



(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)



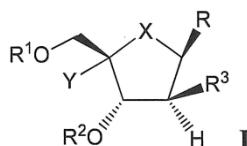
1-0037013

(51)⁷ A61K 31/7064; C07H 19/14; C07H 19/06; C07H 19/12; A61K 45/06; C07D 487/04 (13) B

-
- (21) 1-2016-03786 (22) 26/03/2015
(86) PCT/US2015/022621 26/03/2015 (87) WO 2015/148746 01/10/2015
(30) PCT/CN2014/074294 28/03/2014 CN
(45) 25/09/2023 426 (43) 27/02/2017 347A
(73) Merck Sharp & Dohme LLC (US)
126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065, United States of America
(72) GIRIJAVALLABHAN, Vinay M. (US); OLSEN, David B. (US); ZHANG, Zhibo (CN); FU, Jianmin (CA); TANG, Bing-Yu (CN).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) HỢP CHẤT NUCLEOSIT ĐƯỢC THỂ Ở VỊ TRÍ 4' DÙNG LÀM CHẤT ỨC CHẾ TRANSCRIPTAZA NGƯỢC CỦA HIV VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất nucleosit được thể ở vị trí 4' có công thức I



và sử dụng chúng trong việc ức chế transcriptaza ngược của HIV, phòng ngừa lây nhiễm HIV, điều trị lây nhiễm HIV, và phòng ngừa, điều trị, và làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS và/hoặc ARC. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa nucleosit nêu trên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất nucleosit được thế ở vị trí 4' dùng trong việc ức chế transcriptaza ngược của HIV, phòng ngừa lây nhiễm HIV, điều trị lây nhiễm HIV, và phòng ngừa, điều trị, và làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS và/hoặc ARC. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất nucleosit nêu trên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Một retrovirus gọi là virus gây suy giảm miễn dịch ở người (human immunodeficiency virus - HIV), đặc biệt là các chủng đã biết như HIV typ-1 (HIV-1) và typ-2 (HIV-2), là nguyên nhân gây ra các bệnh ức chế miễn dịch đã biết như hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (acquired immunodeficiency syndrome - AIDS). Các cá thể có huyết thanh dương tính với HIV ban đầu không có triệu chứng bệnh nhưng thường là phát triển giai đoạn phức hợp liên quan đến AIDS (AIDS related complex - ARC) sau đó thành AIDS. Các cá thể mắc bệnh bị ức chế miễn dịch nghiêm trọng, khiến họ rất dễ bị suy nhược và cuối cùng, mắc các bệnh nhiễm trùng cơ hội gây tử vong. Quá trình sao chép của HIV ở một tế bào chủ yêu cầu việc tích hợp bộ gen của virus vào ADN của tế bào chủ. Vì HIV là một retrovirus nên chu trình sao chép của HIV cần đến sự phiên mã bộ gen ARN virus thành ADN thông qua enzym đã biết là transcriptaza ngược (RT).

Transcriptaza ngược có ba chức năng enzym đã biết: enzym đóng vai trò làm ADN polymeraza phụ thuộc ARN, làm ribonucleaza, và làm ADN polymeraza phụ thuộc ADN. Đối với vai trò làm ADN polymeraza phụ thuộc ARN, RT phiên mã bản sao ADN sợi đơn của virus ARN. Đối với vai trò làm ribonucleaza, RT phá hủy virus ARN ban đầu và giải phóng ADN vừa được tạo ra từ ARN ban đầu. Và đối với vai trò làm ADN polymeraza phụ thuộc ADN, RT tạo thành sợi ADN hỗ trợ thứ hai sử dụng sợi ADN thứ nhất làm khuôn mẫu. Hai sợi tạo thành ADN sợi kép, được kết hợp vào bộ gen của tế bào chủ bằng enzym integraza.

Đã biết rằng các hợp chất ức chế chức năng enzym RT của HIV sẽ ức chế sự sao chép HIV trong các tế bào nhiễm virus này. Các hợp chất này là hữu dụng

trong việc phòng hoặc điều trị lây nhiễm HIV ở người. Trong số các hợp chất được chấp nhận để sử dụng trong điều trị lây nhiễm HIV và bệnh AIDS có các chất ức chế RT nucleosit (nucleoside RT inhibitor - NRTI) như 3'-azido-3'-deoxythymidin (AZT), 2',3'-dideoxyinosin (ddI), 2',3'-dideoxyxytidin (ddC), d4T, 3TC, abacavir, emtrixitabin, và tenofovir disoproxil fumarat, cũng như chất ức chế RT không nucleosit (non-nucleoside RT inhibitors - nNRTI) như nevirapin, delavirdin, và efavirenz.

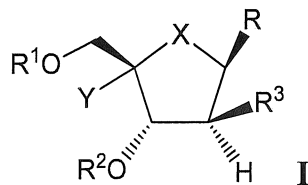
Trong khi tất cả các dược chất nêu trên đều cho hiệu quả điều trị lây nhiễm HIV và bệnh AIDS, nhưng vẫn cần phát triển các dược chất kháng virus HIV khác kể cả chất ức chế RT khác. Vấn đề cụ thể ở chỗ chủng HIV đột biến mà kháng các chất ức chế đã biết có xu hướng phát triển. Việc sử dụng chất kháng retrovirus để điều trị AIDS thường làm cho virus kém nhạy hơn với chất ức chế. Tính kháng này thường là kết quả của sự đột biến xảy ra ở phần transcriptaza ngược của gen pol. Việc sử dụng liên tục các hợp chất kháng virus để ngăn ngừa sự lây nhiễm HIV chắc chắn sẽ dẫn đến sự xuất hiện các chủng HIV mới kháng thuốc. Do đó, cần liên tục phát triển các chất ức chế RT mới hữu hiệu chống lại các chủng HIV đột biến.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất nucleosit được thế ở vị trí 4' và sử dụng chúng trong việc ức chế transcriptaza ngược của HIV, phòng ngừa lây nhiễm HIV, điều trị lây nhiễm HIV, và phòng ngừa, điều trị, và làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS và/hoặc ARC.

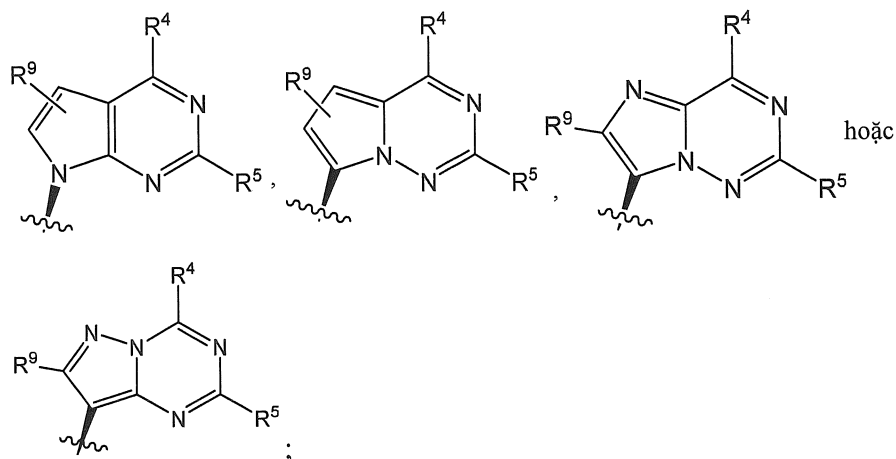
Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức cấu tạo I:



hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

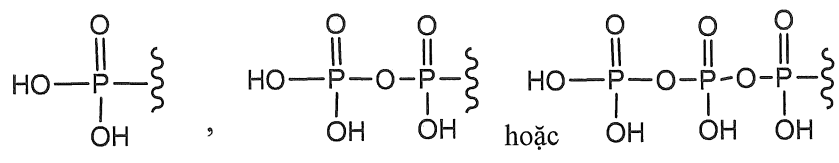
R là



X là O, S, CH₂ hoặc CF₂;

Y là -C≡C-R⁸ hoặc -C≡N;

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂,



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là -H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂;

R³ là -H, -F, hoặc -OH;

R⁴ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -CN, -NO₂, -N(R^x)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9

hoặc 10 cạnh, halo, $-OR^X$, $-CN$, $-NO_2$, $-N(R^X)_2$, $-NH(C_1-C_6\text{alkylen})-$ (heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), $-NH(C_1-C_6\text{ alkylen})-$ (heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, $-NHC(O)OR^{6b}$, $-N(C(O)OR^{6b})_2$, $-NHC(O)N(R^{6b})_2$, hoặc $-NHC(O)R^{6b}$, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, nhóm $-C_2-C_6\text{ alkenyl}$ hoặc nhóm $-C_2-C_6\text{ alkynyl}$ có thể tùy ý được thế bằng halo;

Mỗi **R⁶**, **R^{6a}** và **R^{6b}**, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ $-H$, $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, $-C_1-C_6\text{ haloalkyl}$, $-(C_1-C_3\text{ alkylen})_m-(C_3-C_7\text{ xycloalkyl})$, $-(C_1-C_3\text{ alkylen})_m$ (aryl), $-(C_1-C_3\text{ alkylen})_m$ -(heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh), $-(C_1-C_3\text{ alkylen})_m$ -(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh) hoặc $-(C_1-C_3\text{ alkylen})_m$ -(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, nhóm $C_3-C_7\text{ xycloalkyl}$, nhóm aryl, nhóm heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh, nhóm $-(heteroaryl\text{ một vòng có 5 hoặc 6 cạnh})$ hoặc nhóm heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh có thể tùy ý được thế bằng **R⁷**;

m là số nguyên được chọn từ 0 (không) hoặc 1;

R⁷ thể hiện từ một đến năm nhóm thế, mỗi nhóm thế độc lập được chọn từ $-C_1-C_6\text{alkyl}$, $C_2-C_6\text{ alkenyl}$, $C_2-C_6\text{ alkynyl}$, $C_1-C_6\text{ haloalkyl}$, aryl, hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh;

R⁸ là $-H$, $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, $-C_1-C_6\text{ haloalkyl}$, $-C_3-C_7\text{ xycloalkyl}$, aryl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh;

R⁹ là $-H$, halo, $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, $-C_1-C_6\text{ haloalkyl}$, $-CN$, $-OR^Y$ hoặc $-N(R^Y)_2$;

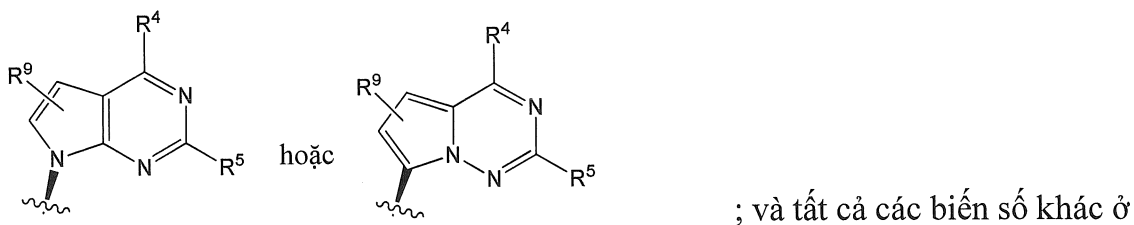
R^X, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ $-H$, $-C_1-C_6\text{ alkyl}$, $-C_1-C_6\text{ haloalkyl}$, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là $-N(R^X)_2$, mỗi **R^X** có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

R^Y là $-H$, $-C_1-C_6\text{ alkyl}$ hoặc $-C_1-C_6\text{ haloalkyl}$;

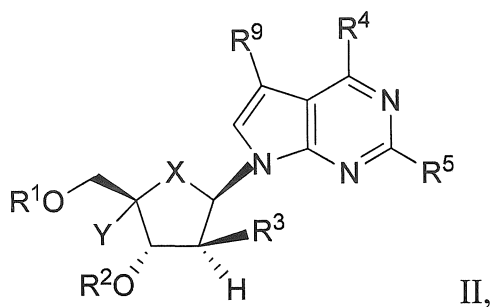
với điều kiện là nếu **X** là O, **Y** là $\text{-C}\equiv\text{CH}$ hoặc $\text{-C}\equiv\text{N}$, **R¹** là -H , **R²** là -H , **R⁴** là -NH_2 , **R⁵** là -H , -F , hoặc -OH và **R⁹** là -F , thì **R³** không phải là -F .

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến ở dạng công thức Ia là hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R** là



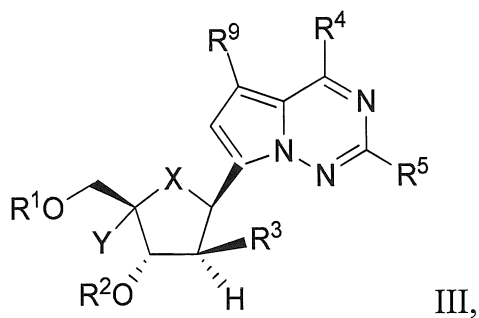
đây (**R¹**, **R²**, **X**, **Y**, v.v.) như được xác định trong công thức I.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I có công thức cấu tạo II hoặc muối được dụng của nó:



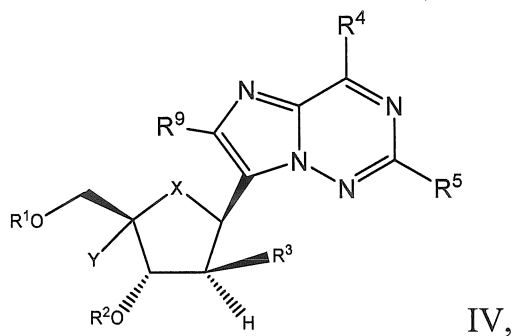
trong đó tất cả biến số ở đây (**R¹**, **R²**, **X**, **Y**, v.v.) như được xác định trong công thức I.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I có công thức cấu tạo III hoặc muối được dụng của nó:



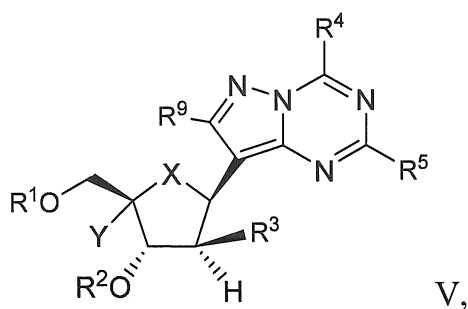
trong đó tất cả biến số ở đây (**R¹**, **R²**, **X**, **Y**, v.v.) như được xác định trong công thức I.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I có công thức cấu tạo IV hoặc muối được dụng của nó:



trong đó tất cả biến số ở đây (R^1 , R^2 , X, Y, v.v.) như được xác định trong công thức I.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I có công thức cấu tạo V hoặc muối được dụng của nó:



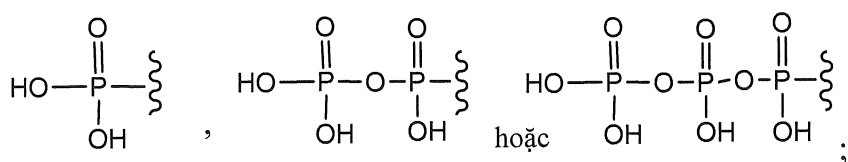
trong đó tất cả biến số ở đây (R^1 , R^2 , X, Y, v.v.) như được xác định trong công thức I.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương án A là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là O, S, CH_2 hoặc CF_2 ;

Y là $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^8$ hoặc $-\text{C}\equiv\text{N}$;

R^1 là $-\text{H}$ hoặc



R² là -H;

R³ là -H, -F, hoặc -OH;

R⁴ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -CN, -NO₂, -N(R^X)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -OR^X, -CN, -NO₂, -N(R^X)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh) hoặc aryl, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁸ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, aryl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh;

R⁹ là -H, halo, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -CN, -OR^Y, hoặc -N(R^Y)₂;

R^x, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

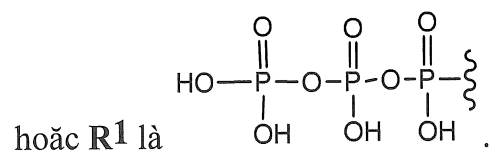
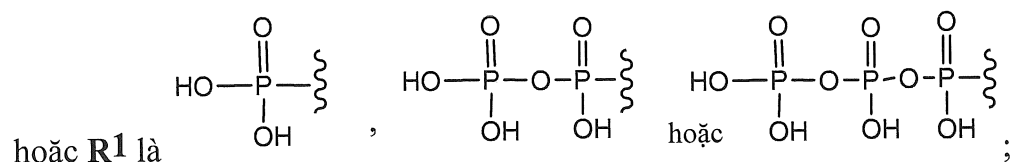
hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là -N(R^X)₂, mỗi R^X có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

R^Y là -H, -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl;

và tất cả các biến số khác, ví dụ, R⁶, R^{6a}, R^{6b}, m, v.v., như được xác định trong công thức I.

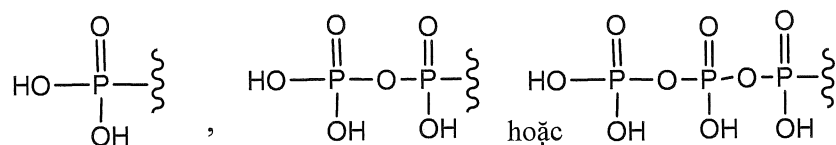
Trong nhóm phương án A là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H;



Theo một phương án, sáng chế đề cập đến phương án **B** là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶ hoặc -C(O)N(R⁶)₂,



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là -H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂; và

R⁴ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -CN, -NO₂, -N(R^x)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -OR^X, -CN, -NO₂, -N(R^X)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

với điều kiện là một hoặc nhiều trong số **R¹**, **R²**, **R⁴** hoặc **R⁵** được chọn như sau:

R¹ là -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂ hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat; và/hoặc

R² là -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂; và/hoặc

R⁴ là -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}; và/hoặc

R⁵ là -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b};

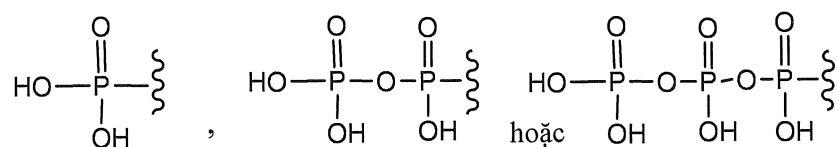
và tất cả các biến số khác, ví dụ, X, Y, R³, R⁶, R^{6a}, R^{6b}, m, R⁷, R⁸, R⁹, R^X, và R^Y, như được xác định trong công thức I.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương án **C**, là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X là O;

Y là -C≡CH hoặc -C≡N;

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂,



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂, hoặc đặc biệt là -H;

R³ là -H, hoặc -OH; hoặc đặc biệt là **R³** là -H;

R⁴ là -N(R^X)₂, -NHC(O)OR^{6b} hoặc -NHC(O)N(R^{6b})₂; hoặc đặc biệt **R⁴** là -N(R^X)₂;

R⁵ là -H, halo, -C₁-C₆ alkyl, -OR^X hoặc -N(R^X)₂; và đặc biệt **R⁵** là -H, -Cl, -F hoặc -NH₂;

Mỗi **R⁶**, **R^{6a}**, và **R^{6b}**, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl (tốt hơn là phenyl), hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, trong đó mỗi **R⁶**, **R^{6a}**, và **R^{6b}** tùy ý được thế bằng **R⁷**;

R⁷ là -C₁-C₆ alkyl, aryl (tốt hơn là phenyl) hoặc heteroaryl một vòng có 5-6 cạnh;

R⁸ là -H;

R⁹ là -H, halo, -C₁-C₃ alkyl, -C₁-C₃ haloalkyl, -CN, -OR^Y, hoặc -N(R^Y)₂, và đặc biệt là -H, -F, -Cl, -I, -Br hoặc -CH₃;

R^X, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là -N(R^X)₂, mỗi R^X có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

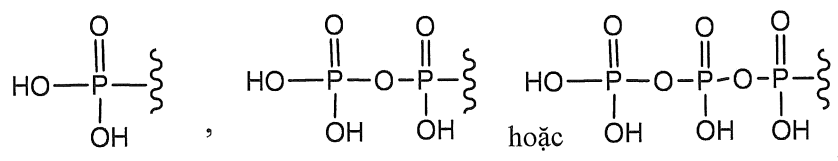
R^Y là -H, -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến phương án **D**, là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

X là O;

Y là $-\text{C}\equiv\text{CH}$ hoặc $-\text{C}\equiv\text{N}$;

R¹ là $-\text{H}$,



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là $-\text{H}$;

R³ là $-\text{H}$;

R⁴ là $-\text{NH}_2$;

R⁵ là $-\text{H}$, $-\text{Cl}$, $-\text{F}$ hoặc $-\text{NH}_2$;

R⁸ là $-\text{H}$; và

R⁹ là $-\text{H}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{I}$, $-\text{Br}$, hoặc $-\text{CH}_3$.

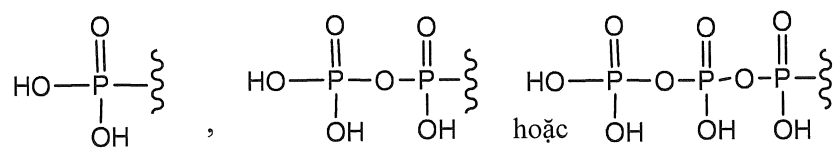
Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **X** là O.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **Y** là $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^8$. Theo phương án khác là các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A, B, C hoặc D, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **Y** là $-\text{C}\equiv\text{CH}$.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A, B, C hoặc D, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **Y** là $-\text{C}\equiv\text{N}$.

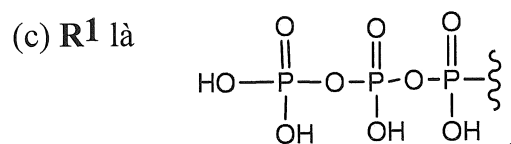
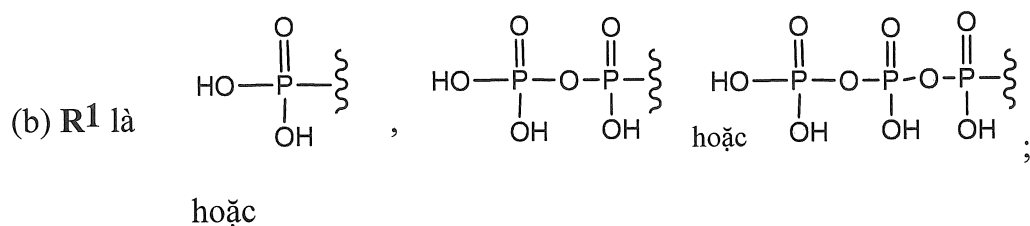
Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B hoặc C, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂, hoặc dạng cải biến tiền dược chất của

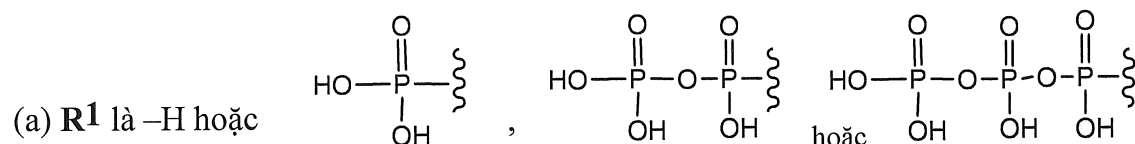


Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A, B, C hoặc D, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

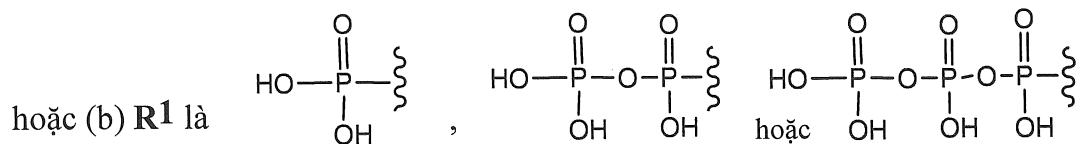
(a) **R¹** là -H; hoặc



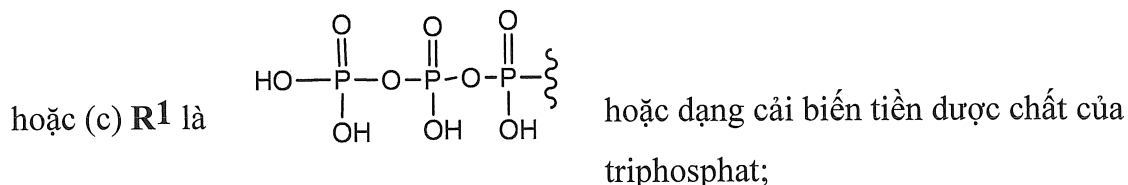
Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B, C hoặc D, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:



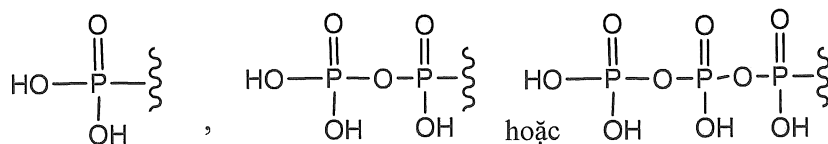
hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;



hoặc (d) **R¹** là sự biến đổi tiền dược chất của



Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B hoặc C, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R¹** là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, or -C(O)N(R⁶)₂, hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat. Trong nhóm này, **R¹** là -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, hoặc -C(O)N(R⁶)₂, hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B hoặc C, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R² là -H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂ ;

hoặc **R²** là -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂;

hoặc **R²** là -H.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A, B hoặc C, hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R³** là -H hoặc -OH. Theo phương án khác là các hợp chất có công thức I,

Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A, B hoặc C, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R³** là -H.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R⁴** là -N(R^X)₂, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}; và đặc biệt **R⁴** là -N(R^X)₂. Đặc biệt hơn, **R⁴** là -NH₂.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R⁵ là -H, halo, -C₁-C₆ alkyl, -OR^X, -N(R^X)₂, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b};

hoặc **R⁵** là -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b};

hoặc **R⁵** là -H, halo (tốt hơn là -F hoặc -Cl), -C₁-C₆ alkyl, -OR^X hoặc -N(R^X)₂;

hoặc **R⁵** là -H, -Cl, -F hoặc -NH₂.

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất của phương án A hoặc B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R⁵ là -H, halo (tốt hơn là -F hoặc -Cl), -C₁-C₆ alkyl, -OR^X hoặc -N(R^X)₂;

hoặc **R⁵** là -H, -Cl, -F hoặc -NH₂.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó mỗi **R⁶**, **R^{6a}** và **R^{6b}**, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl (tốt hơn là phenyl), hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh. Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất của phương án A, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R^{6b}** mỗi lần xuất hiện được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl (tốt hơn là phenyl), hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R⁷** là -C₁-C₆ alkyl, aryl (tốt hơn là phenyl) hoặc heteroaryl một vòng có 5-6 cạnh.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R⁸** là-H.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I, Ia, II, III, IV hoặc V, hoặc phương án A hoặc B, hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R⁹** là -H, halo, -C₁-C₃ alkyl, -C₁-C₃ haloalkyl, -CN, -OR^Y, hoặc -N(R^Y)₂; và đặc biệt là -H, -F, -Cl, -I, -Br hoặc -CH₃.

Tất cả công thức cấu tạo, phương án và nhóm phương án được mô tả ở đây bao gồm muối được dụng của hợp chất được xác định ở đây. Đối với các hợp chất có công thức I ở đây bao gồm các hợp chất của mỗi trong số các công thức I, Ia, II III, IV hoặc V, và tất cả phương án và và nhóm phương án. Việc tham chiếu đến các hợp chất theo sáng chế ở dạng các hợp chất có công thức hoặc phương án cụ thể, ví dụ, công thức I, Ia, II III, IV hoặc V, hoặc các phương án của chúng, hoặc công thức cấu tạo chung hoặc hợp chất cụ thể bất kỳ khác được mô tả hoặc được bảo hộ trong sáng chế này, nhằm bao gồm hợp chất hoặc các hợp chất cụ thể nằm trong phạm vi công thức hoặc phương án, bao gồm muối của chúng, đặc biệt là muối được dụng, solvat (bao gồm hydrat) của các hợp chất này và dạng muối solvat của chúng, trong đó các dạng này là có thể có, trừ khi có quy định khác.

Sáng chế bao gồm mỗi trong số các ví dụ được mô tả ở đây, và muối được dụng của chúng. Sáng chế còn bao gồm được phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó, và chất mang được dụng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “alkyl” đề cập đến gốc hydrocarbon béo no, mạch thẳng hoặc mạch nhánh có hóa trị một có số nguyên tử cacbon trong khoảng xác định. Do đó, ví dụ, “C₁-6 alkyl” (hoặc “C₁-C₆ alkyl”) đề cập đến bất kỳ trong số các chất đồng phân hexyl alkyl và pentyl alkyl cũng như n-, iso-, sec-

và t-butyl, n- và iso- propyl, etyl và metyl. Theo ví dụ khác, “C₁₋₄ alkyl” đề cập đến n-, iso-, sec- và t-butyl, n- và iso-propyl, etyl và metyl.

Thuật ngữ “alkenyl” đề cập đến gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có hóa trị một chứa một liên kết đôi cacbon-cacbon và có số nguyên tử cacbon trong khoảng xác định. Do đó, ví dụ, “C₂₋₆ alkenyl” (hoặc “C_{2-C6} alkenyl”) đề cập đến tất cả các chất đồng phân hexenyl và pentenyl cũng như 1-butenyl, 2-butenyl, 3-butenyl, isobutenyl, 1-propenyl, 2-propenyl, và etenyl (hoặc vinyl).

Thuật ngữ “alkynyl” đề cập đến gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có hóa trị một chứa một liên kết ba cacbon-cacbon và có số nguyên tử cacbon trong khoảng xác định. Do đó, ví dụ, “C₂₋₆ alkynyl” (hoặc “C_{2-C6} alkynyl”) đề cập đến tất cả các chất đồng phân hexynyl và pentynyl cũng như 1-butynyl, 2-butynyl, 3-butynyl, 1-propynyl, 2-propynyl, và etynyl.

Thuật ngữ "alkylen" đề cập đến gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có hóa trị hai bất kỳ có số nguyên tử cacbon trong khoảng xác định. Do đó, ví dụ, "-C₁₋₆ alkylen-" đề cập đến bất kỳ trong số alkylen C₁ đến C₆ mạch thẳng hoặc mạch nhánh, và "-C₁₋₃ alkylen-" đề cập đến bất kỳ trong số alkylen C₁ đến C₃ mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Phân loại cụ thể của alkylen bao gồm -(CH₂)₁₋₃-, -(CH₂)₂₋₃-, -(CH₂)₁₋₂-, và -CH₂-, -CH(CH₃)-, và -C(CH₃)₂-.

Thuật ngữ "xycloalkyl" đề cập đến vòng một vòng bất kỳ của alkan có số nguyên tử cacbon trong khoảng xác định. Do đó, ví dụ, “C₃₋₇ xycloalkyl” (hoặc “C_{3-C7} xycloalkyl”) đề cập đến xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, và xycloheptyl. Phân loại cụ thể được quan tâm đối với các hợp chất có công thức I và các phương án của chúng là C₃₋₆ xycloalkyl.

Thuật ngữ "halogen" (hoặc “halo”) đề cập đến flo, clo, brom và iot (theo cách khác được đề cập đến ở dạng floro, cloro, bromo, và iodo). Phân loại cụ thể được quan tâm đối với hợp chất có công thức I và các phương án của chúng là mỗi trong số floro và cloro.

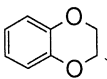
Thuật ngữ "haloalkyl" đề cập đến nhóm alkyl như được xác định ở trên, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro được thay thế bằng halo (nghĩa là, -F, -Cl, -Br và/hoặc -I). Do đó, ví dụ, "C₁₋₆ haloalkyl" (hoặc "C_{1-C6} haloalkyl") đề cập đến nhóm alkyl C₁ đến C₆ mạch thẳng hoặc mạch nhánh như được xác định ở trên có một hoặc nhiều phần tử thế halo. Thuật ngữ "floalkyl" có nghĩa tương tự ngoại trừ các phần tử thế halogen bị giới hạn ở flo. Các floalkyl thích hợp bao gồm nhóm cùng gốc (CH₂)₀₋₄CF₃ (nghĩa là, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl, 3,3,3-triflo-n-propyl, v.v.). Floalkyl đặc biệt được quan tâm là CF₃.

Thuật ngữ "C(O)" đề cập đến carbonyl. Mỗi trong số các thuật ngữ "S(O)₂" và "SO₂" đề cập đến sulfonyl. Thuật ngữ "S(O)" đề cập đến sulfinyl.

Thuật ngữ "aryl" (hoặc "C_{6-C10} aryl") đề cập đến (i) phenyl, hoặc (ii) hệ vòng cacbon ngưng tụ, hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh trong đó ít nhất một vòng là thơm. Các aryl thích hợp bao gồm, ví dụ, phenyl, naphtyl, tetrahydronaphtyl (tetralinyl), hoặc indenyl. Theo phân loại cụ thể của các hợp chất công thức I và các phương án của chúng, aryl là phenyl hoặc naphtyl, và đặc biệt hơn nếu aryl là phenyl.

Thuật ngữ "heteroaryl" đề cập đến (i) vòng thơm khác loại có 5 hoặc 6 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, trong đó mỗi N tùy ý ở dạng oxit để có thể mở rộng về mặt hóa học, (ii) hệ vòng ngưng tụ hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, trong đó hệ vòng ngưng tụ này chứa từ 1 đến 6 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ N, O và S, trong đó mỗi vòng trong hệ vòng ngưng tụ chứa không, một, hoặc nhiều hơn một nguyên tử khác loại, và ít nhất một vòng là thơm, và mỗi N tùy ý ở dạng oxit để có thể mở rộng về mặt hóa học, và mỗi S trong vòng mà không thơm tùy ý là S(O) hoặc S(O)₂. Vòng thơm khác loại có 5 và 6 cạnh thích hợp bao gồm, ví dụ, pyridyl, pyrrolyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, triazinyl, thienyl, furanyl, imidazolyl, pyrazolyl, triazolyl triazolyl (nghĩa là, 1,2,3-triazolyl hoặc 1,2,4-triazolyl), tetrazolyl, oxazolyl, isooxazolyl, oxadiazolyl (nghĩa là, chất đồng phân 1,2,3-, 1,2,4-, 1,2,5- (furazanyl), hoặc 1,3,4-), oxatriazolyl, thiazolyl, isothiazolyl, và thiadiazolyl. Hệ vòng ngưng tụ, hai vòng khác loại có 9 và 10 cạnh thích hợp bao gồm, ví dụ, benzofuranyl, indolyl,

indazolyl, naphthyridinyl, isobenzofuranyl, benzopiperidinyl, benzisoxazolyl, benzoxazolyl, chromenyl, quinolinyl, isoquinolinyl, cinnolinyl, quinazolinyl, tetrahydroquinolinyl, tetrahydroisoquinolinyl, isoindolyl, benzodioxolyl (ví dụ,

benzo-1,3-dioxolyl: , benzopiperidinyl, benzisoxazolyl, benzoxazolyl, chromanyl, isochromanyl, benzothienyl, benzofuranyl, imidazo[1,2-a]pyridinyl, benzotriazolyl, dihydroindolyl, dihydroisoindolyl, indazolyl, indolyl, isoindolyl, quinoxalinyl, quinazolinyl, 2,3-dihydrobenzofuranyl, và 2,3-dihydrobenzo-1,4-dioxinyl (nghĩa là, .

Được hiểu là các vòng và hệ vòng cụ thể thích hợp để sử dụng trong sáng chế không bị giới hạn ở các vòng và hệ vòng được liệt kê ở các đoạn trên. Các vòng và hệ vòng này chỉ là đại diện. Trừ khi có quy định rõ ràng trái ngược trong ngữ cảnh cụ thể, bất kỳ trong số các vòng và hệ vòng khác nhau được mô tả ở đây có thể được gắn với phần còn lại của hợp chất ở nguyên tử vòng bất kỳ (nghĩa là, nguyên tử cacbon bất kỳ hoặc nguyên tử khác loại bất kỳ) với điều kiện là có sự gắn kết về mặt hóa học và tạo ra hợp chất bền.

Trừ khi có quy định khác, biến số mô tả trong công thức cấu tạo có liên kết "thay đổi" gắn với vòng, như R⁹ trong công thức I, được phép là phần tử thế (theo cách khác, R⁹ có thể là -H) trên nguyên tử cacbon hoặc nitơ có thể có bất kỳ trong vòng mà biến số được gắn trên đó.

Khi gốc được lưu ý là “tùy ý được thế” trong công thức I hoặc phương án bất kỳ của nó, nghĩa là công thức I hoặc phương án của nó bao gồm cả hợp chất được thế bằng phần tử thế (hoặc các phần tử thế) đã lưu ý trên gốc và các hợp chất không chứa phần tử thế (hoặc các phần tử thế) đã lưu ý trên gốc (nghĩa là, trong đó gốc là không được thế). Theo một ví dụ, nếu R⁴ là nhóm -C₁-C₆ alkyl mà có thể tùy ý được thế bằng halo, thì R⁴ có thể là -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl.

Khi biến số bất kỳ (ví dụ, R⁷, R^X, R^Y) xuất hiện nhiều hơn một lần trong thành phần bất kỳ hoặc trong công thức I hoặc trong công thức khác bất kỳ mô tả và diễn tả các hợp chất theo sáng chế, thì định nghĩa về biến số này mỗi lần xuất hiện không phụ thuộc vào định nghĩa về nó ở mọi lần xuất hiện khác. Cũng vậy, sự

kết hợp phần tử thế và/hoặc biến số chỉ được chấp nhận nếu các kết hợp này tạo ra hợp chất bền.

Trừ khi có quy định khác, sự thay thế bằng phần tử thế được đặt tên được cho phép trên nguyên tử bất kỳ trên vòng (ví dụ, xycloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl) tạo ra sự thay thế vòng được phép về mặt hóa học và tạo ra hợp chất bền.

Trừ khi có quy định khác, tất cả các khoảng trích dẫn ở đây được bao gồm. Ví dụ, vòng thơm khác loại được mô tả ở dạng chứa từ “1 đến 4 nguyên tử khác loại” nghĩa là vòng có thể chứa 1, 2, 3 hoặc 4 nguyên tử khác loại. Cũng được hiểu là khoảng bất kỳ trích dẫn ở đây bao gồm trong phạm vi của nó tất cả các khoảng phụ trong khoảng đó. Do đó, ví dụ, vòng dị vòng được mô tả ở dạng chứa từ “1 đến 4 nguyên tử khác loại” nhằm bao gồm các dạng của nó, các vòng dị vòng chứa 2 đến 4 nguyên tử khác loại, 3 hoặc 4 nguyên tử khác loại, 1 đến 3 nguyên tử khác loại, 2 hoặc 3 nguyên tử khác loại, 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại, 1 nguyên tử khác loại, 2 nguyên tử khác loại, 3 nguyên tử khác loại, hoặc 4 nguyên tử khác loại. Theo ví dụ khác, aryl hoặc heteroaryl được mô tả ở dạng tùy ý được thế bằng R⁷, trong đó R⁷ là “từ 1 đến 5 nhóm thế” nhằm bao gồm các dạng của nó, aryl hoặc heteroaryl được thế bằng 1 đến 5 phần tử thế, 2 đến 5 phần tử thế, 3 đến 5 phần tử thế, 4 đến 5 phần tử thế, 5 phần tử thế, 1 đến 4 phần tử thế, 2 đến 4 phần tử thế, 3 đến 4 phần tử thế, 4 phần tử thế, 1 đến 3 phần tử thế, 2 đến 3 phần tử thế, 3 phần tử thế, 1 đến 2 phần tử thế, 2 phần tử thế, và 1 phần tử thế.

In phương án B, “một hoặc nhiều trong số R¹, R², R⁴ hoặc R⁵ được chọn như sau” chỉ bao gồm một trong số R¹, R², R⁴ hoặc R⁵ như được xác định theo điều kiện, hoặc hỗn hợp bất kỳ của nhiều hơn 1 trong số R¹, R², R⁴ và/hoặc R⁵ được xác định theo điều kiện. Ví dụ, tổ hợp các biến số sau có thể được xác định theo điều kiện của phương án B: R¹ và R²; R¹ và R⁴; R¹ và R⁵; R² và R⁴; R² và R⁵; R⁴ và R⁵; R¹, R² và R⁴; R¹, R² và R⁵; R¹, R⁴ và R⁵; R², R⁴ và R⁵; hoặc R¹, R², R⁴ và R⁵.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng, một số hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng chất hỗn biến. Tất cả các dạng hỗn biến của các hợp chất này, dù được tách riêng hoặc ở dạng hỗn hợp, đều nằm trong

phạm vi của sáng chế. Ví dụ, trong trường hợp trong đó phân tử thể $-OH$ được gắn trên vòng thơm khác loại và hiện tượng hồ biến keto-enol có thể xảy ra, thì được hiểu là phân tử thể có thể có mặt trên thực tế, trong toàn bộ hoặc một phần, ở dạng oxo ($=O$).

Hợp chất "bền" là hợp chất mà có thể được điều chế và được tách và giữ lại cấu trúc và đặc điểm hoặc chủ yếu có thể giữ không đổi trong thời gian đủ để sử dụng hợp chất cho các mục đích được mô tả ở đây (ví dụ, dùng để điều trị hoặc phòng bệnh cho đối tượng). Hợp chất theo sáng chế giới hạn ở các hợp chất bền có công thức I và các phương án của nó.

Hợp chất có công thức I có thể có một hoặc nhiều tâm bất đối (không đối xứng). Sáng chế bao gồm tất cả các dạng đồng phân lập thể của hợp chất có công thức I. Các tâm không đối xứng có mặt trong hợp chất có công thức I có thể độc lập với nhau có cấu hình (*R*) hoặc (*S*). Khi liên kết với cacbon bất đối được ở mô ở dạng đường thẳng trong công thức cấu tạo theo sáng chế, hoặc khi tên hợp chất được mô tả mà không chỉ rõ bất đối (*R*) hoặc (*S*) đối với cacbon bất đối, thì hiểu là cả cấu hình (*R*) và (*S*) của mỗi cacbon bất đối, và do đó mỗi chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang và hỗn hợp của chúng, được bao gồm trong công thức hoặc theo tên. Việc tạo ra chất đồng phân lập thể cụ thể hoặc hỗn hợp của chúng có thể được nhận biết trong các ví dụ trong đó thu được các chất đồng phân lập thể hoặc các hỗn hợp này, nhưng không làm giới hạn việc bao gồm tất cả chất đồng phân lập thể và hỗn hợp của chúng trong phạm vi sáng chế này.

Sáng chế bao gồm tất cả chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân không đối quang và hỗn hợp của hai hoặc nhiều chất đồng phân lập thể có thể có, ví dụ hỗn hợp của chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân không đối quang, theo các tỷ lệ. Do đó, chất đồng phân đối ảnh là đối tượng của sáng chế ở dạng tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, cả ở dạng quay trái và ở dạng quay phải, ở dạng raxemat và ở dạng hỗn hợp của hai chất đồng phân đối ảnh ở các tỷ lệ. Trong trường hợp đồng phân cis/trans, sáng chế bao gồm cả dạng cis và dạng trans cũng như hỗn hợp của các dạng này ở các tỷ lệ. Việc điều chế chất đồng phân lập thể riêng lẻ có thể được thực hiện, nếu muốn, bằng cách tách hỗn hợp bằng các phương pháp thông thường, ví dụ bằng sắc ký hoặc kết tinh, bằng cách sử dụng

nguyên liệu ban đầu đồng đều về mặt hóa học lập thể để tổng hợp hoặc bằng cách tổng hợp chọn lọc lập thể. Quá trình tạo dẫn xuất có thể được thực hiện tùy ý trước khi tách chất đồng phân lập thể. Việc tách hỗn hợp chứa chất đồng phân lập thể có thể được thực hiện ở bước trung gian trong khi tổng hợp hợp chất có công thức I hoặc có thể được thực hiện trên sản phẩm raxemic cuối cùng. Hóa học lập thể tuyệt đối có thể được xác định bằng phép khảo sát tinh thể bằng tia X đối với sản phẩm tinh thể hoặc chất trung gian tinh thể được bắt nguồn, nếu cần, từ chất phản ứng chứa tâm lập thể có cấu hình đã biết. Theo cách khác, hóa học lập thể tuyệt đối có thể được xác định bằng phép phân tích quang phổ VCD (Vibrational Circular Dichroism - VCD). Sáng chế bao gồm tất cả chất đồng phân, cũng như muối, solvat (bao gồm hydrat) và muối solvat của raxemat, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và chất hỗn biến và hỗn hợp của chúng.

