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) δ 0,00 (9H, s), 0,03 - 0,08 (2H, m), 1,37 (3H, t), 3,53 - 3,62 (2H, m), 4,37 (2H, q), 5,76 (2H, s), 7,18 (1H, d), 7,68 (1H, d). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 271.

Ví dụ 3

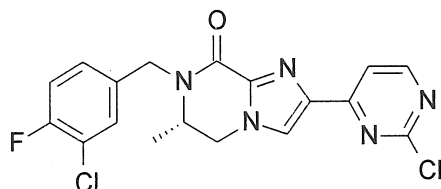
(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Tạo hỗn dịch (*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 17; 226mg, 0,56mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (59,4mg, 0,61mmol), xesi carbonat (363mg, 1,11mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (25,2mg, 0,03mmol) trong *tert*-butanol (8mL) và khử khí bằng nitơ trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 2 ngày trong điều kiện khí nitơ. Sau đó làm nguội phản ứng xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng etyl axetat (100mL) và rửa pha hữu cơ bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô trong chân không để tạo ra gôm màu nâu. Lấy gôm này ra trong DMSO (5mL) và lọc. Sau đó tinh chế dung dịch DMSO của hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được nguyên liệu thô. Hòa tan nó trong lượng tối thiểu của DCM, và hấp thụ lên trên gel silic oxit bằng cách cô trong điều kiện áp suất giảm. Sau đó tinh chế hợp chất thô thêm bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 15% MeOH trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 3; 40mg, 15%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) δ 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,96 - 4,03 (1H, m), 4,26 - 4,39 (2H, m), 4,41 (1H, dd), 5,04 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,35 (2H, dd), 7,39 - 7,44 (2H, m), 7,55 - 7,69 (1H, m), 7,92 (1H, s), 8,48 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 467.

Hợp chất trung gian 17

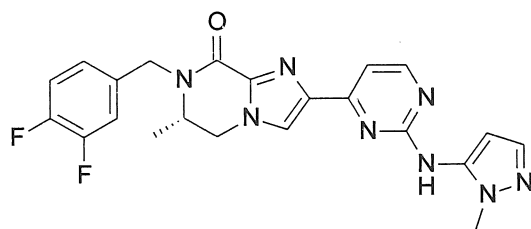
(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri hydrua (dịch phân tán 60%, 25mg, 0,63mmol) vào (S)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 9; 150mg, 0,57mmol) trong DMF (12mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 2-clo-4-(clometyl)-1-flobenzen (112mg, 0,63mmol) sau đó là tetrabutylamoni iodua (42,0mg, 0,11mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NH₄Cl bão hòa trong nước (25mL) và chiết bằng etyl axetat (75mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và cô *trong chân không* để tạo ra (S)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 17; 230mg, 100%) dưới dạng chất rắn màu nâu sáng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 33°C) δ 1,13 (3H, d), 4,01 (1H, ddd), 4,26 (1H, dd), 4,36 (1H, d), 4,46 (1H, dd), 5,05 (1H, d), 7,39 - 7,41 (1H, m), 7,42 (1H, s), 7,59 - 7,66 (1H, m), 7,93 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,74 (1H, dd). *m/z*: ES⁺ [M+H]⁺ 406.

Ví dụ 4

(S)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

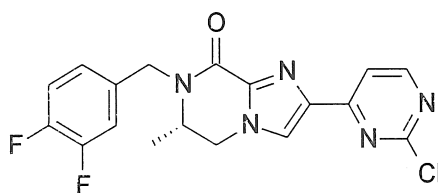


Tạo hỗn dịch (S)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 18; 218mg, 0,56mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (59,7mg, 0,62mmol), xesi carbonat (364mg, 1,12mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (25,3mg, 0,03mmol) trong *tert*-butanol (8mL) và khử khí bằng nitơ trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 18 giờ trong điều kiện khí nitơ. Làm nguội phản ứng xuống nhiệt độ phòng, pha loãng bằng

ethyl axetat (100mL) và rửa bằng NaHCO₃ bão hòa trong nước (25mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô trong chân không để tạo ra chất rắn màu nâu. Hòa tan nguyên liệu thô trong DCM, cô trong chân không và hấp thụ lên trên silic oxit. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 15% MeOH trong EtOAc. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 4; 88mg, 34,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) δ 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,96 - 4,03 (1H, m), 4,27 - 4,38 (2H, m), 4,43 (1H, dd), 5,05 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,22 - 7,28 (1H, m), 7,35 (2H, dd), 7,37 - 7,5 (2H, m), 7,92 (1H, s), 8,47 (1H, d), 9,33 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 451.

Hợp chất trung gian 18

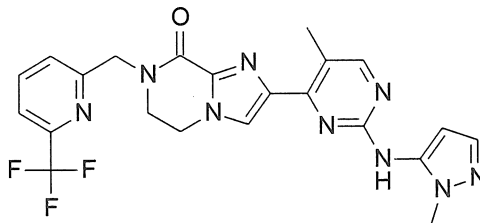
(*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri hydrua (dịch phân tán 60%) (25,03mg, 0,63mmol) vào (*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 9; 150mg, 0,57mmol) trong DMF (12mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (130mg, 0,63mmol) sau đó là tetrabutylamoni iodua (42,0mg, 0,11mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NH₄Cl bão hòa trong nước (25mL) và chiết bằng ethyl axetat (75mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và cô trong chân không để tạo ra (*S*)-2-(2-clopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 18; 222mg, 100%) dưới dạng gồm màu nâu. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) δ 1,14 (3H, d), 3,94 - 4,07 (1H, m), 4,27 (1H, dd), 4,36 (1H, d), 4,47 (1H, dd), 5,06 (1H, d), 7,26 (1H, s), 7,37 - 7,51 (2H, m), 7,93 (1H, d), 8,26 (1H, s), 8,74 (1H, d). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 390.

Ví dụ 5

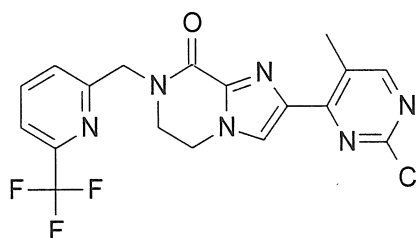
2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (10,72mg, 0,01mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 19; 50mg, 0,12mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (22,97mg, 0,24mmol) và Cs₂CO₃ (96mg, 0,30mmol) trong 1,4-dioxan (3mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 5; 23,5mg, 41%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,1°C) δ 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90 - 3,98 (2H, m), 4,43 - 4,51 (2H, m), 4,91 (2H, s), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,76 (1H, d), 7,84 (1H, d), 7,95 (1H, s), 8,10 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 484.

Hợp chất trung gian 19

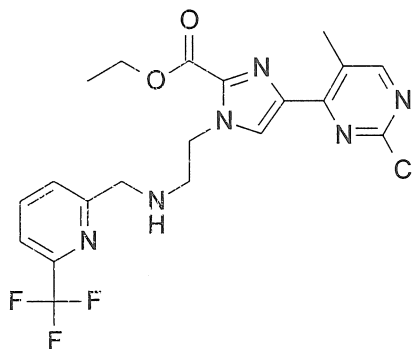
2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NH_3 (7N trong MeOH, 3mL) vào etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)etyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 20; 60mg, 0,13mmol) ở nhiệt độ 25°C trong không khí và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 12 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không để thu được 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 19; 50mg, 92%) dưới dạng chất rắn màu trắng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 423$.

Hợp chất trung gian 20

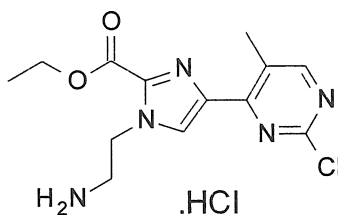
Etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)etyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung 6-(triflometyl)picolinaldehyt (114mg, 0,65mmol) vào etyl 1-(2-aminoetyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 21; 250mg, 0,65mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ. Bổ sung natri triaxetoxibohydrua (415mg, 1,96mmol) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 25°C và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10mL) và chiết bằng DCM (3 x 15mL). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước muối (15mL), làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 2 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)etyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 20; 60mg, 19,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 469$.

Hợp chất trung gian 21

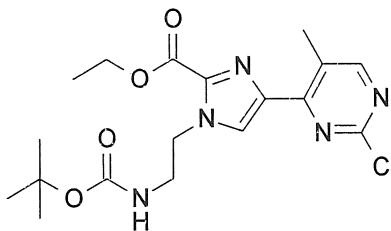
1-(2-aminoethyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat. HCl



Bổ sung HCl (4N trong 1,4-dioxan, 50mL) vào etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 22; 3,2g, 7,81mmol) ở nhiệt độ 25°C trong không khí và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không và tán nhỏ phần cặn thô với EtOAc để tạo ra chất rắn mà được thu gom bằng cách lọc và được làm khô trong chân không để tạo ra etyl 1-(2-aminoethyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat. HCl (hợp chất trung gian 21; 2,90g, 97%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,1°C) δ 1,35 (3H, t), 2,60 - 2,65 (3H, m), 4,38 (2H, q), 4,75 (2H, t), 8,37 (3H, s), 8,46 (1H, s), 8,63 (1H, d), 10,17 (2H, s). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 310$.

Hợp chất trung gian 22

Etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

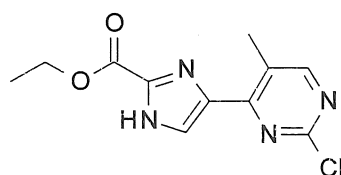


tert-butyl 1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (2,76g, 12,37mmol) được bổ sung từng phần vào etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 3,0g, 11,25mmol), K_2CO_3 (4,66g, 33,75mmol) và 18-mạch vòng-6 ete (0,595g, 2,25mmol) trong 1,4-dioxan (60mL) ở nhiệt độ 100°C trong không khí. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 2 giờ. Làm nguội hỗn hợp, lọc và rửa chất rắn thu được bằng etyl axetat. Sau đó cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 25 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được

ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)ethyl)-4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 22; 3,20g, 69,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,2°C) δ 1,25 (9H, s), 1,35 (3H, t), 2,62 (3H, s), 3,35 (2H, dd), 4,37 (2H, q), 4,49 (2H, t), 6,93 (1H, t), 8,18 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 410$.

Hợp chất trung gian 23

Etyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung axit trifloaxetic (20mL, 259,60mmol) vào etyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 24; 5,6g, 14,11mmol) trong DCM (20mL) ở nhiệt độ 25°C và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và bazơ hóa hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO_3 bão hòa. Thu gom chất kết tủa thu được tạo thành bằng cách lọc, rửa bằng nước (100mL) và làm khô trong chân không để thu được etyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 3,50g, 93%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,35 (3H, t), 2,62 (3H, s), 4,37 (2H, q), 8,13 (1H, s), 8,62 (1H, s), NH không quan sát thấy. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 267$.

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất trung gian 23:

Bổ sung etyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 24; 176g, 443,38mmol) vào TFA (500mL, 6489,91mmol) trong DCM (500mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng thu được ở nhiệt độ phòng trong thời gian 16 giờ. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Bổ sung Na_2CO_3 bão hòa trong nước dư và thu gom chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng nước (1 l) và làm khô trong chân không. Tán nhỏ chất rắn thô với MeCN để tạo ra chất rắn mà được thu gom bằng cách lọc và được làm khô trong chân không để tạo ra etyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 106g, 90%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 Mhz, DMSO,

19,7°C) δ 1,34 (3H, t), 2,61 (3H, s), 4,33-4,41 (2H, m), 8,13 (1H, s), 8,61 (1H, s), 13,99 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 267.

Phương pháp khác để tổng hợp một lọ Hợp chất trung gian 23:

Bước 1:

Vào dung dịch có khuấy của 3,4,7,8-Tetrametyl-1,10-phenanthrolin (3,72g, 15,41mmol) và di-*mu*-methoxobis(1,5-xyclooctadien)diiridi (I) (5,21g, 7,71mmol) trong MeTHF khan (900mL) được bổ sung liên tục bis(pinacolato)đibo (108g, 423,86mmol) và dung dịch chứa ethyl 1-((2-(trimethylsilyl)etoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (114,5g, 385,33mmol) trong MeTHF (100mL) dưới khí nitơ. Khử khí hỗn hợp thu được 3 lần trong điều kiện khí nitơ, gia nhiệt lên 70°C và khuấy trong thời gian 3 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25mL), pha hữu cơ tách riêng và cô đến 500 ml. Sử dụng dung dịch này trực tiếp trong Bước 2 mà không cần tinh chế.

Bước 2:

Bổ sung từ từ dung dịch MeTHF (500mL) được tạo ra trong Bước 1 vào hỗn hợp có khuấy của K₂CO₃ trong nước (161g, 1156mmol) trong nước (500mL), sản phẩm cộng hợp 2,4-diclo-5-metylpyrimidin (77g, 462,4mmol) và 1,1'-Bis(diphenylphosphino)feroxen diclopaladi (II) diclometan (9,44g, 15,56mmol) trong MeTHF (500mL) ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, các lớp được tách riêng và rửa lớp hữu cơ bằng nước (500mL) và cô đến 500 ml. Sử dụng nó trực tiếp trong Bước 3 mà không cần tinh chế.

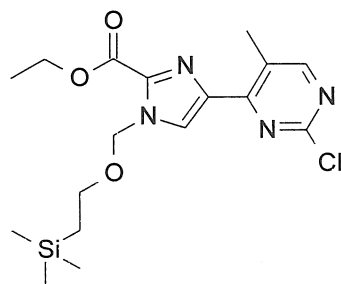
Bước 3:

Bổ sung HCl trong *iso*-propylalcohol (5-6 N, 116mL, 578mmol) vào dung dịch được tạo ra trong Bước 2 ở nhiệt độ phòng và khuấy trong thời gian 30 phút. Sau đó pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (500mL). Chiết lớp nước bằng MeTHF (500mL) và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng trong nước natri bicarbonat (dung dịch 4% khối lượng/khối lượng, 500mL) và nước (200mL). Cô pha hữu cơ đến khi còn một nửa và khuấy bằng heptan (1000mL). Lọc chất kết tủa thu được, rửa bằng hỗn hợp MeTHF/heptan (1:4, 500mL) và làm khô trong chân không để thu được ethyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dưới dạng chất rắn (hợp chất trung gian 23, 60,5g, 59%, hiệu suất chung qua 3 Bước). ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,35

(3H, t), 2,62 (3H, s), 4,37 (2H, q), 8,13 (1H, s), 8,62 (1H, s), NH không quan sát thấy.
 m/z (ES+), $[M+H]^+ = 267$.

Hợp chất trung gian 24

Etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (1,158g, 1,00mmol) vào axit (2-(etoxy-carbonyl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-4-yl)bonic (hợp chất trung gian 25; 6,3g, 20,05mmol), 2,4-diclo-5-metylpyrimidin (3,27g, 20,05mmol) và Cs_2CO_3 (13,07g, 40,10mmol) trong 1,4-dioxan (120mL) và nước (20mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 2 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước (200mL), chiết bằng DCM (2 x 250mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 24; 5,60g, 70,4%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 23°C) δ 0,02 (9H, s), 0,93 - 1,03 (2H, m), 1,48 (3H, t), 2,71 - 2,76 (3H, m), 3,59 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,85 (2H, s), 8,16 (1H, s), 8,42 - 8,47 (1H, m). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 397$.

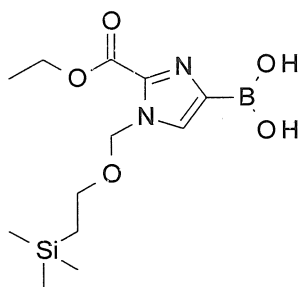
Phương pháp khác để điều chế Hợp chất trung gian 24:

Mê 1: Bổ sung $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (1,655g, 1,43mmol) vào axit (2-(etoxy-carbonyl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-4-yl)bonic (hợp chất trung gian 25; 9g, 28,64mmol), 2,4-diclo-5-metylpyrimidin (4,67g, 28,64mmol) và Cs_2CO_3 (28,0g, 85,93mmol) trong 1,4-dioxan (80mL) và nước (20mL) trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 2 giờ và sau đó làm nguội xuống nhiệt độ phòng.

Mẻ 2: Bổ sung $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (24,82g, 21,48mmol) vào 2,4-diclo-5-metylpyrimidin (70,0g, 429,64mmol), axit (2-(etoxycarbonyl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-4-yl)bonic (hợp chất trung gian 25; 135g, 429,64mmol) và Cs_2CO_3 (420g, 1288,91mmol) trong 1,4-dioxan (2000mL) và nước (400mL) trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 2 giờ và sau đó làm nguội xuống nhiệt độ phòng. Các mẻ 1 và 2 ở trên được kết hợp và làm bay hơi đến khô. Hòa tan phần cặn trong EtOAc (2 l) và rửa tuần tự bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa (450mL), nước (300mL) và nước muối (350mL). Làm khô pha hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký cột nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi sản phẩm tinh khiết chứa các phân đoạn đến khô để thu được ethyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 24; 123g, 67,4%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 23°C) δ 0,02 (9H, s), 0,93 - 1,03 (2H, m), 1,48 (3H, t), 2,71 - 2,76 (3H, m), 3,59 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,85 (2H, s), 8,16 (1H, s), 8,42 - 8,47 (1H, m). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 397$.

Hợp chất trung gian 25

Ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



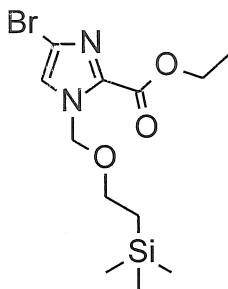
Bổ sung chất tiền xúc tác XPhos thế hệ thứ 2 (0,788g, 1,00mmol) vào ethyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 25a, cũng có sẵn trên thị trường; 7g, 20,04mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxabolan) (7,63g, 30,06mmol) và KOAc (3,93g, 40,08mmol) trong 1,4-dioxan (100mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 3 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng và dịch lọc được sử dụng trong bước tiếp theo trực tiếp mà không cần tinh chế thêm. m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 315$.

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất trung gian 25:

Bổ sung 2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-tri-iso-propyl-1,1'-biphenyl (12,28g, 25,77mmol) vào sản phẩm cộng hợp tris(dibenzylidenacetone)dipaladi(0)-chloroform (11,11g, 10,74mmol) trong 1,4-dioxan (2000mL) ở nhiệt độ phòng trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được sau đó khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 45 giờ. Bổ sung ethyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (150g, 429,43mmol), bis(pinacolato)đibô (131g, 515,32mmol) và kali axetat (126g, 1288,29mmol) ở nhiệt độ phòng trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được axit (2-(etoxycarbonyl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-4-yl)bonic (hợp chất trung gian 25; 135g, 100%) dưới dạng dầu màu vàng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 315$.

Hợp chất trung gian 25a

Ethyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

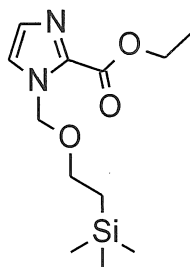


Bổ sung từng phần NBS (158g, 887,56mmol) vào ethyl 1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 25b; 160g, 591,71mmol) trong DMF (1200mL) và DCM (1300mL) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy phản ứng thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 48 giờ. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và bổ sung EtOAc (7 l). Sau đó rửa pha hữu cơ tuần tự bằng NaHCO₃ bão hòa (1 l), nước (1 l), và nước muối bão hòa (750mL). Làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 4% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được ethyl 4-brom-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 25a; 106g, 51,3%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt mà hóa rắn khi để yên. ¹H NMR (300 Mhz, DMSO) δ -0,07 (9H, s), 0,77-0,85 (2H,

m), 1,29 (3H, t), 3,53 (2H, t), 4,30 (2H, q), 5,66 (2H, s), 7,83 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 349/351.

Hợp chất trung gian 25b

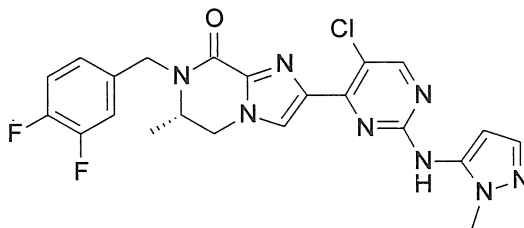
Etyl 1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung từng giọt SEM-Cl (286g, 1712,55mmol) vào etyl 1*H*-imidazol-2-carboxylat (200g, 1427,12mmol) và K₂CO₃ (592g, 4281,37mmol) trong axeton (3 l) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Loại bỏ chất kết tủa thu được bằng cách lọc và rửa bằng EtOAc (1 l). Sau đó làm khô các lớp hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄ và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế nguyên liệu thô thu được bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được etyl 1-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 25b; 328g, 85%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. ¹H NMR (300 Mhz, CDCl₃) δ -0,01 (9H, s), 0,90-0,97 (2H, m), 1,45 (3H, t), 3,50-3,63 (2H, m), 4,43 (2H, q), 5,81 (2H, s), 7,22 (1H, s), 7,28 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 271.

Ví dụ 6

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

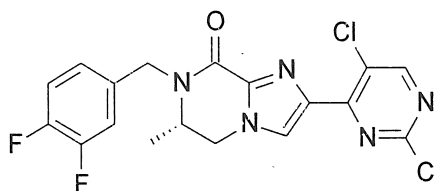


Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (20,95mg, 0,02mmol) vào (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-

8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 26; 100mg, 0,24mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (hợp chất trung gian 26; 57,2mg, 0,59mmol) và Cs₂CO₃ (154mg, 0,47mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 6% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phân căn màu vàng. Tinh chế sản phẩm thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 6; 16,00mg, 14%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 22°C) δ 1,15 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,00 (1H, s), 4,34 (2H, d), 4,47 (1H, dd), 5,07 (1H, d), 6,32 (1H, s), 7,27 (1H, s), 7,35 (1H, d), 7,38 - 7,51 (2H, m), 8,19 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,73 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 485.

Hợp chất trung gian 26

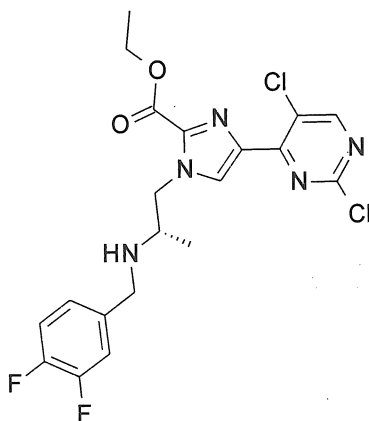
(*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy dung dịch chứa (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-((3,4-diflobenzyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 27; 200mg, 0,43mmol) trong NH₃ (7*N* trong MeOH, 5mL, 35,00mmol) ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Sau đó tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 26; 100mg, 55,4%) dưới dạng chất rắn màu vàng. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 424.

Hợp chất trung gian 27

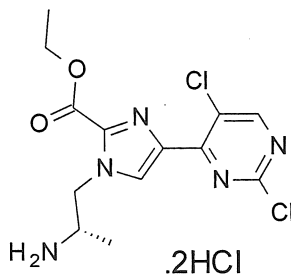
(*S*)-ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-((3,4-diflobenzyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung 3,4-diflobenzaldehyt (74,9mg, 0,53mmol) vào (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 200mg, 0,48mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (305mg, 1,44mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Sau đó làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL), chiết bằng DCM (2 x 50mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô (*S*)-ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-((3,4-diflobenzyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 27; 200mg, 89%) dưới dạng chất rắn màu vàng. Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 470.

Hợp chất trung gian 28

(*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua

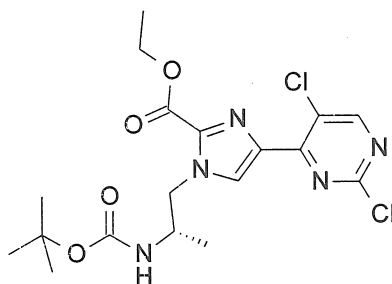


Khuấy dung dịch chứa (*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 29; 2,8g, 6,30mmol)

trong HCl (4N trong 1,4-dioxan, 20mL) ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng EtOAc (20mL) và làm khô trong chân không để thu được (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 28; 2,50g, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24°C) δ 1,26 (3H, d), 1,37 (3H, t), 3,75 (1H, s), 4,40 (2H, d), 4,63 (2H, d), 8,05 (3H, s), 8,61 (1H, s), 8,94 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 344.

Hợp chất trung gian 29

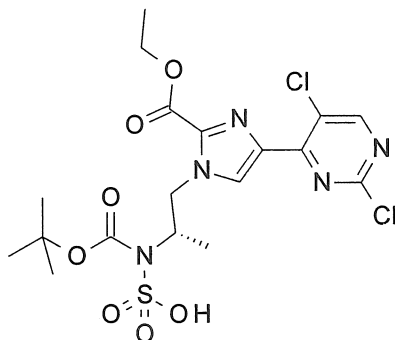
(*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung HCl 1M (20mL, 20,00mmol) vào axit (*S*)-(tert-butoxycarbonyl)(1-(4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic (hợp chất trung gian 30; 6g, 11,44mmol) trong EtOH (20mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 20 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL), chiết bằng DCM (3 x 100mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 29; 2,80g, 55,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (300 Mhz, CDCl₃, 27°C) δ 1,24 (3H, d), 1,35 (9H, s), 1,46 (2H, t), 4,03 - 4,17 (1H, m), 4,46 (2H, q), 4,58 - 4,69 (2H, m), 5,30 (1H, s), 8,08 (1H, s), 8,58 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 444.

