



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

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

(11)



1-0038907

(51)⁷ C07D 401/14; A61P 35/00; C07D
239/74; C07D 401/08; C07D 487/04;
C07D 403/08; C07D 405/10; C07D
417/08; A61K 31/517

(13) B

(21) 1-2019-04130

(22) 28/12/2017

(86) PCT/US2017/068636 28/12/2017

(87) WO2018/125961 05/07/2018

(30) 62/440,581 30/12/2016 US

(45) 26/02/2024 431

(43) 25/09/2019 378A

(73) MITOBRIDGE, INC. (US)

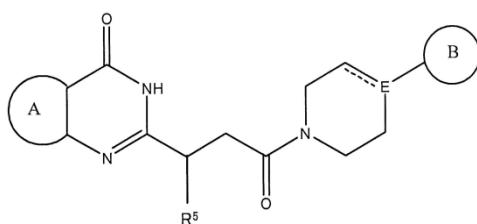
1030 Massachusetts Avenue, Suite 200, Cambridge, MA 02138, United States of America

(72) TAKAHASHI, Taisuke (JP); KLUGE, Arthur (US); LAGU, Bharat (US); JI, Nan (CN).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẤT ỨC CHẾ POLY(ADP-RIBOZA) POLYMERAZA (PARP) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHẤT ỨC CHẾ NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng và hợp chất có công thức cấu trúc sau:



Sáng chế cũng đề cập đến chất ức chế poly(ADP-riboza) polymeraza (PARP) mà hữu dụng trong phương pháp điều trị cho đối tượng bị bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế poly(ADP-riboza)polymeraza (PARP). Định nghĩa về các biến được nêu trong bản mô tả.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất ức chế poly(ADP-riboza)polymeraza (PARP), cụ thể là chất ức chế PARP-1, và dược phẩm chứa chất ức chế này. Chất ức chế và dược phẩm này là hữu dụng để điều trị hoặc phòng ngừa một hoặc nhiều bệnh có liên quan đến PARP.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Enzym nhân poly(ADP-riboza) polymeraza-1 (PARP-1) là một thành viên thuộc họ enzym PARP. Họ các enzym rộng lớn này gồm có các PARP, ví dụ như: PARP-1, PARP-2, PARP-3 và Vault-PARP.

PARP đóng vai trò trong việc sửa chữa sự đứt gãy sợi ADN và do đó, việc ức chế enzym này là phương pháp xác định trong điều trị ung thư. Việc ức chế PARP có thể đặc biệt hiệu quả khi được kết hợp với điều trị gây tổn thương ADN, như với bức xạ ion hóa hoặc sau khi điều trị bằng các chất gây tổn thương ADN như các chất methyl hóa, chất ức chế topoisomeraza I và các chất hóa trị liệu khác như cisplatin và bleomycin. Sự ức chế hoạt tính enzym của PARP cần phải dẫn tới gia tăng độ nhạy của các tế bào khối u đối với các điều trị gây tổn thương ADN. Các chất ức chế PARP đã được thông báo có hiệu quả trong các tế bào khối u nhạy xạ (thiếu oxy) và hiệu quả trong phòng ngừa các tế bào khối u phục hồi từ sự tổn thương ADN ở mức gây chết và dưới mức gây chết tiềm tàng sau liệu pháp xạ trị, có thể do bởi khả năng của chúng trong việc phòng ngừa sự nối lại sợi ADN đứt gãy và bằng cách tác động lên các con đường truyền tín hiệu gây thương tổn ADN.

Sự ức chế PARP-2 có thể tạo ra sự bảo vệ chống lại kích ứng oxy hóa (xem trong tài liệu Szanto, *et al.*, *Cell Mol. Life Sci.* 69:4079 (2012)). Như vậy, chất ức chế PARP có thể được sử dụng để điều trị các bệnh được đặc trưng bởi sự kích ứng oxy hóa (ví dụ, tổn thương thiếu máu cục bộ - tái tưới máu, các bệnh viêm, bỏng, Parkinson, bệnh Huntington, bệnh Alzheimer và các tổn thương độc tính).

PARP-1 và PARP-2 là các chất tiền viêm (xem trong tài liệu Rosado *et al.*, *Immunology* 139:428 (2013)). Do đó, việc ức chế chúng có thể được sử dụng để điều trị, ví dụ, bệnh hen, viêm khớp, viêm đại tràng, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), hội chứng suy hô hấp cấp (ARDS), xơ vữa động mạch, tái cấu trúc tim sau nhồi máu cơ tim, nhiễm khuẩn huyết, sốc nội độc tố, sốc xuất huyết, bệnh vật chủ chống lại cơ quan ghép, viêm não tủy và viêm thận tự miễn dịch.

Sự ức chế PARP cũng có thể bảo vệ chống lại các nhiễm trùng virus (xem trong tài liệu Atasheva *et al.*, *J. Virol.* 88:2116 (2014) and Virag and Szabo *Pharmacol. Rev.* 54:375 (2002)), ví dụ, chống lại virus gây suy giảm miễn dịch ở người 1, virus gây viêm não ngựa Venezuela, virus gây mụn rộp (herpes simplex virus), virus gây viêm gan B ở người, và các nhiễm trùng do virus cự bào ở người (Virag and Szabo *Pharmacol. Rev.* 54:375 (2002)).

Các PARP có liên quan đến việc kiểm soát cân bằng nội môi glucoza (xem trong Bai and Canto *Cell Metab.* 16:290 (2012), Riffel *et al.*, *Nat. Rev. Drug Discovery* 11:923 (2012) and Yeh *et al.*, *Diabetes* 58:2476 (2009)). Ví dụ, sự ức chế PARP-1 sẽ cải thiện sự đào thải glucoza và tính nhạy insulin (xem trong Bai and Canto *Cell Metab.* 16:290 (2012) and Pirinen *et al.*, *Cell Metab.* 19:1034 (2014)). Do đó, sự ức chế PARP là hữu dụng trong điều trị bệnh và các tình trạng như hội chứng chuyển hóa và tiểu đường typ II và các biến chứng sau đó của chúng như các biến chứng thần kinh tiểu đường, biến chứng thận và biến chứng ở mắt.

Tài liệu WO 2014/036022 A1 (AMGEN INC [US], 6 March 2014) mô tả quinazolin được thể làm chất ức chế tankyraza 1 và/hoặc tankyraza 2.

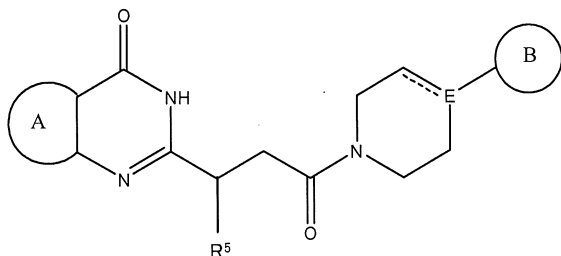
Do đó, nhu cầu cần tìm ra được các chất ức chế PARP mới và được cải thiện tốt hơn cho các chỉ định điều trị các bệnh và tình trạng nêu trên và các chỉ định điều trị khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Chủ đơn đã khám phá ra các hợp chất mới, các hợp chất này là chất ức chế PARP hiệu quả (xem trong các ví dụ 1-53). Cụ thể, các hợp chất này có hoạt tính ức chế chọn lọc đối với PARP-1 hơn so với PARP-2 (xem trong ví dụ 54). Ngoài ra, chủ đơn cũng

đã chứng minh rằng, một số chất ức chế PARP này hữu dụng để gia tăng lượng NAD^+ trong các tế bào (xem trong ví dụ 55).

Theo phương án thứ nhất, sáng chế đề cập đến được phẩm chứa chất mang hoặc chất pha loãng được dụng và hợp chất có công thức cấu trúc sau:



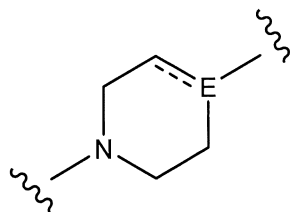
hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

Vòng A là phenyl được thế tùy ý hoặc heteroaryl có 5 đến 6 cạnh được thế tùy ý;

Vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ;

“-----” là không có mặt hoặc là liên kết;

E là N hoặc CH khi “----” là không có mặt hoặc E là C khi “-----” là liên kết;



được thế tùy ý bằng $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ hoặc hydroxy $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$;

mỗi một R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, $-\text{NO}_2$, $-\text{OR}^d$, $-\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{S}(\text{O})_i\text{R}^e$, $-\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e\text{S}(\text{O})_i\text{R}^f$, $-\text{S}(\text{O})_i\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^e$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^e$, $-\text{C}(=\text{S})\text{OR}^e$, $-\text{O}(\text{C}=\text{S})\text{R}^e$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e\text{C}(=\text{S})\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{O})\text{OR}^f$, $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{S})\text{OR}^f$, $-\text{O}(\text{C}=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^e$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^e$, $\text{halo}(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$, và $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$, trong đó $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ biểu thị bằng R^3 được thế tùy ý bằng $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OR}^e$, $-\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{S}(\text{O})_i\text{R}^e$, $-\text{NR}^e\text{S}(\text{O})_i\text{R}^f$, $-\text{S}(\text{O})_i\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^e$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^e$, $-\text{C}(=\text{S})\text{OR}^e$, $-\text{O}(\text{C}=\text{S})\text{R}^e$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e\text{C}(=\text{O})\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$,

$\text{NR}^e\text{C}(=\text{S})\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{O})\text{OR}^f$, $-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{S})\text{OR}^f$, $-\text{O}(\text{C}=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{O})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{NR}^e(\text{C}=\text{S})\text{NR}^e\text{R}^f$, $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^e$, hoặc $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^e$;

R^d là $-\text{H}$, halo($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl hoặc ($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl, trong đó ($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc ($\text{C}_1\text{-C}_3$)alkoxy;

mỗi một R^e được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-\text{H}$ và ($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc ($\text{C}_1\text{-C}_3$)alkoxy;

mỗi một R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-\text{H}$, ($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc ($\text{C}_1\text{-C}_3$)alkoxy, ($\text{C}_3\text{-C}_6$)xycloalkyl được thế tùy ý bằng ($\text{C}_1\text{-C}_2$) alkyl, và heteroxyclyl chứa oxy có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng ($\text{C}_1\text{-C}_2$) alkyl; hoặc

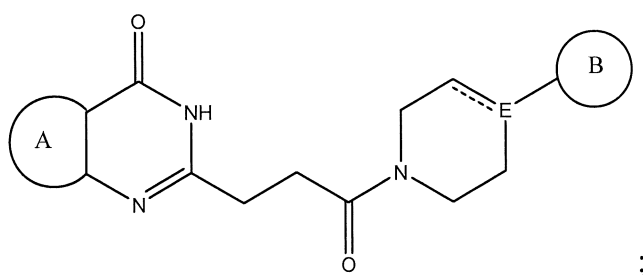
$-\text{NR}^e\text{R}^f$ cùng nhau là heteroxyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng ($\text{C}_1\text{-C}_2$) alkyl; hoặc

$-\text{C}(=\text{NR}^e)\text{NR}^e\text{R}^f$ cùng nhau là heteroxyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng R^e ;

R^5 là $-\text{H}$ hoặc ($\text{C}_1\text{-C}_5$)alkyl; và

i là 0, 1, hoặc 2.

Theo phương án thứ hai, sáng chế đề cập đến dược phẩm theo phương án ở trên, trong đó hợp chất có công thức cấu trúc sau:



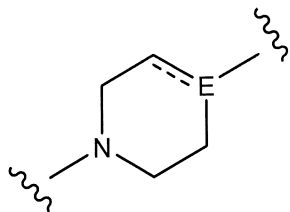
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

Vòng A là phenyl được thế tùy ý hoặc heteroaryl có 5 đến 6 cạnh được thế tùy ý;

Vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heteroxyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ;

“-----” là không có mặt hoặc là liên kết;

E là N hoặc CH khi “----” là không có mặt hoặc E là C khi “-----” là liên kết;



được thế tùy ý bằng (C₁-C₅)alkyl hoặc hydroxy (C₁-C₅)alkyl;

mỗi một R³ được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, -NO₂, -OR^d, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -C(=NR^e)NR^eR^f, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, -C(=O)R^e, halo(C₁-C₅)alkyl và (C₁-C₅)alkyl, trong đó (C₁-C₅)alkyl biểu thị bằng R³ được thế tùy ý bằng -CN, -NO₂, -OR^e, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, hoặc -C(=O)R^e;

R^d là -H, halo(C₁-C₅)alkyl hoặc (C₁-C₅)alkyl, trong đó (C₁-C₅)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C₁-C₃)alkoxy;

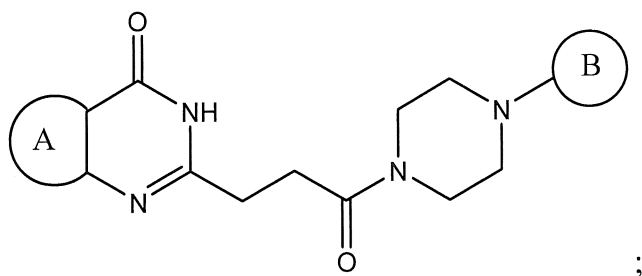
mỗi một R^e được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -H và (C₁-C₅)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C₁-C₃)alkoxy;

mỗi một R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -H, (C₁-C₅)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C₁-C₃)alkoxy, (C₃-C₆)xycloalkyl được thế tùy ý bằng (C₁-C₂) alkyl, và heteroxyclyl chứa oxy có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng (C₁-C₂) alkyl; hoặc

-NR^eR^f cùng nhau là heteroxyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng (C₁-C₂) alkyl; hoặc

-C(=NR^e)NR^eR^f cùng nhau là heteroxyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng R^e, trong đó biến còn lại trong số các biến (ví dụ, i) được xác định trong phương án thứ nhất.

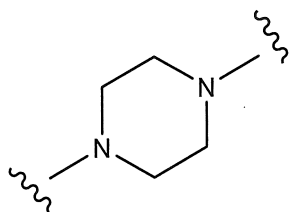
Theo phương án thứ ba, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ nhất hoặc thứ hai, trong đó hợp chất có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

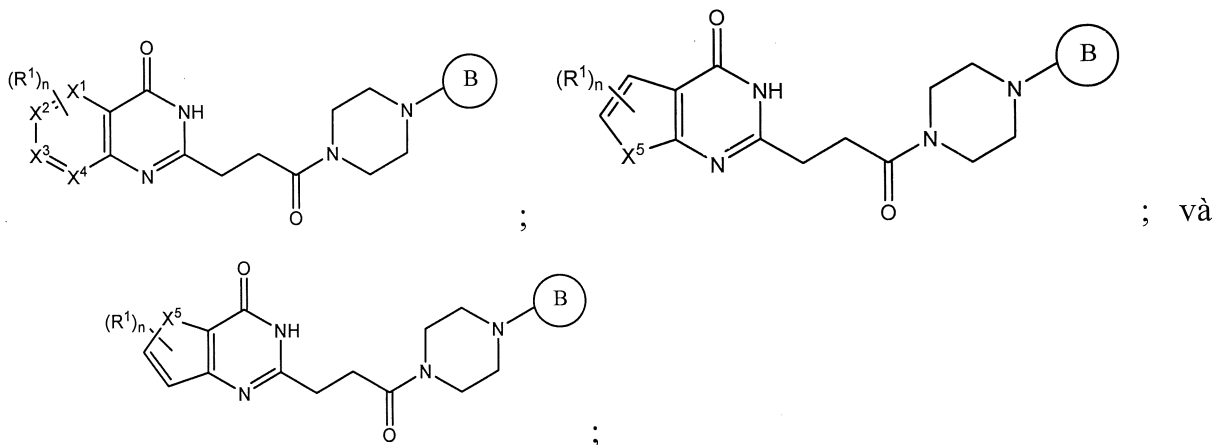
Vòng A là phenyl được thế tùy ý hoặc heteroaryl có 5 đến 6 cạnh được thế tùy ý;

Vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ; và



được thế tùy ý bằng (C_1-C_5) alkyl hoặc hydroxy (C_1-C_5) alkyl, trong đó biến còn lại trong số các biến (ví dụ, R^3) như được xác định trong phương án thứ nhất hoặc thứ hai.

Theo phương án thứ tư, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ nhất, thứ hai hoặc thứ ba, trong đó hợp chất được biểu thị bằng công thức cấu trúc được lựa chọn từ nhóm gồm:

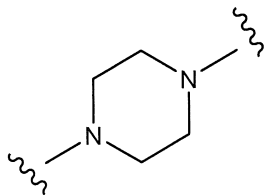


hoặc muối được dụng của chúng, trong đó:

mỗi một X^1 , X^2 , X^3 và X^4 mỗi một được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm N và CH, với điều kiện không nhiều hơn hai trong số X^1 , X^2 , X^3 và X^4 là N;

X^5 là NR^2 , O, hoặc S;

Vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ;



được thế tùy ý bằng (C_1-C_5) alkyl hoặc hydroxy (C_1-C_5) alkyl;

mỗi một R^1 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^b, halo (C_1-C_5) alkyl và (C_1-C_5) alkyl, trong đó (C_1-C_5) alkyl biểu thị bằng R^1 được thế tùy ý bằng -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, hoặc -C(=O)R^a;

R^2 là -H, C_{1-5} alkyl, phenyl, -C(O) $(C_{1-5}$ alkyl), -C(O)(phenyl), -C(O)O $(C_{1-5}$ alkyl), -C(O)O(phenyl), -S(O)₂ $(C_{1-5}$ alkyl) hoặc -S(O)₂(phenyl), trong đó mỗi một alkyl trong các nhóm biểu thị bằng R^2 độc lập được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế được lựa chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, xyano, phenyl, heteroaryl 5 đến 6 cạnh, (C_1-C_5) alkoxy, và halo (C_1-C_5) alkoxy, và trong đó mỗi một phenyl trong các nhóm biểu thị bằng R^2 độc lập được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế được lựa chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, nitro, xyano, amino, (C_1-C_5) alkyl, halo (C_1-C_5) alkyl, (C_1-C_5) alkoxy và halo (C_1-C_5) alkoxy;

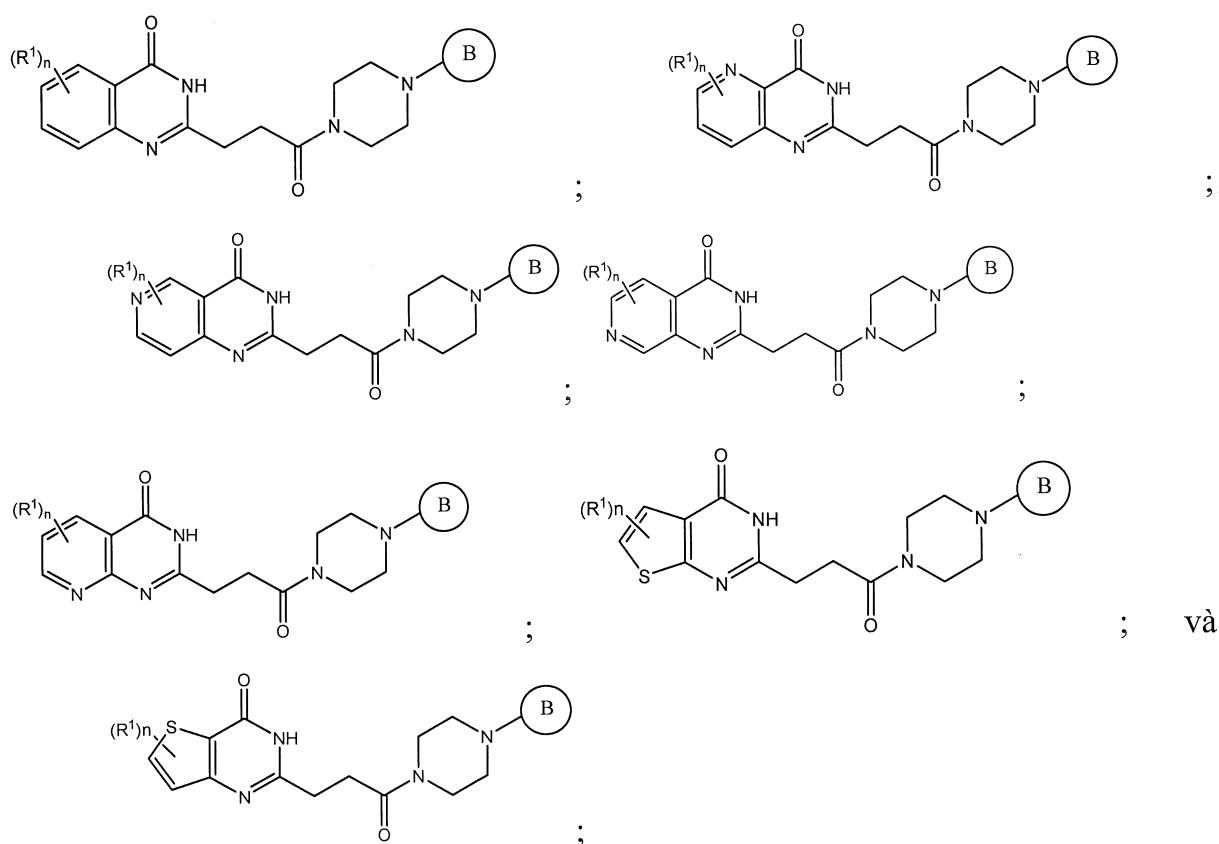
mỗi một R^a và mỗi một R^b được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -H và (C_1-C_5) alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C_1-C_3) alkoxy;

R^c là $-H$, halo(C_1-C_5)alkyl hoặc (C_1-C_5)alkyl, trong đó (C_1-C_5)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C_1-C_3)alkoxy;

i là 0, 1, hoặc 2; và

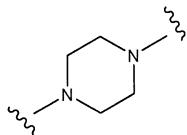
n là 0, 1 hoặc 2, trong đó biến còn lại trong số các biến (ví dụ, R^3) như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai hoặc thứ ba.

Theo phương án thứ năm, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba hoặc thứ tư, trong đó hợp chất được biểu thị bằng công thức cấu trúc được lựa chọn từ nhóm gồm:



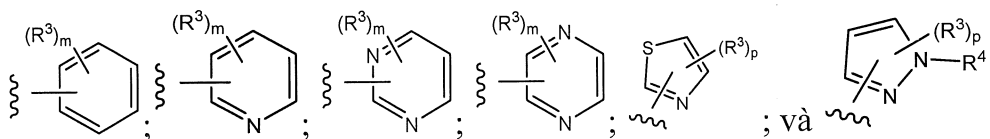
hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

Vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phân tử thể biểu thị bằng R^3 ; và



được thể tùy ý bằng (C₁-C₅)alkyl hoặc hydroxy (C₁-C₅)alkyl, trong đó biến còn lại trong số các biến (ví dụ, R³) như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba hoặc thứ tư.

Theo phương án thứ sáu, sáng chế đề cập đến được phẩm theo the phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm, trong đó vòng B được lựa chọn từ nhóm gồm

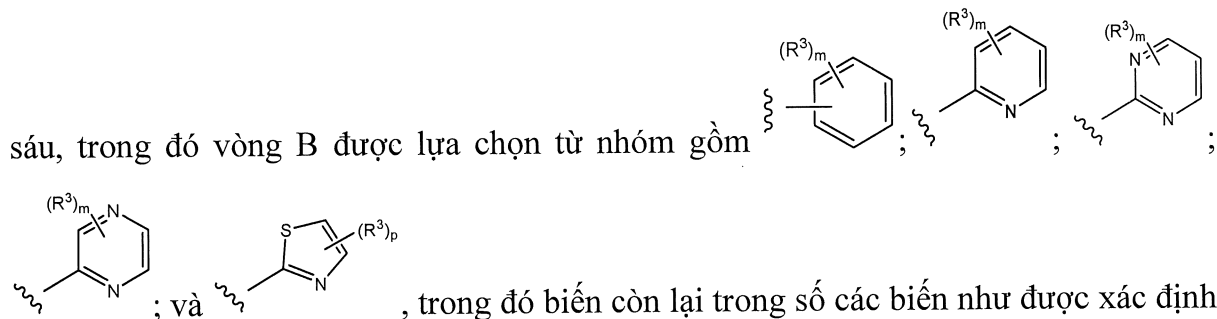


mỗi một R⁴ là -H, (C₁-C₅)alkyl, hoặc hydroxy(C₁-C₅)alkyl;

mỗi một p độc lập là 0 hoặc 1; và

mỗi một m là 0 hoặc 1, hoặc 2, trong đó biến còn lại trong số các biến (ví dụ, R³) như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư hoặc thứ năm.

Theo phương án thứ bảy, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ



trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm hoặc thứ sáu.

Theo phương án thứ tám, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ tư, thứ năm, thứ sáu hoặc thứ bảy, trong đó:

mỗi một R¹ độc lập là halogen, (C₁-C₅)alkyl, halo(C₁-C₅)alkyl, (C₁-C₅)alkoxy, halo(C₁-C₅)alkoxy hoặc xyano;

mỗi một R³ được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, -C(=NR^e)NHR^f, -C(=NR^d)NR^eR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)NR^eR^f, -C(=S)NR^eR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^d(C=O)NR^eR^f, -NR^d(C=S)NR^eR^f, và (C₁-C₅)alkyl, trong đó biến còn

lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu hoặc thứ bảy.

Theo phương án thứ chín, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy hoặc thứ tám, trong đó:

mỗi một R^1 độc lập là halogen hoặc $(C_1-C_5)alkyl$;

mỗi một R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, $-C(=NR^d)NR^eR^f$, $-C(=O)NR^eR^f$, $-C(=NR^e)NHR^f$ và $(C_1-C_5)alkyl$, trong đó biến còn lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu hoặc thứ bảy.

Theo phương án thứ mười, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy hoặc thứ tám, trong đó:

mỗi một R^1 độc lập là clo, flo hoặc metyl;

mỗi một R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm clo, flo, -CN, $-C(=NR^d)NR^eR^f$, $-C(=O)NR^eR^f$ và metyl;

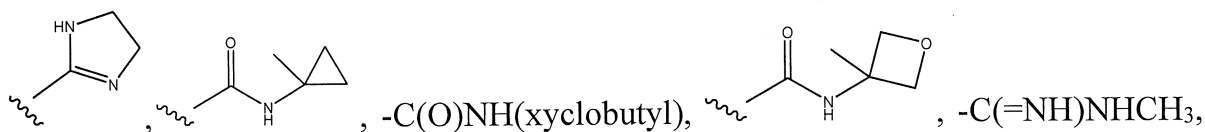
nhóm được thế tùy ý bằng metyl hoặc hydroxymetyl, trong đó biến còn lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy hoặc thứ tám.

Theo phương án thứ mười một, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín hoặc thứ mười, trong đó mỗi một R^e và mỗi một R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -H và metyl; hoặc R^e là -H và R^f là $(C_3-C_6)xycloalkyl$ hoặc heteroxyacyl chứa oxy có 4 đến 6 cạnh mỗi một được thế tùy ý bằng $(C_1-C_2) alkyl$, trong đó biến còn lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín hoặc thứ mười.

Theo phương án thứ mười hai, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín hoặc thứ mười, trong đó mỗi một R^e và mỗi một R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -H và metyl; hoặc R^e là -H và R^f là xyclopropyl, xyclobutyl hoặc oxetanyl mỗi một gốc được thế tùy ý bằng metyl, trong đó biến còn lại

trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười hoặc thứ mười một.

Theo phương án thứ mười ba, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín hoặc thứ mười, trong đó mỗi một R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm clo, flo, -CN, -C(O)NH(xyclopropyl), -C(O)NH₂, -C(O)NH(CH₃), -C(O)N(CH₃)₂,



và methyl, trong đó biến còn lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười, thứ mười một hoặc thứ mười hai.

Theo phương án thứ mười bốn, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ tư, trong đó R^2 là -H hoặc (C₁-C₅)alkyl, tốt hơn là -H hoặc methyl, trong đó biến còn lại trong số các biến như được xác định trong phương án thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám, thứ chín, thứ mười, thứ mười một, thứ mười hai hoặc thứ mười ba.

Theo phương án thứ mười lăm, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ nhất hoặc thứ hai, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

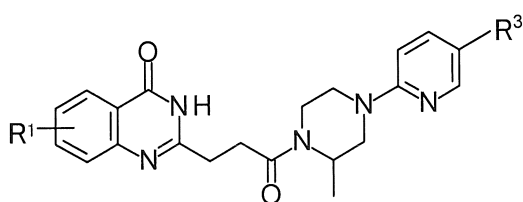
Theo phương án thứ mười sáu, sáng chế đề cập đến được phẩm theo phương án thứ nhất hoặc thứ hai, trong đó hợp chất là 6-[(3R)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Theo phương án thứ mười bảy, sáng chế đề cập đến được phẩm

theo phương án thứ nhất hoặc thứ hai, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Theo phương án thứ mười tám, sáng chế cũng đề cập đến hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất được bộc lộ trong phần minh họa hoặc bảng trong ví dụ 55. Cả muối được dụng của các hợp chất này và dạng trung tính tương ứng của các hợp chất cũng được bao gồm.

Theo phương án thứ mười chín, hợp chất có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là F hoặc metyl; và

R³ là -CN, -C(=NH)NHCH₃, hoặc metyl.

Theo phương án thứ hai mươi, sáng chế đề cập đến hợp chất theo phương án thứ mười chín, trong đó: R¹ là F; và R³ là -CN.

Theo phương án thứ hai mươi, sáng chế đề cập đến hợp chất theo phương án thứ hai mươi, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Theo phương án thứ hai hai, sáng chế đề cập đến hợp chất theo phương án thứ hai mươi, trong đó hợp chất là 6-[(3R)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Theo phương án thứ hai ba, sáng chế đề cập đến hợp chất theo phương án thứ hai mươi, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Thuật ngữ “muối được dụng” để chỉ muối được mà nó là, trong phạm vi đánh giá y tế hoàn chỉnh, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô người và động vật bậc thấp mà không gây ra độc tính, kích thích, và phản ứng dị ứng quá mức và tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý. Các muối - được dụng đã được biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, S. M. Berge *et al.* mô tả các muối được dụng trong tài liệu *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1–19.

Được bao gồm trong bộc lộ của sáng chế là các muối được dụng của hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này. Hợp chất có các nhóm kiềm có thể tạo ra các muối được dụng với (các) axit được dụng. Muối cộng axit được dụng thích hợp của các hợp chất được mô tả ở đây bao gồm các muối của axit vô cơ (như axit clohydric, axit bromhydric, axit phosphoric, axit metaphosphoric, axit nitric, và axit sulfuric) và của các axit hữu cơ (như axit axetic, axit benzensulfonic, axit benzoic, axit etansulfonic, axit metansulfonic, axit suxinic, và axit trifloaxetic). Các hợp chất theo sáng chế với các nhóm axit như axit carboxylic có thể tạo thành các muối được dụng với (các) bazơ được dụng. Các muối bazơ được dụng thích hợp bao gồm các muối amoni, muối kim loại kiềm (như các muối natri và kali) và muối kim loại kiềm thổ (như muối magie và canxi).

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị cho đối tượng bị bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế poly(ADP-riboza)polymeraza (PARP), bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong điều chế thuốc để điều trị bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP.

Theo phương án khác đề cập ở đây, các hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên là để sử dụng trong điều trị bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị cho đối tượng bị tổn thương thận cấp, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều

hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong điều chế thuốc để điều trị tổn thương thận cấp.

Theo phương án khác bộc lộ ở đây, các hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên là để sử dụng trong điều trị tổn thương thận cấp.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị cho đối tượng bị ung thư, bao gồm bước cho đối tượng dùng một lượng có hiệu quả của một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên.

Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên, trong điều chế thuốc để điều trị ung thư.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên để sử dụng trong điều trị ung thư.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình vẽ trên Fig.1 chứng minh rằng, các chất ức chế PARP1 trong ví dụ 29 và ví dụ 30 đã làm giảm creatinin và nitơ urê máu (blood urea nitrogen - BUN) trong huyết tương sau 24 giờ ở mẫu động vật bị tổn thương thận.

Mô tả chi tiết sáng chế

Phần định nghĩa

Thuật ngữ “halo” như được sử dụng ở đây nghĩa là halogen và bao gồm clo, flo, brom và iot.

Thuật ngữ “alkyl” được sử dụng riêng biệt hoặc là một phần của gốc lớn hơn, như “alkoxy” hoặc “haloalkyl” và tương tự, nghĩa là gốc hydrocacbon no, béo, mạch

thẳng hoặc mạch nhánh, hóa trị một. Trừ khi có quy định khác, nhóm alkyl điển hình có 1-5 nguyên tử cacbon, *tức là* (C₁-C₅)alkyl. Như được sử dụng ở đây, nhóm “(C₁-C₅)alkyl” nghĩa là gốc có từ 1 đến 5 nguyên tử cacbon theo cách sắp xếp mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Các ví dụ bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl, *iso*-propyl, và tương tự.

Thuật ngữ “alkoxy” có nghĩa là gốc alkyl được gắn kết thông qua nguyên tử liên kết oxy, biểu diễn bằng –O-alkyl. Ví dụ, “(C₁-C₄)alkoxy” bao gồm metoxy, etoxy, propoxy, và butoxy.

Các thuật ngữ “haloalkyl” và “haloalkoxy” nghĩa là alkyl hoặc alkoxy, trong trường hợp có thể, được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen.

Thuật ngữ “xycloalkyl” đề cập đến hệ vòng hydrocacbon một vòng no. Ví dụ, C₃₋₆ xycloalkyl bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl và xyclohexyl. Trừ khi được mô tả theo cách khác, “xycloalkyl” có từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon.