Các nguyên tử trong hợp chất có công thức I có thể bộc lộ độ giàu đồng vị tự nhiên của chúng, hoặc một hoặc nhiều nguyên tử có thể được làm giàu nhân tạo trong chất đồng vị cụ thể có cùng số nguyên tử, nhưng khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối chủ yếu được tìm thấy trong tự nhiên. Sáng chế bao gồm tất cả các biến đổi đồng vị thích hợp của hợp chất có công thức chung I. Ví dụ, các dạng đồng vị khác nhau của hydro (H) bao gồm proti (^1H) và đoteri (^2H). Proti là chất đồng vị hydro nổi trội được tìm thấy trong tự nhiên. Việc làm giàu đối với đoteri có thể thu được một số thuận lợi điều trị nhất định, như tăng chu kỳ bán hủy *in vivo* hoặc giảm nhu cầu liều, hoặc có thể tạo ra hợp chất hữu dụng làm đặc điểm chuẩn đối với mẫu sinh học. Hợp chất làm giàu đồng vị có công thức chung I có thể được điều chế mà không phải thử nghiệm quá mức bằng các kỹ thuật thông thường đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự với quy trình được mô tả trong các sơ đồ và ví dụ trong sáng chế này sử dụng chất phản ứng và/hoặc chất trung gian được làm giàu đồng vị thích hợp.

Hợp chất có thể được dùng ở dạng muối dược dụng. Thuật ngữ "muối dược dụng" đề cập đến muối là không mong muốn về mặt sinh học hoặc về mặt khác (ví dụ, không độc cũng không có hại cho người nhận).

Khi hợp chất có công thức I chứa một hoặc nhiều nhóm axit hoặc bazơ thì sáng chế cũng bao gồm các muối được dụng tương ứng. Do đó, hợp chất có công thức I chứa nhóm axit (ví dụ, -COOH hoặc nhóm phenolic) có thể được sử dụng theo sáng chế dưới dạng, ví dụ nhưng không bị giới hạn ở, muối kim loại kiềm, muối kim loại kiềm thổ hoặc dưới dạng muối amoni. Ví dụ về các muối này bao gồm nhưng không bị giới hạn ở muối natri, muối kali, muối canxi, muối magie hoặc muối có amoniac hoặc amin hữu cơ như, ví dụ, etylamin, etanolamin, trietanolamin hoặc axit amin. Hợp chất có công thức I chứa một hoặc nhiều nhóm bazơ, nghĩa là các nhóm có thể được proton hóa, có thể được sử dụng theo sáng chế ở dạng muối cộng axit của chúng với axit vô cơ hoặc hữu cơ như, ví dụ nhưng không bị giới hạn ở, muối có hydro clorua, hydro bromua, axit phosphoric, axit sulfuric, axit nitric, axit benzensulfonic, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit naphthalendisulfonic, axit oxalic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit tartaric, axit lactic, axit salixylic, axit benzoic, axit formic, axit propionic, axit pivalic, axit diethylaxetic, axit malonic, axit succinic, axit pimelic, axit fumaric, axit maleic, axit malic, axit sulfaminic, axit phenylpropionic, axit gluconic, axit ascorbic, axit isonicotinic, axit xitric, axit adipic, v.v.. Nếu hợp chất có công thức I đồng thời chứa các nhóm axit và bazơ trong phân tử thì sáng chế cũng bao gồm muối nội hoặc betain (ion lưỡng tính) ngoài các dạng muối đã nêu. Muối có thể thu được từ hợp chất có công thức I bằng các phương pháp thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, ví dụ bằng cách kết hợp với axit hoặc bazơ hữu cơ hoặc vô cơ trong dung môi hoặc chất phân tán, hoặc bằng cách trao đổi anion hoặc trao đổi cation từ các muối khác. Sáng chế còn bao gồm tất cả các muối của hợp chất có công thức I, do khả năng tương thích sinh lý thấp, không thích hợp để sử dụng trực tiếp trong dược phẩm nhưng có thể được sử dụng, ví dụ, làm chất trung gian đối với các phản ứng hóa học hoặc để điều chế các muối được dụng.

Theo phương án khác của sáng chế là hợp chất có công thức I, trong đó hợp chất hoặc muối của nó ở dạng gần như tinh khiết. Như được sử dụng ở đây, "gần như tinh khiết" nghĩa là thích hợp ít nhất khoảng 60% khối lượng, thường là ít nhất khoảng 70% khối lượng, tốt hơn là ít nhất khoảng 80% khối lượng, tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 90% khối lượng (ví dụ, từ khoảng 90% khối lượng đến khoảng 99%

khối lượng), còn tốt hơn nữa là ít nhất khoảng 95% khối lượng (ví dụ, từ khoảng 95% khối lượng đến khoảng 99% khối lượng, hoặc từ khoảng 98% khối lượng đến 100% khối lượng), và tốt nhất là ít nhất khoảng 99% khối lượng (ví dụ, 100% khối lượng) sản phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc muối của nó (ví dụ, sản phẩm được tách từ hỗn hợp phản ứng tạo ra hợp chất hoặc muối) bao gồm hợp chất hoặc muối. Mức độ tinh khiết của hợp chất và muối có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp phân tích chuẩn như sắc ký lớp mỏng, điện di trên gel, sắc ký lỏng hiệu năng cao, và/hoặc đo khối phổ. Nếu dùng nhiều hơn một phương pháp phân tích và các phương pháp này đưa ra sự chênh lệch đáng kể bằng thực nghiệm ở các mức độ tinh khiết xác định, thì phương pháp này tạo ra mức độ tinh khiết nhất. Hợp chất hoặc muối có độ tinh khiết 100% là hợp chất hoặc muối không phát hiện thấy tạp chất bằng phương pháp phân tích chuẩn. Đối với hợp chất của sáng chế mà có một hoặc nhiều tâm không đối xứng và có thể diễn ra ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hợp chất gần như tinh khiết có thể là hỗn hợp gần như tinh khiết của các chất đồng phân lập thể hoặc chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ gần như tinh khiết.

Hơn nữa, các hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng vô định hình và/hoặc một hoặc nhiều dạng tinh thể, và tất cả các dạng vô định hình và tinh thể này của hợp chất có công thức I và hỗn hợp của chúng được bao gồm trong phạm vi sáng chế. Ngoài ra, một số hợp chất của sáng chế này có thể tạo thành solvat với nước (nghĩa là, hydrat (cộng nước)) hoặc dung môi hữu cơ thông thường. Các solvat và hydrat này, đặc biệt là các solvat và hydrat được dụng, của các hợp chất này cũng bao gồm trong phạm vi sáng chế này, cùng với các dạng không solvat và khan.

Được hiểu là hợp chất có công thức I (hoặc phương án bất kỳ của chúng và muối được dụng của chúng) trong đó, ví dụ, R^1 là -H, -C(O) R^6 , -C(O)OR 6 , -C(O)N(R 6) $_2$, hoặc dạng cải biến tiền được chất của mono-, di- hoặc triphosphat, có thể được chuyển hóa nội bào/*in vivo* bằng một hoặc nhiều cơ chế (ví dụ, phản ứng hóa học có xúc tác enzym) thành nucleosit 5' triphosphat tương ứng (nghĩa là, trong đó R^1 là -P(O)(OH)-O-P(O)(OH)-O-P(O)(OH) $_2$). Trong khi không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, nucleosit 5' triphosphat thường được hiểu là

nguyên nhân gây ức chế enzym RT của HIV và gây ra hoạt tính kháng virus thu được sau khi dùng hợp chất có công thức I cho đối tượng.

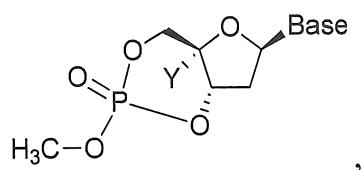
Do đó, tiền dược chất của hợp chất theo sáng chế được dự tính trong sáng chế. Tiền dược chất được thảo luận trong tài liệu T. Higuchi and V. Stella, *Pro-drugs as Novel Delivery Systems* (1987) 14 of the A.C.S. Symposium Series, và trong tài liệu *Bioreversible Carriers in Drug Design*, (1987) Edward B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press. Thuật ngữ “tiền dược chất” ở đây nghĩa là hợp chất (ví dụ, tiền chất của dược chất), mà có thể ở dạng muối dược dụng, được biến đổi nội bào/*in vivo* tạo ra dẫn xuất nucleosit được thể ở vị trí 4' là chất ức chế transcriptaza ngược của HIV. Nucleosit 5'triphosphat là một ví dụ của dẫn xuất nucleosit được thể ở vị trí 4'. Sự biến đổi *in vivo* có thể diễn ra theo các cơ chế khác nhau, ví dụ, phản ứng hóa học có xúc tác enzym, phản ứng chuyển hóa hóa học, và/hoặc phản ứng hóa học tự phát (ví dụ, sự phân ly trong dung môi), như, ví dụ, nhờ thủy phân trong máu. Sáng chế này bao gồm tiền dược chất bất kỳ mà chuyển hóa, do sự chuyển hóa nội bào/*in vivo*, thành dẫn xuất nucleosit được thể ở vị trí 4' của hợp chất có công thức I là chất ức chế transcriptaza ngược của HIV. Ví dụ, dẫn xuất nucleosit được thể ở vị trí 4' có công thức I bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, hợp chất có công thức I trong đó:

- a) R¹ là -P(O)(OH)-O-P(O)(OH)-O-P(O)(OH)₂;
- b). R¹ là -P(O)(OH)-O-P(O)(OH)-O-P(O)(OH)₂, và R² là -H; và/hoặc
- c) R¹ là -P(O)(OH)-O-P(O)(OH)-O-P(O)(OH)₂, R² là -H, R⁴ là -NH₂ và R⁵ là -H hoặc -NH₂.

Tiền dược chất của hợp chất có công thức I có thể bộc lộ độ hòa tan, độ hấp thụ, và/hoặc tính ưa mỡ tăng cường so với bản thân các hợp chất, nhờ đó thu được độ khả dụng sinh học và hiệu quả tăng. Khi hợp chất chứa, ví dụ, nhóm hydroxy, tiền dược chất có thể là dẫn xuất của nhóm hydroxy như este (-OC(O)R), carbonat este (-OC(O)OR), phosphat este (-O-P(=O)(OH)₂), ete (-OR), hoặc tiền dược chất mono-phosphat như phosphoramidat (có thể được chuyển hóa *in vivo* thành nucleosit monophosphat tương ứng).

Ví dụ, nếu hợp chất có công thức I chứa nhóm chức rượu, thì tiền dược chất có thể được tạo thành nhờ sự thay thế một hoặc nhiều nguyên tử hydro của nhóm rượu bằng nhóm như, ví dụ, (C₁-C₆)alkanoyloxymetyl, 1-((C₁-C₆)alkanoyloxy)etyl, 1-metyl-1-((C₁-C₆)alkanoyloxy)etyl, (C₁-C₆)alkoxycarbonyloxymetyl, N-(C₁-C₆)alkoxycarbonylaminometyl, succinoyl, (C₁-C₆)alkanoyl, α -amino(C₁-C₄)alkyl, α -amino(C₁-C₄)alkylen-aryl, arylaxyl và α -aminoaxyl, hoặc α -aminoaxyl- α -aminoaxyl, trong đó mỗi nhóm α -aminoaxyl độc lập được chọn từ axit amin L có trong tự nhiên, hoặc glycosyl (gốc thu được từ quá trình loại bỏ nhóm hydroxyl của dạng hemiacetal của carbohydrat).

Thuật ngữ “biến đổi tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat” như được sử dụng ở đây bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, tiền dược chất có nguồn gốc từ rượu 5' như -P(O)(-O-C₁-C₆alkyl)₂; -P(O)(-NH-(nhóm α -aminoaxyl))(-O-aryl), đã biết đến là tiền dược chất kiểu “McGuigan”; -P(O)(-O-(C₁-C₆ alkylen)-S-axyl)(-NH-arylalkyl); tiền dược chất S-axyl-2-thioetyl (SATE); phosphat este vòng tạo cầu nối giữa hai nhóm riboza hydroxyl, như:



trong đó phosphat este vòng tạo cầu nối giữa nhóm 3'-OH và nhóm 5'-OH; và các chất này được bộc lộ trong Patent US 7,879,815; WO2005/003047, WO2008/082602, WO2010/0081628, WO2010/075517 và WO2010/075549; Mehellou, *Chem. Med. Chem.*, 5:1841-1842 (2005); Bobeck *et al.*, *Antiviral Therapy* 15:935-950 (2010); Furman *et al.*, *Future Medicinal Chemistry*, 1:1429-1452 (2009); và Erion, *Microsomes and Drug Oxidations, Proceedings of the International Symposium*, 17th, Saratoga Springs, NY, United States, July 6-10, 2008, 7-12 (2008).

Nếu dẫn xuất được thế ở vị trí 4' kết hợp nhóm chức amin, thì tiền dược chất có thể được tạo thành bằng cách thay thế nguyên tử hydro trong nhóm amin bằng nhóm như, ví dụ, R-carbonyl-, RO-carbonyl-, NRR'-carbonyl- trong đó mỗi R và R' độc lập là (C₁-C₁₀)alkyl, (C₃-C₇) xycloalkyl, benzyl, α -aminoaxyl tự nhiên,

$-C(OH)C(O)OY^1$ trong đó Y^1 là H, (C_1-C_6) alkyl hoặc benzyl, $-C(OY^2)Y^3$ trong đó Y^2 là (C_1-C_4) alkyl và Y^3 là (C_1-C_6) alkyl; carboxy (C_1-C_6) alkyl; amino (C_1-C_4) alkyl hoặc mono-N- hoặc di-N,N- (C_1-C_6) alkylaminoalkyl; $-C(Y^4)Y^5$ trong đó Y^4 là H hoặc metyl và Y^5 là mono-N- hoặc di-N,N- (C_1-C_6) alkylamino morpholino; piperidin-1-yl hoặc pyrrolidin-1-yl, và tương tự.

Các este được dùng của các hợp chất này bao gồm các nhóm sau: (1) este của axit carboxylic thu được bằng cách este hóa nhóm hydroxy của hợp chất hydroxyl, trong đó gốc không chứa carbonyl của phần axit carboxylic của nhóm este được chọn từ alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh (ví dụ, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, t-butyl, sec-butyl hoặc n-butyl), alkoxyalkyl (ví dụ, metoxymetyl), aryl (ví dụ, benzyl), aryloxyalkyl (ví dụ, phenoxymetyl), aryl (ví dụ, phenyl tùy ý được thế bằng, ví dụ, halogen, C_{1-4} alkyl, $-O-(C_{1-4}alkyl)$ hoặc amino); (2) sulfonat este, như alkyl- hoặc aralkylsulfonyl (ví dụ, metansulfonyl); (3) este của axit amin (ví dụ, L-valyl hoặc L-isoleucyl); (4) phosphonat este và (5) mono-, di- hoặc triphosphat este. Phosphat este có thể được este hóa tiếp bằng, ví dụ, rượu C_{1-20} hoặc dẫn xuất phản ứng của chúng, hoặc bằng 2,3-di (C_{6-24}) axyl glyxerol.

Nếu dẫn xuất deoxyriboza được thế ở vị trí 4' chứa nhóm chức axit carboxylic, thì tiền dược chất có thể bao gồm este được tạo thành bằng cách thay thế nguyên tử hydro của nhóm axit bằng nhóm như, ví dụ, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_{12}) alkanoyloxymetyl, 1-(alkanoyloxy)etyl có từ 4 đến 9 nguyên tử cacbon, 1-metyl-1-(alkanoyloxy)-etyl có từ 5 đến 10 nguyên tử cacbon, alkoxy-carbonyloxymetyl có từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon, 1-(alkoxy-carbonyloxy)etyl có từ 4 đến 7 nguyên tử cacbon, 1-metyl-1-(alkoxy-carbonyloxy)etyl có từ 5 đến 8 nguyên tử cacbon, N-(alkoxy-carbonyl)aminometyl có từ 3 đến 9 nguyên tử cacbon, 1-(N-(alkoxy-carbonyl)amino)etyl có từ 4 đến 10 nguyên tử cacbon, 3-phthalidyl, 4-crotonolactonyl, gama-butyrolacton-4-yl, di-N,N- (C_1-C_2) alkylamino (C_2-C_3) alkyl (như β -dimetylaminoetyl), carbamoyl- (C_1-C_2) alkyl, N,N-di (C_1-C_2) alkylcarbamoyl- (C_1-C_2) alkyl và piperidino-, pyrrolidino- hoặc morpholino (C_2-C_3) alkyl, và tương tự.

Các ví dụ khác bao gồm như sau: khi hợp chất có công thức I, chứa nhóm axit carboxylic, thì tiền dược chất có thể là este hoặc amit, và khi hợp chất có công thức I chứa nhóm amino bậc một hoặc nito thích hợp khác mà có thể được tạo dẫn xuất, thì tiền dược chất có thể là amit, carbamat, ure, imin, hoặc bazơ Mannich. Các quy trình thông thường để chọn lọc và điều chế dẫn xuất tiền dược chất thích hợp được mô tả, ví dụ, trong *Design of Prodrugs*, được hiệu chỉnh bởi H. Bundgaard, Elsevier, 1985; J. J. Hale et al., *J. Med. Chem.* 2000, vol. 43, trang 1234-1241; C. S. Larsen and J. Ostergaard, "Design and application of prodrugs" trong: *Textbook of Drug Design and Discovery*, tái bản lần thứ 3, được hiệu chỉnh bởi C. S. Larsen, 2002, trang 410-458; và Beaumont et al., *Current Drug Metabolism* 2003, vol. 4, trang 461-458; các tài liệu này được bộc lộ ở đây để tham khảo.

Do đó, các hợp chất trong công thức cấu tạo chung, trong các phương án và các hợp chất cụ thể được mô tả và yêu cầu bảo hộ ở đây bao gồm muối, tất cả chất đồng phân lập thể và chất hỗn biến có thể có, các dạng tự nhiên (ví dụ, dạng vô định hình và dạng tinh thể), dạng solvat và hydrat của chúng và sự kết hợp bất kỳ của các dạng này, cũng như muối của chúng, dạng tiền dược chất của chúng mà bao gồm sự kết hợp bất kỳ của chất đồng phân lập thể, chất hỗn biến, solvat, hydrat, muối và/hoặc các dạng tự nhiên của tiền dược chất này, trong đó các dạng này là có thể có trừ khi có quy định khác.

Sáng chế còn bao gồm phương pháp để điều trị hoặc phòng ngừa lây nhiễm HIV, để ức chế transcriptaza ngược của HIV, để điều trị, phòng ngừa, hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh AIDS ở đối tượng cần điều trị, bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế còn bao gồm hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng trong việc bào chế thuốc để điều trị hoặc phòng ngừa lây nhiễm HIV, để ức chế transcriptaza ngược của HIV, hoặc để điều trị, phòng ngừa, hoặc làm chậm sự khởi phát bệnh AIDS ở đối tượng cần điều trị.

Sáng chế còn bao gồm dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó, và chất mang dược dụng và còn bao gồm lượng hữu hiệu chất kháng HIV bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất kháng

virut HIV, chất điều biến miễn dịch, và chất chống lây nhiễm. Trong phương án này, chất kháng HIV là chất kháng virut được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, và chất ức chế trưởng thành của HIV.

Mỗi hợp chất có công thức Ia, II, III, IV hoặc V, tạo thành tập con các hợp chất có trong công thức I. Phần mô tả bất kỳ ở trên hoặc dưới đây đề cập đến hợp chất có công thức I cũng áp dụng cho hợp chất của mỗi trong số các công thức Ia, II, III, IV hoặc V, và mỗi phương án của chúng.

Các phương án khác của sáng chế bao gồm như sau:

(a) Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức I như được xác định ở trên, hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của chúng, và chất mang dược dụng.

(b) Dược phẩm bao gồm sản phẩm được điều chế bằng cách kết hợp (ví dụ, trộn) lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức I như được xác định ở trên, hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của chúng, và chất mang dược dụng.

(c) Dược phẩm theo mục (a) hoặc (b), còn chứa lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất kháng HIV được chọn từ nhóm bao gồm chất kháng virut HIV, chất điều biến miễn dịch, và chất chống lây nhiễm.

(d) Dược phẩm theo mục (c), trong đó chất kháng HIV được chọn từ một hoặc nhiều chất kháng virut được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược nucleosit của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược không nucleosit của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV và chất ức chế trưởng thành của HIV.

(e) Tổ hợp của (i) hợp chất có công thức I như được xác định ở trên, hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của chúng, và (ii) chất kháng HIV được chọn từ nhóm bao gồm chất kháng virut HIV, chất điều biến miễn dịch, và chất chống lây nhiễm; trong đó mỗi hợp chất và chất kháng HIV được dùng ở lượng có

hiệu quả kết hợp để ức chế transcriptaza ngược của HIV, để điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm HIV, hoặc để điều trị, phòng ngừa, hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS.

(f) Tổ hợp theo mục (e), trong đó chất kháng HIV là chất kháng virus được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược nucleosit của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược không nucleosit của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV và chất ức chế trưởng thành của HIV.

(g) Phương pháp ức chế transcriptaza ngược của HIV ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức I hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của nó.

(h) Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị lây nhiễm HIV (ví dụ, HIV-1) ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức I hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của nó.

(i) Phương pháp theo mục (h), trong đó hợp chất có công thức I được dùng kết hợp với lượng hữu hiệu của ít nhất một chất kháng virus HIV khác được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược không nucleosit của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược nucleosit của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV và chất ức chế trưởng thành của HIV.

(j) Phương pháp phòng ngừa, điều trị hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức I hoặc tiền dược chất hoặc muối dược dụng của nó.

(k) Phương pháp theo mục (j), trong đó hợp chất được dùng kết hợp với lượng hữu hiệu của ít nhất một chất kháng virus HIV khác được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược không nucleosit của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược nucleosit của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV và chất ức chế trưởng thành của HIV.

(l) Phương pháp ức chế transcriptaza ngược của HIV ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng được phẩm theo mục (a), (b), (c) hoặc (d) hoặc tổ hợp theo mục (e) hoặc (f).

(m) Phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị lây nhiễm HIV (ví dụ, HIV-1) ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng được phẩm theo mục (a), (b), (c) hoặc (d) hoặc tổ hợp theo mục (e) hoặc (f).

(n) Phương pháp phòng ngừa, điều trị, hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS ở đối tượng cần điều trị bao gồm cho đối tượng dùng được phẩm theo mục (a), (b), (c) hoặc (d) hoặc tổ hợp theo mục (e) hoặc (f).

Sáng chế còn bao gồm hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của nó, (i) để sử dụng trong, (ii) để sử dụng làm thuốc để, hoặc (iii) để sử dụng trong việc bào chế thuốc để: (a) chữa bệnh (ví dụ, thuộc cơ thể người), (b) thuốc, (c) ức chế transcriptaza ngược của HIV, (d) điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm HIV, hoặc (e) điều trị, phòng ngừa, hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS. Đối với các mục đích sử dụng này, hợp chất theo sáng chế có thể tùy ý được dùng kết hợp với một hoặc nhiều chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus HIV, chất chống nhiễm khuẩn, và chất điều biến miễn dịch.

Các phương án bổ sung của sáng chế bao gồm được phẩm, tổ hợp và phương pháp đã nêu trong các mục (a)-(n) ở trên và việc sử dụng (i)(a)-(e) đến (iii)(a)-(e) đã nêu ở các đoạn trên, trong đó hợp chất theo sáng chế được dùng ở đây là hợp chất theo một trong số các phương án, khía cạnh, nhóm, phân nhóm, hoặc đặc điểm đã mô tả ở trên. Trong tất cả các phương án, v.v. này, hợp chất có thể tùy ý được sử dụng ở dạng tiền được chất hoặc muối được dụng hoặc muối được dụng của tiền được chất.

Các phương án bổ sung của sáng chế bao gồm mỗi trong số được phẩm, tổ hợp, phương pháp và việc sử dụng đã nêu trong các đoạn ở trên, trong đó hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó dùng ở đây là gần như tinh khiết. Đối với được phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc tiền được chất của nó hoặc muối và chất mang được dụng và tùy ý một hoặc nhiều tá được, thì được hiểu là thuật ngữ "gần

như tinh khiết" là đề cập đến hợp chất có công thức I hoặc tiền dược chất của nó và/hoặc muối của nó.

Các phương án bổ sung khác nữa của sáng chế bao gồm dược phẩm, tổ hợp và phương pháp đã nêu trong các mục (a)-(n) ở trên và việc sử dụng (i)(a)-(e) đến (iii)(a)-(e) nêu trên, trong đó HIV được quan tâm là HIV-1. Do đó, ví dụ, trong dược phẩm (d), hợp chất có công thức I được dùng ở lượng có hiệu quả kháng HIV-1 và chất kháng HIV là chất kháng virus HIV-1 được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HIV-1, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV-1, chất ức chế integraza của HIV-1, chất ức chế dung hợp của HIV-1 và chất ức chế sự xâm nhập của HIV-1. Hợp chất có công thức I cũng có thể là chất hữu dụng kháng HIV-2.

Thuật ngữ "việc dùng" và các biến thể của nó (ví dụ, "dùng" hợp chất) đề cập đến hợp chất có công thức I nghĩa là đưa hợp chất vào cá thể cần điều trị hoặc phòng ngừa và bao gồm cả tự dùng và người khác dùng cho bệnh nhân. Khi hợp chất hoặc tiền dược chất của nó được tạo ra kết hợp với một hoặc nhiều chất hoạt tính khác (ví dụ, chất kháng virus hữu dụng để điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm HIV hoặc bệnh AIDS), "việc dùng" và các biến thể của nó được hiểu là bao gồm việc cung cấp hợp chất hoặc tiền dược chất và các chất khác ở cùng thời điểm hoặc ở các thời điểm khác nhau. Khi các chất của tổ hợp được dùng ở cùng thời điểm, chúng có thể được dùng cùng nhau trong một chế phẩm hoặc chúng có thể được dùng riêng rẽ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chế phẩm" bao gồm sản phẩm chứa các thành phần cụ thể, cũng như sản phẩm bất kỳ thu được từ sự kết hợp các thành phần cụ thể. Các thành phần thích hợp bao gồm trong dược phẩm là các thành phần được dụng, nghĩa là các thành phần phải tương thích với nhau và không có hại cho người nhận chúng. "Dược dụng" nghĩa là các thành phần của dược phẩm phải tương thích với nhau và không có hại cho người nhận chúng.

Thuật ngữ "đối tượng" như được sử dụng ở đây đề cập đến động vật, tốt hơn là động vật có vú, tốt nhất là người, là đối tượng của việc điều trị bệnh, theo dõi hoặc thử nghiệm.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu" như được sử dụng ở đây nghĩa là lượng đủ để ức chế transcriptaza ngược của HIV, ức chế sao chép HIV, có tác dụng phòng bệnh hiệu quả, và/hoặc tác dụng điều trị hiệu quả sau khi dùng. Theo một phương án, "lượng hữu hiệu" là "lượng hữu hiệu điều trị bệnh" là lượng hợp chất có tác dụng ức chế transcriptaza ngược của HIV, ức chế sao chép HIV (các tác dụng nêu trên cũng có thể được đề cập đến ở đây dưới dạng "lượng hữu hiệu để ức chế"), điều trị lây nhiễm HIV, điều trị bệnh AIDS, làm chậm sự khởi phát bệnh AIDS, và/hoặc làm chậm tiến triển của bệnh AIDS ở bệnh nhân.

Theo phương án khác, "lượng hữu hiệu" là "lượng hữu hiệu phòng bệnh" là lượng hợp chất có hiệu quả để phòng ngừa nhiễm HIV hoặc phòng bệnh AIDS ở bệnh nhân. Đồng thời có thể hiểu lượng hữu hiệu là lượng hữu hiệu điều trị bệnh, ví dụ, để điều trị lây nhiễm HIV, và lượng hữu hiệu phòng bệnh, ví dụ, để ngăn ngừa hoặc giảm nguy cơ phát triển bệnh AIDS. Khi hợp chất có công thức I được dùng ở dạng muối, thì lượng hợp chất là ở dạng hợp chất tự do (nghĩa là, dạng không chứa muối).

Trong phương pháp theo sáng chế (nghĩa là, ức chế transcriptaza ngược của HIV, điều trị hoặc phòng ngừa nhiễm HIV, ức chế sao chép HIV, điều trị hoặc phòng bệnh AIDS, làm chậm sự khởi phát của bệnh AIDS, hoặc làm chậm hoặc trì hoãn tiến triển của bệnh AIDS), hợp chất theo sáng chế, tùy ý ở dạng muối, có thể được dùng bằng cách đưa hoạt chất vào vị trí hoạt động của chất này. Chúng có thể được dùng bằng cách thông thường có sẵn để sử dụng kết hợp với dược phẩm, ở dạng chất điều trị riêng rẽ hoặc kết hợp các chất điều trị. Chúng có thể được dùng riêng, nhưng thường được dùng với chất mang dược dụng được chọn trên cơ sở đường dùng đã chọn và thực tiễn dược phẩm tiêu chuẩn. Hợp chất theo sáng chế có thể, ví dụ, được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa (bao gồm tiêm dưới da, kỹ thuật truyền hoặc tiêm trong tĩnh mạch, trong cơ, trong xương ức), bằng cách phun xông, hoặc đặt hậu môn, ở dạng dược phẩm liều đơn vị chứa lượng hữu hiệu của hợp chất và chất mang, chất phụ trợ và chất dẫn dược dụng không độc thông thường, phương pháp dùng bất kỳ trong số các phương pháp dùng có thể được đề xuất ở dạng liều đơn, một lần một ngày, hoặc tần suất ít hơn như một lần một tuần hoặc một lần một tháng trong, ví dụ nhưng không bị giới hạn ở, khoảng

liều và lượng được mô tả dưới đây. Chế phẩm lỏng thích hợp để dùng qua đường miệng (ví dụ, hỗn dịch, sirô, cốm ngọt và tương tự) có thể được điều chế theo các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực và có thể dùng môi trường bất kỳ trong số các môi trường thông thường như nước, glycol, dầu, rượu và tương tự. Chế phẩm rắn thích hợp để dùng qua đường miệng (ví dụ, bột, viên tròn, viên nang và viên nén) có thể được điều chế theo các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực và có thể dùng các tá dược rắn như tinh bột, đường, cao lanh, chất làm trơn, chất gắn kết, chất gây rã và chất tương tự. Các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được điều chế theo các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực và điển hình là dùng nước vô trùng làm chất mang và tùy ý các thành phần khác, như chất trợ hòa tan. Dung dịch để tiêm có thể được điều chế theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này, trong đó chất mang chứa dung dịch muối, dung dịch glucoza hoặc dung dịch chứa hỗn hợp muối và glucoza. Phần mô tả tiếp các phương pháp thích hợp để sử dụng trong việc bào chế được phẩm để sử dụng trong sáng chế và mô tả các thành phần thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm này được nêu trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences, tái bản lần thứ 18, được hiệu chỉnh bởi A. R. Gennaro, Mack Publishing Co., 1990 và trong tài liệu Remington - The Science and Practice of Pharmacy, tái bản lần thứ 22, được công bố bởi Pharmaceutical Press and Philadelphia College of Pharmacy ở University of the Sciences, 2012, ISBN 978 0 85711-062-6 và các lần xuất bản trước.

Dạng bào chế của hợp chất được mô tả bởi công thức I tạo ra sự quá bão hòa được chất và/hoặc hòa tan nhanh có thể được dùng để tạo thuận lợi cho việc hấp thụ được chất qua đường miệng. Dạng bào chế này gần như gây ra sự quá bão hòa được chất và/hoặc hòa tan nhanh bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, hệ hạt nano, hệ vô định hình, dung dịch rắn, chất phân tán rắn, và hệ lỏng. Phương pháp tiếp cận và kỹ thuật của dạng bào chế này để điều chế chúng là đã biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, chất phân tán rắn có thể được điều chế bằng cách sử dụng tá dược và quy trình được mô tả trong các bài báo (ví dụ, A.T.M. Serajuddin, J Pharm Sci, 88:10, trang 1058-1066 (1999)). Hệ hạt nano dựa vào sự mài mòn và tổng hợp trực tiếp cũng được mô tả trong các bài báo như Wu et al (F. Kesisoglou, S. Panmai, Y. Wu, Advanced Drug Delivery Reviews, 59:7 trang 631-644 (2007)).

Hợp chất có công thức I, và muối được dụng của chúng, là chất ức chế transcriptaza ngược của HIV. Các hợp chất là hữu dụng để ức chế transcriptaza ngược của HIV và để ức chế sao chép HIV *in vitro* và *in vivo*. Đặc biệt hơn, hợp chất có công thức I ức chế chức năng polymeraza của transcriptaza ngược của HIV-1. Việc kiểm tra các hợp chất của các ví dụ theo sáng chế trong thử nghiệm đã nêu trong thử nghiệm Polymeraza RT dưới đây, minh họa khả năng của hợp chất theo sáng chế để ức chế hoạt tính ADN polymeraza phụ thuộc ARN của transcriptaza ngược của HIV-1. Hợp chất có công thức I cũng có thể là chất hữu dụng kháng HIV-2.

Hợp chất có công thức I có thể được dùng ở khoảng liều từ 0,001 đến 1000 mg/kg thể trọng động vật có vú (ví dụ, người) mỗi ngày, hoặc ở các khoảng thời gian khác khi thích hợp, ở liều đơn hoặc liều phân chia. Một ví dụ về khoảng liều là từ 0,01 đến 500 mg/kg thể trọng mỗi ngày, hoặc ở các khoảng thời gian khác khi thích hợp, dùng qua đường miệng hoặc qua đường dùng khác ở dạng liều đơn hoặc liều phân chia. Ví dụ khác về khoảng liều là từ 0,1 đến 100 mg/kg thể trọng mỗi ngày, hoặc ở các khoảng thời gian khác khi thích hợp, dùng qua đường miệng hoặc qua đường dùng khác ở dạng liều đơn hoặc liều phân chia. Để dùng qua đường miệng (ví dụ, viên nén hoặc viên nang) hoặc các đường dùng khác, chế phẩm có thể chứa từ 1,0 đến 500 miligam hoạt chất, đặc biệt là 1, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, và 500 miligam hoạt chất để điều chỉnh triệu chứng của liều cho bệnh nhân cần điều trị. Mức độ liều cụ thể và tần suất liều đối với bệnh nhân cụ thể bất kỳ có thể thay đổi và sẽ phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được dùng, độ ổn định chuyển hóa và sự hoạt động lâu dài của hợp chất đó, tuổi, thể trọng, sức khỏe tổng quát, giới tính, chế độ ăn, cách thức và thời gian dùng thuốc, tốc độ bài tiết, tổ hợp dược chất, mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh cụ thể, và chủ thể đang trong thời gian điều trị. Trong một số trường hợp, phụ thuộc vào hiệu lực của hợp chất hoặc phản ứng cá nhân, có thể cần điều chỉnh tăng hoặc giảm liều đã cho. Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở dạng liều đơn, một lần một ngày, hoặc tần suất ít hơn như một lần một tuần hoặc một tháng một lần trong, ví dụ nhưng không bị giới hạn ở, khoảng liều và lượng nêu trên. Hơn nữa, hợp chất có thể được điều chế để giải

phóng ngay hoặc giải phóng biến đổi như giải phóng kéo dài hoặc giải phóng có kiểm soát.

Như đã lưu ý ở trên, sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức I với một hoặc nhiều chất kháng HIV. "Chất kháng HIV" là chất bất kỳ trực tiếp hoặc gián tiếp có hiệu quả ức chế HIV, điều trị hoặc phòng ngừa lây nhiễm HIV, và/hoặc điều trị, phòng ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của bệnh AIDS. Được hiểu là chất kháng HIV có hiệu quả điều trị, ngăn ngừa, hoặc làm chậm sự khởi phát hoặc tiến triển của sự lây nhiễm HIV hoặc bệnh AIDS và/hoặc bệnh hoặc tình trạng bệnh phát sinh từ đó hoặc kết hợp với lây nhiễm HIV hoặc bệnh AIDS. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng hiệu quả, dù ở giai đoạn trước khi phơi nhiễm và/hoặc sau khi phơi nhiễm, kết hợp với lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus HIV, chất điều biến miễn dịch, chống lây nhiễm, hoặc vacxin hữu dụng để điều trị lây nhiễm HIV hoặc bệnh AIDS. Chất kháng virus HIV thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất theo sáng chế bao gồm, ví dụ, các hợp chất được liệt kê ở Bảng 1 như sau:

Bảng 1 Chất kháng virus để điều trị lây nhiễm HIV hoặc bệnh AIDS

Tên	Loại
abacavir, ABC, Ziagen®	nRTI
abacavir + lamivudin, Epzicom®	nRTI
abacavir + lamivudin + zidovudin, Trizivir®	nRTI
amprenavir, Agenerase®	PI
atazanavir, Reyataz®	PI
AZT, zidovudin, azidothymidin, Retrovir®	nRTI
capravirin	nnRTI
darunavir, Prezista®	PI
ddC, zalcitabin, dideoxycytidin, Hivid®	nRTI
ddI, didanosin, dideoxyinosin, Videx®	nRTI
ddI (dạng bao tan trong ruột), Videx EC®	nRTI

delavirdin, DLV, Rescriptor®	nnRTI
dolutegravir, Tivicay®	InI
doravirin, MK-1439	nnRTI
efavirenz, EFV, Sustiva®, Stocrin®	nnRTI
efavirenz + emtricitabin + tenofovir DF, Atripla®	nnRTI + nRTI
EFdA (4'-etynyl-2'-flo-2'-deoxyadenosin)	nRTI
Elvitegravir	InI
emtricitabin, FTC, Emtriva®	nRTI
emtricitabin + tenofovir DF, Truvada®	nRTI
emvirin, Coactinon®	nnRTI
enfuvirtide, Fuzeon®	FI
didanosin bao tan trong ruột, Videx EC®	nRTI
etravirin, TMC-125	nnRTI
fosamprenavir canxi, Lexiva®	PI
indinavir, Crixivan®	PI
lamivudin, 3TC, Epivir®	nRTI
lamivudin + zidovudin, Combivir®	nRTI
lopinavir	PI
lopinavir + ritonavir, Kaletra®	PI
maraviroc, Selzentry®	EI
nelfinavir, Viracept®	PI
nevirapin, NVP, Viramune®	nnRTI
PPL-100 (còn được biết đến là PL-462) (Ambrilia)	PI
raltegravir, MK-0518, Isentress™	InI
Rilpivirin	nnRTI
ritonavir, Norvir®	PI

saquinavir, Invirase®, Fortovase®	PI
stavudin, d4T, didehydrodeoxythymidin, Zerit®	nRTI
tenofovir DF (DF = disoproxil fumarat), TDF, Viread®	nRTI
Tenofovir, hexadecyloxypropyl (CMX-157)	nRTI
Tenofovir alafenamit fumarat (GS-7340)	nRTI
tipranavir, Aptivus®	PI
vicriviroc	EI

EI = chất ức chế sự xâm nhập; FI = chất ức chế dung hợp; InI = chất ức chế integraza; PI = chất ức chế proteaza; nRTI = chất ức chế nucleosit transcriptaza ngược; nnRTI = chất ức chế không phải nucleosit transcriptaza ngược. Một số được chất liệt kê trong bảng được sử dụng ở dạng muối; ví dụ, abacavir sulfat, delavirdin mesylat, indinavir sulfat, atazanavir sulfat, nelfinavir mesylat, saquinavir mesylat.

Được hiểu là phạm vi của sự kết hợp các hợp chất theo sáng chế với chất kháng HIV không bị giới hạn ở chất kháng virus HIV liệt kê trong bảng A, mà bao gồm về cơ bản sự kết hợp bất kỳ với dược phẩm bất kỳ hữu dụng để điều trị hoặc phòng bệnh AIDS. Chất kháng virus HIV và các chất khác thường được dùng trong các kết hợp này ở khoảng liều và chế độ liều thông thường như được báo cáo trong lĩnh vực này, bao gồm, ví dụ, liều được mô tả trong tài liệu Physicians' Desk Reference, Thomson PDR, Thomson PDR, xuất bản lần thứ 57 (2003), xuất bản lần thứ 58 (2004), hoặc xuất bản lần thứ 59 (2005) và tài liệu The current Physicians' Desk Reference (xuất bản lần thứ 68). (2014), Montvale, NJ: PDR Network. Các khoảng liều đối với hợp chất theo sáng chế trong các kết hợp này có thể là giống như các khoảng liều đã nêu trên.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu dụng trong việc điều chế và thực hiện các thử nghiệm sàng lọc đối với hợp chất kháng virus. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế là hữu dụng để tách đột biến enzym, là công cụ sàng lọc vượt trội đối với các hợp chất kháng virus mạnh hơn. Hơn nữa, hợp chất theo sáng chế có thể hữu

dụng trong việc thiết lập hoặc xác định vị trí gắn kết của các chất kháng virus khác với HIV transcriptaza ngược, ví dụ, bằng cách ức chế cạnh tranh.