Hợp chất trung gian 30

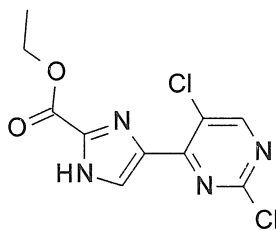
Axit (*S*)-(tert-butoxycarbonyl)(1-(4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic



Bổ sung từng phần (*S*)-*tert*-butyl 4-methyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 12; 4,59g, 19,33mmol) vào etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 31; 3,7g, 12,89mmol) và K_2CO_3 (5,34g, 38,66mmol) trong axetonitril (30mL) ở nhiệt độ 80°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 12 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng và rửa bằng MeCN. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn axít (*S*)-(tert-butoxycarbonyl)(1-(4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic (hợp chất trung gian 30; 6,00g, 89%) dưới dạng dầu màu vàng. Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 524$.

Hợp chất trung gian 31

Etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

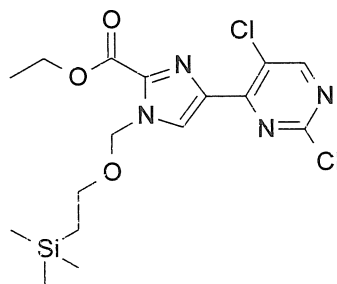


Bổ sung axít trifloaxetic (20mL, 259,60mmol) vào etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxymetyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 32; 5,6g, 13,42mmol) trong DCM (20mL) ở nhiệt độ 25°C. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và bazơ hóa hỗn hợp phản ứng bằng $NaHCO_3$ bão hòa dư. Thu gom chất kết tủa thu được tạo thành bằng cách lọc, rửa bằng nước (100mL) và làm khô trong chân không để thu được etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 31;

3,70g, 96%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 25°C) δ 1,36 (3H, t), 4,39 (2H, q), 7,59 (1H, s), 8,32 (1H, s), 8,90 (1H, s). m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287$.

Hợp chất trung gian 32

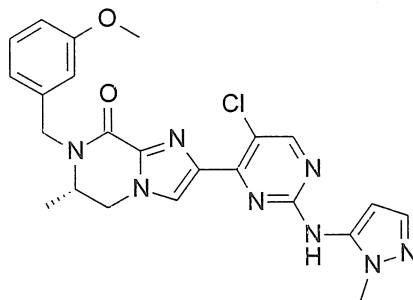
Etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (1,14g, 0,99mmol) vào axit (2-(etoxycarbonyl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-4-yl)bonic (hợp chất trung gian 25; 6,2g, 19,73mmol), 2,4,5-triclopyrimidin (3,62g, 19,73mmol) và Cs_2CO_3 (9,64g, 29,60mmol) trong 1,4-dioxan (160mL) và nước (40mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 2 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước (150mL), chiết bằng DCM (2 x 250mL), làm khô các lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 10% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 32; 5,60g, 68%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 25°C) δ 0,01 (9H, s), 0,93 - 1,02 (2H, m), 1,48 (3H, t), 3,60 - 3,69 (2H, m), 4,48 (2H, q), 5,89 (2H, s), 8,29 (1H, s), 8,63 (1H, s). m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 417$.

Ví dụ 7

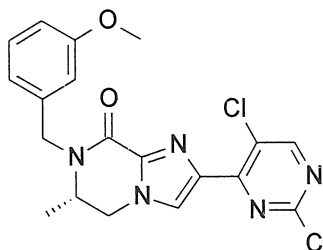
(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymetyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (31,9mg, 0,04mmol) vào (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymethyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 33; 150mg, 0,36mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (87mg, 0,90mmol) và Cs₂CO₃ (234mg, 0,72mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 6% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế phần cặn thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymethyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 7; 31,0mg, 18,05%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 1,13 (3H, d), 3,71 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,96 (1H, d), 4,26 - 4,36 (2H, m), 4,41 (1H, dd), 5,09 (1H, d), 6,32 (1H, s), 6,84 - 6,91 (1H, m), 6,96 (2H, d), 7,24 - 7,38 (2H, m), 8,20 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,74 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 479.

Hợp chất trung gian 33

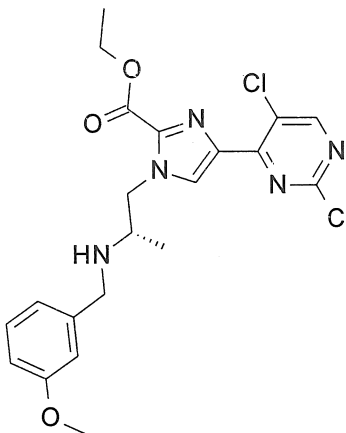
(*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxymethyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung TEA (0,162mL, 1,16mmol) vào (*S*)-ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-((3-metoxybenzyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 34; 180mg, 0,39mmol) trong toluen (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 140°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 3% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxybenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 33; 150mg, 93%) dưới dạng chất rắn màu vàng. m/z (ES⁺), $[M+Na]^+ = 418$. (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxybenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 33) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 34

(*S*)-ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-((3-metoxybenzyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

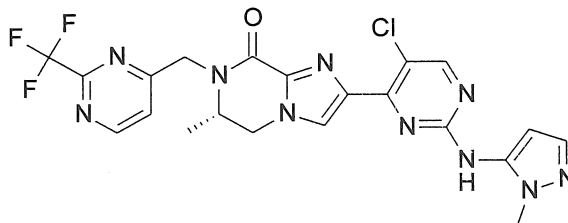


Bổ sung 3-metoxybenzaldehyt (71,8mg, 0,53mmol) vào (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 200mg, 0,48mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (305mg, 1,44mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL), chiết bằng DCM (2 x 50mL), làm khô các lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô

đề thu được (*S*)-ethyl 4-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-1-(2-((3-metoxymethyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 34; 180mg, 81%) dưới dạng chất rắn màu vàng. m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 464.

Ví dụ 8

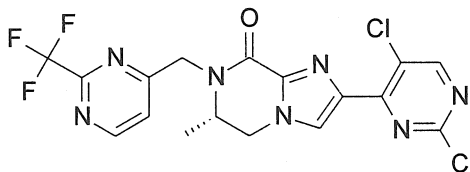
(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (12,41mg, 0,01mmol) vào (*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35; 64mg, 0,14mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (33,9mg, 0,35mmol) và Cs₂CO₃ (91mg, 0,28mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 8; 15,2mg, 21%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,1°C) δ 1,25 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,18 (1H, ddd), 4,42 (1H, dd), 4,60 - 4,69 (2H, m), 5,23 (1H, d), 6,32 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,94 (1H, d), 8,25 (1H, s), 8,55 (1H, s), 9,03 (1H, d), 9,74 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 519.

Hợp chất trung gian 35

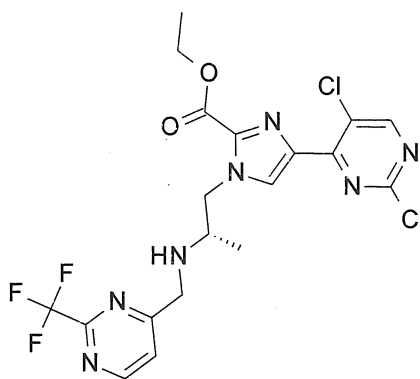
(*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung TEA (0,129mL, 0,93mmol) vào (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 36; 156mg, 0,31mmol) trong toluen (3mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 140°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35; 64,0mg, 45,2%) dưới dạng chất rắn màu vàng. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 458.

Hợp chất trung gian 36

(*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

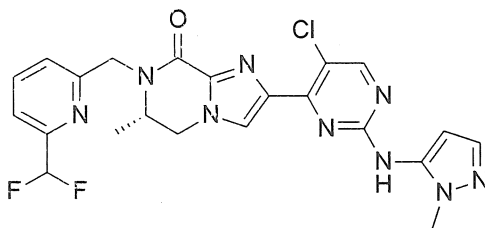


Bổ sung 2-(triflometyl)pyrimidin-4-carbaldehyt (127mg, 0,72mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 300mg, 0,72mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ. Bổ sung natri triaxetoxibohydrua (457mg, 2,16mmol) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 25°C. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp

phản ứng bằng nước (10mL) và chiết bằng DCM (3 x 15mL). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước muối (15mL), làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 2 đến 3% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (S)-ethyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)methyl)amino)propyl)-1H-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 36; 156mg, 43%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,2°C) δ 1,26 - 1,38 (3H, m), 1,44 (3H, t), 2,85 (1H, s), 4,01 (2H, q), 4,33 - 4,51 (2H, m), 4,55 - 4,70 (1H, m), 4,92 (2H, s), 7,65 (1H, d), 8,65 (1H, d), 8,74 - 8,85 (1H, m), 8,91 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 504.

Ví dụ 9

(S)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

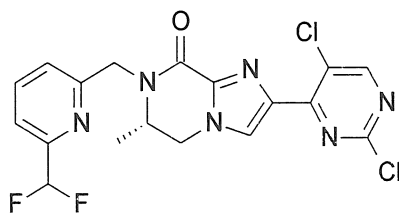


Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (24,28mg, 0,03mmol) vào (S)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 37; 120mg, 0,27mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (66,3mg, 0,68mmol) và Cs₂CO₃ (178mg, 0,55mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 6% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (S)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 9; 27mg, 19,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,21 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,12 (1H, s), 4,38

(1H, d), 4,48 - 4,63 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,32 (1H, s), 6,97 (1H, t), 7,35 (1H, d), 7,59 - 7,67 (2H, m), 8,00 (1H, t), 8,23 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,72 (1H, s). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 500$.

Hợp chất trung gian 37

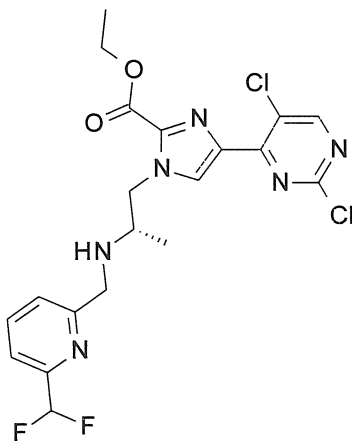
(*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy dung dịch chứa (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 38; 200mg, 0,41mmol) trong NH_3 (7*N* trong MeOH, 5mL, 35,00mmol) ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 37; 120mg, 66,3%) dưới dạng chất rắn màu vàng. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 439$.

Hợp chất trung gian 38

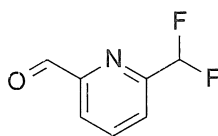
(*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung 6-(diflometyl)picolinaldehyt (hợp chất trung gian 39; 226mg, 1,44mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 200mg, 0,48mmol) trong DCM (15mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (305mg, 1,44mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL) và chiết bằng DCM (2 x 50mL). Làm khô các lớp hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất mong muốn (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 38; 200mg, 86%) dưới dạng chất rắn màu vàng. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 485.

Hợp chất trung gian 39

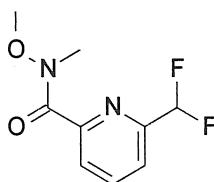
6-(diflometyl)picolinaldehyt



Bổ sung LiAlH₄ (1,141g, 30,07mmol) vào 6-(diflometyl)-*N*-metoxy-*N*-metylpicolinamit (hợp chất trung gian 40; 5g, 23,13mmol) trong THF (80mL) được làm lạnh xuống -78°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 1 giờ. Pha loãng phản ứng EtOAc (6mL), sau đó làm dừng bằng nước (1mL) ở nhiệt độ -78°C. Bổ sung NaOH (15% trong nước, 3,0mL) và nước (1,0mL) và lọc chất rắn thu được ra. Làm khô dịch lọc trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được 6-(diflometyl)picolinaldehyt (hợp chất trung gian 39; 3,60g, 99%) dưới dạng dầu màu vàng. Hợp chất thu được được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 158.

Hợp chất trung gian 40

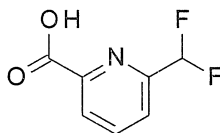
6-(diflometyl)-*N*-metoxy-*N*-metylpicolinamit



Bổ sung từng giọt oxalyl diclorua (7,92g, 62,39mmol) vào axit 6-(diflometyl)picolinic (hợp chất trung gian 41; 5,4g, 31,19mmol) và DMF (0,242mL, 3,12mmol) trong DCM (30mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn 6-(diflometyl)picolinoyl clorua (6,00g, 100%) dưới dạng dầu màu vàng mà được sử dụng ngay lập tức. *Bổ sung từng phần N,O*-dimetylhydroxylamin hydroclorua (4,58g, 46,98mmol) vào 6-(diflometyl)picolinoyl clorua (6,0g, 31,32mmol) và TEA (17,46mL, 125,29mmol) trong DCM (50mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50mL), chiết bằng DCM (2 x 100mL), làm khô các lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 6-(diflometyl)-*N*-metoxy-*N*-metylpicolinamit (hợp chất trung gian 40; 5,00g, 73,8%) dưới dạng chất lỏng màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20°C) δ 3,42 (3H, s), 3,80 (3H, s), 6,68 (1H, t), 7,74 (2H, d), 7,98 (1H, t). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 217.

Hợp chất trung gian 41

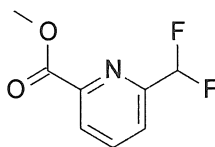
Axit 6-(diflometyl)picolinic



Gia nhiệt dung dịch chứa metyl 6-(diflometyl)picolinat (hợp chất trung gian 42; 6,2g, 33,13mmol) trong HCl (30mL, 360,00mmol) ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 8 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn axit 6-(diflometyl)picolinic (hợp chất trung gian 41; 5,40g, 94%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 7,05 (1H, t), 7,94 (1H, t), 8,16- 8,22 (2H, m), 13,56 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 174.

Hợp chất trung gian 42

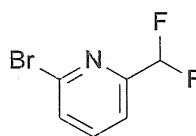
Metyl 6-(diflometyl)picolinat



Khuấy 2-brom-6-(diflometyl)pyridin (hợp chất trung gian 43; 8,5g, 40,86mmol), kali axetat (8,02g, 81,73mmol) và Pd(dppf)Cl₂ (1,495g, 2,04mmol) trong MeOH (100mL) dưới khí CO ở 10 atm ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 6 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng và làm bay hơi dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 20% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được metyl 6-(diflometyl)picolinat (hợp chất trung gian 42; 6,20g, 81%) dưới dạng chất lỏng không màu. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20°C) δ 4,06 (3H, s), 6,79 (1H, t), 7,89 (1H, d), 8,05 (1H, t), 8,24 - 8,31 (1H, m). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 188.

Hợp chất trung gian 43

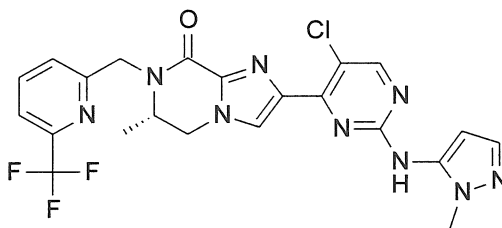
2-brom-6-(diflometyl)pyridin



Bổ sung từng giọt DAST (17,76mL, 134,40mmol) vào 6-brompicolinaldehyt (10g, 53,76mmol) trong DCM (150mL) làm lạnh xuống 0°C trong khoảng thời gian 10 phút. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20mL) và bazơ hóa bằng cách bổ sung NaHCO₃ (bão hòa trong nước). Chiết pha nước bằng DCM (3 x 150mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được chất lỏng màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 8% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 2-brom-6-(diflometyl)pyridin (hợp chất trung gian 43; 9,00g, 80%) dưới dạng chất lỏng không màu. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 22°C) δ 6,59 (1H, t), 7,58 - 7,65 (2H, m), 7,71 (1H, t). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 208/210.

Ví dụ 10

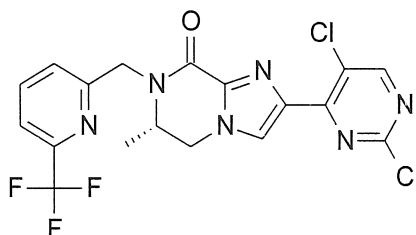
(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (14,97mg, 0,02mmol) vào (*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 44; 77mg, 0,17mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (40,9mg, 0,42mmol) và Cs₂CO₃ (110mg, 0,34mmol) trong 1,4-dioxan (3mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 6 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 5 đến 6% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được hợp chất thô màu vàng. Tinh chế hợp chất thô này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 10; 18,5mg, 21%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 23,0°C) δ 1,22 (3H, d), 3,71 (3H, s), 4,15 (1H, ddd), 4,40 (1H, dd), 4,53 - 4,64 (2H, m), 5,23 (1H, d), 6,32 (1H, d), 7,35 (1H, d), 7,75 - 7,87 (2H, m), 8,10 (1H, t), 8,23 (1H, s), 8,54 (1H, s), 9,73 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 518.

Hợp chất trung gian 44

(*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

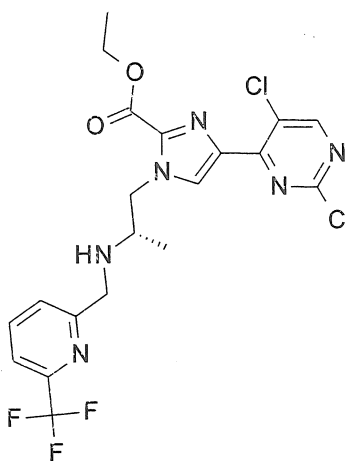


Bổ sung NH₃ (7N trong MeOH, 3mL) vào (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp

chất trung gian 45; 98mg, 0,19mmol). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 44; 77mg, 86%) dưới dạng dầu không màu. Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 457$.

Hợp chất trung gian 45

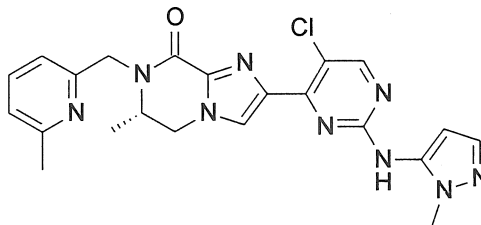
(*S*)-etyl 4-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung 6-(triflometyl)picolinaldehyt (115mg, 0,66mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 250mg, 0,60mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 20°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó bổ sung natri triaxetoxybohýdrua (254mg, 1,20mmol) ở nhiệt độ 20°C và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10mL), chiết bằng DCM (3 x 15mL). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (15mL), làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 2 đến 2,5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-etyl 4-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 45; 98mg, 32,5%) dưới dạng dầu màu vàng. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 503$.

Ví dụ 11

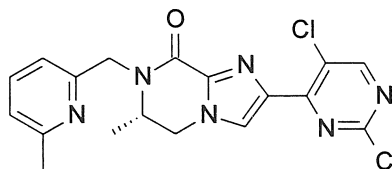
(*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (26,4mg, 0,03mmol) vào (*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 46; 120mg, 0,30mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (72,2mg, 0,74mmol) và Cs₂CO₃ (194mg, 0,60mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-2-(5-clo-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 11; 50mg, 36,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 22°C) δ 1,19 (3H, d), 2,47 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,08 (1H, d), 4,32 - 4,43 (2H, m), 4,53 (1H, dd), 5,15 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,21 (2H, dd), 7,34 (1H, d), 7,68 (1H, t), 8,21 (1H, s), 8,53 (1H, s), 9,72 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 464.

Hợp chất trung gian 46

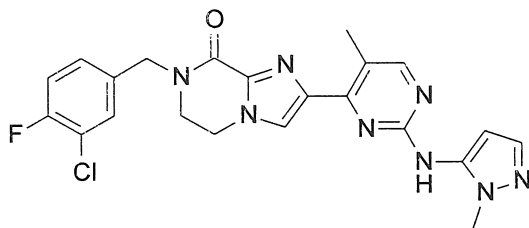
(*S*)-2-(2,5-diclopypyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-metylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri axetat (118mg, 1,44mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 28; 200mg, 0,48mmol) và 6-methylpicolinaldehyt (63,9mg, 0,53mmol) trong MeOH (10mL) ở nhiệt độ 20°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung natri triaxetoxybohdyrua (203mg, 0,96mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 18 giờ. Làm dừng phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa trong nước (25mL) và chiết pha nước bằng DCM (3 x 50mL). Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2,5-diclopyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-methylpyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 46; 120mg, 62,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 24°C) δ 1,33 (3H, d), 2,60 (3H, s), 4,09 (1H, d), 4,19 - 4,46 (2H, m), 4,52 (1H, d), 5,42 (1H, d), 7,15 (1H, s), 7,34 (1H, s), 7,63 (1H, s), 8,02 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 403.

Ví dụ 12

7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

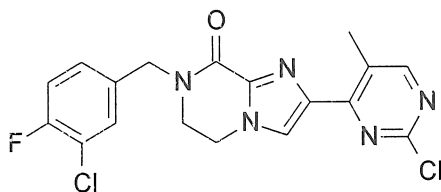


Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (63,9mg, 0,07mmol) vào 7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 47; 292mg, 0,72mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (140mg, 1,44mmol) và Cs₂CO₃ (585mg, 1,80mmol) trong 1,4-dioxan (3mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 7% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ,

đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH_4HCO_3 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 12; 59,7mg, 17,79%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20,1°C) δ 2,70 (3H, s), 3,72 (2H, dd), 3,81 (3H, s), 4,26 - 4,34 (2H, m), 4,77 (2H, s), 6,31 (1H, d), 6,98 (1H, s), 7,15 (1H, t), 7,23 - 7,32 (1H, m), 7,45 (1H, dd), 7,49 (1H, d), 7,73 (1H, s), 8,30 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 467$.

Hợp chất trung gian 47

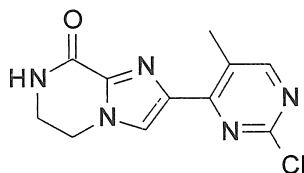
7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NaH (68,3mg, 1,71mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 48; 150mg, 0,57mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau đó khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 4-(brommetyl)-2-clo-1-flobenzen (254mg, 1,14mmol) ở nhiệt độ 25°C và tiếp tục khuấy trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO_3 bão hòa trong nước (25mL), thu gom chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô trong chân không để thu được 7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 48; 292mg, >100%) dưới dạng chất rắn màu vàng, mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,1°C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,35 - 4,43 (2H, m), 4,70 (2H, s), 7,34 - 7,49 (2H, m), 7,60 (1H, ddd), 8,25 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 406$.

Hợp chất trung gian 48

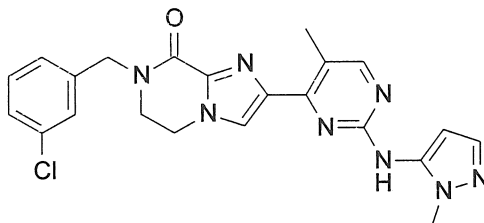
2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NH_3 (7N trong MeOH, 15mL) vào etyl 1-(2-aminoethyl)-4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 21; 1,3g, 3,40mmol) ở nhiệt độ 20°C trong không khí và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 12 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không, làm nhão chất rắn thu được bằng nước (50mL), lọc và làm khô trong chân không để thu được 2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 48; 0,80g, 89%) dưới dạng chất rắn màu trắng, mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,3°C) δ 2,62 (3H, s), 3,61 (2H, ddd), 4,29 - 4,37 (2H, m), 8,26 (1H, s), 8,35 (1H, t), 8,59 (1H, d). m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 264$.

Ví dụ 13

7-(3-clobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

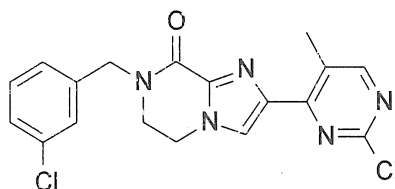


Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (62,0mg, 0,07mmol) vào 2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 49; 271mg, 0,70mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (136mg, 1,40mmol) và Cs_2CO_3 (569mg, 1,75mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không và tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 7% MeOH trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa

NH_4HCO_3 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 7-(3-clobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 13; 43,5mg, 13,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20,1°C) δ 2,69 (3H, s), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,81 (3H, s), 4,29 (2H, dd), 4,80 (2H, s), 6,31 (1H, d), 7,06 (1H, s), 7,25 - 7,29 (1H, m), 7,30 - 7,34 (2H, m), 7,36 - 7,39 (1H, m), 7,49 (1H, d), 7,73 (1H, s), 8,29 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 449$.

Hợp chất trung gian 49

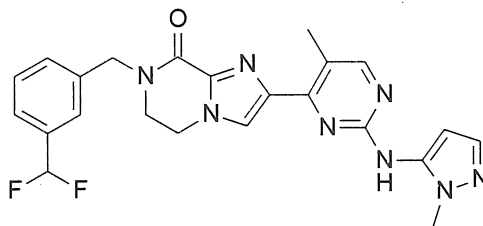
2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NaH (68,3mg, 1,71mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 48; 150mg, 0,57mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 1-(brommetyl)-3-clobenzen (234mg, 1,14mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO_3 bão hòa (25mL), thu gom chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô trong chân không để thu được 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 49; 271 mg) dưới dạng chất rắn màu vàng, mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20,1°C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36-4,44 (2H, m), 4,72 (2H, s), 7,39-7,48 (4H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+) $[\text{M}+\text{H}]^+ = 388$.