Thuật ngữ “heteroaryl”, “dị vòng thơm”, “vòng heteroaryl”, “nhóm heteroaryl”, “vòng dị vòng thơm”, và “nhóm dị vòng thơm”, được sử dụng riêng biệt hoặc là một phần của gốc lớn hơn như trong “heteroaralkyl” hoặc “heteroarylalkoxy”, đề cập đến các nhóm vòng thơm một vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng (tức là, “5-6 cạnh”) được lựa chọn từ cacbon và ít nhất một (tốt hơn 1 đến 4, tốt hơn nữa 1 hoặc 2) nguyên tử khác loại (ví dụ, oxy, nitơ hoặc lưu huỳnh).

Ví dụ về các nhóm heteroaryl một vòng bao gồm furanyl (ví dụ, 2-furanyl, 3-furanyl), imidazolyl (ví dụ, *N*-imidazolyl, 2-imidazolyl, 4-imidazolyl, 5-imidazolyl), isoxazolyl (ví dụ, 3-isoxazolyl, 4-isoxazolyl, 5-isoxazolyl), oxadiazolyl (ví dụ, 2-oxadiazolyl, 5-oxadiazolyl), oxazolyl (ví dụ, 2-oxazolyl, 4-oxazolyl, 5-oxazolyl), pyrazolyl (ví dụ, 3-pyrazolyl, 4-pyrazolyl), pyrolyl (ví dụ, 1-pyrolyl, 2-pyrolyl, 3-pyrolyl), pyridyl (ví dụ, 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl), pyrimidinyl (ví dụ, 2-pyrimidinyl, 4-pyrimidinyl, 5-pyrimidinyl), pyridazinyl (ví dụ, 3-pyridazinyl), thiazolyl (ví dụ, 2-thiazolyl, 4-thiazolyl, 5-thiazolyl), triazolyl (ví dụ, 2-triazolyl, 5-triazolyl), tetrazolyl (ví dụ, tetrazolyl), thienyl (ví dụ, 2-thienyl, 3-thienyl), pyrimidinyl, pyridinyl và pyridazinyl.

Thuật ngữ “heterocyclyl” đề cập đến gốc vòng không thơm một vòng chứa từ 4 đến 6 nguyên tử vòng (tức là, “4-6 cạnh”) được lựa chọn từ nguyên tử cacbon và 1 hoặc

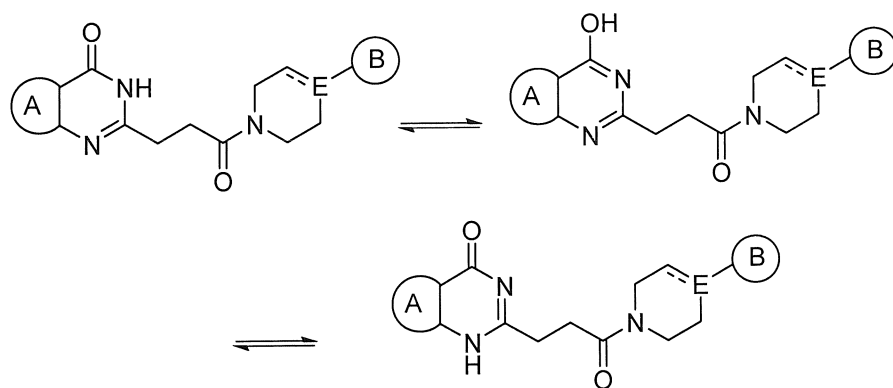
2 nguyên tử khác loại. Mỗi một nguyên tử khác loại được lựa chọn độc lập từ nitơ, nitơ bậc bốn, nitơ oxy hóa (ví dụ, NO); oxy; và lưu huỳnh, bao gồm sulfoxit và sulfon. Các nhóm heterocyclyl đại diện bao gồm morpholiny, thiomorpholiny, pyrrolidinonyl, pyrrolidiny, piperidiny, piperaziny, hydantoinyl, valerolactamyl, oxirany, oxetany, tetrahydrofurany, tetrahydropyrany, tetrahydropyrindiny, tetrahydropyrimidiny, tetrahydrothiophenyl, tetrahydrothiopyrany, và tương tự. “Nhóm heterocyclyl được thế” được thế ở một hoặc nhiều nguyên tử vòng có thể thế được bất kỳ, nguyên tử này là nguyên tử cacbon vòng hoặc nguyên tử nitơ vòng được liên kết với hydro.

Như được sử dụng ở đây, các gốc (ví dụ, alkyl, alkylen, xycloalkyl, xycloalkylen, aryl, arylen, heteroaryl, heteroarylen, heterocyclyl hoặc heterocyclen) đề chỉ là “được thế” hoặc “được thế tùy ý”. Khi một gốc được làm thay đổi bằng một trong số các thuật ngữ này, trừ khi được lưu ý theo cách khác, nó chỉ ra rằng, phần bất kỳ của gốc mà đã biết đối với người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực có giá trị để thay thế có thể được thế, việc thế này bao gồm một hoặc nhiều phần tử thế. Trường hợp nếu có mặt nhiều hơn một phần tử thế, thì mỗi một phần tử thế có thể được lựa chọn một cách độc lập. Các phương tiện để thế như vậy là đã biết trong lĩnh vực và/hoặc được hướng dẫn nhờ bởi việc bộc lộ tức thời. Phần tử thế tùy ý có thể là phần tử thế bất kỳ mà thích hợp để gắn kết với gốc.

Phần tử thế thích hợp là các phần tử thế mà không có tác dụng bất lợi đáng kể lên khả năng ức chế PARP của hợp chất. Trường hợp các phần tử thế thích hợp không được liệt kê một cách cụ thể, các phần tử thế minh họa bao gồm, nhưng bị giới hạn bởi: (C₁-C₅)alkyl, (C₁-C₅)hydroxyalkyl, (C₁-C₅)haloalkyl, (C₁-C₅)alkoxy, (C₁-C₅)haloalkoxy, halogen, hydroxyl, xiano, amino, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^a, phenyl, hoặc heteroaryl 5 đến 6 cạnh. mỗi một R^a và mỗi một R^b được lựa chọn độc lập từ -H và (C₁-C₅)alkyl, được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C₁-C₃)alkoxy; R^c is -H, (C₁-C₅)haloalkyl hoặc (C₁-C₅)alkyl, trong đó (C₁-C₅)alkyl được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C₁-C₃)alkoxy.

Một số trong số các hợp chất mô tả ở đây có thể tồn tại ở nhiều dạng đồng phân lập thể hoặc hữ biến khác nhau. Các chất đồng phân lập thể là các hợp chất mà chúng chỉ khác nhau ở cách sắp xếp không gian của chúng. Khi một hợp chất bộc lộ được gọi tên hoặc mô tả bởi cấu trúc mà không chỉ ra hóa học lập thể, có thể hiểu rằng, tên hoặc cấu trúc bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hình học, bao gồm cả chất đồng phân lập thể hoặc chất đồng phân hình học hầu như tinh khiết, cũng như tổ hợp của chúng.

Trong một số tình huống, các dạng hữ biến của các hợp chất bộc lộ tồn tại, như các cấu trúc hữ biến được thể hiện dưới đây:



Có thể hiểu rằng, khi một hợp chất ở đây được biểu thị bằng công thức cấu trúc hoặc được gọi rõ bằng tên hóa học ở đây, thì tất cả các dạng hữ biến khác mà có thể tồn tại đối với hợp chất đều được bao gồm bởi công thức cấu trúc.

Một vài trong số các hợp chất bộc lộ có thể tồn tại ở các dạng đồng phân lập thể khác nhau. Các chất đồng phân lập thể là các hợp chất mà khác nhau chỉ ở sự bố trí về không gian của chúng. Các chất đồng phân đối ảnh là các cặp chất đồng phân lập thể mà các ảnh gương của chúng là không thể chồng lên nhau được, phổ biến nhất là vì chúng chứa một nguyên tử cacbon được thế theo kiểu không đối xứng mà nguyên tử cacbon này hoạt động như một tâm bất đối xứng. “Chất đồng phân đối ảnh” nghĩa là một phân tử của cặp phân tử mà là các ảnh gương với nhau và không thể chồng lên nhau được. Chất đồng phân không đối quang là các chất đồng phân lập thể mà chứa hai hoặc nhiều nguyên tử cacbon được thế theo kiểu không đối xứng. “Chất đồng phân hình học” là các chất đồng phân lập thể mà khác nhau về sự định hướng của các nguyên tử thế trong mỗi

quan hệ với liên kết đôi cacbon-cacbon, với vòng carboxyclyl, hoặc với hệ hai vòng bắc cầu.

Khi chất đồng phân hình học được mô tả bằng tên hoặc cấu trúc, có thể hiểu rằng, độ tinh khiết đồng phân hình học của chất đồng phân hình học được gọi tên hoặc được mô tả ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99%, hoặc 99,9% tinh khiết theo khối lượng. Độ tinh khiết đồng phân hình học được xác định bằng cách chia khối lượng của chất đồng phân hình học được gọi tên hoặc được mô tả trong hỗn hợp cho tổng khối lượng của tất cả các chất đồng phân hình học trong hỗn hợp.

Khi hóa học lập thể của hợp chất bậc lộ được gọi tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, chất đồng phân lập thể được gọi tên hoặc được mô tả có độ tinh khiết theo khối lượng ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99,9% so với tất cả các chất đồng phân lập thể khác. Tỷ lệ % tinh khiết theo khối lượng so với tất cả các chất đồng phân lập thể khác là tỷ lệ của khối lượng của một chất đồng phân lập thể so với khối lượng của các chất đồng phân lập thể khác. Khi một chất đồng phân đối ảnh riêng biệt được gọi tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, thì chất đồng phân đối ảnh được mô tả hoặc được gọi tên có tỷ lệ tinh khiết quang theo khối lượng ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99,9% (cũng được gọi là “tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh”). Tỷ lệ % tinh khiết quang theo khối lượng là tỷ lệ khối lượng của chất đồng phân đối ảnh so với khối lượng của chất đồng phân đối ảnh cộng với khối lượng của chất đồng phân quang học của nó.

Khi hóa học lập thể của hợp chất bậc lộ được gọi tên hoặc minh họa theo cấu trúc, và cấu trúc được gọi tên hoặc minh họa bao gồm nhiều hơn một đồng phân lập thể (ví dụ, là trong cặp đồng phân không đối quang), một trong số các đồng phân lập thể bao gồm hoặc hỗn hợp bất kỳ của các đồng phân lập thể này được hiểu là được bao gồm. Có thể hiểu thêm rằng, độ tinh khiết đồng phân lập thể của các chất đồng phân lập thể được gọi tên hoặc được mô tả ít nhất là 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99,9% tinh khiết theo khối lượng so với tất cả các chất đồng phân lập thể khác. Độ tinh khiết về mặt đồng phân lập thể trong trường hợp này có thể được xác định bằng cách chia tổng khối lượng trong hỗn hợp của các đồng phân lập thể bao gồm theo tên hoặc cấu trúc cho tổng khối lượng trong hỗn hợp của tất cả các đồng phân lập thể.

Khi hợp chất bộc lộ được gọi tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc mà không chỉ ra hóa học lập thể, và hợp chất có một tâm bất đối xứng, có thể hiểu rằng, tên hoặc cấu trúc bao gồm một chất đồng phân đối ảnh của hợp chất không chứa chất đồng phân quang học tương ứng, hỗn hợp triệt quang của hợp chất và các hỗn hợp được làm giàu trong một chất đồng phân đối ảnh so với chất đồng phân quang học tương ứng của nó.

Khi hợp chất bộc lộ được gọi tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc mà không chỉ ra hóa học lập thể và ví dụ, hợp chất có ít nhất hai tâm bất đối xứng, có thể hiểu rằng, tên hoặc cấu trúc bao gồm một chất đồng phân lập thể không chứa các chất đồng phân lập thể khác, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, và hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, trong đó một hoặc nhiều chất đồng phân lập thể được làm giàu so với (các) chất đồng phân lập thể khác. Ví dụ, tên hoặc cấu trúc có thể bao gồm một chất đồng phân lập thể không chứa các chất đồng phân không đối quang khác, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, và hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, trong đó một hoặc nhiều chất đồng phân không đối quang được làm giàu so với (các) chất đồng phân không đối quang khác.

Các hỗn hợp đồng phân đối ảnh và đồng phân không đối quang có thể được phân giải thành các chất đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang thành phần bằng cách phương pháp đã biết rõ, như sắc ký khí pha bất đối, sắc ký lỏng hiệu năng cao pha bất đối, kết tinh hợp chất dưới dạng phức muối bất đối, hoặc kết tinh hợp chất dưới dạng dung môi bất đối. Các đồng phân đối ảnh và đồng phân không đối quang cũng có thể thu được từ các hợp chất trung gian, các chất phản ứng và các chất xúc tác tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang hoặc tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh bằng các phương pháp tổng hợp không đối xứng đã biết.

Dược phẩm

Các hợp chất được bộc lộ ở đây là các chất ức chế PARP (ví dụ, chất ức chế PARP-1). Dược phẩm theo sáng chế bao gồm một hoặc nhiều chất ức chế PARP (ví dụ, chất ức chế PARP-1), hoặc muối dược dụng của hợp chất này, và chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng.

“Chất mang dược dụng” và “chất pha loãng dược dụng” đề cập đến chất mà nó hỗ trợ cho sự phối chế và/hoặc việc đưa một hoạt chất vào đối tượng và/hoặc sự hấp thụ

bởi đối tượng và có thể được bao gồm trong các chế phẩm của bộc lộ sáng chế này mà không gây ra tác dụng độc tính bất lợi đáng kể nào cho đối tượng. Ví dụ không giới hạn- về các chất mang được dụng và/hoặc chất pha loãng được dụng bao gồm nước, NaCl, dung dịch muối thông thường, dung dịch Ringer lactat, sucroza thông thường, glucoza thông thường, chất kết dính, chất độn, chất gây rã, chất bôi trơn, chất bao, chất làm ngọt, chất tạo hương, dung dịch muối (như dung dịch Ringer), rượu, dầu, gelatin, carbohydrat như lactoza, amyloza hoặc tinh bột, este của axit béo, hydroxymetyxenluloza, polyvinyl pyrrolidin, và chất màu, và chất tương tự. Các chế phẩm như vậy có thể được tiết trùng và, nếu muốn, được trộn với các chất phụ trợ như chất bôi trơn, chất bảo quản, chất ổn định, chất làm ướt, chất nhũ hóa, muối chi phối áp suất thẩm thấu, chất đệm, chất màu và/hoặc chất thơm và chất tương tự mà không phản ứng theo cách có hại hoặc can thiệp đến hoạt tính của hợp chất được đề xuất theo sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng, các tá dược được dụng khác là thích hợp để sử dụng với các hợp chất được bộc lộ.

Dược phẩm theo sáng chế tùy ý bao gồm một hoặc nhiều chất mang và/hoặc chất pha loãng được dụng của nó, như lactoza, tinh bột, xenluloza và dextroza. Các tá dược khác, như chất tạo hương; chất làm ngọt; và chất bảo quản, như metyl, etyl, propyl và butyl paraben, cũng có thể được bao gồm. Dánh sách đầy đủ hơn nữa về các tá dược thích hợp có thể được tìm thấy trong tài liệu Cẩm nang Tá dược (Handbook of Pharmaceutical Excipients) (5th Ed., Pharmaceutical Press (2005)). Người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực sẽ biết làm thế nào để điều chế các chế phẩm phối chế thích hợp cho các loại đường dùng khác nhau. Các bước quy trình và các thành phần thông thường để lựa chọn và điều chế các chế phẩm phối chế thích hợp được mô tả, ví dụ, trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Sciences (2003 - 20th edition) và trong tài liệu The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19) published in 1999. Chất mang, chất pha loãng và/hoặc tá dược phải “chấp nhận được” theo nghĩa tương thích với các thành phần khác của dược phẩm và không gây hại cho đối tượng tiếp nhận.

Các phương pháp điều trị

Các PARP có liên quan đến rất nhiều chức năng tế bào, bao gồm sửa chữa ADN, cân bằng nội môi ty thể, bảo vệ chống lại kích ứng oxy hóa, viêm, điều hòa chuyển hóa, nhịp ngày đêm, quá trình biệt hóa và già hóa. Ví dụ, xem trong tài liệu của Peter Bai, *Molecular Cell* 58:947 (2015). Như vậy, chất ức chế PARP có tiềm năng trong điều trị rất nhiều loại bệnh tật, và nhiều chất ức chế PARP đã được phê chuẩn trong điều trị ung thư.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị cho đối tượng bị bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP, bằng cách dùng cho đối tượng một lượng hiệu quả của một hoặc nhiều hợp chất được bộc lộ, hoặc muối được dụng của hợp chất này, hoặc được phẩm tương ứng.

“Đối tượng” là động vật có vú, tốt hơn là người, nhưng cũng có thể là động vật cần được điều trị thú y, ví dụ, các động vật bầu bạn (ví dụ, chó, mèo, và động vật tương tự), động vật trang trại (ví dụ, bò, cừu, lợn, ngựa, và động vật tương tự) và động vật trong phòng thí nghiệm (ví dụ, chuột cống, chuột nhắt, chuột lang, và động vật tương tự).

Theo một phương án, bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP là rối loạn cấu trúc cơ, rối loạn kích hoạt tế bào thần kinh, rối loạn cơ bắp mệt mỏi, rối loạn khối cơ, bệnh beta oxy hóa, bệnh chuyển hóa, ung thư, bệnh về mạch máu, bệnh về mạch máu ở mắt, bệnh về cơ ở mắt, hoặc bệnh thận.

Theo một khía cạnh của phương án này, rối loạn cấu trúc cơ được lựa chọn từ bệnh cơ Bethlehem, bệnh lõi trung tâm, mất cân đối kiểu sợi bẩm sinh, loạn dưỡng cơ phía xa (MD), Duchenne & Becker MD, Emery-Dreifuss MD, loạn dưỡng cơ mặt - vai - cánh tay, bệnh cơ thể thủy tinh, loạn dưỡng cơ đai gốc chi, rối loạn kênh natri cơ, loạn dưỡng sụn tăng trưởng lực cơ, loạn dưỡng tăng trưởng lực cơ, bệnh di truyền phân tử cơ, bệnh cơ nemaline, loạn dưỡng cơ mắt hàu, và tiểu tiện không tự chủ do áp lực.

Theo khía cạnh khác của phương án, rối loạn kích hoạt tế bào thần kinh được lựa chọn từ xơ cứng cột bên teo cơ, bệnh Charcot-Marie-Tooth, hội chứng Guillain-Barre, hội chứng Lambert-Eaton, đa xơ cứng, bệnh nhược cơ, tổn thương thần kinh, bệnh thần kinh ngoại biên, bệnh teo cơ tủy, liệt dây thần kinh trụ muôn, và rối loạn thần kinh - cơ nhiễm độc.

Theo khía cạnh khác của phương án này, rối loạn cơ bắp mệt mỏi được lựa chọn từ hội chứng mệt mỏi mãn tính, bệnh tiểu đường (typ I hoặc II), bệnh dự trữ glycogen, đau xơ cơ, bệnh mất điều hòa vận động Friedreich, khắp khểnh cách hồi, bệnh cơ dự trữ lipit, MELAS, rối loạn chuyển hóa dự trữ thể tiêu bào, bệnh Pompe, và bệnh cơ nhiễm độc tuyến giáp;

Theo khía cạnh khác của phương án này, rối loạn khối cơ là chứng suy mòn, thoái hóa sụn, liệt não, hội chứng chèn ép khoang, bệnh cơ do mắc bệnh trầm trọng, bệnh viêm cơ thể vùi, teo cơ (không xử dụng), chứng thiếu cơ, bệnh cơ do steroid, và bệnh luput ban đỏ hệ thống.

Theo khía cạnh khác của phương án này, bệnh beta oxy hóa được lựa chọn từ vận chuyển carnitine hệ thống, thiếu hụt men carnitine palmitoyltransferaza (CPT) II, thiếu hụt men axyl-CoA dehydrogenaza (LCHAD hoặc VLCAD) mạch rất dài, thiếu hụt enzym ba chức năng, thiếu hụt men axyl-CoA dehydrogenaza (MCAD) mạch trung bình, thiếu hụt men axyl-CoA dehydrogenaza (SCAD) mạch ngắn, và các rối loạn đáp ứng riboflavin của quá trình β -oxy hóa (RR -MADD).

Theo khía cạnh khác của phương án này, bệnh chuyển hóa được lựa chọn từ tăng lipit huyết, rối loạn lipit huyết, tăng cholesterol huyết, tăng triglyxerit huyết, giảm cholesterol huyết loại HDL, tăng cholesterol huyết loại LDL và/hoặc không cholesterol huyết loại HLD, tăng protein huyết loại VLDL, rối loạn lipoprotein huyết, giảm protein huyết loại apolipoprotein A-I, xơ vữa động mạch, bệnh xơ cứng động mạch, bệnh về hệ tim mạch, bệnh mạch máu não, bệnh tuần hoàn ngoại vi, hội chứng chuyển hóa, hội chứng X, bệnh béo phì, bệnh tiểu đường (typ I hoặc II), tăng glucoza huyết, chứng kháng insulin, giảm dung nạp glucoza, tăng tiết insulin, biến chứng tiểu đường, suy tim, nhồi máu cơ tim, bệnh cơ tim, cao huyết áp, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), huyết khối, bệnh Alzheimer, bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh hủy myelin, đa xơ cứng, chứng loạn dưỡng chất trắng thượng thận, bệnh viêm da, bệnh vẩy nến, trứng cá, lão hóa da, bệnh long tóc, viêm, viêm khớp, bệnh hen, hội chứng ruột quá mẫn, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, và viêm tụy.

Theo khía cạnh khác của phương án này, bệnh về mạch máu được lựa chọn từ suy mạch máu ngoại vi, bệnh về mạch máu ngoại vi, khắp khểnh cách hồi, bệnh về mạch

máu ngoại vi (PVD), bệnh về động mạch ngoại vi (PAD), bệnh tắc động mạch ngoại vi (PAOD), và bệnh động mạch tắc nghẽn ngoại vi.

Theo khía cạnh khác của phương án này, bệnh về mạch máu ở mắt được lựa chọn từ bệnh thoái hóa điểm vàng do tuổi tác (AMD), bệnh stargardt, bệnh võng mạc do cao huyết áp, bệnh võng mạc do tiểu đường, bệnh võng mạc, bệnh thoái hóa điểm vàng, xuất huyết võng mạc, và bệnh tăng nhãn áp.

Theo khía cạnh khác của phương án này, bệnh về cơ ở mắt được lựa chọn từ tật lác mắt, bệnh liệt mắt cơ ngoài tiến triển, lác trong, lác ngoài, rối loạn khúc xạ và điều tiết, viễn thị, cận thị, loạn thị, tật khúc xạ hai mắt không đều, lão thị, các rối loạn điều tiết, và liệt mắt trong.

Theo khía cạnh cuối cùng của phương án này, bệnh thận được lựa chọn từ viêm cầu thận, xơ cứng tiểu cầu thận, hội chứng thận hư, xơ cứng thận do cao huyết áp, viêm thận cấp, chứng tiểu tiện ra máu tái diễn, chứng tiểu tiện ra máu dai dẳng, viêm thận mãn, viêm thận tiến triển nhanh, suy thận cấp (còn được biết là tổn thương thận cấp), suy thận mãn, bệnh thận tiểu đường, và hội chứng Bartter.

Theo phương án khác, bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP bao gồm loạn dưỡng lipid di truyền, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD), bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), thiếu máu cục bộ thận/tổn thương tái tưới máu (IRI), loạn dưỡng cơ Duchenne & Becker, bệnh tiểu đường (typ I hoặc typ II), bệnh béo phì, và chứng thiếu cơ.

Theo phương án khác, bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP bao gồm bệnh Alpers, bệnh liệt mắt cơ ngoài tiến triển mãn tính - CPEO, hội chứng Kearns-Sayra (KSS), bệnh thần kinh thị giác di truyền Leber (LHON), bệnh cơ ty thể - MELAS, bệnh cơ não, nhiễm toan lactic, và các cơn giống đột quỵ, bệnh động kinh giật cơ - MERRF và bệnh sợi cơ không đều, bệnh yếu cơ thần kinh - NARP, mất điều hòa vận động, và viêm võng mạc sắc tố, hội chứng Pearson, độc tính với thính giác gây ra bởi hóa trị liệu dựa vào platin, hội chứng Cockayne, bệnh khô da sắc tố A, chứng thoái hóa Wallerian, và loạn dưỡng lipid do HIV. Theo phương án khác nữa, bệnh mà có thể được cải thiện bằng cách ức chế PARP là tổn thương thận cấp.

Theo các phương án nhất định, sáng chế bộc lộ các phương pháp sử dụng hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất theo sáng chế và được

phẩm chứa hợp chất này có thể hữu dụng trong nhiều ứng dụng trị liệu bao gồm, ví dụ, điều trị và/hoặc làm giảm nhiều loại bệnh và rối loạn bao gồm, ví dụ, bệnh hoặc rối loạn liên quan đến già hóa hoặc kích ứng, bệnh tiểu đường, bệnh béo phì, bệnh thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch, các rối loạn đông máu, viêm, ung thư, và/hoặc cơn nóng bừng mặt, v.v.. Phương pháp bao gồm bước dùng cho đối tượng cần thiết một lượng có hiệu quả được lý của một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế và/hoặc được phẩm chứa hợp chất này.

Theo phương án khác, hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa hợp chất này có thể được sử dụng để xử lý các tế bào hữu dụng trong cấy ghép hoặc liệu pháp trị liệu tế bào, bao gồm, ví dụ, ghép mô rắn, ghép cơ quan, các huyền phù tế bào, tế bào gốc, tế bào tủy xương, v.v.. Các tế bào hoặc mô có thể là ghép tự thân, ghép khác gen cùng loài, ghép cùng gen cùng loài hoặc ghép khác loài. Các tế bào hoặc mô có thể được xử lý sử dụng hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa hợp chất này trước khi dùng/cấy ghép, đồng thời với việc dùng/cấy ghép và/hoặc sau khi dùng /cấy ghép vào trong đối tượng. Các tế bào hoặc mô có thể được xử lý trước khi lấy tế bào từ cá thể cho, ngoài cơ thể sau khi lấy các tế bào hoặc mô từ cá thể cho, hoặc sau khi cấy ghép vào trong đối tượng nhận. Ví dụ, cá thể cho hoặc nhận có thể được điều trị theo đường hệ thống bằng các chế phẩm nicotinamide riboside clorua hoặc được phẩm theo sáng chế, hoặc có thể có một tập hợp tế bào/mô được xử lý tại chỗ bằng hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa hợp chất này. Theo một số phương án nhất định, các tế bào hoặc mô (hoặc các cá thể cho/nhận) còn có thể được xử lý bằng tác nhân trị liệu khác hữu dụng để kéo dài thời gian sống sót của mảnh ghép, ví dụ như, chất ức chế miễn dịch, xytokin, yếu tố tạo mạch, v.v..

Theo các phương án khác nữa, hợp chất theo sáng chế và/hoặc được phẩm chứa hợp chất này có thể được sử dụng để điều trị các tình trạng bệnh về da. Các tình trạng bệnh về da minh họa mà có thể được điều trị theo các phương pháp được mô tả ở đây bao gồm các rối loạn hoặc bệnh kết hợp với hoặc gây ra bởi viêm, tổn thương do ánh nắng hoặc già hóa tự nhiên. Ví dụ, các chế phẩm được xem là hữu ích trong điều trị bệnh viêm da tiếp xúc (bao gồm cả bệnh viêm da tiếp xúc kích thích và bệnh viêm da tiếp xúc dị ứng), bệnh viêm da cơ địa (cũng được biết là eczema dị ứng), ngứa sùng quang hóa, các rối loạn sùng hóa (bao gồm eczema), các bệnh lý thượng bì bong nước (bao gồm

penfigus), bệnh viêm da tróc vảy, bệnh viêm da tiết bã nhờn, ban đỏ (bao gồm hồng ban đa dạng và hồng ban nút), thương tổn gây ra bởi ánh nắng mặt trời hoặc các nguồn ánh sáng khác, luput ban đỏ dạng đĩa, viêm da cơ, bệnh vẩy nến, ung thư da và các tác động của già hóa tự nhiên. Theo phương án khác, hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này có thể được sử dụng để xử lý các vết thương và/hoặc vết bỏng để thúc đẩy nhanh sự hàn lành vết thương, bao gồm, ví dụ, bỏng độ một, độ hai hoặc độ ba và/hoặc bỏng do nhiệt, hóa chất hoặc bỏng điện.

Hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này cũng có thể được dùng cho đối tượng để điều trị bệnh, ví dụ, các bệnh mãn tính, kết hợp với sự chết tế bào, nhằm để bảo vệ các tế bào tránh được sự chết tế bào. Các bệnh minh họa bao gồm các bệnh kết hợp với sự chết tế bào thần kinh, rối loạn chức năng tế bào thần kinh, hoặc sự rối loạn chức năng hoặc sự chết tế bào cơ, như bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer, đa xơ cứng, xơ cứng cột bên teo cơ, và loạn dưỡng cơ; AIDS; viêm gan bạo phát; các bệnh liên quan với sự thoái hóa não, như bệnh Creutzfeld- Jakob, viêm võng mạc sắc tố và thoái hóa tiểu não; loạn sản tủy như thiếu máu bất sản; các bệnh thiếu máu cục bộ như nhồi máu cơ tim và đột quỵ; các bệnh về gan như viêm gan do rượu, viêm gan B và viêm gan C; các bệnh về khớp như viêm xương - khớp; xơ vữa động mạch; rụng lông tóc; tổn hại da do ánh sáng cực tím; bệnh liken phẳng; teo đét da; bệnh đục thủy tinh thể; và đào thải mảnh ghép. Sự chết tế bào cũng có thể được gây ra bởi phẫu thuật, liệu pháp điều trị bằng thuốc, tiếp xúc hóa chất hoặc tiếp xúc bức xạ.

Hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này cũng có thể được dùng cho đối tượng đang bị bệnh cấp tính, ví dụ, tổn thương cơ quan hoặc mô, ví dụ, đối tượng đang bị đột quỵ hoặc nhồi máu cơ tim hoặc đối tượng đang bị chấn thương tủy sống. Hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này cũng có thể được sử dụng để sửa chữa gan do rượu.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị bệnh tim mạch bằng cách dùng cho đối tượng cần thiết một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế và/hoặc dược phẩm chứa hợp chất này. Bệnh tim mạch mà có thể được điều trị sử dụng hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này bao gồm bệnh cơ tim hoặc bệnh viêm cơ tim; như bệnh cơ tim tự phát, bệnh cơ tim do chuyển hóa, bệnh cơ tim do rượu, bệnh cơ tim do dùng

thuốc, bệnh cơ tim thiếu máu cục bộ, và bệnh cơ tim do cao huyết áp. Cũng có thể được điều trị sử dụng chế phẩm và phương pháp được mô tả ở đây là các rối loạn xơ vữa động mạch của các mạch máu lớn (bệnh ở mạch máu lớn) như động mạch chủ, động mạch vành, động mạch cảnh, động mạch não, động mạch thận, động mạch chậu, động mạch đùi, và động mạch khoeo. Các bệnh về mạch máu khác mà có thể được điều trị bao gồm các bệnh liên quan với sự kết tập tiểu cầu, tiểu động mạch võng mạc, tiểu động mạch cầu thận, mạch thần kinh, tiểu động mạch tim, và các mạng mao mạch kết hợp của mắt, thận, tim và các hệ thần kinh trung ương và ngoại biên. Hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa hợp chất này cũng có thể được sử dụng để gia tăng mức HDL trong huyết tương của cá thể.

Phương pháp dùng và dạng liều lượng

Lượng hợp chất chính xác được dùng để cung cấp “lượng hiệu quả” cho đối tượng sẽ tùy thuộc vào phương thức dùng, kiểu, và mức độ nặng của bệnh ung thư, và tùy thuộc vào các đặc trưng của đối tượng, như sức khỏe toàn thân, tuổi, giới, cân nặng và khả năng dung nạp thuốc. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ xác định được liều lượng thích hợp tùy theo các yếu tố này và các yếu tố khác. Khi được dùng kết hợp với các tác nhân trị liệu khác, ví dụ, khi được dùng kết hợp với tác nhân chống ung thư, “lượng hiệu quả” của tác nhân trị liệu bổ sung bất kỳ sẽ tùy thuộc vào loại thuốc được sử dụng. Liều lượng thích hợp là đã biết đối với các tác nhân trị liệu được chấp thuận và có thể được điều chỉnh bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực theo tình trạng của đối tượng, loại (các) tình trạng cần được điều trị và lượng hợp chất theo sáng chế được sử dụng theo, ví dụ, liều lượng được thông báo trong tài liệu chuyên ngành và được khuyến cáo trong tài liệu *Physician's Desk Reference* (57th ed., 2003).

Thuật ngữ “lượng hiệu quả” có nghĩa là lượng khi được dùng cho đối tượng sẽ mang lại các kết quả có lợi hoặc mong muốn, bao gồm cả các kết quả lâm sàng, ví dụ, ức chế, ngăn chặn hoặc làm giảm các triệu chứng của tình trạng được điều trị ở đối tượng so với đối chứng. Ví dụ, lượng có hiệu quả trị liệu có thể được đưa ra ở dạng liều lượng đơn vị (ví dụ, 0,1 mg đến khoảng 50 g mỗi ngày, theo cách khác, từ 1 mg đến khoảng 5 gam mỗi ngày; và theo cách khác nữa, từ 10 mg đến 1 gam mỗi ngày).