Chữ viết tắt được dùng ở đây bao gồm như sau:

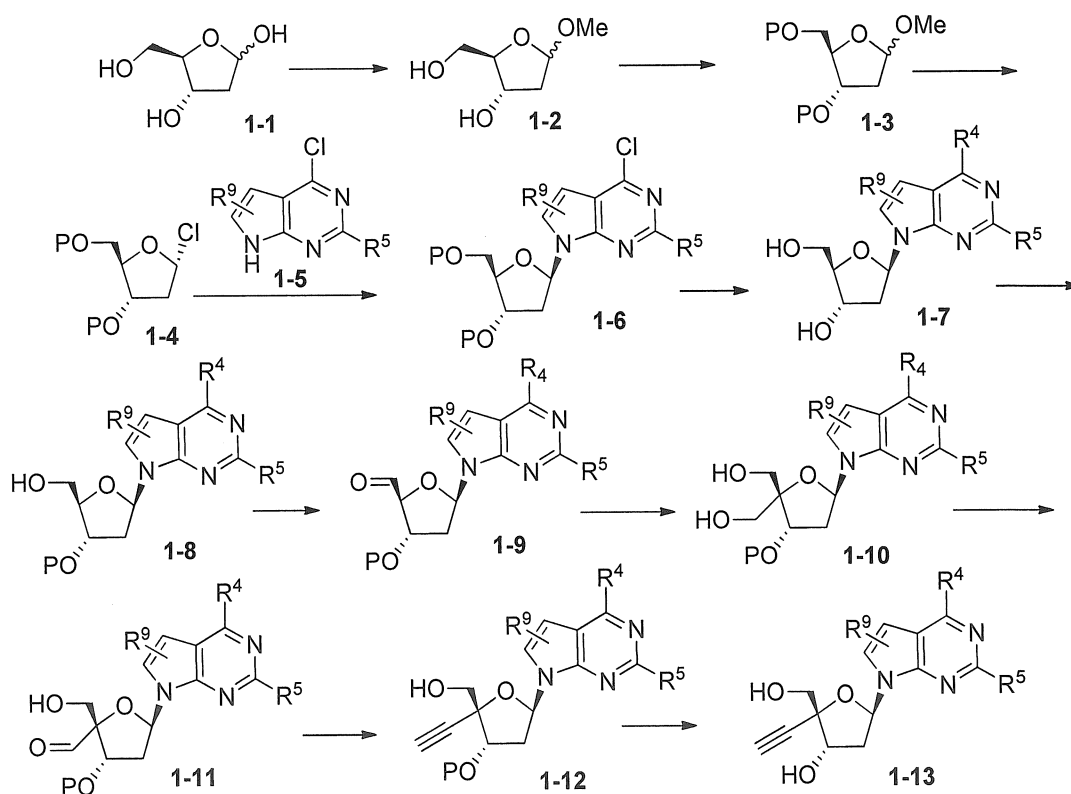
ACN = axetonitril	aq = nước
AcOH = axit axetic	AIBN = azobisisobutyronitril
CHAPS = 3- ((3-Cholamidopropyl)dimethylammonio)-1-Propansulfonic	m-CPBA = axit 3-cloperbenzoic
	Me = metyl
CSH = Bộ ghép bề mặt tích điện	MeOH = metanol
DAST = (diethylamino)sulfur triflorua	Me-THF = 2-metyltetrahydrofuran
DCE = 1,2-dicloetan	min = phút
DCM = diclometan	MHz = megahec
DEAD = diethyl azodicarboxylat	mL hoặc ml = mililit
DIBAL-H = diisobutyl nhôm hydrua	mol = mol
DIPEA = diisopropyletylamin	mmol = milimol
DMF = <i>N,N</i> -dimetylformamit	NaH = natri hydrua
Dess-Martin periodinane = 1,1,1-Triaxetoxy-1,1-dihydro-1,2-benziodoxol-3(1H)-on	NBS = <i>N</i> -bromosuccinimit
	NIS – <i>N</i> -iodosuccinimit
DMAP = 4-dimetylaminopyridin	NHS = huyết thanh người bình thường
DMSO = dimetyl sulfoxit	NMP = <i>N</i> -metyl-2-pyrrolidinon
EDTA = axit etylendiamintetraaxetic	NMR = cộng hưởng từ hạt nhân
EtOAc = etyl axetat	NTP = nucleosit triphosphat
EA = etyl axetat	dNTP = 2'-deoxy nucleosit triphosphat
EGTA = axit etylen glycol tetraaxetic	PBS = dung dịch muối đệm phosphat
EtOH = etanol	PE, pet. ete = ete dầu mỏ
FBS = huyết thanh thai bò	Ppm = phần triệu
HIV = virus gây suy giảm miễn dịch ở người	PPTS = axit 4-toluensulfonic

HPLC = sắc ký lỏng hiệu năng cao	r.t. = nhiệt độ trong phòng
hr = giờ	RT = transcriptaza ngược
h = giờ	TBAF = tetrabutylamoni florua
Hz = héc	t-BuOH = <i>tert</i> -butanol
IBX = axit 2-iodoxybenzoic	TEA = trietylamin
LCAP = phần trăm diện tích sắc ký lỏng	THF = tetrahydrofuran TFA = axit trifloaxetic
LCMS hoặc LC-MS = phép đo sắc ký lỏng-khối phổ	TLC = sắc ký lớp mỏng
L = lít	TBS-Cl = t-butyldimetylsilyl clorua
LDA = lithi diisopropylamit	TBDMS-Cl = t-butyldimetylsilyl clorua
LiHMDS = lithi hexametyldisilazit	TMSCl = trimetylsilyl clorua

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực hóa hữu cơ. Xem, ví dụ, J. March, '*Advanced Organic Chemistry*' xuất bản lần thứ 6, John Wiley and Sons. Trong trình tự tổng hợp, có thể là cần thiết và/hoặc mong muốn bảo vệ các nhóm nhạy hoặc nhóm hoạt tính trên phân tử bất kỳ được quan tâm. Quá trình này đạt được nhờ các nhóm bảo vệ thông thường, như đã mô tả trong T.W. Greene and P.G.M. Wutts '*Protective Groups in Organic Synthesis*' xuất bản lần thứ 4, John Wiley and Sons. Nhóm bảo vệ thường được loại bỏ tùy ý ở giai đoạn thích hợp tiếp theo sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

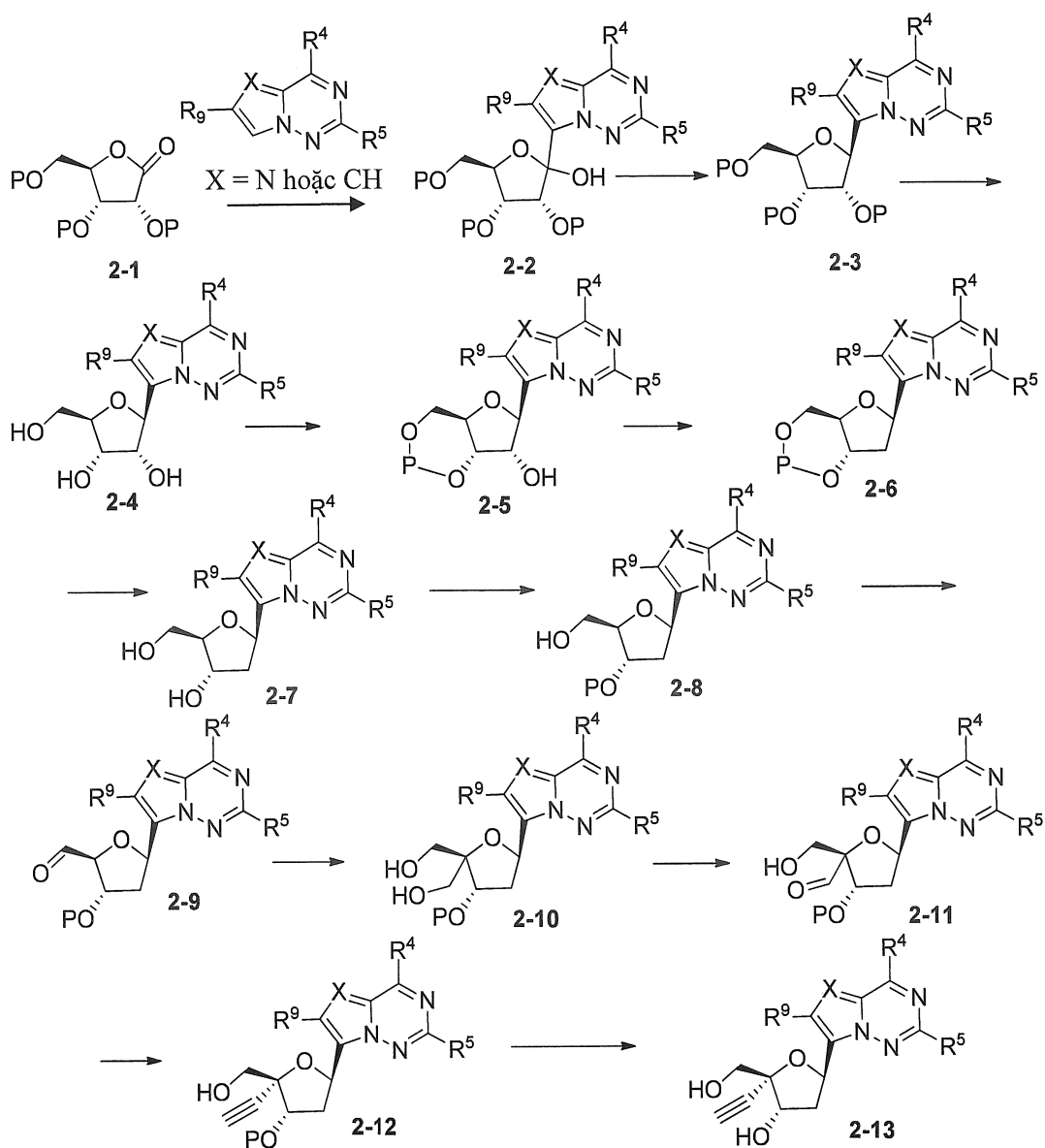
Hợp chất theo sáng chế có thể dễ dàng được điều chế theo các sơ đồ phản ứng và ví dụ sau, hoặc sự biến đổi của chúng, sử dụng dễ dàng các nguyên liệu ban đầu sẵn có, chất phản ứng và quy trình tổng hợp thông thường. Trong các phản ứng này, cũng có thể sử dụng các biến thể đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết đến, nhưng không được nêu chi tiết hơn. Hơn nữa, các phương pháp khác để điều chế hợp chất theo sáng chế là dễ thấy đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào các sơ đồ phản ứng và ví dụ sau. Trừ khi có quy định khác, tất cả biến số như được xác định ở trên.

Sơ đồ 1



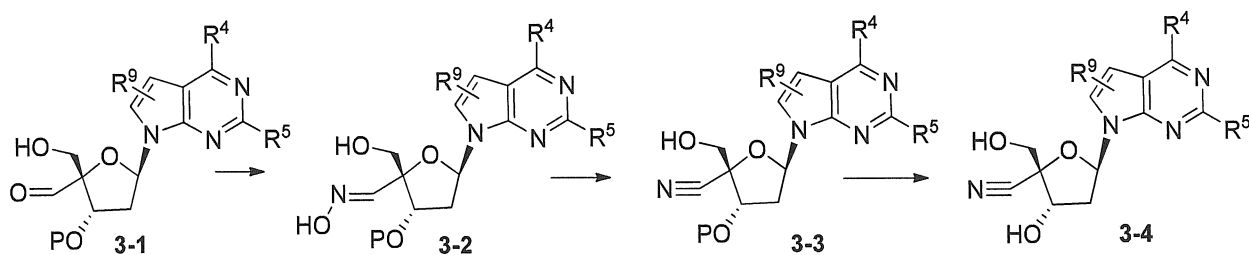
Lactol **1-1** có thể được chuyển hóa thành **1-2** sử dụng HCl metanolic. Tiếp đó, nhóm hydroxy của chất trung gian **1-2** có thể được bảo vệ sau đó chuyển hóa 1'-OMe thành 1'-Cl sử dụng khí HCl tạo ra **1-4**. Chất trung gian **1-4** có thể được phản ứng với các dị vòng được thể khác nhau (**1-5**) với sự có mặt của bazơ thích hợp tạo ra chất trung gian **1-6**. 6-clo của chất trung gian **1-6** có thể được chuyển hóa thành R₄ sử dụng phản ứng hóa học thích hợp sau đó khử bảo vệ nhóm hydroxyl tạo ra chất trung gian **1-7**. Chất trung gian **1-7** có thể được bảo vệ khác biệt để tạo ra **1-8**. Oxy hóa **1-8** tạo ra aldehyt **1-9** mà tiếp đó có thể trải qua phản ứng aldol với formaldehyt sau đó khử để tạo ra **1-10**. Oxy hóa chọn lọc nhóm hydroxy bề mặt alpha sau đó chuyển hóa aldehyt thành alkyn tạo ra **1-11**. Khử bảo vệ lần cuối rượu 3' tạo ra hợp chất đích **1-13**.

Sơ đồ 2



Lacton **2-1** có thể được xử lý bằng anion của các dị vòng khác nhau để tạo ra chất trung gian thuộc loại **2-2**. Chất trung gian **2-2** có thể được chuyển hóa thành **2-3** bằng cách xử lý bằng axit với sự có mặt của silan. Khử bảo vệ **2-3** sau đó là bảo vệ khác biệt hydroxyl 3' và 5' tạo ra **2-5**. Khử oxy hóa **2-5** tạo ra **2-6** mà tiếp đó có thể được khử bảo vệ sau đó là bảo vệ khác biệt để tạo ra **2-8**. Oxy hóa rượu cuối cùng thành **2-9** sau đó là phản ứng của aldol với formaldehyt và phản ứng khử tạo ra **2-10**. Oxy hóa chọn lọc rượu bề mặt alpha tạo ra aldehyt **2-11** tiếp đó có thể được chuyển hóa thành axetylen **2-12**. Khử bảo vệ toàn bộ tạo ra **2-13**.

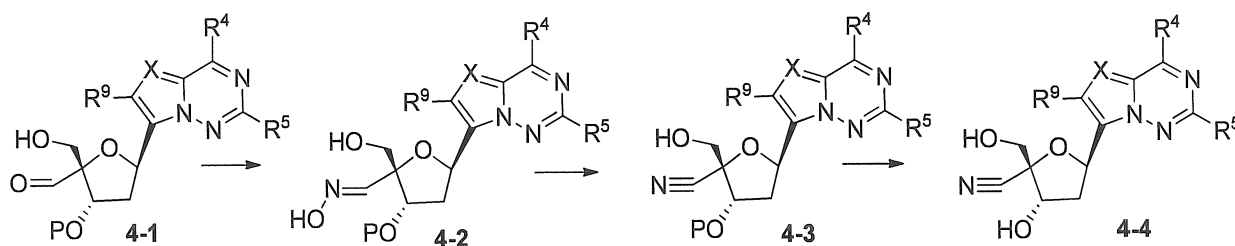
Sơ đồ 3



Chất trung gian thuộc loại 3-1 (tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp trên sơ đồ 1) được chuyển hóa thành oxim thuộc loại 3-2. Khử nước của oxim dẫn đến hợp chất 3-3 mà có thể khử bảo vệ lần cuối để tạo ra hợp chất đích 3-4.

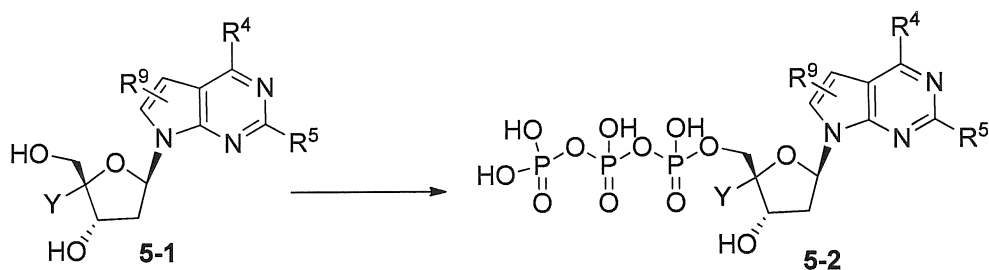
Sơ đồ 4

X = CH hoặc N



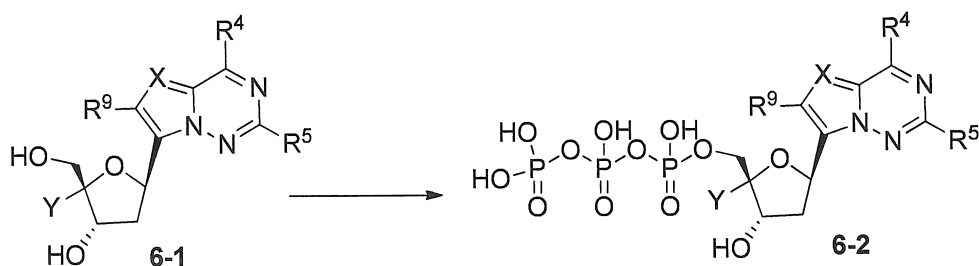
Chất trung gian thuộc loại 4-1 (tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp trên sơ đồ 2) được chuyển hóa thành oxim thuộc loại 4-2. Khử nước của oxim dẫn đến hợp chất 4-3 có thể khử bảo vệ lần cuối để tạo ra hợp chất đích 4-4.

Sơ đồ 5



Chất trung gian thuộc loại 5-1 (tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp theo các sơ đồ nêu trên) có thể được chuyển hóa thành triphosphat 5-2 sử dụng phương pháp đã biết trong tài liệu.

Sơ đồ 6

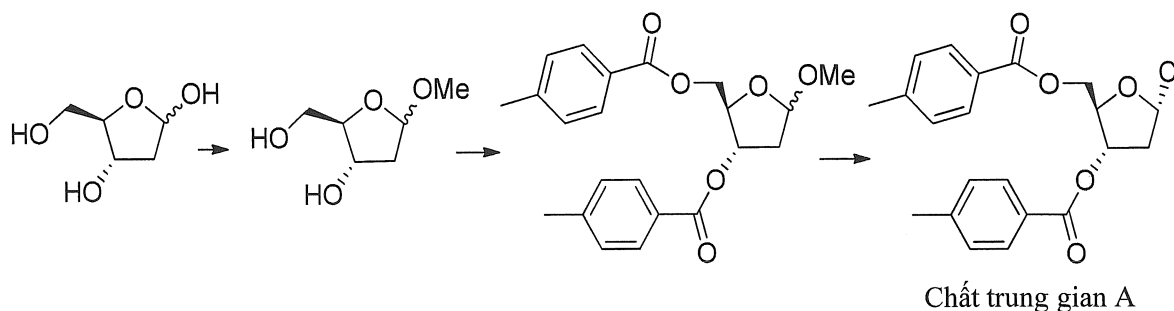


Chất trung gian thuộc loại **6-1** (tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp theo các sơ đồ nêu trên) có thể được chuyển hóa thành triphosphat **6-2** sử dụng phương pháp đã biết trong tài liệu.

Quy trình hóa học chung: Tất cả chất phản ứng được mua ngoài thị trường hoặc được tổng hợp theo các quy trình trong tài liệu bắt đầu từ chất phản ứng thương mại. Chất phản ứng thương mại được sử dụng không cần tinh chế thêm. Trừ khi có quy định khác, phần trăm là phần trăm theo khối lượng thành phần cho trước và tổng khối lượng chế phẩm, nhiệt độ là °C hoặc là nhiệt độ môi trường và áp suất là áp suất khí quyển hoặc gần áp suất khí quyển. Phổ ¹H NMR đo được trên hệ thống máy Varian VNMR System 400 (400 MHz) và được ghi lại dưới dạng phần triệu (ppm-parts per million) vùng từ trường có cường độ thấp (downfield) từ Me₄Si có số proton, số bội, và hằng số liên kết Hec chỉ ra trong ngoặc đơn. Trong đó thể hiện số liệu LC/MS, tiến hành phân tích số liệu sử dụng Agilent 6110A MSD hoặc khối phổ kế Applied Biosystems API-100. Ion gốc được tạo ra. HPLC điều chế được tiến hành trên hệ HPLC điều chế Waters lắp khớp với cột Waters Xselect.C18, thường sử dụng rửa giải gradient với nước/axetonitril chứa 0,075% axit triflo axetic. Sắc ký cột nhanh được thực hiện sử dụng silic oxit pha thường được nhồi trước của hãng Biotage, Inc. hoặc silic oxit khối của hãng Fisher Scientific. Trừ khi có quy định khác, sắc ký cột được thực hiện bằng cách sử dụng rửa giải gradient ete dầu mỏ/ethyl axetat, từ ete dầu mỏ 100% đến 100% ethyl axetat. Thuật ngữ "nhiệt độ trong phòng" trong phần ví dụ đề cập đến nhiệt độ môi trường mà thường nằm trong khoảng 20°C đến khoảng 26°C.

Chất trung gian A

(2R,3S,5R)-5-clo-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (chất trung gian A)



Bước 1: Tổng hợp (2R,3S)-2-(hydroxymetyl)-5-metoxytetrahydrofuran-3-ol

Thêm nhỏ giọt axetyl clorua (0,614 g, 7,83 mmol) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (4S,5R)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2,4-diol (7,0 g, 52,2 mmol) trong metanol khan (105 mL) trong khí quyển argon, và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Sau đó thêm natri bicarbonat rắn vào để trung hòa hỗn hợp phản ứng. Gom pha hữu cơ bằng cách lọc và sau đó cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra phần cặn ở dạng sirô. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký silica gel (100-200 mesh) với diclometan/metanol (20/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, CDCl_3 , ppm): δ 4,98-5,04 (m, 1H), 4,21-4,23 (m, 0,4H), 4,07-4,09 (m, 0,6H), 3,83-3,89 (m, 1H), 3,50-3,66 (m, 2H), 3,27-3,32 (m, 3H), 2,23-2,29 (m, 0,6H), 2,08-2,12 (m, 0,4H), 1,98-2,03 (m, 0,4H), 1,77-1,83 (m, 0,6H).

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S)-5-metoxy-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

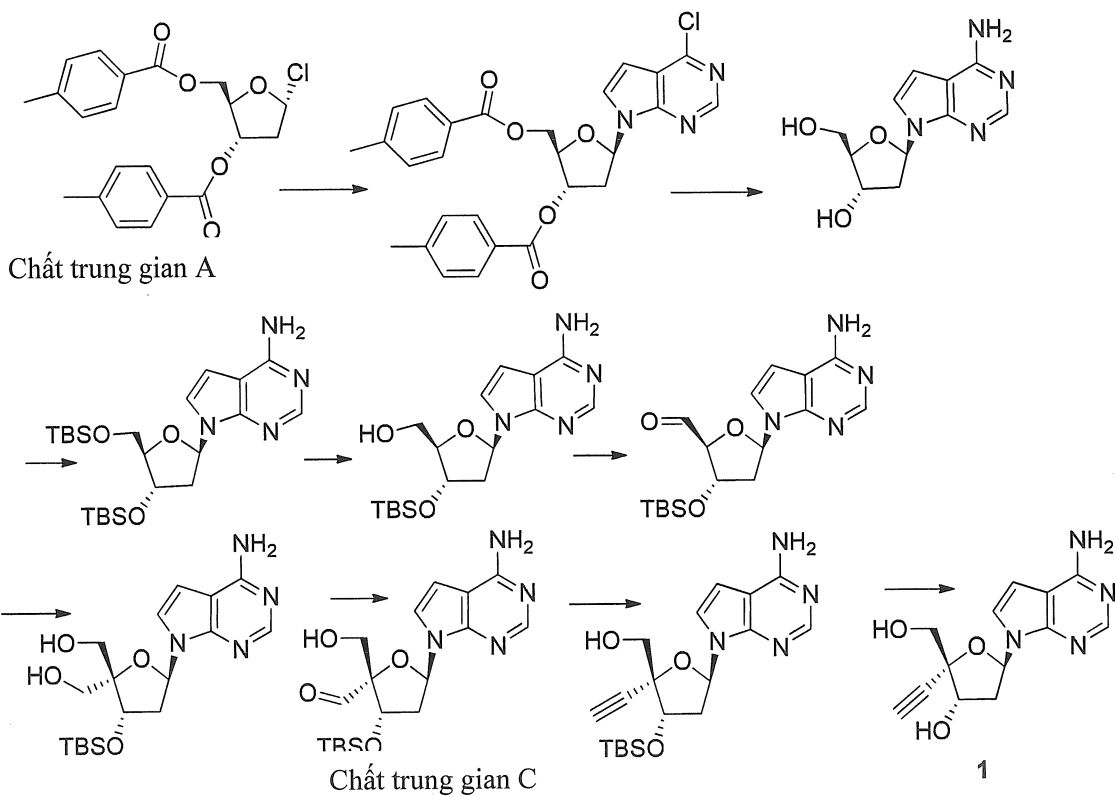
Thêm nhỏ giọt 4-metylbenzoyl clorua (20,35 g, 132 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng 15 phút vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S)-2-(hydroxymetyl)-5-metoxytetrahydrofuran-3-ol (6,5 g, 43,9 mmol) trong pyridin khô (45 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp thu được được làm ấm từ từ đến 30°C và sau đó được khuấy trong 16 giờ. Dung dịch thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn thu được được pha loãng bằng etyl axetat (400 mL), và sau đó lần lượt rửa bằng hydro clorua trong nước (1 mol/L, 2x100 mL), natri bicarbonat bão hòa trong nước (2 x100 mL) và nước muối (100 mL). Pha hữu cơ được gom lại, làm khô bằng

natri sulfat khan, lọc và cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký silica gel (100-200 mesh) với ete dầu mỏ/ethyl axetat (20:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, CDCl_3 , ppm): δ 7,90-7,99 (m, 4H), 7,20-7,26 (m, 4H), 5,58-5,61 (m, 0,47H), 5,39-5,42 (m, 0,55H), 5,18-5,24 (m, 1H), 4,46-4,65 (m, 3H), 3,43 (s, 1,61H), 3,36 (s, 1,33H), 2,52-2,60 (m, 1H), 2,17-2,43 (m, 7H).

Bước 3: (2R,3S,5R)-5-clo-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (chất trung gian A)

Đưa HCl (g) vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S)-5-metoxi-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (4,0 g, 10,41 mmol) trong diethyl ete khan (20 mL) trong bình đáy tròn ba cổ dung tích 100 mL. Sản phẩm được kết tủa từ từ trong khoảng 40 phút ở nhiệt độ 0°C . Chất rắn được lọc và rửa bằng diethyl ete khô (3 x 20 mL), làm khô trong chân không cao trong 2 giờ để tạo ra **chất trung gian A** là chất rắn. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, CDCl_3 , ppm): δ 7,96 (d, $J=9,0\text{Hz}$, 2H), 7,90 (d, $J=8,1\text{Hz}$, 2H), 7,19-7,27 (m, 4H), 6,47 (d, $J=5,1\text{Hz}$, 1H), 5,54-5,58 (m, 1H), 4,85 (dd, $J=3,3\text{Hz}$, $J=7,2\text{Hz}$, 1H), 4,68 (dd, $J=3,3\text{Hz}$, $J=12,0\text{Hz}$, 1H), 4,59 (dd, $J=4,2\text{Hz}$, $J=12,0\text{Hz}$, 1H), 2,83-2,92 (m, 1H), 2,74 (d, $J=15,0\text{Hz}$, 1H), 2,42 (d, $J=3,6\text{Hz}$, 6H).

Ví dụ 1: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrololo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (1)



Bước 1: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-clo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat

Thêm 4-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin (0,948 g, 6,17 mmol) vào huyền phù chứa natri hydrua (60% phân tán trong dầu khoáng, 0,272 g, 6,79 mmol) trong axetonitril khan (50 ml) trong khí quyển argon trong bình đáy tròn ba cổ dung tích 250 ml và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút. (2*R*,3*S*,5*R*)-5-clo-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (2,4 g, 6,17 mmol) được thêm vào từng phần kèm khuấy. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 50°C và khuấy trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng tạo ra cặn dạng dầu, mà được tinh chế bằng sắc ký silica-gel với etyl axetat/ete dầu mỏ (tỷ lệ 1:6, thể tích/thể tích) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, ppm): δ 8,64 (s, 1H), 7,98 (d, *J*=8,1Hz, 2H), 7,92 (d, *J*=8,1Hz, 2H), 7,43 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 7,20-7,30 (m, 4H), 6,82 (dd, *J*=5,7Hz, *J*=8,1Hz, 1H), 6,60 (d, *J*=3,9Hz, 1H), 4,60-4,76 (m, 3H), 2,86-2,96 (m, 1H), 2,74-2,82 (m, 1H), 2,43 (d, *J*=5,4Hz, 6H). LC-MS: (ES, m/z): 506,43 [M+H]⁺.

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm (2R,3S,5R)-5-(4-clo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (2,18 g, 4,31 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 80 ml và được làm lạnh xuống -40°C. Thêm isopropanolic amoniac (bão hòa ở nhiệt độ -40°C, 60 ml) vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi hỗn hợp được khuấy ở 90°C và trong 15 giờ, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc trong chân không. Tinh chế phân cặn bằng sắc ký cột silica gel với diclometan/metanol (4/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (400MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,04 (s, 1H), 7,34 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 7,04 (br, 2H), 6,58 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,48 (dd, *J*=6,0Hz, *J*=8,0Hz, 1H), 5,24 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 5,16 (t, *J*=4,2Hz, 1H), 4,34 (d, *J*=2,0Hz, 1H), 3,82 (dd, *J*=4,0Hz, *J*=6,4Hz, 1H), 3,48-3,58 (m, 2H), 2,48-2,54 (m, 1H), 2,13-2,17 (m, 1H).

Bước 3: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin.

Thêm (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (950 mg, 3,796 mmol) và imidazol (775,4 mg, 11,388 mmol) vào bình đáy tròn dung tích 25 mL trong khí quyển argon. Đưa DMF khan (8 mL) vào bình, sau đó bổ sung *t*-butyldimethylsilyl clorua (1716,4 mg, 11,388 mmol). Sau khi hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong 3 giờ, hỗn hợp được pha loãng bằng etyl axetat (40 mL), lần lượt rửa bằng nước (20 mL x 2), NaHCO₃ trong nước (bão hòa, 20 mL x 2) và nước muối (20 mL x 2). Lốp hữu cơ được thu gom và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Tiếp đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silica gel với etyl axetat/ete dầu mỏ (35% đến 42% etyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,32 (s, 1H), 7,32 (d, *J*=3,9Hz, 1H), 6,69 (t, *J*=6,6Hz, 1H), 6,39 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 5,29 (br, 2H), 4,56-4,61 (m, 1H), 3,96 (dd, *J*=3,5Hz, *J*=7,0Hz, 1H), 3,74-3,84 (m, 2H), 2,42-2,51 (m, 1H), 2,30-2,38 (m, 1H), 0,92 (d, *J*=4,2Hz, 18H), 0,08-0,1 (m, 12H). LC-MS: (ES, *m/z*): 497,71 [M+H]⁺.

Bước 4: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt dung dịch đã được làm lạnh trước chứa axit trifloaxetic/nước (1/2, thể tích/thể tích, 9 mL) ở nhiệt độ 0°C trong khoảng 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (1,2 g, 2,506 mmol) trong THF (24 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 0°C trong 4 giờ và tiếp đó làm bay hơi đồng thời với toluen ở nhiệt độ dưới 25°C trong ba lần tạo ra siro. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với etyl axetat/diclometan (1/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,03 (s, 1H), 7,34 (d, *J*=3,9Hz, 1H), 7,03 (brs, 2H), 6,58 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,46 (dd, *J*=5,7Hz, 1H), 5,19 (t, *J*=5,7Hz, 1H), 4,51-4,53 (m, 1H), 3,79-3,83 (m, 1H), 3,47-3,57 (m, 2H), 2,55-2,64 (m, 1H), 2,10-2,17 (m, 1H), 0,9 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 5: Tổng hợp (2S,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (230 mg, 0,823 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (100 mg, 0,274 mmol) trong axetonitril khan (10 mL) trong khí quyển argon trong bình đáy tròn dung tích 25 mL. Hỗn hợp thu được được hồi lưu trong 0,5 giờ và sau đó làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Lọc chất rắn và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 363,20 [M+H]⁺, 381,20 [M+H+H₂O]⁺.

Bước 6: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm dung dịch formaldehyt (0,3 mL, 4,00 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit (0,3 mL, 0,600 mmol, 2M) trong 1 phút vào dung dịch khuấy chứa (2S,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (100 mg, 0,276 mmol, thô)

trong 1,4-dioxan (1 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic, pha loãng bằng ethyl axetat và lần lượt rửa bằng nước, NaHCO₃ bão hòa trong nước và nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ và làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong ethanol khan (2 mL) và thêm từng phần natri borohydrua (20,87 mg, 0,552 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 25°C, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic, pha loãng bằng cloroform (20 mL), rửa bằng nước và nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế với diclometan/metanol (20/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,03 (s, 1H), 7,37 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 7,02 (brs, 2H), 6,57 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,50 (dd, *J*=5,7Hz, *J*=8,1Hz, 1H), 5,12 (dd, *J*=5,1Hz, *J*=6,3Hz, 1H), 4,59-4,60 (m, 1H), 4,38 (dd, *J*=5,1Hz, *J*=6,3Hz, 1H), 3,46-3,61 (m, 4H), 2,70-2,75 (m, 1H), 2,13-2,20 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,09 (s, 6H). LC-MS: (ES, *m/z*): 395,20 [M+H]⁺.

Bước 7: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (284 mg, 1,014 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (100 mg, 0,253 mmol) trong axetonitril khan (20 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 30°C trong 36 giờ. LCMS chỉ ra rằng còn lại một phần nhỏ diol-nucleosit ban đầu, và hợp chất đích là sản phẩm chính. Hỗn hợp được lọc, rửa bằng diclometan. Phần lọc được thu gom và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 393,28 [M+H]⁺.

Bước 8: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

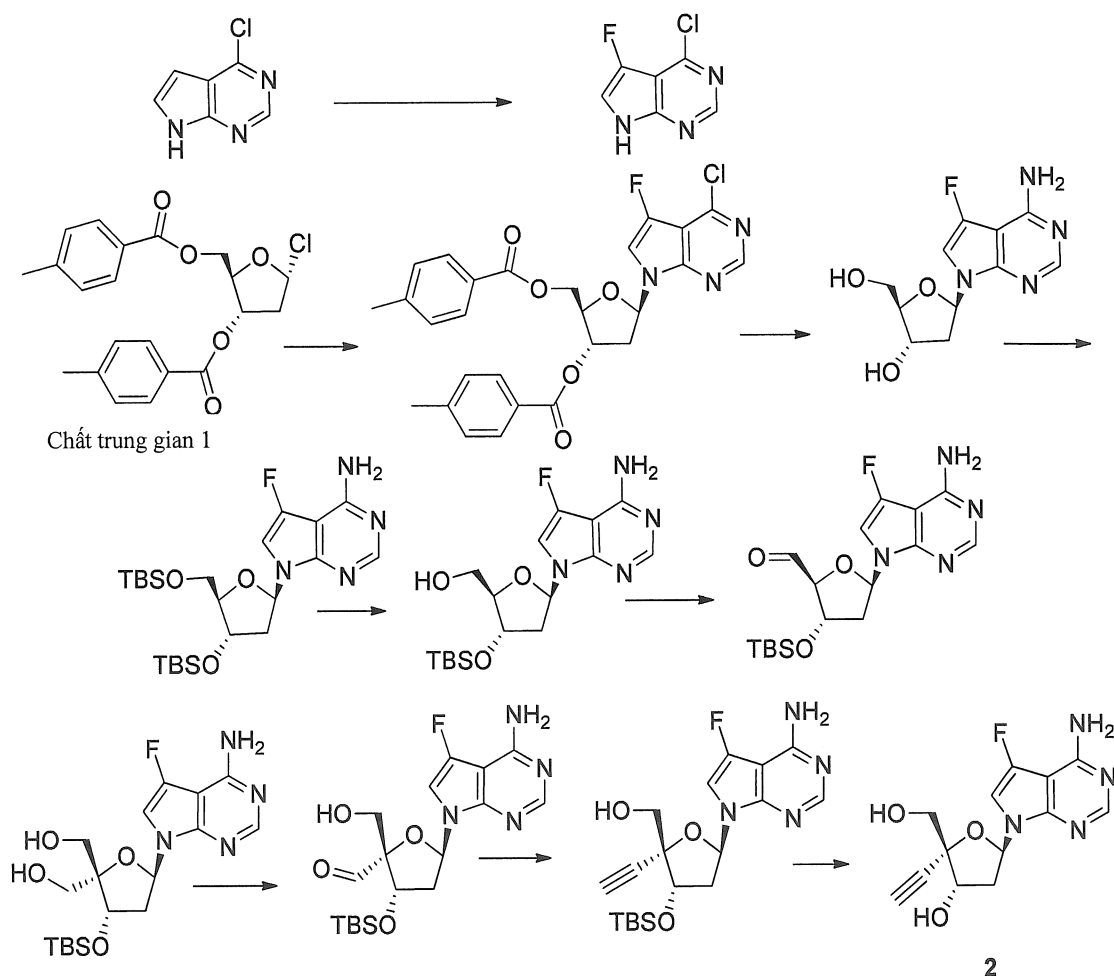
Thêm kali carbonat (68,04 mg, 0,492 mmol) vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (100 mg,

0,248 mmol, thô) trong metanol khan (10 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, sau đó dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (94,56 mg, 0,492 mmol) được thêm vào nhỏ giọt trong 2 phút. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C qua đêm, cô đặc hỗn hợp trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (metanol/diclorometan = 1/15) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, ppm): δ 8,24 (s, 1H), 7,04 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,35 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,31 (dd, *J*=5,7Hz, *J*=9,3Hz, 1H), 5,48 (br, 2H), 4,73 (d, *J*=4,2Hz, 1H), 4,03 (d, *J*=12,6Hz, 1H), 3,80 (d, *J*=12,3Hz, 1H), 3,13-3,23 (m, 1H), 2,58 (s, 1H), 2,22-2,28 (m, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,15 (d, *J*=7,2Hz, 6H).

Bước 9: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm nhỏ giọt dung dịch tetrabutylamoni florua THF 1M (0,309 mL, 0,309 mmol) trong 1 phút ở nhiệt độ môi trường vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (60 mg, 0,154 mmol) trong THF khan (2 mL) trong khí quyển argon. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ này trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Khi lượng nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (metanol/diclorometan = 1/9) để tạo ra hợp chất thô nêu ở đề mục mà được tinh chế tiếp bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, X-select CSH Column, 19*150mm, 5μm; pha động, nước có 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (5% axetonitril lên đến 20% trong 7,5 phút, lên đến 95% trong 2 phút); Máy dò, UV 254 & 220 nm để tạo ra hợp chất 1 là chất rắn. ¹H-NMR: (300MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,05 (s, 1H), 7,31 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 7,03 (brs, 2H), 6,58 (d, *J*=3,6Hz, 1H), 6,50 (t, *J*=6,3Hz, 1H), 5,40-5,49 (m, 2H), 4,49 (dd, *J*=6,0Hz, *J*=11,4Hz, 1H), 3,51-3,66 (m, 2H), 3,46 (s, 1H), 2,55-2,59 (m, 1H), 2,28-2,39 (m, 1H). LC-MS: (ES, m/z): 275,20 [M+H]⁺.

Ví dụ 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-fluoro-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (2)



Bước 1: Tổng hợp 4-clo-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin

4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (5 g, 32,6 mmol) và SELECTFLUOR® (1-clometyl-4-flo-1,4-diazoniabixyclo[2.2.2]octan bis(tetrafloborat)) (17,30 g, 48,8 mmol) được đặt vào bình đáy tròn dung tích 500 mL trong khí quyển argon. Thêm axetonitril khô (150 mL) và axit axetic khô (50 mL) vào. Gia nhiệt hỗn hợp đến 70°C và khuấy trong 16 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm và phần cặn được bay hơi đồng thời với toluen. Chất rắn thô được hòa tan trong hỗn hợp diclometan/etyl axetat (1:1) và lọc qua miếng silica gel. Pha hữu cơ kết hợp được làm bay hơi trong áp suất giảm. Tiếp đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silica gel với diclometan/etyl axetat (5:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (400MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 12,48 (brs, 1H), 8,62 (s, 1H), 7,71 (t, *J*=2,6Hz, 1H), F-NMR: (376MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ -170,76 (s, 1F). LC-MS: (ES, *m/z*): 172,00 [M+H]⁺.

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm từng phần 4-clo-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (0,688 g, 4,01 mmol) vào huyền phù chứa natri hydrua 60% phân tán trong dầu khoáng (0,177 g, 4,41 mmol) trong axetonitril khan (40 mL) trong khí quyển argon, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút. Sau đó chất trung gian A (1,56 g, 4,01 mmol) được thêm vào từng phần. Sau khi hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 50°C và khuấy trong 2 giờ, phần dễ bay hơi được loại bỏ trong áp suất giảm, sau đó phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silica gel với etyl axetat/ete dầu mỏ (1/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, ppm): δ 8,62-8,68 (m, 1H), 7,91-7,99 (m, 4H), 7,26-7,29 (m, 4H), 7,16-7,18 (m, 2H), 6,84-6,88 (m, 1H), 5,74-5,76 (m, 1H), 4,60-4,74 (m, 3H), 2,74-2,79 (m, 2H), 2,43-2,46 (m, 6H). LC-MS: (ES, m/z): 524,30 [M+H]⁺.

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (2,0 g, 3,82 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 80 mL. Môi trường được làm lạnh đến -40°C. Thêm *i*-PrOH bão hòa trong amoniac (60 mL) vào. Sau khi hỗn hợp được gia nhiệt đến 80°C và khuấy trong 18 giờ, hỗn hợp thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký silica gel với diclometan/metanol (5/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (400MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,06 (s, 1H), 7,33 (d, *J*=2,0Hz, 1H), 6,99 (brs, 2H), 6,54 (t, *J*=6,0Hz, 1H), 5,24 (d, *J*=4,4Hz, 1H), 4,99 (t, *J*=5,6Hz, 1H), 4,30-4,33 (m, 1H), 3,78-3,81 (m, 1H), 3,47-3,56 (m, 2H), 2,37-2,44 (m, 1H), 2,12-2,17 (m, 1H). F-NMR: (376MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ -167,49 (s, 1F).

Bước 4: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin

(2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (538 mg, 2,006 mmol) và imidazol (819 mg, 12,03 mmol) được thêm vào bình đáy tròn dung tích 25 mL trong khí quyển argon. Thêm DMF khan (5 mL) vào, sau đó bổ sung từng phần tert-butyldimetylsilan (1209 mg, 8,02 mmol). Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC và LCMS. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp được pha loãng bằng ethyl axetat (40 mL), lần lượt rửa bằng nước (20 mL x 2), NaHCO₃ bão hòa trong nước (20 mL x 2) và nước muối (20 mL x 2). Lọc hữu cơ được gom lại, làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô đặc trong áp suất giảm. Tiếp đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silica gel với ethyl axetat/ete dầu mỏ (28% đến 41% ethyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,07 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 6,99 (brs, 2H), 6,54 (t, *J*=6,0Hz, 1H), 4,49 (s, 1H), 3,60-3,78 (m, 3H), 2,51-2,53 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 0,88 (d, *J*=4,2Hz, 18H), 0,11 (s, 6H), 0,04 (s, 6H). LC-MS: (ES, *m/z*): 497,71 [M+H]⁺.

Bước 5: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt dung dịch axit trifloaxetic trong nước (axit trifloaxetic/nước = 1/1, thể tích/thể tích, 6 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (900 mg, 1,812 mmol) trong THF (12 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp thu được được bay hơi đồng thời với toluen (50 mL x 3) trong chân không trong khi duy trì nhiệt độ dưới 25°C để loại bỏ chất dễ bay hơi. Tinh chế phân cận bằng sắc ký silica gel với ethyl axetat/ete dầu mỏ (52% đến 58% ethyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,07 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,99 (brs, 2H), 6,53 (t, *J*=6,9Hz, 1H), 5,04 (t, *J*=5,6Hz, 1H), 4,47-4,51 (m, 1H), 3,76-3,79 (m, 1H), 3,44-3,57 (m, 2H), 2,45-2,51 (m, 1H), 2,11-2,16 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H). LC-MS: (ES, *m/z*): 383,26 [M+H]⁺.

Bước 6: Tổng hợp (2S,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (791 mg, 2,82 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (360 mg, 0,941 mmol) trong axetonitril khan (12 mL) trong agon. Hỗn hợp thu được được hồi lưu trong 35 phút. Phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và chất rắn được lọc. Phần lọc được thu gom và sau đó cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 7: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm dung dịch formaldehyt (1,2 mL, 16,01 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit (1,2 mL, 2M, 2,400 mmol) trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (2S,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (400 mg, 1,051 mmol, thô) trong 1,4-dioxan (4 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ, và sau đó hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng ethyl axetat, lần lượt rửa bằng nước, NaHCO₃ bão hòa trong nước và nước muối. Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong etanol (10 mL) và natri borohydrua (80 mg, 2,103 mmol) được thêm vào từng phần ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 25°C, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic và sau đó pha loãng bằng cloroform và lần lượt rửa bằng nước và nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký silica gel với diclometan/metanol (30/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,06 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 6,99 (brs, 2H), 6,57 (t, *J*=3,6Hz, 1H), 4,99 (t, *J*=4,8Hz, 1H), 4,55-4,59 (m, 1H), 4,39 (t, *J*=5,1Hz, 1H), 3,45-3,55 (m, 4H), 2,57-2,65 (m, 1H), 2,17-2,20 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Bước 8: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (326 mg, 1,164 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (120 mg, 0,291 mmol) trong axetonitril khan (8 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở 30°C trong 24 giờ và sau đó lọc và rửa bằng diclometan. Phần lọc được thu gom và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 411,43 [M+H]⁺.

Bước 9: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

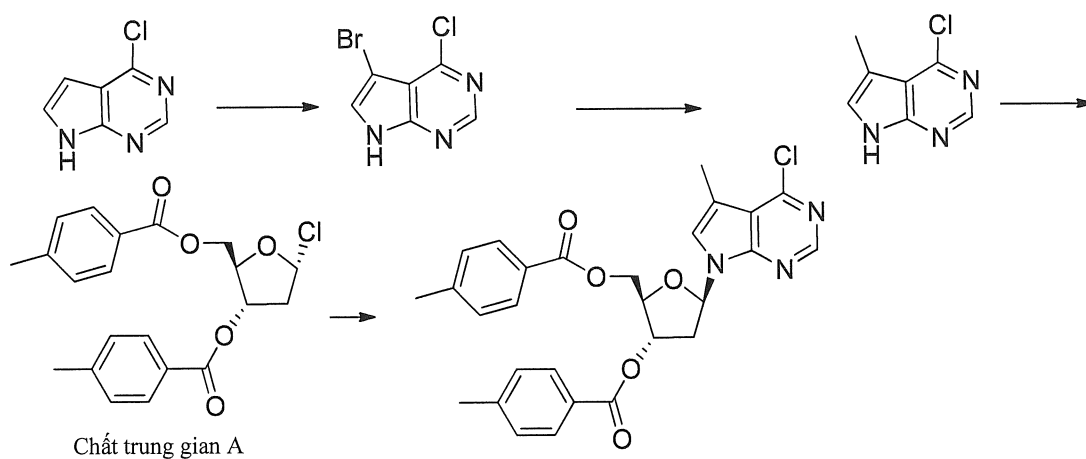
Thêm kali carbonat (111 mg, 0,804 mmol) vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (110 mg, 0,268 mmol, thô) trong metanol khan (8 mL) trong argon. Hỗn hợp được làm lạnh xuống nhiệt độ 0°C, sau đó dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (154 mg, 0,804 mmol) được thêm nhỏ giọt vào trong 1 phút. Sau đó hỗn hợp được khuấy ở 25°C qua đêm, hỗn hợp thu được được cô đặc trong chân không, và sau đó được tinh chế bằng TLC điều chế (metanol/diclometan = 1/15) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (300MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,07 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,03 (br, 2H), 6,56 (t, J=6,3Hz, 1H), 5,43 (t, J=6,0Hz, 1H), 4,61 (t, J=5,4Hz, 1H), 3,58-3,67 (m, 1H), 3,49-3,53 (m, 1H), 3,47 (s, 1H), 2,52-2,61 (m, 1H), 2,23-2,31 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (d, J=2,4Hz, 6H). LC-MS: (ES, m/z): 407,30 [M+H]⁺.