Ví dụ 14

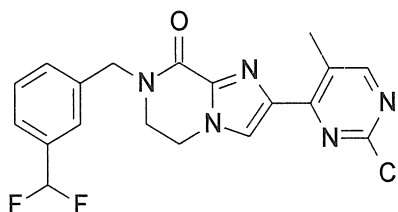
7-(3-(diflometyl)benzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (61,6mg, 0,07mmol) vào 2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(difluoromethyl)benzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 50; 280mg, 0,69mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (135mg, 1,39mmol) và Cs₂CO₃ (565mg, 1,73mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 7% trong DCM. Làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn đến khô để thu được sản phẩm không tinh khiết. Tinh chế sản phẩm không tinh khiết này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 7-(3-(difluoromethyl)benzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 14; 14; 69,6mg, 21,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,2°C) δ 2,70 (3H, s), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,81 (3H, s), 4,24 - 4,32 (2H, m), 4,88 (2H, s), 6,31 (1H, d), 6,66 (1H, t), 6,98 (1H, s), 7,43 - 7,56 (5H, m), 7,73 (1H, s), 8,30 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 465.

Hợp chất trung gian 50

2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(difluoromethyl)benzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

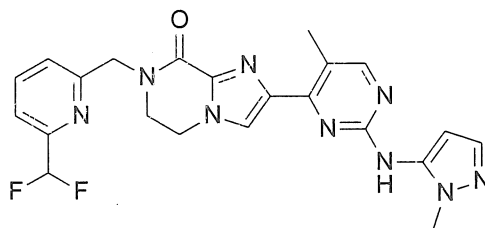


Bổ sung NaH (68,3mg, 1,71mmol) vào 2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (150mg, 0,57mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt

độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 1-(brommetyl)-3-(diflometyl)benzen (251mg, 1,14mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (25mL) và thu gom chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô trong chân không để thu được 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 50; 280 mg) dưới dạng chất rắn màu vàng, mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 19,9°C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36 - 4,44 (2H, m), 4,79 (2H, s), 7,06 (1H, td), 7,49-7,56 (4H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s).

Ví dụ 15

7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

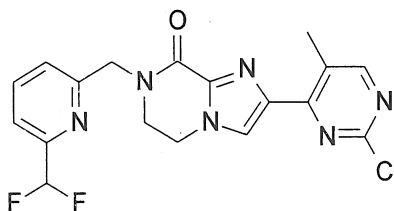


Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (22,95mg, 0,03mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 51; 205mg, 0,51mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (123mg, 1,27mmol) và Cs₂CO₃ (330mg, 1,01mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 15; 122mg, 51,8%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 2,50 (3H, s),

3,70 (3H, s), 3,87 - 3,95 (2H, m), 4,42 - 4,50 (2H, m), 4,87 (2H, s), 6,30 (1H, d), 6,95 (1H, t), 7,33 (1H, d), 7,61 (2H, t), 7,94 (1H, s), 8,00 (1H, t), 8,32 (1H, s), 9,24 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 466.

Hợp chất trung gian 51

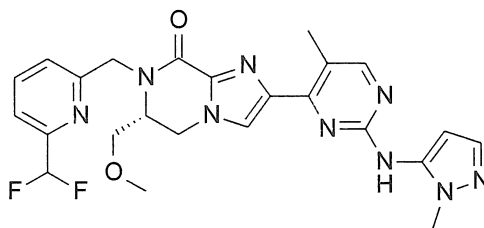
2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on



Bổ sung 6-(diflometyl)picolinaldehyt (hợp chất trung gian 39; 123mg, 0,78mmol) vào etyl 1-(2-aminoetyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 21; 200mg, 0,52mmol), DIPEA (0,274mL, 1,57mmol) và AcOH (0,090mL, 1,57mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (332mg, 1,57mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ và sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 3 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL), chiết bằng DCM (2 x 75mL), làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 51; 205mg, 97%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20°C) δ 2,74 (3H, d), 3,95 - 4,04 (2H, m), 4,27 - 4,39 (2H, m), 4,94 (2H, s), 6,43 - 6,73 (1H, m), 7,57 (2H, d), 7,84 (1H, t), 7,96 (1H, s), 8,42 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 405.

Ví dụ 16

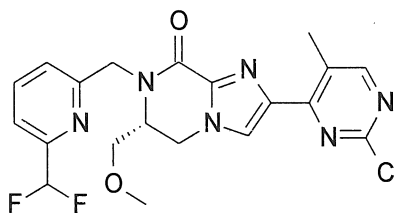
(R)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (30,3mg, 0,03mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(difluorometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 52; 150mg, 0,33mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (81mg, 0,84mmol) và Cs₂CO₃ (218mg, 0,67mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn thu được bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 6% MeOH trong DCM để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế phần cặn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-7-((6-(difluorometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 16; 27mg, 15,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 25°C) δ 2,50 (3H,s), 3,20 (3H, s), 3,34 - 3,42 (1H, m), 3,52 (1H, dd), 3,71 (3H, s), 4,15 (1H, s), 4,59 (3H, d), 5,24 (1H, d), 6,28 - 6,33 (1H, m), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,59 - 7,66 (2H, m), 7,95 - 8,04 (2H, m), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 510.

Hợp chất trung gian 52

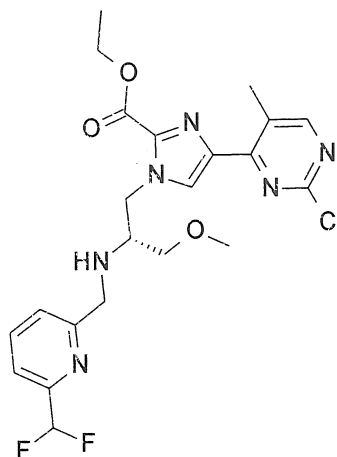
(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(difluorometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy dung dịch chứa (*R*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)-3-metoxypropyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 53; 360mg, 0,73mmol) trong NH₃ trong MeOH (20mL, 140,00mmol) ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 48 giờ. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-2-(2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 52; 300mg, 92%) dưới dạng chất rắn màu vàng. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 449.

Hợp chất trung gian 53

(*R*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)-3-metoxypropyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

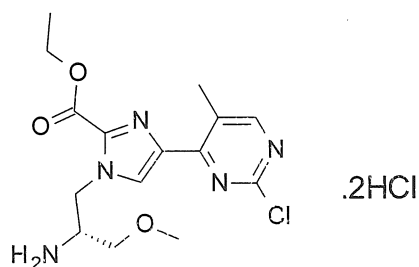


Bổ sung 6-(diflometyl)picolinaldehyt (442mg, 2,81mmol) vào (*R*)-etyl 1-(2-amino-3-metoxypropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 54; 400mg, 0,94mmol) trong DCM (20mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 3 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (596mg, 2,81mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 3 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL), chiết bằng DCM (2 x 50mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-

yl)methyl)amino)-3-metoxypopyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 53; 360mg, 78%) dưới dạng chất rắn màu vàng. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 495$.

Hợp chất trung gian 54

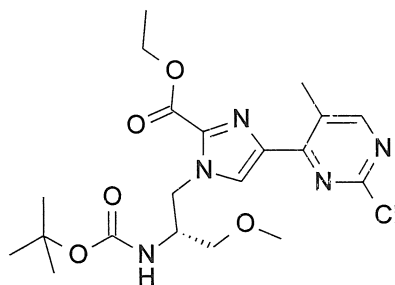
(*R*)-etyl 1-(2-amino-3-metoxypopyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua



Khuấy dung dịch chứa (*R*)-etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-metoxypopyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 55; 1g, 2,20mmol) trong 1,4-dioxan/HCl (20mL) ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng EtOAc (20mL) và làm khô trong chân không để thu được (*R*)-etyl 1-(2-amino-3-metoxypopyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 54; 0,80g, 85%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 22°C) δ 1,36 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,48 - 3,66 (5H, m), 3,85 (1H, s), 4,39 (2H, q), 4,64 - 4,79 (2H, m), 8,36 (2H, s), 8,41 (1H, s), 8,62 - 8,67 (1H, m). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 354$.

Hợp chất trung gian 55

(*R*)-etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-metoxypopyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

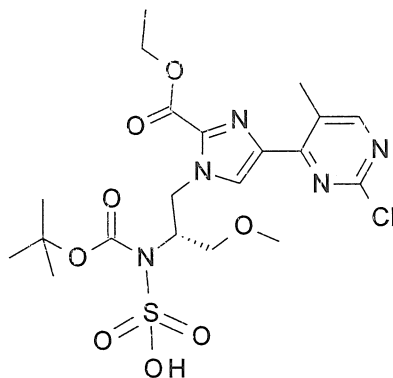


Bổ sung HCl 1M (20mL, 20,00mmol) vào axit (*R*)-((*tert*-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)-3-metoxypopyl)-2-

yl)sulfamic (hợp chất trung gian 56; 5g, 9,36mmol) trong EtOH (20mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 20 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL), chiết bằng DCM (3 x 100mL), làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-etyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-metoxypropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 55; 1,0g, 23,53%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 22°C) δ 1,32 (9H, s), 1,47 (3H, t), 2,71 (3H, s), 3,40 (3H, s), 3,51 (2H, qd), 4,24 (1H, d), 4,41 - 4,57 (3H, m), 4,73 (1H, dd), 5,11 (1H, d), 7,98 (1H, s), 8,41 (1H, s).

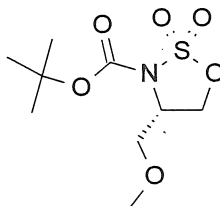
Hợp chất trung gian 56

Axit (*R*)-(tert-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)-3-metoxyproman-2-yl)sulfamic



Bổ sung từng phần (*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 57; 3,26g, 12,19mmol) vào etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 2,5g, 9,37mmol), K₂CO₃ (3,89g, 28,12mmol) và 18-mạch vòng-6 (0,496g, 1,87mmol) trong 1,4-dioxan (30mL) ở nhiệt độ 100°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 12 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng và rửa bằng DCM và loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn axit (*R*)-(tert-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)-3-metoxyproman-2-yl)sulfamic (5,00g, 100%) dưới dạng dầu màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp trong giai đoạn tiếp theo. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 534.

Hợp chất trung gian 57

(S)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit

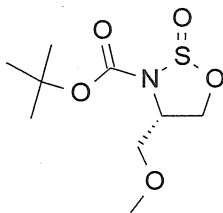
Vào dung dịch chứa (4*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2-oxit (hợp chất trung gian 58; 3,34g, 13,29mmol) trong axetonitril (30mL) ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ được bổ sung tuần tự natri metaperiodat (3,13g, 14,62mmol), Ruteni(III) clorua (0,276g, 1,33mmol) và nước (30,0mL) và sau đó khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 3 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (100mL) và lọc để loại bỏ muối vô cơ không tan. Chiết dung dịch thu được bằng ete (2 x 100mL), rửa bằng nước muối (2 x 100mL) và làm khô trên MgSO₄ để tạo ra (*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 57; 2,86g, 80%) dưới dạng dầu. ¹H NMR (500 Mhz, CDCl₃, 27°C) 1,56 (9H, s), 3,41 (3H, s), 3,59 (1H, t), 3,66 (1H, ddd), 4,38 (1H, dddd), 4,52 - 4,67 (2H, m). *m/z*: ES+ [M+H]⁺ 268.

Điều chế hợp chất trung gian 57 theo cách khác:

Bổ sung dung dịch chứa natri metaperiodat (95g, 444,49mmol) và ruteni clorua (0,349g, 1,33mmol) trong nước (800mL) vào dung dịch chứa *tert*-butyl (4*S*)-4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2-oxit (hợp chất trung gian 58; 111,7g, 444,49mmol) trong axetonitril (800mL) ở nhiệt độ 10°C. Phản ứng được thể hiện là hoàn thành bằng ¹H NMR ngay sau khi bổ sung. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng MTBE (1000mL) và các lớp được tách riêng. Rửa lớp hữu cơ bằng nước (2 x 500mL) và cô để thu được (*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 57; 115g, 95%) dưới dạng dầu. ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 1,54 (s, 9H), 3,40 (s, 3H), 3,61 (d, 2H), 4,46 (qd, 1H), 4,60 (dd, 1H), 4,68 (dd, 1H).

Hợp chất trung gian 58

(4*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2-oxit



Bổ sung imidazol (1,629g, 23,92mmol) trong một phần vào thionyl clorua (1,75mL, 23,92mmol) và triethylamin (3,33mL, 23,92mmol) trong DCM (100mL) và làm lạnh xuống -78°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được trong thời gian 20 phút. Bổ sung từng giọt dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (1-hydroxy-3-metoxypentan-2-yl)carbamate (hợp chất trung gian 59; 4,91g, 23,92mmol) trong DCM (26,7mL) trong thời gian 10 phút. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 3 giờ và sau đó để cho ấm lên đến nhiệt độ phòng. Bổ sung nước (100mL) vào hỗn hợp phản ứng này, và sau đó chiết bằng DCM (2 x 100mL). Các chất hữu cơ được kết hợp và rửa bằng nước muối (100mL), làm khô trên MgSO_4 và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, rửa giải bằng Et_2O 10% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (4*S*)-*tert*-butyl 4-(methoxymethyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylate 2-oxide (hợp chất trung gian 58; 3,34g, 55,6%) dưới dạng dầu không màu và dưới dạng hỗn hợp 2:1 của các chất đồng phân không đối quang. ^1H NMR (500 Mhz, CDCl_3 , 27°C) 1,55 - 1,58 (9H, d), 3,31 (0,5H, t), 3,41 (3H, s), 3,52 - 3,63 (1H, m), 3,90 (0,5 H, dd), 4,17 - 4,4 (1H, m), 4,64 - 4,92 (1H, m), 4,94 - 5,07 (1H, m). m/z : $\text{ES}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ 252$.

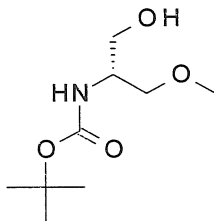
Điều chế hợp chất trung gian 58 theo cách khác:

Bổ sung triethylamin (568g, 5,61 mol) vào dung dịch chứa 1*H*-imidazole (672g, 9,76 mol) trong diclometan (5 l) và làm lạnh dung dịch thu được xuống -60°C . Bổ sung từng giọt thionyl clorua (377g, 3,17 mol) với hỗn hợp duy trì nhiệt độ ở dưới -50°C (2 giờ). (*R*)-*tert*-butyl (1-hydroxy-3-metoxypentan-2-yl)carbamate (hợp chất trung gian 59; 500g, 2,44 mol) hòa tan trong diclometan (5 l) sau đó bổ sung từng giọt trong khoảng thời gian từ 4 đến 5 giờ giữ nhiệt độ ở dưới -55°C trong quá trình bổ sung. Khi toàn bộ nguyên liệu bắt đầu được bổ sung, để phản ứng ấm lên đến nhiệt độ phòng qua đêm. Sau đó rót hỗn hợp phản ứng vào nước (~3 l), các lớp tách riêng, và chiết lớp nước bằng DCM (1 l). Làm khô các lớp hữu cơ kết hợp trên MgSO_4 , và lọc hỗn hợp qua nút silic oxit (2 Kg) rửa giải bằng diclometan, và cô trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra dầu.

Đặt dầu này dưới chân không cao có khuấy để loại bỏ diclometan dư để tạo ra (4*S*)-*tert*-butyl 4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2-oxit (hợp chất trung gian 58; 489g, 80%) dưới dạng dầu và dưới dạng hỗn hợp 36:64 của các chất đồng phân không đối quang.

Hợp chất trung gian 59

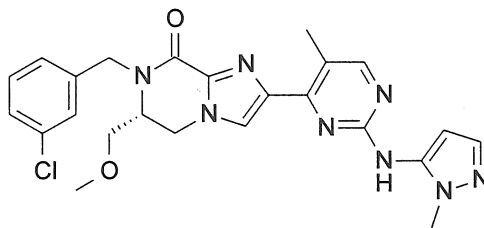
(*R*)-*tert*-butyl (1-hydroxy-3-metoxypropan-2-yl)carbammat



Bổ sung từng giọt *iso*-butyl clorofomat (0,599mL, 4,56mmol) vào axit (*S*)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-metoxypropanoic (1g, 4,56mmol) và *N*-metylmorpholin (0,501mL, 4,56mmol) trong THF (6mL) và làm lạnh xuống 0°C trong khoảng thời gian 15 phút trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút nữa. Bổ sung từ từ natri bohydrua (0,500g, 13,23mmol) hòa tan trong nước (1,2mL) vào phản ứng ở nhiệt độ 0°C. Khuấy phản ứng trong thời gian 30 phút trước khi được pha loãng bằng EtOAc (50mL) và làm trung hòa bằng HCl trong nước (2M). Bổ sung nước (50mL) và lớp hữu cơ được tách ra, rửa bằng nước muối (50mL) và làm khô trên MgSO₄. Sự bay hơi của dung môi tạo ra hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 50% EtOAc trong heptan. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-*tert*-butyl (1-hydroxy-3-metoxypropan-2-yl)carbammat (hợp chất trung gian 59; 0,510g, 54,5%) dưới dạng dầu không màu. ¹H NMR (500 Mhz, CDCl₃, 27°C) 1,45 (9H, s), 3,36 (3H, s), 3,5 - 3,62 (2H, m), 3,64 - 3,73 (1H, m), 3,74 - 3,84 (2H, m), 5,16 (1H, s). *m/z*: ES+ [M+Na]⁺ 228.

Ví dụ 17

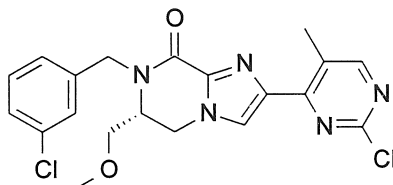
(*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (30,8mg, 0,03mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 60; 150mg, 0,35mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (84mg, 0,87mmol) và Cs₂CO₃ (226mg, 0,69mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế phần cặn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được (*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 17; 34,0mg, 19,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24°C) δ 2,51(3H, s), 3,18 (3H, s), 3,29 (1H, s), 3,40 (1H, dd), 3,70 (3H, s), 4,04 (1H, s), 4,39 - 4,57 (3H, m), 5,09 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,31 - 7,50 (5H, m), 7,94 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 493.

Hợp chất trung gian 60

(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

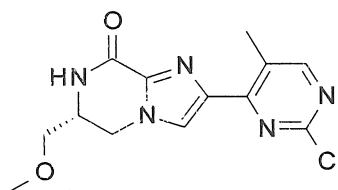


Bổ sung 1-(brommetyl)-3-clobenzen (187mg, 0,91mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp

chất trung gian 61; 140mg, 0,45mmol) và NaH (54,6mg, 1,36mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 25mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần rắn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 60; 150mg, 76%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 25°C) δ 2,81 (3H, s), 3,30 (4H, s), 3,41 (1H, s), 3,84 (1H, s), 4,17 - 4,28 (2H, m), 4,43 (1H, d), 5,44 (1H, d), 7,33 (2H, d), 7,40 (2H, s), 7,97 (1H, s), 8,04 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 432.

Hợp chất trung gian 61

(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy dung dịch chứa (*R*)-etyl 1-(2-amino-3-metoxypopyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 54; 400mg, 0,94mmol) trong NH₃ trong MeOH (15mL, 105,00mmol) ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 61; 280mg, 97%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 23°C) δ 2,78 (3H, s), 3,43 (3H, s), 3,49 - 3,58 (2H, m), 4,16 - 4,33 (2H, m), 4,37 (1H, dd), 6,56 (1H, s), 8,01 (1H, s), 8,45 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 308.

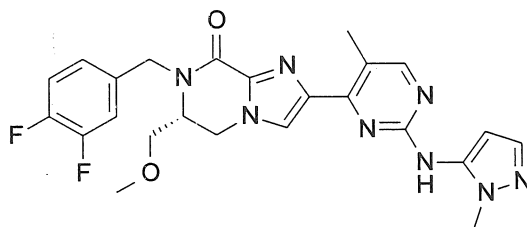
Điều chế hợp chất trung gian 61 theo cách khác:

Bổ sung dung dịch chứa *tert*-butyl (*S*)-4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 57; 105g, 383,60mmol) trong axeton (500mL)

vào hỗn dịch có khuấy của ethyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 93g, 348,73mmol) và K₂CO₃ (57,8g, 418,47mmol) trong hỗn hợp của axeton (500mL) và 1,4 đioxan (500mL) ở nhiệt độ phòng. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 16 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng và cô dịch lọc đến 500 ml. Bổ sung HCl trong iso-propylalcohol (5-6N, 500mL, 2500mmol) vào dung dịch đã cô, và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 24 giờ. Sau đó bổ sung Et₃N (486mL, 3487,26mmol) với hỗn hợp và khuấy ở nhiệt độ 55°C trong thời gian 16 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (1500mL) và lọc chất rắn thu được. Rửa bánh chất rắn bằng nước (400mL) và hỗn hợp 1: 1 của axeton/nước (200 ml × 2) để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo [1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (82g, 76%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20 °C) δ 2,62 (s, 3H), 3,27 (s, 3H), 3,39 (dd, 2H), 3,99 (s, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,43 (dd, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,59 (s, 1H). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 308.

Ví dụ 18

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (0,784g, 0,86mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 62; 7,5g, 17,29mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (4,20g, 43,22mmol) và Cs₂CO₃ (11,27g, 34,58mmol) trong 1,4-dioxan (200mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được phần cần. Tinh chế phần cần này thêm bằng sắc ký nhanh C18, gradien rửa giải từ 5 đến 50% MeCN trong nước (NH₄HCO₃ 0,1%). Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-

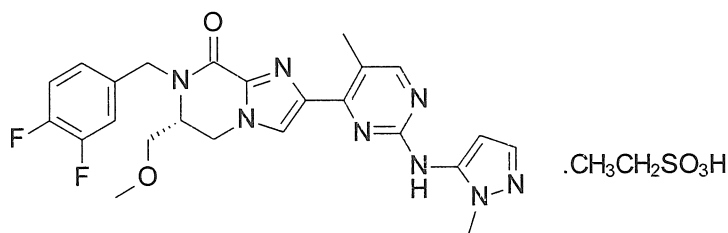
pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 18; 5,50g, 64,3%) dưới dạng chất rắn. (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on được xác định là vô định hình bằng XRPD.

Điều chế hợp chất của ví dụ 18 theo cách khác:

Vào hỗn hợp của (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 62; 104,7g, 225,64mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (33,5g, 338,47mmol) trong 2-metyl tetrahydrofuran (1200mL) và Cs₂CO₃ (147g, 451,29mmol) trong nước (120mL) được bổ sung 2'-(dixyclohexylphosphanyl)-*N,N*-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (7,10g, 18,05mmol) và Pd₂(dba)₃ (8,27g, 9,03mmol) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khử khí hỗn hợp thu được 3 lần trong điều kiện khí nitơ và sau đó khuấy ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 24 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ phòng và các lớp được tách riêng. Rửa lớp hữu cơ bằng liên tục bằng nước (500mL), axit xitric trong nước (1N, 600mL) và nước (200mL). Bổ sung silicycle (Si-SH, 150 g) vào lớp hữu cơ ở nhiệt độ 40°C và khuấy trong thời gian 20 giờ. Sau khi lọc cô dịch lọc và tinh chế phân cấn bằng sắc ký SFC bằng cách sử dụng cột Kromasil DIOL, gradien rửa giải 25% EtOH/NH₃ 100/0,5 trong CO₂, 140 bar. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 18; 72,6g, 65%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (500 Mhz, DMSO) δ 2,51 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,30 (1H, dd), 3,39 (1H, dd), 3,69 (3H, s), 4,03 (1H, dtd), 4,38 (1H, d), 4,44 (1H, dd), 4,51 (1H, dd), 5,08 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,22 - 7,28 (1H, m), 7,33 (1H, d), 7,41 (1H, dt), 7,47 (1H, ddd), 7,93 (1H, s), 8,31 (1H, s), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 495.

Ví dụ 18a

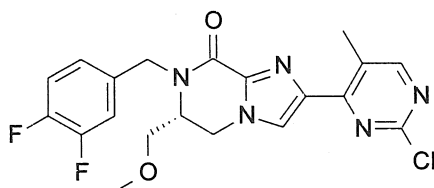
Điều chế sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1



Bổ sung dung dịch chứa axit etansulfonic (17,02mL, 210,59mmol) trong axetonitril (100mL) vào dung dịch nóng của (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 18; 114g, 200,56mmol) trong MeCN (500mL) ở nhiệt độ 55°C. Làm lạnh từ từ hỗn hợp phản ứng xuống 5°C trong 24 giờ, lọc chất rắn thu được và rửa bằng MeCN lạnh (200mL) để thu được sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic Dạng 1 của (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 18a; 119g, 98%) dưới dạng chất rắn. Sản phẩm cộng hợp được xác định bằng ¹H NMR là có tỉ lệ mol 1:1 của axit etansulfonic:(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on. ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 24 °C) δ 1,08 (3H, t), 2,44 - 2,49 (2H, m), 2,51 (3H, s), 3,16 (3H, s), 3,32 (1H, dd), 3,41 (1H, dd), 3,76 (3H, s), 3,97 - 4,12 (1H, m), 4,32 - 4,62 (3H, m), 5,08 (1H, d), 6,48 (1H, d), 7,17 - 7,30 (1H, m), 7,34 - 7,52 (2H, m), 7,55 (1H, d), 8,04 (1H, s), 8,39 (1H, s), 9,67 (1H, s). Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 được xác định là kết tinh bằng XRPD (Fig.1) và có điểm nóng chảy là 203,8°C (bắt đầu) (Fig.2).