Các thuật ngữ “dùng”, “việc dùng”, “sự dùng”, và tương tự, như được sử dụng trong bản mô tả này, đề cập đến các phương pháp mà có thể được sử dụng để cho phép phân phối chế phẩm đến vị trí hoạt động sinh học mong muốn. Các phương pháp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng theo đường trong khớp (trong các khớp), trong tĩnh mạch, trong cơ, trong khối u, trong da, trong màng bụng, dưới da, theo đường miệng, đường tại chỗ, theo đường trong vỏ, theo đường xông hít, qua da, theo đường trực tràng và đường tương tự. Các kỹ thuật dùng mà có thể được sử dụng với các tác nhân và phương pháp được mô tả ở đây được tìm thấy trong tài liệu *ví dụ*, Goodman and Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, current ed.; Pergamon; and Remington's, *Pharmaceutical Sciences* (current edition), Mack Publishing Co., Easton, Pa.

Ngoài ra, chất ức chế PARP bộc lộ có thể được dùng đồng thời với các tác nhân trị liệu khác. Như được sử dụng trong bản mô tả này, các thuật ngữ “đồng sử dụng”, “sử dụng phối hợp với”, và các dạng tương đương về mặt ngữ pháp của chúng, có nghĩa là bao gồm việc dùng hai hoặc nhiều tác nhân điều trị đối với mỗi đối tượng, và được dự định là bao gồm các chế độ điều trị trong đó các tác nhân được dùng theo đường dùng giống hoặc khác nhau hoặc ở thời điểm giống nhau hoặc khác nhau. Theo một số phương án một hoặc nhiều hợp chất được mô tả ở đây sẽ được sử dụng cùng với các tác nhân khác. Các thuật ngữ này bao gồm việc dùng hai hoặc nhiều tác nhân cho đối tượng sao cho cả hai tác nhân và/hoặc các chất chuyển hóa của chúng có mặt trong đối tượng ở cùng thời điểm. Việc dùng đồng thời bao gồm cả việc dùng đồng thời trong các chế phẩm riêng biệt, dùng tại các thời điểm khác nhau trong các chế phẩm riêng biệt, và/hoặc dùng trong một chế phẩm, trong đó cả hai tác nhân đều có mặt. Do đó, trong một số phương án, các hợp chất được mô tả ở đây và (các) tác nhân khác được dùng trong một chế phẩm. Theo một số phương án, các hợp chất được mô tả ở đây và (các) tác nhân khác được trộn lẫn trong chế phẩm.

Phương thức dùng và chế độ liều lượng cụ thể sẽ được lựa chọn bởi bác sĩ lâm sàng, có cân nhắc tới các chi tiết của trường hợp (ví dụ, đối tượng, bệnh, tình trạng bệnh liên quan, điều trị cụ thể). Việc điều trị có thể bao gồm các liều dùng hàng ngày hoặc nhiều ngày hoặc ít hơn hàng ngày (như hàng tuần hoặc hàng tháng v.v.) trong giai đoạn

là vài ngày đến vài tháng, hoặc thậm chí là hàng năm. Tuy nhiên, người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực sẽ nhanh chóng nhận ra được liều lượng thích hợp và/hoặc tương đương khi xem xét liều lượng của các chế phẩm được chấp thuận trong điều trị bệnh được trung gian bởi PARP sử dụng chất ức chế PARP được bộc lộ (ví dụ, chất ức chế PARP-1) để hướng dẫn.

Hợp chất hoặc dược phẩm tương ứng được bộc lộ ở đây có thể được dùng cho bệnh nhân ở nhiều dạng tùy thuộc vào đường dùng lựa chọn, theo sự hiểu biết của người có kỹ năng trung bình trong lĩnh vực. Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng, ví dụ, theo đường uống, đường ngoài tiêu hóa, đường miệng má, đường dưới lưỡi, đường mũi, đường trực tràng, đường đắp dán, bơm hoặc đường qua da và dược phẩm được phối chế theo cách tương ứng. Dùng theo đường ngoài tiêu hóa bao gồm đường tĩnh mạch, trong phúc mạc, dưới da, trong cơ, qua biểu mô, mũi, trong phổi, nội tủy mạc, đường trực tràng và đường tại chỗ. Dùng theo đường ngoài tiêu hóa có thể bằng cách truyền liên tục trong giai đoạn thời gian lựa chọn.

Dược phẩm theo sáng chế được phối chế để tương thích với đường dùng dự định cho dược phẩm này. Theo một phương án, chế phẩm được phối chế theo các phương thức thông thường khi dược phẩm được làm thích ứng với đường trong tĩnh mạch, đường dưới da, đường trong cơ, đường uống, đường trong mũi, hoặc đường tại chỗ cho con người. Theo các phương án ưu tiên, dược phẩm được phối chế để dùng theo đường tĩnh mạch.

Một cách điển hình, để dùng điều trị theo đường uống, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với tá dược và được sử dụng ở dạng viên nén tiêu hóa được, viên nén ngậm trong má, viên ngậm dẹt, viên nang, viên ngọt, huyền phù, x-rô, dạng xộp, và dạng tương tự.

Điển hình để dùng theo đường ngoài tiêu hóa, các dung dịch chứa hợp chất theo sáng chế thường có thể được điều chế trong nước được trộn thích hợp với chất hoạt diện như hydroxypropylxenluloza. Các thể phân tán cũng có thể được điều chế trong glyxerol, các polyetylen glycol lỏng, DMSO và hỗn hợp của chúng có hoặc không có rượu, và trong dầu. Trong các điều kiện bảo quản và sử dụng thông thường, các chế phẩm này chứa chất bảo quản để ngăn chặn sự sinh trưởng của các vi sinh vật.

Một cách điển hình, để sử dụng ở dạng tiêm, các dung dịch nước vô trùng hoặc thể phân tán và bột vô trùng, hợp chất được mô tả ở đây để điều chế ngay tức thì các dung dịch tiêm hoặc thể phân tán vô trùng là thích hợp.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các thuật ngữ viết tắt

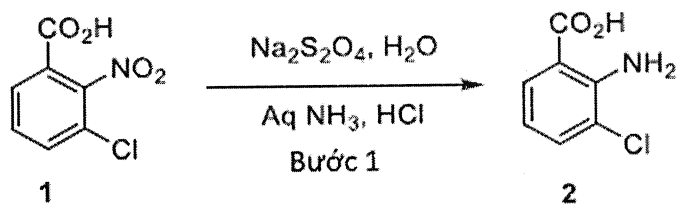
Me	metyl
Et	etyl
Boc	tert-butyloxycarbonyl
Ac	axetyl
Ph	phenyl
Tf	triflometansulfonyl
DIPEA	diisopropyletylamin
EDC	3-(3-dimetylaminopropyl)-1-etylcarbodiimit
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
DCM	diclometan
DMF	N,N-dimetylformamit
DMSO	dimetylsulfoxit
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimetyl silan
TMSOTf	trimetylsilyl triflometansulfonat
aq	dạng nước
M	nồng độ thể hiện bằng mol/L
RT	nhiệt độ phòng
TLC	sắc kí lớp mỏng

HPLC	sắc kí lỏng hiệu năng cao
NMI	1-metyl imidazol
LCMS	sắc kí lỏng-phổ khối
ESI+	các giá trị m/z trong phương pháp phổ khối (ESI ion hóa)
ESI-	các giá trị m/z trong phương pháp phổ khối (ESI ion hóa)
^1H NMR (DMSO- d_6)	δ (ppm) của đỉnh trong ^1H NMR trong phương pháp DMSO- d_6
s	vạch đơn (phổ)
d	vạch đôi (phổ)
t	vạch ba (phổ)
q	vạch bốn (phổ)
dd	vạch đôi của vạch đôi (phổ)
br	dải rộng (phổ)
m	đa vạch (phổ).
4-ANI	4-Amino-1,8-naphthalimit
ADP	Adenosin diphosphat
CPM	số lượng trên phút
DNA	Axit deoxyribonucleic
DTT	DL-Dithiothreitol
FB	Đáy phẳng
mg	milli gam
mM	milli mol
NAD	Nicotinamit-Adenin Dinucleotit
nM	nano mol
ng	nano gam

PARP 1	Poly (ADP-riboza) polymeraza-1
SPA	thử nghiệm độ lân cận nhấp nháy
μCi	micro curi
μL	microlit
T3P	anhydrit propylphosphonic
NMM	4-metylmorpholin
CDI	1,1'-carbonyldiimidazol
EtOAc	etyl axetat
TEMPO	2,2,6,6-Tetrametyl-1-piperidinyloxy
MTBE	<i>tert</i> -butyl metyl ete
HATU	1-[Bis(dimetylamino)metylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridini 3-oxit hexaflophosphat
IPA	rượu isopropylic
DMA	<i>N,N</i> -dimetylxetamit
BINAP	1,1'-binaphthalen-2,2'-diyl)bis(diphenylphosphin
NMP	1-metyl-2-pyrolidinon
Dppf	1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen
DMAP	4-(dimetylamino)pyridin
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropyletylamin

Ví dụ 1 – Tổng hợp 3-clo-4-(4-(3-(8-clo-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)propanoyl)piperazin-1-yl)-*N*-xyclopropylbenzamid

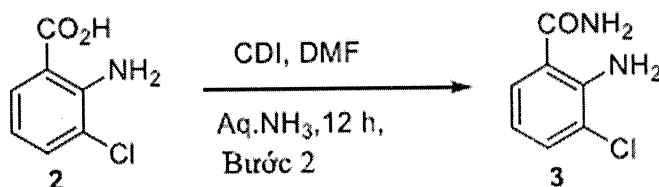
Bước 1:



Dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-2-nitro-benzoic (15 g, 0,074 mol) trong nước (105 mL), dung dịch nước NH_3 30% (6 mL) và dung dịch nước chứa natri dithionit (52 g, 0,298 mol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl đặc (30 mL) tới khi $\text{pH} = 3$, chiết bằng EtOAc (2 x 500 mL), rửa bằng nước (2 x 100 mL) và nước muối (150 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng Et_2O (50 mL) để tạo ra axit 2-amino-3-clobenzoic (9 g, 70%) là axit màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 172,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

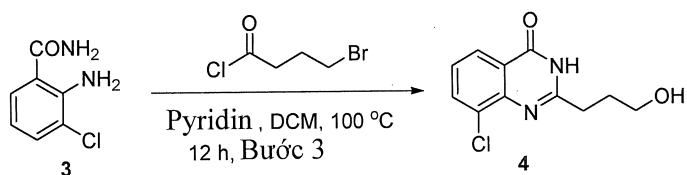
Bước 2:



Dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-3-clo-benzoic (9g, 0,052 mol) và CDI (9 g, 0,055 mol) trong DMF (180 mL) được gia nhiệt tới 70°C trong 1 giờ. Sau đó, bổ sung dung dịch nước NH_3 30% (144 mL), duy trì nhiệt độ ở 70°C và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, rót vào trong nước đá (1 L) và chiết bằng EtOAc (2 x 250 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 100 mL), nước muối (100 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng Et_2O (2 x 30 mL) để tạo ra 2-amino-3-clo-benzamit (5,4 g, 60%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 171,3 $[M+H]^+$.

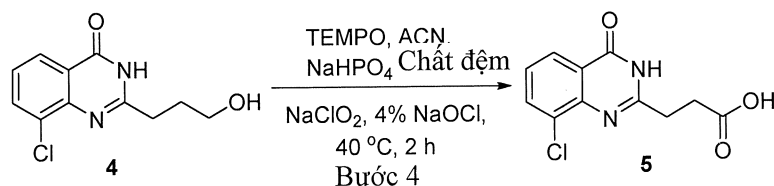
Bước: 3



Bổ sung 4-bromobutanoyl clorua (3,3 g, 17,64 mmol) trong DCM (5 mL) ở nhiệt độ 0 °C vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-3-clo-benzamit (2 g, 11,76 mmol) hòa tan trong pyridin (15 mL), để ở trong một ống gắn kín. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng tới 100 °C và khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (150 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 150 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng dung dịch nước NH₄Cl bão hòa (2 x 50 mL), nước muối (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô mà hợp chất này được rửa bằng toluen (20 mL), ete (2 x 10 mL) để tạo ra 8-clo-2-(3-hydroxypropyl)-3H-quinazolin-4-on (600 mg, 21%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 239,4 $[M+1]^+$.

Bước 4:

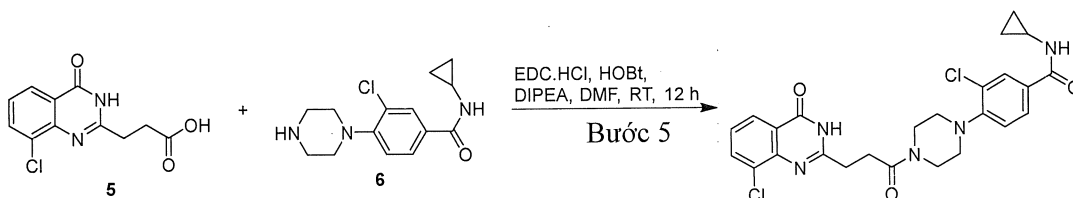


Bổ sung TEMPO (65 mg, 0,414 mmol) và dung dịch đệm natri phosphat (8 mL, pH = 6,5) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 8-clo-2-(3-hydroxypropyl)-3H-quinazolin-4-on (500 mg, 2,10 mmol) trong ACN (10 mL), và gia nhiệt tới 40°C. Sau đó, natri clorit (3,75 g trong 15 mL nước) và dung dịch natri clorit (4% trong H₂O, 15mL) được bổ sung từng phần ở nhiệt độ 40oC. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, kiểm hóa bằng dung dịch NaOH 1N tới khi pH = 8, rót vào trong dung dịch Na₂S₂O₃ 1 N (50 mL), rửa bằng MTBE (2 x 25 mL). Axit hóa lớp nước bằng HCl 1N tới khi pH = 1 và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết

hữu cơ kết hợp bằng nước muối (50 mL), làm khô trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được axit 3-(8-clo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (250 mg, 47%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 253,3 $[\text{M}+1]^+$.

Bước 5:



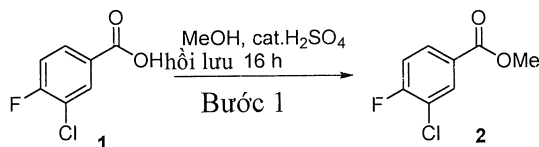
Bổ sung EDC·HCl (432 mg, 2,26 mmol), HOBT (305 mg, 2,26 mmol) và DIPEA (0,96 mL, 5,65 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(8-clo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (285 mg, 1,13 mmol) và 3-clo-N-xyclopropyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (308 mg, 1,1 mmol) trong DMF (2,6 mL), và khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (50 mL), chiết bằng EtOAc (3 x 25 mL). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước (25 mL), nước muối (25 mL), làm khô trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng hệ sắc ký Teledyne-ISCO Combiflash (5-7% MeOH-DCM, lõi 4 gm) để thu được 3-clo-4-(4-(3-(8-clo-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)propanoyl)piperazin-1-yl)-N-xyclopropylbenzamit (100 mg, 85% LCMS) mà được tinh chế thêm bằng phương pháp Prep-HPLC để tạo ra hợp chất tinh khiết (25 mg, 5%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,54 (brs, 1H), 8,42 (d, $J = 3,9$ Hz, 1H), 8,05 -8,02 (m, 1H), 7,93–7,88 (m, 2H), 7,76 (dd, $J = 8,1, 1,8$ Hz, 1H), 7,42 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,70 (m, 2H), 3,61 (m, 2H), 3,08–2,92 (m, 2H), 2,8–2,79 (m, 7H), 0,71-0,62 (m, 2H), 0,60-0,52 (m, 2H).

LCMS: m/z : 514,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 2 – Tổng hợp 3-clo-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit

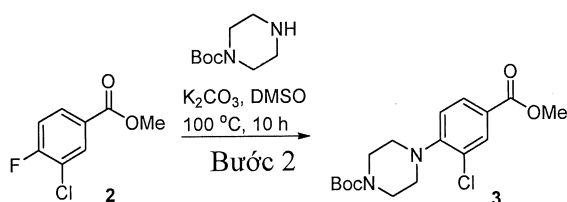
Bước 1:



Bình thót cổ đáy tròn được nạp axit 3-clo-4-flo-benzoic (2,0 g, 11,4 mmol), axit sulfuric (0,33 g, 3,4 mmol), MeOH (20 mL) và được hồi lưu trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm; pha loãng phần cặn còn lại bằng nước (15 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc trong chân không để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 40 g, 10% EtOAc-hexan) để tạo ra metyl 3-clo-4-flo-benzoat (1,5 g, 69%) là dầu màu vàng nhạt.

¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 8,08 (dd, *J* = 6,9, 2,1 Hz, 1H), 7,94-7,89 (m, 1H), 7,18 (t, *J* = 8,7 Hz, 1H), 3,90 (s, 3H).

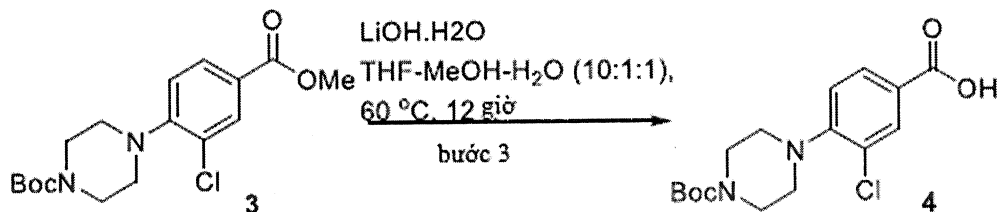
Bước 2:



Metyl 3-clo-4-flo-benzoat (1,5 g, 7,9 mmol) được để ở trong một ống gần kín, *tert*-butyl este của axit piperazin-1-carboxylic (1,48 g, 7,9 mmol) tiếp theo bằng K₂CO₃ (3,29 g, 23 mmol) và DMSO (15 mL) được bổ sung và khuấy ở nhiệt độ 100 °C trong 10 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (150 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (2 x 75 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 30 g, 10% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(2-clo-4-metoxycarbonyl-phenyl)piperazin-1-carboxylat (2,1 g, 74%) là chất rắn màu trắng.

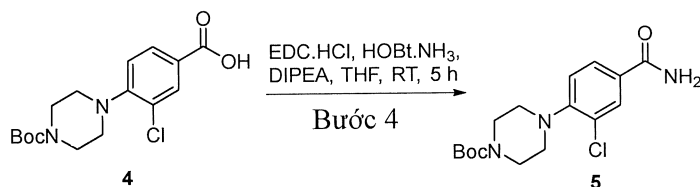
LCMS: *m/z*: 355,4 [M+H]⁺.

Bước 3:



Bổ sung $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,47 g, 11,2 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(2-chloro-4-metoxycarbonyl-phenyl)piperazin-1-carboxylat (2 g, 5,6 mmol) trong $\text{THF}:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$ (10:1:1, 24 mL), gia nhiệt ở nhiệt độ 60°C trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu) và cô đặc dưới áp suất giảm. Hòa tan phần cặn còn lại trong nước (30 mL), làm lạnh xuống 0°C , axit hóa bằng HCl 1N tới khi $\text{pH} = 2-3$. Lọc phần chất rắn kết tủa và làm khô trong chân không để tạo ra axit 4-(4-*tert*-butoxycarbonylpiperazin-1-yl)-3-chlorobenzoic (1,4 g, 73%) là chất rắn màu trắng. LCMS: m/z : 341,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

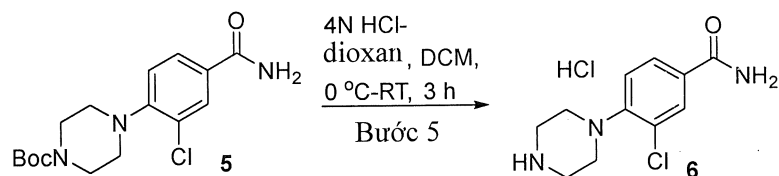
Bước 4:



Bổ sung $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ (0,42 g, 2,2 mmol), $\text{HOBT} \cdot \text{NH}_3$ (0,33 g, 2,2 mmol) và DIPEA (0,75 mL, 4,4 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 4-(4-*tert*-butoxycarbonylpiperazin-1-yl)-3-chlorobenzoic (0,5 g, 1,4 mmol) trong THF (5 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và pha loãng phần cặn còn lại bằng nước đá (100 mL) và EtOAc (150 mL). Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối (2 x 50 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm. Rửa phần cặn thô bằng Et_2O (3 x 5 mL), pentan (3 x 5 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra *tert*-butyl 4-(4-carbamoyl-2-chloro-phenyl)piperazin-1-carboxylat (0,4 g, 80%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 340,4 $[M+H]^+$.

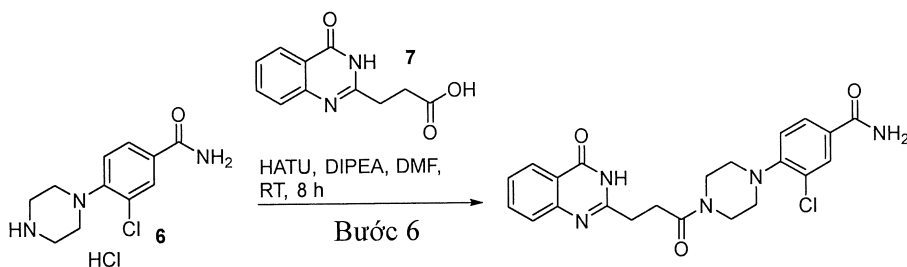
Bước 5:



Bổ sung HCl 4N-dioxan (0,4 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(4-carbamoyl-2-clo-phenyl)piperazin-1-carboxylat (0,4 g, 1,0 mmol) trong DCM (4 mL) đã làm lạnh xuống 0°C , và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O (3 x 10 mL), pentan (2 x 5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 3-clo-4-piperazin-1-yl-benzamit (300 mg, định lượng) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 240,4 $[M+H]^+$.

Bước 6:



Bổ sung axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,13 g, 0,50 mmol), HATU (0,26 g, 0,68 mmol) và DIPEA (0,23 mL, 1,37 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-4-piperazin-1-yl-benzamit (0,1 g, 0,45 mmol) trong DMF (1 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (10 mL), trong quá trình này, chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng Et₂O (3 x 5 mL), pentan (3 x 5 mL), MeOH (2 x 5 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 3-clo-

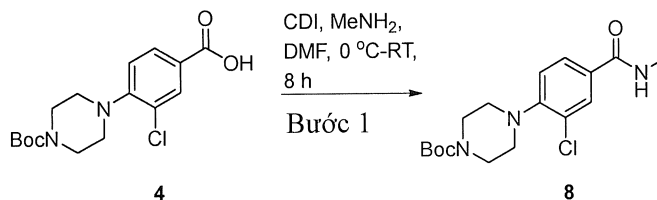
4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid (0,04 g, 20%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,22 (brs, 1H), 8,07 (dd, $J = 8,1, 1,2$ Hz, 1H), 7,98 (brs, 1H), 7,93 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,83-7,78 (m, 2H), 7,76 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 7,74-7,48 (m, 1H), 7,47 (brs, 1H), 7,44 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,69-3,61 (m, 4H), 3,07-2,97 (m, 4H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: m/z : 440,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 3 – Tổng hợp 3-clo-N-metyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid

Bước 1:

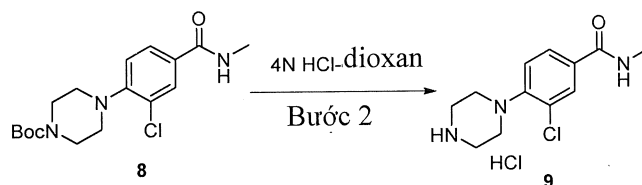


Bổ sung CDI (0,35 g, 2,2 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 4-(4-*tert*-butoxycarbonylpiperazin-1-yl)-3-clo-benzoic (0,5 g, 1,4 mmol) trong DMF (5 mL), làm lạnh xuống 0°C, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và dung dịch metylamin (dung dịch 1M trong THF, 1,46 mL, 1,4 mmol) được bổ sung vào đó. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), rót vào trong nước đá lạnh (50 mL) và chiết vào trong EtOAc (2 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (50 mL), nước muối (2 x 50 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm. Rửa phần cặn thô bằng Et_2O (3 x 10 mL) và pentan (3 x 10 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra *tert*-butyl 4-[2-clo-4-(metylcarbamoyl)phenyl]piperazin-1-carboxylat (0,4 g, 77%) là chất rắn màu nâu nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 8,44 (br, 1H), 7,88 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,19 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,47 (t, $J = 4,2$ Hz, 4H), 2,98 (d, $J = 4,8$ Hz, 4H), 2,75 (d, $J = 4,5$ Hz, 3H), 1,42 (s, 9H).

LCMS: m/z : 354,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

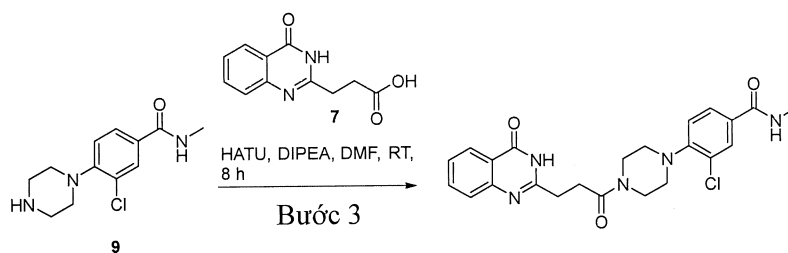
Bước 2:



Bổ sung HCl-dioxan 4N (1,1 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-[2-clo-4-(methylcarbamoyl)phenyl]piperazin-1-carboxylat (0,4 g, 1,0 mmol) trong DCM (4 mL), làm lạnh xuống 0 °C, làm ấm lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O và (2 x 5 mL) và pentan (2 x 5 mL) và làm khô trong chân không để thu được 3-clo-N-metyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (300 mg, 91%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 254,4 [M+H]⁺.

Bước 3:



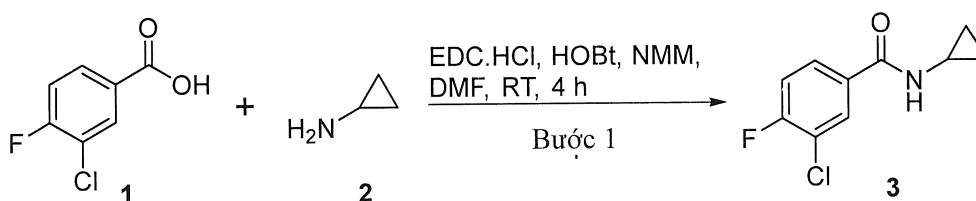
Bổ sung axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,14 g, 0,50 mmol), HATU (0,26 g, 0,68 mmol) và DIPEA (0,23 mL, 1,37 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-N-metyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (0,1 g, 0,45 mmol) trong DMF (1 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá và chiết bằng EtOAc (2 x 50 mL). Tách các phần chiết hữu cơ kết hợp, rửa bằng nước (30 mL), nước muối (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm. Rửa phần cặn thô bằng Et₂O (3 x 5 mL), pentan (3 x 5 mL), 10% MeOH-DCM (3 x 5 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra 3-clo-N-metyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit (0,04 g, 19%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,21 (brs, 1H), 8,45-8,44 (br, 1H), 8,07 (dd, $J = 7,8$, 1,2 Hz, 1H), 7,89 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,79-7,73 (m, 2H), 7,57 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,18 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,69-3,59 (m, 4H), 3,07-2,97 (m, 4H), 2,89 (br s, 4H), 2,76 (d, $J = 4,5$ Hz, 3H).

LCMS: m/z : 454,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 4 – Tổng hợp 3-clo-N-xyclopropyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamidit

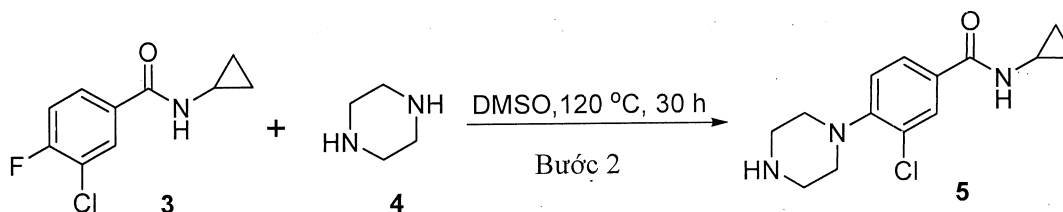
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (1,64 g, 8,56 mmol), HOBT (1,2 g, 8,89 mmol) và NMM (3,1 mL, 28,24 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-4-flo-benzoic (1 g, 5,73 mmol) và xyclopropanamin (0,47 mL, 6,76 mmol) trong DMF khô (10 mL), và khuấy trong 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (được giám sát bằng TLC), pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (25 mL) và khuấy trong 15 phút. Lọc phần chất rắn tạo ra, chất rắn này được rửa bằng nước (50 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra 3-clo-N-xyclopropyl-4-flo-benzamidit (0,85 g, hiệu suất 70%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 214,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 2:

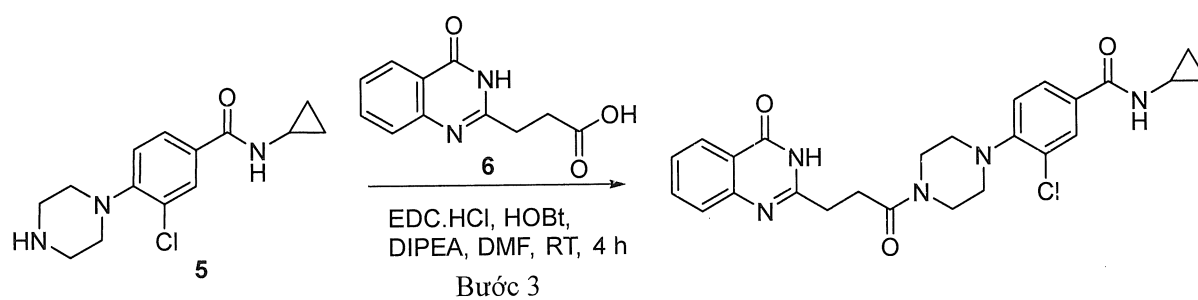


Bổ sung piperazin (6,26 g, 72,77 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-N-xyclopropyl-4-flo-benzamidit (3,1 g, 14,55

mmol) trong DMSO khô (25 mL), và khuấy ở nhiệt độ 120 °C trong 30 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau khi làm lạnh xuống nhiệt độ trong phòng, pha loãng khối phản ứng bằng nước (20 mL) và chiết bằng 10% IPA-DCM (5 x 100 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm. Rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O (2 x 20 mL) để tạo ra 3-clo-N-xyclopropyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (3,9 g, 96% yield) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 280,4 [M+H]⁺.

Bước 3:



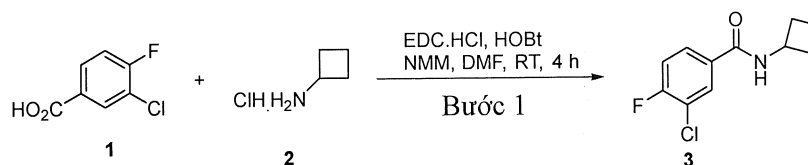
Bổ sung EDC·HCl (103 mg, 0,54 mmol), HOBT (73 mg, 0,54 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,15 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-N-xyclopropyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (100 mg, 0,36 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (94 mg, 0,43 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (được giám sát bằng TLC), làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL) và khuấy trong 15 phút. Lọc phần chất rắn tạo ra, rửa bằng nước (50 mL) tiếp theo bằng Et₂O (2 x 5 mL) để thu được hợp chất 3-clo-N-xyclopropyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit (80 mg, hiệu suất 47%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,31 (brs, 1H), 8,41 (brs, 1H), 8,08 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,79-7,40 (m, 2H), 7,57 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,45 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 3,69 (s, 2H), 3,62 (s, 2H), 3,07 (s, 2H), 2,97 (s, 2H), 2,88 (s, 4H), 2,85-2,81 (m, 1H), 0,71-0,65 (m, 2H), 0,56-0,55 (m, 2H).

LCMS: m/z : 480,5 [M+H]⁺.

Ví dụ 5 – Tổng hợp 3-clo-N-xyclobutyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit

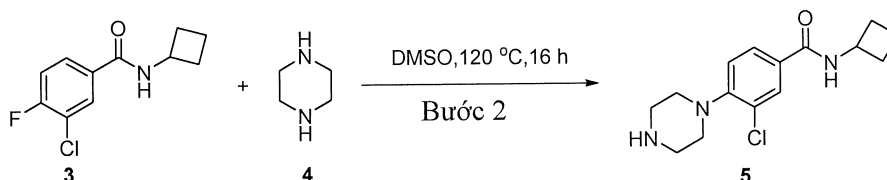
Bước 1:



Bổ sung xyclobutanamin hydroclorua (369 mg, 3,438 mmol), EDC·HCl (820 mg, 4,297 mmol), HOBT (580 mg, 4,297 mmol) và NMM (1,6 mL, 14,325 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-4-flo-benzoic (500 mg, 2,865 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (60 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 3-clo-N-xyclobutyl-4-flo-benzamit (550 mg, 84%), hợp chất này được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 228,22 [M+H]⁺.

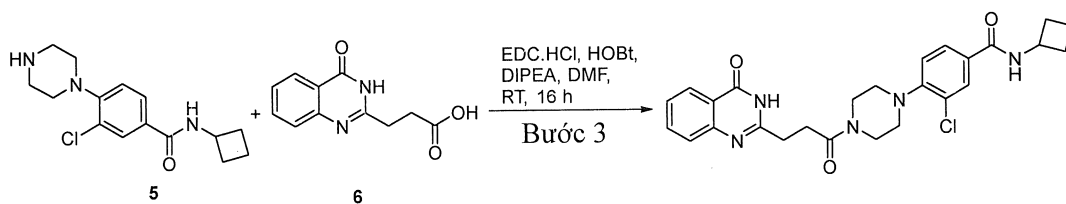
Bước 2:



Bổ sung piperazin (1,04 g, 12,114 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-N-xyclobutyl-4-flo-benzamit (550 mg, 2,422 mmol) trong DMSO (5,5mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 120 °C trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (40 mL), chất rắn được kết tủa, chất rắn kết tủa này được lọc trong môi trường argon để tạo ra 3-clo-N-xyclobutyl-4-piperazin-1-yl-benzamit thô (410 mg, 58%). Nguyên liệu thô được đưa sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 294,39 [M+H]⁺.