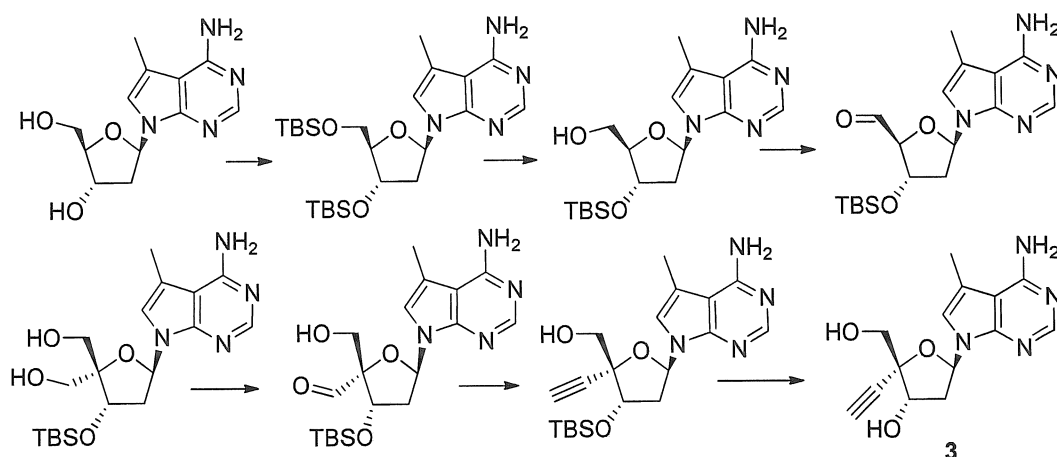
Bước 10: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm nhỏ giọt dung dịch TBAF/THF (0,118 mL, 0,118 mmol) kèm khuấy trong 1 phút ở nhiệt độ phòng vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-

etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (40 mg, 0,098 mmol) trong THF khan (2 mL) trong khí quyển argon, và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ này trong 2 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không, và phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (metanol/diclorometan = 1/10) để tạo ra sản phẩm thô (28 mg). Sản phẩm thô được tinh chế tiếp bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, X-select CSH Column, 19*150mm, 5 μ m; pha động, nước có 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (5% axetonitril lên đến 35% trong 7,5 phút, lên đến 95% trong 2 phút); Máy dò, UV 254 & 220 nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất 2 là chất rắn. $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,07 (s, 1H), 7,30 (d, $J=1,6\text{Hz}$, 1H), 7,02 (br, 2H), 6,55 (t, $J=5,8\text{Hz}$, 1H), 6,05 (br, 1H), 5,31-5,45 (m, 1H), 4,46 (t, $J=6,6\text{Hz}$, 1H), 3,58 (dd, $J=11,8\text{Hz}$, $J=29,4\text{Hz}$, 2H), 3,47 (s, 1H), 2,44-2,51 (m, 1H), 2,29-2,36 (m, 1H). F-NMR: (376MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -167,23 (s, 1F). LC-MS: (ES, m/z): 293,10 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 315,10 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ví dụ 3: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-metyl-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (3)





Bước 1: 5-bromo-4-clo-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin

4-clo-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin (1 g, 6,51 mmol) được tạo huyền phù trong DCM khô (20 mL) sau đó bổ sung NBS (N-bromosuccinimide) (1,275 g, 7,16 mmol) ở nhiệt độ môi trường trong khí quyển argon. Hỗn hợp được gia nhiệt đến hồi lưu và khuấy trong 16 giờ. Khi deaza-pyrimidin ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ môi trường và duy trì trong 30 phút. Thu gom kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng DCM (2 x 20 mL), làm khô trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 233,90 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 12,98 (brs, 1H), 8,64 (s, 1H), 7,96 (s, 1H).

Bước 2: Tổng hợp 4-clo-5-metyl-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin

5-bromo-4-clo-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin (232 mg, 0,998 mmol) được hòa tan trong THF khô (10 mL) và được làm lạnh đến $-78^\circ C$ trong khí quyển argon. Thêm nhỏ giọt dung dịch *n*-butyllithi hexan (2,5M, 0,88 mL, 2,196 mmol) kèm khuấy trong 5 phút vào hỗn hợp. Hỗn hợp được khuấy trong khoảng 40 phút sau đó bổ sung iodometan (212 mg, 1,497 mmol). Sau đó dung dịch được làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Nước (2 mL) được thêm vào để dừng phản ứng. Chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không ở nhiệt độ dưới $40^\circ C$ để thu được chất sền sệt. Chất sền sệt được hòa tan lại trong EtOAc (50 mL) và rửa bằng nước (2 x 15 mL) và nước muối (20 mL). Lỏng hữu cơ được gom lại, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong chân không để thu được bột mà được tái kết tinh từ MeOH để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z):

168,00 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 12,22 (brs, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 2,41 (d, *J* = 0,90 Hz, 1H).

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm từng phần 4-clo-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (1,724 g, 10,29 mmol) trong khí quyển argon vào huyền phù được khuấy chứa natri hydrua (60% phân tán trong dầu, 0,453 g, 11,32 mmol) trong ACN khan (50 mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 30 phút. Thêm từng phần **chất trung gian A** (4,0 g, 10,29 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào dung dịch trong thu được. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 50°C và khuấy trong 3 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Hỗn hợp được cô đặc trong chân không tạo ra chất rắn, được tinh chế bằng sắc ký cột silica-gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (1:6, thể tích/thể tích) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 520,25 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,55 (s, 1H), 7,90-7,99 (m, 4H), 7,20-7,30 (m, 4H), 7,11 (s, 1H), 6,81 (dd, *J* = 6,0Hz, *J* = 8,4Hz, 1H), 5,76 (dd, *J* = 1,5Hz, *J* = 3,6Hz, 1H), 4,73-4,79 (m, 1H), 4,54-4,64 (m, 2H), 2,79-2,88 (m, 1H), 2,68-2,75 (m, 1H), 2,43(d, *J* = 3,0Hz, 6H), 2,33 (d, *J* = 0,9Hz, 3H).

Bước 4: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Đặt (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (4,5 g, 7,79 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 150 mL. Làm lạnh môi trường đến -40°C. Thêm 2-propanolic amoniac (*i*-PrOH/NH₃ lỏng = 1/1, thể tích/thể tích, 120 mL) vào hỗn hợp. Bình cao áp được bịt kín và hỗn hợp được gia nhiệt đến 90°C và khuấy trong 40 giờ. Khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C và cô đặc trong chân không. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (4/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 265,10 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,00 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,58 (brs, 2H), 6,45 (dd, *J* = 6,0Hz, *J* = 8,1Hz, 1H), 5,21 (d, *J* = 3,3Hz, 1H), 5,05 (t, *J* = 5,1Hz, 1H), 4,32-4,36 (m, 1H), 3,78 (d, *J* = 2,1Hz, 1H), 3,44-3,57 (m, 2H), 2,39-2,51 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,06-2,13 (m, 3H).

Bước 5: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin

Thêm tert-butyldimethylsilyl (2,91 g, 19,30 mmol) kèm khuấy ở nhiệt độ 25°C trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (1,7 g, 6,43 mmol) và 1H-imidazol (1,752 g, 25,7 mmol) trong DMF khô (10 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ và sau đó pha loãng bằng ethyl axetat (100 mL), lần lượt rửa bằng nước (2 x 30 mL), NaHCO₃ trong nước (bão hòa, 2 x 30 mL) và nước muối (30 mL). Lớp hữu cơ được thu gom và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong chân không để tạo ra sản phẩm thô. Tiếp đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ethyl axetat/ete dầu mỏ (28% đến 41% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 493,30 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,24 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,67 (dd, *J* = 6,3Hz, *J* = 7,2Hz, 1H), 5,37 (br, 2H), 4,54-4,57 (m, 1H), 3,94 (dd, *J* = 3,3Hz, *J* = 6,3Hz, 1H), 3,72-3,82 (m, 2H), 2,37-2,46 (m, 4H), 2,25-2,32 (m, 1H), 0,91 (2s, 18H), 0,10 (s, 12H).

Bước 6: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(tert-butyldimethylsilyl)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt dung dịch đã làm lạnh trước chứa axit trifloaxetic/nước (1/1, thể tích/thể tích, 15 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2R,4S,5R)-4-(tert-butyldimethylsilyl)-5-((tert-butyldimethylsilyl)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-methyl-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (2,5 g, 5,07 mmol) trong THF (30 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Dung dịch thu được được bay hơi đồng thời với toluen (3 x 100 mL) trong khi duy trì nhiệt độ bên trong thấp hơn 25°C. Sau đó tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ethyl axetat/ete dầu mỏ (50% đến 58% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 493,30 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, CD₃OD, *ppm*): δ 8,18 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 6,59 (dd, *J* = 6,0Hz, *J* = 7,8Hz, 1H), 4,56-4,60 (m, 1H), 3,93 (dd, *J* = 3,9Hz, *J* = 6,6Hz, 1H), 3,65-3,70 (m, 2H), 2,45-

2,54 (m, 1H), 2,42 (d, $J = 0,9\text{Hz}$, 3H), 2,23-2,31 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 7: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(tert-butyldimetylsilyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (888 mg, 3,17 mmol) trong khí quyển argon vào huyền phù được khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(tert-butyldimetylsilyl)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (600 mg, 1,585 mmol) trong ACN khan (12 mL). Hỗn hợp được gia nhiệt đến hồi lưu và khuấy trong 55 phút. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và chất rắn được lọc. Phần lọc được thu gom và sau đó cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 377,15 $[M+H]^+$, 409,15 $[M+H+MeOH]^+$.

Bước 8: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(tert-butyldimetylsilyl)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm formaldehyt trong nước (37% khối lượng/khối lượng, 6 mL) sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit (2N, 6 mL, 0,12 mmol) trong 2 phút vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(tert-butyldimetylsilyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (420 mg, thô) trong 1,4-dioxan (12 mL) và nước (3 mL) trong bình đáy tròn dung tích 50 mL. Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ. Khi nucleosit-aldehyt ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH (khoảng 0,8 mL). Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng AcOEt (50 mL) và lần lượt rửa bằng nước (30 mL), NaHCO_3 bão hòa trong nước (20 mL) và nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc trong chân không. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOH khan (8 mL) và thêm từng phần natri borohydrua (84,4 mg, 2,23 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 25°C, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH. Hỗn hợp được cô đặc trong chân không, phân tách giữa CHCl_3 (50 mL) và nước (30 mL). Lớp chứa nước được chiết lại bằng CHCl_3 (2 x 20 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được lần lượt rửa bằng nước và nước muối, làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và cô

đặc trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng diclometan/metanol (5,5% MeOH trong DCM) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 409,35 $[M+H]^+$, 431,35 $[M+Na]^+$, 1H -NMR: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,00 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 6,56 (br, 2H), 6,48 (dd, $J = 6,0\text{Hz}$, $J = 8,4\text{Hz}$, 1H), 6,45-6,47(m, 1H), 5,02 (t, $J = 5,5\text{Hz}$, 1H), 4,58 (t, $J = 2,7\text{Hz}$, 1H), 4,35 (dd, $J = 4,5\text{Hz}$, $J = 6,3\text{Hz}$, 1H), 3,42-3,60 (m, 4H), 2,58-2,63 (m, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,09-2,16 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Bước 9: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

((3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy) tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (140 mg, 0,343 mmol) được tạo huyền phù trong ACN khô (15 mL) trong khí quyển argon sau đó bổ sung axit 2-iodylbenzoic (240 mg, 0,857 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 30°C trong 20 giờ. Chất rắn được lọc, rửa bằng CHCl_3 (2 x 20 mL). Phần lọc gom lại được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 407,25 $[M+H]^+$.

Bước 10: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

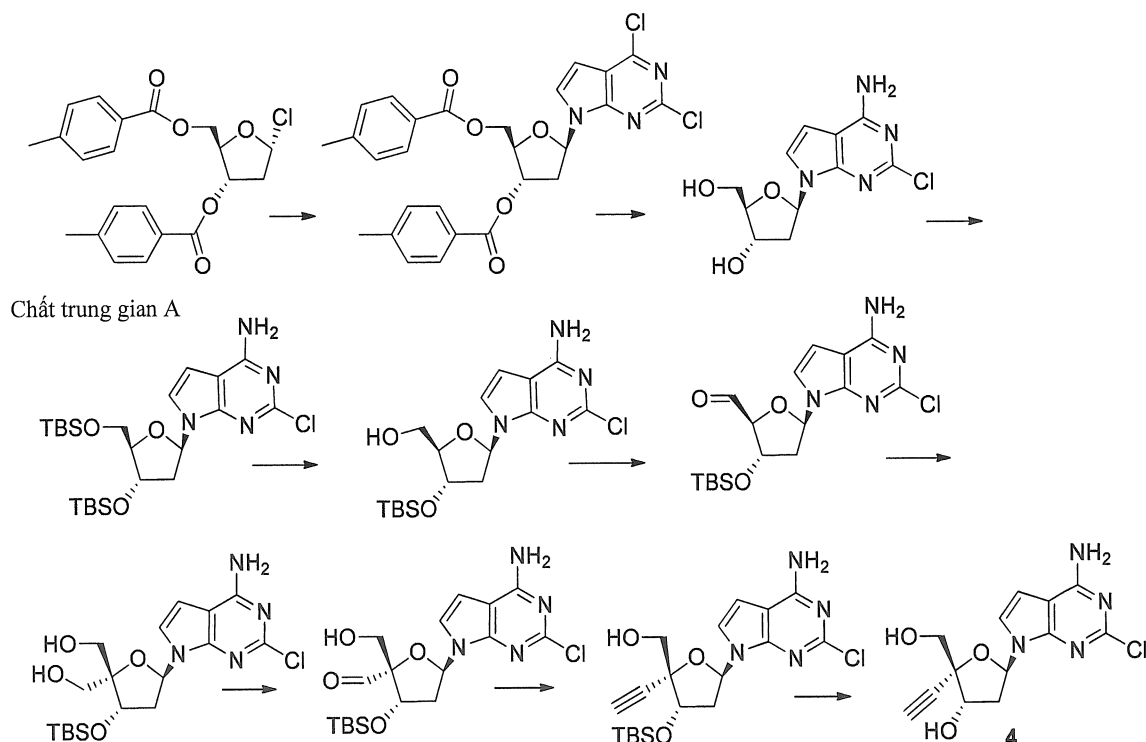
Thêm K_2CO_3 (82 mg, 0,590 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (120 mg, ~0,236 mmol, thô) trong MeOH khô (15 mL), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch chứa dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (91 mg, 0,472 mmol) trong MeOH (2 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 phút. Hỗn hợp thu được được làm ấm từ từ đến 25°C và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp được cô đặc trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (30%-50% EA

trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 403,25 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,01 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,60(br, 2H), 6,49 (dd, $J = 6,0\text{Hz}$, $J = 7,2\text{Hz}$, 1H), 5,48 (t, $J = 5,7\text{Hz}$, 1H), 4,62 (t, $J = 5,7\text{Hz}$, 1H), 3,57-3,68 (m, 1H), 3,48-3,52 (m, 1H), 3,45 (s, 1H), 2,49-2,62 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,21-2,31 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,12 (d, $J = 6,0\text{Hz}$, 6H).

Bước 11: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (3)

Thêm nhỏ giọt dung dịch tetra-butylamoni florua THF (1,0M, 0,067 mL, 0,067 mmol) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-metyl-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (27 mg, 0,067 mmol) trong THF khô (1 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong 30 phút. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Cô đặc dung dịch thu được trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, XBridgeTM C18 Column, 19*150mm, 5 μ m; pha động, nước có 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (30% axetonitril lên đến 70% trong 10 phút, lên đến 95% trong 2 phút, giảm xuống 5% trong 1,5 phút); Lưu lượng: 20 mL/phút; Máy dò, UV 254&220nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 289,05 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,00 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 6,58 (br, 2H), 6,48 (t, $J = 6,60\text{Hz}$, 1H), 5,45 (d, $J = 5,1\text{Hz}$, 1H), 5,38 (t, $J = 6,0\text{Hz}$, 1H), 4,46 (q, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 3,50-3,64 (m, 2H), 3,44 (s, 1H), 2,44-2,54 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,24-2,32 (m, 1H).

Ví dụ 4: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (4)



Bước 1: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(2,4-diclo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm từng phần 2,4-diclo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin (2,176 g, 11,57 mmol) trong khí quyển argon vào huyền phù được khuấy chứa natri hydrua (60% phân tán trong dầu khoáng, 0,509 g, 12,73 mmol) trong axetonitril khan (125 mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút. Thêm từng mẻ **chất trung gian A** (4,5 g, 11,57 mmol) kèm khuấy vào dung dịch trong nêu trên. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng tạo ra cặn dạng dầu, mà được tinh chế bằng sắc ký cột silica-gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (1/6, thể tích/thể tích) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 540,20 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,01 (d, *J* = 8,0Hz, 2H), 7,93 (d, *J* = 8,0Hz, 2H), 7,43 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 7,22-7,37 (m, 4H), 6,80 (dd, *J* = 6,0Hz, *J* = 8,0Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 4,0Hz, 1H), 5,76 (t, *J* = 2,8Hz, 1H), 4,76 (dd, *J* = 3,6Hz, *J* = 12,0Hz, 1H), 4,63-4,69 (m, 2H), 2,76-2,86 (m, 2H), 2,47, 2,45 (2s, 6H).

Bước 2: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(2,4-diclo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (5 g, 9,25 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 250 mL. Làm lạnh môi trường đến -40°C. Thêm isopropanolic amoniac (isopropanol/amoniac lỏng = 1/3, thể tích/thể tích, 150 mL) vào. Làm kín môi trường, gia nhiệt đến 90°C và khuấy trong 16 giờ. Làm nguội hỗn hợp thu được đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc trong chân không. Phần cặn được hòa tan lại trong MeOH (100 mL), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri methoxit MeOH (1,0M, 16,89 mL, 16,89 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy trong 2 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic (0,01 mL) và cô đặc trong chân không. Phần cặn được tạo huyền phù trong DCM/MeOH (v/v, 100/1, 150 mL). Sau khi khuấy trong 20 phút, chất rắn đã kết tủa. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng DCM và làm khô trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 285,20 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, CD₃OD, *ppm*): δ 7,31 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,58 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 6,45 (t, *J* = 6,8Hz, 1H), 4,52-4,53 (m, 1H), 3,98-4,01 (m, 1H), 3,81 (dd, *J* = 2,4Hz, *J* = 12,0Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 3,2Hz, *J* = 12,0Hz, 1H), 2,63-2,70 (m, 1H), 2,29-2,34 (m, 1H).

Bước 3: Tổng hợp 7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin

Thêm TBS-Cl (3,05 g, 20,23 mmol) ở nhiệt độ môi trường vào dung dịch khuấy chứa (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-3-ol (3,2 g, 6,74 mmol) và imidazol (1,836 g, 27,0 mmol) trong DMF khô (10 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (100 mL), lần lượt rửa bằng nước (2 x 20 mL), NaHCO₃ trong nước (bão hòa, 2 x 20 mL) và nước muối (2 x 20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (35% đến 42% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục.

LC-MS: (ES, m/z): 513,20 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, $CDCl_3$, ppm): δ 7,32 (s, 1H), 6,61 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,38 (s, 1H), 5,44 (br, 2H), 4,59-4,61 (m, 1H), 3,91-3,99 (m, 1H), 3,77-3,88 (m, 2H), 2,44-2,51 (m, 1H), 2,34-2,37 (m, 1H), 0,93-0,95 (m, 18H), 0,11-0,12 (m, 12H), 1H -NMR: (400MHz, CD_3OD , ppm): δ 7,31 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,58 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 6,45 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,52-4,53 (m, 1H), 3,98-4,01 (m, 1H), 3,81 (dd, $J = 2,4$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,73 (dd, $J = 3,2$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,63-2,70 (m, 1H), 2,29-2,34 (m, 1H).

Bước 4: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt dung dịch đã làm lạnh trước chứa axit trifloaxetic/nước (thể tích/thể tích, 1/1, 20 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (2,3 g, 4,48 mmol) trong THF (40 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 2 giờ ở nhiệt độ 0°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Dung dịch thu được được bay hơi đồng thời với toluen (3 x 60 mL) trong khi duy trì nhiệt độ bên trong thấp hơn 25°C tạo ra sirô màu hồng. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ethyl axetat/diclorometan (1/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 399,20 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,53 (br, 2H), 7,35 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 6,60 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,95 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,51-4,54 (m, 1H), 3,73-3,79 (m, 1H), 3,46-3,55 (m, 2H), 2,54-2,59 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H), 1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,53 (br, 2H), 7,35 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 6,60 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,95 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,51-4,54 (m, 1H), 3,73-3,79 (m, 1H), 3,46-3,55 (m, 2H), 2,54-2,59 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 5: Tổng hợp (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (632 mg, 2,256 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (600 mg, 1,504 mmol) trong DMSO khan (3 mL) và

axetonitril (15 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng ethyl axetat (20 mL), rửa bằng nước muối (2 x 10 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 415,40 $[M+H_2O]^+$.

Bước 6: Tổng hợp ((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm dung dịch formaldehyt (7 mL, 93 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit chứa nước (7 mL, 2*N*, 14,00 mmol) trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (700 mg, thô) trong 1,4-dioxan (28 mL) và nước (7 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 25°C trong 3 giờ. Khi nucleosit-aldehyt ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic (0,5 mL). Hỗn hợp được pha loãng bằng ethyl axetat (100 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2 x 20 mL), NaHCO₃ bão hòa trong nước (20 mL) và nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOH khan (4 mL) và thêm từng phần natri borohydrua (133 mg, 3,53 mmol) trong khí quyển argon ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 25°C, hỗn hợp được trung hòa bằng cách bổ sung axit axetic (1,0 mL). Hỗn hợp được cô đặc trong chân không. Phần cặn được pha loãng bằng CHCl₃ (100 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2 x 20 mL) và nước muối (1 x 20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (30/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 429,30 $[M+H]^+$. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 7,51 (br, 2H), 7,38 (d, *J* = 3,9Hz, 1H), 6,60 (d, *J* = 3,6Hz, 1H), 6,40 (t, *J* = 6,9Hz, 1H), 4,88 (t, *J* = 5,5Hz, 1H), 4,62 (dd, *J* = 3,3Hz, *J* = 5,5Hz, 1H), 4,39 (t, *J* = 5,7Hz, 1H), 3,43-3,63 (m, 4H), 2,61-2,70 (m, 1H), 2,21-2,29 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,10 (s, 6H).

Bước 7: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (294 mg, 1,049 mmol) trong khí quyển agon vào dung dịch khuấy chứa ((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (150 mg, 0,350 mmol) trong axetonitril khô (15 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 30°C trong 2 giờ. Hỗn hợp được lọc, rửa bằng CHCl₃ (3 x 15 mL). Phần lọc được thu gom và sau đó cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 427,30 [M+H]⁺.

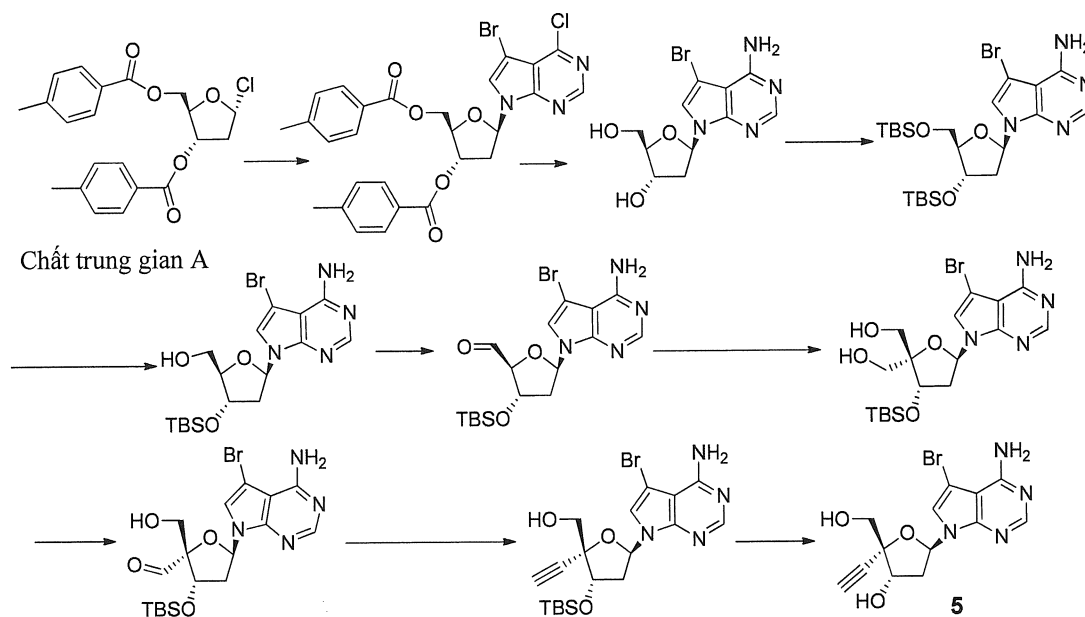
Bước 8: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (200 mg, 0,468 mmol) được hòa tan trong MeOH khan (9 mL) sau đó bổ sung kali carbonat (162 mg, 1,171 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển agon. Thêm nhỏ giọt dung dịch chứa dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (180 mg, 0,937 mmol) trong MeOH (1 mL) kèm khuấy trong 1 phút vào huyền phù này. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 30°C và khuấy trong 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Phân tách phần cặn giữa etyl axetat (30 mL) và nước (10 mL). Thu gom lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối (2 x 10 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong chân không. Sau đó tinh chế phần cặn bằng TLC điều chế (MeOH/DCM = 1/15) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 423,60 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 7,55 (br, 2H), 7,34 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,38 (t, *J* = 6,4Hz, 1H), 5,32 (t, *J* = 6,0Hz, 1H), 4,67 (t, *J* = 6,0Hz, 1H), 3,58-3,61 (m, 1H), 3,48-3,52 (m, 1H), 3,47 (s, 1H), 2,60-2,63 (m, 1H), 2,31-2,35 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (d, *J* = 3,6Hz, 6H).

Bước 9: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm nhỏ giọt dung dịch TBAF THF (1M, 0,28 mL, 0,284 mmol) kèm khuấy ở nhiệt độ môi trường vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (60 mg, 0,142 mmol) trong THF (1 mL). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ. Hỗn hợp được cô đặc trong chân không. Sau đó tinh chế phân cận bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, SunFire Prep C18 OBD Column, 5 μ m, 19*150 mm; pha động, nước (có 10 mmol amoni bicarbonat) và axetonitril (8% axetonitril lên đến 40% trong 6 phút, lên đến 95% trong 1,5 phút, giảm xuống 5% trong 1 phút); Máy dò, uv 254&220 nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất 4 là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 309,00 $[M+H]^+$, 1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,54 (br, 2H), 7,33 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,60 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,41 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 5,52-5,53 (m, 1H), 5,26 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,47-4,48 (m, 1H), 3,61 (dd, $J = 5,2$ Hz, $J = 11,6$ Hz, 1H), 3,53 (dd, $J = 6,2$ Hz, $J = 11,8$ Hz, 1H), 3,48 (s, 1H), 2,41-2,50 (m, 1H), 2,32-2,38 (m, 1H)

Ví dụ 5: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-bromo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (5)



Bước 1: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*S*)-5-(5-bromo-4-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm natri hydrua (0,479 g, 11,98 mmol) vào dung dịch khuấy chứa 5-bromo-4-clo-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin (2,32 g, 9,98 mmol, quá trình tổng hợp được mô tả trong Ví dụ 3, bước 1) trong axetonitril (30 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút ở nhiệt độ 0°C, và sau đó thêm (2R,3S,5R)-5-clo-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (4,27 g, 10,98 mmol). Sau khi khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, hỗn hợp được pha loãng bằng 200 mL etyl axetat, rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (60 mL) và natri clorua bão hòa trong nước (60 mL), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel với ete dầu mỏ/etyl axetat (1 : 2) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,65 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,96 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,84 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H), 7,24-7,39 (m, 4H), 6,76-6,79 (m, 1H), 5,74-5,76 (m, 1H), 4,51-4,68 (m, 3H), 3,05-3,15 (m, 1H), 2,74-2,79 (m, 1H), 2,37 (d, *J* = 1,8 Hz, 6H).

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm (2R,3S,5R)-5-(5-bromo-4-clo-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (4,50 g, 7,69 mmol) vào *i*-PrOH bão hòa trong NH₃ (15 mL) ở nhiệt độ -60°C. Khuấy hỗn hợp thu được ở 80°C trong 12 giờ, và sau đó làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và làm bay hơi trong chân không tạo ra (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (4,2 g, 7,43 mmol) là chất rắn. Hòa tan hợp chất thô này trong 30 mL MeOH, và sau đó thêm natri metanolat (14,86 mL, 14,86 mmol). Sau khi khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, dừng phản ứng bằng axit axetic (0,1 mL) và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel bằng ete dầu mỏ/etyl axetat (1:2) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO) δ 8,12 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 6,78 (s, 2H), 6,48-6,51 (m, 1H), 5,25 (s, 1H), 5,01 (s, 1H), 4,32 (s, 1H), 3,81 (s, 1H), 3,17 (s, 1H), 2,35-2,50 (m, 1H), 2,12-2,19 (m, 1H).

Bước 3: Tổng hợp 5-bromo-7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin

Thêm tert-butyldimethylsilylan (1,786 g, 11,85 mmol) vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (1,3 g, 3,95 mmol), 1H-imidazol (1,076 g, 15,80 mmol) trong DMF (8 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ, và sau đó pha loãng bằng 400 mL etyl axetat, rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (80 mL) và natri clorua bão hòa trong nước (80 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel với etyl axetat/ete dầu mỏ (1:4) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ 8,10 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 6,79 (s, 2H), 6,48-6,53 (m, 1H), 4,50 (s, 1H), 3,62-3,76 (m, 3H), 2,43-2,50 (m, 1H), 2,17-2,16 (m, 1H), 0,88 (d, $J = 2,7$ Hz, 18H), 0,10 (s, 6H), 0,05 (s, 6H).

Bước 4: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)-5-bromo-7-((2R,4S,5R)-4-((tertbutyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tertbutyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin

5-bromo-7-((2R,4S,5R)-4-((tertbutyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tertbutyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin (1,55 g, 2,78 mmol) được hòa tan trong THF (4 mL) và sau đó xử lý bằng dung dịch đã được làm lạnh trước chứa axit trifloaxetic/nước (thể tích/thể tích = 1/1, 4 mL) nhỏ giọt kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ, hỗn hợp được bay hơi đồng thời với toluen ở nhiệt độ thấp hơn 25°C tạo ra sirô màu hồng. Phần cặn được cho lên cột silica gel, rửa giải bằng etyl axetat/diclorometan (1/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO) δ 8,19 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 7,28 (s, 2H), 6,50 (q, $J = 6,0$ Hz, 2H), 4,51 (q, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,81 (s, 1H), 3,47-3,57 (m, 2H), 2,49-2,58 (m, 1H), 2,17-2,22 (m, 1H), 0,85 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Bước 5: Tổng hợp (2R,3S)-2-(((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-5-metoxi-2-phenyltetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (839 mg, 3,00 mmol) vào dung dịch chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (443 mg, 0,999 mmol) trong axetonitril (45 mL). Khuấy dung dịch thu được ở 80°C trong 2 giờ, sau đó làm lạnh xuống 0°C, lọc và cô đặc trong áp suất giảm. Thu được hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm: MS(ES, m/z): 441,08[M+H]⁺.

Bước 6: Tổng hợp ((2S,4R)-4-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)cyclopentan-1,1-diyl)dimetanol

Thêm natri hydroxit (4,03 mL, 8,07 mmol) vào dung dịch khuấy chứa (2S,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (445 mg, 1,008 mmol) và formaldehyt (1009 mg, 10,08 mmol) trong dioxan (6 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, và sau đó pha loãng bằng 150 mL etyl axetat, rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (30 mL) và natri clorua bão hòa trong nước (30 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và cô đặc trong chân không tạo ra chất rắn. Thêm natri borohydrua (109 mg, 2,88 mmol) vào dung dịch chứa chất rắn đã nêu trong etanol (15 mL) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, sau đó dừng phản ứng bằng axit axetic (0,1 mL) và cô đặc trong áp suất giảm. Sản phẩm thô được đưa vào sắc ký cột silica gel bằng ete dầu mỏ/etyl axetat (1:2) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. MS(ES, m/z): 473,43[M+H]⁺.

Bước 7: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (302 mg, 1,077 mmol) vào dung dịch chứa ((3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (170 mg, 0,359 mmol) trong axetonitril (40 mL). Sau khi khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong 12 giờ, làm lạnh dung dịch xuống 0°C và sau đó cô đặc trong áp suất giảm để tạo

ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS(ES, m/z): 471,43[M+H]⁺.

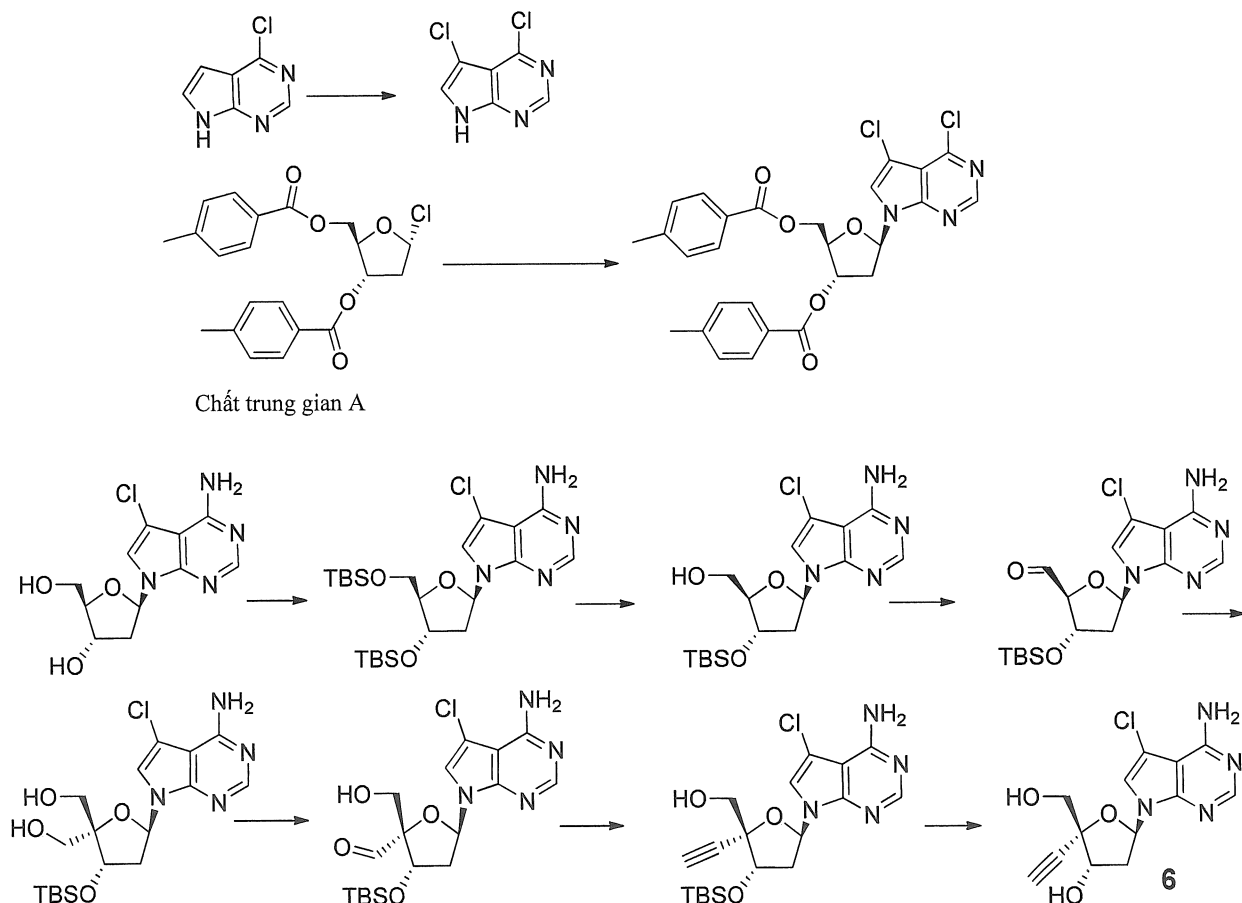
Bước 8: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (139 mg, 0,721 mmol) vào dung dịch chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (170 mg, 0,361 mmol), kali carbonat (125 mg, 0,902 mmol) trong metanol (8 mL) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ, sau đó lọc và cô đặc trong áp suất giảm. Hợp chất thô được tinh chế bằng TLC điều chế bằng ete dầu mỏ\etyl axetat (1:2) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD, ppm) δ 8,00 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 6,44-6,47 (m, 1H), 4,62-4,66 (m, 1H), 3,61-3,71 (m, 2H), 2,90 (s, 1H), 2,25-2,55 (m, 2H), 0,88 (s, 9H), 0,57 (d, J = 3 Hz, 6H).

Bước 9: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-bromo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (40 mg, 0,086 mmol) và TBAF (0,086 mL, 0,086 mmol) được hòa tan trong THF (1 mL). Khuấy dung dịch thu được trong 2 giờ ở 30°C, sau đó làm bay hơi và tinh chế theo điều kiện sau: Cột: X Bridge C18, 19*150 mm, 5 μm; Pha động A:Nước/0,05% TFA, Pha động B: ACN; Lưu lượng: 20 mL/phút; Gradient: 30%B đến 70% B trong 10 phút; 254nm. Thu được hợp chất **5** là chất rắn: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO, ppm) δ 8,11 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 6,52 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 4,48 (t, J = 6,6 Hz, 1H), 3,53-3,64 (m, 2H), 3,44 (s, 1H), 2,33-2,52 (m, 2H); MS (ES, m/z): 353,17 [M+H]⁺.

Ví dụ 6: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (6)



Bước 1: Tổng hợp 4,5-diclo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin

Thêm NCS (N-closuxinimit) (4,35 g, 32,6 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào hỗn hợp chứa 4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (2,5 g, 16,28 mmol) trong DCM khô (100 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 40°C trong khí quyển argon. Khi 4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin phản ứng hết, hỗn hợp được lọc trực tiếp mà không làm mát. Thu gom chất rắn, rửa bằng DCM (20 mL), làm khô trong chân không tạo ra 4,5-diclo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 188,01 $[M+H]^+$, 1H -NMR: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 12,90 (br, 1H), 8,65 (s, 1H), 7,93 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H).

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4,5-diclo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm từng phần 4,5-diclo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (2,3 g, 12,23 mmol) vào huyền phù chứa NaH (60% phân tán trong dầu khoáng, 0,538 g, 13,46 mmol) trong ACN khan (100 mL) trong khí quyển argon trong bình đáy tròn ba cổ dung

tích 250 mL, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút. Hỗn hợp được trở nên trong và sau đó thêm từng phần (2*R*,3*S*)-5-clo-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl-4-methylbenzoat (**chất trung gian A**, 4,76 g, 12,23 mmol) vào kèm khuấy trong 5 phút. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 50°C và khuấy trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 10%-40% ethyl axetat trong ete dầu mỏ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 540,39 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,64 (s, 1H), 7,91-7,99 (m, 4H), 7,39 (s, 1H), 7,25-7,30 (m, 4H), 6,80 (t, *J* = 6,9Hz, 1H), 5,75 (dd, *J* = 3,6Hz, *J* = 6,0Hz, 1H), 4,60-4,78 (m, 3H), 2,76-2,80 (m, 2H), 2,44 (d, *J* = 4,8Hz, 6H).

Bước 3: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol

Đặt (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4,5-diclo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (3,6 g, 6,66 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 150 mL. Làm lạnh môi trường đến -40°C. Thêm isopropanolic amoniac (isopropanol/amoniac lỏng = 1/3, thể tích/thể tích, 120 mL). Làm kín môi trường, gia nhiệt đến 90°C và khuấy trong 16 giờ. TLC chỉ ra rằng nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết và sản phẩm đích quan sát được là sản phẩm chính. Cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 2%-10% metanol trong diclometan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 284,70 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,09 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 6,87 (br, 2H), 6,51 (dd, *J* = 6,3Hz, *J* = 7,8Hz, 1H), 5,25 (d, *J* = 4,2Hz, 1H), 5,03 (t, *J* = 5,6Hz, 1H), 4,30-4,34 (m, 1H), 3,81 (dd, *J* = 4,3Hz, *J* = 6,8Hz, 1H), 3,46-3,60 (m, 2H), 2,40-2,48 (m, 1H), 2,13-2,20 (m, 1H).

Bước 4. Tổng hợp 7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin

Thêm lần lượt 1*H*-imidazol (1,423 g, 20,90 mmol) và TBDMS-Cl (2,70 g, 17,91 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa

(2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-

(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (1,7 g, 5,97 mmol) trong DMF (10 mL). Làm ấm hỗn hợp thu được đến nhiệt độ 25°C và khuấy trong 2 giờ. Dung dịch thu được được pha loãng bằng ethyl axetat (100 mL), rửa bằng nước (100 mL). Lớp chứa nước được chiết lại bằng ethyl axetat (2x100 mL). Lớp hữu cơ được thu gom, lần lượt rửa bằng NaHCO₃ bão hòa trong nước (2x100 mL) và nước muối (2x100 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 2%-10% ethyl axetat trong ete dầu mỏ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 513,22 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,10 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 6,85 (br, 2H), 6,51 (t, *J* = 6,8Hz, 1H), 4,48-4,52 (m, 1H), 3,62-3,80 (m, 3H), 2,55-2,60 (m, 1H), 2,17-2,24 (m, 1H), 0,89 (s, 18H), 0,08 (d, *J* = 13,6Hz, 12H).

Bước 5. Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt dung dịch đã làm lạnh trước chứa axit trifloaxetic/nước (1/1, thể tích/thể tích, 24 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4-amin (2,42 g, 4,72 mmol) trong THF (48 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 4 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Dung dịch thu được được bay hơi đồng thời với toluen (3x100 mL) trong khi duy trì nhiệt độ bên trong thấp hơn 25°C. Tinh chế nguyên liệu thô thu được bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 2%-10% metanol trong diclometan để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 398,96 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,28 (s, 1H), 7,86 (br, 2H), 7,78 (s, 1H), 6,52 (t, *J* = 6,8Hz, 1H), 4,53 (t, *J* = 2,6Hz, 1H), 3,83 (dd, *J* = 4,5Hz, *J* = 6,9Hz, 1H), 3,48-3,60 (m, 2H), 2,50-2,58 (m, 1H), 2,18-2,25 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 6. Tổng hợp (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert* butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm axit 2-iodoxybenzoic (632 mg, 2,256 mmol) trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-

d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (300 mg, 0,752 mmol) trong ACN khan (30 mL). Hỗn hợp được gia nhiệt đến 85°C và khuấy trong 20 phút. Lọc chất rắn. Cô đặc phần lọc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 396,94 $[M+H]^+$.

Bước 7. Tổng hợp ((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm dung dịch formaldehyt (5 mL), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit (2*N*, 5 mL, 10,00 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy) tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (434 mg, 0,820 mmol) trong 1,4-dioxan (25 mL) trong bình đáy tròn dung tích 100 mL. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy trong 3 giờ. Khi nucleosit-aldehyt ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH. Hỗn hợp được pha loãng bằng ethyl axetat (60 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2x20 mL), NaHCO₃ bão hòa trong nước (2x20 mL) và nước muối (2x20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOH khan (30 mL) và thêm từng phần natri tetrahydroborat (62,0 mg, 1,640 mmol) vào ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển argon. Sau khi khuấy trong 16 giờ ở 25°C, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH. Cô đặc hỗn hợp trong chân không. Tạo huyền phù phần cặn trong CHCl₃ (40 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2x15 mL) và nước muối (2x15 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel với diclometan/metanol (30/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 428,99 $[M+H]^+$. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,10 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 6,86 (br, 2H), 6,54 (t, *J* = 6,9Hz, 1H), 5,01 (t, *J* = 5,3Hz, 1H), 4,59 (dd, *J* = 3,0Hz, *J* = 5,4Hz, 1H), 4,40 (t, *J* = 5,6Hz, 1H), 3,42-3,61 (m, 4H), 2,60-2,69 (m, 1H), 2,18-2,25 (m, 1H), 0,89 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Bước 8. Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (166 mg, 0,387 mmol) được hòa tan trong ACN khan (20 mL) trong khí quyển argon và sau đó thêm IBX (325 mg, 1,161 mmol) vào. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 30°C và khuấy trong 20 giờ. Lọc chất rắn. Cô đặc phần lọc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 426,97 [M+H]⁺.

Bước 9: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm K₂CO₃ (129 mg, 0,937 mmol) sau đó bổ sung nhỏ giọt dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (144 mg, 0,749 mmol) ở nhiệt độ 0°C kèm khuấy trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (160 mg, 0,375 mmol) trong MeOH khô (8 mL). Hỗn hợp thu được được làm ấm từ từ đến 25°C và khuấy trong 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng 30%-50% etyl axetat trong ete dầu mỏ để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 422,98 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,10 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 6,90 (br, 2H), 6,52 (t, *J* = 6,6Hz, 1H), 5,42-5,46 (m, 1H), 4,64 (t, *J* = 5,7Hz, 1H), 3,59-3,67 (m, 1H), 3,50-3,54 (m, 1H), 3,48 (s, 1H), 2,59-2,64 (m, 1H), 2,27-2,31 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,12 (s, 6H).