Hợp chất trung gian 62

(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



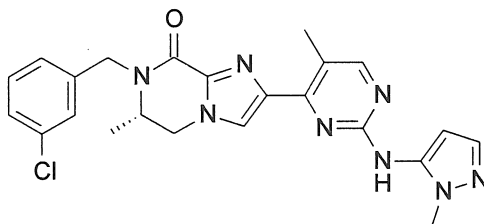
Bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (6,05g, 29,25mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 61; 6g, 19,50mmol) và NaH (2g, 50.mmol) trong DMF (80mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (400mL), chiết bằng EtOAc (3 x 250mL), rửa các lớp hữu cơ bằng nước muối, làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 62; 8,00g, 95%) dưới dạng chất rắn màu vàng sáng. ¹H NMR (300 Mhz, CDCl₃) δ 2,76 (3H, s), 3,25-3,35 (1H, m), 3,28 (3H, s), 3,35-3,42 (1H, m), 3,78-3,85 (1H, m), 4,18-4,26 (2H, m), 4,42 (1H, d), 5,34 (1H, d), 7,08-7,30 (3H, m), 7,95 (1H, s), 8,43 (1H, s). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 434.

Điều chế hợp chất trung gian 62 theo cách khác:

Bổ sung Cs₂CO₃ (115g, 354,44mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 61: 79,5g, 253,17mmol) trong MeCN (800mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Gia nhiệt hỗn hợp thu được lên 40°C và chưng cất MeCN (100mL) ra. Bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (64,2g, 303,80mmol) ở nhiệt độ 60°C và khuấy ở nhiệt độ 60-70°C trong thời gian 20 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng đến 500 ml và pha loãng bằng EtOAc (1000mL) và nước (500mL). Các lớp được tách riêng và rửa lớp hữu cơ bằng nước (2 x 500mL) và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy phần cặn trong hỗn hợp của MTBE (120mL) và heptan (480mL) ở nhiệt độ 40°C, lọc chất rắn thu được và rửa bằng heptan (250mL) để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (100g, 91%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24 °C) δ 2,37 (3H,s), 3,04 (3H, s), 3,11 - 3,19 (1H, m), 3,28 (1H, dd), 3,92 (1H, m), 4,27 (1H, d), 4,35 (2H d), 4,95 (1H, d), 7,06 - 7,22 (1H, m), 7,22 - 7,48 (2H, m), 8,13 (1H, s), 8,47 (s, 1H). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 434..

Ví dụ 19

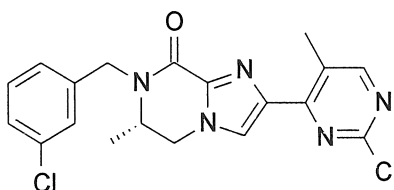
(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (33,1mg, 0,04mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 63; 150mg, 0,37mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (91mg, 0,93mmol) và Cs₂CO₃ (243mg, 0,75mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế phần cặn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 19; 71,0mg, 41,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24°C) δ1,14 (3H, d), 2,53 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,00 (1H, s), 4,30 - 4,48 (3H, m), 5,07 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,31 - 7,45 (4H, m), 7,48 (1H, s), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, s), 9,22 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 463.

Hợp chất trung gian 63

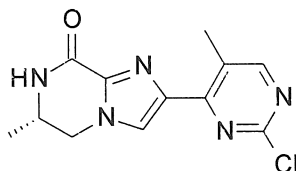
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 1-(brommetyl)-3-clobenzen (1332mg, 6,48mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 64; 300mg, 1,08mmol) và NaH (259mg, 6,48mmol) trong DMF (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25mL), chiết bằng EtOAc (2 x 25mL), rửa các lớp hữu cơ bằng nước muối và làm khô trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 10 đến 60% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 63; 300mg, 69,0%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 22°C) δ 1,24 - 1,34 (3H, m), 2,81 (3H, s), 3,84 - 3,92 (1H, m), 4,03 - 4,19 (2H, m), 4,37 (1H, dd), 5,45 (1H, d), 7,27 (1H, d), 7,30 - 7,34 (2H, m), 7,38 (1H, s), 7,99 (1H, s), 8,45 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 402.

Hợp chất trung gian 64

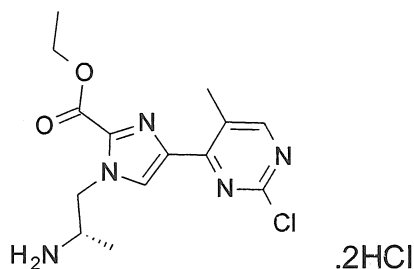
(*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy dung dịch chứa (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 65; 2,8g, 7,77mmol) trong NH₃ (7N trong MeOH, 20mL, 140mmol) ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (2,1g, 97%) dưới dạng chất rắn màu trắng, mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 278.

Hợp chất trung gian 65

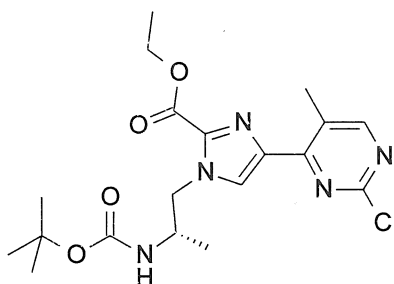
(*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua



Khuấy dung dịch chứa (*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 66; 3,4g, 8,02mmol) trong HCl 33% (khí) trong EtOH (20mL) ở nhiệt độ 25°C qua đêm. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 65; 2,80g, 97%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24°C) δ 1,28 (3H, d), 1,35 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,74 (1H, s), 4,39 (2H, q), 4,58 - 4,76 (2H, m), 8,37 (2H, s), 8,47 (1H, s), 8,61 - 8,67 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 324.

Hợp chất trung gian 66

(*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

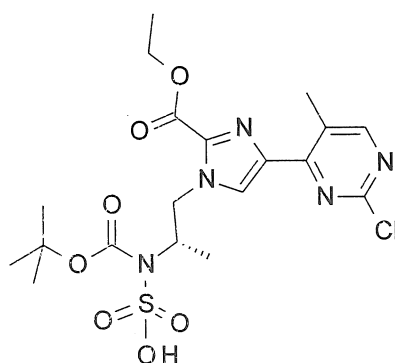


Bổ sung HCl 1M (20mL, 20,00mmol) vào axit (*S*)-(*tert*-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic (hợp chất trung gian 67; 5g, 9,92mmol) trong EtOH (20mL) ở nhiệt độ 25°C trong không khí. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 20 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL), chiết bằng DCM (3 x 100mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-ethyl 1-(2-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)propyl)-4-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-

carboxylat (hợp chất trung gian 66; 3,40g, 81%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 24°C) δ 1,27 (3H, dd), 1,35 (9 H, s), 1,48 (3H, t), 2,72 (3H, s), 4,09 - 4,18 (1H, m), 4,47 (3H, qd), 4,64 (2H, dd), 8,01 (1H, s), 8,42 (1H, s). m/z (ES $^+$), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 424$.

Hợp chất trung gian 67

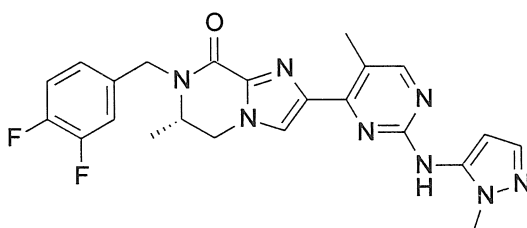
Axit (S) -(*tert*-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic



Bổ sung từng phần (S) -*tert*-butyl 4-metyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 12; 3,34g, 14,06mmol) vào etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 3g, 11,25mmol) và K_2CO_3 (3,11g, 22,50mmol) trong axetonitril (3mL) ở nhiệt độ 80°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 85°C trong thời gian 4 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng và rửa bằng MeCN, loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất mong muốn axit (S) -(*tert*-butoxycarbonyl)(1-(4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-2-(etoxycarbonyl)-1*H*-imidazol-1-yl)propan-2-yl)sulfamic (5,00g, 88%) dưới dạng dầu màu vàng. m/z (ES $^+$), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 504$.

Ví dụ 20

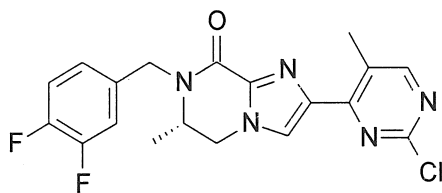
(S) -7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy (S)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 68; 189mg, 0,47mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (91mg, 0,94mmol), Cs₂CO₃ (457mg, 1,40mmol) và chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (42,4mg, 0,05mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) dưới khí nitơ ở nhiệt độ 110°C trong thời gian 8 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 4 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được chất rắn màu vàng. Tinh chế chất rắn thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,01%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (S)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 20; 63,8mg, 29,3%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 24,8°C) δ 1,14 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,95 - 4,03 (1H, m), 4,29 - 4,38 (2H, m), 4,44 (1H, dd), 5,06 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,27 (1H, s), 7,34 (1H, d), 7,37 - 7,53 (2H, m), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,21 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 465.

Hợp chất trung gian 68

(S)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

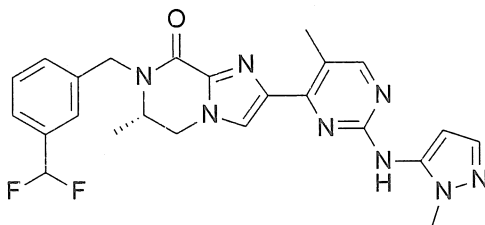


Bổ sung NaH (108mg, 2,70mmol) vào (S)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 64; 250mg, 0,90mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 30 phút. Sau đó bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (373mg, 1,80mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (15mL), chiết bằng EtOAc (4 x 10mL). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước (3 x 20mL), nước muối (20mL). Làm

khô các lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 3% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 68; 189mg, 52%) dưới dạng chất rắn màu vàng. m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 404$.

Ví dụ 21

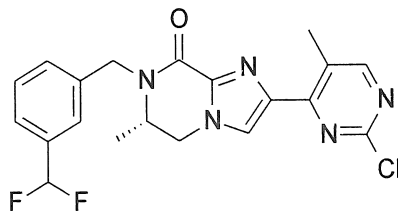
(*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (12,44mg, 0,02mmol) vào Cs_2CO_3 (304mg, 0,93mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (91mg, 0,93mmol) và (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 69; 130mg, 0,31mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 21; 85mg, 57,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,12 (3H, s), 2,40 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10 (1H, m), 4,36-4,44 (3H, m), 5,14 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,04 (1H, t), 7,33 (1H, d), 7,50-7,59 (4H, m), 7,93 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 479$.

Hợp chất trung gian 69

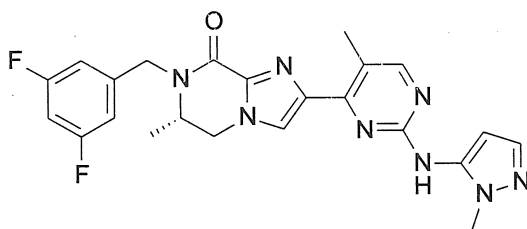
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 1-(brommetyl)-3-(diflometyl)benzen (207mg, 0,94mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 64; 130mg, 0,47mmol) và NaH (56,2mg, 1,40mmol) trong DMF (3mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NaHCO₃ bão hòa (50mL), chiết bằng EtOAc (2 x 50mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (130mg, 66,5%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 418.

Ví dụ 22

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

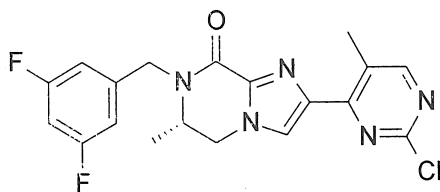


Bổ sung chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (12,88mg, 0,02mmol) vào 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (94mg, 0,97mmol), (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 70; 130mg, 0,32mmol) và Cs₂CO₃ (315mg, 0,97mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký

trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 7% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần. Tinh chế hợp chất thô further bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 22; 60mg, 40,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,15 (3H, d), 2,60 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10 (1H, m), 4,32-4,38 (2H, m), 4,46-4,52 (1H, dd), 5,08 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,12-7,18(3H, m), 7,33(1H, s), 7,93 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 465$.

Hợp chất trung gian 70

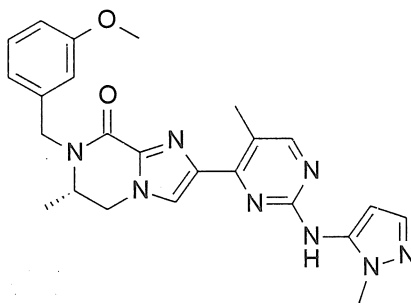
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 1-(brommetyl)-3,5-diflobenzen (194mg, 0,94mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 64; 130mg, 0,47mmol) và NaH (37,4mg, 0,94mmol) trong DMF (3mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 18 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NaHCO₃ bão hòa (50mL), chiết bằng EtOAc (2 x 50mL), làm khô các lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 70; 130mg, 68,8%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 1,15 (3H, d), 2,64 (3H, s), 4,02 (1H, s), 4,26 - 4,42 (2H, m), 4,47 - 4,57 (1H, m), 5,09 (1H, d), 7,15 (3H, d), 8,27 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 404$.

Ví dụ 23

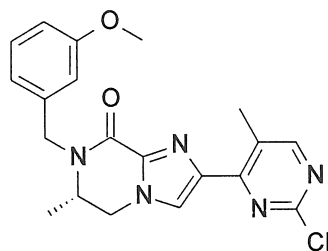
(*S*)-7-(3-methoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-methoxybenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 71; 193mg, 0,49mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (94mg, 0,97mmol), Cs₂CO₃ (474mg, 1,46mmol) và chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (44,0mg, 0,05mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) dưới khí nito ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 3 đến 5% MeOH trong DCM, làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn đến khô để thu được chất rắn màu vàng. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,01%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-7-(3-methoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 23; 81mg, 36,2%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 22,4°C) δ 1,12 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,90 - 3,99 (1H, m), 4,25 - 4,44 (3H, m), 5,09 (1H, d), 6,31 (1H, d), 6,87 (1H, ddd), 6,92 - 7,00 (2H, m), 7,29 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,22 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 459.

Hợp chất trung gian 71

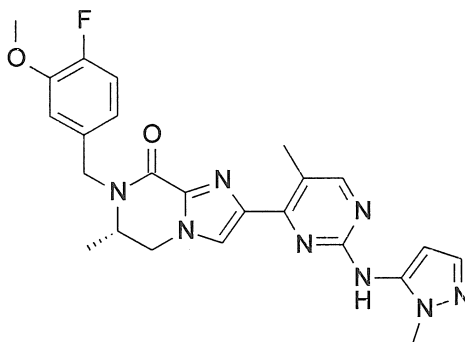
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-methoxybenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Mẻ 1: Bổ sung NaH (8,64mg, 0,22mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 64; 20mg, 0,07mmol) trong DMF (1mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 1-(brommetyl)-3-metoxibenzen (29,0mg, 0,14mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ. Mẻ 2: Bổ sung NaH (56,2mg, 1,40mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (130mg, 0,47mmol) trong DMF (3mL) ở nhiệt độ 20°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 1-(brommetyl)-3-metoxibenzen (188mg, 0,94mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 2 giờ. 2 mẻ nguyên liệu được kết hợp và quy trình sau đây được áp dụng với các mẻ kết hợp: Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (15mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước (2 x 15mL), nước muối (15mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxibenzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 71; 193mg, 89%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 23,0°C) δ 1,29 (3H, d), 2,81 (3H, s), 3,80 - 3,93 (4H, m), 3,98 - 4,13 (1H, m), 4,34 (1H, dd), 5,32 (1H, s), 5,50 (1H, d), 6,84 - 6,99 (3H, m), 7,31 (1H, d), 7,97 (1H, s), 8,45 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 398.

Ví dụ 24

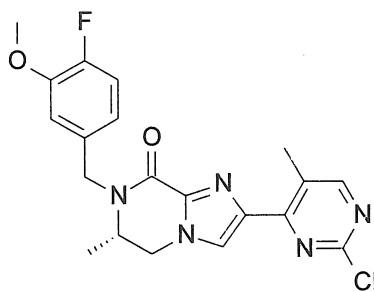
(*S*)-7-(4-flo-3-metoxibenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy (S)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(4-flo-3-metoxymethyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 72; 205mg, 0,49mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (96mg, 0,99mmol), Cs₂CO₃ (482mg, 1,48mmol) và chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (44,7mg, 0,05mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) dưới khí nitơ ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được chất rắn màu vàng. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,01%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (S)-7-(4-flo-3-metoxymethyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 24; 59,0mg, 25,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 22,3°C) δ 1,13 (3H, d), 2,53 (3H, d), 3,70 (3H, s), 3,85 (3H, s), 3,95 (1H, dd), 4,23 - 4,44 (3H, m), 5,10 (1H, d), 6,31 (1H, d), 6,96 (1H, ddd), 7,14 - 7,24 (2H, m), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,33 (1H, d), 9,22 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 477.

Hợp chất trung gian 72

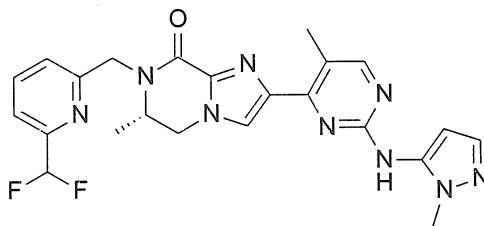
(S)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-(4-flo-3-metoxymethyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on



Mẻ 1: Bổ sung NaH (56,2mg, 1,40mmol) vào (*S*)-2-(2-(4-(3-methoxybenzyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (130mg, 0,47mmol) trong DMF (3mL) ở nhiệt độ 20°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 4-(brommetyl)-1-flo-2-metoxibenzen (205mg, 0,94mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 2 giờ. Mẻ 2: Bổ sung NaH (8,64mg, 0,22mmol) vào (*S*)-2-(2-(4-(3-methoxybenzyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (20mg, 0,07mmol) trong DMF (1mL) ở nhiệt độ 20°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 4-(brommetyl)-1-flo-2-metoxibenzen (31,6mg, 0,14mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 2 giờ. 2 mẻ nguyên liệu được kết hợp và quy trình sau đây được áp dụng với các mẻ kết hợp: Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (15mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Kết hợp các lớp hữu cơ và rửa bằng nước (2 x 15mL), nước muối (15mL) và làm khô các lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-(4-(3-methoxybenzyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (205mg, 91%) dưới dạng dầu màu vàng. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 416.

Ví dụ 25

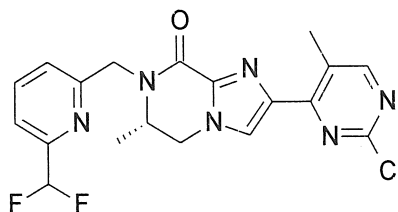
(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (0,541g, 0,60mmol) vào Cs_2CO_3 (11,67g, 35,81mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (3,48g, 35,81mmol) và (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 73; 5g, 11,94mmol) trong 1,4-dioxan (100mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp phản ứng và loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần. Tinh chế phần cần này thêm bằng sắc ký nhanh C18, gradien rửa giải từ 5 đến 40% MeCN trong nước (chứa NH_4CO_3 0,1%). Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 25; 3,50g, 61,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,19 (3H, d), 2,45 (3H, s), 2,61 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,03-4,17 (1H, m), 4,33-4,41 (1H, dd), 4,45-4,520 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,60-7,69 (2H, m), 7,96 (1H, s), 7,97-8,02 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,23 (1H, s); m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 480$.

Hợp chất trung gian 73

(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

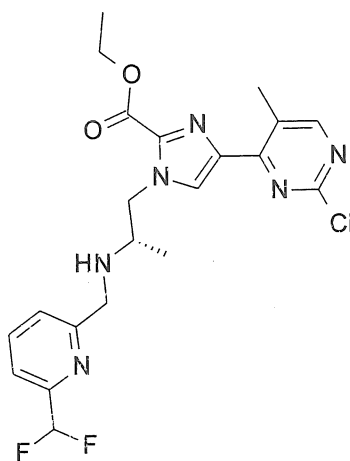


Bổ sung natri axetat (2,047g, 24,95mmol) vào (*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 74; 5,8g, 12,48mmol) trong etanol (tuyệt đối, 99,5%, 100mL).

Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 18 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 73; 5,00g, 96%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 419$.

Hợp chất trung gian 74

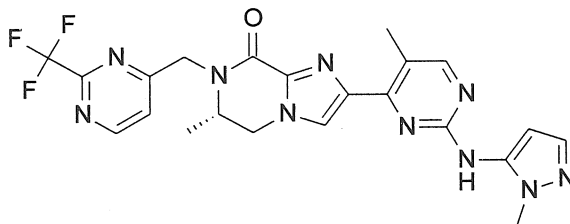
(*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung natri triaxetoxibohydrat (9,62g, 45,37mmol) vào DIPEA (7,92mL, 45,37mmol), (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 65; 6g, 15,12mmol), 6-(diflometyl)picolinaldehyt (3g, 19,09mmol) và axit axetic (2,60mL, 45,37mmol) trong DCM (100mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào NaHCO₃ bão hòa (300mL) và chiết bằng DCM (2 x 150mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄ và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 74; 5,8g, 82%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. m/z (ES+), $[M+H]^+ = 465$.

Ví dụ 26

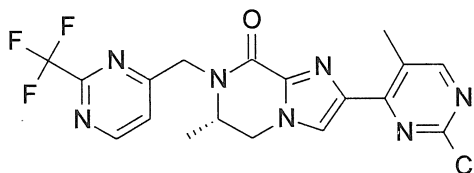
(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 75; 60mg, 0,14mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (39,9mg, 0,41mmol), Cs₂CO₃ (134mg, 0,41mmol) và chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (12,42mg, 0,01mmol) trong 1,4-dioxan (2,5mL) dưới khí nitơ ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được chất rắn màu vàng. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,01%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 26; 21mg, 30,7%) dưới dạng chất rắn màu vàng sáng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 25,5°C) δ 1,44 (3H, d), 2,74 (3H, s), 3,88 (3H, s), 4,21 (1H, dd), 4,30 (1H, t), 4,42 (1H, d), 4,63 (1H, dd), 5,48 (1H, d), 6,38 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,68 (1H, d), 8,09 (1H, s), 8,31 (1H, s), 8,53 (1H, s), 8,90 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 499.

Hợp chất trung gian 75

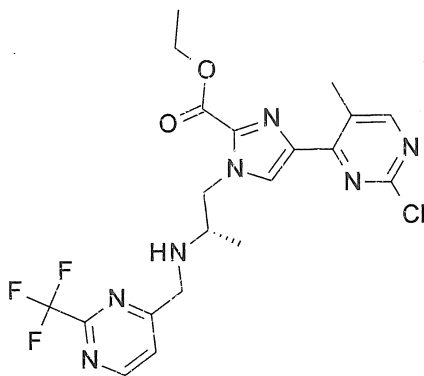
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NH_3 (7N trong MeOH, 10mL) vào (*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 76; 100mg, 0,21mmol) ở nhiệt độ 20°C trong không khí. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 16 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 75; 60mg, 66,3%) dưới dạng dầu không màu. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 438$.

Hợp chất trung gian 76

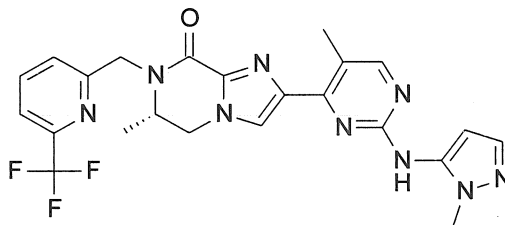
(*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung 2-(triflometyl)pyrimidin-4-carbaldehyt (147mg, 0,83mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 65; 250mg, 0,69mmol) trong DCM (10mL) trong không khí. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 12 giờ. Bổ sung natri triaxetoxibohydrua (441mg, 2,08mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng phản ứng bằng nước (5mL), và chiết bằng DCM (5 x 10mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 2 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 76; 110mg, 32,8%) dưới dạng dầu không màu. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 484$.

Ví dụ 27

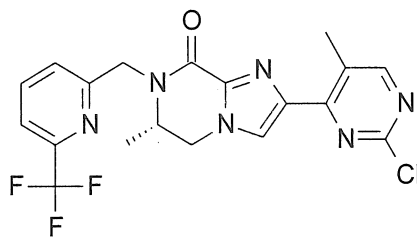
(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (11,90mg, 0,01mmol) vào 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (87mg, 0,89mmol), Cs₂CO₃ (291mg, 0,89mmol) và (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 77; 130mg, 0,30mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 6% MeOH trong DCM, làm bay hơi phân đoạn chứa sản phẩm để thu được chất rắn. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa axit formic 0,1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 27; 100mg, 67,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,20 (3H, d), 2,56 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,05-4,18 (1H, m), 4,37-4,41 (1H, m), 4,51-4,60 (2H, m), 5,212 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,76-7,83 (2H, m), 7,96 (1H, s), 8,06-8,11 (1H, m), 8,32 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 498.