Bước 3



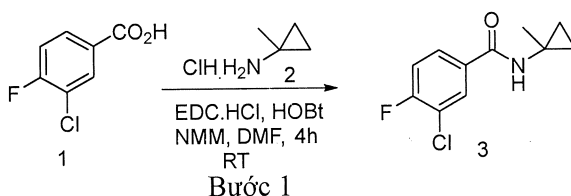
Bổ sung 3-clo-N-xyclobutyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (134 mg, 0,458 mmol), EDC·HCl (131 mg, 0,687 mmol), HOBT (92 mg, 0,687 mmol) và DIPEA (0,16 mL, 0,916 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá (20 mL), trong quá trình này, chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng Et₂O (20 mL) và làm khô trong chân không để thu được 3-clo-N-xyclobutyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit (90 mg, 40%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,2 (s, 1H), 8,60 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,07 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 7,80-7,73 (m, 2H), 7,56 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,17 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,42-4,37 (m, 1H), 3,65 (d, *J* = 22,5 Hz, 4H), 3,07 (brs, 2H), 2,97 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,18 (brs, 2H), 2,07-1,98 (m, 2H), 1,67-1,65 (m, 2H).

LCMS: *m/z*: 494,70 [M+H]⁺.

Ví dụ 6 – Tổng hợp 3-clo-N-(1-metylxcyclopropyl)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamit

Bước 1:

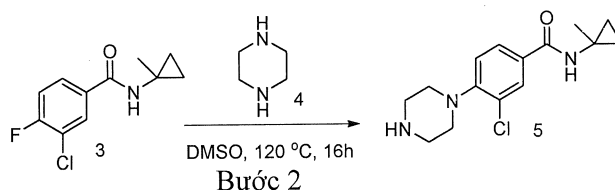


Bổ sung 1-metylxcyclopropanamin hydroclorua (36 mg, 0,34 mmol), EDC·HCl (82 mg, 0,429 mmol), HOBT (58 mg, 0,429 mmol) và NMM (0,16 mL, 1,43 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-4-flo-benzoic (50 mg, 0,29 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn

toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25 mL), trong quá trình này, chất rắn kết tủa được lọc. Chất rắn được rửa bằng nước (20 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 3-clo-4-flo-N-(1-metylxcyclopropyl)benzamid (50 mg, 78%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 228,19 $[M+H]^+$.

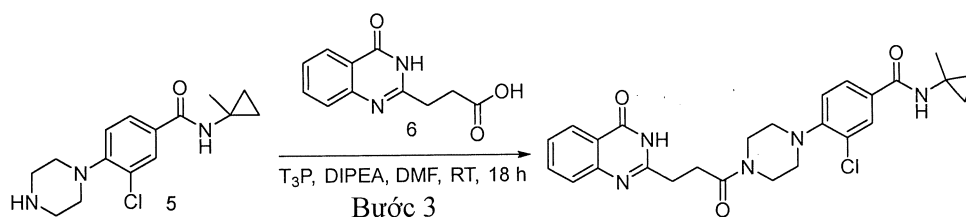
Bước 2:



Dung dịch được khuấy chứa 3-clo-4-flo-N-(1-metylxcyclopropyl)benzamid (500 mg, 2,21 mmol) và piperazin (951 mg, 11,06 mmol) trong DMSO (5 mL) được gia nhiệt ở 120 °C trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (200 mL), rửa bằng nước (1 × 100 mL) và dung dịch nước muối (1 x 100 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄, loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra 3-clo-N-(1-metylxcyclopropyl)-4-piperazin-1-ylbenzamid (800 mg) thô mà hợp chất này được đưa sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 294,35 $[M+H]^+$.

Bước 3:



Bổ sung 3-clo-N-(1-metylxcyclopropyl)-4-piperazin-1-ylbenzamid (604 mg, 2,06 mmol), T₃P (0,87 mL, 2,75 mmol, 50% trong DMF) và DIPEA (0,75 mL, 4,12 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (300 mg, 1,37 mmol) trong DMF (5mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn

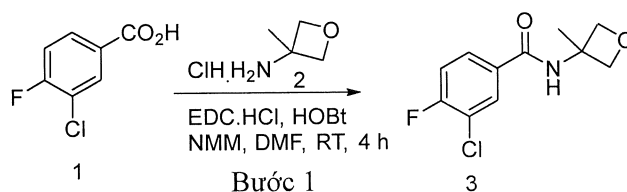
hợp phản ứng bằng EtOAc (200 mL), rửa bằng nước (1×100 mL) và dung dịch nước muối (1×100 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na_2SO_4 , làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra 3-clo-N-(1-metylcyclopropyl)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid (140 mg, 20%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO-d_6]: δ 12,20 (brs, 1H), 8,64 (brs, 1H), 8,07 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,76-7,75 (m, 2H), 7,57 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,45 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,15 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,69 (brs, 2H), 3,61 (brs, 2H), 3,06 (brs, 2H), 2,96 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 1,34 (s, 3H), 0,71 (brs, 2H), 0,60 (brs, 2H).

LCMS: m/z : 494,50 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 7 – Tổng hợp 3-clo-N-(3-metyloxetan-3-yl)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid

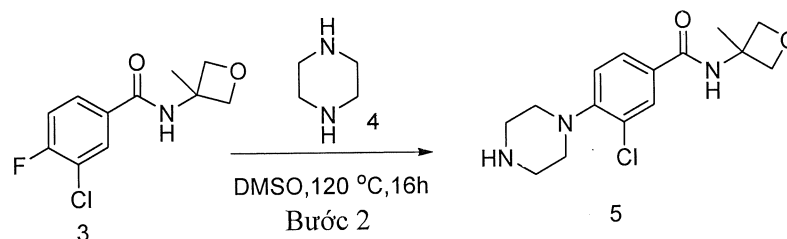
Bước 1:



Bổ sung 3-metyloxetan-3-amin hydroclorua (420 mg, 3,43 mmol), $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ (820 mg, 4,29 mmol), HOBT (580 mg, 4,29 mmol) và NMM (1,6 mL, 14,32 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-4-flo-benzoic (500 mg, 2,86 mmol) trong DMF (5 mL) và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (200 mL), rửa bằng nước (1×100 mL), dung dịch nước muối (1×100 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na_2SO_4 , làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 7 g, 70% EtOAc-hexan) để tạo ra 3-clo-4-flo-N-(3-metyloxetan-3-yl)benzamid (610 mg, 87%) là chất rắn màu kem.

LCMS: m/z : 244,14 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

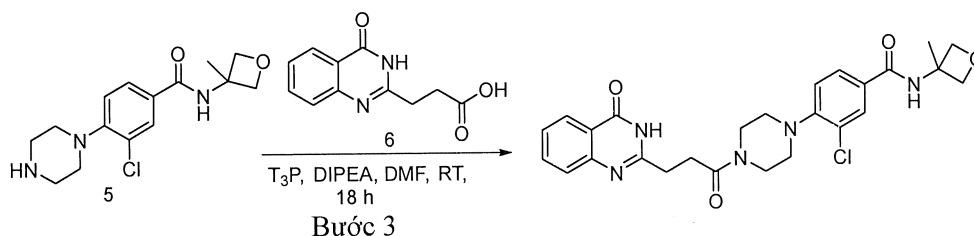
Bước 2:



Bổ sung piperazin (1 g, 12,34 mmol) ở nhiệt độ phòng vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-4-flo-N-(3-metyloxetan-3-yl)benzamid (600 mg, 2,46 mmol) trong DMSO (6 mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 120 °C trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (200 mL), rửa bằng nước (1 × 100 mL), dung dịch nước muối (1 × 100 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄, làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất 3-clo-N-(3-metyloxetan-3-yl)-4-piperazin-1-yl-benzamid thô (900 mg) mà hợp chất này được đưa sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 310,34 [M+H]⁺.

Bước 3:



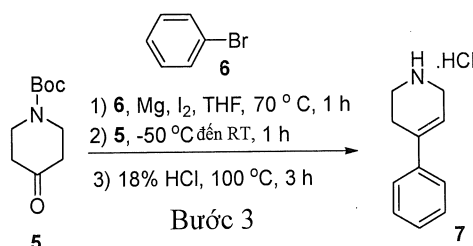
Bổ sung 3-clo-N-(3-metyloxetan-3-yl)-4-piperazin-1-yl-benzamid (425 mg, 1,37 mmol), T₃P (0,58 mL, 1,83 mmol, dung dịch 50% trong DMF) và DIPEA (0,5 mL, 2,75 mmol) ở nhiệt độ phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy trong 18 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (100 mL), rửa bằng nước (1 × 100 mL), dung dịch nước muối (1 × 100 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄, làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra 3-clo-N-(3-metyloxetan-3-yl)-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid (100 mg, 21%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,30 (brs, 1H), 8,86 (brs, 1H), 8,08 (dd, $J = 8,1, 1,2$ Hz, 1H), 7,92 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,81-7,73 (m, 2H), 7,57 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,19 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,69 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 4,36 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 3,70 (brs, 2H), 3,62 (brs, 2H), 3,08 (brs, 2H), 2,98 (brs, 2H), 2,90 (s, 4H), 1,58 (s, 3H).

LCMS: m/z : 510,69 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 8 – Tổng hợp 2-[3-oxo-3-(4-phenyl-1-piperidyl)propyl]-3H-quinazolin-4-on

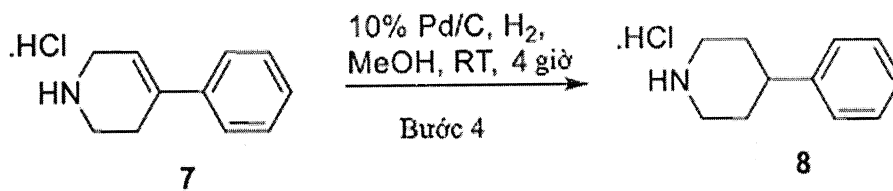
Bước 1:



Bình thót cổ đáy tròn hai cổ thể tích 100mL sấy khô trên lò được nạp bằng các phoi magie (600 mg, 25 mmol) và THF khô (5 mL) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon. Bổ sung iot (20 mg) vào hỗn hợp này, gia nhiệt tới 70 °C cùng với khuấy mạnh và dung dịch chứa bromobenzene (1,57 g, 10 mmol) trong THF khô (5 mL) được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ ở 70 °C và tiếp tục trong 1 giờ trong môi trường argon. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng và được bổ sung từng giọt vào dung dịch làm lạnh trước (-50 °C) chứa *tert*-butyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat (1 g, 5,0 mmol) trong THF khô (5 mL) trong môi trường argon. Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng dung dịch nước NH_4Cl bão hòa (10 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (10 mL), nước muối (25 mL) và làm khô trên Na_2SO_4 khan. Cô đặc các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm; sản phẩm thô được pha vào trong dung dịch nước HCl 18% (15 mL) và gia nhiệt ở nhiệt độ 100 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et_2O (20 mL) và EtOAc (20 mL) để tạo ra 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin hydroclorua (700 mg, 71%) là chất rắn màu trắng nhạt (hút ẩm).

LCMS: m/z : 160,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

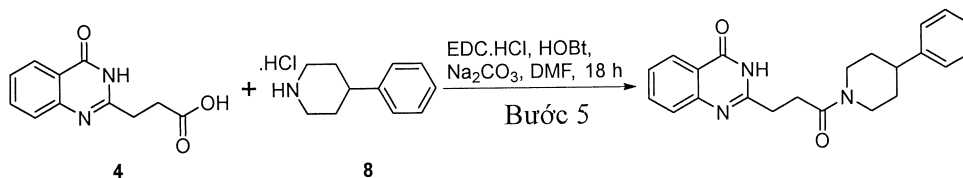
Bước 2:



Bổ sung 10% Pd-C (100 mg) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin hydroclorua (300 mg, 1,53 mmol) trong MeOH (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được xối bằng H₂ (3 lần) và khuấy trong môi trường H₂ (bóng) trong 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (được giám sát bằng LCMS), hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm Celite ngắn và rửa bằng MeOH (5 mL). Cô đặc dịch lọc dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng ete khô (2 x 5 mL) để thu được 4-phenylpiperidin hydroclorua (300 mg, 99%) là chất rắn màu trắng nhạt (hút ẩm).

LCMS: m/z : 162,3 [M+H]⁺.

Bước 3:



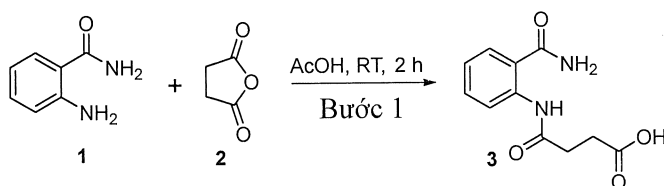
Bổ sung EDC·HCl (264 mg, 1,375 mmol), HOBT (187 mg, 1,38 mmol) và Na₂CO₃ (292 mg, 2,75 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) và 4-phenylpiperidin hydroclorua (217 mg, 1,1 mmol) trong DMF khô (1,5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước đá lạnh (15 mL) và khuấy trong 30 phút. Lọc phần kết tủa và chất rắn được rửa bằng nước (10 mL) và làm khô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 25 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 2-[3-oxo-3-(4-phenyl-1-piperidyl)propyl]-3H-quinazolin-4-on (30 mg, 25%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,21 (s, 1H), 8,08 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 7,79-7,73 (m, 1H), 7,57-7,52 (m, 1H), 7,48-7,43 (m, 1H), 7,38-7,22 (m, 5H), 4,51 (d, $J = 12,6$ Hz, 1H), 4,07 (d, $J = 13,8$ Hz, 1H), 3,14 (t, $J = 12,6$ Hz, 4H), 2,94-2,81 (m, 3H), 2,64-2,57 (m, 1H), 1,84-1,73 (m, 1H), 1,66-1,62 (m, 1H), 1,42-1,33 (m, 1H).

LCMS: m/z : 362,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 9 – Tổng hợp 2-[3-oxo-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl]-3H-quinazolin-4-on

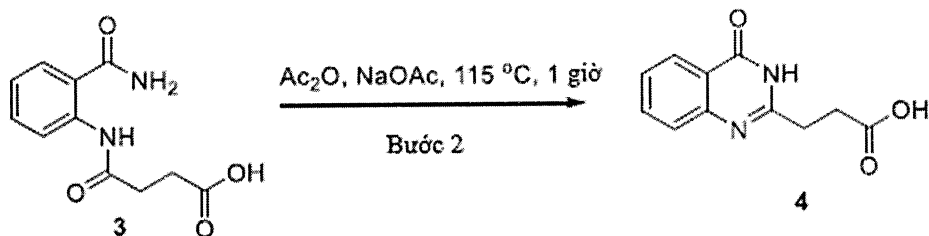
Bước 1:



Bổ sung dung dịch chứa anhydrit succinic (3,67 g, 36,76 mmol) trong AcOH (10 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-aminobenzamit (5 g, 36,76 mmol) trong AcOH (10 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng nước lạnh (100 mL) và khuấy trong 15 phút. Lọc phần kết tủa, rửa bằng nước lạnh (30 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra axit 4-(2-carbamoylanilino)-4-oxo-butanoic (8 g, 92%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 237,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 2:

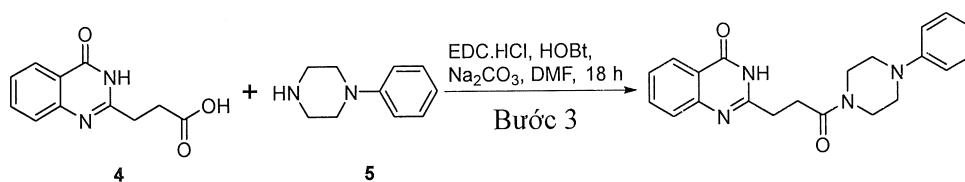


Huyền phù được khuấy chứa axit 4-(2-carbamoylanilino)-4-oxo-butanoic (8 g, 33,86 mmol) và NaOAc (2,78 g, 33,86 mmol) trong Ac_2O (10 mL) được gia nhiệt ở 120°C trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp

phản ứng về nhiệt độ trong phòng, làm dừng bằng nước (100 mL) và dung dịch NaOH 1N được bổ sung từ từ tới khi pH = 10. Rửa hỗn hợp thu được bằng EtOAc (30 mL), tách lớp nước và axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 5, khuấy trong 1 giờ và lọc. Chất rắn được rửa bằng hexan (3 x 20 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (5,0 g, 68%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế.

LCMS: m/z : 219,3 $[M+H]^+$.

Bước 3:



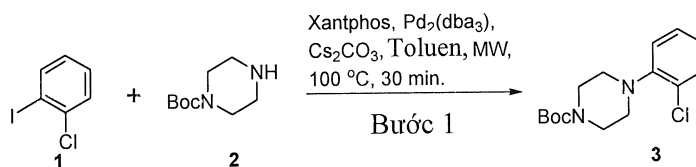
Bổ sung EDC·HCl (132 mg, 0,687 mmol), HOBT (93 mg, 0,688 mmol) và Na_2CO_3 (146 mg, 1,37 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) và 1-phenylpiperazin (90 mg, 0,55 mmol) trong DMF khô (1,5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ trong môi trường argon (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước đá lạnh (15 mL) và khuấy trong 30 phút. Lọc phần kết tủa, rửa bằng nước (10 mL) và làm khô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 50 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 2-[3-oxo-3-(4-phenylpiperazin-1-yl)propyl]-3H-quinazolin-4-on (33 mg, 20%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 12,21 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 1,2, 8,1$ Hz, 1H), 7,77-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,47-7,42 (m, 1H), 7,23 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 6,92 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 6,81 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,67-3,57 (m, 4H), 3,20-3,06 (m, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 363,5 $[M+H]^+$.

Ví dụ 10 – Tổng hợp 2-[3-[4-(2-clophenyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

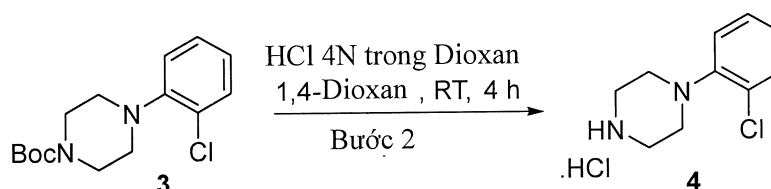
Bước 1:



Bổ sung xantphos (34 mg, 0,0590 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (24 mg, 0,0262 mmol) và Cs_2CO_3 (261 mg, 0,80 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 1-clo-2-iodo-benzene (140 mg, 0,590 mmol) và *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (100 mg, 0,537 mmol) trong toluen khô (2 mL). Chiếu xạ hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 100 °C trong 30 phút trong lò vi sóng CEM (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cho bay hơi dung môi dưới áp suất giảm và pha loãng phần cặn còn lại bằng nước (20 mL), chiết bằng EtOAc (3 x 20 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô trên Na_2SO_4 khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(2-clophenyl)piperazin-1-carboxylat (100 mg, 63%) là chất rắn màu trắng nhạt.

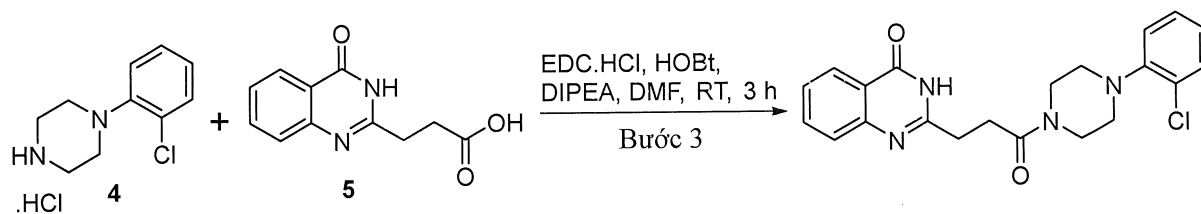
^1H NMR [300 MHz, CDCl_3]: δ 7,37 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,22 (td, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,02-6,96 (m, 2H), 3,60 (t, $J = 5,1$ Hz, 4H), 2,99 (t, $J = 5,1$ Hz, 4H), 1,48 (s, 9H).

Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong 1,4-dioxan (0,9 mL, 3,60 mmol) từng giọt ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(2-clophenyl)piperazin-1-carboxylat (250 mg, 0,844 mmol) trong 1,4-dioxan (2 mL). Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, rửa hợp chất này bằng dietyl ete (2 x 20 mL), và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 1-(2-clophenyl)piperazin hydroclorua (165 mg, 84%) là chất rắn màu trắng.

Bước 3:



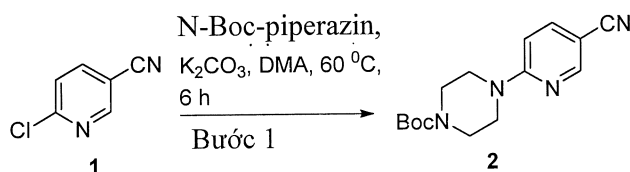
Bổ sung EDC·HCl (98 mg, 0,511 mmol), HOBT (69 mg, 0,510 mmol) và DIPEA (0,18 mL, 1,03 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-clophenyl)piperazin hydroclorua (119 mg, 0,510 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (111 mg, 0,509 mmol) trong DMF khô (2 mL) và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL) và khuấy trong 15 phút. Lọc phần kết tủa thu được và chất rắn được rửa bằng Et₂O (2 x 5 mL) để tạo ra 2-[3-[4-(2-clophenyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (90 mg, 44%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,08 (dd, *J* = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,73 (m, 1H), 7,57 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,48-7,41 (m, 2H), 7,31-7,28 (m, 1H), 7,15-7,04 (m, 2H), 3,68 (s, 2H), 3,61 (s, 2H), 3,00 (s, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 397,30 [M+H]⁺.

Ví dụ 11 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

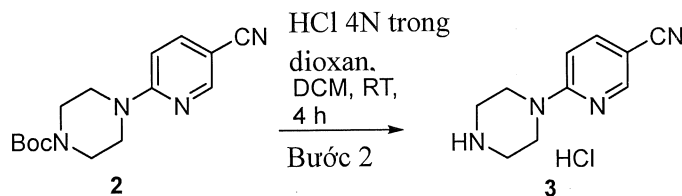


Bổ sung K₂CO₃ (3,4 g, 24,63 mmol), N-Boc-piperazin (2,7 g, 14,50 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 6-clopyridin-3-cacbonitril (2 g, 14,43 mmol) trong DMA (20 mL) và khuấy trong 3 giờ. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 60 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu) và rót vào trong nước đá (100 mL), trong quá trình này, chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng Et₂O (3 x 10 mL), pentan (3 x 10 mL) và làm khô để tạo ra

tert-butyl 4-(5-cyano-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (3 g, 73%) mà nó được sử dụng không cần tinh chế.

LCMS: m/z : 289,3 $[M+H]^+$.

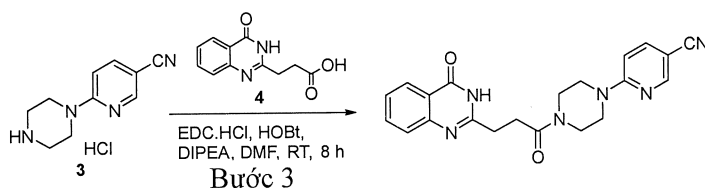
Bước 2:



Bổ sung từng giọt 4N HCl trong dioxan (0,5 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-cyano-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (0,5 g, 1,736 mmol) trong DCM và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ trong môi trường argon (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại mà phần này được rửa bằng Et₂O (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL), pentan (2 x 5 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (0,3 g, hiệu suất 93%) mà được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 9,58 (brs, 2H), 8,54 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 7,91-7,33 (dd, J = 3,2, 12,4 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 3,91 (t, J = 6,8 Hz, 4H), 3,14 (brs, 4H).

Bước 3:



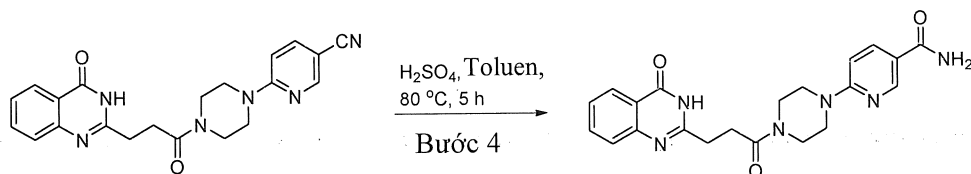
Bổ sung EDC·HCl (0,35 g, 1,83 mmol), HOBT (0,24 g, 1,83 mmol) và DIPEA (0,8 mL, 4,59 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (0,2 g, 0,974 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,2 g, 0,913 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (30 mL) và khuấy trong 15 phút, trong quá trình này, chất rắn

kết tủa được lọc và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH trong DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (0,025 g, 20%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,02 (s, 1H), 8,51 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 8,08-8,05 (dd, $J = 1,6, 10,4$ Hz, 1H), 7,90-7,86 (dd, $J = 3,2, 12,0$ Hz, 1H), 7,77-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 10,4$ Hz, 1H), 7,47-7,41 (m, 1H), 6,94 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 4H), 3,57-3,56 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 389,61 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 12 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carboxamit



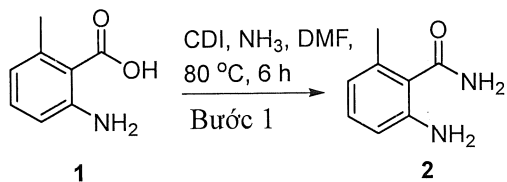
Bổ sung H_2SO_4 (127 mg, 1,285 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (100 mg, 0,257 mmol) trong toluen (1 mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm và đồng chưng cất với toluen (3 x 5 mL), kiềm hóa bằng dung dịch NaOH 1N tới khi pH = 9, chiết bằng 10% MeOH-DCM (3 x 10 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 10% MeOH trong DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carboxamit (0,025 g, 20%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,02 (s, 1H), 8,63 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 8,08-8,05 (dd, $J = 1,6, 10,4$ Hz, 1H), 8,00-7,96 (dd, $J = 3,2, 12,0$ Hz, 1H), 7,79-7,71 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 10,8$ Hz, 1H), 7,44 (t, $J = 10,4$ Hz, 1H), 7,17 (s, 1H), 6,86 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 3,69-3,64 (m, 4H), 3,56 (s, 4H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 407,5 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 13 – Tổng hợp 6-[4-[3-(5-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

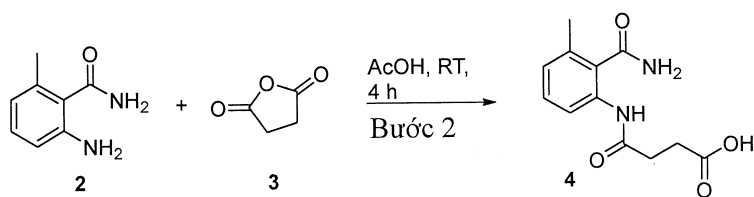
Bước 1:



Bổ sung CDI (0,53 g, 3,31 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-6-metyl-benzoic (0,5 g, 3,31 mmol) trong DMF (5 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 80 °C trong 2 giờ và dung dịch nước amoniac (25%, 10 mL) được bổ sung từ từ vào hỗn hợp phản ứng nêu trên, duy trì nhiệt độ ở 80 °C và tiếp tục trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 50 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et₂O (10 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 2-amino-6-metyl-benzamit (200 mg, 40%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI+): *m/z*: 151,09 [M+H]⁺.

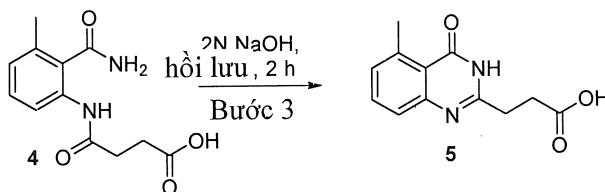
Bước 2:



Bổ sung anhydrit suxinic ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-6-metyl-benzamit (0,2 g, 1,33 mmol) trong AcOH (3 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (5 mL) và khuấy trong 30 phút, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (20 mL), axeton lạnh (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-(2-carbamoyl-3-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 75%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI⁺): m/z : 251,50 [M+H]⁺.

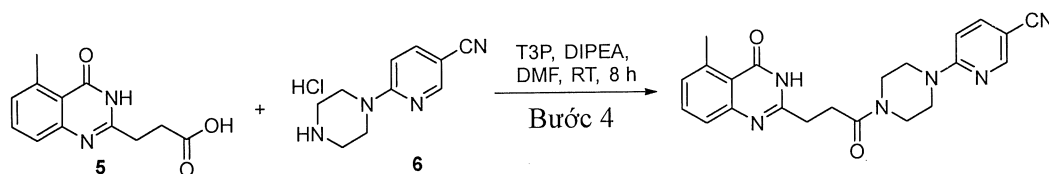
Bước 3:



Axit 4-(2-carbamoyl-3-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (0,25 g, 1,0 mmol) được kết hợp vào trong 2 N dung dịch nước NaOH (5 mL) và khuấy ở nhiệt độ 100 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng từ từ xuống 0 °C và axit hóa tới độ pH = 3-4 bằng 2 N dung dịch nước HCl, trong quá trình này, chất rắn màu trắng kết tủa. Huyền phù được khuấy ở 0 °C trong 30 phút, lọc, rửa bằng nước (20 mL), axeton lạnh (2 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-(5-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (150 mg, 64%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI⁺): m/z : 233,49 [M+H]⁺.

Bước 4:



Bổ sung DIPEA (0,3 mL, 1,94 mmol) và T₃P (dung dịch 50% trong EtOAc, 0,4 mL, 1,29 mmol) ở nhiệt độ phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(5-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (150 mg, 0,65 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (145 mg, 0,77 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cạn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(5-metyl-

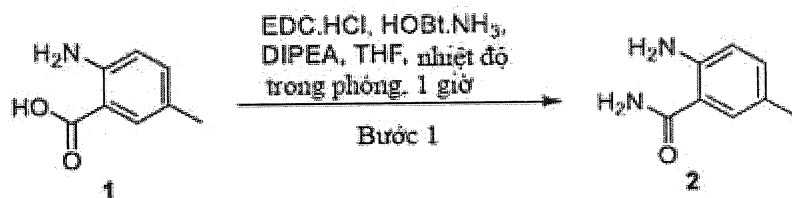
4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 27%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 11,98 (brs, 1H), 8,51 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 9,0, 2,1$ Hz 1H), 7,55 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,34 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,93 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 3,77-3,76 (m, 2H), 3,64-3,62 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,88-2,83 (m, 4H), 2,75 (s, 3H).

LCMS (ESI $^+$): m/z : 403,66 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 14 – Tổng hợp 6-[4-[3-(6-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

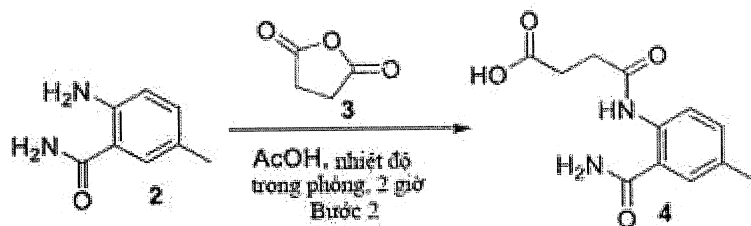
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (189 mg, 0,99 mmol), HOBT·NH₃ (149 mg, 0,99 mmol) và DIPEA (0,35 mL, 1,99 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-5-metyl-benzoic (100 mg, 0,66 mmol) trong THF (2 mL), và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (1 x 50 mL), rửa bằng nước (1 x 20 mL) và dung dịch nước muối (1 x 20 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄, làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng Combiflash R_f 200 Teledyne ISCO (100% EtOAc, khay 12 gm) để tạo ra 2-amino-5-metyl-benzamit (70 mg, 70%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI $^+$): m/z : 151,13 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

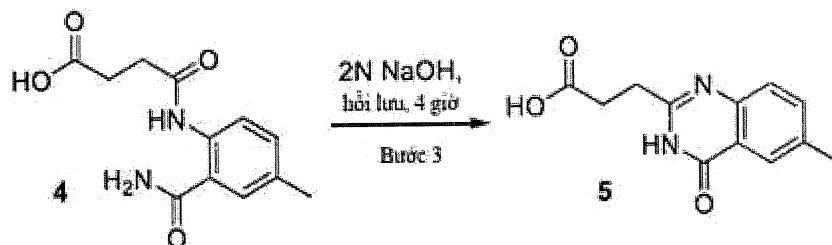
Bước 2:



Bổ sung anhydrit suxinic (480 mg, 4,80 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-5-metyl-benzamit (600 mg, 4,0 mmol) trong AcOH (6 mL), và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh (1 x 50 mL), khuấy trong 30 phút chất rắn mà kết tủa trong quá trình này được lọc, rửa bằng nước (1 x 50 mL), tiếp theo bằng axeton lạnh (1 x 20 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để thu được axit 4-(2-carbamoyl-4-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (800 mg, 80%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI+): m/z : 273,56 $[M+Na]^+$.