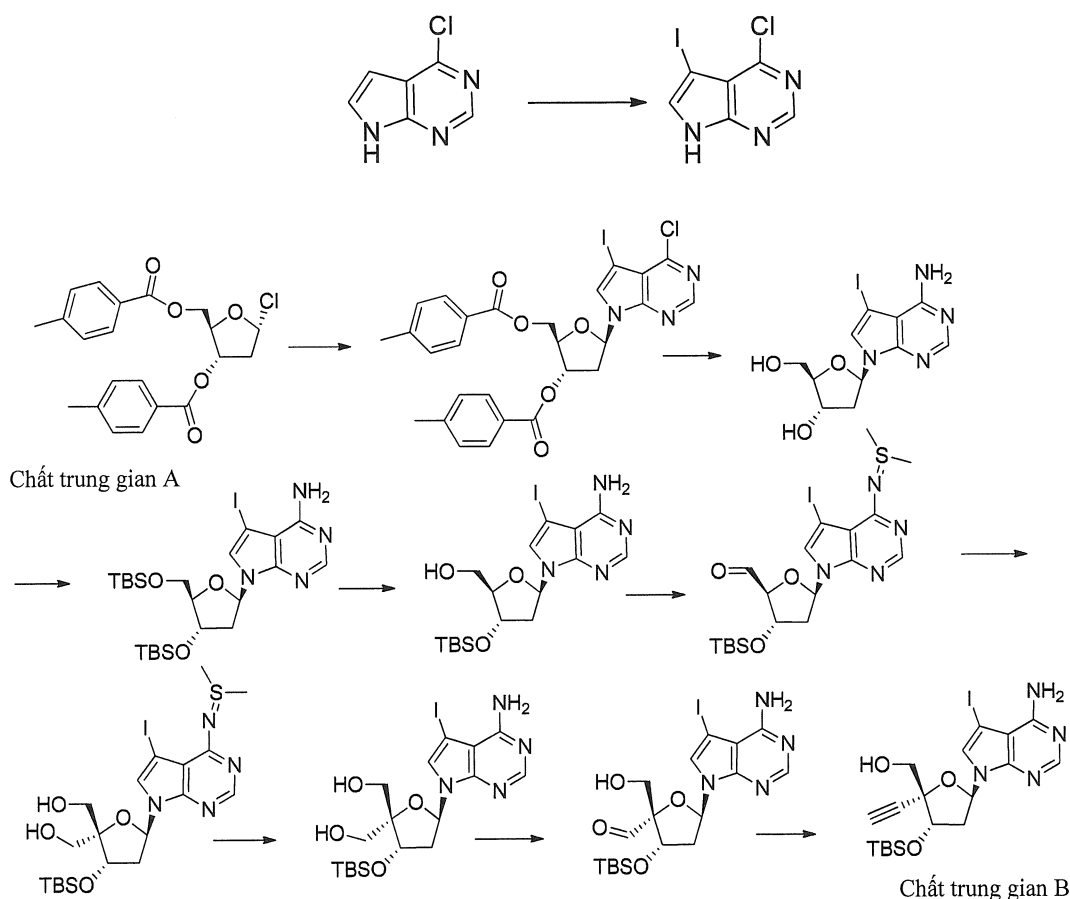
Bước 10: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (6)

Thêm nhỏ giọt dung dịch TBAF (1,0M, 151 μl, 0,151 mmol) kèm khuấy trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (64 mg, 0,151 mmol) trong THF (3 mL).

Khuấy dung dịch thu được trong 1 giờ ở 25°C. Cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không. Phần cặn được cho lên cột silica gel và rửa giải bằng DCM/MeOH (20/1 đến 5/1) để tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế tiếp sản phẩm thô bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, SunFire Prep C18 OBD (Optimum Bed Density) Column, 5 μ m, 19*150 mm; pha động, nước (có 10 mmol amoni bicarbonat) và axetonitril (10% axetonitril lên đến 45% trong 5 phút, lên đến 95% trong 1,5 phút, giảm xuống 5% trong 1 phút); Máy dò, uv 254&220 nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất 6 là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 308,72 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,10 (s, 1H), 7,54 (s, 1H), 6,88 (br, 2H), 6,52 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 5,39-5,52 (m, 2H), 4,48 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,59 (dd, $J = 12,0$ Hz, $J = 28,8$ Hz, 2H), 3,48 (s, 1H), 2,47-2,54 (m, 1H), 2,31-2,37 (m, 1H).

Chất trung gian B

Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (chất trung gian B)



Bước 1: Tổng hợp 4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin

Thêm NIS (N-iodosuccinimit) (7,33 g, 32,6 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa 4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (5 g, 32,6 mmol) trong DMF (60 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 15 giờ ở 25°C trong khí quyển agon trong bóng tối. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước lạnh và hỗn hợp được lọc, chất rắn được rửa bằng nước lạnh (3 x 50 mL) và làm khô ở nhiệt độ 25°C để tạo ra 4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 279,9 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, CD_3SOCD_3 , ppm): 12,96 (brs, 1H), 8,62 (s, 1H), 7,95 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H)

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm (2R,3S,5R)-5-clo-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (7,47g, 19,21 mmol) ở 20°C vào hỗn hợp chứa natri hydrua (0,845 g, 21,13 mmol) và 4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (5,37 g, 19,21 mmol) trong axetonitril (150 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 2 giờ ở 50°C trong khí quyển agon và sau đó dung môi được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel 100-200, rửa giải bằng EA/PE (1/5) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 613,9 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, $CDCl_3$, ppm): 8,63 (s, 1H), 8,00 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,95 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,60 (s, 1H), 7,32-7,25 (m, 4H), 6,82 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 5,77 (dd, $J = 6,4$ Hz, 4 Hz, 1H), 4,80-4,76 (m, 1H), 4,71-4,62 (m, 2H), 2,46 (s, 6H), 1,66-1,31 (m, 2H)

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Thêm (2R,3S,5R)-5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (12 g, 18.99 mmol) vào hỗn hợp khuấy, đã làm lạnh đến nhiệt độ -50°C chứa amoniac (120 mL, 240 mmol) trong 2-propanol (30 mL) và hỗn hợp được khuấy ở 90°C trong 48 giờ. Dung môi được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột on silica gel 100-200, rửa giải bằng DCM/MeOH (10/1) để tạo ra hợp chất

nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 377,0 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (300MHz, CD_3SOCD_3 , ppm): 8,10 (s, 1H), 7,81 (s, 1H), 6,79 (brs, 2H), 6,79-6,51 (dd, $J = 8,1$ Hz, 3 Hz, 1H), 5,27 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 5,05 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,33 (brs, 1H), 3,81 (brs, 1H), 3,60-3,46 (m, 2H), 2,51-2,44 (m, 1H), 2,19-2,10 (m, 1H)

Bước 4: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin

Thêm TBS-Cl (44,7 mL, 44,7 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (6 g, 15,95 mmol) và imidazol (4,34 g, 63,8 mmol) trong DMF (30 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 2 giờ ở nhiệt độ 23°C trong khí quyển agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng nước (150 mL) và chiết bằng ethyl axetat (3 x 200 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (5 x 200 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng EA/PE (3:7) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 605,3 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, CD_3SOCD_3 , ppm): 8,10 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 6,67 (brs.2H), 6,49 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,50 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,88-3,81 (m, 1H), 3,74 (dd, $J = 10,8$ Hz, 5,6 Hz, 1H), 3,65 (dd, $J = 10,8$ Hz, 4 Hz, 1H), 2,50-2,49 (m, 1H), 2,25-2,14 (m, 1H), 0,89 (s, 18H), 0,10-0,07 (m, 12H).

Bước 5: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm dung dịch chứa TFA (16 mL, 208 mmol) trong nước (16 mL) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin (6,6 g, 10,92 mmol) trong THF (66 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 4 giờ ở nhiệt độ 0°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Làm bay hơi dung môi trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong DCM/MeOH (10/1, 150 mL) và điều chỉnh giá trị độ pH của dung dịch đến 7

bằng natri hydro carbonat (5,0 g), lọc và làm bay hơi dung môi trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột trên silica gel 100-200, rửa giải bằng 40 - 50% EA trong PE để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 491,1 $[M+H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, CD_3SOCD_3 , ppm): 8,14 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 6,88 (brs, 2H), 6,47 (dd, $J = 8,4$ Hz, 6 Hz, 1H), 4,51 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,80-3,79 (m, 1H), 3,54-3,50 (m, 2H), 2,57-2,53 (m, 1H), 2,18-2,13 (m, 1H), 0,89 (s, 9H), 0,10 (s, 6H).

Bước 6: Tổng hợp (2*S*,3*S*,5*R*)-3-[(*tert*-butyldimetylsilyl)oxy]-5-{4-[(dimetyl-Si{4}-sulfanyliden)amino]-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl}oxolan-2-carbaldehyt

Thêm pyridin (0,850 mL, 10,51 mmol) và TFA (0,515 mL, 6,68 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (4,682 g, 9,55 mmol) và DCC (N,N-dixyclohexylcarbodiimit) (6,1 g, 29,6 mmol) trong DMSO (40 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 14 giờ ở nhiệt độ 20°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng nước (150 mL) và chiết bằng etyl axetat (3 x 100 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (120 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 567,0 $[M+H_2O+H]^+$

Bước 7: Tổng hợp hỗn hợp chứa [(3*S*,5*R*)-3-[(*tert*-butyldimetylsilyl)oxy]-5-{4-[(dimetyl-Si{4}-sulfanyliden)amino]-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl}-2-(hydroxymetyl)oxolan-2-yl]metanol

Thêm 2M natri hydroxit (0,5 mL, 1,000 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa (2*S*,3*S*,5*R*)-3-[(*tert*-butyldimetylsilyl)oxy]-5-{4-[(dimetyl-Si{4}-sulfanyliden)amino]-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl}oxolan-2-carbaldehyt (80 mg, 0,146 mmol) và formaldehyt (0,5 mL, 0,146 mmol) trong 1,4-dioxan (4 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 4 giờ ở nhiệt độ 20°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Dừng hỗn hợp phản ứng bằng axit axetic (0,2 mL) và chiết bằng etyl axetat (3 x 40 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng $NaHCO_3$ (30 mL) bão hòa sau đó bằng nước muối (40 mL), làm khô bằng

natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được hòa tan trong etanol (4 mL). Thêm natri tetrahydroborat (20 mg, 0,529 mmol) trong agon vào hỗn hợp này. Khuấy hỗn hợp này trong 36 giờ ở nhiệt độ 20°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Dừng hỗn hợp phản ứng bằng axit axetic (0,05 mL) và chiết bằng CHCl₃ (3 x 40 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng NaHCO₃ bão hòa (30 mL) sau đó bằng nước muối (40 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, tinh chế bằng TLC, rửa giải bằng DCM/MeOH (12 : 1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 581,1 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, CD₃SOCD₃, ppm): 8,09 (s, 0,6H), 7,97 (s, 0,4H), 7,69 (s, 0,6H), 7,46 (s, 0,4H), 6,66 (brs, 0,8H), 6,53-6,42 (m, 1H), 5,10 (t, $J = 5,4$ Hz, 0,4H), 5,02 (t, $J = 5,4$ Hz, 0,6H), 4,58 (brs, 1H), 4,42-4,37 (m, 1H), 3,58-3,49 (m, 4H), 2,78 (d, $J = 2,7$ Hz, 3H), 2,68-2,61 (m, 1H), 2,23-2,16 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,10 (s, 6H).

Bước 8: Tổng hợp ((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm TFA (2 mL, 26,0 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa [(3*S*,5*R*)-3-[(*tert*-butyldimetylsilyl)oxy]-5-{4-[(dimetyl-Si{4}-sulfanyliden)amino]-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)oxolan-2-yl]metanol (230 mg, 0,396 mmol) trong DCM (2 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 3 giờ ở nhiệt độ 20°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng DCM/MeOH (95 : 5) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 521,2 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, CD₃SOCD₃, ppm): 8,12 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,10 (brs, 2H), 6,43 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 4,50 (dd, $J = 6$ Hz, 3,2 Hz, 1H), 3,50-3,37 (m, 4H), 2,59-2,52 (m, 1H), 2,17-2,11 (m, 1H), 0,80 (s, 9H), 0,00 (s, 6H).

Bước 9: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

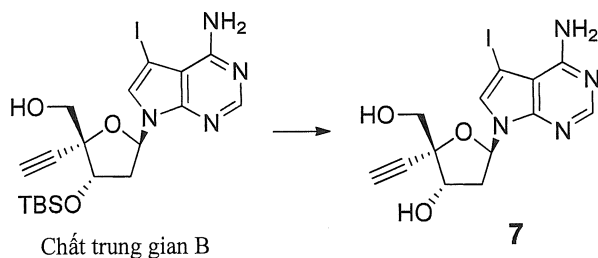
Thêm IBX (1550 mg, 5,53 mmol) ở nhiệt độ 18°C vào dung dịch chứa ((3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-

butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (960 mg, 1,845 mmol) trong axetonitril (25 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 18 giờ ở nhiệt độ 18°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Lọc hỗn hợp phản ứng. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, tạo ra sản phẩm thô là chất rắn. Sản phẩm thô này được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 519,1 $[M + H]^+$

Bước 10: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (chất trung gian B)

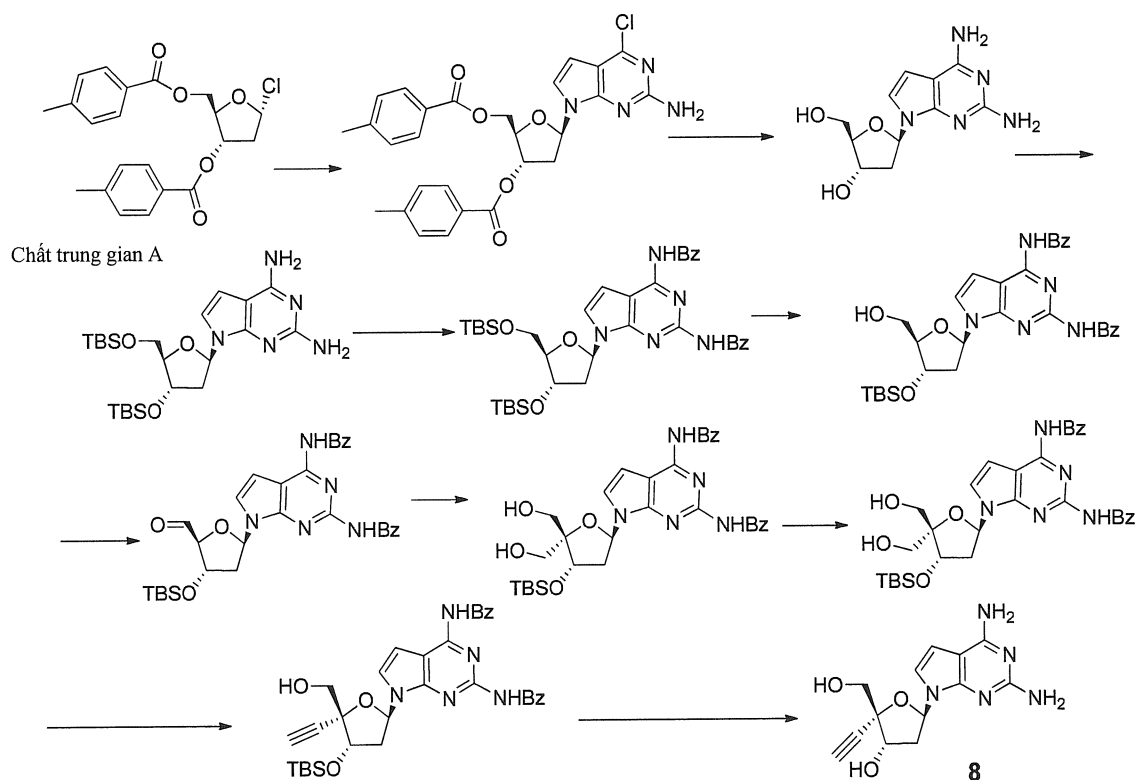
Thêm dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (141 mg, 0,733 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (190 mg, 0,366 mmol) và K_2CO_3 (127 mg, 0,916 mmol) trong MeOH (10 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 18°C trong agon. Màu của hỗn hợp chuyển từ vàng sang xanh lam. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS/TLC. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng DCM/MeOH (97 : 3) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 515,1 $[M + H]^+$. 1H -NMR: (400MHz, $CDCl_3$, ppm): 8,22 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,25 (dd, $J = 8,8$ Hz, 5,6 Hz, 1H), 5,84 (brs, 2H), 4,71 (dd, $J = 5,6$ Hz, 2 Hz, 1H), 4,01 (d, $J = 12,4$ Hz, 1H), 3,80 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 3,17-3,10 (m, 1H), 2,59 (s, 1H), 2,27-2,21 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (s, 6H)

Ví dụ 7: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-iodo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (7)



Thêm TBAF (0,05 mL, 0,050 mmol) ở nhiệt độ 18°C vào dung dịch chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (**chất trung gian B**, 20 mg, 0,039 mmol) trong tetrahydrofuran (3 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 0,5 giờ ở nhiệt độ 18°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (7 : 1), để tạo ra sản phẩm thô mà được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: Dụng cụ, Water-1 (26); cột: Xbridge RP18, 5 μ m, 19 x 150 mm; pha động: nước (0,05% Amoni bicarbonat + Cacbon dioxit) và axetonitril (10% axetonitril lên đến 40% trong 8 phút, giữ ở 100% trong 2 phút, giảm xuống 10% trong 2 phút); Máy dò, UV 220 và 254nm. Gom các phân đoạn thu được và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất 7 là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 401,0[M+H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, CD₃OD): δ 8,10 (s, 1H), 7,63 (s, 1H), 6,68 (s, 2H), 6,49 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 5,52 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,48 (q, J = 6,0 Hz, 1H), 3,64-3,60 (m, 1H), 3,57-3,52 (m, 1H), 3,48 (s, 1H), 2,53-2,47 (m, 1H), 2,35-2,29 (m, 1H).

Ví dụ 8: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(2,4-diamino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (8)



Bước 1: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(2-amino-4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Khuấy hỗn hợp chứa 4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2-amin (2,0 g, 11,86 mmol) và NaH (0,524 g, 13,09 mmol) trong axetonitril (60 mL) trong agon trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong agon. Sau đó hỗn hợp được thêm **chất trung gian A** (4,628 g, 11,90 mmol), khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng sau đó ở nhiệt độ 50°C trong 2 giờ. Quan sát quá trình này bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (92 : 8) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục.

LC-MS: (ES, m/z): 521,1[M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,93(dd, J = 8,1 Hz, 4H), 7,68-7,21(m, 5H), 6,78(s, 2H), 6,57(q, J = 5,85 Hz, 1H), 6,39(d, J = 3,9 Hz, 1H), 5,69(d, J = 5,7 Hz, 1H), 4,63-4,43(m, 3H), 3,04-2,94(m, 1H), 2,66(dd, J = 4,95 Hz, 1H), 2,41(d, J = 7,8 Hz, 6H), 1,99(s, 1H).

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(2,4-diamino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Khuấy hỗn hợp chứa (2R,3S,5R)-5-(2-amino-4-clo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat (1,0 g, 0,960 mmol) và amoniac (50 mL, 0,960 mmol) trong 2-propanol (5 mL) trong 20 giờ ở nhiệt độ 100°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường, và cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (82 : 18) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 266,0[M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, DMSO-*d*₆): δ 6,93(d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,76(s, 2H), 6,40(d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,32(q, J = 5,85 Hz, 1H), 5,70(s, 2H), 5,20(d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,29(d, J = 2,4 Hz, 1H), 3,78-3,74(m, 1H), 3,55-3,41(m, 2H), 3,16(s, 1H), 2,49-2,34(m, 1H), 2,08-2,01(m, 1H).

Bước 3: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diamin

Thêm imidazol (1,784 g, 26,2 mmol) vào hỗn hợp chứa (2R,3S,5R)-5-(2,4-diamino-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (1,39 g, 5,24 mmol) và TBDMS-Cl (2,369 g, 15,72 mmol) trong DMF (6 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 20°C trong khí quyển agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS/TLC. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (92 : 8) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: (ES, *m/z*): 494,4 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃): δ 7,58 (s, 2H), 7,04 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 6,54 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 6,52 (s, 2H), 6,32 (dd, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,45 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,78 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 3,68 (t, *J* = 5,5 Hz, 2H), 3,17 (d, *J* = 3,0 Hz, 1H), 2,49-2,42 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 1H), 0,89 (s, 18H), 0,10-0,09 (m, 12H).

Bước 4: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

Thêm benzoyl clorua (158 mg, 1,124 mmol) vào hỗn hợp chứa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2,4-diamin (138 mg, 0,279 mmol) và DMAP (5 mg, 0,041 mmol) trong pyridin (5 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 4 giờ ở nhiệt độ 0°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS/TLC. Dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50 mL) và chiết bằng ethyl axetat (3 x 30 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (40 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng PE/EA (2 : 1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 702,3[M+H]⁺, ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃): δ 11,11 (s, 1H), 10,80 (s, 1H), 8,09 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,66-7,43 (m, 8H), 6,62-6,54 (m, 2H), 4,56 (s, 1H), 3,84-3,64 (m, 4H), 2,81-2,72 (m, 1H), 2,26-2,22 (m, 1H), 0,90-0,83 (m, 18H), 0,11-0,01 (m, 12H).

Bước 5: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

Thêm dung dịch chứa TFA (0,5 mL, 6,49 mmol) trong nước (0,5 mL) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (110 mg, 0,157 mmol) trong THF (4 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 4 giờ ở nhiệt độ 0°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (95 : 5) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 588,6[M+H]⁺, ¹H-NMR: (300MHz, CDCl₃): δ 11,11 (s, 1H), 10,81 (s, 1H), 8,09 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,97 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,65-7,46 (m, 8H), 6,62-6,56 (m, 2H), 4,96 (t, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,58 (t, *J* = 2,7 Hz, 1H), 3,82-3,77 (m, 2H), 3,56-3,51 (m, 2H), 2,72-2,67 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 1H), 0,88 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Bước 6: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S,5S)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-formyltetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

Thêm IBX (42 mg, 0,150 mmol) vào hỗn hợp chứa N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (35 mg, 0,060 mmol) trong axetonitril (5 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 50 phút ở nhiệt độ 50°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, sản phẩm thô được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 618,3[M+CH₃OH]⁺

Bước 7: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5,5-bis(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

Thêm formaldehyt (1 mL, 0,060 mmol), NaOH (1mL, 2,000 mmol) vào dung dịch chứa N,N'-(7-((2R,4S,5S)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-

formyltetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (35 mg, 0,060 mmol) trong 1,4-dioxan (5 mL), khuấy hỗn hợp trong 4 giờ ở nhiệt độ 20°C, làm lạnh đến 0°C, dùng phản ứng bằng AcOH đến độ pH 6, thêm nước (40 mL) và chiết bằng ethyl axetat (3 x 40 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm, hòa tan phần cặn trong ethanol (5,00 mL), thêm NaBH₄ (5,65 mg, 0,149 mmol) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 20°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường, dùng phản ứng bằng AcOH đến độ pH 6, thêm nước (40 mL) và chiết bằng ethyl axetat (3 x 40 mL). Cô đặc lớp hữu cơ và tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (20 : 1) để thu được sản phẩm nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: (ES, *m/z*): 618,2 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 11,11 (s, 1H), 10,80 (s, 1H), 8,09 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,73 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,66-7,43 (m, 8H), 6,62-6,54 (m, 2H), 4,56 (s, 1H), 3,84-3,64 (m, 4H), 2,81-2,72 (m, 1H), 2,26-2,22 (m, 1H), 0,90-0,83 (m, 18H), 0,11- 0,01 (m, 12H).

Bước 8: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-formyl-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

Thêm IBX (40 mg, 0,143 mmol) ở nhiệt độ 20°C vào dung dịch chứa N,N'-(7-((2R,4S)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5,5-bis(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (30 mg, 0,049 mmol) trong axetonitril (10 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 3 giờ ở nhiệt độ 25°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường và lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô là chất rắn được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 616,2 [M+H]⁺

Bước 9: Tổng hợp N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-etylnyl-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

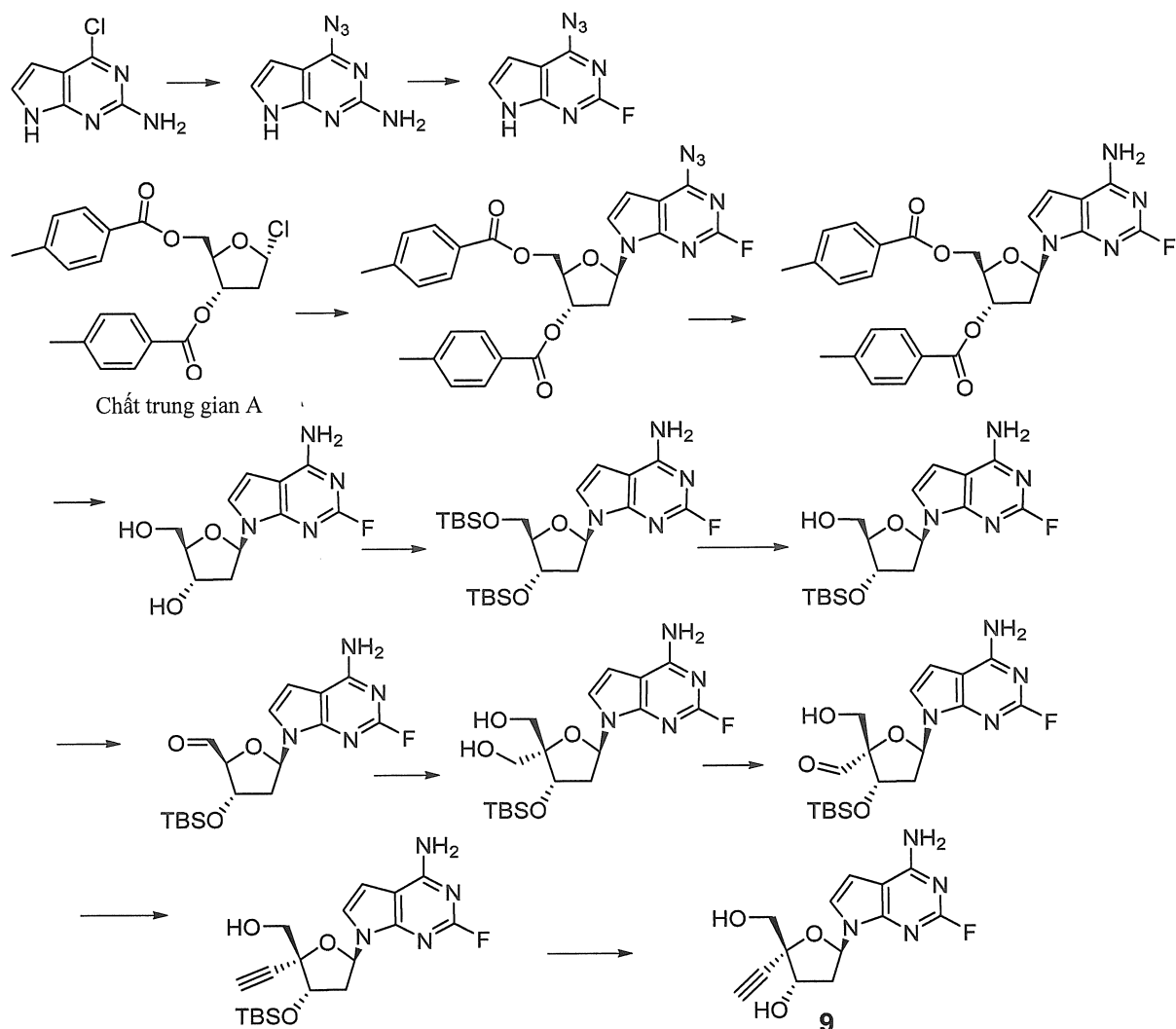
Thêm dung dịch chứa dimethyl (2-diazo-3-oxobutanoyl)phosphonat (50,0 mg, 0,227 mmol) trong MeOH (0,25 mL) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp chứa N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-etylnyl-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit

(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-formyl-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (70 mg, 0,114 mmol) và K₂CO₃ (39,3 mg, 0,284 mmol) trong MeOH (5 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 25°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng TLC, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (20 : 1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, *m/z*): 612,4[M+H]⁺

Bước 10: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(2,4-diamino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (8)

Thêm dung dịch chứa NaOCH₃ trong MeOH (0,065 mL, 0,065M) ở nhiệt độ 20°C vào dung dịch chứa N,N'-(7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-etylnyl-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2,4-diyl)dibenzamit (40 mg, 0,065 mmol) trong MeOH (4 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 48 giờ ở nhiệt độ 40°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường, và cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng TLC, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (20 : 1) để tạo ra chất trung gian thô (27 mg) là chất rắn mà được pha loãng trong THF (3 mL) trong agon. Thêm dung dịch chứa TBAF (1M, 0,040 mL, 0,04 mmol) ở nhiệt độ 20°C. Khuấy hỗn hợp thu được trong 0,5 giờ ở nhiệt độ 20°C trong agon. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS/TLC. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, phần cặn được tinh chế bằng TLC, rửa giải bằng CH₂Cl₂/MeOH (5 : 1) để tạo ra sản phẩm thô (15mg) sau đó được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: Dụng cụ, Waters-2767-Prep; Cột: Xbridge RP18, 5 um, 19 x 150 mm; pha động: nước (0,05% Amoni bicarbonat (cacbon dioxit) và axetonitril (5% axetonitril lên đến 40% trong 8 phút); Máy dò, UV 220 và 254 nm. Gom các phân đoạn thu được và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất **8** là chất rắn. LC-MS: (ES, *m/z*): 618,2 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, CDCl₃): δ 6,85 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,55 (s, 2H), 6,36 (d, *J* = 4,0 Hz, 2H), 5,56 (s, 2H), 5,48-5,43 (m, 2H), 4,42 (q, *J* = 5,6 Hz, 1H), 3,61-3,49 (m, 2H), 3,44 (s, 1H), 2,47-2,40 (m, 1H), 2,26-2,21 (m, 1H).

Ví dụ 9: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-fluoro-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (9)



Bước 1: Tổng hợp 4-azido-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-2-amin

Thêm dung dịch chứa natri azit (2,025 g, 31,1 mmol) trong nước (3,50 mL) vào dung dịch khuấy chứa 4-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-2-amin (3,5 g, 20,76 mmol) trong DMSO khan (35 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 100°C và khuấy qua đêm. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Làm nguội hỗn hợp thu được đến nhiệt độ môi trường. Thêm 250 g đá nghiền và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút. Tạo thành kết tủa. Thu gom kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng nước lạnh và làm khô bằng P₂O₅ trong chân không qua đêm tạo ra 4-azido-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-2-amin là chất rắn, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ¹H-

NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 11,91 (brs, 1H), 7,96 (brs, 2H), 7,13 (t, J = 3,0 Hz, 1H), 6,72 (dd, J = 2,0 Hz, J = 3,2 Hz, 1H). LC-MS: (ES, m/z): 176,00 [$M + H$] $^+$.

Bước 2: Tổng hợp 4-azido-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin

Đưa hydro florua-pyridin (70% HF trong 30% Py) (12 mL, 133 mmol) vào chai teflon trong khí quyển argon. Thêm 4-azido-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-2-amin (3,1 g, 17,70 mmol) vào. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường cho đến khi hỗn hợp trở thành dung dịch trong suốt, sau đó làm lạnh đến nhiệt độ -60°C , sau đó bổ sung nhỏ giọt tert-butyl nitrit (2,5 mL, 21,02 mmol) trong 10 phút. Khuấy hỗn hợp thu được trong khoảng nhiệt độ từ -60°C đến -40°C trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Rót hỗn hợp vào dung dịch NaHCO_3 chứa nước đã được làm lạnh (150 mL, bão hòa). Chiết sản phẩm thô bằng etyl axetat (100 mL $\times$ 3), rửa bằng nước muối (100 mL $\times$ 2), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra phần cặn. Sau đó tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (1/4) để tạo ra 4-azido-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d] là chất rắn. ^1H -NMR: (300 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 12,43 (brs, 1H), 7,48 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 6,50 (d, J = 3,6 Hz, 1H), F-NMR: (282 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -54,57 (s, 1F). LC-MS: (ES, m/z): 179,20 [$M + H$] $^+$.

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-azido-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-metylbenzoyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-metylbenzoat

Thêm từng phần 4-azido-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (1,1 g, 6,18 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào huyền phù được khuấy chứa natri hydrua 60% phân tán trong dầu khoáng (0,272 g, 6,79 mmol) trong DMF khan (20 mL) trong khí quyển argon trong bình đáy tròn hai cổ dung tích 50 mL và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ này trong 5 phút. **Chất trung gian A** (2,4 g, 6,17 mmol) được thêm vào kèm khuấy. Làm ấm hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 25°C và khuấy trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Hỗn hợp được pha loãng bằng etyl axetat (100 mL), rửa bằng nước (70 mL). Lớp chứa nước được chiết lại bằng etyl axetat (60 mL $\times$ 2). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (100 mL $\times$ 3), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc trong chân không. Sản phẩm thô được

tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (1/10) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ 8,00 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,95 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,32-7,23 (m, 4H), 6,74 (dd, $J = 6,4$ Hz, $J = 8,0$ Hz, 1H), 6,49 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,75-5,74 (m, 1H), 4,75-4,54 (m, 3H), 2,85-2,74 (m, 2H), 2,47-2,43 (m, 6H), F-NMR: (376 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ -52,26 (s, 1F, chất đồng phân β), -52,48 (s, 1F, chất đồng phân α). LC-MS: (ES, *m/z*): 531,42 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$.

Bước 4: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat

Thêm propan-1,3-dithiol (0,816 g, 7,54 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt triethylamin (0,763 g, 7,54 mmol) kèm khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ 25°C vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-azido-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (2,0 g, 3,77 mmol) trong hỗn hợp chứa MeOH (10 mL) và DCM (15 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong 30 phút. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không. Sau đó phân căn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (42% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục ở dạng bột. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ 8,00 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,97 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,33-7,26 (m, 4H), 7,12 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,72 (dd, $J = 6,2$ Hz, $J = 8,2$ Hz, 1H), 6,38 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 5,75-5,72 (m, 1H), 5,36 (brs, 2H), 4,73-4,57 (m, 3H), 2,79-2,74 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), F-NMR: (376 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ -52,97 (s, 1F, chất đồng phân β), -53,10 (s, 1F, chất đồng phân α). LC-MS: (ES, *m/z*): 505,63 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$.

Bước 5: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol

Đưa dung dịch natri methoxit MeOH (1,0M, 3,47 mL, 3,47 mmol) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(((4-methylbenzoyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-3-yl 4-methylbenzoat (1,75 g, 3,47 mmol) trong MeOH khan (10 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C đến 10°C trong 4 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC &

LCMS. Hỗn hợp thu được được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH, sau đó cô đặc trong áp suất giảm. Sau đó phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng diclometan/metanol (6% MeOH trong DCM) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,55 (brs, 2H), 7,31 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,34 (dd, $J = 6,4$ Hz, $J = 8,0$ Hz, 1H), 5,26 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,92 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 4,32 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 3,82-3,79 (m, 1H), 3,58-3,46 (m, 2H), 2,48-2,41 (m, 1H), 2,19-2,13 (m, 1H). F-NMR: (376 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -53,77 (s, 1F, chất đồng phân β), -53,98 (s, 1F, chất đồng phân α). LC-MS: (ES, m/z): 269,20 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Bước 6: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-2-flo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-amin

Đưa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (850 mg, 3,17 mmol) và imidazol (863 mg, 12,68 mmol) vào bình đáy tròn dung tích 50 mL trong khí quyển argon. Đưa DMF khan (10 mL), sau đó bổ sung từng phần TBS-Cl (1433 mg, 9,51 mmol) vào bình. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 2 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp được pha loãng bằng ethyl axetat (60 mL), lần lượt rửa bằng nước (30 mL $\times$ 2), NaHCO_3 chứa nước (bão hòa, 30 mL $\times$ 2) và nước muối (30 mL $\times$ 2). Lớp hữu cơ được thu gom và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô. Sau đó phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ethyl axetat/ete dầu mỏ (20% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,55 (brs, 2H), 7,26 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,60 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,31 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,55-4,50 (m, 1H), 3,80-3,61 (m, 4H), 2,64-2,55 (m, 1H), 2,23-2,17 (m, 1H), 0,90-0,87 (m, 18H), 0,11-0,06 (m, 12H). F-NMR: (282 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -53,64 (s, 1F, chất đồng phân β), -53,78 (s, 1F, chất đồng phân α). LC-MS: (ES, m/z): 497,58 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Bước 7: ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm nhỏ giọt TFA chứa nước (TFA/H₂O = 1/1, thể tích/thể tích, 12 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào dung dịch khuấy chứa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-2-fluoro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amin (1,4 g, 2,82 mmol) trong THF (24 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Sau khi khuấy trong 5 giờ, tất cả nucleosit được bảo vệ di-TBS ban đầu đã được tiêu thụ hết, thì hỗn hợp phản ứng được bay hơi đồng thời với toluen (50 mL × 3). Phần cặn được hòa tan lại trong hỗn hợp chứa MeOH/DCM (15% MeOH trong DCM, 50 mL). NaHCO₃ rắn (2 g) được thêm vào ở nhiệt độ 0°C, sau đó bổ sung nước (1 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút. Sau khi giá trị pH được điều chỉnh đến 7, chất rắn được lọc, phần lọc được thu gom và cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng etyl axetat/ete dầu mỏ (40% EA trong PE) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 7,57 (brs, 2H), 7,32 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,32 (dd, *J* = 6,0 Hz, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,99-4,96 (m, 1H), 4,52 (t, *J* = 2,8 Hz, 1H), 3,79 (q, *J* = 2,4 Hz, 1H), 3,54-3,49 (m, 2H), 2,57-2,53 (m, 1H), 2,19-2,13 (m, 1H), 0,91-0,88 (m, 9H), 0,13-0,11 (m, 6H). F-NMR: (376 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ -53,71 (s, 1F, chất đồng phân β), -53,89 (s, 1F, chất đồng phân α). LC-MS: (ES, *m/z*): 383,36 [M + H]⁺.

Bước 8: Tổng hợp (2S,3S,5R)-5-(4-amino-2-fluoro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Đưa TFA (0,051 mL, 0,659 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-fluoro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (360 mg, 0,941 mmol), DCC (N,N-dicyclohexylcarbodiimide) (602 mg, 2,92 mmol) và pyridin (0,084 mL, 1,035 mmol) trong DMSO khan (2 mL) trong khí quyển argon ở nhiệt độ trong phòng trong 2 phút, và hỗn hợp được khuấy qua đêm. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Hỗn hợp được lọc để loại bỏ dicyclohexylurea, và phân tách phần lọc bằng etyl axetat (30 mL) và H₂O (30 mL). Thu gom lớp hữu cơ và rửa bằng nước muối (20 mL × 2), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và làm bay hơi phần

lọc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 381,20 $[M + H]^+$, 413,20 $[M + MeOH + H]^+$.

Bước 9: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Thêm dung dịch formaldehyt (1,2 mL, 16,01 mmol), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch natri hydroxit (1,2 mL, 2,400 mmol) trong 2 phút vào dung dịch khuấy chứa (2S,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (400 mg, 1,051 mmol) trong 1,4-dioxan (8 mL) trong bình đáy tròn dung tích 50 mL. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 25°C trong 7 giờ. Khi lượng nucleosit đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng AcOEt (100 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2×40 mL), $NaHCO_3$ bão hòa trong nước (2×40 mL) và nước muối (50 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOH (3 mL) và thêm từng phần natri borohydrua (199 mg, 5,26 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy trong 5 giờ ở nhiệt độ 25°C, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng cách bổ sung AcOH. Hỗn hợp được cô đặc trong áp suất giảm, phân tách phần cặn giữa $CHCl_3$ (100 mL) và nước (50 mL). Lớp hữu cơ lần lượt được rửa bằng nước và nước muối, làm khô bằng Na_2SO_4 , và được làm bay hơi trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng diclometan/metanol (30/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. 1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,55 (brs, 2H), 7,34 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,60 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 4,90 (t, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,60 (q, $J = 2,8$ Hz, 1H), 4,41 (t, $J = 3,6$ Hz, 1H), 3,60-3,43 (m, 4H), 2,69-2,62 (m, 1H), 2,23-2,17 (m, 1H), 0,92 (s, 9H), 0,09 (s, 6H). F-NMR: (376 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -53,80 (s, 1F, chất đồng phân β). LC-MS: (ES, m/z): 413,32 $[M + H]^+$, 435,34 $[M + Na]^+$.

Bước 10: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (367 mg, 1,309 mmol) vào dung dịch khuấy chứa ((3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (180 mg, 0,436 mmol) trong axetonitril khan (15 mL) và DMSO khô (1,5 mL) trong bình đáy tròn dung tích 50 mL trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 20°C trong 8 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc, rửa bằng diclometan. Phần lọc được thu gom và cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong etyl axetat (40 mL), lần lượt rửa bằng nước (3 × 15 mL) và nước muối (2 × 20 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 9,65 (s, 1H), 7,60 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,43 (dd, *J* = 5,6 Hz, *J* = 9,6 Hz, 1H), 6,39 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,56-5,43 (m, 3H), 4,96 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,08 (d, *J* = 11,2 Hz, 1H), 3,81 (d, *J* = 12,8 Hz, 1H), 3,27-3,19 (m, 1H), 2,25 (dd, *J* = 5,4 Hz, *J* = 13,0 Hz, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,11 (d, *J* = 5,2 Hz, 6H).

F-NMR: (376 MHz, CDCl₃, ppm): δ -53,14 (s, 1F). LC-MS: (ES, *m/z*): 411,21 [*M* + H]⁺.

Bước 11: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

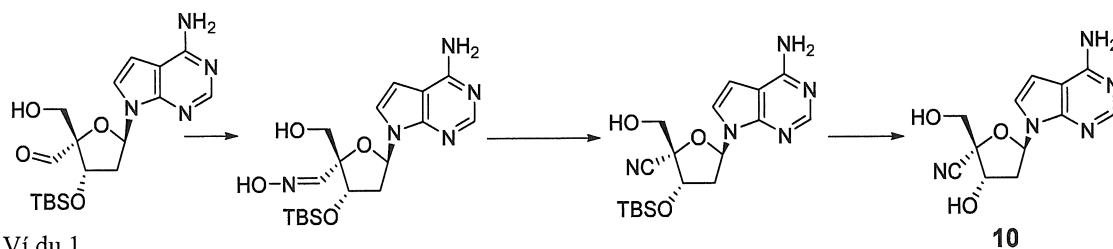
Thêm kali carbonat (160 mg, 1,157 mmol) vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (190 mg, 0,463 mmol) trong MeOH khan (8 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được làm lạnh đến 0°C, sau đó thêm nhỏ giọt dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (178 mg, 0,926 mmol) trong 1 phút. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm, và sau đó tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng metanol/diclometan (4,8% MeOH trong DCM) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 6,99 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,35 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,28 (dd, *J* = 6,0 Hz, *J* = 8,8 Hz, 1H), 5,45-5,33 (m, 3H), 4,76 (q, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,03 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 12,4 Hz, 1H), 8,16-3,79 (m, 1H), 3,12-3,06 (m, 1H), 2,70 (s, 1H), 2,33-2,27 (m, 1H), 0,94 (s, 9H), 0,16 (d,

$J = 8,0$ Hz, 6H). F-NMR: (376 MHz, CDCl_3 , ppm): δ -53,26 (s, 1F). LC-MS: (ES, m/z): 407,30 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Bước 12: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (9)

Thêm nhỏ giọt dung dịch TBAF THF (0,037 mL, 0,037 mmol) kèm khuấy trong 1 phút ở nhiệt độ môi trường vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-2-flo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (15 mg, 0,037 mmol) trong THF khan (1 mL) trong khí quyển argon. Môi trường được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Khi lượng nucleosit đã tiêu thụ hết, hỗn hợp được cô đặc trong chân không, sau đó tinh chế phần cặn bằng TLC điều chế (MeOH/DCM = 1/15) để tạo ra sản phẩm thô (10 mg). Sản phẩm thô được tinh chế tiếp bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, X-bridge C18 Column, 19*150mm, 5 μ m; pha động, nước có 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (5% axetonitril lên đến 30% trong 5 phút, lên đến 95% trong 2 phút); Máy dò, uv 254&220nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất **9** là chất rắn. ^1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,57 (brs, 2H), 7,28 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,35 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 5,51 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 5,27 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,48 (dd, $J = 6,4$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,61 (dd, $J = 5,6$ Hz, $J = 11,6$ Hz, 1H), 3,53 (dd, $J = 6,4$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,48 (s, 1H), 2,50-2,46 (m, 1H), 2,37-2,31 (m, 1H). F-NMR: (376MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -53,67 (s, 1F). LC-MS: (ES, m/z): 293,15 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 315,15 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

Ví dụ 10: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (10)



Ví dụ 1
Chất trung gian C

Bước 1: Tổng hợp 5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt oxim

Thêm hydroxylamin hydroclorua (26,6 mg, 0,382 mmol, 3,0 đương lượng) trong khí quyển argon vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (Ví dụ 1, **chất trung gian C**, 50 mg, 0,127 mmol, 1,0 đương lượng) trong pyridin khô (2,5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 30°C trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó phần cặn được hòa tan trong ethyl axetat (50 mL), lần lượt rửa bằng nước (2 x 30 mL) và nước muối (35 mL), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM/MeOH = 10/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 408,20 $[M+H]^+$.