Hợp chất trung gian 77

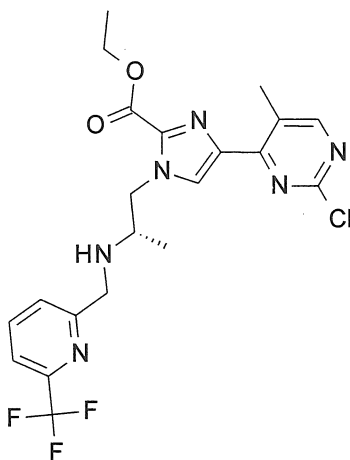
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung (*S*)-ethyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 78; 140mg, 0,29mmol) vào NH₃ (7N trong MeOH) dung dịch (10mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 5 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Nó tạo ra (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 77; 110mg, 87%) dưới dạng chất rắn màu trắng. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 437.

Hợp chất trung gian 78

(*S*)-ethyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat

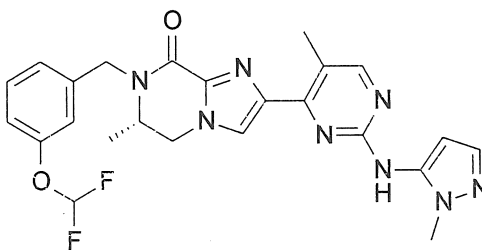


Bổ sung 6-(triflometyl)picolinaldehyt (110mg, 0,63mmol) vào (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 250mg, 0,63mmol) trong DCM (15mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 4 giờ. Sau khi làm nguội xuống nhiệt độ phòng, bổ sung natri triaxetoxybohryua (267mg, 1,26mmol) và khuấy phản ứng trong thời gian 1 giờ. Sau đó làm dừng phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL) và chiết bằng DCM (2 x 50mL). Làm khô các lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng nhạt. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải

MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (S)-ethyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)amino)propyl)-1H-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 78; 140mg, 46%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 483$.

Ví dụ 28

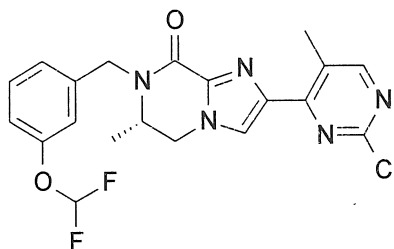
(S)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (11,99mg, 0,01mmol) vào 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (87mg, 0,90mmol), (S)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 79, 130mg, 0,30mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) trong điều kiện khí nitơ và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 7% MeOH trong DCM, làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn để thu được chất rắn. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa 0,1) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (S)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 28; 80mg, 54%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,11(3H, d), 2,60 (3H, s), 3,70 (3H, s), 3,90-4,10 (1H, m), 4,31-4,45 (3H, m), 5,10 (1H, d), 6,29 (1H, d), 7,00-7,50 (4H, m), 7,92(1H, s), 7,83 (1H, s), 8,21 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,21 (1H, s). m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 495$.

Hợp chất trung gian 79

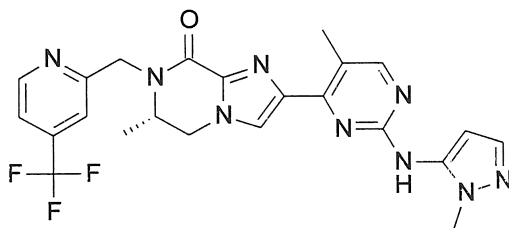
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 3-(diflometoxy)benzaldehyt (108mg, 0,63mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 250mg, 0,63mmol) trong DCM (15mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 4 giờ. Sau đó bổ sung natri triaxetoxxybohydrua (267mg, 1,26mmol) và khuấy phản ứng trong thời gian 1 giờ nữa. Sau đó rót hỗn hợp phản ứng vào NaHCO₃ bão hòa (50mL) và chiết bằng DCM (2 x 50mL). Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được chất rắn màu trắng. Sau đó xử lý chất rắn này bằng NH₃ (7N trong MeOH, 15,00mL) và gia nhiệt trong thời gian 5 giờ ở nhiệt độ 50°C. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (130mg, 47,5%) dưới dạng dầu màu vàng sáng. m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 434.

Ví dụ 29

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

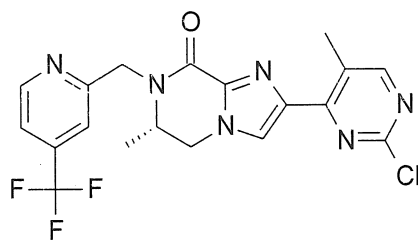


Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (31,1mg, 0,03mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-

dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 80; 300mg, 0,69mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (167mg, 1,72mmol) và Cs₂CO₃ (448mg, 1,37mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 28; 141mg, 41,3%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 1,21 (3H, d), 2,52 (3H, s), 3,71 (3H, s), 4,13 (1H, dd), 4,37 (1H, dd), 4,52 (1H, dd), 4,58 (1H, d), 5,26 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,71 (1H, d), 7,82 (1H, s), 7,95 (1H, s), 8,33 (1H, s), 8,84 (1H, d), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 498.

Hợp chất trung gian 80

(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

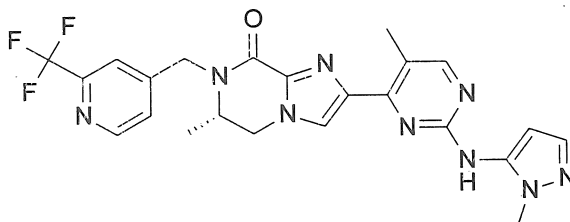


Bổ sung 4-(triflometyl)picolinaldehyt (136mg, 0,78mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 280mg, 0,71mmol), DIPEA (0,37mL, 2,12mmol) và AcOH (0,121mL, 2,12mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (449mg, 2,12mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 2 giờ và sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 8 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL) và chiết bằng DCM (2 x 75mL). Làm khô các lớp hữu cơ kết

hợp trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 80; 300mg, 97%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20°C) δ 1,60 (3H, s), 2,79 (3H, s), 4,07 - 4,20 (1H, m), 4,26 (1H, s), 4,36 - 4,45 (1H, m), 4,50 (1H, dd), 5,54 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,72 (1H, s), 8,00 (1H, s), 8,45 (1H, s), 8,75 (1H, d).

Ví dụ 30

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

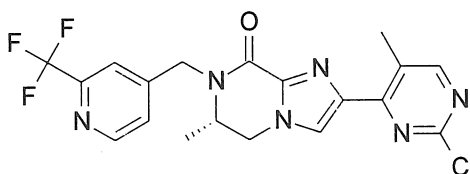


Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (31,1mg, 0,03mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 81; 300mg, 0,69mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (167mg, 1,72mmol) và Cs_2CO_3 (448mg, 1,37mmol) trong 1,4-dioxan (8mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 5 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi hợp chất chứa các phân đoạn đến khô để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế phần cặn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH_3 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 30; 200mg, 58,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 Mhz, DMSO, 23°C) δ 1,18 (3H, d), 2,61 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,00-4,13 (1H, m), 4,30-4,40 (1H, d), 4,45-4,60 (2H, m), 5,18 (1H, d), 6,30(1H, s), 6,20

(1H, d), 7,73 (1H, d), 7,91 (1H, s), 7,96 (1H, s), 8,33 (1H, s), 8,73 (1H, d), 9,23 (1H, s).
 m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 498.

Hợp chất trung gian 81

(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on

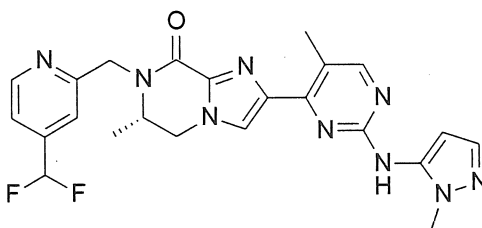


Bổ sung 2-(triflometyl)isonicotinaldehyt (170mg, 0,97mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 350mg, 0,88mmol), DIPEA (0,462mL, 2,65mmol) và AcOH (0,152mL, 2,65mmol) trong DCM (15mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ, bổ sung natri triaxetoxymethydrat (561mg, 2,65mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ và gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 18 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (50mL) và chiết bằng DCM (2 x 75mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (320mg, 83%) dưới dạng dầu màu vàng.

m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 437.

Ví dụ 31

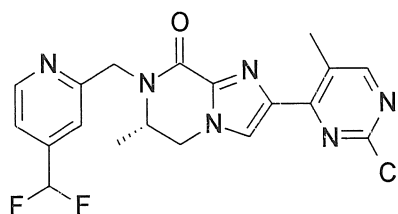
(*S*)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (51,9mg, 0,06mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 82; 240mg, 0,57mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (111mg, 1,15mmol) và Cs₂CO₃ (373mg, 1,15mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 4 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn chứa sản phẩm đến khô để thu được chất rắn. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 31; 92mg, 33,5%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,2°C) δ 1,36 (3H, d), 2,69 (3H, s), 3,82 (3H, s), 4,09 (1H, dd), 4,22 (1H, tt), 4,37 - 4,49 (2H, m), 5,50 (1H, d), 6,31 (1H, d), 6,64 (1H, t), 7,01 (1H, s), 7,36 - 7,43 (1H, m), 7,50 (1H, d), 7,61 (1H, s), 7,75 (1H, s), 8,29 (1H, s), 8,69 (1H, d). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 480.

Hợp chất trung gian 82

(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



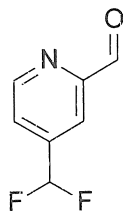
Bổ sung 4-(diflometyl)picolinaldehyt (hợp chất trung gian 83; 154mg, 0,98mmol) vào (*S*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 300mg, 0,76mmol), DIPEA (0,396mL, 2,27mmol) và AcOH (0,130mL, 2,27mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 0,5 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (481mg, 2,27mmol) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ 25°C trong thời

gian 0,5 giờ và gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL) và chiết bằng DCM (2 x 75mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-

dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 82; 240mg, 76%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,5°C) δ 1,37 (3H, d), 2,79 (3H, d), 4,10 (1H, dd), 4,25 (1H, tdd), 4,35 - 4,53 (2H, m), 5,50 (1H, d), 6,64 (1H, t), 7,33 - 7,47 (1H, m), 7,61 (1H, s), 7,99 (1H, s), 8,44 (1H, d), 8,69 (1H, dd). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 419.

Hợp chất trung gian 83

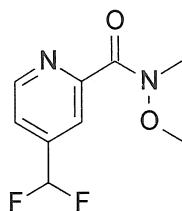
4-(diflometyl)picolinaldehyt



Bổ sung LiAlH₄ (0,274g, 7,22mmol) vào 4-(diflometyl)-*N*-metoxy-*N*-methylpicolinamit (hợp chất trung gian 84; 1,2g, 5,55mmol) trong THF (10mL) được làm lạnh xuống -78°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 20 phút. Bổ sung EtOAc (1mL), sau đó làm dừng phản ứng bằng nước (0,3mL) ở nhiệt độ -78°C. Bổ sung dung dịch NaOH 15% trong nước (1,5mL), thêm nước (0,3mL) và loại bỏ chất rắn thu được bằng cách lọc. Làm khô dịch lọc trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được 4-(diflometyl)picolinaldehyt (hợp chất trung gian 83; 1,09 g) dưới dạng dầu màu xanh lá cây. Sản phẩm được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 158.

Hợp chất trung gian 84

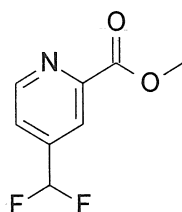
4-(diflometyl)-*N*-metoxy-*N*-methylpicolinamit



Bổ sung trimetyl nhôm (2M trong *n*-hexan, 40,1mL, 80,15mmol) vào *N,O*-dimethylhydroxylamin hydroclorua (6,25g, 64,12mmol) trong DCM (80mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 20 phút trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 20 phút. Bổ sung methyl 4-(difluoromethyl)picolinat (hợp chất trung gian 85; 3,0g, 16,03mmol) trong DCM (20mL) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 2 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaOH 2M (50mL) ở nhiệt độ 0°C và chiết bằng DCM (3 x 100mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 30 đến 40% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 4-(difluoromethyl)-*N*-metoxy-*N*-methylpicolinamit (hợp chất trung gian 84; 2,47g, 71,3%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, MeOD, 20,3°C) δ 3,42 (3H, s), 3,73 (3H, s), 6,94 (1H, t), 7,65 - 7,72 (1H, m), 8,75 - 8,82 (1H, m). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 217.

Hợp chất trung gian 85

Methyl 4-(difluoromethyl)picolinat

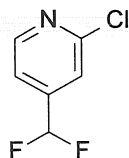


Khuấy 2-clo-4-(difluoromethyl)pyridin (hợp chất trung gian 86; 6,9g, 42,19mmol), kali axetat (8,28g, 84,38mmol) và Pd(dppf)Cl₂ (1,543g, 2,11mmol) trong MeOH (150mL) dưới khí CO ở 10 atm ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 24 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp và làm bay hơi dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 20 đến 30% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được methyl 4-(difluoromethyl)picolinat (hợp chất trung gian 85; 6,30g, 80%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, MeOD, 20,1°C) δ

4,03 (3H, s), 6,98 (1H, t), 7,79 - 7,86 (1H, m), 8,30 (1H, dd), 8,86 (1H, dd). m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 188$.

Hợp chất trung gian 86

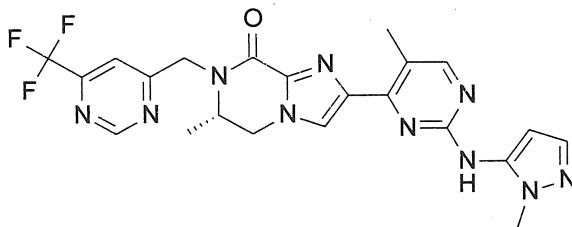
2-clo-4-(diflometyl)pyridin



Bổ sung từng giọt DAST (20,53mL, 155,42mmol) vào 2-cloisonicotinaldehyt (10g, 70,64mmol) trong DCM (150mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 10 phút trong điều kiện khí nitơ. Tăng nhiệt độ lên đến nhiệt độ phòng và khuấy trong thời gian 12 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng và điều chỉnh về độ pH 7-8 bằng NaHCO₃ bão hòa ở nhiệt độ 0°C. Chiết pha nước bằng DCM (3 x 150mL), làm khô pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 5 đến 10% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được 2-clo-4-(diflometyl)pyridin (hợp chất trung gian 86; 7,00g, 60,6%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,5°C) δ 6,65 (1H, t), 7,38 (1H, dd), 7,49 (1H, s), 8,55 (1H, dd). m/z (ES⁺), $[M+H]^+ = 164$.

Ví dụ 32

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

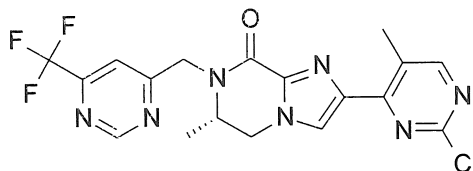


Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (12,42mg, 0,01mmol) vào (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 87; 120mg, 0,27mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (66,5mg, 0,69mmol) và Cs₂CO₃ (179mg, 0,55mmol) trong 1,4-dioxan (4mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt

độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 32; 60mg, 43,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (300 Mhz, DMSO) δ 1,25 (d, 3H), 3,71 (s, 3H), 4,14 - 4,21 (m, 1H), 4,34 - 4,46 (m, 1H), 4,56 - 4,71 (m, 2H), 5,27 (d, 1H), 6,32 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,13 (d, 1H), 8,34 (s, 1H), 9,24 (s, 1H), 9,41 (s, 1H). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 499.

Hợp chất trung gian 87

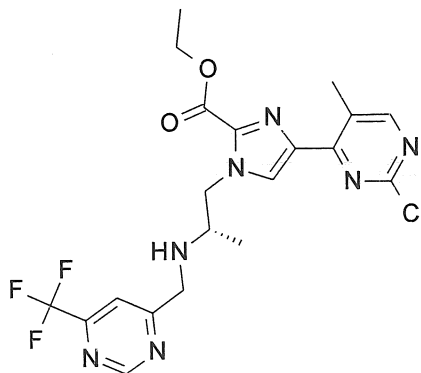
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri axetat (212mg, 2,58mmol) vào (*S*)-etyl 4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 88; 250mg, 0,52mmol) trong EtOH (5mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 20 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 87; 120mg, 53,1%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ¹H NMR (300 Mhz, CDCl₃, 20,5°C) δ 1,45 (d, 3H), 2,79 (s, 3H), 4,43 (d, 1H), 4,15-4,25 (m 1H), 4,60 (dd, 1H), 5,50 (d, 1H), 7,82 (d, 1H), 8,03 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 9,34 (s, 1H). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 438.

Hợp chất trung gian 88

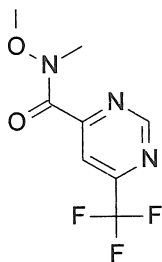
(*S*)-ethyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)methyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat



Bổ sung Cp_2ZrHCl (492mg, 1,91mmol) vào *N*-metoxy-*N*-metyl-6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxamit (hợp chất trung gian 89; 300mg, 1,28mmol) trong THF (10mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 20 phút và sau đó sử dụng trực tiếp. Bổ sung natri triaxetoxibohydrua (385mg, 1,81mmol), axit axetic (0,104mL, 1,81mmol), (*S*)-ethyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 64; 240mg, 0,60mmol) và DIPEA (0,317mL, 1,81mmol) trong DCM (15mL) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ. Bổ sung thêm natri triaxetoxibohydrua (385mg, 1,81mmol) và khuấy trong thời gian 1 giờ nữa. Sau đó rót hỗn hợp phản ứng vào NaHCO_3 bão hòa (75mL) và chiết bằng DCM (3 x 25mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và làm bay hơi. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 5% DCM trong MeOH. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*S*)-ethyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1-(2-(((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)methyl)amino)propyl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 88; 250mg, 85%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. m/z (ES⁺), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 484$.

Hợp chất trung gian 89

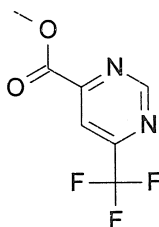
N-metoxy-*N*-metyl-6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxamit



Bổ sung từng giọt trimetyl nhôm (2M trong *n*-hexan, 72,8mL, 145,54mmol) vào *N,O*-dimetylhydroxylamin hydroclorua (10,65g, 109,16mmol) trong DCM (150mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng thời gian 20 phút trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 20 phút. Bổ sung từng giọt metyl 6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxylat (hợp chất trung gian 90; 7,5g, 36,39mmol) trong DCM (70mL) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 0°C. Làm dừng phản ứng bằng NaOH 2M (100mL) và chiết bằng DCM (3 x 150mL). Làm khô các pha hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 25% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được *N*-metoxy-*N*-metyl-6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxamit (hợp chất trung gian 89; 5,63g, 65,8%) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 Mhz, CDCl₃, 20,2°C) δ 3,42 (3H, s), 3,79 (3H, s), 7,90 (1H, s), 9,41 - 9,47 (1H, m). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 236.

Hợp chất trung gian 90

Metyl 6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxylat

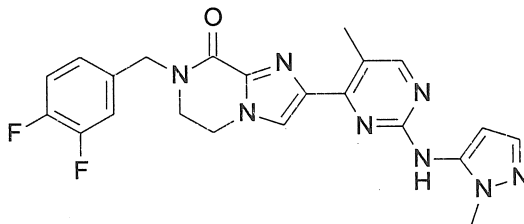


Khuấy 4-clo-6-(triflometyl)pyrimidin (10g, 54,79mmol), kali axetat (10,75g, 109,57mmol) và Pd(dppf)Cl₂ (2,00g, 2,74mmol) trong MeOH (300mL) dưới khí CO ở 10 atm và 70°C trong thời gian 6 giờ. Lọc hỗn hợp và làm bay hơi dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 0 đến 20% EtOAc trong ete dầu mỏ. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu

được methyl 6-(triflometyl)pyrimidin-4-carboxylat (hợp chất trung gian 90; 7,86g, 69,6%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20,3°C) δ 4,11 (3H, s), 8,37 (1H, d), 9,55 - 9,61 (1H, m). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 207$.

Ví dụ 33

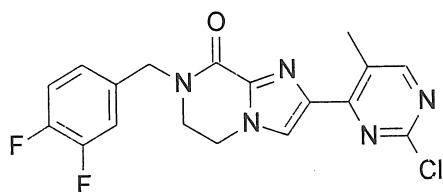
7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (78mg, 0,09mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 91; 340mg, 0,87mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (169mg, 1,74mmol) và Cs_2CO_3 (568mg, 1,74mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 12 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 5% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được chất rắn. Tinh chế chất rắn này thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH_4HCO_3 0,05%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được 7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 33; 89mg, 22,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 20,1°C) δ 2,68 (3H, d), 3,68 - 3,76 (2H, m), 3,80 (3H, s), 4,25 - 4,33 (2H, m), 4,77 (2H, s), 6,29 (1H, d), 6,90 (1H, s), 7,07 - 7,28 (3H, m), 7,49 (1H, d), 7,69 (1H, s), 8,29 (1H, d). m/z (ES+), $[\text{M}+\text{H}]^+ = 451$.

Hợp chất trung gian 91

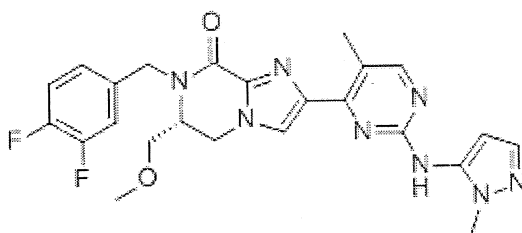
2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung NaH (91mg, 2,28mmol) vào 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 48; 200mg, 0,76mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (314mg, 1,52mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 12 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước (50mL), thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước (50mL) và làm khô trong chân không để thu được 2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 91; 340 mg) dưới dạng chất rắn màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp có tinh chế thêm. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 19,9°C) δ 2,64 (3H, s), 3,74 - 3,82 (2H, m), 4,36 - 4,44 (2H, m), 4,70 (2H, s), 7,37 - 7,51 (3H, m), 8,26 (1H, s), 8,61 (1H, s). m/z (ES⁺), [M+H]⁺ = 390.

Ví dụ 34

Điều chế sản phẩm cộng hợp axit adipic (R)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on, dạng 1



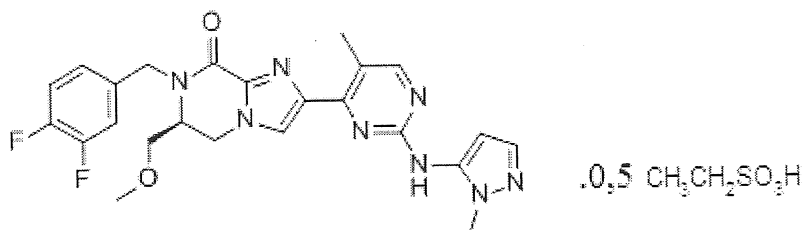
.0,5 axit adipic

Hòa tan 50 mg (R)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 18) trong xấp xỉ 0,5 ml metanol. Sử dụng súng nhiệt để hỗ trợ hòa tan. Hòa tan 16 mg axit adipic trong xấp xỉ 0,5 ml metanol. Sử dụng súng nhiệt để hỗ trợ hòa tan. Sau đó từ từ bổ sung dung dịch (R)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on vào dung dịch axit adipic. Nó vẫn còn ở dạng dung dịch. Bổ sung thanh khuấy từ tĩnh và để

dung dịch có khuấy ở nhiệt độ môi trường. Nhìn thấy chất kết tủa sau xấp xỉ 15 phút. Bổ sung thêm thể tích của metanol được đến khi đạt được chất kết tủa chảy tự do và để chất kết tủa co khuấy qua đêm. Sau đó lọc chất kết tủa để thu được sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 34), dạng 1, ở tỉ lệ mol 1:2 của adipic acid:(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on như xác định bằng ^1H NMR. ^1H NMR (500 MHz, Metanol- d_4 , 27 °C) δ 8,24 (1H, s), 7,82 (1H, s), 7,41 (1H, d), 7,35 (1H, ddd), 7,28 - 7,20 (3H, m), 6,31 (1H, d), 5,18 (1H, d), 4,52 - 4,39 (3H, m), 4,03 - 4,00 (1H, m), 3,73 (3H, s), 3,46 - 3,43 (1H, m), 3,39 - 3,35 (1H, m), 3,23 (3H, s), 2,53 (3H, s), 2,30 (2H, m), 1,63 (2H, m), không quan sát thấy proton axit carboxylic có thể trao đổi. Phân tích mẫu bằng XRPD (xem Fig.3) và DSC (xem Fig.4). Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 được xác định là kết tinh bằng XRPD và có điểm nóng chảy là 185,4°C (bắt đầu).