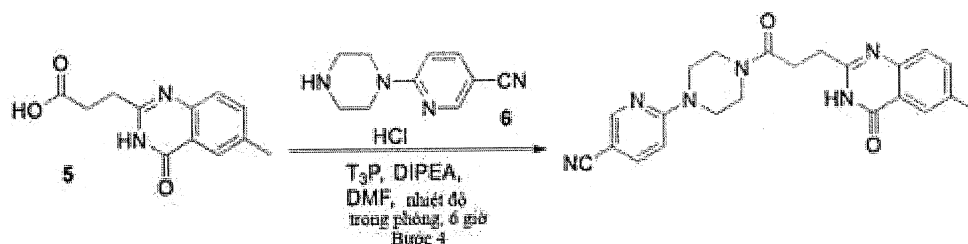
Bước 3:



Dung dịch được khuấy chứa axit 4-(2-carbamoyl-4-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (480 mg, 2,07 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (15 mL) được gia nhiệt ở 100 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn hợp chất 4). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 5, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (1 x 80 mL), tiếp theo bằng axeton lạnh (1 x 20 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để thu được axit 3-(6-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (380 mg, 85%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI+): m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Bước 4:



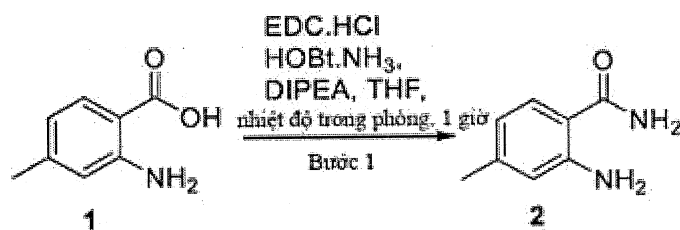
Bổ sung 6-piperazin-1-ylpyridin-3-carbonitril hydroclorua (289 mg, 1,293 mmol), T₃P (50% trong DMF, 0,68 mL, 2,15 mmol) và DIPEA (0,57 mL, 3,23 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(6-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (250 mg, 1,077 mmol) trong DMF (5mL) ở nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (1 x 80 mL), khuấy trong 5 phút khi chất rắn kết tủa được lọc. Chất rắn được rửa bằng nước (1 x 70 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 6-[4-[3-(6-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (170 mg, 39%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,10 (brs, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,90-7,87 (m, 2H), 7,56 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,44 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 9,3 Hz, 1H), 3,79-3,72 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 4H), 3,59-3,54 (m, 2H), 2,87 (s, 4H), 2,41 (s, 3H).

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 403,66 [M+H]⁺.

Ví dụ 15 – Tổng hợp 6-[4-[3-(7-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril

Bước 1:

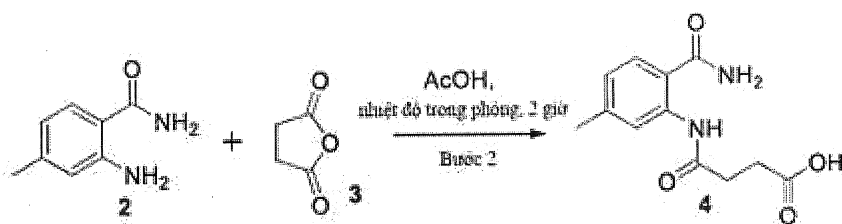


Bổ sung EDC·HCl (569 mg, 2,98 mmol), HOBT·NH₃ (447 mg, 2,98 mmol) và DIPEA (1,06 mL, 5,96 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa

axit 2-amino-4-metyl-benzoic (300 mg, 1,99 mmol) trong THF (6 mL), và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL), chiết bằng EtOAc (3 x 25 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (100-200 silicagel, 5 g, 50% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-amino-4-metyl-benzamit (190 mg, 64%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 7,62 (brs, 1H), 7,42 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 6,93 (brs, 1H), 6,54-6,46 (m, 3H), 6,30-6,27 (m, 1H), 2,15 (s, 3H).

Bước 2:

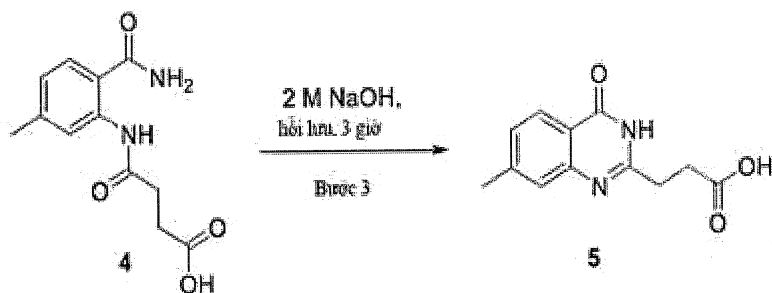


Bổ sung anhydrit suxinic (151 mg, 1,52 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-4-metyl-benzamit (190 mg, 1,27 mmol) trong AcOH (5 mL), và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL), chất rắn được kết tủa, lọc và làm khô trong chân không để thu được axit 4-(2-carbamoyl-5-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic mong muốn (250 mg, 89%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,37 (brs, 1H), 11,88 (s, 1H), 8,33 (s, 1H), 8,20 (s, 1H), 7,70 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,91 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 2,53-2,50 (m, 4H), 2,31 (s, 3H).

LCMS: m/z : 273,50 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

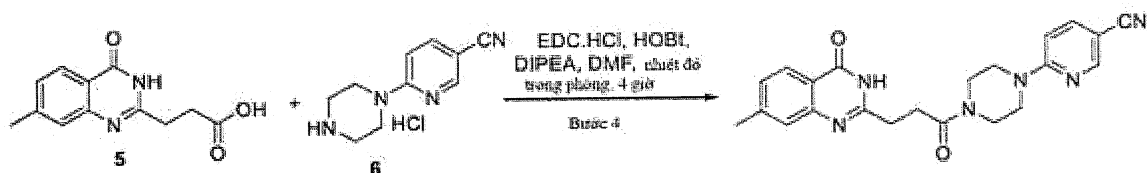
Bước 3:



Axit 4-(2-carbamoyl-5-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 1 mmol) được kết hợp trong NaOH 2N (10 mL) và được hồi lưu trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm lạnh xuống 0 °C và axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 4, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(7-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (220 mg, 95%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Bước 4:



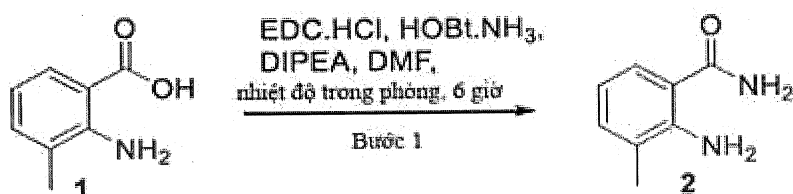
Bổ sung EDC·HCl (185 mg, 0,97 mmol), HOBT (130 mg, 0,97 mmol) và DIPEA (0,46 mL, 2,58 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(7-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (150 mg, 0,65 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (173 mg, 0,78 mmol) trong DMF (4 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước lạnh (25 mL), khuấy trong 10 phút, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, làm khô trong chân không, rửa bằng Et₂O (20 mL) và hexan (20 mL) để thu được 6-[4-[3-(7-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (75 mg, 29%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,1 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 7,96-7,87 (m, 2H), 7,33 (s, 1H), 7,26 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,78 (brs, 2H), 3,65 (brs, 4H), 3,57 (brs, 2H), 2,87 (brs, 4H), 2,39 (s, 3H).

LCMS: m/z : 403,69 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 16 – Tổng hợp 6-[4-[3-(8-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

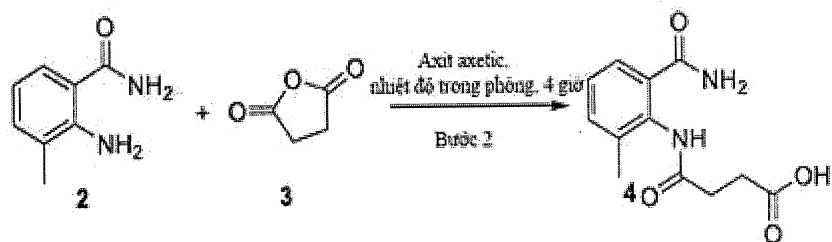
Bước 1:



Bổ sung EDC.HCl (0,948 g, 4,97 mmol), HOBT.NH₃ (0,745 g, 4,97 mmol) và DIPEA (1,76 mL, 9,93 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-3-metyl-benzoic (0,5 g, 3,31 mmol) trong THF (15 mL), và khuấy trong 6 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 50 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 50% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-amino-3-metyl-benzamit (0,3 g, 60%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 151,09 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

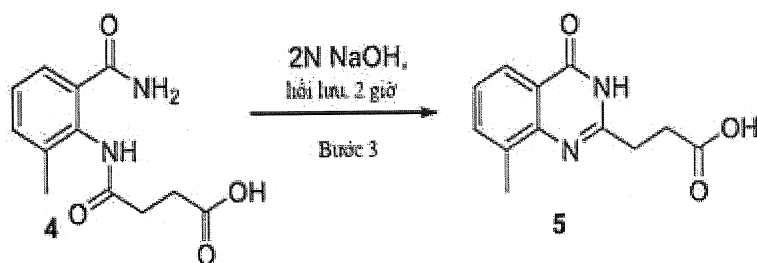
Bước 2:



Bổ sung anhydrit suxinic ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-3-metyl-benzamit (0,3 g, 2,0 mmol) trong AcOH (3 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (10 mL) và khuấy trong 30 phút, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (20 mL), axeton lạnh (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-(2-carbamoyl-6-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (280 mg, 56%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 251,48 $[M+H]^+$.

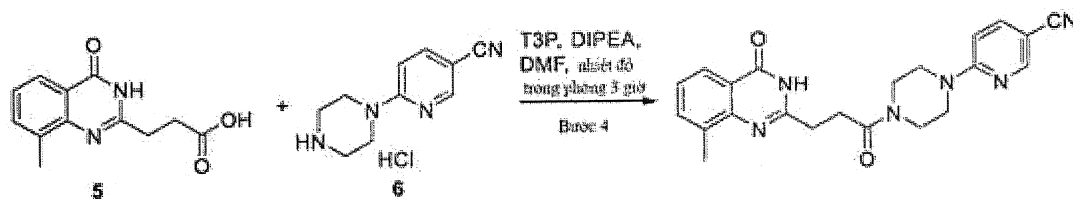
Bước 3:



Axit 4-(2-carbamoyl-6-metyl-anilino)-4-oxo-butanoic (0,28 g, 1,12 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (5 mL) được khuấy ở 100 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C và axit hóa bằng dung dịch nước HCl 2N tới khi pH = 3-4 trong quá trình này, chất rắn màu trắng kết tủa. Huyền phù được khuấy ở 0 °C trong 30 phút, lọc, rửa bằng nước (20 mL), axeton lạnh (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-(8-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (180 mg, 69%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 233,45 $[M+H]^+$.

Bước 4:

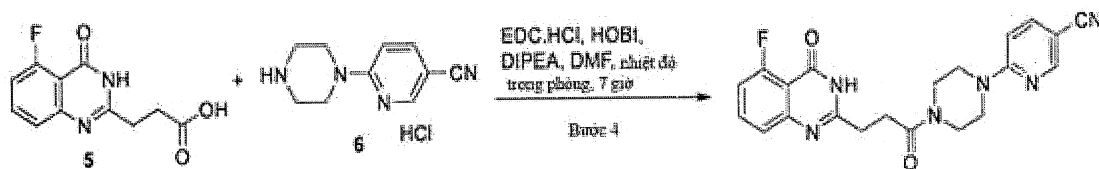


Bổ sung DIPEA (0,23 mL, 1,29 mmol) và T₃P (0,27 mL, 0,86 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(8-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,43 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (97 mg, 0,52 mmol) trong DMF (3 mL), và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Nguyên liệu thô được tái kết tinh từ axetonitril (5 mL) để tạo ra 6-[4-[3-(8-metyl-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 34%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,20 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,92-7,86 (m, 2H), 7,60 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,31 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,66-3,65 (m, 4H), 3,59-3,57 (m, 2H), 2,90 (s, 4H), 2,46 (s, 3H).

LCMS: m/z : 403,68 [M+H]⁺.

Ví dụ 17 – Tổng hợp 6-[4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril



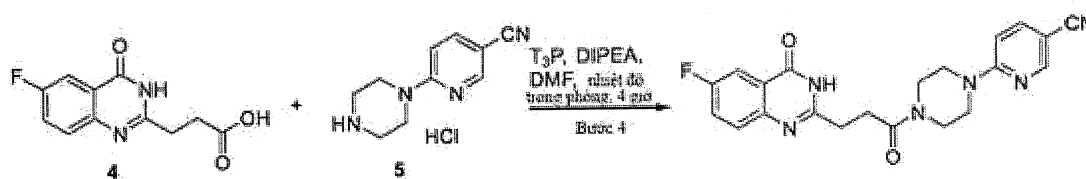
Bổ sung 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (283 mg, 1,265 mmol), EDC·HCl (302 mg, 1,582 mmol), HOBT (213 mg, 1,582 mmol) và DIPEA (0,56 mL, 3,164 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (250 mg, 1,054 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy trong 7 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng

hỗn hợp phản ứng bằng nước (1 x 80 mL), khuấy trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng, chất rắn mà kết tủa trong quá trình này được lọc, rửa bằng nước (1 x 70 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 6-[4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (120 mg, 23%) là chất rắn màu vàng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,20 (brs, 1H), 8,51 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 9,3, 2,4$ Hz, 1H), 7,73-7,67 (m, 1H), 7,35 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H) 7,21-7,15 (m, 1H), 6,94 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,81-3,74 (m, 2H), 3,68-3,62 (m, 4H), 3,58-3,53 (m, 2H), 2,87 (s, 4H).

LCMS: m/z : 407,60 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 18 – Tổng hợp 6-[4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril



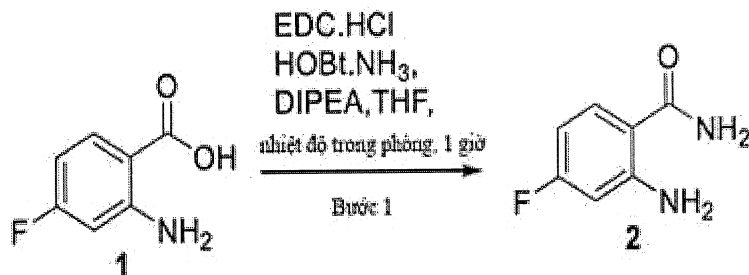
Bổ sung DIPEA (0,2 mL, 1,27 mmol) và T₃P (0,3 mL, 0,85 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,42 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (95 mg, 0,51 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết vào trong EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô còn lại. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 35%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,33 (brs, 1H), 8,51 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 9,0, 2,1$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,64-7,62 (m, 2H), 6,93 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,77-3,56 (m, 8H), 2,88 (s, 4H).

LCMS: m/z : 407,61 $[M+1]^+$.

Ví dụ 19 – Tổng hợp 6-[4-[3-(7-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

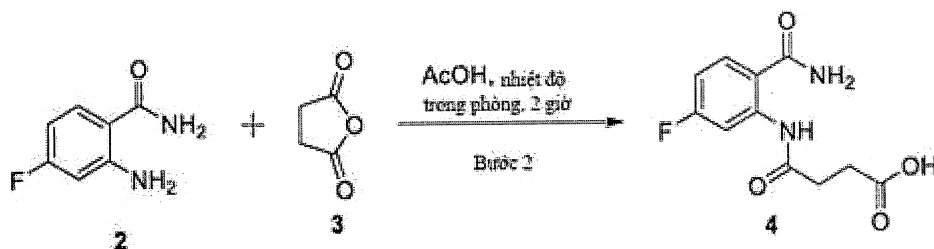
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (553 mg, 2,90 mmol), HOBT·NH₃ (435 mg, 2,90 mmol), DIPEA (1,03 mL, 5,79 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-4-flo-benzoic (300 mg, 1,93 mmol) trong THF (6 mL), và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 20 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silicagel 100-200 lỗ, 5g, 50% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-amino-4-flo-benzamit (195 mg, 65%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 7,71 (brs, 1H), 7,61-7,56 (m, 1H), 7,07 (brs, 1H), 6,89 (s, 2H), 6,42 (dd, $J = 2,7, 12,0$ Hz, 1H), 6,30-6,23 (m, 1H).

Bước 2:

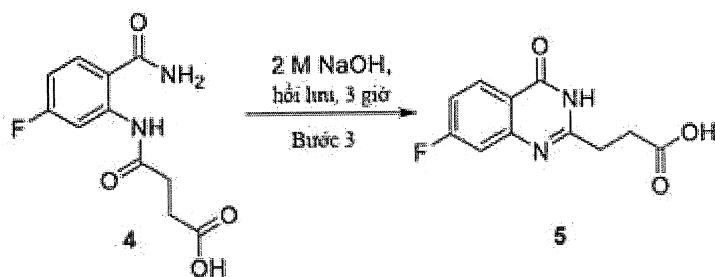


Bổ sung anhydrit suxinic (151 mg, 1,51 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-4-flo-benzamit (195 mg, 1,26 mmol) trong AcOH (4 mL), và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu).

Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL), trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, làm khô trong chân không để thu được axit 4-(2-carbamoyl-5-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (260 mg, 81%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

^1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,10 (s, 1H), 8,40-8,26 (m, 3H), 7,92-7,87 (m, 1H), 7,79 (brs, 1H), 7,00-6,93 (m, 1H), 2,56-2,49 (m, 4H).

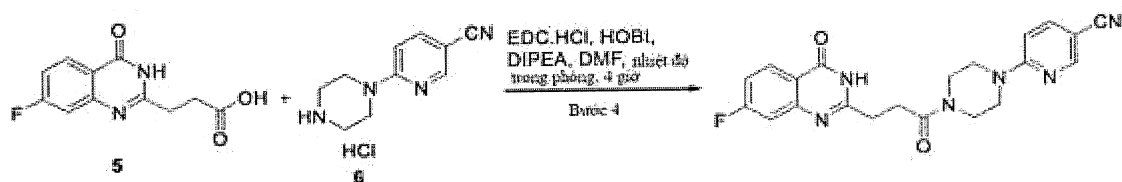
Bước 3:



Dung dịch được khuấy chứa axit 4-(2-carbamoyl-5-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (250 mg, 0,98 mmol) trong NaOH 2N (10 mL) được hồi lưu trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 4, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(7-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (210 mg, 90%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 237,43 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 4:



Bổ sung EDC·HCl (181 mg, 0,95 mmol), HOBT (130 mg, 0,95 mmol) và DIPEA (0,45 mL, 2,54 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(7-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (150 mg, 0,63 mmol) và 6-piperazin-1-

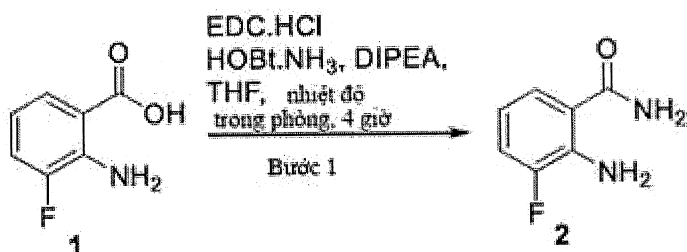
ylpyridin-3-cacbonitril;hydroclorua (174 mg, 0,76 mmol) trong DMF (4 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước lạnh (25 mL), trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, làm khô trong chân không và rửa bằng Et₂O (20 mL), hexan (20 mL), pentan (20 mL), EtOAc (15 mL) và lại làm khô trong chân không để tạo ra 6-[4-[3-(7-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (110 mg, 43%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,30 (s, 1H), 8,51 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 8,15-8,10 (m, 1H), 7,88 (dd, *J* = 2,4, 9,6 Hz, 1H), 7,33-7,27 (m, 2H), 6,94 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,80-3,73 (m, 2H), 3,69-3,61 (m, 4H), 3,59-3,53 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 407,61 [M+H]⁺.

Ví dụ 20 – Tổng hợp 6-[4-[3-(8-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

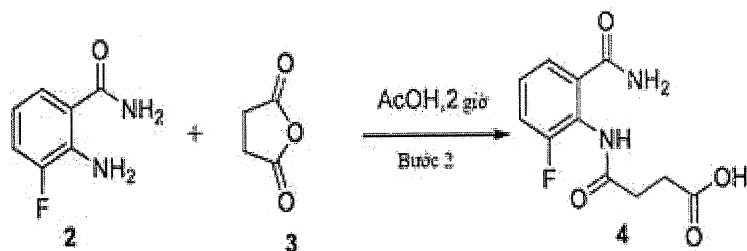
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (738 mg, 3,86 mmol), HOBT·NH₃ (580 mg, 3,86 mmol) và DIPEA (1,38 mL, 7,73 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-3-flo-benzoic (400 mg, 2,57 mmol) trong THF (10 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (silicagel 100-200 lỗ, 5g, 50% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-amino-3-flo-benzamit (250 mg, 63%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: *m/z*: 155,42 [M+H]⁺.

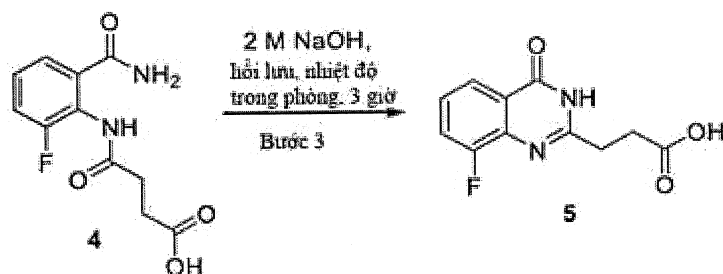
Bước 2:



Bổ sung anhydrit suxinic (389 mg, 3,89 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-3-flo-benzamit (250 mg, 1,62 mmol) trong AcOH (5 mL), và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL), trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để thu được axit 4-(2-carbamoyl-6-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (400 mg, 97%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 255,42 $[M+H]^+$.

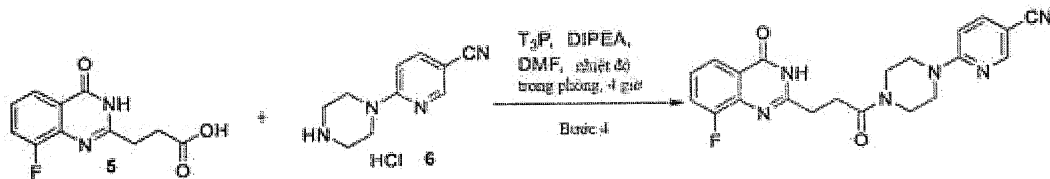
Bước 3:



Axit 4-(2-carbamoyl-6-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (400 mg, 1,57 mmol) được kết hợp trong NaOH 2N (10 mL) và gia nhiệt ở nhiệt độ 100 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau khi kết thúc phản ứng, làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 4, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(8-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (250 mg, 67%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 237,39 $[M+H]^+$.

Bước 4:



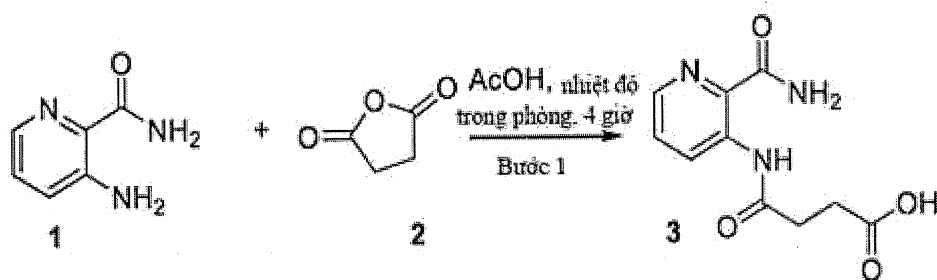
Bổ sung T₃P (0,3 mL, 0,95 mmol) và DIPEA (0,45 ml, 2,54 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(8-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (150 mg, 0,63 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (170 mg, 0,76 mmol) trong DMF (4 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước lạnh (25 mL), trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, làm khô trong chân không, rửa bằng hexan (30 mL), cloroform (30 mL) và lại làm khô trong chân không để tạo ra 6-[4-[3-(8-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (80 mg, 23%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 8,51 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H), 7,90-7,87 (m, 2H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,46-7,39 (m, 1H), 6,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,77 (brs, 2H), 3,64 (brs, 4H), 3,57 (brs, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 407,61 [M+H]⁺.

Ví dụ 21 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

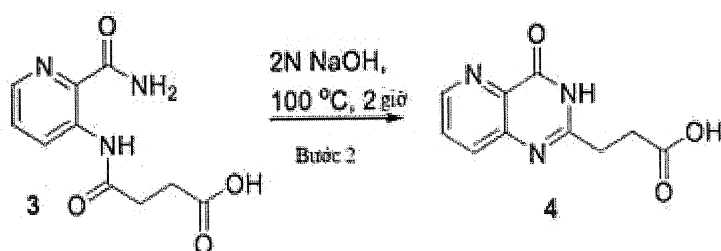


Bổ sung anhydrit suxinic (0,26 g, 2,63 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 3-aminopyridin-2-carboxamit (0,3 g, 2,19 mmol) trong AcOH (3 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (5 mL) và khuấy trong 30 phút, trong quá

trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (10 mL), axeton lạnh (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-[(2-carbamoyl-3-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoic (320 mg, 61%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 238,41 $[M+H]^+$.

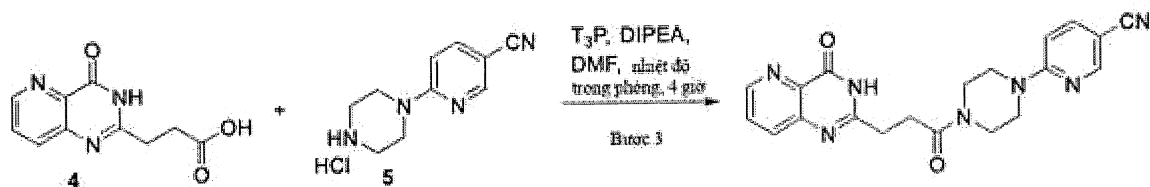
Bước 2:



Axit 4-[(2-carbamoyl-3-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoic (300 mg, 1,27 mmol) được kết hợp trong dung dịch nước NaOH 2N (5 mL) và khuấy ở nhiệt độ 100 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C và axit hóa bằng dung dịch nước HCl tới pH = 3-4, trong quá trình này, chất rắn màu trắng kết tủa out. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 30 phút. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (10 mL), axeton lạnh (4 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (200 mg, 72%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 220,46 $[M+H]^+$.

Bước 3:



Bổ sung DIPEA (0,3 mL, 1,37 mmol) và T₃P (0,23 mL, 0,92 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-

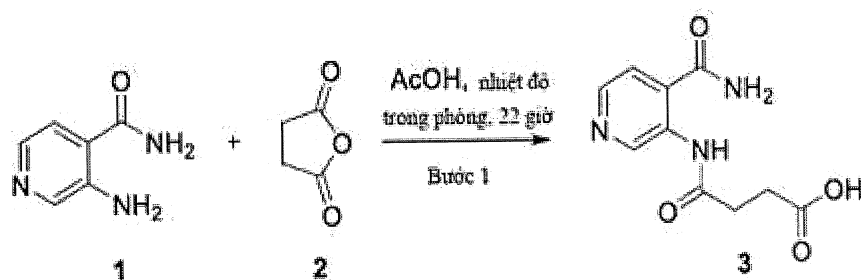
2-yl)propanoic (100 mg, 0,46 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (104 mg, 0,55 mmol) trong DMF (3 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 20 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-DCM để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 36%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz DMSO-d₆]: δ 12,50 (brs, 1H), 8,71 (dd, *J* = 4,0, 1,2 Hz, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,95 (dd, *J* = 8,4, 1,6 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 9,2, 1,6 Hz, 1H), 7,73 (dd, *J* = 8,0, 4,0 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,77-3,75 (m, 2H), 3,66-3,63 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 390,69 [M+H]⁺.

Ví dụ 22 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

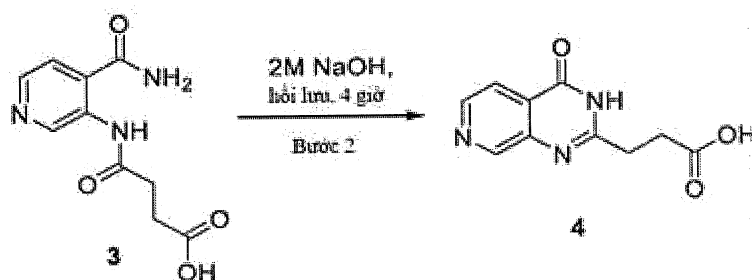


Bổ sung anhydrit suxinic (262 mg, 2,62 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 3-aminopyridin-4-carboxamit (300 mg, 2,18 mmol) trong AcOH (6 mL) và khuấy trong 22 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL), trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để thu được axit 4-[(4-

carbamoyl-3-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoic (430 mg, 83%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 238,52 $[M+H]^+$.

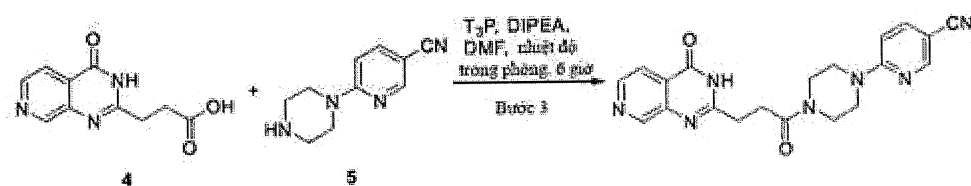
Bước 2:



Axit 4-[(4-carbamoyl-3-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoic (430 mg, 1,81 mmol) được kết hợp trong NaOH 2N (8,6 mL) và được hồi lưu trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau khi hoàn thành phản ứng, làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 4, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (380 mg, 96%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 220,42 $[M+H]^+$.

Bước 3:



Bổ sung T₃P (0,87 mL, 1,36 mmol), DIPEA (0,64 mL, 3,65 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,91 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-carbonitril hydroclorua (245 mg, 1,09 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Hỗn hợp phản ứng được pha loãng (30 mL), chiết bằng EtOAc (3 × 15 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên

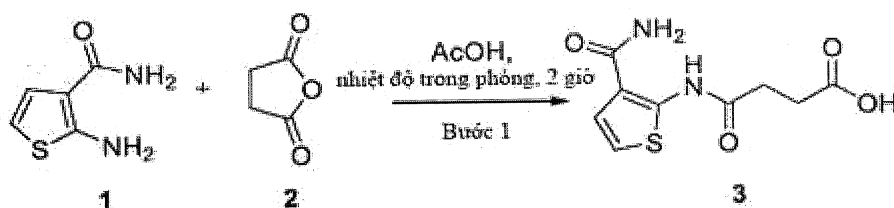
Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (silicagel 100-200 lỗ, 4 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[3,4-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (45 mg, 13%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,55 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,59 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 8,51-8,50 (m, 1H), 7,91-7,87 (m, 2H), 6,94 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,77 (brs, 2H), 3,65 (brs, 4H), 3,56 (brs, 2H), 2,92 (brs, 4H).

LCMS: *m/z*: 390,70 [M+H]⁺.

Ví dụ 23 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

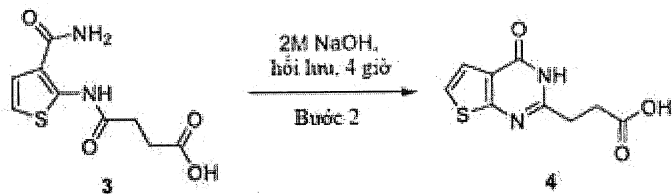


Bổ sung anhydrit suxinic (253 mg, 2,53 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-aminothiophen-3-carboxamit (300 mg, 2,11 mmol) trong axit axetic (3 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau đó, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL) và sự kết tủa được hình thành. Hỗn hợp được lọc và làm khô chất rắn thu được trong chân không để tạo ra axit 4-[(3-carbamoyl-2-thienyl)amino]-4-oxobutanoic (410 mg, 69%), mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 12,14 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,50 (brs, 1H), 7,39 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 2,67 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 2,56 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H).

LCMS: *m/z*: 265,40 [M+Na]⁺.

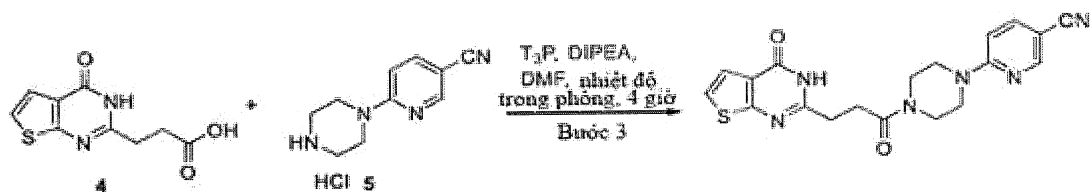
Bước 2:



Axit 4-[(3-carbamoyl-2-thienyl)amino]-4-oxo-butanoic (350 mg, 1,44 mmol) được tạo huyền phù trong NaOH 2N (7 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Gia nhiệt hỗn hợp thu được ở 100 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau khi hoàn thành phản ứng, làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C, axit hóa bằng AcOH (pH=4). Chất rắn được tạo ra, thu gom bằng cách lọc và làm khô trong chân không để tạo ra axit 3-(4-oxo-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (290 mg, 90%), mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 225,38 $[M+H]^+$.

Bước 3:



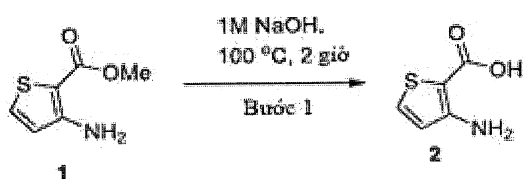
Bổ sung T₃P (0,85 mL, 1,33 mmol), DIPEA (0,62 mL, 3,568 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,89 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-carbonitril hydroclorua (239 mg, 1,07 mmol) trong DMF (5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Hỗn hợp phản ứng được pha loãng (30 mL), chiết bằng EtOAc (3 × 30 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô. Sản phẩm thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 4 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-thieno[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (80 mg, 22%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,38 (s, 1H), 8,50 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 2,4, 9,2$ Hz, 1H), 7,45 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 6,93 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,77-3,74 (m, 2H), 3,65-3,62 (m, 4H), 3,57-3,55 (m, 2H), 2,92-2,84 (m, 4H).