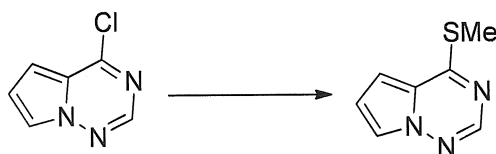
Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitrile

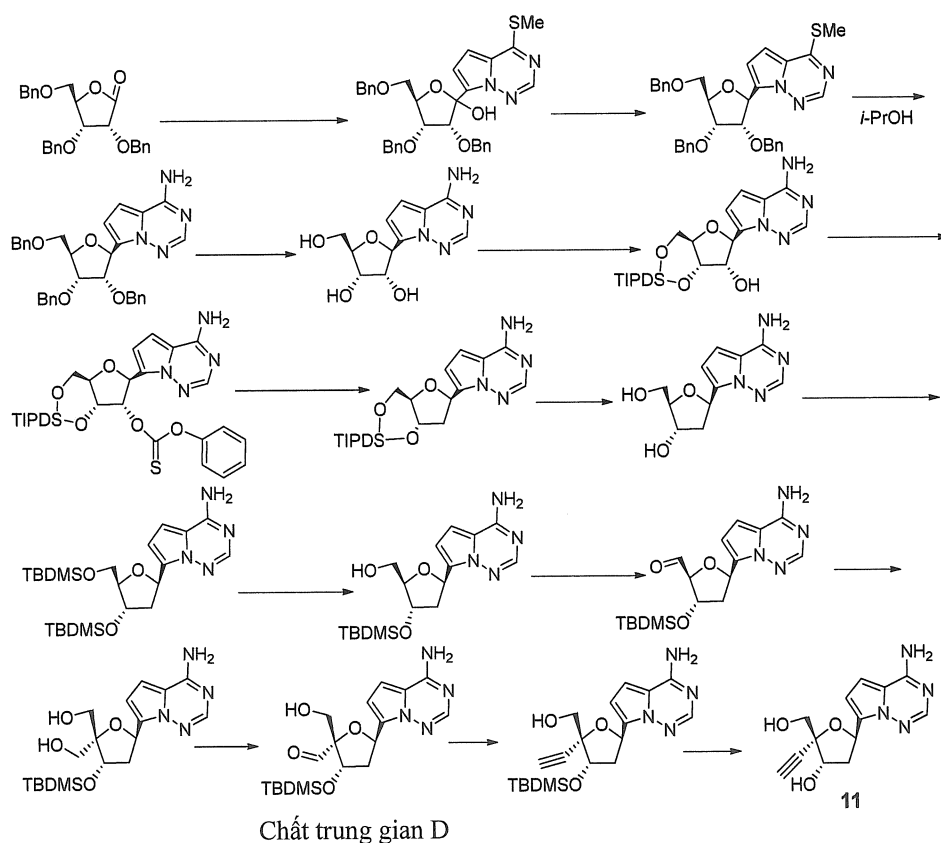
Thêm nhỏ giọt anhydrit 2,2,2-trifloaxetic (110 mg, 0,524 mmol) kèm khuấy ở 20°C trong khí quyển argon vào hỗn hợp khuấy chứa 5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt oxim (40 mg, 0,098 mmol) và triethylamin (105 mg, 1,038 mmol) trong DCM khô (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở 20°C trong 20 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (30 mL), lần lượt rửa bằng NaHCO₃ bão hòa trong nước (25 mL) và nước muối (25 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM/MeOH = 10/1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 390,11 $[M+H]^+$, ¹H-NMR: (300MHz, CD₃OD, ppm): δ 8,10 (s, 1H), 7,30 (d, J = 3,6Hz, 1H), 6,68 (t, J = 6,9Hz, 1H), 6,64 (d, J = 3,6Hz, 1H), 4,90 (t, J = 6,3Hz, 1H), 3,85(dd, J = 12,0Hz, J = 21,6Hz, 2H), 2,85-2,94 (m, 1H), 2,42-2,49 (m, 1H), 1,02 (s, 9H), 0,26 (d, J = 9,0Hz, 6H).

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (10)

Thêm nhỏ giọt dung dịch TBAF THF (1,0M, 0,108 mL, 0,108 mmol) kèm khuấy trong khí quyển argon ở nhiệt độ 15°C vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-amino-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (35 mg, 0,090 mmol) trong THF khô (5 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 15°C trong 0,5 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng LCMS và TLC. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng TLC điều chế (DCM/MeOH = 10/1) tạo ra siro. Tinh chế tiếp sản phẩm thô bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, SunFire C18 reverse Column, 19*150mm, 5 μ m; pha động, nước có 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (5% axetonitril lên đến 20% trong 7,5 phút, lên đến 95% trong 2 phút, giảm xuống 5% trong 1 phút); Máy dò, uv 254&220nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục **10** là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 276,10 $[M+H]^+$, 1H -NMR: (400MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,07 (s, 1H), 7,34 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 7,33 (br, 2H), 7,08 (s, 1H), 6,64 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 6,61 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,27 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,82 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,61 (dd, $J = 4,8$ Hz, $J = 10,0$ Hz, 1H), 3,75 (dd, $J = 5,6$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,62 (dd, $J = 6,0$ Hz, $J = 11,6$ Hz, 1H), 2,74-2,81 (m, 1H), 2,33-2,38 (m, 1H).

Ví dụ 11: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (11)





Bước 1: Tổng hợp 4-(metylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin

Quá trình tổng hợp 4-clopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin được mô tả trong WO2011/150356A1, 2011. Đưa dung dịch chứa 4-clopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin (17 g, 110,70 mmol) và (metylsulfanyl)natri (15 g, 214,01 mmol) trong tetrahydrofuran (300 mL) vào bình đáy tròn dung tích 500 mL. Khuấy dung dịch thu được trong 1 qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Chất rắn được lọc. Cô đặc hỗn hợp thu được trong chân không. Phần cặn được cho lên cột silica gel với etyl axetat/ete dầu mỏ (1:10). Thu được hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS (ES, m/z): 166 $[M+H]^+$

Bước 2: (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)-2-(4-(metylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)tetrahydrofuran-2-ol

Thêm lithi diisopropylamit (7,5 mL, 15,00 mmol) ở nhiệt độ -78°C trong khí quyển argon vào dung dịch chứa 4-(metylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin (1,650 g, 9,99 mmol) trong THF (30 mL) và khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút ở nhiệt độ -78°C . Sau đó, thêm (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)dihydrofuran-2(3H)-on (4,18 g, 9,99 mmol) trong THF (10 mL)

vào ở nhiệt độ -78°C trong khí quyển argon và khuấy 120 phút ở nhiệt độ -78 đến -50°C . Dừng phản ứng bằng cách thêm amoni clorua (chứa nước, 10 mL), và sau đó chiết bằng ethyl axetat (300 mL). Rửa lớp hữu cơ bằng (3 x 50 mL) nước muối, làm khô bằng natri sulfat và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel, rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ (1:5) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 584,2 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$

Bước 3: Tổng hợp 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-4-(methylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin

Thêm triethylsilan (2,390 g, 20,56 mmol) và trifloboran (0,697 g, 10,28 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển argon vào dung dịch chứa 3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)-2-(4-(methylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)tetrahydrofuran-2-ol (3,00 g, 5,14 mmol) trong DCM (30 mL). Khuấy dung dịch thu được trong 30 phút ở nhiệt độ 0°C và sau đó dừng phản ứng bằng cách thêm natri bicarbonat (chứa nước, 20 mL), chiết bằng DCM (200 mL). Rửa lớp hữu cơ bằng 3 x 50 mL nước muối, làm khô bằng natri sulfat và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel, rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ (1:10) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 568,4 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, CDCl_3 , ppm): δ 8,21 (s, 1H), 7,23-7,36 (m, 15H), 6,81 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,70 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 5,69 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 4,37-4,62 (m, 7H), 4,22-4,26 (m, 1H), 4,10-4,13 (m, 1H), 3,66-3,67 (m, 1H), 3,62-3,63 (m, 1H), 2,75 (s, 3H).

Bước 4: Tổng hợp 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin

Phun amoniac (1350 mg, 79 mmol) ở nhiệt độ $-40,0^{\circ}\text{C}$ trong 60 phút trong ống kín vào dung dịch chứa 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-4-(methylthio)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin (4,6 g, 8,10 mmol) trong 2-propanol (5 mL). Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 80°C , làm bay hơi để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 537,3 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$. $^1\text{H-NMR}$: (300MHz, DMSO, ppm): δ 7,80(s, 1H), 7,69(s, 2H), 7,24-7,36(m, 15H), 6,88(d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,80(d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 5,44(d, $J =$

5,4 Hz, 1H), 4,49-4,62(m, 6H), 4,31(t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 4,15-4,18(m, 1H), 4,09-4,12(m, 1H), 3,29-3,67(m, 2H).

Bước 5: Tổng hợp (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3,4-diol

Thêm Pd(OH)₂ (10%mol)/C (100 mg, 0,130 mmol) trong hydro ở nhiệt độ 25°C trong 4 giờ vào dung dịch chứa 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (100 mg, 0,186 mmol) trong axit axetic (2 mL). Hỗn hợp được lọc qua miếng xelit, và làm bay hơi phần lọc. Đưa phần cặn lên cột silica gel, rửa giải bằng MeOH/DCM (1:8) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 267,2 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (300MHz, DMSO, ppm): δ 7,79(s, 1H), 7,77(s, 2H), 6,84(d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 6,68(d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 5,10(d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,95(d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,84(d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,76(t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,20-4,25(m, 1H), 3,94(d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,78(d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 3,41-3,64(m, 2H).

Bước 6: Tổng hợp (6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol

Hòa tan (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3,4-diol (790 mg, 2,97 mmol) và 1H-imidazol (606 mg, 8,90 mmol) trong DMF (20 mL) trong agon. Thêm nhỏ giọt 1,3-diclo-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan (936 mg, 2,97 mmol) vào ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 5 giờ ở nhiệt độ 25°C trong agon, thêm nước (10 mL) và hỗn hợp thu được được pha loãng bằng etyl axetat (400 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng (3 x 60 mL) nước và 60 mL nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Đưa phần còn lại lên cột silica gel, rửa giải bằng MeOH/DCM (1:20) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 509,3 [M+H]⁺. ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,81(s, 1H), 7,70(s, 2H), 6,82(d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 6,61(d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,20(d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 5,16(d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 4,31-4,35(m, 1H), 4,12-4,15(m, 1H), 4,00-4,03(m, 1H), 3,88-3,91(m, 1H), 0,96-1,05(m, 28H)

Bước 7: Tổng hợp O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-yl) O-phenyl carbonothioat

Hòa tan (6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol (210 mg, 0,413 mmol) và N,N-dimethylpyridin-4-amin (202 mg, 1,651 mmol) trong DCM (10 mL) trong agon. Thêm nhỏ giọt O-phenyl carbonocloidothioat (143 mg, 0,826 mmol) vào ở nhiệt độ 0°C. Sau đó khuấy phản ứng ở 25°C trong agon trong 2 giờ, hỗn hợp thu được được pha loãng bằng DCM (100 mL), và sau đó rửa bằng 3 x 30 mL nước và 30 mL nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ (3:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục.

LC-MS: 645,2 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,83(s, 2H), 7,79(s, 1H), 7,48(t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,33(t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,14(d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 6,80(d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,71(d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,16(dd, *J* = 2,4 Hz, *J* = 5,6 Hz, 1H), 5,46(d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 4,90(dd, *J* = 5,6 Hz, *J* = 8,8Hz, 1H), 3,95-4,06(m, 2H), 3,85-3,87(m, 1H), 0,96-1,06(m, 28H).

Bước 8: Tổng hợp 7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin

Hòa tan O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-yl) O-phenyl carbonothioat (1,45 g, 2,248 mmol), AIBN (0,738 g, 4,50 mmol) và tributylstanan (3,93 g, 13,49 mmol) trong toluen (20 mL) trong agon. Sau đó khuấy phản ứng ở nhiệt độ 80°C trong agon trong 3 giờ, cô đặc dung dịch thu được trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ (2,5:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 493,4 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,81 (s, 1H), 7,79 (s, 2H), 6,81 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,60 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,46 (t, 1H), 4,58-4,62 (m, 1H), 3,90-4,00 (m, 1H), 3,75-3,80 (m, 2H), 2,20-2,30 (m, 1H), 2,30-2,40 (m, 1H), 0,98-1,06 (m, 28H).

Bước 9: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Hòa tan 7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (1,0 g, 2,029 mmol) trong THF (10 mL) trong agon. Thêm nhỏ giọt TBAF (0,531 g, 2,029 mmol) vào dung dịch phản ứng ở nhiệt độ 20°C. Sau khi khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 20°C trong agon trong 2 giờ, cô đặc dung dịch thu được trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng DCM/MeOH (20:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 251,2 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,83(s, 1H), 7,81(s, 2H), 6,84(d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 6,82(d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,47-5,51(m, 1H), 5,06(d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,73(t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,22(m, 1H), 3,74-3,78(m, 1H), 3,32-3,45(m, 2H), 2,16-2,20(m, 1H), 2,09-2,14(m, 1H).

Bước 10: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin

Hòa tan (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (300 mg, 1,199 mmol), 1H-imidazol (490 mg, 7,19 mmol) và tert-butyldimetylsilan (723 mg, 4,80 mmol) trong DMF (4,0 mL) trong agon. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 20°C trong agon trong 5 giờ, pha loãng hỗn hợp thu được bằng etyl axetat (100 mL), rửa bằng (3 X 30 mL) nước và 30 mL nước muối. Lọc hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ (2:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 479,3 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (300MHz, DMSO, ppm): δ 7,82 (s, 1H), 7,75 (s, 2H), 6,82 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 6,61 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,48-5,53 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,48-3,62 (m, 2H), 2,22-2,27 (m, 1H), 2,04-2,10 (m, 1H), 0,78-0,89 (m, 18H), 0,00-0,10 (m, 12H)

Bước 11: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-(((tert-butyldimetylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Hòa tan 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (500 mg, 1,044 mmol) trong THF (8,0 mL), H₂O (2,0 mL) và TFA (2,0 mL) và khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH 7 bằng natri bicarbonat và sau đó chiết bằng etyl axetat (30 mL x3), rửa bằng (3 x20 mL) nước và 20 mL nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ (2:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 365,3 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,82(s, 1H), 7,68(s, 2H), 6,82(d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,65(d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,46-5,50(m, 1H), 4,80(t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,42(d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 3,74-3,78(m, 1H), 3,32-3,44(m, 2H), 2,24-2,28(m, 1H), 2,02-2,06(m, 1H), 0,85-0,90(m, 9H), 0,00-0,10(m, 6H).

Bước 12: Tổng hợp (2S,3S,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Hòa tan ((2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (270 mg, 0,741 mmol) và IBX (270 mg, 0,963 mmol) trong axetonitril (20,0 mL) trong agon. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở 80°C trong agon trong 1 giờ, lọc chất rắn và cô đặc phần lọc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo. LC-MS: 363,2 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 9,59 (s, 1H), 7,84 (s, 1H), 7,73(s, 2H), 6,86 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,64 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 5,67-5,71 (m, 1H), 4,71 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 4,25 (s, 1H), 2,25-2,32 (m, 1H), 2,12-2,17 (m, 2H), 0,84-0,91 (m, 9H), 0,00-0,13 (m, 6H).

Bước 13: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Hòa tan (2S,3S,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (200 mg, 0,552 mmol) trong 1,4-dioxan (10 mL) ở nhiệt độ 20°C. Sau đó, thêm formaldehyt (2,0 mL, 0,552 mmol) và natri hydroxit (2,0 mL, 4,00 mmol) vào. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được ở 20°C trong 4 giờ, điều chỉnh hỗn hợp đến độ pH 7 bằng axit axetic. Hỗn

hợp được pha loãng bằng ethyl axetat (150 mL), sau đó rửa bằng 3 x 30 mL nước và 30 mL nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , và cô đặc trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong etanol (10 mL) ở nhiệt độ 0°C , và sau đó thêm NaBH_4 (41,7 mg, 1,103 mmol) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp thu được ở 20°C trong 16 giờ, điều chỉnh hỗn hợp đến độ pH=7 bằng axit axetic và hỗn hợp được chiết bằng ethyl axetat (150 mL), sau đó rửa bằng (3 x 30 mL) nước và 30 mL nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng DCM/MeOH (10:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 395,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$, ^1H -NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,82 (s, 1H), 7,70 (s, 2H), 6,82 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,66 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,50-5,60 (m, 1H), 4,68 (t, 1H), 4,52 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 4,22 (t, 1H), 3,53-3,60 (m, 2H), 2,35-2,45 (m, 1H), 2,00-2,10 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,08-0,09 (m, 6H).

Bước 14: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Hòa tan ((3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (90 mg, 0,228 mmol) và IBX (256 mg, 0,912 mmol) trong axetonitril (15.0 mL) trong agon. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở 30°C trong agon trong 48 giờ, lọc chất rắn. Phần lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục, được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo.

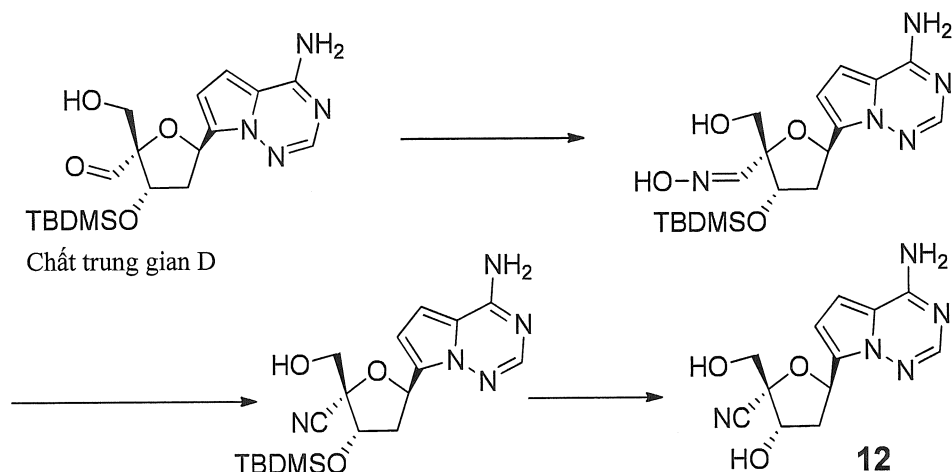
Bước 15: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

Hòa tan (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (80 mg, 0,204 mmol) và K_2CO_3 (85 mg, 0,611 mmol) trong metanol (10 mL) trong agon. Thêm nhỏ giọt dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (78 mg, 0,408 mmol) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở 25°C trong agon trong 16 giờ, lọc hỗn hợp và cô đặc trong chân không. Đưa phần cặn lên cột silica gel và rửa giải bằng DCM/MeOH (10:1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 389,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Bước 16: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (11)

Hòa tan ((2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (50 mg, 0,129 mmol) và TBAF (33,6 mg, 0,129 mmol) trong THF (5,0 mL) trong agon. Sau khi khuấy dung dịch thu được ở 25°C trong agon trong 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, Xbridge Prep C18 Column, 19*150mm; pha động, nước (10 mmol/L NH_4HCO_3) và axetonitril (5,0% axetonitril lên đến 25,0% trong 8 phút, lên đến 95,0% trong 1,5 phút, giảm xuống 5,0% trong 1,5 phút); Máy dò, UV254 & 220 nm) để tạo ra hợp chất **11** nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: 275,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, $^1\text{H-NMR}$: (400MHz, DMSO, ppm): δ 7,82 (s, 1H), 7,69 (s, 2H), 6,82 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,60 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,28 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 5,06 (d, $J = 6,8$ Hz, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,30-4,34 (m, 1H), 3,45-3,56 (m, 2H), 3,38 (s, 1H), 2,30-2,37 (m, 1H), 2,17-2,13 (m, 1H).

Ví dụ 12: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (12)



Bước 1: Tổng hợp 5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butylidimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt oxim

Thêm hydroxylamin hydroclorua (37,17 mg, 0,543 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào hỗn hợp chứa **chất trung gian D** (xem Ví dụ 11) (70 mg, 0,178 mmol) trong pyridin (5 mL) trong agon. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 2 giờ ở nhiệt độ

25°C, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được pha loãng bằng etyl axetat (100 mL), rửa bằng nước (3 x 20 mL) và nước muối (20 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được sử dụng mà không cần tinh chế. LC-MS: 408,2 [M+H]⁺

Bước 2: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril

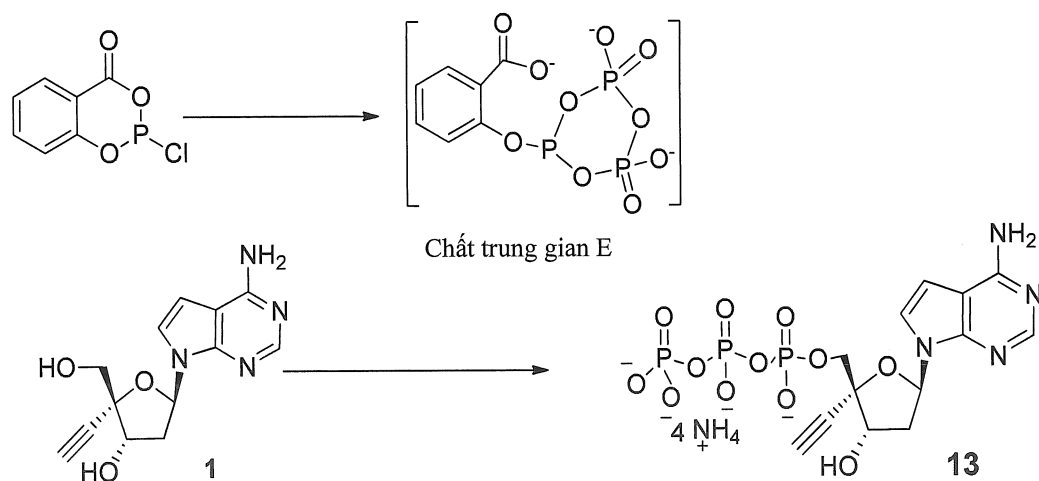
Thêm Et₃N (69,5 mg, 0,687 mmol) và anhydrit 2,2,2-trifloaxetic (72,2 mg, 0,344 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào hỗn hợp chứa 5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt oxim (70 mg, 0,172 mmol) trong DCM (15 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 16 giờ ở nhiệt độ 25°C và sau đó hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (100 mL), rửa bằng natri bicarbonat bão hòa trong nước (3 x 20 mL) và nước muối (20 mL), làm khô bằng natri sulfat khan và cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cột silica gel, rửa giải bằng DCM/MeOH (15 : 1) để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục. LC-MS: 309,2 [M+H]⁺.

Bước 3: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (12)

Thêm TBAF (33,6 mg, 0,128 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào hỗn hợp chứa (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (50 mg, 0,128 mmol) trong THF (10 mL) trong agon. Khuấy hỗn hợp thu được trong 2 giờ ở nhiệt độ 25°C và sau đó cô đặc trong áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: Dụng cụ, (1#-Pre-HPLC-011(waters)); Cột: Xbridge C18, 5 um, 19 x 150 mm; pha động: nước (0,05% NH₄CO₃) và ACN (5,0% ACN lên đến 40% trong 10 phút, giữ ở mức 95% trong 2 phút, giảm xuống 5% trong 2 phút); Máy dò, UV 220 và 254nm. Gom các phân đoạn thu được và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất **12** nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: 276,0 [M+H]⁺, ¹H-NMR: (400MHz, DMSO, ppm): δ7,86 (s, 1H), 7,74-7,84 (s, 2H), 6,88 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,10 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H),

5,72-5,79 (m, 1H), 5,62-5,63 (m, 1H), 4,44-4,61 (s, 1H), 3,53-3,62 (m, 2H), 2,42-2,49 (m, 1H), 2,19-2,24 (m, 1H).

Ví dụ 13: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (13)



Bước 1: 2-((4,4,6,6-tetraoxido-1,3,5,2,4,6-trioxatriphosphinan-2-yl)oxy)benzoat (chất trung gian E)

Trong buồng thao tác cách ly trong khí quyển argon, thêm tributylamin khô (0,4 mL, 1,679 mmol) vào bình chứa tributylamoni pyrophosphat (112 mg, 0,205 mmol) được hòa tan trong 0,4 mL dimetylformamit (DMF) tạo ra dung dịch trong suốt. Sau đó, dung dịch trong suốt được đưa vào bình chứa 2-clo-4H-benzo[d][1,3,2]dioxaphosphinin-4-on khô (27,6 mg, 0,136 mmol) trong dimetylformamit (0,4 mL) kèm khuấy mạnh. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 30°C trong 30 phút để tạo ra dung dịch chứa **chất trung gian E** được sử dụng trực tiếp cho phản ứng tiếp theo mà không cần điều chế thêm.

Bước 2: Tổng hợp amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (13)

Đặt ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-3-ol (**hợp chất 1**, 8 mg, 0,029 mmol) vào bình đáy tròn (10 mL) và sau đó làm khô bằng P₂O₅ trong chân không cao qua đêm. Thêm rây phân tử hoạt tính 4Å (100 mg) vào bình này. Môi trường được nạp argon và sau đó dung dịch chứa **chất trung gian E** (2,0 đương lượng, vừa được điều chế)

trong DMF khô (0,15 mL) được chuyển vào bình nói trên bằng ống bơm và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 3 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC (axetonitril : 0,1M amoni clorua = 7 : 3). Khi hầu hết nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C, sau đó dung dịch iot [3% trong 0,1 mL pyridin/nước (9:1)] được đưa vào hỗn hợp phản ứng. Khi iot đã tiêu thụ hết, tiếp tục thêm nhỏ giọt dung dịch iot cho đến khi duy trì màu nâu vĩnh cửu của iot. Sau 15 phút, thêm đệm triethylamoni bicarbonat (1,0M, 2 mL) vào kèm khuấy ở nhiệt độ 10°C trong 15 phút nữa. Loại bỏ chất dễ bay hơi trong chân không (nhiệt độ bên trong không quá 25°C). Phần cặn được hòa tan lại trong nước (2 mL) và chiết bằng cloroform (2 x 2 mL). Sau đó, lớp chứa nước thu được chứa sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, XBridge™ Prep OBD (Optimum Bed Density) T3 Column, 19*150mm, 5µm; pha động, nước với 50 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (2% axetonitril lên đến 5,2% trong 5 phút, lên đến 95% trong 2 phút, giảm xuống 5% trong 1,5 phút); Máy dò, UV 254 & 220nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất 13 nêu ở đề mục là chất rắn. LC-MS: (ES, m/z): 512,90 [M-H-4NH₃]⁻. ¹H-NMR: (400MHz, D₂O, ppm): δ 8,06 (s, 1H), 7,38 (d, J = 3,6Hz, 1H), 6,63 (t, J = 7,6Hz, 1H), 6,58 (d, J = 3,6Hz, 1H), 4,06-4,14 (m, 2H), 2,67-2,72 (m, 1H), 2,54-2,59 (m, 1H), P-NMR: (161MHz, D₂O, ppm): δ -5,86 (s, 1P), -11,49--11,39 (d, J = 15,13Hz, 1P), -19,29 (s, 1P).

Các hợp chất 14-21 sau được tổng hợp bằng cách sử dụng phương pháp đã mô tả trong Ví dụ 13:

Ví dụ 14: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-fluoro-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (14). LC-MS: (ES, m/z): 530,85 [M-H-4NH₃]⁻. ¹H-NMR: (400MHz, D₂O, ppm): δ 8,00 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,62 (dd, J = 4,8Hz, J = 6,0Hz, 1H), 4,13 (dd, J = 5,6Hz, J = 11,2Hz, 1H), 4,06 (dd, J = 5,0Hz, J = 11,4Hz, 1H), 2,48-2,64 (m, 2H). P-NMR: (161MHz, D₂O, ppm): δ -5,97--5,89 (d, J = 13,85Hz, 1P), -11,52--11,43 (d, J = 14,81Hz, 1P), -19,31 (s, 1P).

Ví dụ 15: Amoni (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-metyl-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (15). LC-MS:

(ES, m/z): 527,00 $[M - H - 4NH_3]^-$. 1H -NMR: (400MHz, D_2O , ppm): δ 7,96 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,55 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,11 (dd, $J = 6,2$ Hz, $J = 11,4$ Hz, 1H), 4,05 (dd, $J = 5,8$ Hz, $J = 12,0$ Hz, 1H), 2,59-2,66 (m, 1H), 2,48-2,53 (m, 1H), 2,78 (s, 3H). P-NMR: (161MHz, D_2O , ppm): δ -5,90 (s, 1P), -11,48--11,39 (d, $J = 14,49$ Hz, 1P), -19,32 (s, 1P).

Ví dụ 16: Bis-triethylamoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-2-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (16). LC-MS: (ES, m/z): 546,95 $[M-H-2TEA]^-$. 1H -NMR: (400MHz, D_2O , ppm): δ 7,31 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,53 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,50 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,15 (dd, $J = 5,8$ Hz, $J = 10,6$ Hz, 1H), 4,08 (dd, $J = 4,8$ Hz, $J = 11,2$ Hz, 1H), 2,62-2,67 (m, 1H), 2,53-2,58 (m, 1H). P-NMR: (161MHz, D_2O , ppm): δ -5,86--5,77 (d, $J = 14,81$ Hz, 1P), -11,45--11,35 (d, $J = 15,13$ Hz, 1P), -19,24 (s, 1P).

Ví dụ 17: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-5-clo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (17). LC-MS: (ES, m/z): 546,70 $[M-H-4NH_3]^-$. 1H -NMR: (400MHz, D_2O , ppm): δ 7,97 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 6,54 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,01-4,13 (m, 2H), 2,52-2,62 (m, 2H). P-NMR: (161MHz, D_2O , ppm): δ -5,81 (s, 1P), -11,42 (s, 1P), -19,25 (s, 1P).

Ví dụ 18: Bis-triethylamoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-amino-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-xyano-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (18). LC-MS: (ES, m/z): 514,35 $[M-H-2TEA]^-$. 1H -NMR: (400 MHz, D_2O , ppm): δ 8,04 (s, 1H), 7,29 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 6,70 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,55 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 4,87 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,21-4,16 (m, 2H), 2,99 (q, $J = 7,2$ Hz, 15H), 2,80-2,76 (m, 1H), 2,58-2,54 (m, 1H), 1,12 (t, $J = 7,2$ Hz, 26H). P-NMR: (161 MHz, D_2O , ppm): δ -5,85 (s, 1P), -11,84 (d, $J = 15,30$ Hz, 1P), -19,38 (s, 1P).

Ví dụ 19: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrolo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (19). LC-MS: (ES, m/z): 512,90 $[M-H-4NH_3]^-$. 1H -NMR: (400MHz, D_2O , ppm): δ 7,73 (s, 1H), 6,77 (dd, $J = 4,4$ Hz, $J = 7,4$ Hz, 2H), 5,73 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 4,52-4,56 (m, 1H), 3,98-4,03 (m, 2H), 2,56-2,63 (m, 1H), 2,34-2,40 (m, 1H). P-NMR: (161MHz, D_2O , ppm): δ -5,79 (s, 1P), -11,24 (s, 1P), -19,21 (s, 1P).

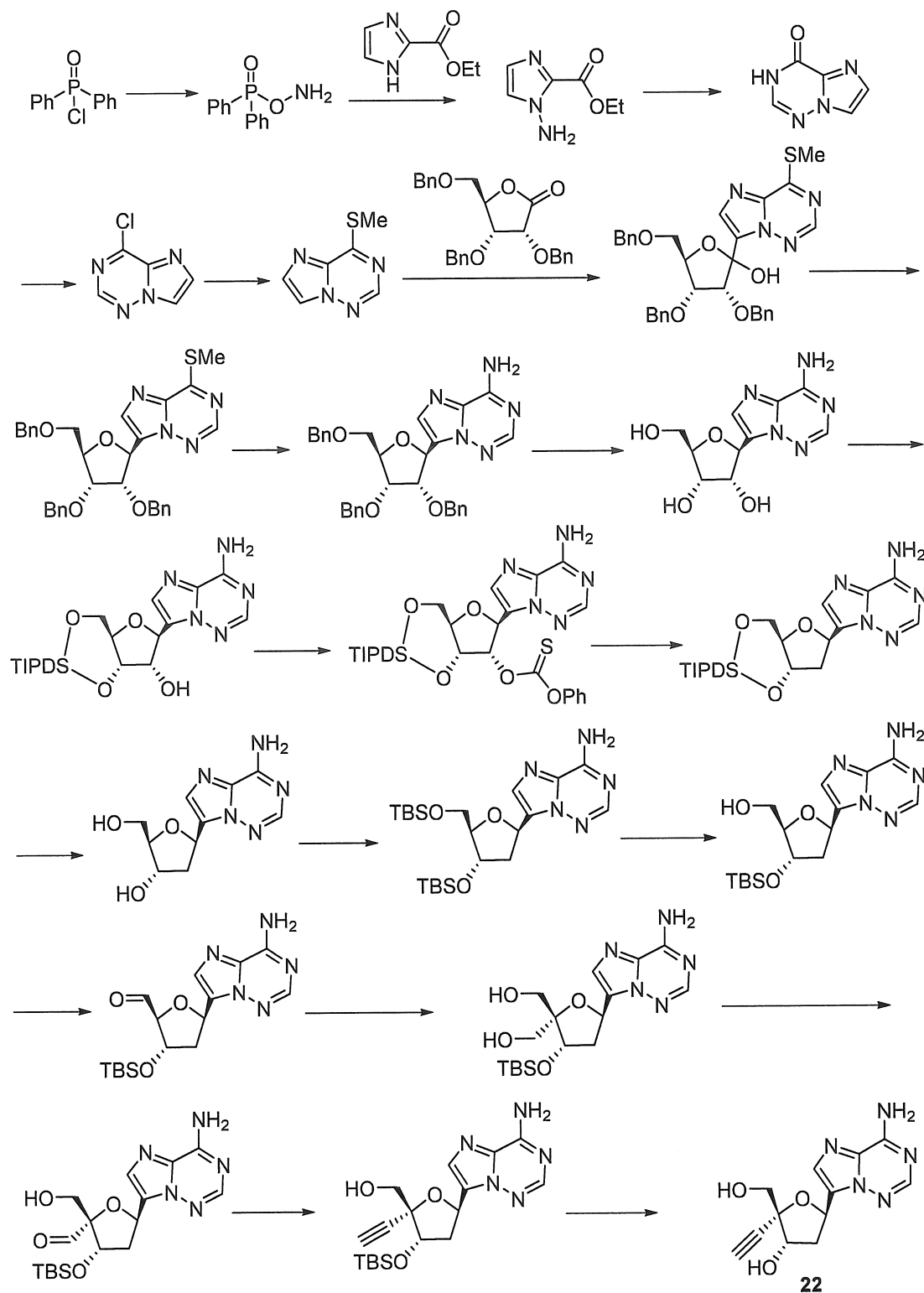
Ví dụ 20: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (20). LC-MS: (ES, *m/z*): 513,95 [M-H-4NH₃]⁻. ¹H-NMR: (400 MHz, D₂O, *ppm*): δ 8,22 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 5,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,60-4,57 (m, 1H), 4,12-4,03 (m, 2H), 2,56-2,49 (m, 1H), 2,35-2,29 (m, 1H). P-NMR: (161 MHz, D₂O, *ppm*): δ -5,82 (s, 1P), -11,32-11,23 (d, *J* = 13,69 Hz, 1P), -19,24 (s, 1P).

Ví dụ 21: Amoni ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminoimidazo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl triphosphat (21). LC-MS: (ES, *m/z*): 513,95 [M-H-4NH₃]⁻. ¹H-NMR: (400 MHz, D₂O, *ppm*): δ 8,23 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 5,66 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,61-4,58 (m, 1H), 4,05 (brs, 2H), 2,68-2,61 (m, 1H), 2,46-2,42 (m, 1H). P-NMR: (161 MHz, D₂O, *ppm*): δ -5,81 (s, 1P), -11,33-11,24 (d, *J* = 13,85 Hz, 1P), -19,19 (s, 1P).

Tên các hợp chất 13-21 ở dạng không chứa muối tương ứng lần lượt là:

13)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
14)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5- <i>f</i> lo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
15)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-metyl-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
16)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-2- <i>clo</i> -7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
17)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5- <i>clo</i> -7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
18)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-xyano-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
19)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrolo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
20)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrazolo[1,5- <i>a</i>][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat; và
21)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminoimidazo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etynyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat.

Ví dụ 22: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminoimidazo[2,1-*f*] [1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (22)



Bước 1: Tổng hợp (aminooxy)diphenylphosphin oxit

Thêm nhỏ giọt dung dịch chứa NaOH (38,3 g, 957 mmol) trong nước (400 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút vào dung dịch khuấy chứa

hydroxylamin hydroclorua (70 g, 1007 mmol) trong hỗn hợp chứa 1,4-dioxan (100 mL) và nước (100 mL). Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ 0°C trong 20 phút. Phun nhanh dung dịch chứa diphenylphosphinic clorua (77 mL, 403 mmol) trong 1,4-dioxan (100 mL) vào dung dịch thu được nêu trên ở nhiệt độ 0°C. Khuấy mạnh hỗn hợp thu được ở nhiệt độ môi trường trong 10 phút. Tạo thành kết tủa và thu được kết tủa bằng cách lọc. Chất rắn được tạo huyền phù lại trong NaOH chứa nước (0,25N, 1000 mL) và khuấy ở nhiệt độ 4°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp được lọc và bánh lọc được rửa lần lượt bằng nước (3 × 1000 mL) và ete (2 × 500 mL). Chất rắn được làm khô trong chân không qua đêm để tạo ra (aminooxy)diphenylphosphin oxit. LC-MS: (ES, m/z): 233,9 $[M + H]^+$. 1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,82-7,69 (m, 4H), 7,58-7,40 (m, 6H) P-NMR: (121 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 21,53 (s, 1P).

Bước 2: Tổng hợp etyl 1-amino-1*H*-imidazol-2-carboxylat

Thêm nhỏ giọt dung dịch LiHMDS THF (93 mL, 93 mmol, 1M) ở nhiệt độ -10°C trong 60 phút vào dung dịch khuấy chứa etyl 1*H*-imidazol-2-carboxylat (6 g, 30,9 mmol) trong DMF (250 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ -10°C trong 30 phút nữa, và sau đó thêm từng phần (aminooxy)diphenylphosphin oxit (21,63 g, 93 mmol) vào trong 30 phút trong khi duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 10°C. Hỗn hợp thu được được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy mạnh trong 16 giờ. Dừng phản ứng bằng nước đá (600 mL) và chiết bằng EtOAc (2 × 800 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra etyl 1-amino-1*H*-imidazol-2-carboxylat được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 156,1 $[M + H]^+$. 1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 7,37 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H), 6,96 (d, $J = 0,8$ Hz, 1H), 6,57 (br s, 2H), 4,33-4,27 (m, 2H), 1,31 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Bước 3: Tổng hợp imidazo [2,1-f][1,2,4]triazin-4(3*H*)-on

Thêm formamidin axetat (17,71 g, 170 mmol) vào hỗn hợp khuấy chứa etyl 1-amino-1*H*-imidazol-2-carboxylat (6 g, 30,9 mmol) trong EtOH (60 mL) trong khí quyển argon. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến hồi lưu và khuấy qua đêm. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ môi trường và lọc. Lần lượt rửa bánh lọc

bằng nước (3×10 mL) và EtOAc (2×10 mL). Làm khô chất rắn thu được trong chân không cao qua đêm để tạo ra imidazo [2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on. LC-MS: (ES, m/z): 136,9 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 12,31 (br s, 1H), 8,09 (s, 1H), 7,98 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H).

Bước 4: Tổng hợp 4-cloimidazo [2,1-f][1,2,4]triazin

Đưa imidazo [2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on (2,4 g, 17,63 mmol) vào bình đáy tròn dung tích 100 mL trong khí quyển argon sau đó phun POCl₃ (20 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được gia nhiệt đến hồi lưu và khuấy trong 16 giờ. Loại bỏ chất bay hơi trong áp suất giảm. Phân tách phần cặn giữa EtOAc (100 mL) và nước (30 mL). Lớp hữu cơ được rửa lần lượt bằng NaHCO₃ chứa nước đã được làm lạnh (bão hòa, 3×20 mL) và nước muối (20 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (5/1) để tạo ra 4-cloimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin. LC-MS: (ES, m/z): 155,0 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,81 (s, 1H), 8,65 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H).

Bước 5. Tổng hợp 4-(methylthio)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin

Thêm NaSMe (13,60 g, 194 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa 4-cloimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin (20 g, 129 mmol) trong THF (500 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ. Dùng hỗn hợp phản ứng bằng NH₄Cl chứa nước (bão hòa, 200 mL) và chiết bằng EtOAc (2×500 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2×200 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (1/1) để tạo ra 4-(methylthio)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin. LC-MS: (ES, m/z): 167,2 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,47 (s, 1H), 7,90 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 7,76 (d, *J* = 0,4 Hz, 1H), 2,73 (s, 3H).

Bước 6: Tổng hợp (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)-2-(4-(methylthio)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)tetrahydrofuran-2-ol

Phun dung dịch LDA THF (4,5 mL, 9,0 mmol, 2M) ở nhiệt độ -78°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa 4-(methylthio)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin (1 g,

6,02 mmol) trong THF (25 mL) trong khí quyển argon. Duy trì hỗn hợp thu được ở nhiệt độ -78°C trong 30 phút, và sau đó phun dung dịch chứa (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2(3*H*)-on (có bán ngoài thị trường, 3,27 g, 7,82 mmol) trong THF (15 mL) và khuấy hỗn hợp thu được trong khoảng nhiệt độ từ -78°C đến -50°C trong 2 giờ. Dừng phản ứng bằng NH_4Cl chứa nước (bão hòa, 20 mL) và chiết bằng EtOAc (2×50 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2×20 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phân cực bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (5/1) để tạo ra (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)-2-(4-(methylthio)imidazo[2,1-*f*][1,2,4] triazin-7-yl)tetrahydrofuran-2-ol. LC-MS: (ES, *m/z*): 585,1 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Bước 7: Tổng hợp 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-4-(methylthio)imidazo[2,1-*f*][1,2,4]triazin

Lần lượt phun boron triflorua-diethyl eterat (825,3 mg, 5,82 mmol) và triethylsilan (1,35 g, 11,63 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)-2-(4-(methylthio)imidazo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-7-yl)tetrahydrofuran-2-ol (1,7 g, 2,91 mmol) trong DCM (30 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 16 giờ nữa. Dừng phản ứng bằng NaHCO_3 chứa nước (bão hòa, 20 mL) và chiết bằng DCM (2×30 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phân cực bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (10/1) để tạo ra 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-4-(methylthio)imidazo[2,1-*f*][1,2,4]triazin. LC-MS: (ES, *m/z*): 570,0 $[\text{M} + \text{H}]^+$. $^1\text{H-NMR}$: (300 MHz, CDCl_3 , *ppm*): δ 8,38 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,37-7,26 (m, 15H), 5,56 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,70-4,49 (m, 6H), 4,39 (q, $J = 4,2$ Hz, 1H), 4,34 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,15 (t, $J = 5,1$ Hz, 1H), 3,70 (dd, $J = 3,6$ Hz, $J = 10,5$ Hz, 1H), 3,60 (dd, $J = 3,9$ Hz, $J = 10,8$ Hz, 1H), 2,70 (s, 3H).

Bước 8: Tổng hợp 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-*f*][1,2,4]triazin-4-amin

Đặt 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-4-(methylthio)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin (1,4 g, 2,462 mmol) vào bình cao áp bằng thép dung tích 80 mL. Làm lạnh môi trường đến -60°C. Thêm isopropanolic amoniac (isopropanol/amoniac lỏng = 2/3, trộn ở nhiệt độ -60°C, 50 mL). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và sau đó cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (1/1) để tạo ra 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, m/z): 538,3 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,24 (br s, 1H), 8,15 (br s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,36-7,28 (m, 15H), 5,35 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,63 (s, 2H), 4,56 (d, J = 4,8 Hz, 2H), 4,52 (d, J = 2,0 Hz, 2H), 4,45 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,22-4,16 (m, 2H), 3,65 (dd, J = 3,2 Hz, J = 10,8 Hz, 1H), 3,58 (dd, J = 4,4 Hz, J = 10,8 Hz, 1H).

Bước 9: Tổng hợp (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol

Thêm 20% Pd(OH)₂/C (1,2 g) vào dung dịch khuấy chứa 7-((2S,3S,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (1,2 g, 2,232 mmol) trong AcOH (10 mL). Môi trường được nạp hydro (2 atm) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 24 giờ. Lọc chất rắn và rửa bằng AcOH (2 × 15 mL). Cô đặc phần lọc gom được trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (8/1) để tạo ra (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol. LC-MS: (ES, m/z): 290,0 [M + Na]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,22 (br s, 1H), 8,15 (br s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 5,13-5,09 (m, 2H), 5,03 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,78 (br s, 1H), 4,32 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 3,99 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 3,81 (q, J = 4,4 Hz, 1H), 3,56 (dd, J = 3,2 Hz, J = 11,2 Hz, 1H), 3,46 (dd, J = 3,6 Hz, J = 11,2 Hz, 1H).

Bước 10: Tổng hợp (6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol

Phun 1,3-diclo-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan (3,97 g, 12,57 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa (2S,3R,4S,5R)-2-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3,4-diol (3,2 g, 11,97 mmol) và 1*H*-imidazol (3,26 g, 47,9 mmol) trong DMF (65 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 30°C và khuấy trong 5 giờ. Dùng phản ứng bằng nước (70 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 100 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (3 × 100 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phân lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (3/1) để tạo ra (6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-aminoimidazo [2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol. LC-MS: (ES, m/z): 510,4 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, ppm): δ 8,12 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,03 (br s, 1H), 6,39 (br s, 1H), 5,31 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 4,68 (dd, *J* = 6,0 Hz, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,47 (q, *J* = 2,8 Hz, 1H), 4,10-4,05 (m, 3H), 3,20 (br s, 1H), 1,15-1,05 (m, 28H).