Ví dụ 35

Điều chế sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic của (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



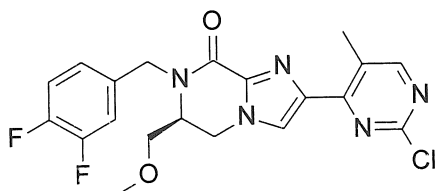
Hòa tan (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35a; 2,2g, 5,07mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (0,754g, 7,61mmol) và xesi carbonat (3,30g, 10,14mmol) trong 2-MeTHF (25mL) và nước (2,5mL) và khử khí bằng nitơ. Bổ sung 2'-(dixyclohexylphosphanyl)-*N,N*-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (0,160g, 0,41mmol) và Pd_2dba_3 (0,186g, 0,20mmol) và hỗn hợp được khử khí thêm bằng nitơ. Sau đó gia nhiệt phản ứng ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 24 giờ. Để phản ứng nguội xuống nhiệt độ môi

trường và bổ sung thêm 2'-(dicyclohexylphosphanyl)-*N,N*-dimetyl-[1,1'-biphenyl]-2-amin (0,160g, 0,41mmol) và Pd₂dba₃ (0,186g, 0,20mmol) và khử khí phản ứng bằng nitơ. Sau đó khuấy phản ứng ở nhiệt độ 80 °C trong thời gian 16 giờ. Bổ sung Silicycle (1,2g, SiliaMetS Thiol) và để phản ứng nguội xuống nhiệt độ môi trường. Lọc hỗn hợp phản ứng qua xelit rửa bằng EtOAc. Chiết phản ứng bằng etyl axetat, rửa bằng axit xitric trong nước (0,5 M) và natri bicarbonat bão hòa. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế bằng sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế (cột Kromasil DIOL, 250 mm x 50mm, 10 um, pha động 25% EtOH/NH₃ 100/0,5 trong CO₂, 140 bar) tạo ra (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (1,38 g) mà được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trong giai đoạn tiếp theo. Hòa tan (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (1,3g, 1,93mmol) từ bước trước trong axetonitril (2mL) và gia nhiệt lên 66°C. Sau đó bổ sung axit etansulfonic (0,22mL, 2,63mmol) trong axetonitril (2mL). Sau đó khuấy phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 1 giờ. Quan sát thấy kết tủa. Bổ sung thêm axetonitril (3mL) và lọc chất kết tủa, rửa bằng axetonitril (3mL) và làm khô trong chân không trong thời gian 66 giờ để thu được sản phẩm cộng hợp etansulfonic của (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (0,41 g). Làm bay hơi dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm và axetonitril (3mL) và bổ sung MTBE (2mL). Lọc chất kết tủa thu được và làm khô trong chân không để thu được thêm sản phẩm cộng hợp etansulfonic của (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (0,73 g). 2 mẻ được kết hợp để thu được sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic của (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 35; 1,14g, 72%) ở tỉ lệ mol 1:2 của axit etan suflonic:(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on như xác định bằng ¹H NMR. ¹H NMR (500 Mhz, DMSO, 27°C) 1,08 (1,5H, t), 2,42 (1H, q), 2,52 (3H, m), 3,18 (3H, s), 3,32 (1H, dd), 3,41 (1H, dd), 3,73 (3H, s), 4,05 (1H, dtd), 4,39 (1H, d), 4,43

- 4,56 (2H, m), 5,09 (1H, d), 6,38 (1H, d), 7,19 - 7,32 (1H, m), 7,38 - 7,45 (2H, m), 7,48 (1H, ddd), 7,98 (1H, s), 8,36 (1H, d), 9,38 (1H, s). m/z (ES+) $[M+H]^+$ 495.

Hợp chất trung gian 35a

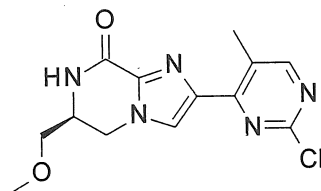
(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Làm nhão (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35b; 1,8g, 5,85mmol) và Cs_2CO_3 (2,67g, 8,19mmol) trong axetronitril (20mL) và gia nhiệt lên 70 °C trong điều kiện khí nitơ. Bổ sung 4-(brommetyl)-1,2-diflobenzen (1,48g, 7,02mmol) trong axetonitril (3mL) qua bơm tiêm với bột nhão và khuấy phản ứng ở nhiệt độ 70 °C trong thời gian 23 giờ. Sau đó loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và etyl axetat (30mL) và sau đó bổ sung nước (20mL) vào phần cặn. Các pha được tách riêng chiết pha nước bằng etyl axetat (2 x 20mL). Các pha hữu cơ được kết hợp và loại bỏ chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tạo hỗn dịch chất rắn thu được trong heptan/MTBE (4:1, 30mL) và khuấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Lọc chất rắn ra và làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35a; 2,36g, 93%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 Mhz, CDCl_3 , 25°C) δ 2,77 (3H, s), 3,28 (4H, s), 3,38 (1H, dd), 3,81 (1H, m), 4,22 (2H, m), 4,41 (1H, dd), 5,37 (1H, d), 7,10 - 7,26 (3H, m), 7,94 (1H, s), 8,42 (1H, s). m/z (ES+), $[M+H]^+$ = 434.

Hợp chất trung gian 35b

(*S*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

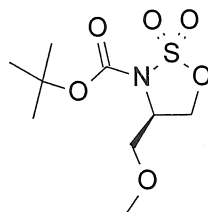


Tạo hỗn dịch ethyl 4-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat (hợp chất trung gian 23; 2g, 7,42mmol) và K_2CO_3 (1,23g, 8,91mmol) trong 1,4-dioxan (20mL) và axeton (20mL). Bổ sung *tert*-butyl (*R*)-4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit (hợp chất trung gian 35c; 2,18g, 8,17mmol) trong axeton (15mL) ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 3 ngày. Lọc hỗn hợp qua xelit và súc rửa chất rắn bằng axeton (15mL). Sau đó cô dịch lọc đến tổng thể tích bằng (10mL). Bổ sung dung dịch chứa HCl (5M trong isopropanol, 10,39mL) và khuấy phản ứng ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Bổ sung từ từ triethylamin (10,33mL, 74,24mmol) sau đó là isopropanol (15mL) để thu được hỗn dịch. Sau đó gia nhiệt phản ứng ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian 3 giờ. Bổ sung nước (40mL) mà tạo ra hỗn dịch tinh. Khuấy hỗn dịch ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian 30 phút và sau đó ở nhiệt độ môi trường trong thời gian 16 giờ. Sau đó lọc chất kết tủa, và rửa bằng axeton 50% trong nước (2 x 25mL) và làm khô trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 40 °C trong thời gian 4 ngày để thu được (*S*)-2-(2-clo-5-methylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 35b; 1,95g, 85%) dưới dạng chất rắn. 1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20 °C) δ 2,61 (s, 3H), 3,26 (s, 3H), 3,33 - 3,45 (m, 2H), 3,99 (br s, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,44 (dd, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,42 (d, 1H), 8,58 (s, 1H). m/z (ES+), $[M+H]^+ = 308$.

Hợp chất trung gian 35c được tạo ra theo phương thức tương tự với Hợp chất trung gian 57 bắt đầu từ (*S*)-*tert*-butyl (1-hydroxy-3-metoxypentan-2-yl)carbammat

Hợp chất trung gian 35c

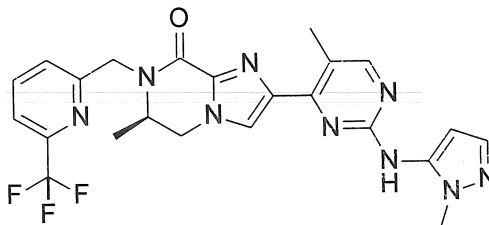
tert-butyl (*R*)-4-(metoxymetyl)-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit



1H NMR (400 Mhz, MeOD) δ 1,54 (s, 9H), 3,40 (s, 3H), 3,61 (d, 2H), 4,46 (qd, 1H), 4,60 (dd, 1H), 4,68 (dd, 1H). m/z : ES+ $[M+H]^+ = 268$.

Ví dụ 36

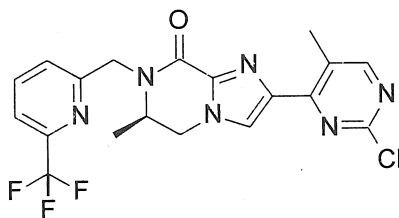
(*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Khuấy (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 91; 187mg, 0,43mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (104mg, 1,07mmol), Cs₂CO₃ (279mg, 0,86mmol) và chất tiền xúc tác XantPhos thế hệ thứ 2 (38,0mg, 0,04mmol) trong 1,4-dioxan (5mL) dưới khí nitơ ở nhiệt độ 110°C trong thời gian 16 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất trong chân không. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký silic oxit nhanh, gradien rửa giải từ 3 đến 5% MeOH trong DCM. Tinh chế sản phẩm thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5μ, đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₄HCO₃ 0,01%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (112mg, 52,6%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20,9°C) δ 1,22 (3H, d), 2,52 (3H, s), 3,35 (1H, s), 3,71 (3H, s), 4,13 (1H, ddd), 4,40 (1H, dd), 4,51 - 4,63 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, d), 7,78 (1H, d), 7,84 (1H, d), 7,97 (1H, s), 8,10 (1H, t), 8,33 (1H, d), 9,24 (1H, s). *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 498.

Hợp chất trung gian 92

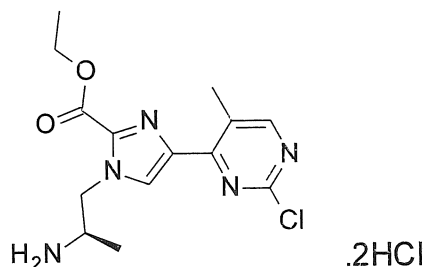
(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 6-(triflometyl)picolinaldehyt (126mg, 0,72mmol) vào (*R*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpirimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 93; 260mg, 0,66mmol), DIPEA (0,343mL, 1,97mmol) và AcOH (0,113mL, 1,97mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 20 phút. Bổ sung natri triaxetoxybohydrua (417mg, 1,97mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ và sau đó ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 12 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước (10mL), chiết bằng DCM (3 x 15mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được dầu màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 3 đến 4% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được (*R*)-2-(2-clo-5-metylpirimidin-4-yl)-6-metyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 92; 187mg, 65,3%) dưới dạng dầu không màu. *m/z* (ES⁺), [M+H]⁺ = 437.

Hợp chất trung gian 93

(*R*)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpirimidin-4-yl)-1*H*-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua

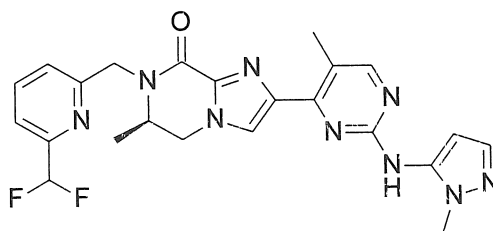


Hợp chất trung gian 93 được điều chế theo phương thức tương tự với Hợp chất trung gian 65, bằng cách sử dụng (*R*)-*tert*-butyl 4-metyl-1,2,3-oxathiazolidin-3-carboxylat 2,2-dioxit. Hợp chất trung gian 93 thể hiện dữ liệu phân tích sau đây. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 22°C) δ 1,27 (3H, d), 1,36 (3H, t), 2,64 (3H, s), 3,57 (3H, s), 3,74

(1H, s), 4,33 - 4,44 (2H, m), 4,58 - 4,75 (2H, m), 8,33 (3H, s), 8,47 (1H, s), 8,64 (1H, s).
 m/z (ES+), $[M+H]^+ = 324$.

Ví dụ 37

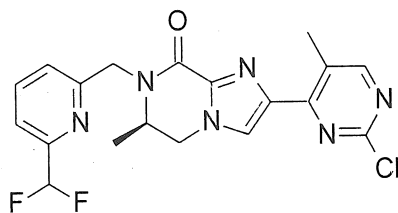
(*R*)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung chất tiền xúc tác BrettPhos thế hệ thứ 3 (60,6mg, 0,07mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 94; 280mg, 0,67mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (162mg, 1,67mmol) và Cs_2CO_3 (436mg, 1,34mmol) trong 1,4-dioxan (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 6% trong DCM. Làm bay hơi các phân đoạn tinh khiết đến khô để thu được phần cần màu vàng. Tinh chế phần cần thêm bằng HPLC điều chế (cột XSelect CSH Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 19 mm, chiều dài 150mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH_3 0,03%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 37; 119mg, 37,1%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 1,20 (3H, d), 2,51 (3H, s), 3,70 (3H, s), 4,10 (1H, d), 4,34 - 4,43 (1H, m), 4,47 - 4,61 (2H, m), 5,21 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,97 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,59 - 7,66 (2H, m), 7,94 - 8,04 (2H, m), 8,33 (1H, s), 9,23 (1H, s). m/z (ES+) $[M+H]^+ 480$.

Hợp chất trung gian 94

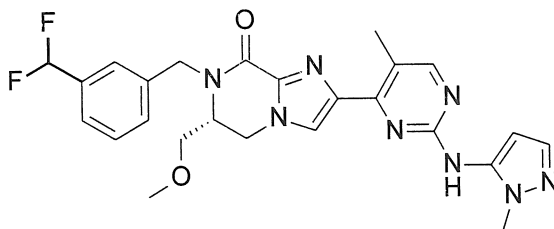
(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung 6-(diflometyl)picolinaldehyt (214mg, 1,36mmol) vào (R)-etyl 1-(2-aminopropyl)-4-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-1H-imidazol-2-carboxylat dihydroclorua (hợp chất trung gian 93; 270mg, 0,68mmol), DIPEA (0,357mL, 2,04mmol) và AcOH (0,117mL, 2,04mmol) trong DCM (10mL) ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ, bổ sung natri triaxetoxibohydrua (433mg, 2,04mmol) và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong thời gian 1 giờ và gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 5 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng NaHCO₃ bão hòa (20mL) và chiết bằng DCM (2 x 75mL). Làm khô lớp hữu cơ trên Na₂SO₄, lọc và làm bay hơi để thu được phần cặn màu vàng. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký trên silic oxit nhanh, gradien rửa giải MeOH từ 0 đến 5% trong DCM. Pure fractions were evaporated to dryness to afford (R)-2-(2-chloro-5-methylpyrimidin-4-yl)-7-((6-(difluoromethyl)pyridin-2-yl)methyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-one (Intermediate 94; 280mg, 98 %) as a yellow solid. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 20°C) δ 1,21 (3H, d), 2,64 (3H, d), 4,09 - 4,16 (1H, m), 4,35 (1H, dd), 4,49 - 4,64 (2H, m), 5,22 (1H, d), 6,82 - 7,12 (1H, m), 7,60 - 7,68 (2H, m), 7,95 - 8,05 (1H, m), 8,30 (1H, s), 8,61 (1H, s). *m/z* (ES+) [M+H]⁺ 419.

Ví dụ 38

(R)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on

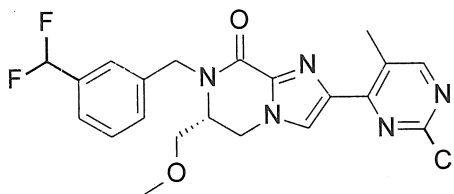


Tạo hỗn dịch (R)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 95; 288mg, 0,64mmol), 1-metyl-1H-pyrazol-5-amin (68,7mg, 0,71mmol), xesi carbonat

(419mg, 1,29mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (29,1mg, 0,03mmol) trong *tert*-butanol (6mL) và khử khí trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 18 giờ trong điều kiện khí nitơ. Sau đó pha loãng phản ứng bằng ethyl axetat (75mL) và rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL), làm khô (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra gôm màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 30mM, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 38; 88mg, 26,9%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (500 Mhz, DMSO, 30°C) 2,53 (2H, s), 3,19 (1H, d), 3,33 (3H, d), 3,40 (1H, dd), 3,71 (3H, d), 4,03 (1H, q), 4,09 (1H, q), 4,4 - 4,57 (3H, m), 5,17 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,05 (1H, t), 7,34 (1H, d), 7,5 - 7,56 (2H, m), 7,56 - 7,63 (2H, m), 7,95 (1H, s), 8,33 (1H, s), 9,20 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 509.

Hợp chất trung gian 95

(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

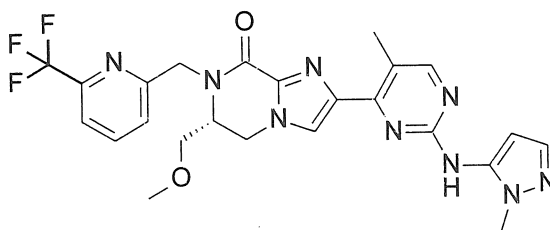


Bổ sung natri hydrua (dịch phân tán 60%) (28,6mg, 0,71mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 61; 200mg, 0,65mmol) trong DMF (15mL) trong điều kiện khí nitơ. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 1-(clometyl)-3-(diflometyl)benzen (126mg, 0,71mmol) sau đó là tetrabutylamoni iodua (24,01mg, 0,06mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 18 giờ. Pha loãng nó bằng amoni clorua bão hòa trong nước (30mL) và chiết bằng ethyl axetat (2 x 70mL). Làm khô các chất hữu cơ kết hợp (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 95; 321mg, >100%) dưới

dạng gồm mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 2,64 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,40 (2H, dd), 3,99 - 4,11 (1H, m), 4,4 - 4,59 (3H, m), 5,15 (1H, d), 7,03 (1H, t), 7,5 - 7,53 (2H, m), 7,59 (1H, d), 7,96 (1H, s), 8,25 (1H, s), 8,59 (1H, s). m/z ES+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448.

Ví dụ 39

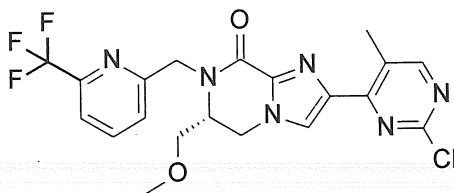
(*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Tạo hỗn dịch (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 96; 201mg, 0,43mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (46,0mg, 0,47mmol), xesi carbonat (281mg, 0,86mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (19,51mg, 0,02mmol) trong *tert*-butanol (5mL) và khử khí trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 18 giờ trong điều kiện khí nitơ. Sau đó pha loãng phản ứng bằng etyl axetat (75mL) và rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL), làm khô (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra gồm màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5μ , đường kính 30mM, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH_3 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 39; 68mg, 29,9%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (500 Mhz, DMSO, 30°C) 3,18 (1H, d), 3,20 (3H, d), 3,32 (3H, s), 3,39 (1H, dd), 3,54 (1H, dd), 3,71 (3H, d), 4,51 - 4,63 (2H, m), 4,66 (1H, d), 5,24 (1H, d), 6,31 (1H, d), 7,34 (1H, dd), 7,78 (1H, d), 7,83 (1H, d), 7,98 (1H, s), 8,09 (1H, t), 8,33 (1H, s), 9,20 (1H, s). m/z ES+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 528.

Hợp chất trung gian 96

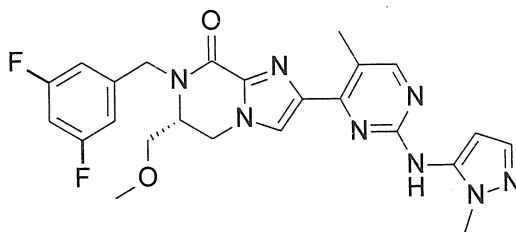
(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



Bổ sung natri hydrua (dịch phân tán 60%) (19,16mg, 0,48mmol) vào (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 61; 134mg, 0,44mmol) trong DMF (10mL) trong điều kiện khí nito. Khuấy hỗn dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung 2-(brommetyl)-6-(triflometyl)pyridin (115mg, 0,48mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong thời gian 18 giờ. Làm dừng phản ứng bằng amoni clorua bão hòa trong nước (30mL) và chiết bằng etyl axetat (2 x 70mL). Làm khô các chất hữu cơ kết hợp (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-6-(metoxymetyl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 96; 203mg, 100%) dưới dạng gôm. ¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 2,63 (3H, s), 3,20 (3H, s), 3,37 - 3,42 (1H, m), 3,54 (1H, dd), 4,20 (1H, dt), 4,56 (2H, d), 4,67 (1H, d), 5,23 (1H, d), 7,80 (2H, dd), 8,09 (1H, t), 8,29 (1H, s), 8,59 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 467.

Ví dụ 40

(*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



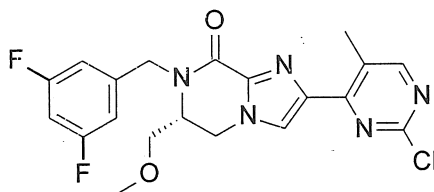
Tạo hỗn dịch (*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (hợp chất trung gian 97; 280mg, 0,65mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (68,9mg, 0,71mmol), xesi carbonat (421mg, 1,29mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (29,3mg, 0,03mmol)

trong *tert*-butanol (6mL) và khử khí trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 18 giờ trong điều kiện khí nitơ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng ethyl axetat (75mL) và rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL), làm khô (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra gồm màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 30mM, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on (ví dụ 40; 80mg, 25,1%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (500 Mhz, DMSO, 30°C) 2,52 (3H, s), 3,19 (1H, s), 3,19 (3H, s), 3,35 (1H, dd), 3,43 (1H, dd), 3,71 (3H, s), 4,43 (1H, d), 4,48 - 4,57 (2H, m), 5,12 (1H, d), 6,30 (1H, d), 7,15 (3H, td), 7,34 (1H, d), 7,94 (1H, s), 8,32 (1H, s), 9,18 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 495.

Hợp chất trung gian 97 được tạo ra theo phương thức tương tự với Hợp chất trung gian 96, bằng cách sử dụng Hợp chất trung gian 61 và 1-(brommetyl)-3,5-diflobenzen.

Hợp chất trung gian 97

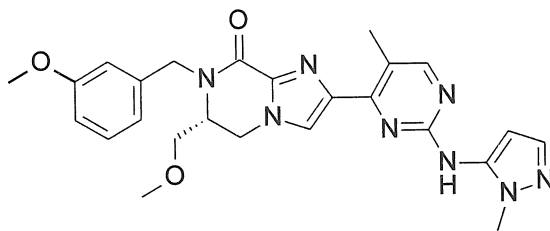
(*R*)-2-(2-clo-5-metylpyrimidin-4-yl)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on



¹H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 2,64 (3H, s), 3,18 (3H, s), 3,44 (2H, dd), 4,08 (1H, dd), 4,4 - 4,59 (3H, m), 5,10 (1H, d), 7,13 (3H, dt), 8,25 (1H, s), 8,56 - 8,62 (1H, m). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 434.

Ví dụ 41

(*R*)-7-(3-metoxibenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

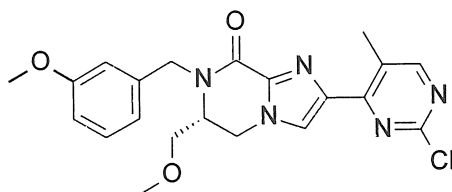


Tạo hỗn dịch (R)-2-(2-(4-methylpyrimidin-5-yl)-7-(3-methoxybenzyl)-6-(methoxymethyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (hợp chất trung gian 98; 164mg, 0,38mmol), 1-metyl-1*H*-pyrazol-5-amin (40,9mg, 0,42mmol), xesi carbonat (250mg, 0,77mmol) và chất tiền xúc tác thế hệ thứ 3 BrettPhos (17,37mg, 0,02mmol) trong *tert*-butanol (5mL) và khử khí trong thời gian 10 phút. Gia nhiệt phản ứng lên 80°C trong thời gian 18 giờ trong điều kiện khí nitơ. Pha loãng phản ứng bằng etyl axetat (75mL) và rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (25mL), làm khô (natri sulfat) và cô trong chân không để tạo ra gôm màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng HPLC điều chế (cột Waters XBridge Prep C18 OBD, silic oxit 5 μ , đường kính 30mM, chiều dài 100mm), bằng cách sử dụng hỗn hợp phân cực giảm của nước (chứa NH₃ 1%) và MeCN làm chất rửa giải. Làm bay hơi các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn đến khô để thu được (R)-7-(3-methoxybenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on (ví dụ 41; 58,0mg, 31%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (500 Mhz, DMSO, 30°C) 2,53 (3H, s), 3,18 (3H, d), 3,19 (1H, d), 3,38 (1H, dd), 3,70 (3H, s), 3,76 (3H, s), 3,95 - 4,02 (1H, m), 4,33 - 4,43 (2H, m), 4,49 - 4,55 (1H, m), 5,12 (1H, d), 6,30 (1H, d), 6,88 (1H, dd), 6,98 (2H, s), 7,27 - 7,31 (1H, m), 7,34 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,29 - 8,36 (1H, m), 9,18 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 489.

Hợp chất trung gian 98 được tạo ra theo phương thức tương tự với Hợp chất trung gian 96, bằng cách sử dụng Hợp chất trung gian 61 và 1-(brommetyl)-3-methoxybenzen.

Hợp chất trung gian 98

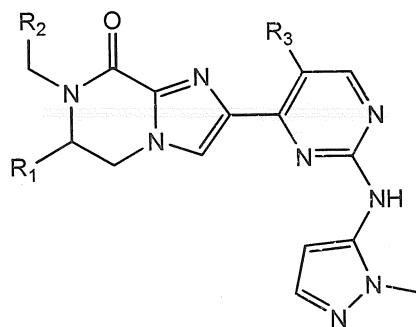
(R)-2-(2-(4-methylpyrimidin-5-yl)-7-(3-methoxybenzyl)-6-(methoxymethyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on



^1H NMR (400 Mhz, DMSO, 30°C) 2,64 (3H, s), 3,17 (3H, s), 3,37 - 3,42 (2H, m), 3,76 (3H, s), 3,98 (1H, s), 4,33 - 4,45 (2H, m), 4,49 (1H, d), 5,04 - 5,19 (1H, m), 6,88 (1H, d), 6,97 (2H, d), 7,29 (1H, t), 8,24 (1H, s), 8,60 (1H, s). m/z ES+ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 428.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó



(I)

trong đó:

R^1 là hydro, C_{1-3} alkyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-3} alkyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-3} alkyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$; và

R^3 là hydro, C_{1-3} alkyl hoặc clo.