LCMS: m/z : 395,62 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 24 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-thieno[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril

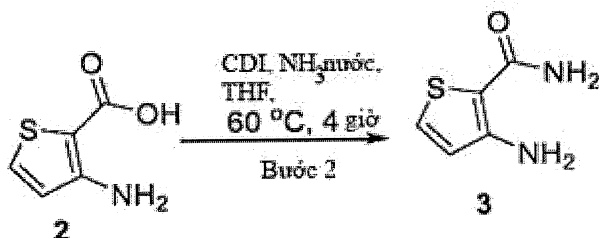
Bước 1:



Dung dịch được khuấy chứa metyl 3-aminothiophen-2-carboxylat (2 g, 12,72 mmol) trong natri hydroxit 1M (14 mL, 14 mmol) được gia nhiệt ở 100 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, axit hóa bằng HCl 1N tới khi pH = 2 và chiết bằng 50% THF-EtOAc (2 x 100 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng n-pentan (2 x 20 mL) để tạo ra axit 3-aminothiophen-2-carboxylic (1,4 g, 77%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS (ESI $^+$): m/z : 144,30 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 2:

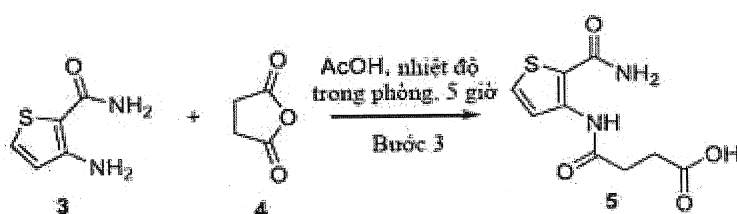


Dung dịch chứa axit 3-aminothiophen-2-carboxylic (1 g, 6,99 mmol) và CDI (1,24 g, 7,69 mmol) trong THF (20 mL) được gia nhiệt ở 60 °C trong 1 giờ, sau đó dung

dịch nước amoniac 25% (16 mL) được bổ sung và tiếp tục ở nhiệt độ 60°C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng và chiết bằng EtOAc (2 x 75 mL); rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 50-75% EtOAc-hexan) để tạo ra 3-aminothiophen-2-carboxamit (400 mg, 40%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI⁺): m/z : 143,33 [M+H]⁺.

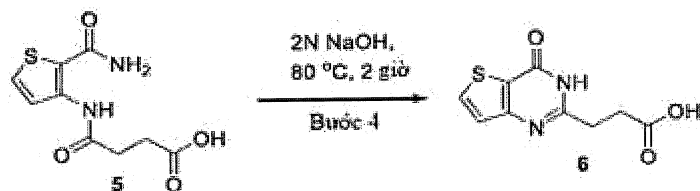
Bước 3:



Bổ sung anhydrit suxinic (277 mg, 2,77 mmol) vào huyền phù được khuấy chứa 3-aminothiophen-2-carboxamit (390 mg, 2,74 mmol) trong AcOH (10 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (40 mL), khuấy trong 15 phút, phần kết tủa được lọc, rửa bằng nước (10 mL) và làm khô để thu được axit 4-[(2-carbamoyl-3-thienyl)amino]-4-oxo-butanoic (585 mg, 88%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI⁺): m/z : 243,40 [M+H]⁺.

Bước 4:

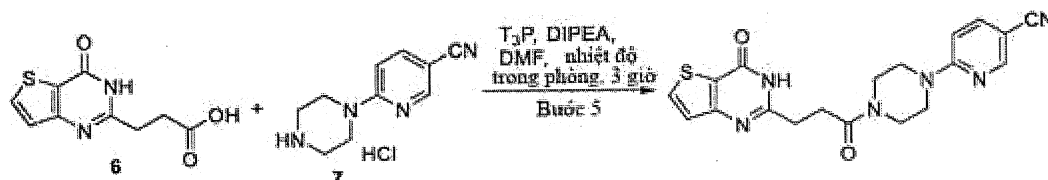


Dung dịch chứa axit 4-[(2-carbamoyl-3-thienyl)amino]-4-oxo-butanoic (500 mg, 2,07 mmol) trong dung dịch natri hydroxit 2N (16 mL, 32 mmol) được khuấy ở 80 °C trong 2 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp

phản ứng về nhiệt độ trong phòng, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 5, chất kết tủa màu trắng được lọc, rửa bằng nước (20 mL), làm khô dưới áp suất giảm để thu được axit 3-(4-oxo-3H-thieno[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (330 g, 72%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI+): m/z : 225,42 $[M+H]^+$.

Bước 5:



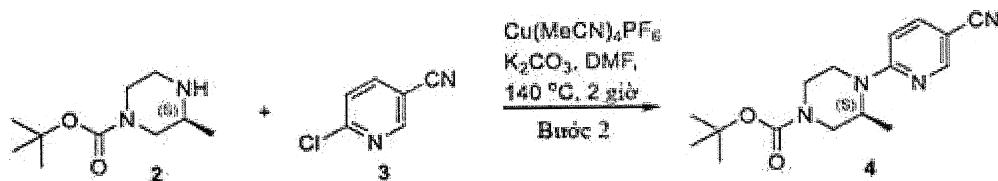
Bổ sung dung dịch T₃P 50% trong EtOAc (0,85 mL, 1,34 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-thieno[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,89 mmol), 6-piperazin-1-ylpyridin-3-cacbonitril hydroclorua (240 mg, 1,07 mmol) và DIPEA (0,31 mL, 1,78 mmol) trong DMF (10 mL), và khuấy trong 3 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (60 mL) và chiết bằng DCM (2 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 2-4% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-thieno[3,2-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 17%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,37 (s, 1H), 8,50 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 8,12 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 5,6, 9,2 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,80-3,72 (m, 2H), 3,68-3,61 (m, 4H), 3,59-3,55 (m, 2H), 2,92-2,85 (m, 4H).

LCMS (ESI+): m/z : 395,63 $[M+H]^+$.

Ví dụ 25 – Tổng hợp 6-[(2S)-2-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

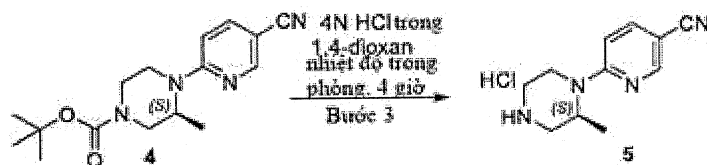
Bước 1:



Bổ sung K_2CO_3 (863 mg, 6,25 mmol) và $\text{Cu(MeCN)}_4\text{PF}_6$ (18 mg, 0,05 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3S)-3-methylpiperazin-1-carboxylat (500 mg, 2,50 mmol) và 6-clopyridin-3-cacbonitril (415 mg, 3,0 mmol) trong DMSO (10 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở $140\text{ }^\circ\text{C}$ trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 30 mL) và nước muối (40 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 30% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl (3S)-4-(5-xyano-2-pyridyl)-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (260 mg, 34%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 303,60 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

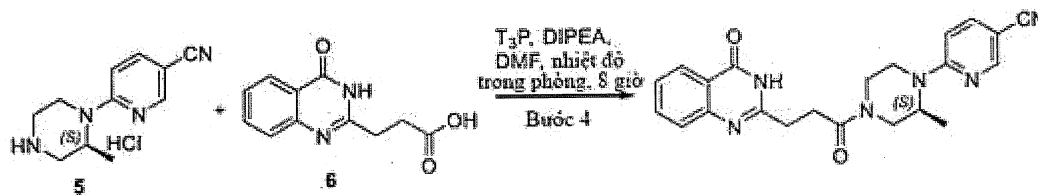
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (5 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3S)-4-(5-xyano-2-pyridyl)-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (260 mg, 0,86 mmol) trong DCM (5 mL), làm lạnh xuống $0\text{ }^\circ\text{C}$. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et_2O (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 6-[(2S)-2-methylpiperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hydroclorua (120 mg, 68%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 203,45 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 3:



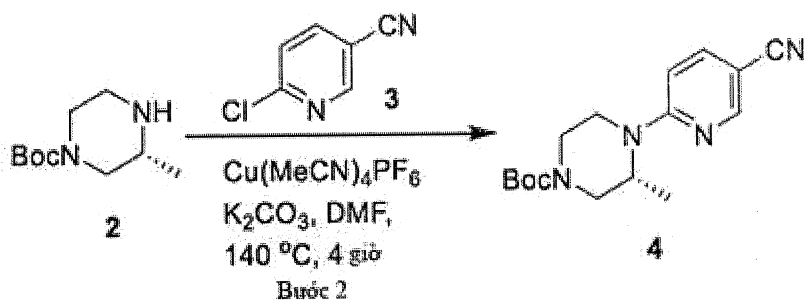
Bổ sung T₃P (0,3 mL, 0,92 mmol, 50% trong DMF) và DIPEA (0,25 mL, 1,38 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 6-[(2S)-2-methylpiperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hydroclorua (100 mg, 0,46 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (111 mg, 0,55 mmol) trong DMF (5 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 8 g, 5% MeOH-EtOAc) để tạo ra 6-[(2S)-2-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (40 mg, 21%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,28 (s, 1H), 8,52 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,88 (dd, *J* = 1,8 Hz, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,76-7,17 (m, 1H), 7,51 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,66-4,58 (m, 1H), 4,25-4,14 (m, 2H), 4,05-3,87 (m, 1H), 3,47 (d, *J* = 10,5 Hz, 1H), 3,12-2,99 (m, 2H), 2,91-2,84 (m, 4H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: *m/z*: 403,66 [M+H]⁺.

Ví dụ 26 – Tổng hợp 6-[(2R)-2-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

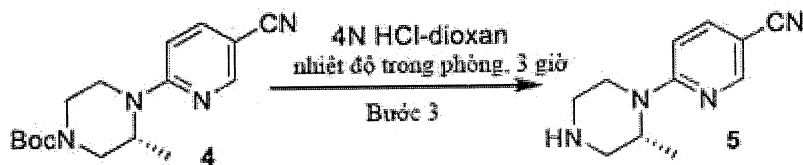


Bổ sung kali carbonat (690 mg, 5 mmol), Cu (MeCN)₄PF₆ (18 mg, 0,05 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3R)-3-methylpiperazin-1-carboxylat (500 mg, 2,5 mmol), 6-clopyridin-3-cacbonitril (415 mg, 3 mmol) trong DMSO (10 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 140 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), đưa về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (30 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (silicagel 100-200 lỗ, 7 g, 30% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl (3R)-4-(5-xyano-2-pyridyl)-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (415 mg, 55%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [300 MHz, CDCl₃]: δ 8,39 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,62-7,58 (m, 1H), 6,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 4,51 (brs, 1H), 4,13-3,89 (m, 3H), 3,27-3,13 (m, 2H), 3,00 (brs, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,23-1,16 (m, 3H).

LCMS: *m/z*: 247,46 [M-*t*Bu]⁺.

Bước 2:

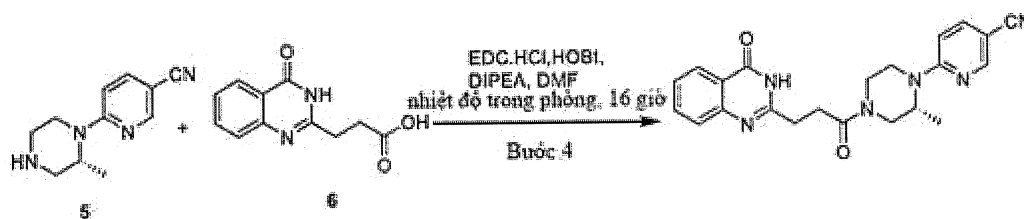


Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,35 mL, 5,43 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3R)-4-(5-xyano-2-pyridyl)-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (410 mg, 1,35 mmol) trong 1,4-dioxan (4 mL), làm lạnh xuống 0°C. Đưa phản ứng từ từ lên nhiệt

độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được 6-[(2R)-2-methylpiperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril thô (310 mg, 96%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 203,41 $[M+H]^+$.

Bước 3:



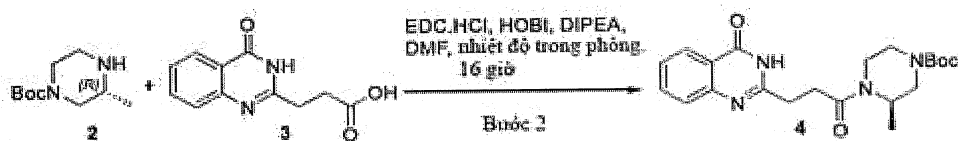
Bổ sung EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBT (92 mg, 0,68 mmol) và DIPEA (0,16 mL, 0,91 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,45 mmol), 6-[(2R)-2-methylpiperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (93 mg, 0,45 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (1 x 30 mL), dung dịch nước muối (40 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (silicagel 100-200 lỗ, 4 g, 3% của MeOH-DCM) để tạo ra 6-[(2R)-2-methyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (60 mg, 33%) là chất rắn màu hồng nhạt.

^1H NMR [300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 12,30 (brs, 1H), 8,52 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 9,0, 2,1$ Hz, 1H), 7,76 – 7,71 (m, 1H), 7,51 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,44 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,89 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 4,66-4,58 (m, 1H), 4,24-4,14 (m, 2H), 4,05-3,87 (m, 1H), 3,34-3,31 (m, 1H), 3,05-2,72 (m, 6H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: m/z : 403,66 $[M+H]^+$.

Ví dụ 27 – Tổng hợp 6-[(3R)-3-methyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

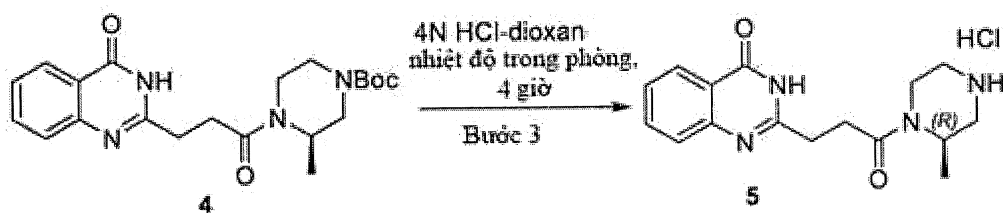
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (1,3 g, 6,88 mmol), HOBt (928 mg, 6,88 mmol) và DIPEA (1,6 mL, 9,17 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (1 g, 4,58 mmol), *tert*-butyl (3R)-3-methylpiperazin-1-carboxylat (917 mg, 4,58 mmol) trong DMF (20 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (40 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (50 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm give hợp chất thô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (silicagel 100-200 lỗ, 10 g, 3% của MeOH trong DCM) để tạo ra *tert*-butyl (3R)-3-methyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-carboxylat (410 mg, 22%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 401,67 [M+H]⁺.

Bước 2:

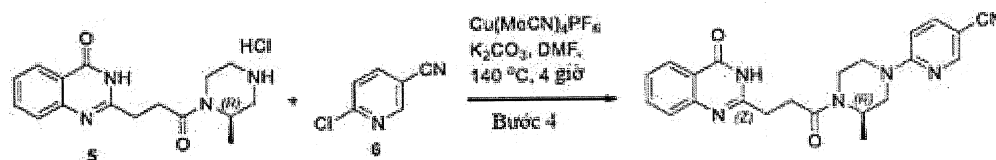


Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,0 mL, 4 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3R)-3-methyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-carboxylat (410 mg, 1 mmol) trong 1,4-dioxan (4 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được

2-[3-[(2R)-2-methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua thô (310 mg, định lượng) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 301,61 $[M+H]^+$.

Bước 3:



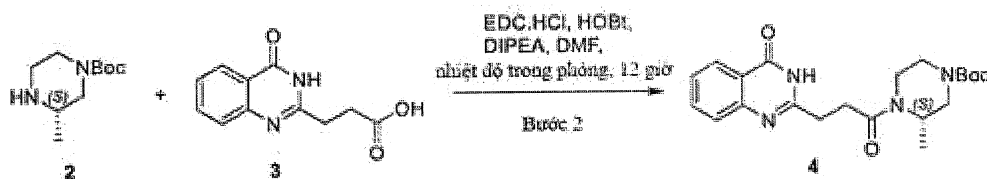
Bổ sung kali carbonat (183 mg, 1,33 mmol), $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$ (5 mg, 0,013 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-[3-[(2R)-2-methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (200 mg, 0,66 mmol), 6-clopyridin-3-cacbonitril (110 mg, 0,79 mmol) trong DMSO (4 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 140 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), được đưa từ từ về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước lạnh (30 mL), chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (30 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (silicagel 100-200 lỗ, 4g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[(3R)-3-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (65 mg, 24%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 12,20 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,06 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,86 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,73 (brs, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,44 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,93 (brs, 1H), 4,56 (brs, 1H), 4,37 – 4,14 (m, 3H), 3,52-3,31 (m, 2H), 2,98-2,88 (m, 5H), 1,20-1,00 (m, 3H).

LCMS: m/z : 403,62 $[M+H]^+$.

Ví dụ 28 – Tổng hợp 6-[(3S)-3-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

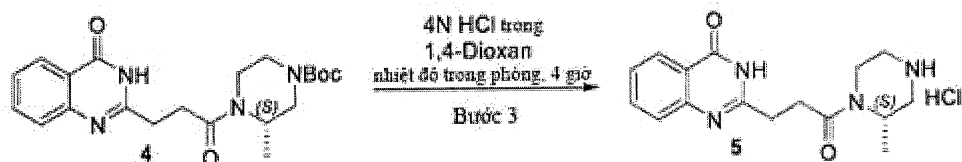
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (0,657 g, 3,44 mmol), HOBT (0,464 g, 3,44 mmol) và DIPEA (1,2 mL, 6,88 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (2R)-2-methylpiperazin-1-carboxylat (0,55 g, 2,75 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,5 g, 2,29 mmol) trong DMF (10 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (40 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 5% MeOH-EtOAc) để tạo ra *tert*-butyl (3S)-3-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-carboxylat (0,3 g, 32%).

LCMS: m/z : 401,67 [M+H]⁺.

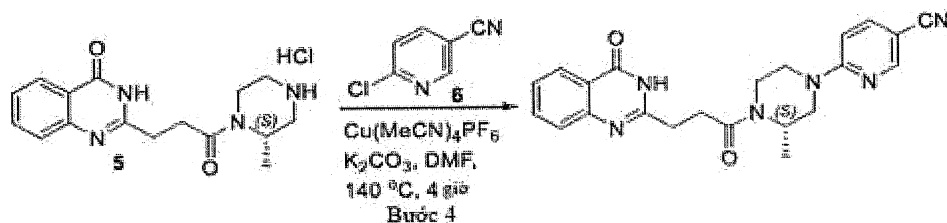
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (5 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3S)-3-metyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-carboxylat (0,2 g, 0,5 mmol) trong DCM (5 mL), làm lạnh xuống 0 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong chân không để thu được phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et₂O (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 2-[3-[(2S)-2-methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (120 mg, 80%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 301,61 $[M+H]^+$.

Bước 3:



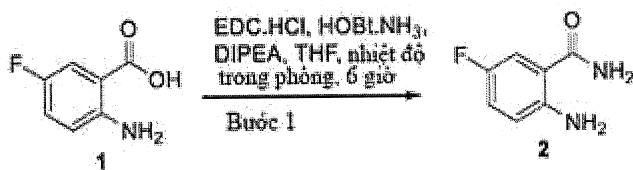
Dung dịch chứa 2-[3-[(2S)-2-methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (100 mg, 0,33mmol), 6-clopyridin-3-cacbonitril (55mg, 0,39 mmol), K_2CO_3 (138 mg, 0,10 mmol) và $Cu(MeCN)_4PF_6$ (2 mg, 0,006 mmol) trong DMSO (3 mL) được khuấy ở 140 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 30 mL), nước muối (1 x 30 mL), làm khô trên Na_2SO_4 , và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-EtOAc) để thu được 6-[(3S)-3-methyl-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (30 mg, 22%) là chất rắn màu trắng.

1H NMR [300 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,24 (s, 1H), 8,49 (d, $J = 2,1$, 1H), 8,06 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,87 (dd, $J = 9,0, 2,4$ Hz, 1H), 7,78-7,70 (m, 1H), 7,55-7,42 (m, 2H), 7,01-6,91 (m, 1H), 4,61-4,51 (m, 1H), 4,38-4,15 (m, 2H), 3,95-3,85 (d, $J = 12,9$ Hz, 1H), 3,51-3,40 (m, 1H), 3,25-3,17 (m, 1H), 3,05 -2,81 (m, 5H), 1,22-0,99 (m, 3H).

LCMS: m/z : 403,63 $[M+H]^+$.

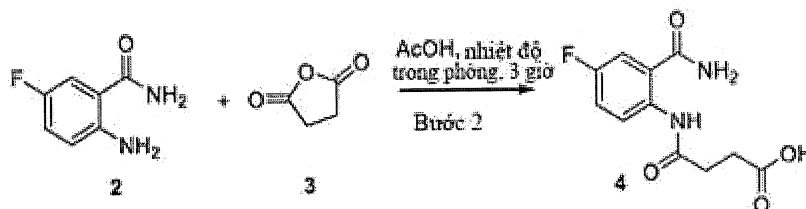
Ví dụ 29 – Tổng hợp 6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-methyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:



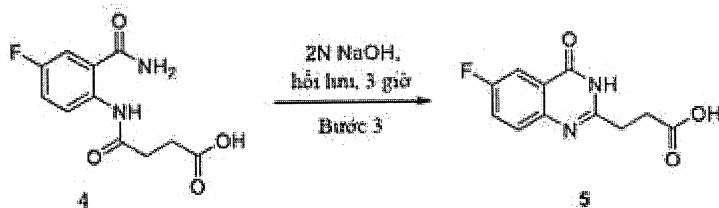
Bổ sung EDC·HCl (27,70 g, 145,03 mmol), HOBT·NH₃ (21,75 g, 145,03 mmol) và DIPEA (51,0 mL, 290,07 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-5-flo-benzoic (15 g, 96,69 mmol) trong THF (300 mL), và khuấy trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được pha loãng bằng nước (150 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 150 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 100 mL), nước muối (1 x 100 mL), làm khô trên Na₂SO₄, và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 300 g, 40% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-amino-5-flo-benzamit (10,0 g, 67%) là chất rắn màu vàng nhạt. LCMS: m/z : 155,38 [M+H]⁺.

Bước 2:



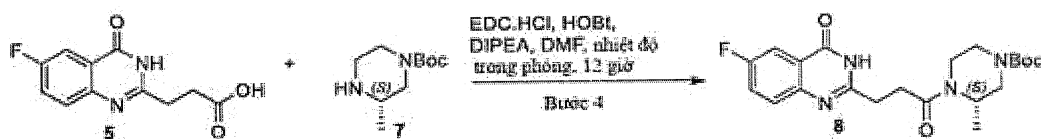
Bổ sung anhydrit suxinic (5,45 g, 54,54 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-5-flo-benzamit (7,0 g, 45,45 mmol) trong AcOH (35 mL), và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (250 mL), chất rắn kết tủa được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, lọc, rửa bằng nước (50 mL), axeton lạnh (20 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-(2-carbamoyl-4-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (9,0 g, 77%) là chất rắn màu trắng. LCMS: m/z : 255,57 [M+H]⁺.

Bước 3:



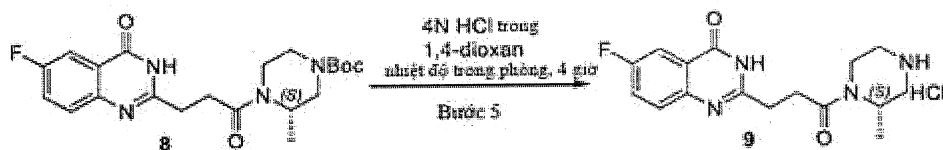
Dung dịch được khuấy chứa 4-(2-carbamoyl-4-fluorophenyl)-4-oxobutanoic acid (9,0 g, 35,43 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (100 mL) được gia nhiệt ở 100 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C và axit hóa bằng dung dịch nước HCl 2N tới khi pH= 4-5, trong quá trình này, chất kết tủa màu trắng được tạo ra. Huyền phù được khuấy ở 0 °C trong 30 phút, lọc, rửa bằng nước (2 x 50 mL) và axeton lạnh (20 mL). Làm khô chất rắn trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-(6-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (7,0 g, 83%) là chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: m/z : 237,43 $[M+H]^+$.

Bước 4:



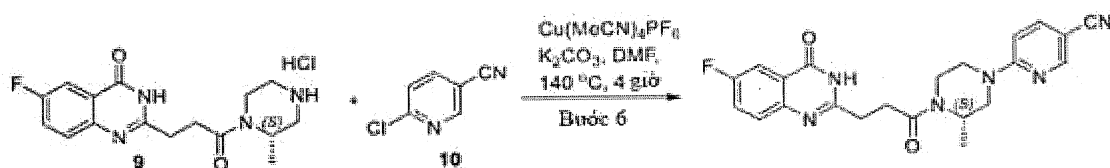
Bổ sung EDC·HCl (6,06 g, 31,78 mmol), HOBT (4,29 g, 31,78 mmol) và DIPEA (11,2 mL, 63,56 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(6-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (5,0 g, 21,19 mmol) và *tert*-butyl (3S)-3-methylpiperazin-1-carboxylat (4,2 g, 21,19 mmol) trong DMF (50 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước (100 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 200 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 50 mL), nước muối (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 80 g, 5% MeOH-DCM) để thu được *tert*-butyl (3S)-4-[3-(6-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-methyl-piperazin-1-carboxylat (4,0 g, 45%) là chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: m/z : 419,73 $[M+H]^+$.

Bước 5:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (10 mL, 40,0 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (4,0 g, 9,57 mmol) trong 1,4-dioxan (20 mL), làm lạnh xuống 0 °C. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et₂O (10 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 6-flo-2-[3-[(2S)-2-metylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (2,0 g, 65%) và sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm. LCMS: *m/z*: 319,63 [M+H]⁺.

Bước 6:



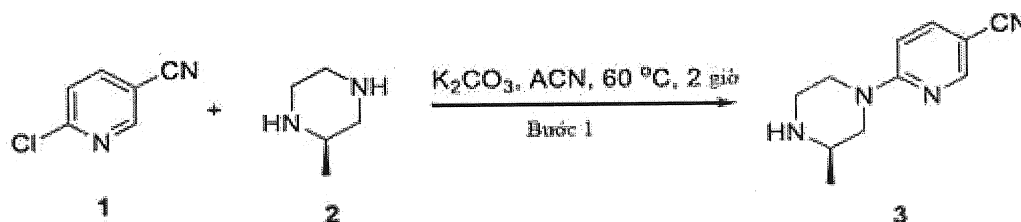
Bổ sung Cu(MeCN)₄PF₆ (58 mg, 0,16 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 6-flo-2-[3-[(2S)-2-metylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (2,5 g, 7,86 mmol), 6-clopyridin-3-cacbonitril (1,08 g, 7,86 mmol), và K₂CO₃ (3,2 g, 23,58 mmol) trong DMSO (20 mL), và khuấy ở nhiệt độ 140 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 150 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 100 mL), nước muối (1 x 10 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 40 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra hợp chất 6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (1,3 g, 40%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,31 (s, 1H), 8,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1H), 7,73 (dd, $J = 8,8, 2,8$ Hz, 1H), 7,68-7,55 (m, 2H), 6,97-6,88 (s, 1H), 4,56-4,36 (m, 1H), 4,30-4,14 (m, 3H), 3,51-3,44 (m, 1H), 3,24-3,17 (m, 1H), 2,98 (s, 1H), 2,95-2,80 (s, 4H), 1,25-0,94 (m, 3H).

LCMS: m/z : 421,72 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

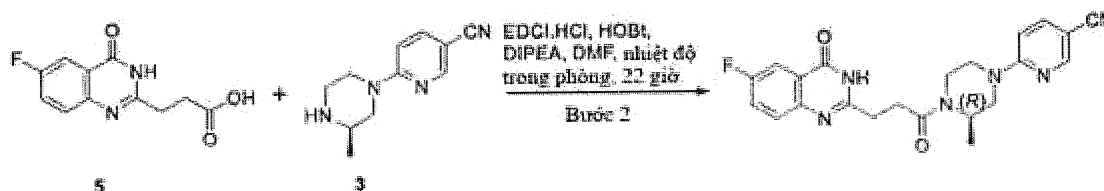
Ví dụ 29a – Tổng hợp 6-[(3R)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:



Bổ sung K_2CO_3 (12,0 g, 0,09 mol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của 6-clopyridin-3-cacbonitril (10 g, 0,06 mol) và (2R)-2-metyl-piperazin (6,35 g, 0,06 mol) trong axetonitril (80 mL). Hỗn hợp thu được được khuấy ở 60°C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa phản ứng trở về nhiệt độ trong phòng, làm dừng bằng nước (150 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 80 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 khan và cô đặc dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[(3R)-3-metyl-piperazin-1-yl]-pyridin-3-cacbonitril (10,0 g, hiệu suất 69%).

Bước 2:

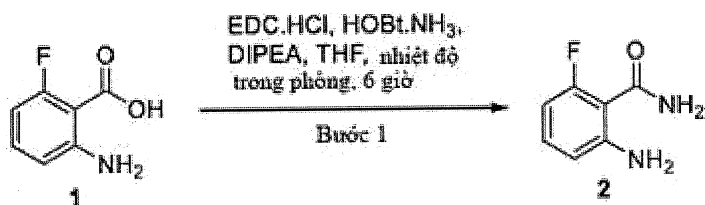


Bổ sung 6-[(3R)-3-metyl-piperazin-1-yl]-pyridin-3-cacbonitril (4,06 g, 20 mmol), EDCI.HCl (6,08 g, 31,6 mmol), HOBt (3,43 g, 25,4 mmol) và DIPEA (14,5 mL, 84,5 mol) ở nhiệt độ $10-15^\circ\text{C}$ vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(6-flo-4-oxo-3H-

quinazolin-2-yl)propanoic (5,0 g, 21,19 mmol, thu được từ ví dụ 29, bước 3) trong DMF khô (40 mL, ~8 vol), và khuấy trong 22 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh (500 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 70 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 khan và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô. Hợp chất thô được khuấy với EtOAc (50 mL) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, lọc và hút làm khô. Chất rắn thu được lại được tạo huyền phù đặc bằng EtOAc. Lọc chất rắn và rửa bằng EtOAc (50 mL) để tạo ra (50 mL) 6-[(3R)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril với hiệu suất 43% (3,8g). Phương pháp HPLC không đối xứng được sử dụng để khẳng định rằng, hợp chất là chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 29. Cột được sử dụng: Lux, 5 micron, Xenluloza-4 (250 X 4,6 mm, 5 micron, Pha di động: 50:50 n-hexan:(0,1% HCOOH theo tỷ lệ etanol:metanol là 1:1), Tốc độ dòng: 1,0 mL/phút, nhiệt độ: 25°C. Thời gian duy trì của chất đồng phân đối ảnh R = 12,9 phút; thời gian duy trì của hợp chất 29 = 13,4 phút.

Ví dụ 30 – Tổng hợp 6-[(3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

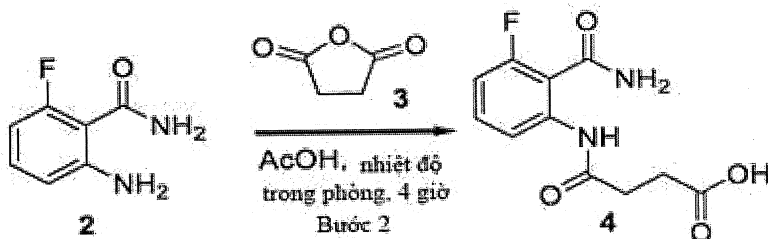
Bước 1:



Bổ sung EDC·HCl (27 g, 145,16 mmol), HOBT·NH₃ (21 g, 145,16 mmol), và DIPEA (52 mL, 290,32 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-amino-6-flo-benzoic (15 g, 96,77 mmol) trong THF (150 mL), và khuấy trong 6 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn hợp chất 1). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (300 mL) và rửa bằng nước (3 x 100 mL), nước muối (1 x 150 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na_2SO_4 , làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để tạo ra sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng 10% EtOAc-hexan (2 x 150 mL), làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 2-amino-6-flo-benzamit (12,2 g, 80%) là chất rắn màu vàng nhạt.

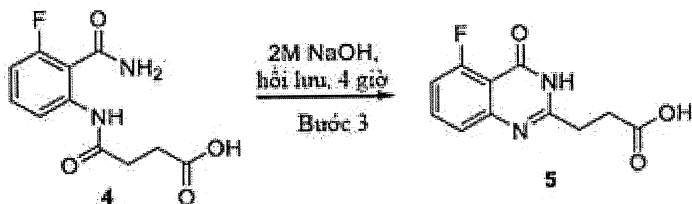
LCMS: m/z : 155,42 $[M+H]^+$.

Bước 2:



Bổ sung anhydrit suxinic (9,3 g, 93,50 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-amino-6-flo-benzamit (12 g, 77,92 mmol) trong AcOH (120 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh (1 x 200 mL), khuấy trong 30 phút khi chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (1 x 150 mL), tiếp theo bằng axeton lạnh (1 x 100 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-(2-carbamoyl-3-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (16 g, 81%) là chất rắn màu trắng nhạt. LCMS: m/z : 277,46 $[M+Na]^+$, 238,49 $[M-NH_2]^+$.