Bước 11: Tổng hợp O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-yl) O-phenyl carbonothioat

Phun O-phenyl carbonocloidothioat (2,71 g, 15,69 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa (6aR,8S,9S,9aS)-8-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol (4,0 g, 7,85 mmol) và DMAP (3,83 g, 31,4 mmol) trong DCM (160 mL) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ nữa. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (1/3) để tạo ra O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-yl) O-phenyl carbonothioat. LC-MS: (ES, m/z): 646,3 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,37 (br s, 1H), 8,28 (br s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,49 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,34 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,15 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,22 (dd, *J* = 2,0 Hz, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,49 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 4,95 (dd, *J* = 5,2 Hz, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,07-3,96 (m, 2H), 3,91-3,88 (m, 1H), 1,07-1,04 (m, 28H).

Bước 12: Tổng hợp 7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin

Phun tri-*n*-butyl thiếc hydrua (314 mg, 1,084 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa O-((6aR,8S,9S,9aR)-8-(4-aminoimidazo [2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-yl) O-phenyl carbonothioat (350 mg, 0,542 mmol) và AIBN (133 mg, 0,813 mmol) trong toluen đã khử khí (10 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 80°C và khuấy trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (1/3) để tạo ra 7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, m/z): 494,5 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,23 (br s, 1H), 8,16 (br s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 5,42 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,63 (dd, *J* = 5,8 Hz, *J* = 13,0 Hz, 1H), 3,95 (dd, *J* = 3,2 Hz, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,83 (dd, *J* = 6,8 Hz, *J* = 12,0 Hz, 1H), 3,78-3,75 (m, 1H), 2,55-2,51 (m, 1H), 2,37-2,32 (m, 1H), 1,07-1,01 (m, 28H).

Bước 13: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Phun hydro florua-pyridin (5,42 g, 54,7 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa 7-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (2,7 g, 5,47 mmol) trong THF (60 mL). Hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong 20 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C, được trung hòa bằng NaHCO₃ rắn và sau đó pha loãng bằng MeOH (50 mL). Lọc chất rắn và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Xử lý phần cặn bằng DCM/MeOH (20 mL, 100/1, thể tích/thể tích) và khuấy trong 30 phút. Thu được kết tủa trắng và làm khô trong chân không qua đêm để tạo ra (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol. ¹H-NMR: (400 MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,20 (br s, 1H), 8,13 (br s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 5,42 (dd, *J* = 5,8 Hz, *J* = 10,2 Hz, 1H), 5,12 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 4,74 (t, *J* = 5,6 Hz,

1H), 4,28-4,25 (m, 1H), 3,81-3,78 (m, 1H), 3,42 (t, $J = 5,4$ Hz, 2H), 2,33-2,26 (m, 1H), 2,13-2,09 (m, 1H).

Bước 14: Tổng hợp 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin

Đặt (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol (200 mg, 0,796 mmol) và 1H-imidazol (217 mg, 3,18 mmol) vào bình dung tích 10 mL trong khí quyển argon. Phun DMF khan (2,5 mL) vào hỗn hợp, sau đó bổ sung *tert*-butylclodimethylsilan (360 mg, 2,388 mmol) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong 3 giờ. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng EtOAc (50 mL), lần lượt rửa bằng NaHCO₃ chứa nước (bão hòa, 2 × 15 mL) và nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được thu gom và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phân cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng ete dầu mỏ/EtOAc (35%-52% EtOAc trong ete dầu mỏ) để tạo ra 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, m/z): 480,1 $[M + H]^+$. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,20 (br s, 1H), 8,13 (br s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 5,43 (dd, $J = 5,6$ Hz, $J = 10,0$ Hz, 1H), 4,46-4,44 (m, 1H), 3,81 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,63-3,51 (m, 2H), 2,45-2,36 (m, 1H), 2,16-2,10 (m, 1H), 0,89 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,10 (s, 6H), 0,02 (d, $J = 3,6$ Hz, 6H).

Bước 15: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Đưa 7-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (350 mg, 0,730 mmol) vào bình đáy tròn dung tích 25 mL, sau đó phun THF (4 mL). Môi trường được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C. Thêm nhỏ giọt dung dịch axit trifloaxetic/nước đã được làm lạnh trước (1/1, thể tích/thể tích, 2 mL) kèm khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Dung dịch thu được được bay hơi đồng thời với toluen (3 × 20 mL) và phân cặn được tạo huyền phù lại trong

NaHCO₃ chứa nước (bão hòa, 4 mL) và sau đó làm bay hơi đến khô. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel với EtOAc/DCM (1/1) để tạo ra ((2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol. LC-MS: (ES, m/z): 366,2 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, d₆-DMSO, ppm): δ 8,09 (br s, 1H), 8,03 (br s, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 5,31 (q, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,70 (t, *J* = 5,7 Hz, 1H), 4,34 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 3,69 (t, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,33-3,28 (m, 2H), 2,34-2,24 (m, 1H), 2,01-1,96 (m, 1H), 0,79 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).

Bước 16: Tổng hợp ((2S,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (644 mg, 2,298 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (280 mg, 0,766 mmol) trong axetonitril khan (20 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 80°C và khuấy trong 25 phút. LCMS chỉ ra rằng nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết. Làm nguội hỗn hợp thu được đến nhiệt độ trong phòng. Lọc chất rắn và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra ((2S,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 363,7 [M + H]⁺.

Bước 17: Tổng hợp ((3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Phun 37% formaldehyt chứa nước (1,0 mL), sau đó là NaOH chứa nước (1,0 mL, 2,0 mmol, 2N) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa ((2S,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (300 mg, thô) trong 1,4-dioxan (4 mL) trong bình đáy tròn dung tích 25 mL. Làm ấm hỗn hợp thu được đến nhiệt độ môi trường và khuấy trong 16 giờ. Khi lượng nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hoà bằng AcOH (~0,2 mL). Hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc (100 mL) và lần lượt rửa bằng nước (2 × 25 mL), NaHCO₃ chứa nước (bão hòa, 25 mL)

và nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm tạo ra sản phẩm thô. Sản phẩm thô được hoà tan lại trong EtOH (5 mL) trong khí quyển argon và thêm từng phần natri borohydrua (153 mg, 4,04 mmol) ở nhiệt độ 0°C . Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được trung hoà bằng AcOH ($\sim 0,2$ mL) và làm bay hơi đến khô. Phân tách phần cặn giữa CHCl_3 (50 mL) và nước (25 mL). Lớp chứa nước được chiết lại bằng CHCl_3 (2×25 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (40 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (30/1) để tạo ra ((3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol. LC-MS: (ES, m/z): 395,8 $[\text{M} + \text{H}]^+$. $^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,18 (br s, 1H), 8,12 (br s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 5,47 (q, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,68 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,27 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,60-3,55 (m, 1H), 3,53-3,51 (m, 2H), 3,34-3,31 (m, 1H), 2,56-2,53 (m, 1H), 2,11-2,07 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,09 (d, $J = 2,8$ Hz, 6H).

Bước 18: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (382 mg, 1,365 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp khuấy chứa ((3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (180 mg, 0,455 mmol) trong axetonitril (20 mL) và DMSO (2 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 30°C và khuấy trong 2 giờ. Chất rắn được lọc, rửa bằng CHCl_3 (2×20 mL) và cô đặc phần lọc gom được trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOAc (30 mL), lần lượt rửa bằng NaHCO_3 chứa nước (bão hòa, 2×15 mL) và nước muối (20 mL), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 393,8 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

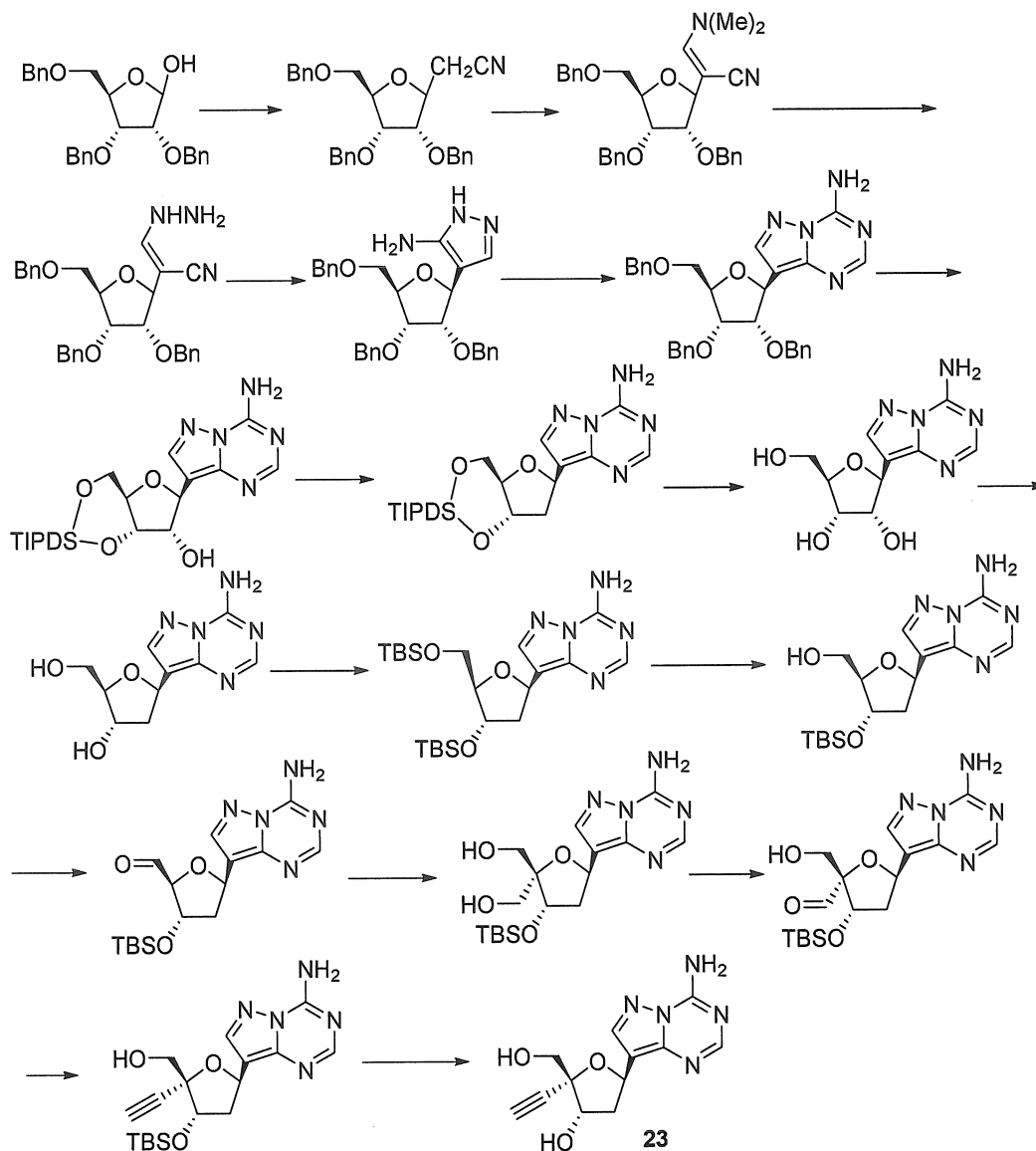
Bước 19: Tổng hợp ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7aH-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

Phun dung dịch chứa dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (110 mg, 0,58 mmol) trong MeOH (1 mL) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (250 mg, 0,286 mmol, thô) và K₂CO₃ (120 mg, 0,86 mmol) trong MeOH (10 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 30°C và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (30/1) để tạo ra ((2R,3S,5R)-5-(4-amino-7aH-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol. LC-MS: (ES, m/z): 390,2 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,23 (br s, 1H), 8,15 (br s, 1H), 8,08 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 5,54 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,16 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,53 (dd, *J* = 4,6 Hz, *J* = 6,2 Hz, 1H), 3,55 (dd, *J* = 5,2 Hz, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,45 (dd, *J* = 7,0 Hz, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,42 (s, 1H), 2,56-2,53 (m, 1H), 2,23-2,17 (m, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,10 (d, *J* = 3,2 Hz, 6H).

Bước 20. Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (22)

Phun dung dịch TBAF THF (0,385 mL, 0,385 mmol, 1M) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch khuấy chứa ((2R,3S,5R)-5-(4-aminoimidazo[2,1-f][1,2,4] triazin-7-yl)-3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (150 mg, 0,385 mmol) trong THF khan (5 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 16 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC & LCMS. Hỗn hợp thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột silica gel sử dụng DCM/MeOH (24/1) để tạo ra hợp chất **22** nêu ở đề mục. LC-MS: (ES, m/z): 309,00 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,21 (br s, 1H), 8,14 (br s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 5,53 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,34 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,07 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,35 (q, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,56 (dd, *J* = 5,6 Hz, *J* = 12,0 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 7,0 Hz, *J* = 11,8 Hz, 1H), 3,41 (s, 1H), 2,46-2,41 (m, 1H), 2,28-2,21 (m, 1H).

Ví dụ 23: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (23)



Bước 1: Tổng hợp (3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl) tetrahydrofuran-2-ol:

Phun dietyl(xyanometyl)phosphonat (11,88 g, 67,1 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút vào huyền phù được khuấy chứa NaH 60% được phân tán trong dầu khoáng (1,878 g, 46,9 mmol) trong DME khan (dimetylete) (150 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được làm ấm đến 25°C và duy trì trong 0,5 giờ và sau đó thêm nhỏ giọt dung dịch chứa (3*R*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-ol (14,1 g, 33,5 mmol) trong DME khô (100 mL) kèm khuấy ở 0°C trong 30 phút. Lại làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và duy trì trong 2 giờ. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng H₂O (300 mL) và chiết

bằng Et₂O (3 × 500 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (500 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (5%-20% EtOAc trong ete dầu mỏ) tạo ra 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)axetonitril. LC-MS: (ES, *m/z*): 444,21 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 7,33-7,31 (m, 15H), 4,63-4,43 (m, 6H), 4,25-4,13 (m, 2H), 3,95 (dd, *J* = 3,0 Hz, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,77 (dd, *J* = 5,4 Hz, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,53-3,45 (m, 2H), 2,78-2,75 (m, 0,4 H), 2,66 (dd, *J* = 4,8 Hz, *J* = 16,8 Hz, 0,8 H), 2,50 (dd, *J* = 4,8 Hz, *J* = 16,8 Hz, 0,8 H).

Bước 2: Tổng hợp 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-(dimethylamino)acrylonitril

Phun DMF khô (2,54 mL, 32,8 mmol) sau đó là 1-*tert*-butoxy-*N,N,N,N*-tetramethylmetandiamin (19,80 g, 114 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)axetonitril (12,6 g, 28,4 mmol) trong DCM (90 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (15%-35% EtOAc trong ete dầu mỏ) để tạo ra 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-(dimethylamino)acrylonitril. LC-MS: (ES, *m/z*): 499,25 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 7,33-7,30 (m, 15H), 6,47 (s, 1H), 4,65-4,53 (m, 6H), 4,32 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,19-4,15 (m, 1H), 4,00-3,90 (m, 2H), 3,59-3,46 (m, 2H), 3,04 (s, 6H).

Bước 3. Tổng hợp 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-hydrazinylacrylonitril

Thêm lần lượt hydrazin hydrat (21,15 g, 647 mmol), H₂O (3,0 mL, 167 mmol) và hydrazin hydroclorua (2,66 g, 38,8 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-(dimethylamino)acrylonitril (12,9 g, 25,9 mmol) trong MeOH (90 mL). Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 65°C và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp cuối cùng được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được

pha loãng bằng H₂O (500 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 500 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (500 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phân lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-hydrazinylacrylonitril, được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 486,23 [M + H]⁺.

Bước 4: Tổng hợp 4-[(2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-[(benzyloxy)metyl]oxolan-2-yl]-1*H*-pyrazol-5-amin

Đặt 2-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-3-hydrazinylacrylonitril (18 g, 37,1 mmol) vào bình đáy tròn dung tích 1000-mL sau đó phun ACN (200 mL). Hỗn hợp được hồi lưu trong 48 giờ. Cô đặc hỗn hợp thu được trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng MeOH/DCM (2% đến 10% MeOH trong DCM) để tạo ra 4-[(2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-[(benzyloxy)metyl]oxolan-2-yl]-1*H*-pyrazol-5-amin. LC-MS: (ES, *m/z*): 486,23 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 7,40-7,24 (m, 16H), 4,97 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,68 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 4,62-4,44 (m, 5H), 4,24-4,22 (m, 1H), 4,10-4,04 (m, 2H), 3,71 (dd, *J* = 3,0 Hz, *J* = 10,2 Hz, 1H), 3,63-3,50 (m, 1H).

Bước 5. Tổng hợp 8-((2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-amin

Thêm trimetoxymetan (505 g, 4757 mmol) vào hỗn hợp khuấy chứa xyanamit (50 g, 1189 mmol) và hỗn hợp được gia nhiệt đến 105°C và khuấy trong 5 phút. Phun axit formic (4,38 g, 95 mmol) vào ở nhiệt độ 105°C trong 5 phút. Sau khi khuấy dung dịch thu được ở 105°C trong 5 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh xuống đến nhiệt độ trong phòng. Lọc chất rắn và phân lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Sản phẩm được thu gom bằng cách chưng cất (0,1 mm Hg, 60°C đến 70°C) để tạo ra (E)-metyl N-xanoformimidat (50 g, 0,595 mol).

Thêm dung dịch chứa 4-((3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)-1*H*-pyrazol-5-amin (21 g, 43,2 mmol) trong toluen (30 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa (E)-metyl

N-xanoformimidat (21,82 g, 259 mmol) trong toluen (150 mL) trong khí quyển argon. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 90°C và khuấy trong 20 giờ. Dung dịch thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (30% đến 50% EtOAc trong ete dầu mỏ) tạo ra 8-((2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, *m/z*): 538,24 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,05 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,31-7,23 (m, 15H), 6,67 (br s, 2H), 5,33 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,67-4,50 (m, 6H), 4,35-4,29 (m, 2H), 4,15-4,11 (m, 1H), 3,72 (dd, *J* = 3,9 Hz, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,62 (dd, *J* = 4,2 Hz, *J* = 10,8 Hz, 1H).

Bước 6: Tổng hợp (2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol

Thêm paladi hydroxit 20% trên cacbon vào hỗn hợp khuấy chứa 8-((2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-amin (10 g, 18,60 mmol) trong AcOH (250 mL). Hỗn hợp được nạp hydro (1,5-2 atm) và khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 14 giờ. Chất rắn được lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được nghiền với DCM (150 mL) để tạo ra kết tủa màu trắng. Thu gom kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng DCM và làm khô trong chân không qua đêm để tạo ra (2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol. LC-MS: (ES, *m/z*): 268,10 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,76 (br s, 1H), 8,41 (br s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 4,96-4,91 (m, 2H), 4,86-4,81 (m, 2H), 4,20 (q, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,98 (q, *J* = 4,5 Hz, 1H), 3,78 (q, *J* = 3,9 Hz, 1H), 3,61-3,55 (m, 1H), 3,49-3,43 (m, 1H).

Bước 7: Tổng hợp (6*aR*,8*S*,9*S*,9*aS*)-8-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-*f*][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol

Phun 1,3-diclo-1,1,3,3-tetraisopropyldisiloxan (2,86 g, 9,06 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 4 phút vào dung dịch khuấy chứa (2*S*,3*R*,4*S*,5*R*)-2-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5] triazin-8-yl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3,4-diol (2,2 g, 8,23 mmol) và 1*H*-imidazol (1,681 g, 24,70 mmol) trong DMF khô

(100 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy trong 3 giờ. Phần cặn được pha loãng bằng H₂O (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 50 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2 × 50 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (30%-50% EtOAc trong ete dầu mỏ) để tạo ra (6a*R*,8*S*,9*S*,9a*S*)-8-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-*f*][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol. LC-MS: (ES, *m/z*): 510,25 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,72 (br s, 1H), 8,42 (br s, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 5,08 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 4,91 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 4,41 (dd, *J* = 5,4 Hz, *J* = 8,1 Hz, 1H), 4,30-4,28 (m, 1H), 3,99-3,86 (m, 3H), 1,04-1,00 (m, 28H).

Bước 8: Tổng hợp 8-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-*f*][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-amin

Thêm 1,1'-thiocarbonyldiimidazol (1,704 g, 9,56 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch khuấy chứa (6a*R*,8*S*,9*S*,9a*S*)-8-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-*f*][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-9-ol (3,90 g, 7,65 mmol) trong DCE khô (120 mL) trong khí quyển argon. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 85°C và khuấy trong 1,5 giờ. TLC thể hiện nucleosit ban đầu đã phản ứng hết. Dung dịch thu được được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra chất trung gian imidazolyl thô được hoà tan lại ngay trong toluen đã khử khí (120 mL) trong khí quyển argon. Thêm AIBN (1,88 g, 11,48 mmol) sau đó phun tributylstanan (4,45 g, 15,30 mmol) ở nhiệt độ 25°C trong 2 phút. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 80°C và khuấy trong 3 giờ. Dung dịch thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (30%-50% EtOAc trong ete dầu mỏ) tạo ra 8-((6a*R*,8*R*,9a*S*)-2,2,4,4-tetraisopropyltetrahydro-6*H*-furo[3,2-*f*][1,3,5,2,4] trioxadisiloxin-8-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, *m/z*): 494,25 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,18 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 6,61 (br s, 2H), 5,40 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,70-4,65 (m, 1H), 4,10 (dd, *J* = 3,0 Hz, *J* = 10,8 Hz, 1H), 3,95-3,81 (m, 2H), 2,52-2,38 (m, 2H), 1,08-1,05 (m, 28H).

Bước 9: Tổng hợp (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-8-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol

Phun dung dịch HF-Pyridin (1,5 mL, 11,65 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa 8-((6aR,8R,9aS)-2,2,4,4-tetraisopropyl tetrahydro-6H-furo[3,2-f][1,3,5,2,4]trioxadisiloxin-8-yl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-amin (1,5 g, 3,04 mmol) trong THF khan (35 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được làm ấm đến 25°C và khuấy trong 4 giờ. Hỗn hợp thu được được trung hòa bằng cách bổ sung NaHCO₃ rắn và sau đó pha loãng bằng MeOH (30 mL). Chất rắn không hòa tan được lọc. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm và sau đó nghiền với EtOAc (20 mL). Kết tủa màu trắng được tạo thành và được thu gom bằng cách lọc sau đó làm khô trong chân không qua đêm để tạo ra (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-8-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol. LC-MS: (ES, *m/z*): 252,10 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,71 (br s, 1H), 8,39 (br s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 5,25 (q, *J* = 5,4 Hz, 1H), 5,03 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,87 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,26-4,24 (m, 1H), 3,76-3,74 (m, 1H), 3,52-3,40 (m, 2H), 2,32-2,22 (m, 1H), 2,04-1,98 (m, 1H)

Bước 10: Tổng hợp 8-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-amin

Thêm TBS-Cl (972 mg, 6,45 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong 1 phút vào dung dịch khuấy chứa (2R,3S,5R)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-a][1,3,5] triazin-8-yl)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (540 mg, 2,149 mmol) và 1H-imidazol (512 mg, 7,52 mmol) trong DMF (10 mL) trong khí quyển argon. Làm ấm hỗn hợp thu được đến 25°C và khuấy trong 2 giờ. Dung dịch thu được được pha loãng bằng H₂O (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 50 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2 × 50 mL), làm khô bằng Na₂SO₄ khan, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng EtOAc/ete dầu mỏ (20% EtOAc trong ete dầu mỏ) để tạo ra 8-((2R,4S,5R)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-amin. LC-MS: (ES, *m/z*): 480,27 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,18 (s, 1H), 8,10 (s, 1H), 6,80 (br s, 2H),

5,49 (q, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,51 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,98 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,74 (dd, $J = 3,8$ Hz, $J = 10,6$ Hz, 1H), 3,63 (dd, $J = 6,4$ Hz, $J = 10,8$ Hz, 1H), 2,39-2,32 (m, 1H), 2,22-2,17 (m, 1H), 0,93-0,92 (m, 18H), 0,11-0,05 (m, 12H).

Bước 11: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol

Phun dung dịch đã làm lạnh trước chứa TFA/H₂O (8 mL, thể tích/thể tích, 1/1) ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa 8-((2*R*,4*S*,5*R*)-4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)metyl)tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-*a*][1,3,5] triazin-4-amin (800 mg, 1,667 mmol) trong THF (16 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 1,5 giờ. Quá trình phản ứng được quan sát bằng TLC. Dung dịch thu được được bay hơi đồng thời với toluen (3 × 50 mL) ở nhiệt độ dưới 25°C và phần cặn được hòa tan lại trong MeOH/DCM (20 mL, thể tích/thể tích, 1/2) và hỗn hợp được trung hòa bằng NaHCO₃ rắn. Lọc chất rắn và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng MeOH/DCM (2% đến 10% MeOH trong DCM) để tạo ra ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol. LC-MS: (ES, m/z): 366,19 [$M + H$]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, ppm): δ 8,70 (br s, 1H), 8,38 (br s, 1H), 8,19 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 5,24 (q, $J = 5,4$ Hz, 1H), 4,92 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,42 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,75 (dd, $J = 3,6$ Hz, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,46-3,43 (m, 2H), 2,39-2,30 (m, 1H), 2,00-1,94 (m, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 12: Tổng hợp (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (804 mg, 2,87 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào huyền phù được khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-yl)metanol (350 mg, 0,958 mmol) trong ACN khan (40 mL) trong khí quyển argon. Gia nhiệt hỗn hợp thu được đến 80°C và khuấy trong 1 giờ. Lọc chất rắn. Phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt, được sử dụng trực tiếp cho

bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, m/z): 364,17 $[M + H]^+$.

Bước 13: Tổng hợp ((3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol

Phun dung dịch formaldehyt chứa nước 37% (5 mL), sau đó phun dung dịch NaOH chứa nước (5 mL, 2N) ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút vào dung dịch khuấy chứa (2*S*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (349 mg, 0,960 mmol) trong 1,4-dioxan (25 mL) trong bình đáy tròn dung tích 100 mL. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Khi lượng nucleosit ban đầu đã tiêu thụ hết, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng AcOH (~ 0,5 mL). Hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc (50 mL) và lần lượt rửa bằng H₂O (2 × 20 mL), NaHCO₃ chứa nước (bão hòa, 2 × 20 mL) và nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong EtOH khan (40 mL) và thêm từng phần natri tetrahydroborat (72,6 mg, 1,920 mmol) vào ở nhiệt độ 0°C trong khí quyển argon. Sau khi khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 16 giờ, hỗn hợp phản ứng được trung hòa bằng AcOH (~ 0,2 mL) và cô đặc trong áp suất giảm. Phân tách phần cặn giữa CHCl₃ (30 mL) và H₂O (15 mL). Lớp chứa nước được chiết lại bằng CHCl₃ (2 × 15 mL). Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô bằng Na₂SO₄, lọc và phần lọc được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng MeOH/DCM (3,5% MeOH trong DCM) để tạo ra ((3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol. LC-MS: (ES, m/z): 396,20 $[M + H]^+$. ¹H-NMR: (300 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,70 (br s, 1H), 8,38 (br s, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 5,30 (dd, *J* = 5,1 Hz, *J* = 11,1 Hz, 1H), 4,84 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 4,22 (dd, *J* = 5,1 Hz, *J* = 6,3 Hz, 1H), 3,62-3,48 (m, 3H), 3,41-3,31 (m, 1H), 2,57-2,50 (m, 1H), 1,95 (dd, *J* = 5,1 Hz, *J* = 12,6 Hz, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,11 (s, 6H).

Bước 14: Tổng hợp (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt

Thêm IBX (404 mg, 1,441 mmol) ở nhiệt độ 25°C vào huyền phù được khuấy chứa ((3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)tetrahydrofuran-2,2-diyl)dimetanol (190 mg, 0,480 mmol) trong ACN/DMSO (8 mL, thể tích/thể tích, 10/1) trong khí quyển argon. Khuấy hỗn hợp thu được ở 30°C trong 7 giờ. Lọc chất rắn. Phân lọc được cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt được sử dụng trực tiếp cho bước phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LC-MS: (ES, *m/z*): 394,18 [M + H]⁺.

Bước 15: Tổng hợp ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol

Thêm K₂CO₃ (199 mg, 1,441 mmol) sau đó phun dung dịch chứa dimetyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonat (185 mg, 0,961 mmol) trong MeOH (1,5 mL) ở nhiệt độ 0°C trong 3 phút vào dung dịch khuấy chứa (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5] triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbaldehyt (189 mg, 0,480 mmol) trong MeOH khô (6 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm dần dần đến 25°C và sau đó khuấy ở 25°C trong 16 giờ. Cô đặc hỗn hợp thu được trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng MeOH/DCM (2% đến 10% MeOH trong DCM) để tạo ra ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-3-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etylnyltetrahydrofuran-2-yl)metanol. LC-MS: (ES, *m/z*): 390,19 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃, *ppm*): δ 8,17 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 6,43 (br s, 2H), 5,54 (dd, *J* = 5,7 Hz, *J* = 10,5 Hz, 1H), 4,61 (d, *J* = 4,2 Hz, 1H), 3,97 (d, *J* = 12,3 Hz, 1H), 3,76 (d, *J* = 12,0 Hz, 1H), 2,70-2,61 (m, 1H), 2,54 (s, 1H), 2,20-2,14 (m, 1H), 0,95 (s, 9H), 0,12 (d, *J* = 6,0 Hz, 6H).

Bước 16: (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (23)

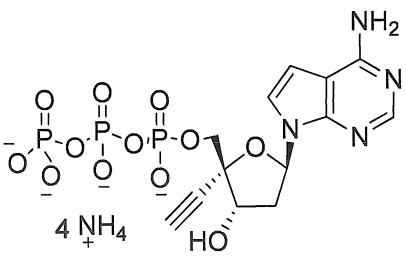
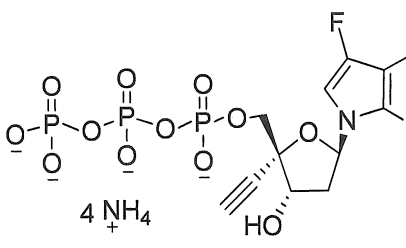
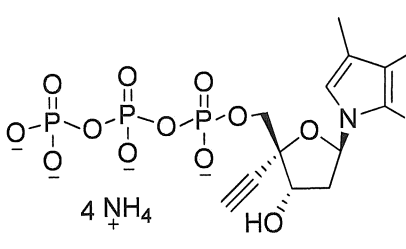
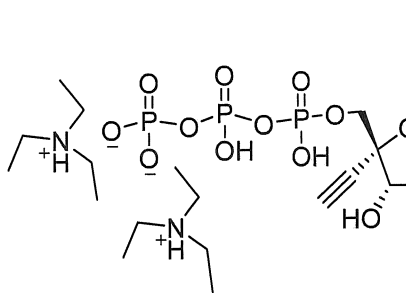
Phun dung dịch TBAF THF (0,462 mL, 0,462 mmol, 1,0M) ở nhiệt độ 0°C trong 2 phút vào dung dịch khuấy chứa ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5] triazin-8-yl)-3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-2-etynyltetrahydrofuran-2-yl)metanol (120 mg, 0,308 mmol) trong THF (5 mL) trong khí quyển argon. Hỗn hợp được khuấy ở 20°C trong 26 giờ. Hỗn hợp thu được được cô đặc trong áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột nhanh silica gel sử dụng MeOH/DCM (5% đến 10% MeOH trong DCM) để tạo ra sản phẩm thô. Sản phẩm thô (90 mg) được tinh chế tiếp bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau (1#-Pre-HPLC-011(Waters)): Cột, X-bridge C18 19 × 150 mm; pha động, nước với NH₄HCO₃ (10 mmol/L) và ACN (4% ACN lên đến 9% trong 6 phút, giữ ở mức 95% trong 2 phút, giảm xuống 5% trong 2 phút); Máy dò, UV 254 & 220 nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh qua đêm để tạo ra (2*R*,3*S*,5*R*)-5-(4-aminopyrazolo[1,5-*a*][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etynyl-2-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-3-ol. LC-MS: (ES, *m/z*): 276,10 [M + H]⁺. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 8,71 (br s, 1H), 8,43 (br s, 1H), 8,20 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 5,36 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,26-5,22 (m, 2H), 4,34 (dd, *J* = 4,8 Hz, *J* = 11,2 Hz, 1H), 3,58 (dd, *J* = 5,2 Hz, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,49 (dd, *J* = 7,6 Hz, *J* = 11,6 Hz, 1H), 3,37 (s, 1H), 2,44-2,37 (m, 1H), 2,16-2,12 (m, 1H).

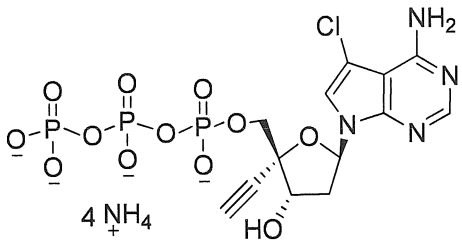
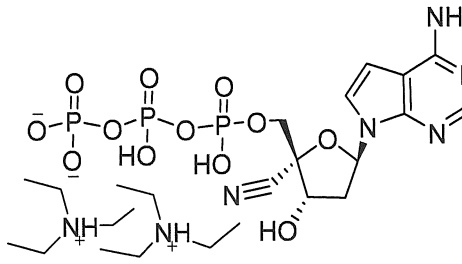
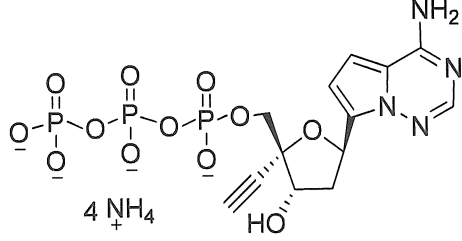
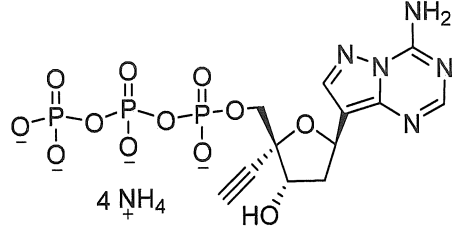
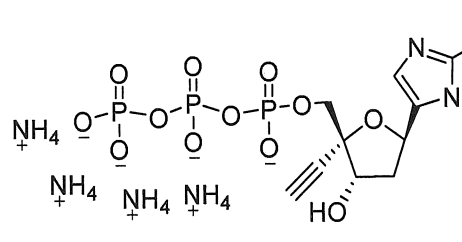
Thử nghiệm RT Polymeraza

Protein RT kiểu dài có chiều dài đầy đủ và 2 protein RT bị đột biến được biểu hiện trong các tế bào *Escherichia coli* BL21(DE3) và được tinh chế. Tóm lại, chất nền axit nucleic dị dime được sử dụng trong các phản ứng RT polymeraza của HIV-1 được tạo ra bằng cách ghép đoạn môi ADN được biotinyl hóa vào khuôn mẫu nucleotit ARN 500. Enzym RT của HIV-1 (nồng độ cuối 50 pM) được kết hợp với chất ức chế hoặc DMSO (10% DMSO trong hỗn hợp phản ứng cuối cùng) trong đệm thử nghiệm (62,5 mM Tris-HCl, độ pH 7,8, 1,25 mM dithiothreitol, 7,5 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0,03% CHAPS, 0,125 mM EGTA). Hỗn hợp này được ủ trước trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng trong các đĩa vi độ chuẩn. Phản ứng polyme hóa được khơi mào bằng cách bổ sung khuôn mẫu/chất nền môi (nồng độ cuối: 16,6 nM) và dNTP (nồng độ cuối: 2 μM dCTP, dGTP, dATP, và 66,6 nM Ru-dUTP). Sau 90 phút ủ ở nhiệt độ 37°C, dừng phản ứng bằng cách bổ sung

EDTA (25 mM). Ủ hỗn hợp thu được trong 5 phút nữa ở nhiệt độ trong phòng sau đó chuyển dung dịch (50 μ L) vào đĩa avidin đã phong bế của Meso Scale Discovery (MSD). Ủ hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút trước khi định lượng sản phẩm phản ứng bằng thiết bị chụp hình ECL 6000. Số liệu thu được được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2

Ví dụ số	Cấu trúc	dNTP IC ₅₀ (nM)
13		933
14		210
15		6237
16		1820

17		842
18		4150
19		3542
20		1292
21		905

Thử nghiệm Viking/CTG

Thử nghiệm Viking:

Đánh giá hiệu lực kháng virus trong thử nghiệm lây nhiễm HIV-1 đa vòng.

Sự sao chép HIV-1 được theo dõi bằng cách sử dụng hệ vô tính MT4-gag-GFP D3 (dưới đây được gọi là MT4-GFP), là các tế bào MT-4 được biến đổi để chứa gen thông báo GFP, sự biểu hiện của gen này phụ thuộc vào các protein biểu hiện HIV-

l tat và rev. Sự lây nhiễm phát sinh của tế bào MT4-GFP có HIV-1 dẫn đến sự biểu hiện GFP trong khoảng 24 giờ sau khi lây nhiễm.

Tế bào MT4-GFP được giữ ở 37°C/5% CO₂/90% độ ẩm tương đối trong RPMI 1640 bổ sung 10% huyết thanh thai bò, 100 U/mL penixilin/streptomycin, và 400µg/mL G418 để giữ gen thông báo. Để gây nhiễm, tế bào MT4-GFP được đặt vào cùng môi trường thiếu G418 và để gây nhiễm qua đêm với virus H9IIIB ở khoảng liều gây nhiễm 0,01 trong cùng điều kiện ủ. Sau đó tế bào này được rửa và được tạo huyền phù lại trong RPMI 1640 chứa 10% hoặc 50% huyết thanh người bình thường ở $1,6 \times 10^5$ tế bào/mL (điều kiện 10% hoặc 50% NHS) hoặc trong 100% huyết thanh người bình thường ở 2×10^5 tế bào/mL (điều kiện 100% NHS). Chuẩn bị các đĩa chứa hợp chất bằng cách phân tán hợp chất tan trong DMSO vào các lỗ của đĩa 384 lỗ phủ poly D lysin (0,2µl/lỗ) sử dụng dụng cụ định lượng bằng âm thanh ECHO. Mỗi hợp chất được thử nghiệm trong dãy pha loãng lần lượt 3 lần 10 điểm (nồng độ cuối cùng thông thường: 8,4 µM – 0,43 nM). Đối chứng không bao gồm chất ức chế (chỉ có DMSO) và sự kết hợp ba chất kháng virus (efavirenz, indinavir, và chất ức chế sự chuyển sợi integrase ở nồng độ cuối 4µM cho mỗi hợp chất). Tế bào được thêm (50µL/lỗ) vào đĩa chứa hợp chất và tế bào đã nhiễm được duy trì ở 37°C/5% CO₂/90% độ ẩm tương đối.

Tế bào đã nhiễm được định lượng ở hai thời điểm, ~48 giờ và ~ 72 giờ sau khi lây nhiễm, bằng cách đếm số tế bào xanh lục trong mỗi lỗ sử dụng máy quét Acumen eX3. Số lượng tế bào xanh lục tăng lên trong thời gian ~24 giờ tạo ra hệ số lây nhiễm, R₀, thường bằng 5-15 và trong thực nghiệm hệ số này được biết là ở pha logarit (số liệu không được thể hiện). Mức độ ức chế R₀ được tính toán cho mỗi lỗ, và các IC₅₀ xác định từ sự hiệu chỉnh đường cong phi tuyến 4 thông số.

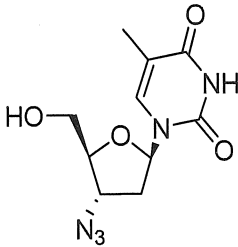
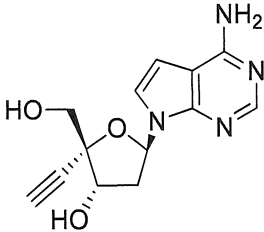
Thử nghiệm CTG:

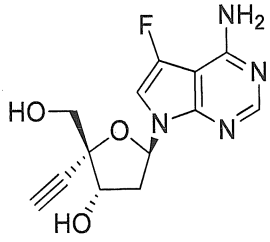
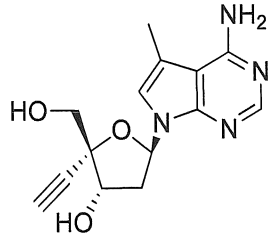
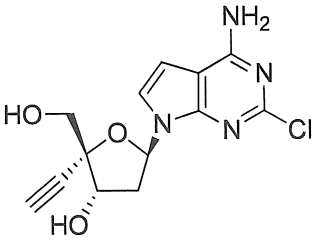
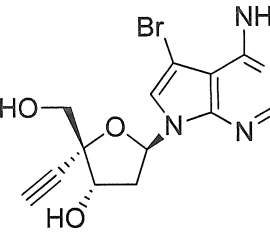
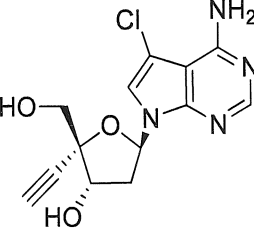
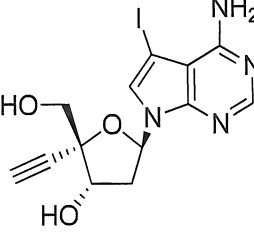
Đánh giá độ gây độc tế bào trong thử nghiệm đánh giá khả năng sống sót của tế bào phát quang CellTiter-Glo (CTG).

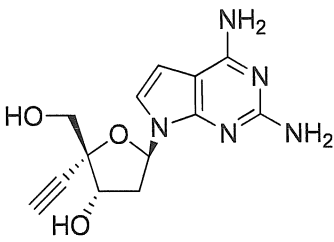
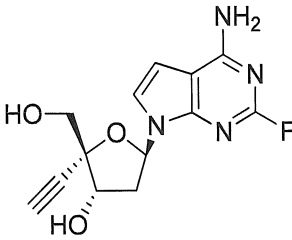
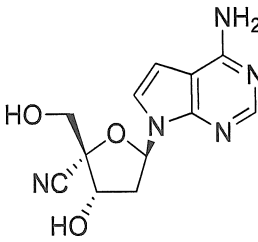
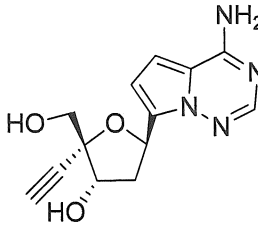
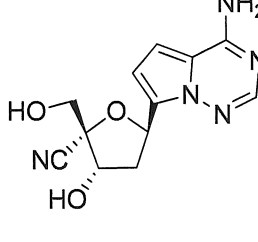
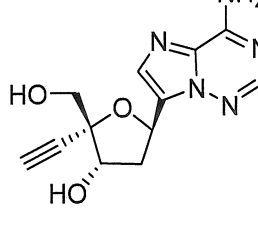
Gieo mầm tế bào MT4-GFP trong RPMI 1640 bổ sung 10% huyết thanh thai bò, 100 U/mL penixilin/streptomycin qua đêm ở nhiệt độ 37°C/5% CO₂/90% độ ẩm tương đối. Sau đó tế bào này được rửa và được tạo huyền phù lại trong

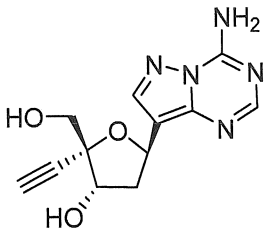
RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh người bình thường ở mật độ $0,8 \times 10^5$ tế bào/mL. Các đĩa chứa hợp chất được chuẩn bị bằng cách phân tán hợp chất tan trong DMSO vào các lỗ của đĩa rắn màu đen có 384 lỗ (Corning 3571) sử dụng dụng cụ định lượng bằng âm thanh ECHO ($0,2\mu\text{L}/\text{lỗ}$). Mỗi lỗ được thử nghiệm trong dãy pha loãng lần lượt 3 lần 10 điểm (nồng độ cuối: $8,4 \mu\text{M} - 0,43 \text{ nM}$). Đối chứng bao gồm DMSO. Tế bào được thêm ($50\mu\text{L}/\text{lỗ}$) vào đĩa chứa hợp chất và được duy trì ở $37^\circ\text{C}/5\% \text{ CO}_2/90\%$ độ ẩm tương đối. Thuốc thử CTG (Promega, G7573) được thêm vào đĩa tế bào sau 48 giờ ủ theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tín hiệu phát quang được ghi lại trên máy đọc đĩa EnVision (PerkinElmer). LD_{50} được xác định từ sự hiệu chỉnh đường cong phi tuyến 4 thông số. Số liệu thu được được thể hiện ở Bảng 3 với đối chứng là chất ức chế transcriptaza ngược của HIV nucleosit AZT có bán ngoài thị trường (azidothymidin, zidovudin).