2. Hợp chất có công thức (I) hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, theo điểm 1, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl, triflometyl, metoxy và $-OCHF_2$; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

3. Hợp chất có công thức (I) hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó:

R^1 là hydro, metyl hoặc $-CH_2OMe$;

R^2 là pyridinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm metyl, diflometyl và triflometyl; hoặc

R^2 là pyrimidinyl, tùy ý được thế ở 1 nguyên tử cacbon trên vòng bằng triflometyl; hoặc

R^2 là phenyl tùy ý được thế ở 1 hoặc 2 nguyên tử cacbon trên vòng bằng phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm flo, clo, diflometyl và metoxy; và

R^3 là hydro, metyl hoặc clo.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, trong đó R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl, 3-clophenyl, 3,4-diflophenyl hoặc 3,5-diflophenyl.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, trong đó R^2 là 6-(diflometyl)pyridin-2-yl.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, trong đó R^2 là 3-clophenyl.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, trong đó R^2 là 3,4-diflophenyl.

8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, hoặc sản phẩm cộng hợp được dựng của nó, trong đó R^2 là 3,5-diflophenyl.

9. Hợp chất theo điểm 1, hoặc sản phẩm cộng hợp được của chúng, trong đó hợp chất này là hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất sau:

2-(2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-methyl-2-(2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-clo-4-flobenzyl)-6-methyl-2-(2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-methyl-2-(2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-(3-metoxybenzyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-methyl-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)methyl)-6-methyl-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-methyl-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-2-(5-clo-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6-methyl-7-((6-methylpyridin-2-yl)methyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

7-(3-clo-4-flobenzyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

7-(3-clobenzyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

7-(3-(diflometyl)benzyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-(3-clobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-metoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(4-flo-3-metoxybenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-(3-(diflometoxy)benzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((4-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((2-(triflometyl)pyridin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-7-((4-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*S*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyrimidin-4-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

7-(3,4-diflobenzyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on, dạng 1

sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic của (*S*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-(3-(diflometyl)benzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-7-((6-(triflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

(*R*)-7-(3-metoxybenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on

10. Hợp chất theo điểm 1, hoặc sản phẩm cộng hợp được dùng của nó, trong đó hợp chất này là:

(*S*)-7-(3-clobenzyl)-6-metyl-2-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*S*)-7-((6-(diflometyl)pyridin-2-yl)metyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on;

(*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on; hoặc

(*S*)-7-(3,5-diflobenzyl)-6-metyl-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

11. Hợp chất theo điểm 1, hoặc sản phẩm cộng hợp được dùng của nó, trong đó hợp chất này là (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

12. Sản phẩm cộng hợp được dùng của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, là sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

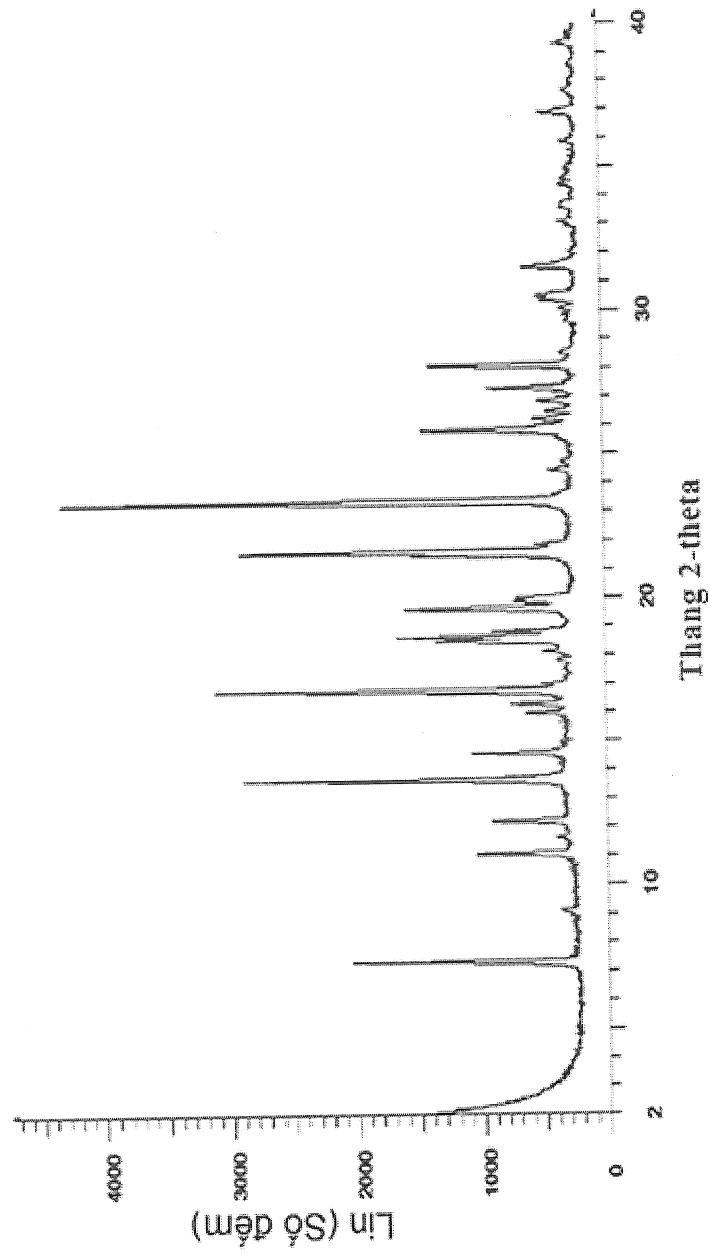
13. Sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on theo điểm 12 ở dạng tinh thể.

14. Sản phẩm cộng hợp được dùng của hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, mà là sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on.

15. Sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on theo điểm 14 ở dạng tinh thể.

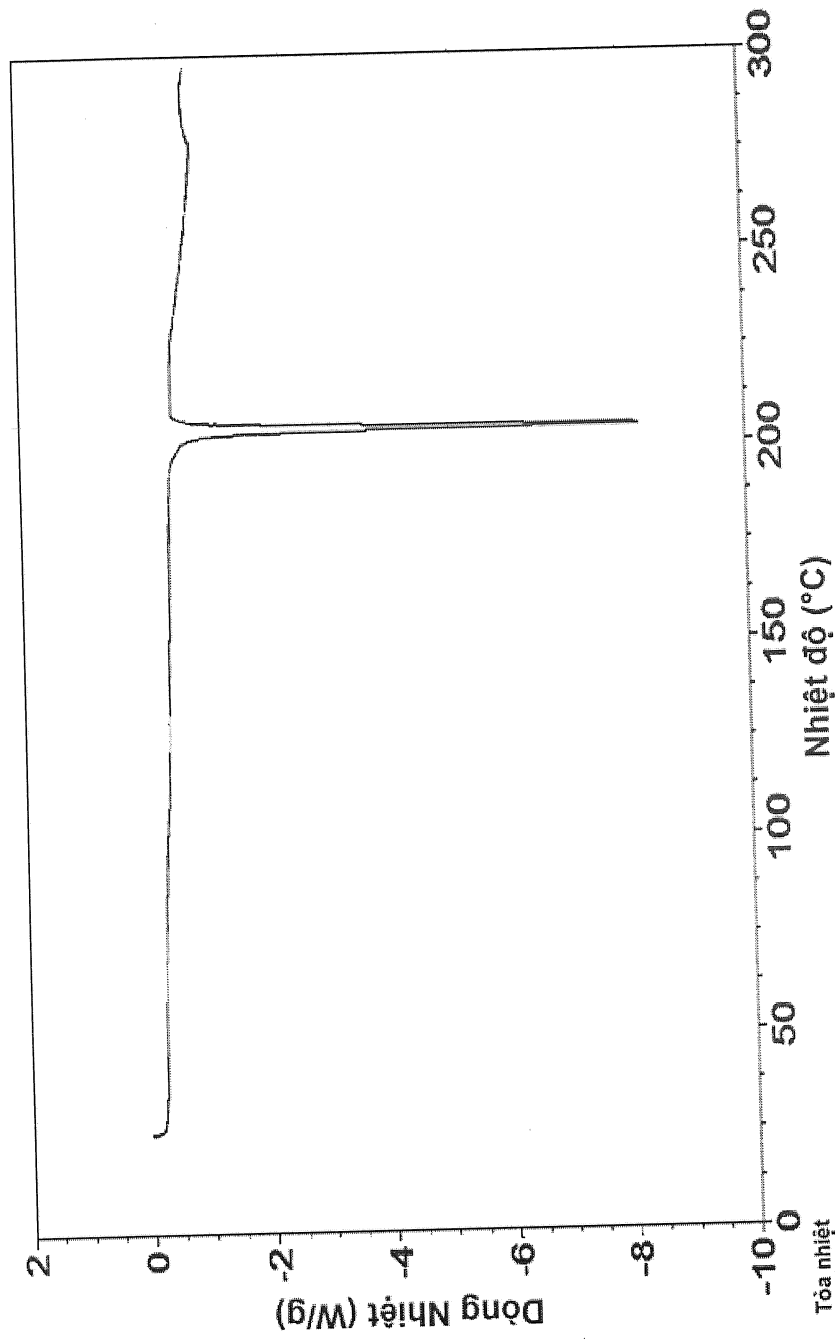
16. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc sản phẩm cộng hợp dược dụng của nó, theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, và chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

17. Dược phẩm kết hợp thích hợp để sử dụng trong điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (I) hoặc sản phẩm cộng hợp dược dụng của nó, theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 15, và dược chất kháng khối u khác.



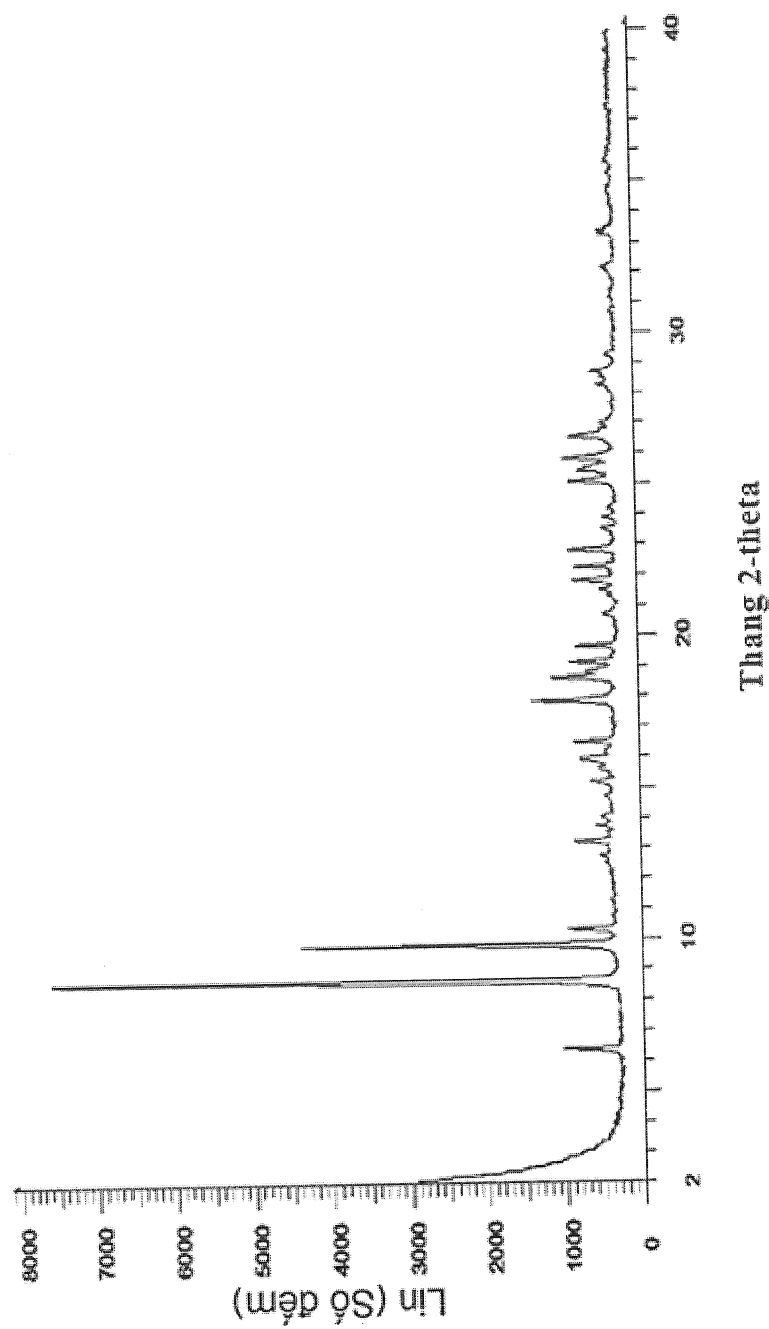
Phổ nhiễu xạ bột tia X của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(5-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 18a)

Fig.1



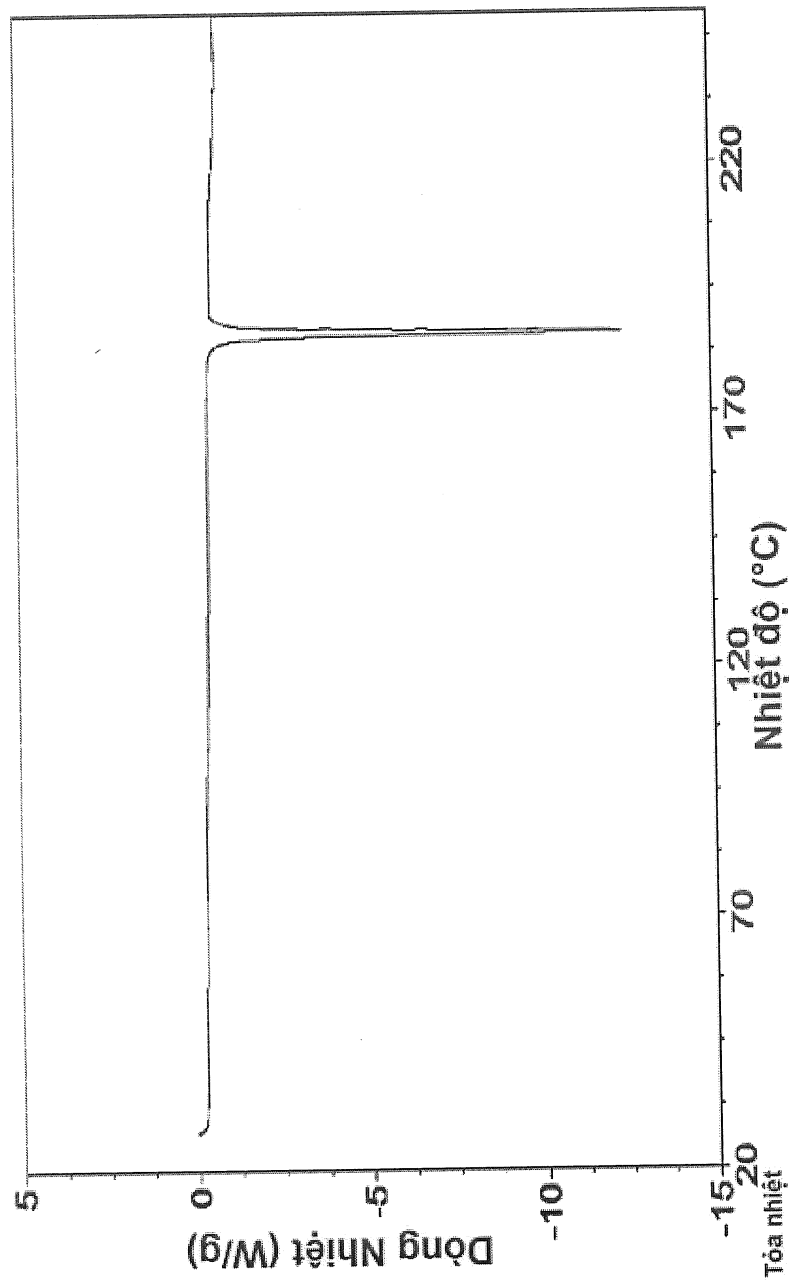
Biểu đồ nhiệt DSC của sản phẩm cộng hợp axit etansulfonic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(metoxymetyl)-2-(*S*-metyl-2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(*SH*)-on ở dạng 1 (ví dụ 18a)

Fig.2



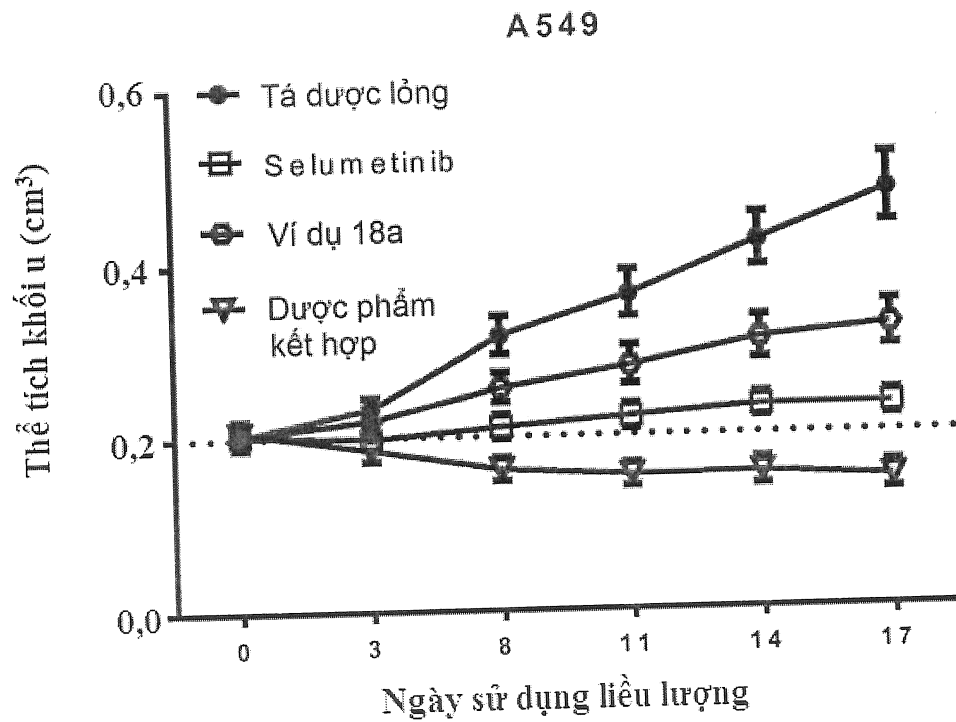
Phổ nhiễu xạ bột tia X của sản phẩm cộng hợp axit adipic (*R*)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-*a*]pyrazin-8(5*H*)-on ở dạng 1 (ví dụ 34)

Fig.3



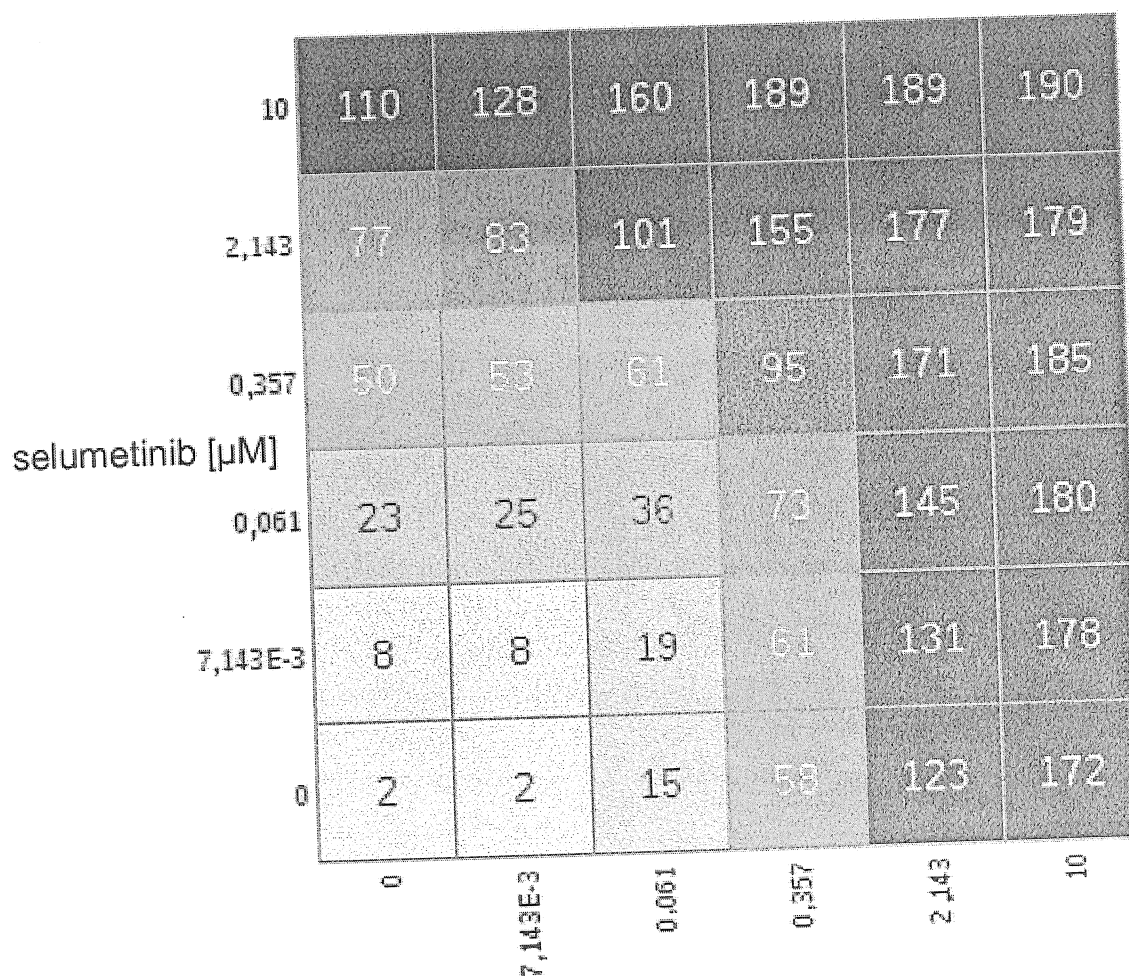
Biểu đồ nhiệt DSC của sản phẩm cộng hợp axit adipic (R)-7-(3,4-diflobenzyl)-6-(methoxymethyl)-2-(5-methyl-2-((1-methyl-1H-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-6,7-dihydroimidazo[1,2-a]pyrazin-8(5H)-on ở dạng 1 (ví dụ 34)

Fig.4



Sự ức chế phát triển khối u bằng ví dụ 18a kết hợp với selumetinib (ARRY-142886) trong mô hình ghép ngoại lai A549

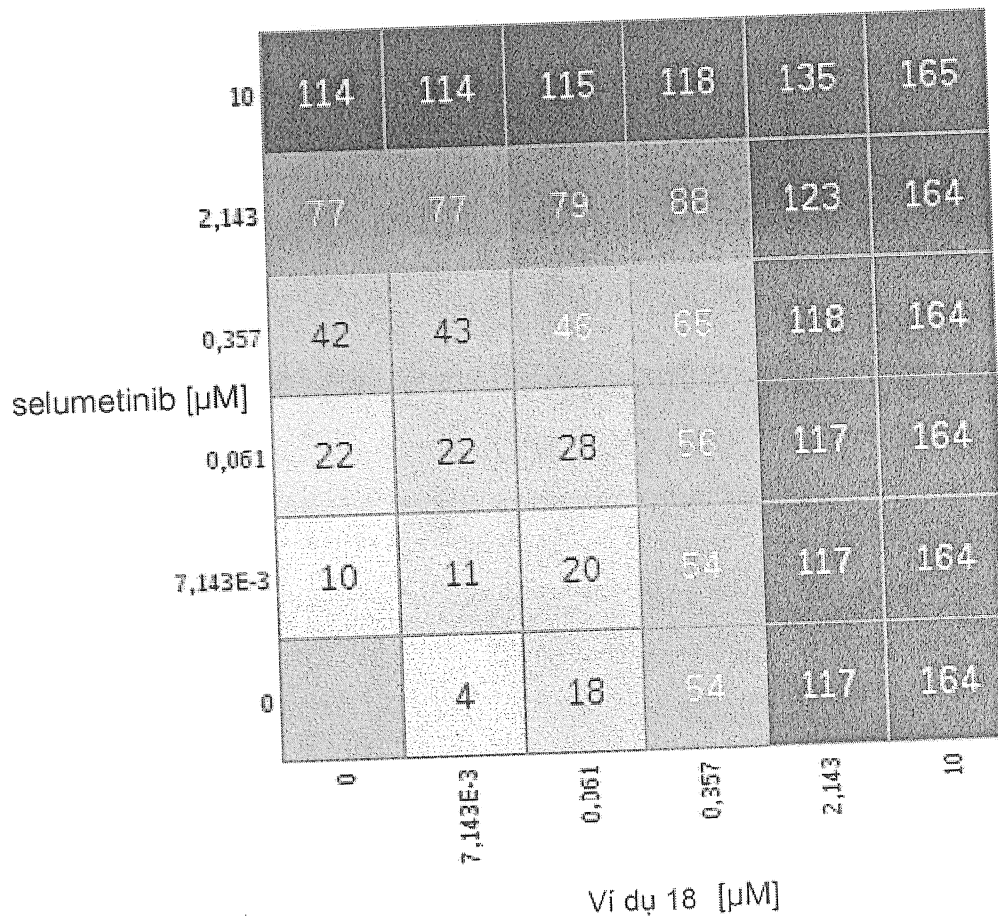
Fig.5



Ví dụ 18 [μM]