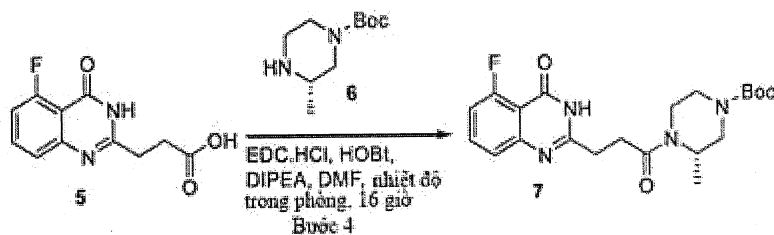
Bước 3:



Dung dịch được khuấy chứa axit 4-(2-carbamoyl-3-flo-anilino)-4-oxo-butanoic (15,5 gm, 6,10 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (160 mL) được gia nhiệt ở 100 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C, axit hóa bằng AcOH tới khi pH = 5, trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng nước (250 mL), tiếp theo bằng axeton lạnh (1 x 100 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (11 g, 80%) là chất rắn màu trắng nhạt.

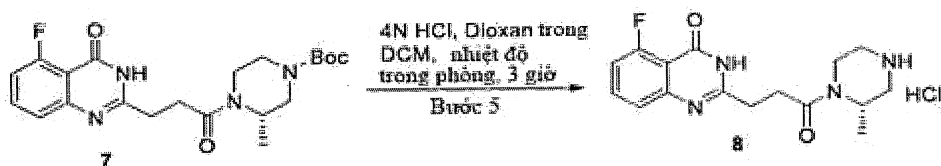
LCMS: m/z : 237,47 $[M+H]^+$.

Bước 4:



Bổ sung *tert*-butyl (3S)-3-methylpiperazin-1-carboxylat (6,6 g, 33,05 mmol), EDC·HCl (6,2g, 33,05 mmol), HOBT (4,4g, 33,05 mmol) và DIPEA (12 mL, 66,10 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (5,2g, 22 mmol) trong DMF (52 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh (160 mL), khuấy 30 phút khi chất rắn được kết tủa, chất rắn này được lọc. Chiết phần dịch lọc bằng EtOAc (3 x 200 mL) và rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (1 x 200 mL), nước muối (1 x 200 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 60 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra *tert*-butyl (3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (4 g, 43%) là chất rắn màu kem. LCMS: *m/z*: 419,73 [M+H]⁺.

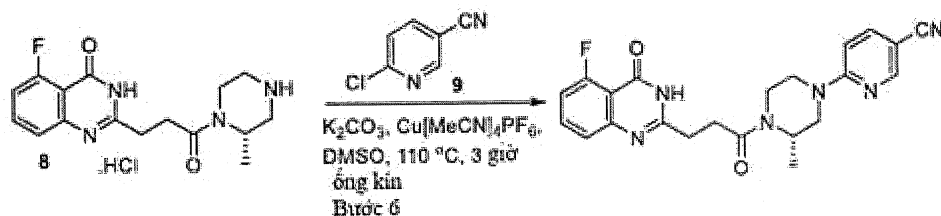
Bước 5:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (60 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl (3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-carboxylat (6 g, 14,35 mmol) trong DCM (60 mL), và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm, phần cặn thô được đồng chưng cất với toluen (2 x 100 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 5-flo-2-[3-[(2S)-2-

methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (4,7 g, 94%) là chất rắn màu trắng. LCMS: m/z : 319,59 $[M+H]^+$.

Bước 6:

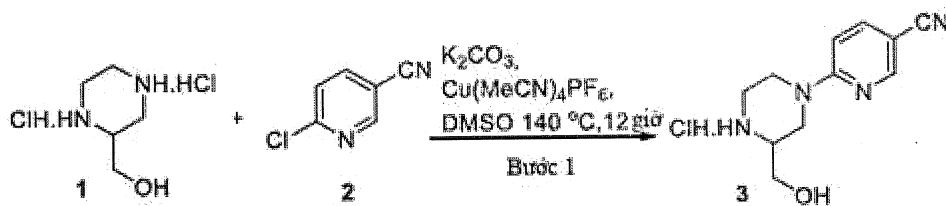


Bổ sung K_2CO_3 (4 g, 29,40 mmol), 6-clopyridin-3-cacbonitril (2 g, 14,73 mmol) và tetrakis(axetonitril)đồng (I) hexaflophosphat (109 mg, 0,29 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 5-flo-2-[3-[(2S)-2-methylpiperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on hydroclorua (5,2 g, 14,73 mmol) trong DMSO (52 mL), để ở trong một ống gắn kín,. Hỗn hợp phản ứng được khử khí bằng argon trong 5 phút và khuấy ở nhiệt độ 110 °C trong 3 giờ (LCMS cho thấy sự chuyển hóa hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (300 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 200 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (1 x 200 mL), nước muối (1 x 200 mL), tách riêng lớp hữu cơ, làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 60 g, 5% MeOH-DCM) để thu được chất rắn màu trắng nhạt. Rửa chất rắn này bằng 5% MeOH-EtOAc để tạo ra 6-[(3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (1,4 g, 23%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,22 (s, 1H), 8,47 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,85 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,73-7,65 (m, 1H), 7,32 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,19-7,14 (m, 1H), 6,91 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,55-4,35 (m, 1H), 4,29-4,11 (m, 3H), 3,48 (t, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,26-3,18 (m, 1H), 3,04-2,94 (m, 1H), 2,91-2,84 (m, 4H), 1,21-0,98 (m, 3H). LCMS: m/z : 421,72 $[M+H]^+$.

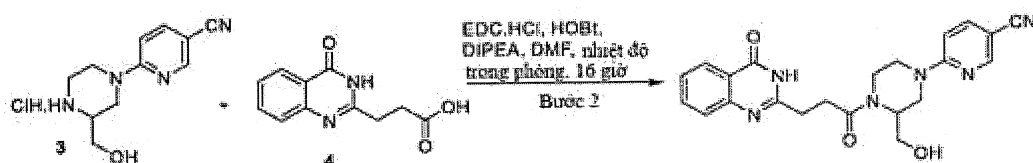
Ví dụ 31 – Tổng hợp 6-[3-(hydroxymetyl)-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:



Bổ sung 6-clopyridin-3-cacbonitril (88 mg, 0,63 mmol), K_2CO_3 (146 mg, 1,062 mmol) và $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$ (3,9 mg, 0,01 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa piperazin-2-ylmetanol dihydroclorua (100 mg, 0,53 mmol) trong DMSO (3 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 140°C trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 5 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[3-(hydroxymetyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hydroclorua (50 mg, 32%) là chất rắn màu trắng. LCMS: m/z : 219 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 2:

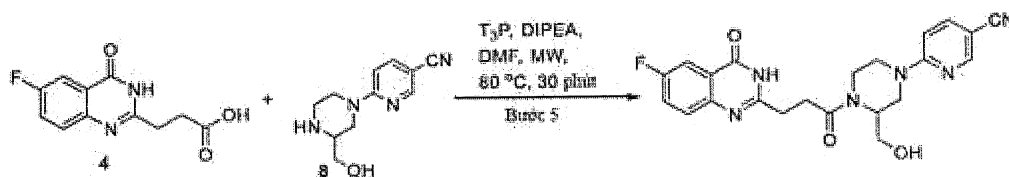


Bổ sung EDC·HCl (157 mg, 0,825 mmol), HOBT (113 mg, 0,825 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,1 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 6-[3-(hydroxymetyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hydroclorua (120 mg, 0,55 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (120 mg, 0,55 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra 6-[3-(hydroxymetyl)-4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (26 mg, 11%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,17 (s, 1H), 8,49 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,08-8,06 (m, 1H), 7,88-7,85 (m, 1H), 7,74 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,93-6,86 (m, 1H), 5,0-4,82 (m, 2H), 4,42-3,88 (m, 4H), 3,56-3,47 (m, 2H), 2,99-2,89 (m, 6H).

LCMS: m/z : 419,76 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 32 – Tổng hợp 6-[4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-(hydroxymetyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

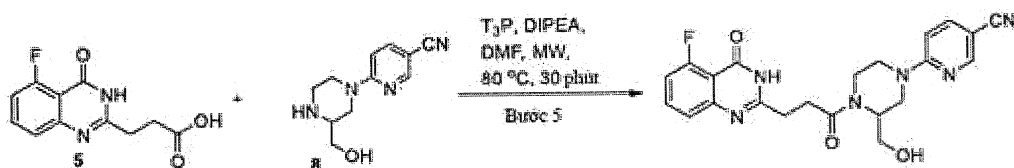


Bổ sung DIPEA (0,68 mL, 3,81 mmol), T₃P (0,8 mL, 2,54 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (300 mg, 1,27 mmol) và 6-[3-(hydroxymetyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (277 mg, 1,27mmol) trong DMF (4 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 80 °C trong lò vi sóng CEM trong 30 phút (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), đưa hỗn hợp từ từ về nhiệt độ trong phòng, làm dừng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 5-10% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-(hydroxymetyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (90% LCMS, 300 mg), hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra hợp chất tinh khiết (154 mg, 27%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,31 (brs, 1H), 8,48 (s, 1H), 7,85 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,74 (dd, $J = 8,8, 2,4$ Hz, 1H), 7,66-7,61 (m, 2H), 6,92-6,86 (m, 1H), 5,07-4,84 (m, 2H), 4,44-4,37 (m, 1H), 4,33-4,16 (m, 4H), 3,94-3,86 (m, 1H), 3,12-2,78 (m, 6H).

LCMS: m/z : 437,75 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 33 – Tổng hợp 6-[4-[3-(5-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-(hydroxymethyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril



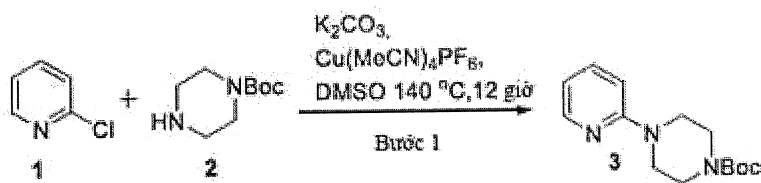
Bổ sung DIPEA (0,88 mL, 5,08 mmol) tiếp theo bằng T₃P (1,0 mL, 3,39 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(5-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (400 mg, 1,69 mmol) và 6-[3-(hydroxymethyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (369 mg, 1,69 mmol) trong DMF (4 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 80 °C trong 30 phút trong lò vi sóng CEM (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), đưa từ từ về nhiệt độ trong phòng, làm dừng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 30 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô. Tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 5-10% MeOH-DCM) để thu được 6-[4-[3-(5-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-(hydroxymethyl)piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (90% LCMS, 300 mg), hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra hợp chất tinh khiết (160 mg, 21%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ12,36 (brs, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,86 (dd, *J* = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,70 (q, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,34 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,20-7,15 (m, 2H), 6,93-6,86 (m, 1H), 5,02-4,81(m, 1H), 4,42-4,39 (m, 1H), 4,33-3,88 (m, 3H), 3,53-3,41(m, 2H), 2,95-2,87 (m, 6H).

LCMS: *m/z*: 437,75 [M+H]⁺.

Ví dụ 34 – Tổng hợp 2-[3-oxo-3-[4-(2-pyridyl)piperazin-1-yl]propyl]-3H-quinazolin-4-on

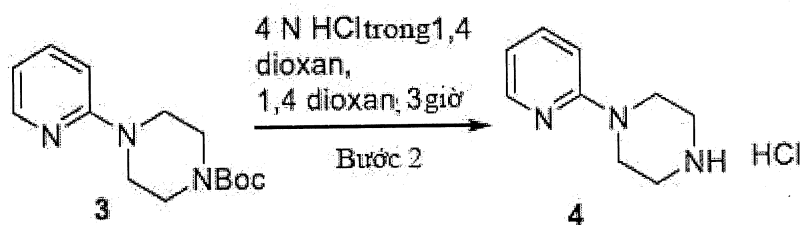
Bước 1:



Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (1,4 g, 7,92 mmol), K_2CO_3 (1,8 g, 13,27 mmol) và $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{PF}_6$ (49 mg, 0,132 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-clopyridin (750 mg, 6,60 mmol) trong DMSO (10 mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 140°C trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (40 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 60 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 8 g, 20% of EtOAc-hexans) để tạo ra *tert*-butyl 4-(2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (350 mg, 20%) là dầu màu vàng.

LCMS: m/z : 264,55 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

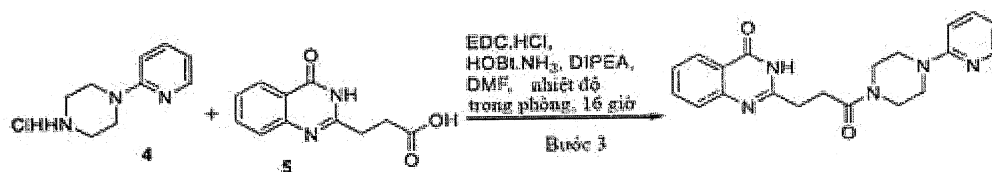
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,3 mL, 5,30 mmol) ở nhiệt độ 0°C trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (350 mg, 1,32 mmol) trong 1,4-dioxan (4 mL). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô mà hợp chất này được rửa bằng Et_2O (50 mL) để tạo ra 1-(2-pyridyl)piperazin hydroclorua (210 mg, 96%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 164,48 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 3:



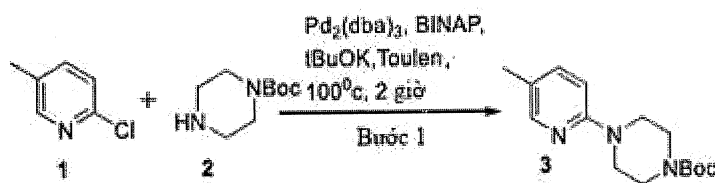
Bổ sung EDC·HCl (174 mg, 0,913 mmol), HOBT (123 mg, 0,913 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,2 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-pyridyl)piperazinhydroclorua (100 mg, 0,609 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (121 mg, 0,609 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL), khuấy trong 15 phút, chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng Et₂O (2 x 5 mL) và làm khô trong chân không để thu được 2-[3-oxo-3-[4-(2-pyridyl)piperazin-1-yl]propyl]-3H-quinazolin-4-on (55 mg, 24%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [300 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,13-8,11 (dd, *J* = 4,8, 1,5 Hz, 1H), 8,08 (dd, *J* = 7,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,74 (m, 1H), 7,58-7,52 (m, 2H), 7,46-7,41 (m, 1H), 6,84 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,68-6,64 (m, 1H), 3,62 (s, 2H), 3,59-3,51 (m, 4H), 3,46-3,46 (m, 2H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: *m/z*: 364,62 [M+H]⁺.

Ví dụ 35 – Tổng hợp 2-[3-[4-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

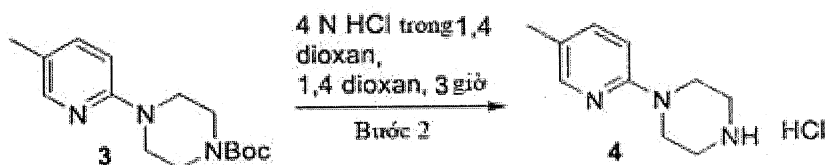
Bước 1:



Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (409 mg, 3,22 mmol), Pd₂(dba)₃ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,27 mmol) và *t*-BuOK (903 mg, 8,06 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-clo-5-metyl-pyridin (500 mg, 2,68 mmol) trong toluen (10 mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 100 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước

(30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 8 g, 30% của EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 92%) là dầu màu vàng.

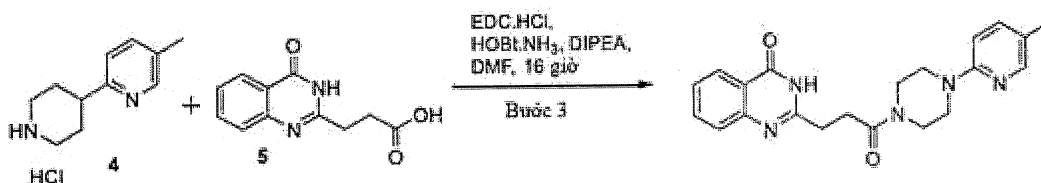
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,8 ml, 7,22 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 1-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin;hydroclorua (560 mg, 1,80 mmol) trong 1,4-dioxan (5 ml), làm lạnh xuống 0°C, và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại mà phần này được rửa bằng Et_2O (50 ml) và làm khô để thu được 1-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (350 mg, 98%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 9,64 (brs, 2H), 7,95 (s, 1H), 7,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,25 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 3,90 (m, 4H), 3,22 (m, 4H), 2,22 (s, 3H).

Bước 3:



Bổ sung EDC·HCl (161 mg, 0,84 mmol), HOBt (114 mg, 0,84 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,1 mmol) ở nhiệt độ phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (100 mg, 0,56 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (135 mg, 0,67 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng DCM (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu

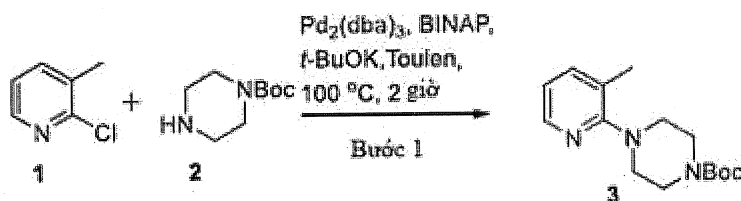
cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 4 g, 5% MeOH-DCM) để thu được hợp chất 2-[3-[4-(5-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (50 mg, 23%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 12,18 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 6, 0,9$ Hz, 1H), 7,96 (s, 1H), 7,75-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7,46-7,38 (m, 2H), 6,78 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,62-3,61 (m, 2H), 3,59-3,51 (m, 4H), 3,39-3,38 (m, 2H), 2,88 (brs, 4H), 2,14 (brs, 3H).

LCMS: m/z : 378,37 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

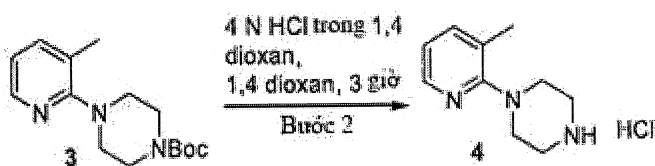
Ví dụ 36 – Tổng hợp 2-[3-[4-(3-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

Bước 1:



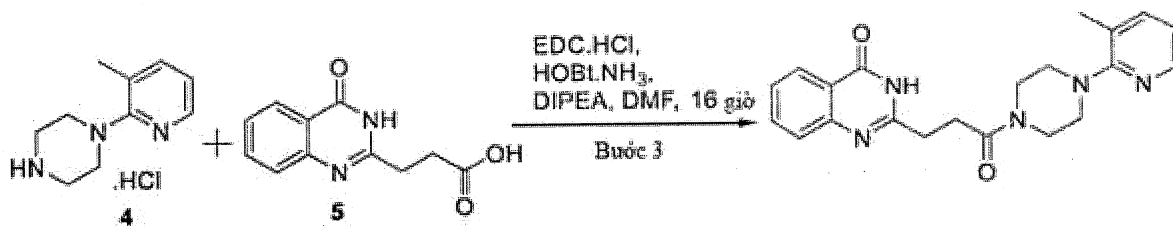
Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (409 mg, 3,22 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,26 mmol) và $t\text{-BuOK}$ (903 mg, 8,06 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-clo-3-metyl-pyridin (500 mg, 2,68 mmol) trong toluen (10 mL), và gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 8 g, 30% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(3-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 92%) là dầu màu vàng.

Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,8 mL, 7,2 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(3-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 1,80 mmol) trong 1,4-dioxan (5 mL), làm lạnh xuống 0 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O (50 mL) để thu được 1-(3-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (350 mg, 98%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

Bước 3:



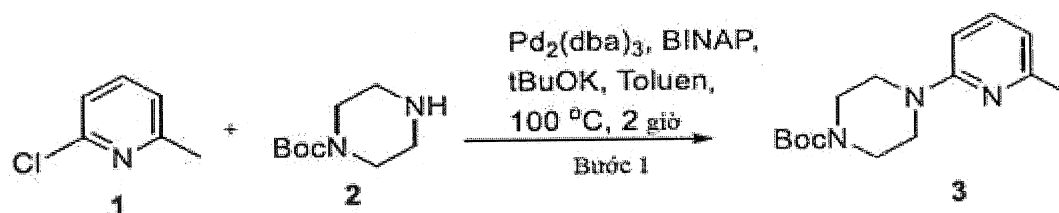
Bổ sung EDC·HCl (161 mg, 0,84 mmol), HOBT (114 mg, 0,84 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,1 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(3-metylpyridin-2-yl)piperazin hydroclorua (100 mg, 0,46 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (135 mg, 0,67 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 3 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra hợp chất 2-[3-[4-(3-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (50 mg, 23%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,18 (s, 1H), 8,12-8,06 (m, 2H), 7,77-7,73 (m, 1H), 7,59-7,57 (m, 1H), 7,53-7,51 (m, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,96-6,93 (m, 1H), 3,66 (brs, 2H), 3,59 (brs, 2H), 3,11 (brs, 2H), 2,98 (brs, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,26 (s, 3H).

LCMS: m/z : 378,61 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 37 – Tổng hợp 2-[3-[4-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

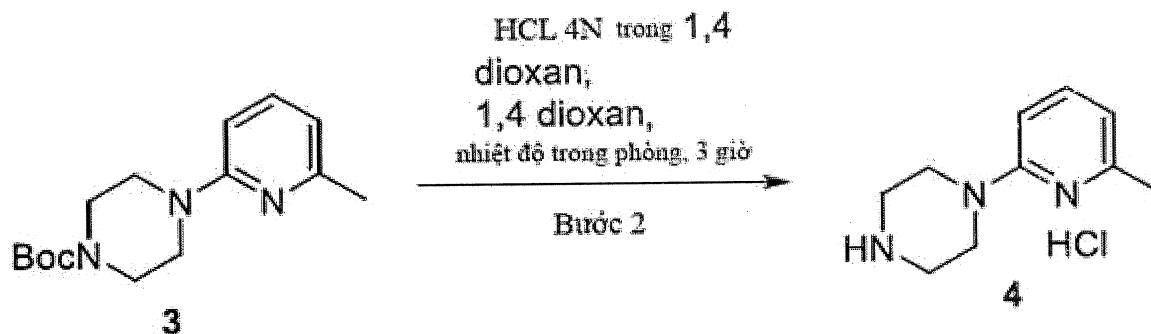
Bước 1:



Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (409 mg, 3,22 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (122 mg, 0,13 mmol), BINAP (167 mg, 0,26 mmol), $t\text{BuOK}$ (903 mg, 8,06 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-clo-6-metyl-pyridin (500 mg, 2,68 mmol) trong toluen (10 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở $100\text{ }^\circ\text{C}$ trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng nước (20 mL), chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 8 g, 30% EtOAc-hexan) để thu được *tert*-butyl 4-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 75%) là chất rắn màu vàng.

LCMS: m/z : 278,59 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

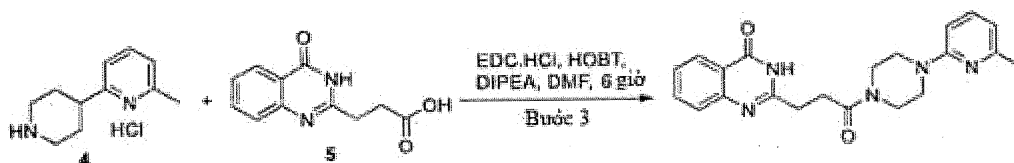
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,8 mL, 7,22 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 1,80 mmol) trong 1,4-dioxan (5 mL), làm lạnh xuống 0°C. Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O (50 mL) và EtOAc (50 mL) để thu được 1-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (350 mg, 98%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 178,48 $[M+H]^+$.

Bước 3:



Bổ sung EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBT (92 mg, 0,68 mmol) và DIPEA (0,16 mL, 0,91 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa hợp chất 5 (100 mg, 0,45 mmol), 1-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (81 mg, 0,45 mmol) trong DMF (2 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng nước lạnh (30 mL) và khuấy trong 10 phút trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc, rửa bằng EtOAc (3 x 10 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra 2-[3-[4-(6-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (62 mg, 36%) là chất rắn màu trắng.

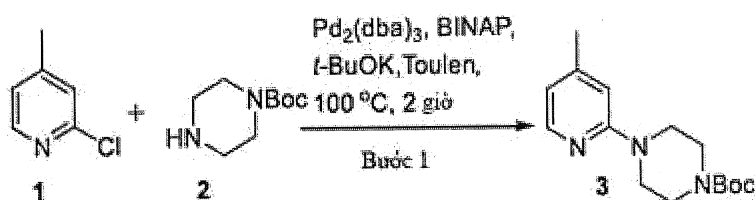
¹H NMR [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,19 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,76-7,72 (m, 1H), 7,545 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,44 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 6,62 (d, $J = 8,8$ Hz,

1H), 6,53 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,63-3,61 (m, 2H), 3,57-3,53 (m, 4H), 3,45-3,43 (m, 2H), 2,89 (s, 4H), 2,31 (s, 3H).

LCMS: m/z : 378,57 $[M+H]^+$.

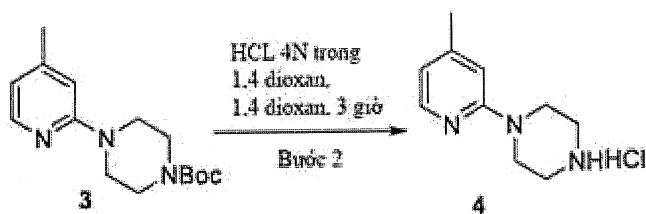
Ví dụ 38 – Tổng hợp 2-[3-[4-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

Bước 1:



Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (161 mg, 1,29 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (49 mg, 0,05 mmol), BINAP (66 mg, 0,107 mmol) và $t-BuOK$ (360 mg, 3,22 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-clo-4-metyl-pyridin (200 mg, 1,07 mmol) trong DMSO (3 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở $100^\circ C$ trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), làm dừng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 10 g, 30% of EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (240 mg, 80%) là dầu màu vàng.

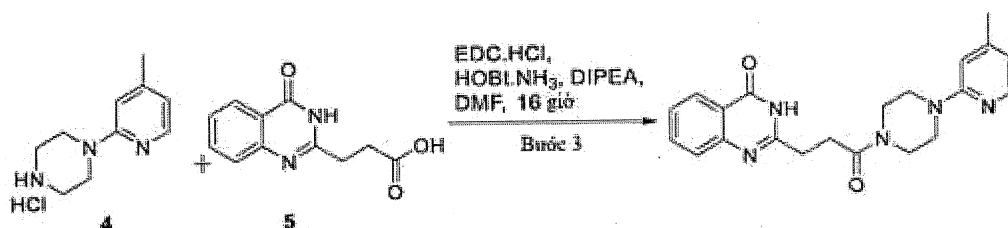
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (1,8 mL, 7,220 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (560 mg, 1,805 mmol) trong 1,4-dioxan (5 mL), làm lạnh xuống $0^\circ C$. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn

nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm, rửa phần cặn còn lại bằng Et₂O (50 ml) và làm khô để thu được 1-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (350 mg, hiệu suất 98%) là chất rắn màu trắng.

Bước 3:



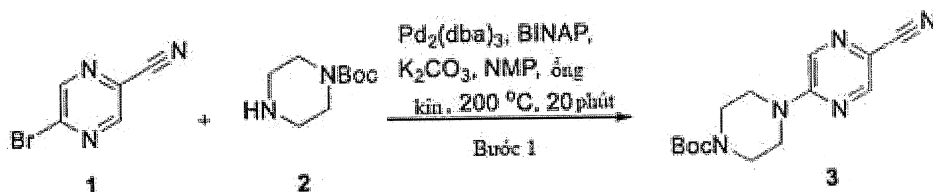
Bổ sung EDC·HCl (161 mg, 0,84 mmol), HOBT (114 mg, 0,84 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,1 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (100 mg, 0,564 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (135 mg, 0,677 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng DCM (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 8 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 2-[3-[4-(4-metyl-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (50 mg, 23%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,18 (s, 1H), 8,08-8,06 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,99-7,97 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 7,77-7,73 (m, 1H), 7,54 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,67 (s, 1H), 6,51 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,62-3,43 (m, 8H), 2,89 (s, 4H), 2,22 (s, 3H).

LCMS: *m/z*: 378,63 [M+H]⁺.

Ví dụ 39 – Tổng hợp 5-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrazin-2-carbonitril

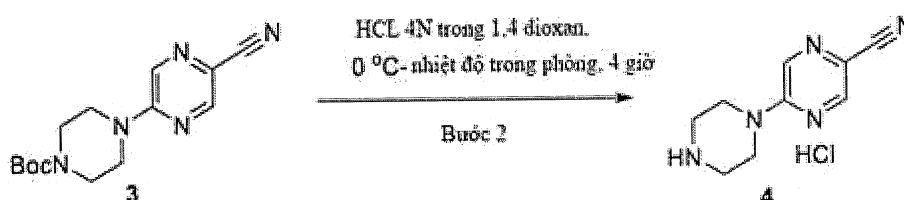
Bước 1:



Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (424 mg, 2,28 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (35 mg, 0,04 mmol), X-Phos (72 mg, 0,152 mmol) và K_2CO_3 (367 mg, 2,66 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 5-bromopyrazin-2-cacbonitril (350 mg, 1,90 mmol) trong NMP (4 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 200°C trong 20 phút (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Sau khi hoàn thành phản ứng, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (50 mL), rửa bằng nước lạnh (2 x 20 mL), làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 5 g, 30% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-xyanopyrazin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (320 mg, 58%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 290,61 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

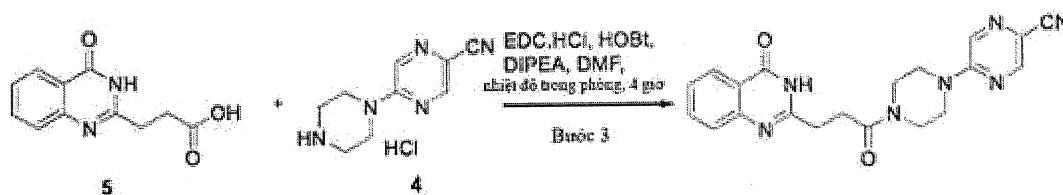
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong 1,4-dioxan (1,07 mL, 4,29 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-xyanopyrazin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (310 mg, 1,07 mmol) trong 1,4-dioxan (4 mL), làm lạnh xuống 0°C . Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi trong chân không để thu được 5-piperazin-1-ylpyrazin-2-cacbonitril hydroclorua thô (210 mg, định lượng) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 190,46 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 3:



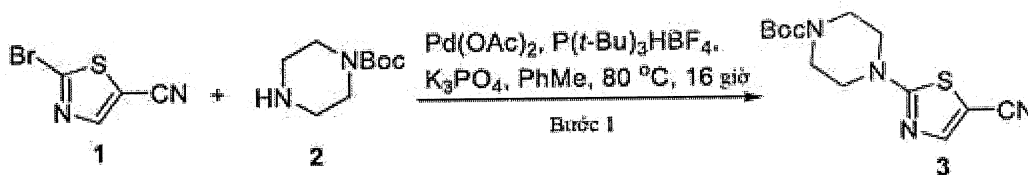
Bổ sung EDC·HCl (262 mg, 1,37 mmol), HOBT (185 mg, 1,37 mmol) và DIPEA (0,64 mL, 3,66 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (200 mg, 0,917 mmol) và 5-piperazin-1-ylpyrazin-2-cacbonitril hydroclorua (208 mg, 1,10 mmol) trong DMF (4 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (40 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 40 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 5 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 5-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrazin-2-cacbonitril (70 mg, 20%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,19 (s, 1H), 8,58 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,43 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,07 (dd, *J* = 1,6, 8,0 Hz, 1H), 7,77-7,72 (m, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 1H), 3,87-3,83 (m, 2H), 3,76-3,66 (m, 4H), 3,63-3,57 (m, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 390,68 [M+H]⁺.

Ví dụ 40 – Tổng hợp 2-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]thiazol-5-cacbonitril

Bước 1:

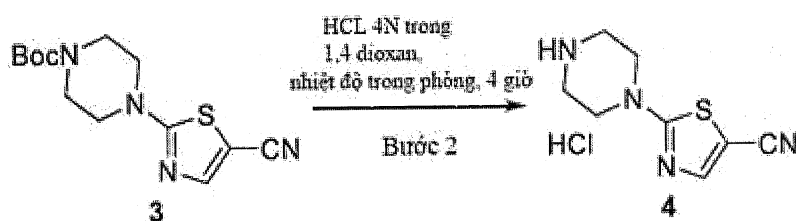


Dung dịch được khuấy chứa 2-bromothiazol-5-cacbonitril (200 mg, 1,05 mmol), *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (800 mg, 4,3 mmol), kali phosphat ba lần (260 mg,

1,22 mmol), paladi axetat trime (40 mg, 0,06 mmol), tri-*tert*-butylphosphine tetraflorolat (20 mg, 0,06 mmol) trong toluen (4 mL), để ở trong lọ vi sóng trong môi trường argon được chiếu xạ trong 30 phút ở nhiệt độ 80 °C (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (10 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 10-30% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-xyanothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxylat (200 mg, 64%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI+): m/z : 295,60 [M+H]⁺.