Bảng 3

	Cấu trúc	Viking, IC_{50} (10%NHS)(nM)	CTG (μM)
AZT		37	$>8,4$
Ví dụ số	Cấu trúc	Viking, IC_{50} (10%NHS)(nM)	CTG (μM)
1		1,3	$>8,4$

2		1,6	>8,4
3		485	>8,4
4		4,0	>8,4
5		209	>8,4
6		128	>8,4
7		1030	>8,4

8		194	>8,4
9		10,2	>8,4
10		128	>8,4
11		17,2	>8,4
12		735	>8,4
22		38	>8,4

23		64	>8,4
----	---	----	------

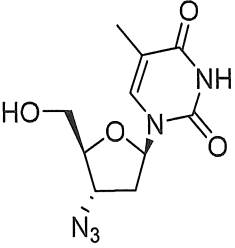
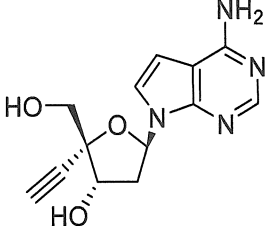
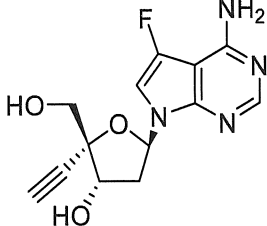
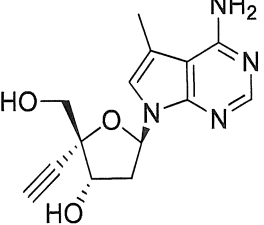
Độ ổn định của hoạt tính kháng virus

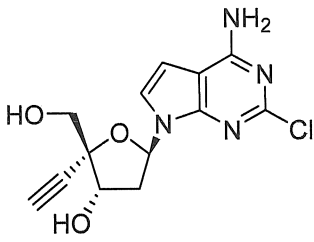
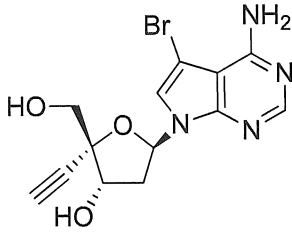
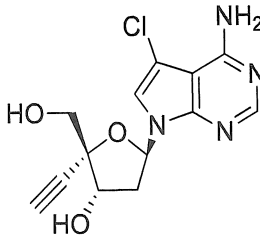
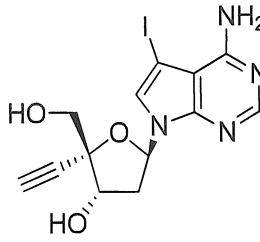
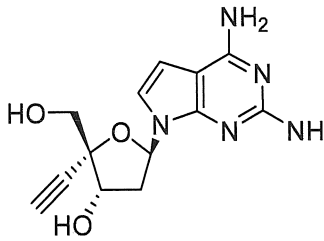
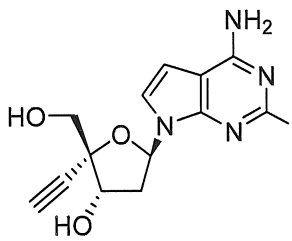
Sự sao chép HIV-1 được quan sát bằng cách sử dụng hệ vô tính MT4-gag-GFP D3 (dưới đây ký hiệu là MT4-GFP), là các tế bào MT-4 biến đổi để chứa gen thông báo GFP, sự biểu hiện của nó phụ thuộc vào các protein biểu hiện HIV-1 tat và rev. Sự lây nhiễm phát sinh của tế bào MT4-GFP với HIV-1 dẫn đến sự biểu hiện GFP ở khoảng 24 giờ sau khi nhiễm. Tế bào MT4-GFP được duy trì ở 37°C/5% CO₂/90% độ ẩm tương đối trong RPMI 1640 bổ sung 10% huyết thanh thai bò, 100 U/mL penicillin/streptomycin, và 400 µg/mL G418 để duy trì gen thông báo. Đối với thử nghiệm độ bền ở thời điểm 72 giờ (đĩa 72 giờ) và thử nghiệm đối chứng ở thời điểm 24 giờ (đĩa 24 giờ), các tế bào MT4-GFP được rửa và được tạo huyền phù lại trong RPMI 1640 chứa 10% huyết thanh người bình thường ở 1,6 x 10⁵ hoặc 2,4 x 10⁵ tế bào/mL (10% NHS). Đĩa chứa hợp chất được điều chế bằng cách phân tán hợp chất tan trong DMSO vào các lỗ của đĩa nuôi cấy tế bào 384 lỗ (0,205 µl/lỗ) sử dụng dụng cụ định lượng bằng âm thanh ECHO. Mỗi hợp chất được thử nghiệm trong dãy pha loãng lần lượt 3 lần 10 điểm (nồng độ cuối thông thường: 4,2 µM – 0,21 nM). Đối chứng không chứa chất ức chế (chỉ có DMSO) và sự kết hợp ba chất kháng virus (efavirenz, indinavir, và chất ức chế sự chuyển sợi integrase ở nồng độ cuối 4 µM cho mỗi hợp chất). Tế bào được thêm (50 µL/lỗ) vào đĩa chứa hợp chất và được ủ ở 37°C/5% CO₂/90% độ ẩm tương đối trong 24 giờ. Tế bào được rửa bằng 5 x 40 µL RPMI 1640 bổ sung 10% NHS và 100 U/mL penicillin/streptomycin. Đĩa 72 giờ được quay trở lại lò ủ 37°C để ủ thêm 48 giờ nữa. 40 µL tế bào mỗi lỗ của đĩa 24 giờ hoặc đĩa 72 giờ (sau 48 giờ ủ sau khi rửa) được chuyển vào đĩa phủ poly-D-lysine. Sau đó, tế bào bị nhiễm virus H9IIIB ở khoảng liều gây nhiễm 0,1 trong cùng điều kiện ủ.

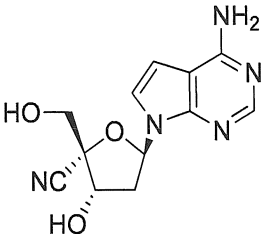
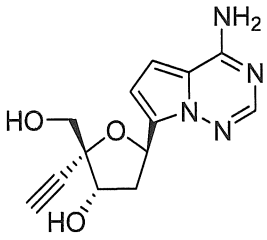
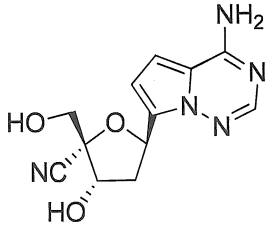
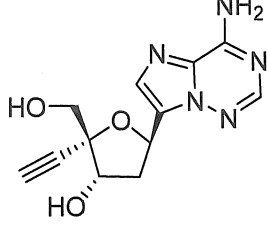
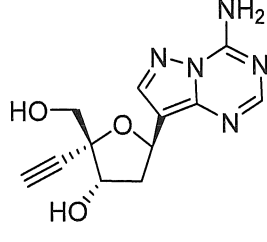
Tế bào đã nhiễm được định lượng ở ~24 giờ sau khi nhiễm, bằng cách đếm số tế bào xanh lục trong mỗi lỗ sử dụng máy quét Acumen eX3. Giá trị IC₅₀ đối với các hợp chất trong Bảng 4 được xác định từ sự hiệu chỉnh đường cong phi tuyến 4 thông số.

Thử nghiệm độ ổn định của hoạt tính kháng virus nghĩa là đánh giá độ ổn định của hoạt tính kháng virus khi loại bỏ nucleosit. Số liệu ở Bảng 4 minh họa độ ổn định của hoạt tính kháng virus của hợp chất theo sáng chế so với nucleosit AZT bán ngoài thị trường. Tài liệu công bố *AIDS Research and Therapy*, 2009, 6:5, nêu bật giá trị độ ổn định của hoạt tính kháng virus.

Bảng 4

	Cấu trúc	IC ₅₀ 24 giờ (nM)	IC ₅₀ 72 giờ (nM)	Số lần thay đổi IC ₅₀ 72giờ/24giờ
AZT		37	4713	127
Ví dụ số	Cấu trúc	IC ₅₀ 24 giờ (nM)	IC ₅₀ 72 giờ (nM)	Số lần thay đổi IC ₅₀ 72giờ/24giờ
1		0,8	36	45
2		6,6	193	29
3		470	2500	5,3

4		9,6	360	37,5
5		22000	>42000	>1,9
6		99	970	9,8
7		17000	17000	1
8		840	29000	34,5
9		37	270	7,3

10		170	1800	10,5
11		12,4	1950	157
12		880	25000	28
22		38	350	9,2
23		64	700	10,9

Chu kỳ bán hủy adenosin deaminaza (ADA)

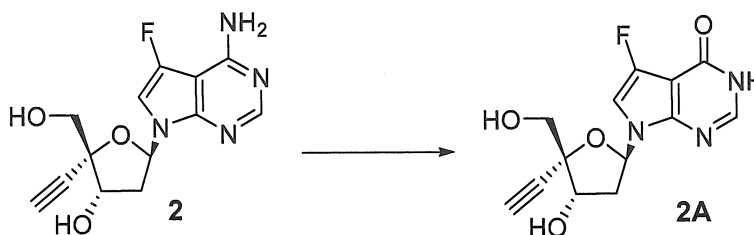
Số liệu ở Bảng 5 được tạo ra bằng cách cho hợp chất nền phản ứng với ADA typ 1 của người với sự có mặt của đệm Tris-HCl (độ pH 7,5) ở nhiệt độ 40°C và quan sát mức độ tiêu thụ nguyên liệu ban đầu bằng LCMS. Thời gian cần để chuyển hóa 50% thành sản phẩm inosin tương ứng được lưu ý ở dạng $T_{1/2}$ trên Bảng 5. Đã biết rằng quá trình khử amin bằng adenosin deaminaza làm giảm khả năng điều trị của chất ức chế nucleosit giống adenosin đặc biệt là in vivo (xem tài

liệu tham khảo dưới đây). Các hợp chất nêu ở Bảng 5 được thể hiện có các mức độ ổn định khác nhau đối với adenosin deaminaza khi so sánh với EDA ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol) và deoxyadenosin tự nhiên. Có khả năng các hợp chất kháng ADA tốt hơn sẽ có đặc trưng được động học tốt hơn.

Tài liệu tham khảo: Journal of Medicinal Chemistry 1996, 39, 19, 3847; Chemical Pharmaceutical Bulletin. 1994, 42, 8, 1688-1690; Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2013), 57(12), 6254-6264; Collection of Czechoslovak Chemical Communications (2006), 71(6), 769-787 Microbiologica (1995), 18(4), 359-70; J Antivir Antiretrovir S10.doi:10.4172/jaa.S10-002.

Chuyển hóa hợp chất 2 thành sản phẩm Inosin 2A

7-((2*R*, 4*S*, 5*R*)-5-etylnyl-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-flo-3*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-4(7*H*)-on (2A)



Phun đệm Tris-HCl (pH 7,5, 5 mL) vào bình đáy tròn dung tích 25-mL. Hỗn hợp được gia nhiệt đến hồi lưu trong 30 phút. Sau đó, làm nguội hỗn hợp đến 30°C và thêm (2*R*, 3*S*, 5*R*)-5-(4-amino-5-flo-7*H*-pyrolo[2,3-*d*]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol (hợp chất ví dụ 2, 7 mg, 0,024 mmol), sau đó bổ sung adenosin deaminaza (3 mg, ~ 33 đơn vị). Khuấy hỗn hợp thu được ở 40°C và khuấy trong 4 ngày. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không và phân cận được tinh chế bằng HPLC điều chế với các điều kiện sau: Cột: X-Bridge C18, 19*150 mm, 5 um; pha động, nước với 10 mmol amoni bicarbonat và axetonitril (6% axetonitril lên đến 30% trong 5 phút, giữ ở mức 95% trong 2 phút, giảm xuống 40% trong 2 phút); Máy dò, uv 254&220nm. Phân đoạn chứa sản phẩm được thu gom và làm khô lạnh để tạo ra hợp chất 2A nêu ở đề mục là chất rắn. ¹H-NMR: (400 MHz, *d*₆-DMSO, *ppm*): δ 11,58 (brs, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,22 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 6,44 (t, *J* = 5,8 Hz, 1H), 5,47 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 5,26-5,22 (m, 1H),

4,39-4,35 (m, 1H), 3,55-3,45 (m, 2H), 3,42 (s, 1H), 2,41-2,24 (m, 2H), ^{19}F -NMR: (376 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ -165,50 (s, 1F). LC-MS: (ES, m/z): 294,15 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Các quy trình chung được mô tả ở trên để sự chuyển hóa hợp chất 2 thành 2A được áp dụng cho mỗi trong số các hợp chất nền ở Bảng 5, và dẫn đến việc tạo ra sản phẩm inosin đối với Deoxy-adenosin và EDA, cũng như các sản phẩm inosin 1A, 2A, 11A, 22A, và 23A. Sử dụng các quy trình đã mô tả, sự chuyển hóa lần lượt các hợp chất 4, 8 và 9 thành 4A, 8A và 9A không được phát hiện (NA = chất nền không nhạy với adenosin deaminaza).

Hợp chất 1A: 7-((2R,4S,5R)-5-etynyl-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-2-yl)-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-4(7H)-on: ^1H -NMR: (400 MHz, CD_3OD , ppm): δ 8,31 (s, 1H), 7,37 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,68 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,62 (t, $J = 6,4$ Hz, 1H), 4,69 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,80 (dd, $J = 12,0$ Hz, $J = 30,0$ Hz, 2H), 3,09 (s, 1H), 2,67-2,54 (m, 2H). LC-MS: (ES, m/z): 276,00 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

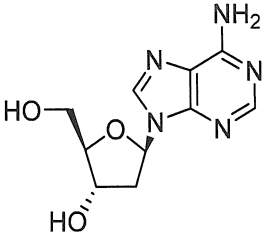
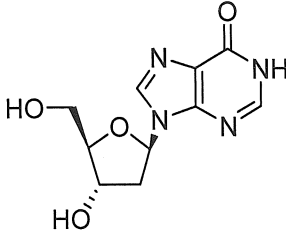
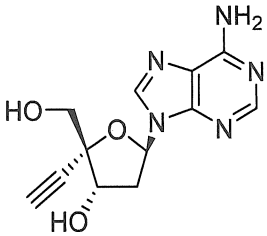
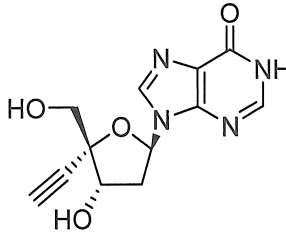
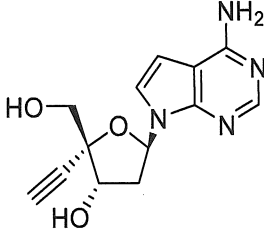
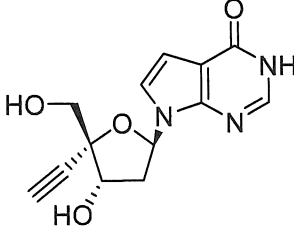
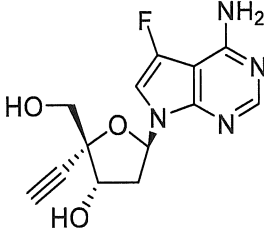
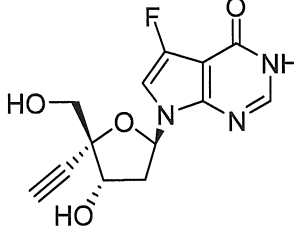
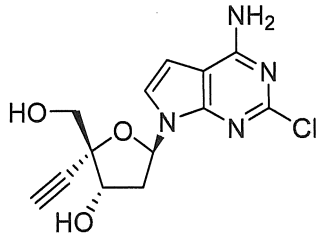
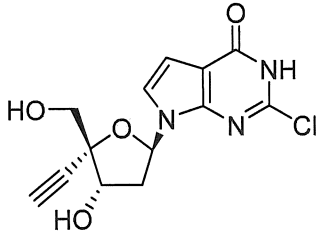
Hợp chất 11A: 7-((2R,4S,5R)-5-etynyl-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-2-yl)pyrido[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on: ^1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 10,25 (brs, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,83 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J = 4,2$ Hz, 1H), 5,53 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,31-5,25 (m, 1H), 5,09-5,05 (m, 1H), 4,31-4,27 (m, 1H), 3,55-3,45 (m, 2H), 3,33 (s, 1H), 2,35-2,18 (m, 2H). LC-MS: (ES, m/z): 298,00 $[\text{M} + \text{Na}]^+$.

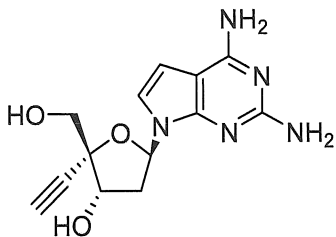
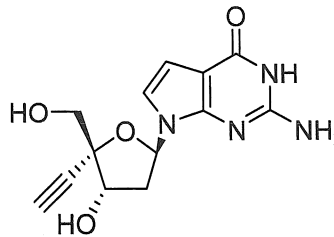
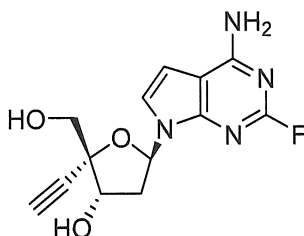
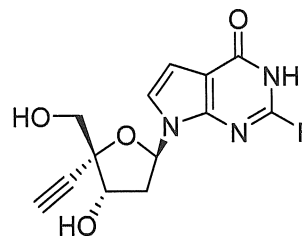
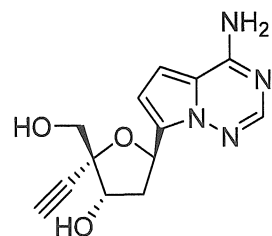
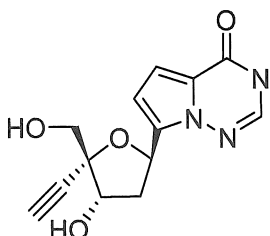
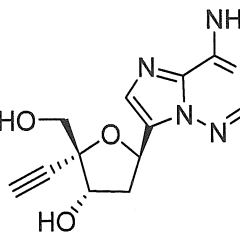
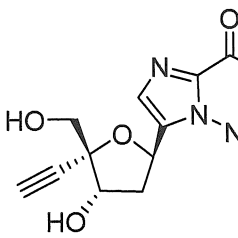
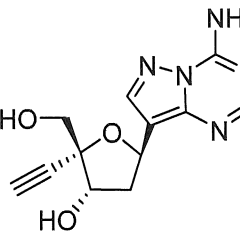
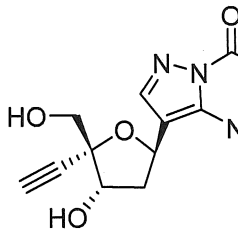
Hợp chất 22A: 7-((2R,4S,5R)-5-etynyl-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-2-yl)imidazo[2,1-f][1,2,4]triazin-4(3H)-on: ^1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,12 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 5,45 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 5,35 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,06 (brs, 1H), 4,33 (brs, 1H), 3,56 -3,46 (m, 2H), 3,32 (s, 1H), 2,42-2,33 (m, 1H), 2,28-2,22 (m, 1H). LC-MS: (ES, m/z): 277,10 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Hợp chất 23A: 8-((2R,4S,5R)-5-etynyl-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl) tetrahydrofuran-2-yl)pyrazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4(3H)-on: ^1H -NMR: (400 MHz, d_6 -DMSO, ppm): δ 8,08 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 5,30 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 5,25 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 5,24-5,11 (m, 1H), 4,32 (q, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,53 (dd, $J = 11,6$

Hz, $J_2 = 32,0$ Hz, 2H), 3,36 (s, 1H), 2,36-2,29 (m, 1H), 2,16-2,10 (m, 1H). LC-MS: (ES, m/z): 274,80 $[M - H]^-$.

Bảng 5

	Cấu trúc (chất nền)		Sản phẩm Inosin	$T_{1/2}$
Deoxy-adenosin				<10 phút
EDA				<60 phút
Ví dụ số	Cấu trúc (chất nền)	Inosin số	Sản phẩm Inosin	$T_{1/2}$
1		1A		12 ngày
2		2A		16 giờ
4		4A		NA

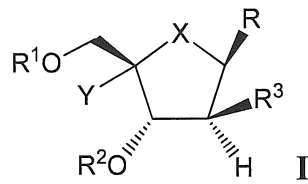
8		8A		NA
9		9A		NA
11		11A		3 giờ
22		22A		10 phút
23		23A		10 phút

Trong khi bản mô tả nêu trên cho thấy nguyên lý của sáng chế, với phần ví dụ nhằm mục đích minh họa, thì thực tế sáng chế bao gồm tất cả các biến đổi, điều chỉnh và/hoặc cải biến thông thường nằm trong phạm vi yêu cầu bảo hộ dưới đây. Việc mô tả hợp chất cụ thể trong yêu cầu bảo hộ (nghĩa là, dạng) mà không chỉ rõ cấu hình lập thể cụ thể, hoặc có chỉ rõ nhưng không phải tất cả các tâm bất đối, nhằm mục đích bao gồm raxemat, hỗn hợp raxemic, mỗi chất đồng phân đối ảnh riêng lẻ, hỗn hợp chất đồng phân không đối quang và mỗi chất đồng phân không

đối quang của hợp chất mà có thể có các dạng đồng phân này do sự có mặt của một hoặc nhiều tâm không đối xứng. Tất cả tài liệu công bố, bằng sáng chế và đơn sáng chế được trích dẫn ở đây để tham khảo.

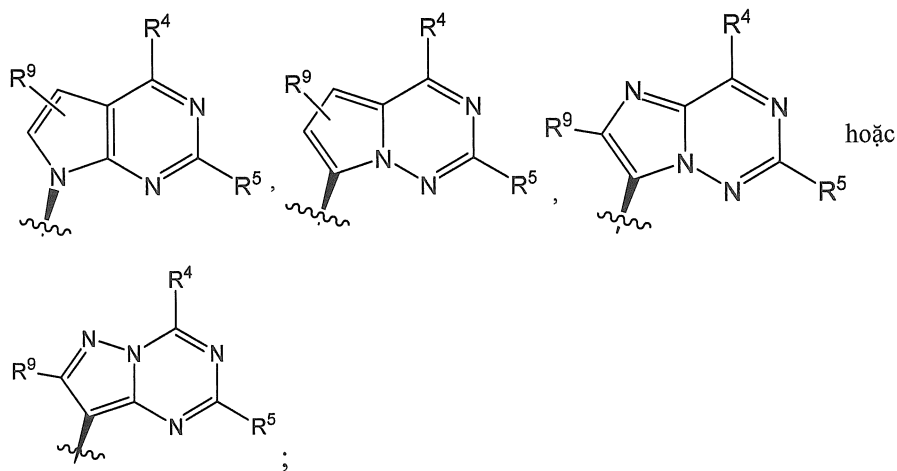
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

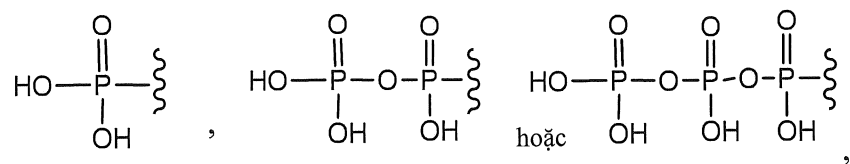
R là



X là O, S, CH₂ hoặc CF₂;

Y là -C≡C-R⁸ hoặc -C≡N;

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂,



hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là -H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂;

R³ là -H;

R⁴ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -CN, -NO₂, -N(R^X)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -OR^X, -CN, -NO₂, -N(R^X)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

mỗi **R⁶**, **R^{6a}** và **R^{6b}**, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -(C₁-C₃ alkylen)_m-(C₃-C₇ xycloalkyl), -(C₁-C₃ alkylen)_m-(aryl), -(C₁-C₃ alkylen)_m-(heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh), -(C₁-C₃ alkylen)_m-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh) hoặc -(C₁-C₃ alkylen)_m-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), trong đó mỗi trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm C₃-C₇ xycloalkyl, nhóm aryl, nhóm heteroxycloalkyl có 4 đến 7 cạnh, nhóm -(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh) hoặc nhóm heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh có thể tùy ý được thế bằng R⁷;

m là số nguyên được chọn từ 0 (không) hoặc 1;

R⁷ thể hiện từ một đến năm nhóm thế, mỗi nhóm thế độc lập được chọn từ -C₁-C₆alkyl, C₂-C₆ alkenyl, C₂-C₆ alkynyl, C₁-C₆ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl có 5-6 cạnh;

R⁸ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, aryl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh;

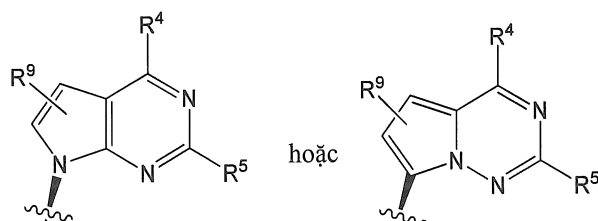
R⁹ là -H, halo, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -CN, -OR^Y hoặc -N(R^Y)₂;

R^X, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

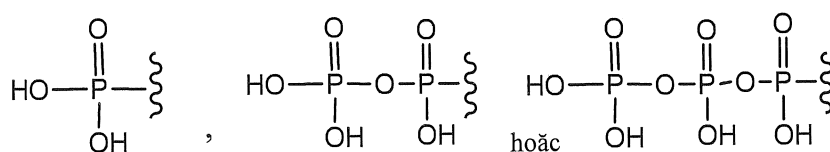
hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là -N(R^X)₂, mỗi R^X có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

R^Y là -H, -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl.

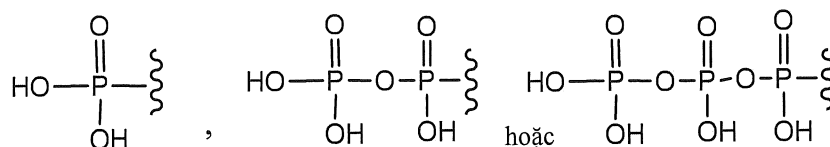
2. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R** là:



3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó: **R¹** là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂, hoặc dạng cải biến tiền được chất của



4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R¹** là:

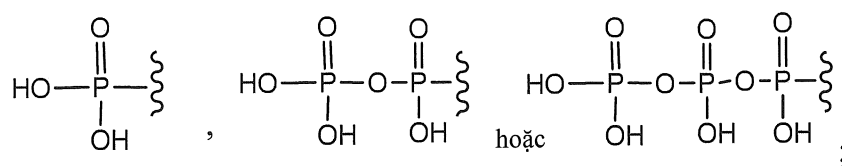


5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là O, S, CH₂ hoặc CF₂;

Y là $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^8$ hoặc $-\text{C}\equiv\text{N}$;

R¹ là $-\text{H}$,



R² là $-\text{H}$;

R³ là $-\text{H}$;

R⁴ là $-\text{H}$, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkenyl, $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkynyl, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ haloalkyl, $-\text{C}_3-\text{C}_7$ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}(\text{R}^x)_2$, $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{alkylen})$ -(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{alkylen})$ -(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, $-\text{NHC}(\text{O})\text{OR}^{6b}$, $-\text{N}(\text{C}(\text{O})\text{OR}^{6b})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{6b})_2$, hoặc $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{6b}$, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, nhóm $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkenyl hoặc nhóm $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là $-\text{H}$, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkenyl, $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkynyl, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ haloalkyl, $-\text{C}_3-\text{C}_7$ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, $-\text{OR}^x$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}(\text{R}^x)_2$, $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{alkylen})$ -(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), $-\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_6\text{alkylen})$ -(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh) hoặc aryl,

trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, nhóm $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkenyl hoặc nhóm $-\text{C}_2-\text{C}_6$ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁸ là $-\text{H}$, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ haloalkyl, $-\text{C}_3-\text{C}_7$ xycloalkyl, aryl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh;

R⁹ là $-\text{H}$, halo, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ haloalkyl, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^y$, hoặc $-\text{N}(\text{R}^y)_2$;

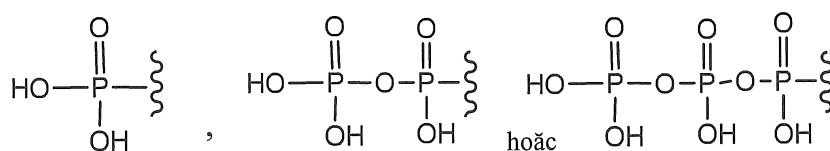
R^x, mỗi lần xuất hiện, độc lập được chọn từ -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₁-C₆ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là -N(R^x)₂, mỗi R^x có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

R^y là -H, -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl.

6. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H, -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂,



hoặc dạng cải biến tiền được chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là -H, -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂; và

R⁴ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -CN, -NO₂, -N(R^x)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm -C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

R⁵ là -H, -C₁-C₆ alkyl, -C₂-C₆ alkenyl, -C₂-C₆ alkynyl, -C₁-C₆ haloalkyl, -C₃-C₇ xycloalkyl, heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh, halo, -OR^x, -CN, -NO₂, -N(R^x)₂, -NH(C₁-C₆alkylen)-(heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh), -NH(C₁-C₆ alkylen)-(heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh), aryl, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}, trong đó mỗi nhóm trong số các nhóm

-C₁-C₆ alkyl, nhóm -C₂-C₆ alkenyl hoặc nhóm -C₂-C₆ alkynyl có thể tùy ý được thế bằng halo;

với điều kiện là một hoặc nhiều trong số **R¹**, **R²**, **R⁴** hoặc **R⁵** được chọn như sau:

R¹ là -C(O)R⁶, -C(O)OR⁶, -C(O)N(R⁶)₂ hoặc dạng cải biến tiền dược chất của mono-, di- hoặc triphosphat; và/hoặc

R² là -C(O)R^{6a}, -C(O)OR^{6a} hoặc -C(O)N(R^{6a})₂; và/hoặc

R⁴ là -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}; và/hoặc

R⁵ là -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}.

7. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **X** là O.

8. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **Y** là -C≡C-R⁸.

9. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R⁴** là -N(R^X)₂, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}.

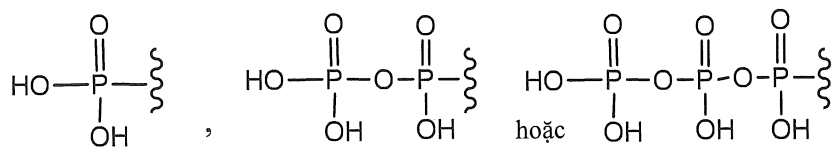
10. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R⁴** là -N(R^X)₂.

11. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R⁵** là -H, halo, -C₁-C₆ alkyl, -OR^X, -N(R^X)₂, -NHC(O)OR^{6b}, -N(C(O)OR^{6b})₂, -NHC(O)N(R^{6b})₂, hoặc -NHC(O)R^{6b}.

12. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R⁸** là -H.

13. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R⁹** là -H, halo, -C₁-C₃ alkyl, -C₁-C₃ haloalkyl, -CN, -OR^Y hoặc -N(R^Y)₂.

14. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó **R¹** là -H,



15. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là O;

Y là $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{R}^8$;

R³ là $-\text{H}$;

R⁴ là $-\text{N}(\text{R}^x)_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{OR}^{6b}$, $-\text{N}(\text{C}(\text{O})\text{OR}^{6b})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{6b})_2$, hoặc $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{6b}$;

R⁵ là $-\text{H}$, halo, $-\text{C}_1-\text{C}_6$ alkyl, $-\text{OR}^x$, $-\text{N}(\text{R}^x)_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{OR}^{6b}$, $-\text{N}(\text{C}(\text{O})\text{OR}^{6b})_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{6b})_2$, hoặc $-\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{6b}$;

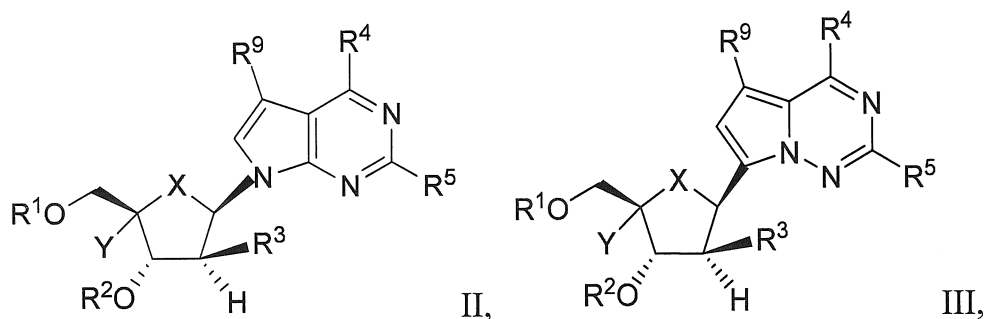
R⁸ là $-\text{H}$; và

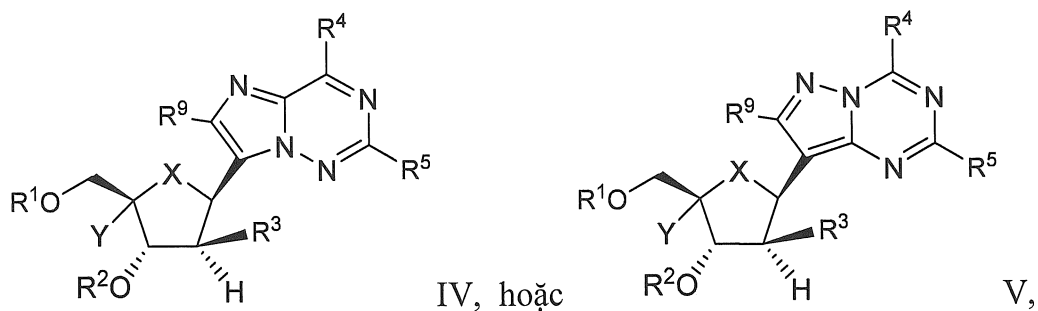
R⁹ là $-\text{H}$, halo, $-\text{C}_1-\text{C}_3$ alkyl, $-\text{C}_1-\text{C}_3$ haloalkyl, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^y$ hoặc $-\text{N}(\text{R}^y)_2$.

16. Hợp chất theo điểm 15 hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R⁴** là $-\text{N}(\text{R}^x)_2$.

17. Hợp chất theo điểm 16 hoặc muối được dụng của nó, trong đó **R¹** là $-\text{H}$.

18. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu tạo II, III, IV hoặc V,



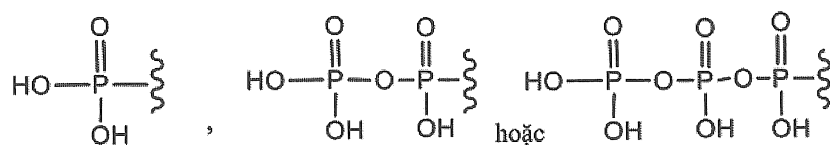


hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

X là O;

Y là $-\text{C}\equiv\text{CH}$ hoặc $-\text{C}\equiv\text{N}$;

R¹ là -H, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^6$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^6$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^6)_2$,



hoặc dạng cải biến tiền được chất của mono-, di- hoặc triphosphat;

R² là H, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{6a}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{6a}$ hoặc $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{6a})_2$;

R³ là -H;

R⁴ là $-\text{N}(\text{R}^x)_2$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{OR}^{6b}$ hoặc $-\text{NHC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{6b})_2$;

R⁵ là -H, halo, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, $-\text{OR}^x$ hoặc $-\text{N}(\text{R}^x)_2$;

R⁶, **R^{6a}**, và **R^{6b}** mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ -H, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ haloalkyl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh, trong đó mỗi **R⁶**, **R^{6a}**, và **R^{6b}** tùy ý được thế bằng **R⁷**;

R⁷ là $-\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, aryl hoặc heteroaryl một vòng có 5-6 cạnh;

R⁹ là -H, halo, $-\text{C}_1\text{-C}_3$ alkyl, $-\text{C}_1\text{-C}_3$ haloalkyl, -CN, $-\text{OR}^y$, hoặc $-\text{N}(\text{R}^y)_2$;

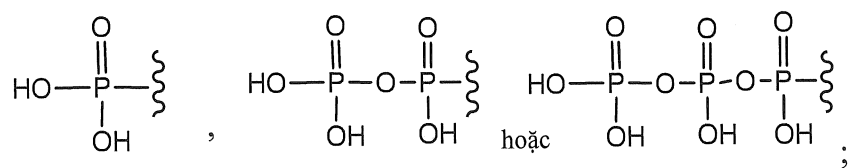
R^x mỗi lần xuất hiện độc lập được chọn từ -H, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, $-\text{C}_1\text{-C}_6$ haloalkyl, aryl, hoặc heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh;

hoặc mỗi trong số **R⁴** hoặc **R⁵** hoặc cả hai là -N(R^X)₂, mỗi R^X có thể tùy ý được liên kết cùng với nitơ mà chúng gắn vào tạo thành heteroaryl một vòng có 5 hoặc 6 cạnh hoặc heteroaryl hai vòng có 9 hoặc 10 cạnh; và

R^Y là -H, -C₁-C₆ alkyl hoặc -C₁-C₆ haloalkyl.

19. Hợp chất theo điểm 18, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H,



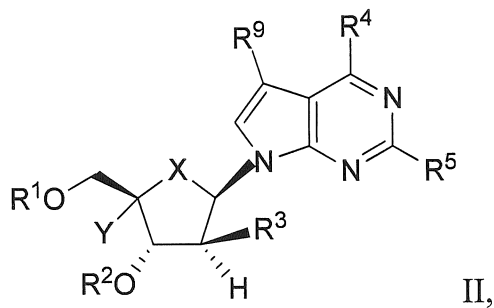
R² là H;

R⁴ là -NH₂;

R⁵ là -H, -Cl, -F hoặc -NH₂; và

R⁹ là -H, -F, -Cl, -I, -Br hoặc -CH₃.

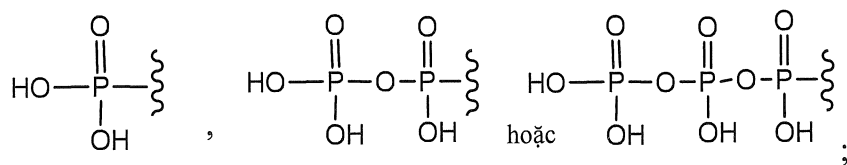
20. Hợp chất theo điểm 18 có công thức cấu tạo II,



hoặc muối được dụng của nó.

21. Hợp chất theo điểm 20, hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là -H,



R² là H;

R⁴ là -NH₂;

R⁵ là -H, -Cl, -F hoặc -NH₂; và

R⁹ là -H, -F, -Cl, -I, -Br hoặc -CH₃.

22. Hợp chất theo điểm 1 là:

1)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
2)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-flo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
3)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-metyl-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
4)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-2-clo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
5)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-bromo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
6)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-clo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
7)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-iodo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
8)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(2,4-diamino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
9)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-2-flo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
10)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril;
11)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrolo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
12)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrolo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-3-hydroxy-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril;
13)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphospat;
14)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-flo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphospat;

15)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-metyl-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
16)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-2-clo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
17)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-5-clo-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
18)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-amino-7 <i>H</i> -pyrolo[2,3- <i>d</i>]pyrimidin-7-yl)-2-xyano-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
19)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrolo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
20)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrazolo[1,5- <i>a</i>][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
21)	((2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminoimidazo[2,1- <i>f</i>][1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-3-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat;
22)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminoimidazo[2,1- <i>f</i>] [1,2,4]triazin-7-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;
23)	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,5 <i>R</i>)-5-(4-aminopyrazolo[1,5- <i>a</i>][1,3,5]triazin-8-yl)-2-etylnyl-2-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-ol;

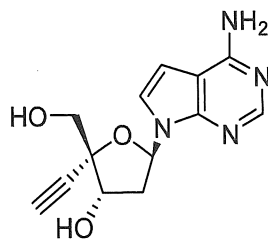
hoặc muối được dụng của nó.

23. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, và chất mang được dụng.

24. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, và chất mang được dụng và còn chứa lượng hữu hiệu chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus kháng HIV, chất điều biến miễn dịch, hoặc chất chống lây nhiễm.

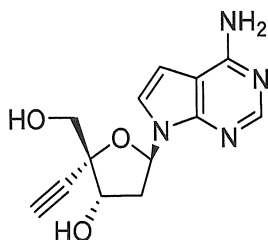
25. Dược phẩm theo điểm 24, trong đó chất kháng virus kháng HIV là chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, hoặc chất ức chế quá trình trưởng thành của HIV.

26. Hợp chất là:

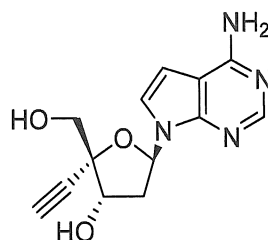


hoặc hợp chất là muối được dụng của nó.

27. Hợp chất theo điểm 26 là muối được dụng của:



28. Hợp chất theo điểm 26 là:

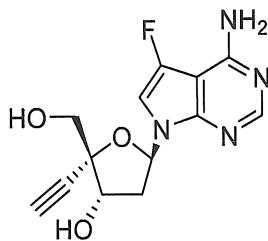


29. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 26 và chất mang được dụng.

30. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 26 và chất mang được dụng và còn chứa lượng hữu hiệu của chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus kháng HIV, chất điều biến miễn dịch, hoặc chất chống lây nhiễm.

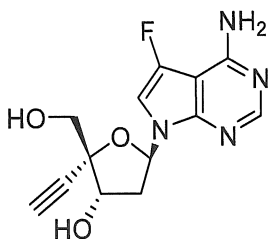
31. Dược phẩm theo điểm 30, trong đó chất kháng virus kháng HIV là chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, hoặc chất ức chế quá trình trưởng thành của HIV.

32. Hợp chất là:

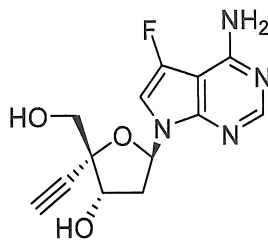


hoặc hợp chất là muối được dụng của nó.

33. Hợp chất theo điểm 32 là muối được dụng của:



34. Hợp chất theo điểm 32 là:

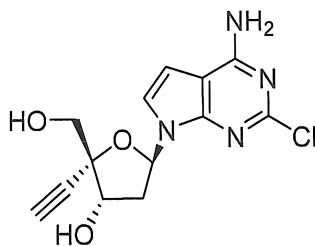


35. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 32 và chất mang được dụng.

36. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 32 và chất mang được dụng và còn chứa lượng hữu hiệu của chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus kháng HIV, chất điều biến miễn dịch, hoặc chất chống lây nhiễm.

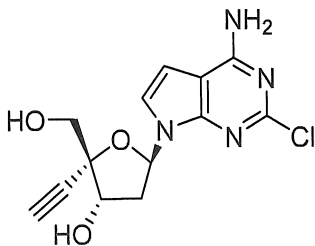
37. Dược phẩm theo điểm 36, trong đó chất kháng virus kháng HIV là chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, hoặc chất ức chế quá trình trưởng thành của HIV.

38. Hợp chất là:

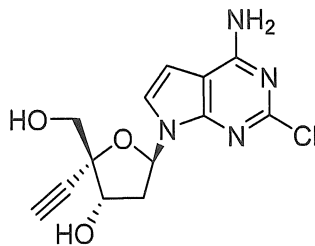


hoặc hợp chất là muối được dụng của nó.

39. Hợp chất theo điểm 38 là muối được dụng của:



40. Hợp chất theo điểm 38 là:

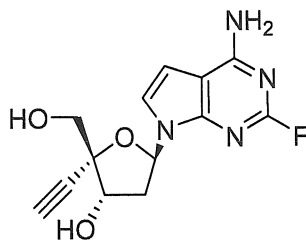


41. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 38 và chất mang được dụng.

42. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 38 và chất mang được dụng và còn chứa lượng hữu hiệu của chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus kháng HIV, chất điều biến miễn dịch, hoặc chất chống lây nhiễm.

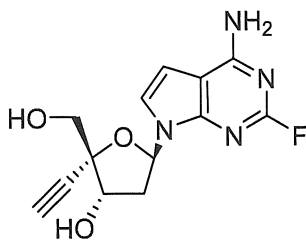
43. Dược phẩm theo điểm 42, trong đó chất kháng virus kháng HIV là chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, hoặc chất ức chế quá trình trưởng thành của HIV.

44. Hợp chất theo điểm 1 là:

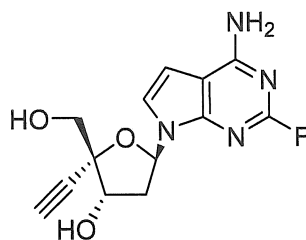


hoặc hợp chất là muối được dụng của nó.

45. Hợp chất theo điểm 44 là muối được dụng của:



46. Hợp chất là:



47. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 44 và chất mang được dụng.

48. Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất theo điểm 44 và chất mang được dụng và còn chứa lượng hữu hiệu của chất kháng HIV được chọn từ chất kháng virus kháng HIV, chất điều biến miễn dịch, hoặc chất chống lây nhiễm.

49. Dược phẩm theo điểm 48, trong đó chất kháng virus kháng HIV là chất ức chế proteaza của HIV, chất ức chế transcriptaza ngược của HIV, chất ức chế integraza của HIV, chất ức chế dung hợp của HIV, chất ức chế sự xâm nhập của HIV, hoặc chất ức chế quá trình trưởng thành của HIV.