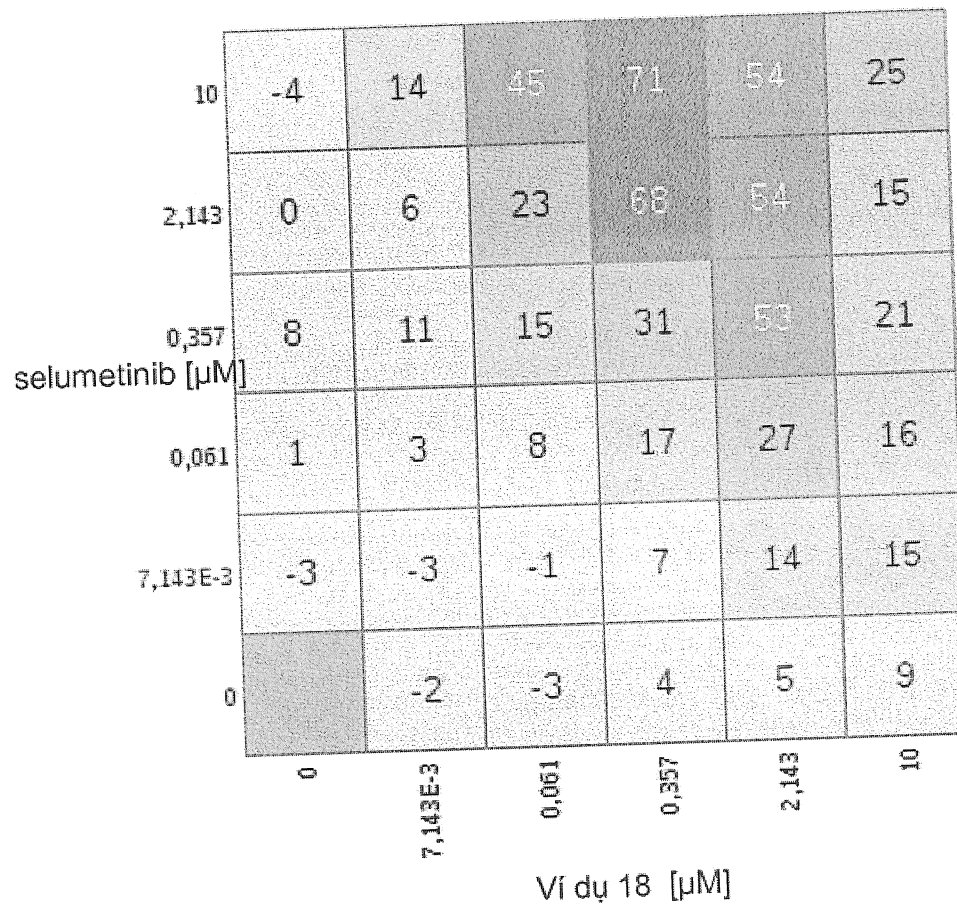
Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.6



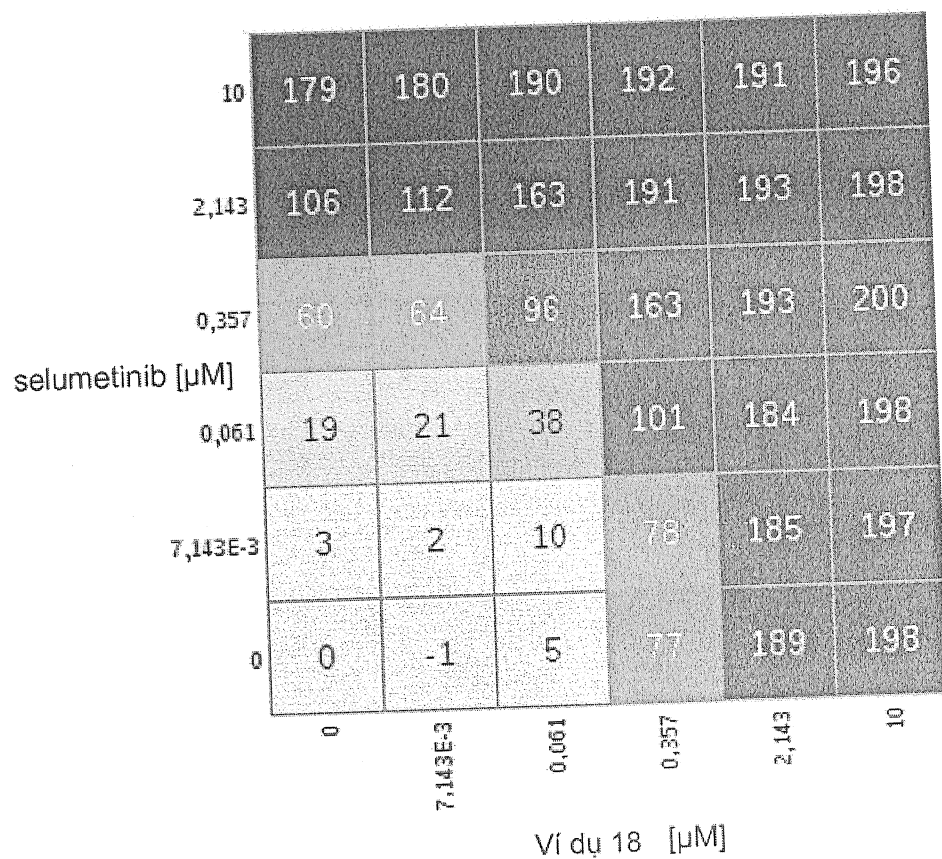
Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không
nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886).
Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.7



Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào A549 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.8



Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

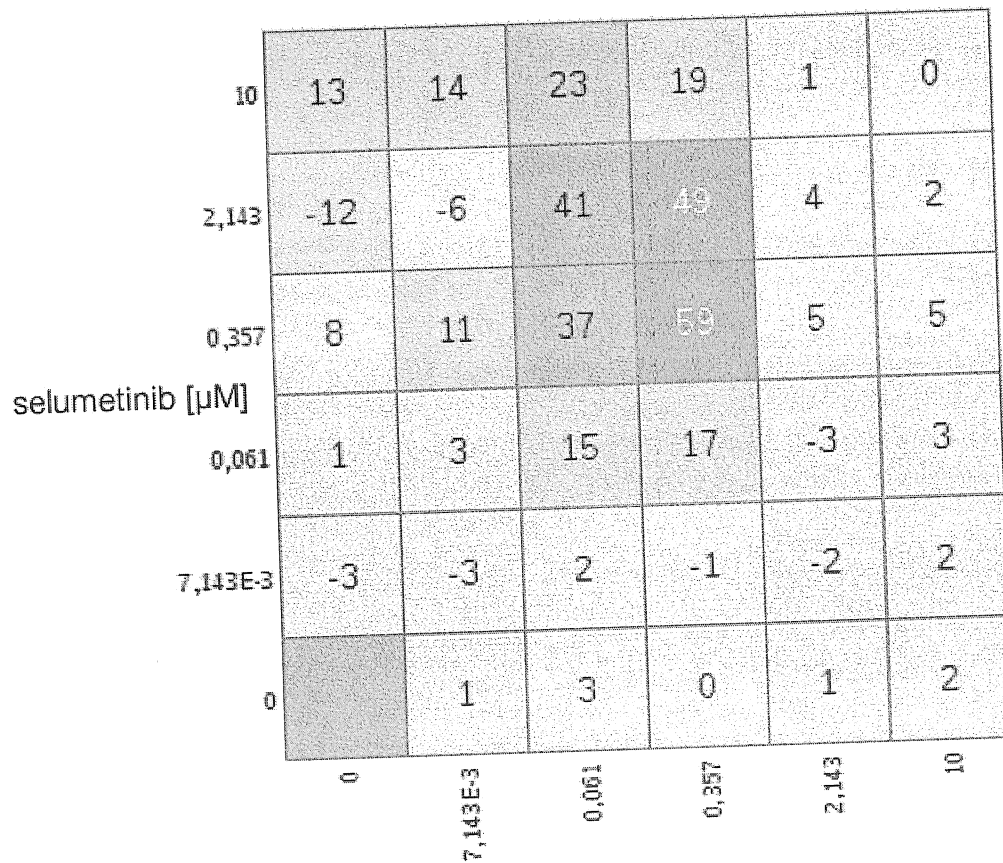
Fig.9

10	166	166	167	173	190	196
2,143	118	118	122	142	188	195
0,357	53	53	60	104	188	195
0,061	18	18	24	84	188	195
7,143E-3	5	6	9	79	188	195
0		-2	2	78	188	195
	0	7,143E-3	0,061	0,357	2,143	10

Ví dụ 18 [μM]

Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

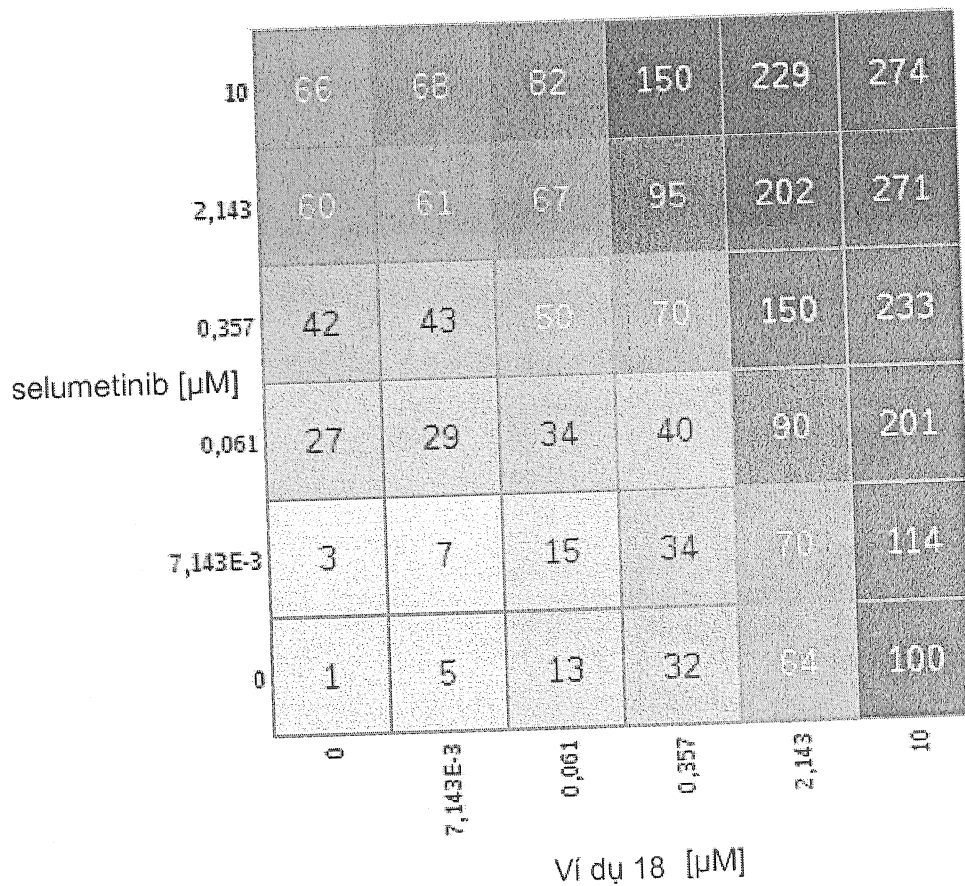
Fig.10



Ví dụ 18 [μM]

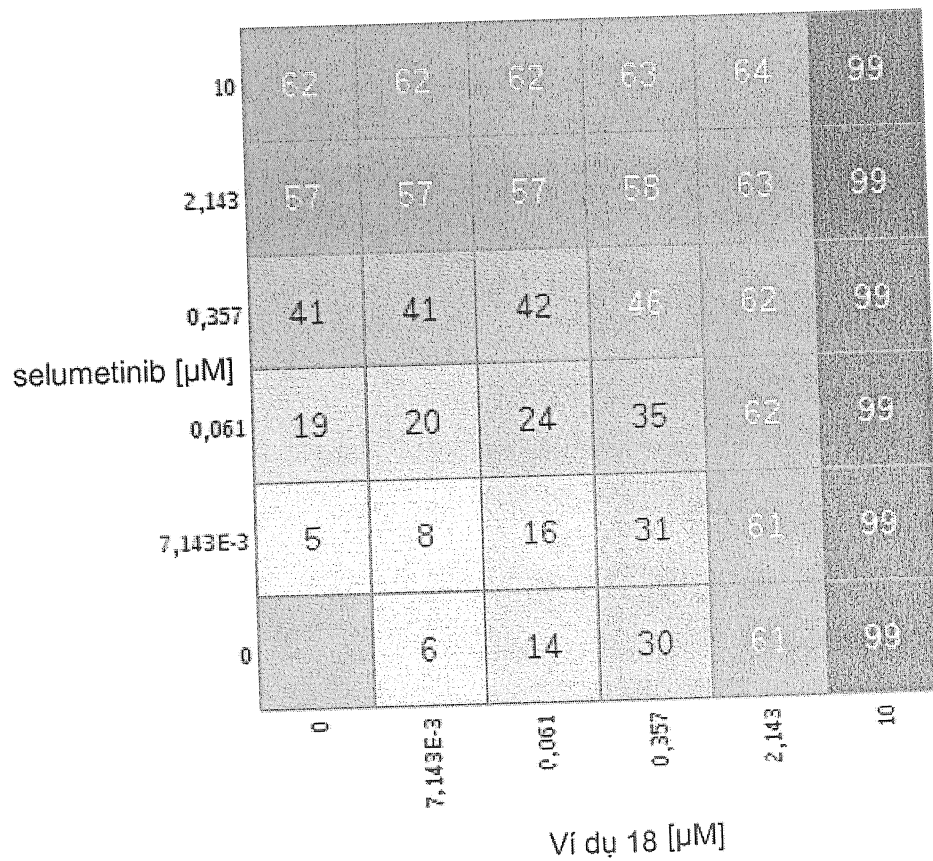
Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2122 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.11



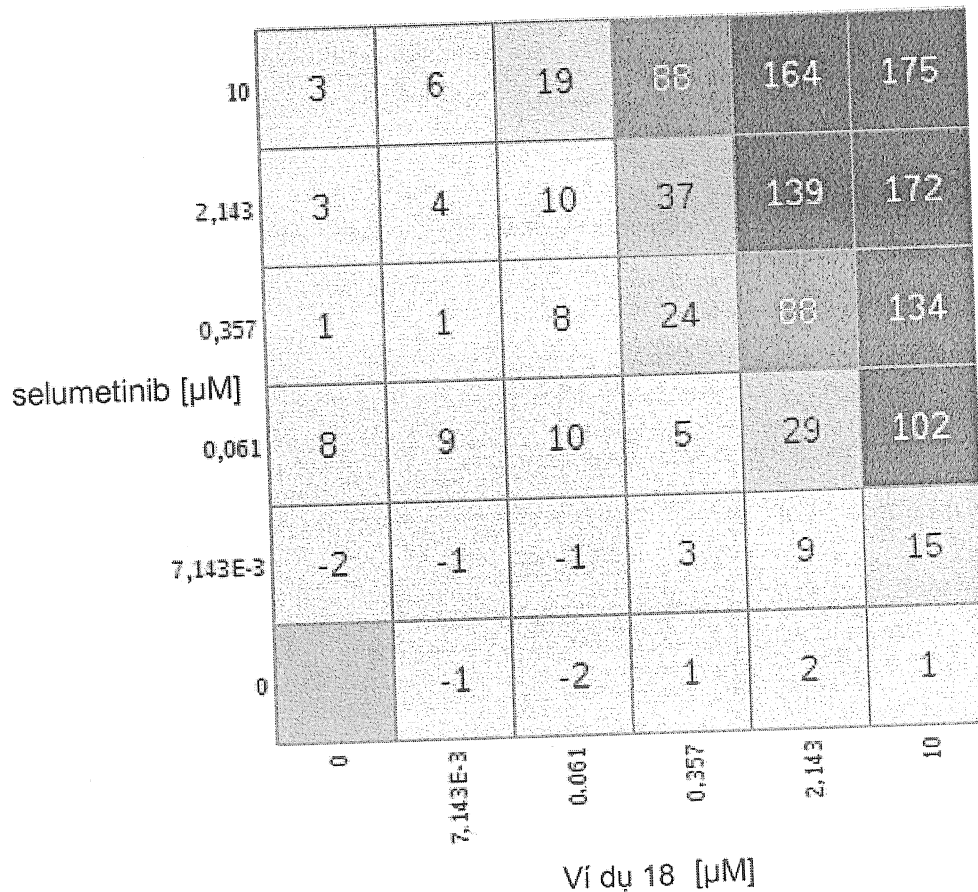
Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.12



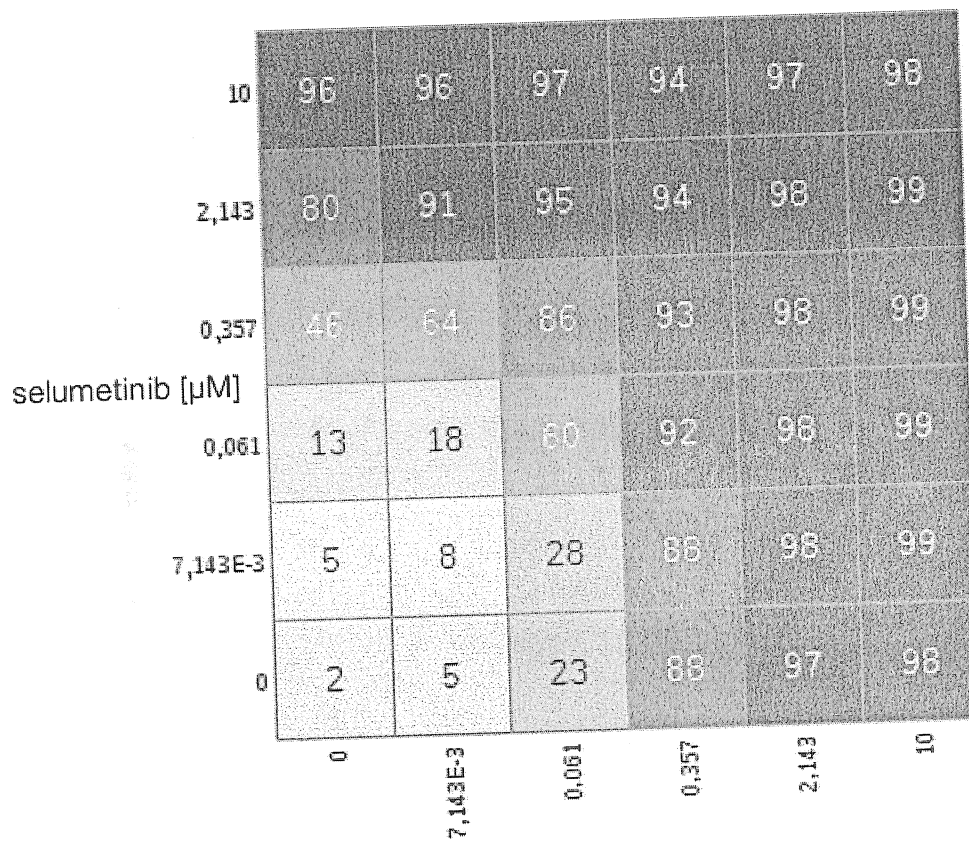
Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

Fig.13



Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào H2009 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

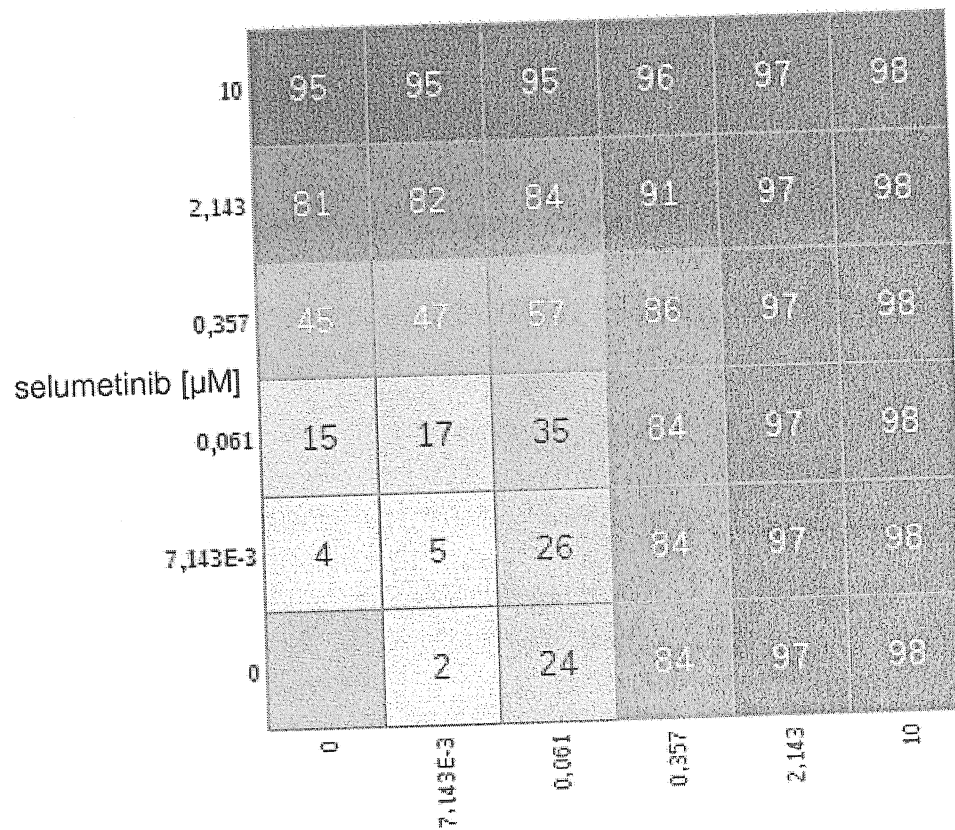
Fig.14



Ví dụ 18 [μM]

Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Ma trận liều lượng thể hiện giá trị ức chế sinh trưởng theo tỉ lệ phần trăm được lấy từ đường cong đáp ứng liều lượng được hiệu chỉnh.

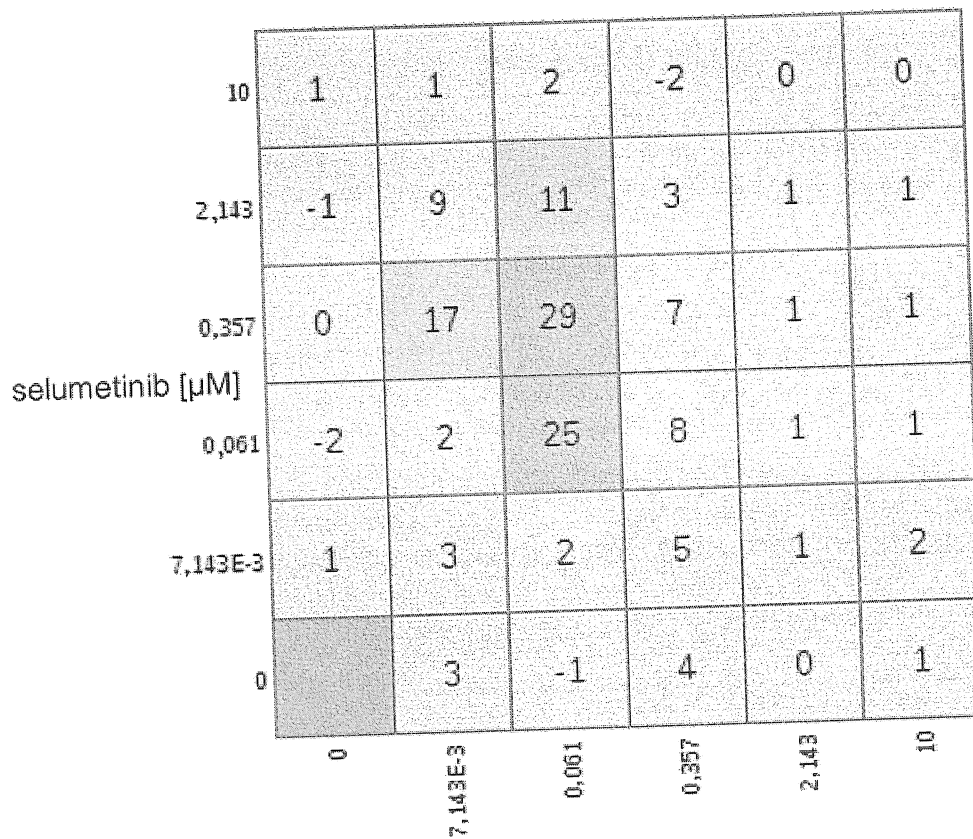
Fig.15



Ví dụ 18 [μM]

Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Mô hình cộng tính Loewe được từ đường cong đáp ứng liều lượng đơn liệu pháp.

Fig.16



Ví dụ 18 [μM]

Sự ức chế sinh trưởng tế bào ở dòng tế bào Calu6 ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) đột biến KRAS bằng ví dụ 18 kết hợp với selumetinib (ARRY-142886). Bản đồ nhiệt dư (hiệp đồng) tính được bằng cách trừ mô hình dữ liệu cộng tính Loewe từ dữ liệu được hiệu chỉnh.

Fig.17