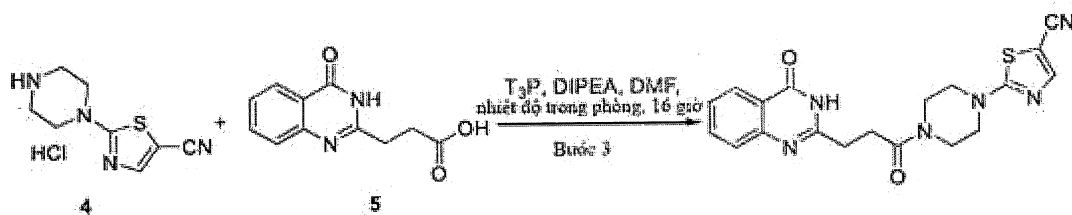
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (5 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-xyanothiazol-2-yl)piperazin-1-carboxylat (200 g, 0,680 mmol) trong dioxan (10 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng EtOAc (2 x 15 mL), tiếp theo bằng dietyl ete (15 mL) để tạo ra 2-piperazin-1-ylthiazol-5-cacbonitril hydroclorua (155 mg, 98%) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI+): m/z : 195,44 [M+H]⁺.

Bước 3:



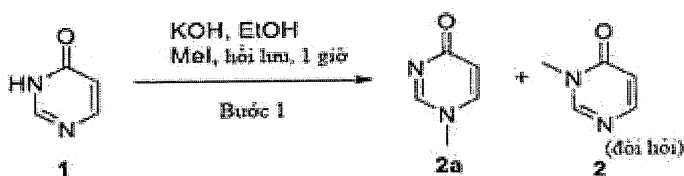
Bổ sung DIPEA (0,3 mL, 1,74 mmol), axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (120 mg, 0,67 mmol) và dung dịch 50% T₃P trong EtOAc (0,53 mL, 0,82 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ vào dung dịch được khuấy chứa 2-piperazin-1-ylthiazol-5-cacbonitril hydroclorua (155 mg, 0,55 mmol) trong DMF khan (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá (60 mL), chiết bằng DCM (2 x 50 mL), rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (25 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 200 g, 2-5% MeOH-DCM) để tạo ra 2-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]thiazol-5-cacbonitril (50 mg, 23%) là chất rắn màu vàng nhạt.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,18 (brs, 1H), 8,09-8,05 (m, 2H), 7,77-7,72 (m, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 3,75-3,55 (m, 6H), 3,53-3,50 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 395,62 [M+H]⁺.

Ví dụ 41 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-*d*]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

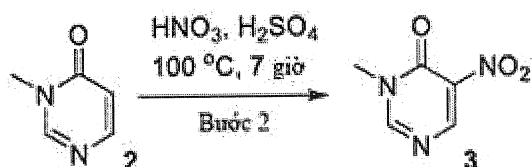


Bổ sung 1H-pyrimidin-6-on (10 g, 0,104 mol) tiếp theo bằng MeI (7,20 mL, 0,114 mol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa KOH (5,82 g, 0,104 mol) trong EtOH (80 mL). Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 2 giờ (TLC cho thấy 10-15% nguyên liệu ban đầu không được phản ứng). Lượng nữa của MeI (1,5 g, 0,01

mol) được bổ sung để hồi lưu trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu) và được đưa từ từ trở về nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được lọc, rửa bằng DCM (100 mL) và cô đặc dịch lọc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 200 g, 2-5% MeOH-DCM) để thu được 3-methylpyrimidin-4-on (4,5 g, 39%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI⁺): m/z : 111,30 $[M+H]^+$.

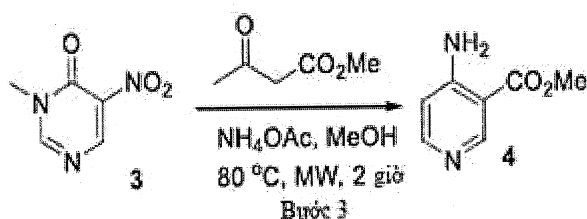
Bước 2:



Bổ sung 3-methylpyrimidin-4-on (5,5 g, 50,00 mol) tiếp theo bằng axit nitric khối (6,6 mL, 157,15 mol) vào axit sulfuric (50 mL), làm lạnh xuống 10°C . Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng, gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), lại được đưa trở về nhiệt độ trong phòng và rót vào trong nước đá nghiền (500 g); sau đó, dung dịch nước natri hydroxit 50% được bổ sung từ từ tới khi pH = 5. Chiết hỗn hợp phản ứng bằng CHCl_3 (3 x 250 mL); làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tái kết tinh từ EtOH (15 mL) để tạo ra 3-methyl-5-nitro-pyrimidin-4-on (2 g, 26%) là chất rắn màu vàng.

LCMS (ESI⁺): m/z : 156,36 $[M+H]^+$.

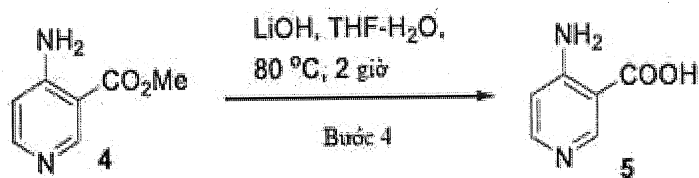
Bước 3:



Trong bình vi sóng CEM, 3-metyl-5-nitro-pyrimidin-4-on (300 mg, 1,94 mmol), methyl axetoaxetat (2,7 g, 23,27 mmol), amoni axetat (1,79 g, 23,22 mmol) và MeOH (8,0 mL) được bổ sung và được chiếu xạ ở 80 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 40 g, 5-10% MeOH-DCM) để tạo ra methyl 4-aminopyridin-3-carboxylat; hỗn hợp phản ứng này được thực hiện trong 6 mẻ (300 mg mỗi mẻ), nguyên liệu thô sau khi xử lý được kết hợp và tinh chế để tạo ra methyl 4-aminopyridin-3-carboxylat (900 mg, 51%) là chất rắn màu vàng.

LCMS (ESI+): m/z : 153,43 $[M+H]^+$.

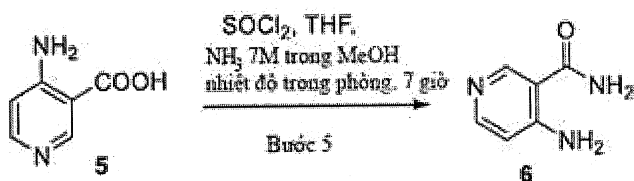
Bước 4:



Bổ sung LiOH·H₂O (1,21 g, 28,80 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa methyl 4-aminopyridin-3-carboxylat (2 g, 13,15 mmol) trong EtOH-nước (120 mL, 1:1), và gia nhiệt ở nhiệt độ 80 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được hòa tan trong nước (30 mL), rửa bằng EtOAc (2 x 25 mL) để loại bỏ các tạp chất không phân cực. Axit hóa lớp nước bằng HCl 1N tới khi pH = 1, và chiết bằng EtOAc (2 x 10 mL). Các phần chiết hữu cơ kết hợp được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô, phần này được kết tinh từ MeOH (20 mL) để thu được axit 4-aminopyridin-3-carboxylic (1 g, 55%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI+): m/z : 139,31 $[M+H]^+$.

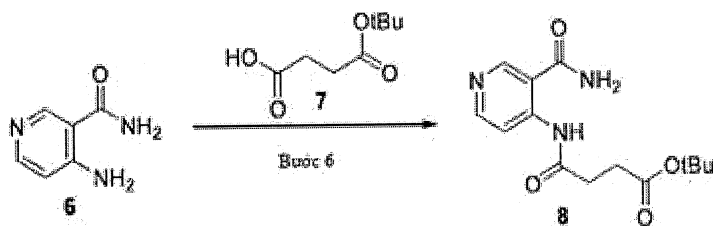
Bước 5:



Bổ sung SOCl_2 (3,6 mL, 0,045 mol) và DMF xúc tác (30 μL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 4-aminopyridin-3-carboxylic (3 g, 0,013 mol) trong THF (50 mL), và khuấy trong 3 giờ trong môi trường argon (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được hòa tan trong THF (30 mL), làm lạnh xuống 0 °C và NH_3 7N-metanol (22 mL) được bổ sung vào đó. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ, lọc phần kết tủa, cô đặc dịch lọc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 60 g, 10% MeOH-10% NH_4OH -DCM) để tạo ra 4-aminopyridin-3-carboxamid (475 mg, 27%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS (ESI⁺): m/z : 138,33 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 6:



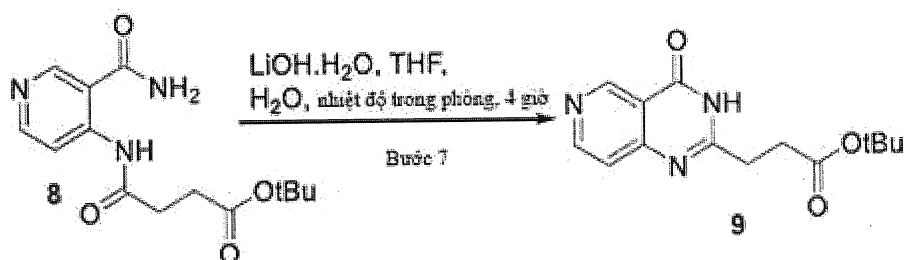
Bổ sung dung dịch T₃P 50% trong EtOAc (3,5 mL, 5,5 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 4-aminopyridin-3-carboxamid (500 mg, 3,65 mmol), axit 4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoic (762 mg, 4,38 mmol), TEA (1 mL, 7,29 mmol) trong DMF (10 mL), và khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50 mL) và chiết bằng DCM (2 x 35 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL), làm khô trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này

được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 10% MeOH-10% NH₄OH-DCM) để tạo ra *tert*-butyl 4-[(3-carbamoyl-4-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoat (500 mg, 47%) là chất rắn màu vàng.

¹H NMR [400 MHz, CDCl₃]: δ 11,74 (s, 1H), 9,07 (s, 1H), 8,69 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 8,52 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 7,11 (brs, 1H), 5,83 (brs, 1H), 2,75-2,70 (m, 2H), 2,68-2,63 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

LCMS (ESI+): m/z : 316,59 [M+Na]⁺.

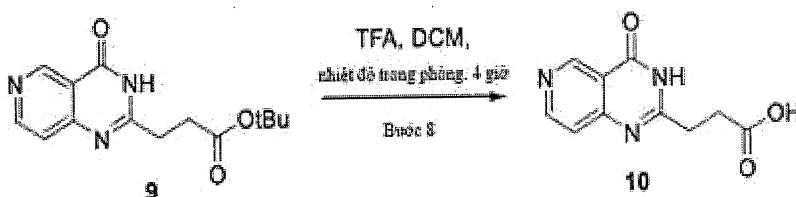
Bước 7:



Bổ sung nước (0,9 mL), LiOH·H₂O (645 mg, 15,35 mmol) ở nhiệt độ 0 °C vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-[(3-carbamoyl-4-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoat (900 mg, 3,071 mmol) trong THF (31 mL). Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu) và chiết bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL) làm khô trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng pentan (2 x 15 mL) để thu được *tert*-butyl 3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoat (700 mg, 83%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS (ESI+): m/z : 276,48 [M+H]⁺.

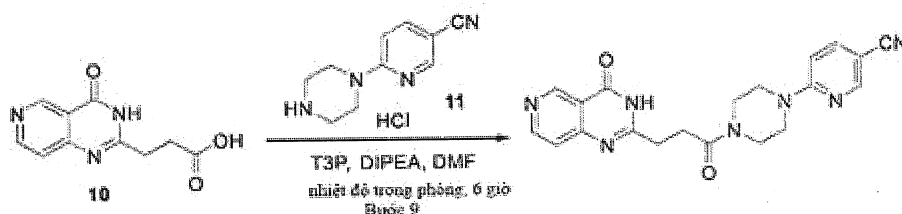
Bước 8:



Bổ sung TFA (5,7 mL, 74,50 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoat (700 mg, 2,545 mmol) trong DCM (26 mL), và khuấy trong 4 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm, phần còn lại được đồng chưng cất với toluen (2 x 10 mL) để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được nghiền với pentan (2 x 20 mL) để thu được axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (351mg, 63%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS (ESI+): m/z : 220,42 $[M+H]^+$.

Bước 9:



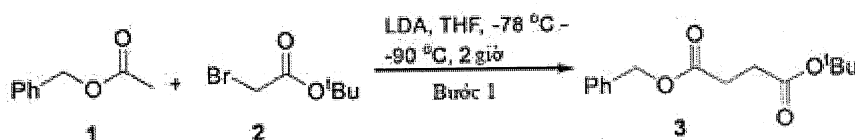
Bổ sung DIPEA (0,4 mL, 2,325 mmol) và dung dịch T₃P 50% trong EtOAc (0,75 mL, 1,711 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic (250 mg, 1,141 mmol), 6-piperazin-1-ylpyridin-3-carbonitril hydroclorua (256 mg, 1,361 mmol) trong DMF (2,5 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (25 mL), chiết bằng DCM (3 x 30 mL), rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (10 mL) và làm khô trên Na₂SO₄. Cô đặc dung môi dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-5% NH₄OH-DCM) để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[4,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (45 mg, 10%) là chất rắn màu trắng nhạt.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-*d*₆]: δ 12,57 (brs, 1H), 9,22 (s, 1H), 8,74 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 8,50 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,88 (dd, J = 8,8, 2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 3,78-3,76 (m, 2H), 3,64 (t, J = 4,8 Hz, 4H), 3,57-3,54 (m, 2H), 3,31 (s, 4H).

LCMS (ESI⁺): m/z : 390,63 [M+H]⁺.

Ví dụ 42 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril

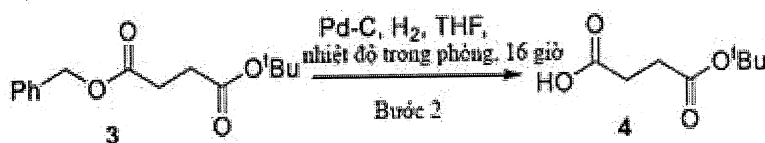
Bước 1:



Dung dịch chứa DIPEA (4,16 mL, 29,3 mmol) trong THF khô (60 mL) được làm lạnh xuống -78 °C trong chậu nước đá khô-axeton. Bổ sung *n*-BuLi trong hexan (1,6 M, 18,3 mL, 29,3 mmol) từng giọt ở -78 °C vào đó và khuấy trong 30 phút. Benzyl axetat (3,8 mL, 26,6 mmol) trong THF khô (30 mL) được bổ sung từng giọt vào bình phản ứng, duy trì nhiệt độ thấp hơn -78°C. Khi hoàn thành việc bổ sung, bình được chuyển sang chậu nước đá khô-Et₂O và khuấy cho tới khi nhiệt độ hạ xuống dưới -90°C. Bổ sung *tert*-butyl 2-bromoaxetat (5,9 mL, 40,0 mmol) trong THF (30 mL) từng giọt vào dung dịch nêu trên và khuấy trong 1 giờ ở -90°C. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng cách bổ sung nước từ từ (100 mL), làm ấm lên nhiệt độ trong phòng và chiết bằng Et₂O (2 x 150 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cạn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 60 g, 5% EtOAc-hexan) để tạo ra benzyl *tert*-butyl butandioat (2,3 g, 27%) là dầu màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 287,6 [M+Na]⁺.

Bước 2:

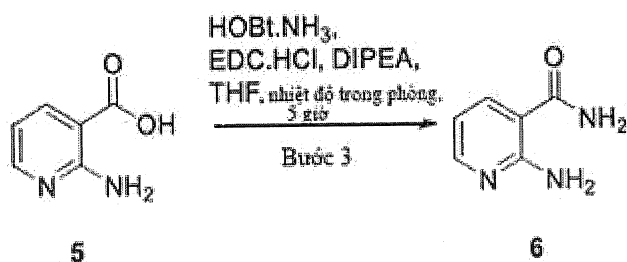


Bổ sung 10% Pd-C (0,23 g) vào dung dịch được khuấy chứa benzyl *tert*-butyl butandioat (2,3 g, 8,71 mmol) trong THF khô (30 mL), và khuấy trong môi trường H₂

(bóng) trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Lọc hỗn hợp phản ứng qua Celite và rửa bằng CHCl_3 (100 mL). Cô đặc dịch lọc trong chân không để thu được phần cặn thô còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 30 g, 35% EtOAc-hexan) để tạo ra axit 4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoic (0,8 g, 52%) là dầu không màu.

^1H NMR [400 MHz, CDCl_3]: δ 2,65-2,61 (m, 2H), 2,56-2,52 (m, 2H), 1,44 (s, 9H).

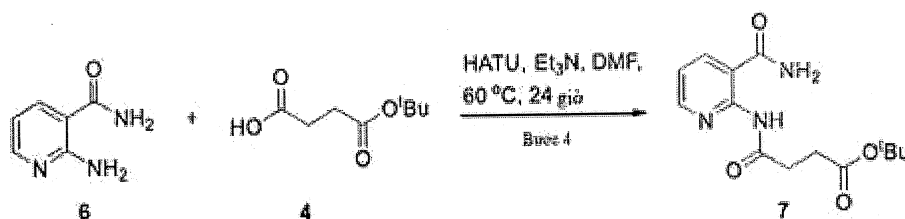
Bước 3:



Bổ sung $\text{EDC}\cdot\text{HCl}$ (1,86 g, 9,78 mmol), $\text{HOBT}\cdot\text{NH}_3$ (1,46 g, 9,78 mmol) và DIPEA (4,67 mL, 26,08 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 2-aminopyridin-3-carboxylic (0,9 g, 6,52 mmol) trong THF (15 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 75 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (2 x 40 mL), nước muối (40 mL), tách, làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 60% EtOAc-hexan) để tạo ra 2-aminopyridin-3-carboxamid (0,4 g, 45%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 138,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

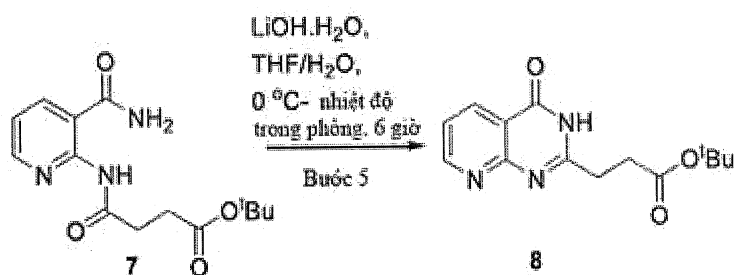
Bước 4:



Bổ sung axit 4-*tert*-butoxy-4-oxo-butanoic (0,66 g, 3,83 mmol), HATU (1,45 g, 3,83 mmol) và Et₃N (0,7 mL, 5,04 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-aminopyridin-3-carboxamit (0,35 g, 2,55 mmol) trong DMF (15 mL). Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở 60 °C trong 24 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (2 x 30 mL), nước muối (30 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 2% MeOH-DCM) để tạo ra *tert*-butyl 4-[(3-carbamoyl-2-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoat (0,22 g, 26%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 294,6 [M+H]⁺.

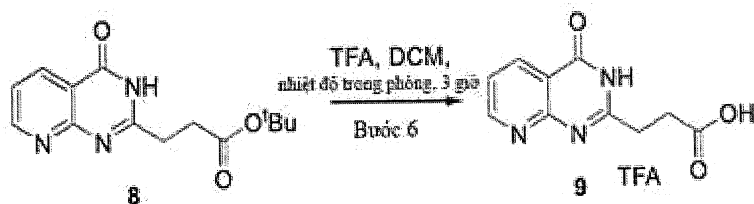
Bước 5:



Bổ sung LiOH·H₂O (0,16 g, 3,88 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-[(3-carbamoyl-2-pyridyl)amino]-4-oxo-butanoat (0,22 g, 0,75 mmol) trong THF (8 mL) và nước (0,3 mL) ở 0°C. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 75 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoat (140 mg, 63%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 276,4 [M+H]⁺.

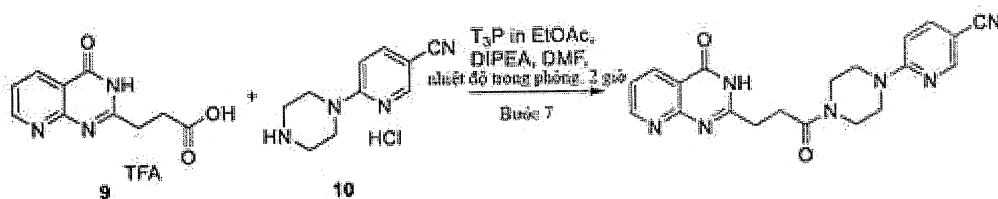
Bước 6:



Bổ sung TFA (1,1 mL, 15,0 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoat (0,14 g, 0,50 mmol) trong DCM (5 mL), và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được muối axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic axit trifloaxetic (0,14 g, 75%), sản phẩm này được đưa sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm là chất lỏng màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 220,3 $[M+H]^+$.

Bước 7:



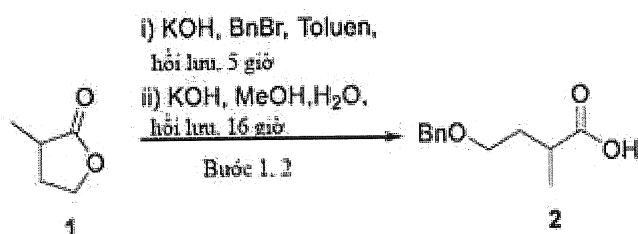
Bổ sung DIPEA (0,14 mL, 0,79 mmol) và dung dịch T₃P 50% trong EtOAc (0,5 mL, 0,78 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa muối axit 3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoic axit trifloaxetic (0,087 g, 0,39 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-carbonitril hydroclorua (0,133 g, 0,59 mmol) trong DMF (4 mL), và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng DCM (3 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (10 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc để thu được sản phẩm thô (150 mg, 54% LCMS), sản phẩm này được tinh chế điều chế để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril (29 mg, 18%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,49 (brs, 1H), 8,86 (dd, $J = 4,0, 1,6$ Hz, 1H), 8,50 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 8,45 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H), 7,88 (dd, $J = 8,8, 2,0$ Hz, 1H), 7,47 (dd, $J = 8,0, 4,8$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,83-3,77 (m, 2H), 3,69-3,62 (m, 4H), 3,58-3,53 (m, 2H), 2,93 (s, 4H).

LCMS: m/z : 390,67 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 43 – Tổng hợp 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

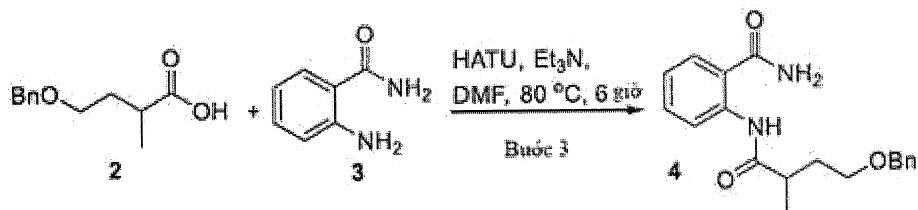
Bước 1:



Bổ sung KOH bột (6,0 g, 0,10 mol) vào dung dịch chứa 3-metyltetrahydrofuran-2-on (2,0 g, 0,02 mol) và benzyl bromua (14,0 g, 0,08 mol) trong toluen (36 mL). Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở 110°C trong 5 giờ và toluen được loại bỏ trong chân không để thu được phần cặn thô, phần này được hòa tan trong MeOH (40 mL). Bổ sung KOH (2,0 g, 0,035 mol) và nước (20 mL) vào dung dịch nêu trên và hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 16 giờ. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, rửa bằng Et_2O (2 x 50 mL), lớp nước được axit hóa tới độ $\text{pH} = 2-3$ bằng HCl đặc, và chiết bằng DCM (3 x 50 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong chân không để tạo ra axit 4-benzyloxy-2-metyl-butanoic (3,4 g, 81%) là dầu màu vàng nhạt.

^1H NMR [400 MHz, CDCl_3]: δ 7,37-7,26 (m, 5H), 4,53-4,50 (m, 2H), 3,54 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 2,73-2,64 (m, 1H), 2,09-2,00 (m, 1H), 1,76-1,68 (m, 1H), 1,21 (d, $J = 7,2$ Hz, 3H).

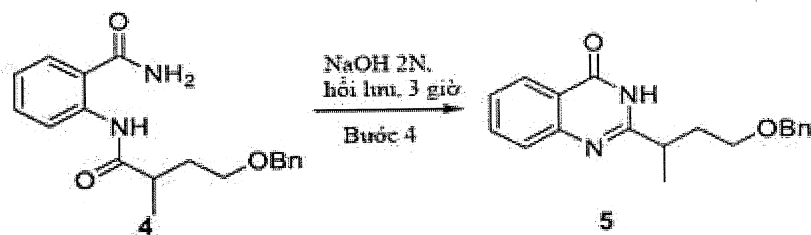
Bước 2:



Bổ sung axit 4-benzyloxy-2-metyl-butanoic (0,59 g, 2,83 mmol), HATU (1,25 g, 3,28 mmol) và Et₃N (0,61 mL, 4,35 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-aminobenzamit (0,3 g, 2,20 mmol) trong DMF (5 mL). Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở 80 °C trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (2 x 30 mL), nước muối (30 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 30% EtOAc-hexans) để tạo ra 2-[(4-benzyloxy-2-metyl-butanoyl)amino]benzamit (0,63 g, 79%) là chất lỏng không màu.

LCMS: m/z : 327,6 [M+H]⁺.

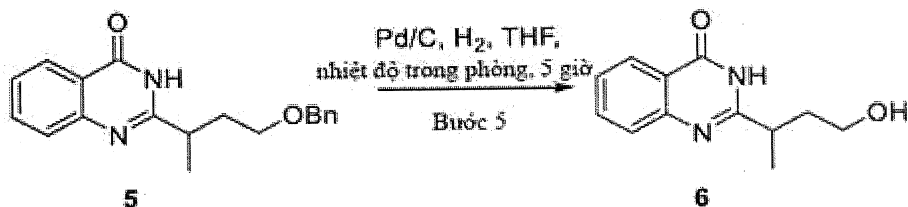
Bước 3:



2-[(4-Benzyloxy-2-metyl-butanoyl)amino]benzamit (0,63 g, 1,93 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (12 mL) được khuấy ở 100 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C và axit hóa bằng dung dịch nước HCl 2N cho tới khi độ pH = 3-4 và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 2-(3-benzyloxy-1-metyl-propyl)-3H-quinazolin-4-on (450 mg, 67%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 309,5 $[M+H]^+$.

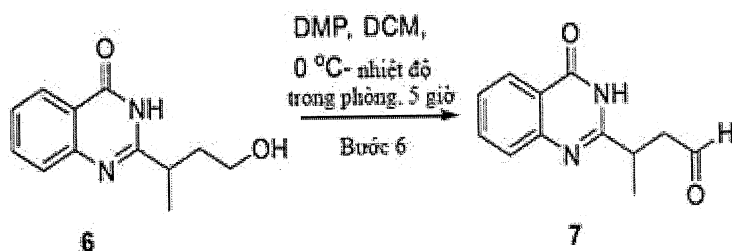
Bước 4:



Bổ sung chất xúc tác 10% Pd-C (độ ẩm 50%, 1,0 g) vào dung dịch được khuấy chứa 2-(3-benzyloxy-1-metyl-propyl)-3H-quinazolin-4-on (0,55 g, 1,78 mmol) trong THF (15 mL) và khuấy trong môi trường H_2 (bóng) trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Lọc hỗn hợp phản ứng qua Celite, và rửa bằng THF (30 mL). Cô đặc dịch lọc trong chân không để tạo ra 2-(3-hydroxy-1-metyl-propyl)-3H-quinazolin-4-on (0,3 g, 78%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 219,49 $[M+H]^+$.

Bước 5:

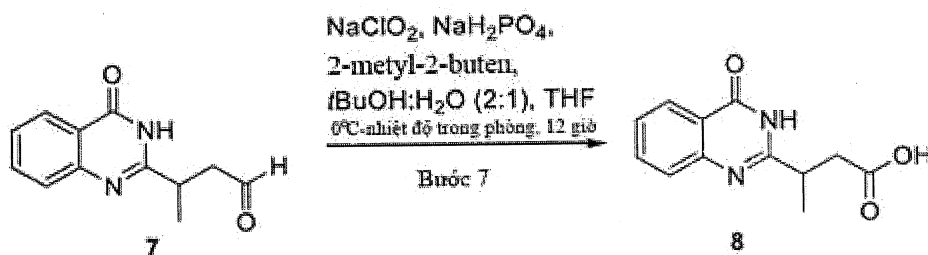


Bổ sung Dess-Martin periodinan (0,85 g, 2,00 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 2-(3-hydroxy-1-metyl-propyl)-3H-quinazolin-4-on (0,40 g, 1,83 mmol) trong DCM (25 mL), làm lạnh xuống 0°C. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch nước $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bão hòa và chiết bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (25 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel (100-200 silicagel, 10 g,

15% EtOAc-hexan) để tạo ra 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanal (220 mg, 56%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 217,5 $[M+H]^+$.

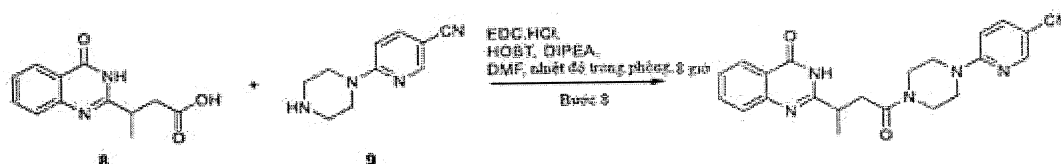
Bước 6:



Bổ sung $t\text{-BuOH}$ (5 mL), nước (1,5 mL) và 2-metyl-2-buten (0,51 g, 7,28 mmol), tiếp theo bằng NaClO_2 (0,25 g, 2,77 mmol) và $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,43 g, 2,75 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanal (0,20 g, 0,92 mmol) trong THF (10 mL), ở 5°C . Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 12 giờ, pha loãng bằng nước (15 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (25 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-DCM) để tạo ra axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanoic (150 mg, 52%), hợp chất này được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 233,4 $[M+H]^+$.

Bước 7:



Bổ sung EDC·HCl (0,18 g, 0,96 mmol), HOBT (0,13 g, 0,96 mmol) và DIPEA (0,34 mL, 1,93 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanoic (0,15 g, 0,64 mmol) và 6-piperazin-1-ylpyridin-3-

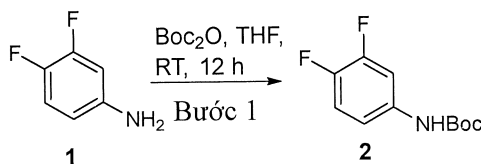
cacbonitril (0,15 g, 0,71 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và pha loãng phần cặn còn lại bằng nước (30 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (2 x 25 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô (100 mg, 71% LCMS), phần này được tinh chế điều chế để tạo ra 6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)butanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (28 mg, 9%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,19 (brs, 1H), 8,50 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,87 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H), 7,75-7,70 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,43 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 3,76-3,66 (m, 4H), 3,62-3,51 (m, 4H), 3,25-3,08 (m, 2H), 2,64-2,59 (m, 1H), 1,26 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H).

LCMS: *m/z*: 403,7 [M+H]⁺.

Ví dụ 44 – Tổng hợp 6-[(3S)-4-[3-(5,6-diflo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril

Bước 1:

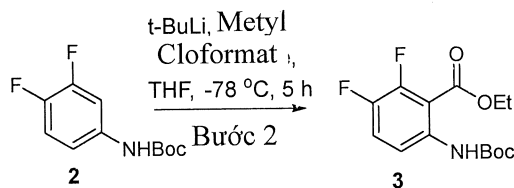


Di-*tert*-butyl dicarbonat (3,0 g, 23,2 mmol) được bổ sung vào 3,4-difloanilin (5,5 g, 25,2 mmol) trong THF khô (45 mL) và hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng hexan (15 mL). Làm khô chất rắn màu trắng thu được trong môi trường chân không cao để tạo ra *tert*-butyl N-(3,4-diflophenyl)carbamate (5 g, 93%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

¹H NMR [400 MHz, CDCl₃]: δ 7,45-7,40 (m, 1H), 7,08-7,01 (m, 1H), 6,92-6,89 (m, 1H), 6,45 (brs, 1H), 1,51 (s, 9H).

LCMS: *m/z*: 174,4 [M+H-56]⁺.

Bước 2:

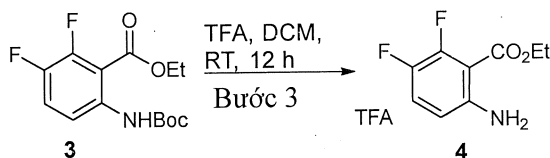


Bổ sung từng giọt *t*-BuLi (7,54 mL, 9,82 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl *N*-(3,4-diflophenyl)carbamate (1 g, 4,36 mmol) trong THF (30 mL) ở -78°C , và khuấy trong 3 giờ. Bổ sung ethyl cloroformat (0,48 g, 5,1 mmol) từ từ vào hỗn hợp phản ứng ở -78°C và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng trở về 0°C , xử lý bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa (24 mL) trong thời gian 10 phút, sau đó làm ấm lên nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng EtOAc (100 mL) và nước (50 mL). Tách các lớp và chiết pha nước bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (50 mL), làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 2% EtOAc-hexan) để tạo ra ethyl 6-(*tert*-butoxycarbonylamino)-2,3-diflo-benzoat (0,5 g, 38%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, CDCl_3]: δ 9,44 (brs, 1H), 8,11-8,08 (m, 1H), 7,30-7,23 (m, 1H), 4,45 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,51 (s, 9H), 1,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

LCMS: m/z : 202,4 $[\text{M}+\text{H}-100]^+$.

Bước 3:

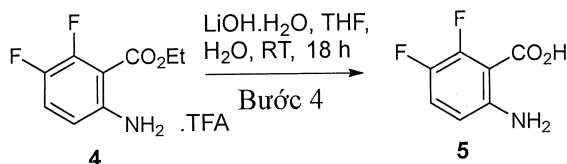


Bổ sung TFA (2,27 mL) từng giọt ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa ethyl 6-(*tert*-butoxycarbonylamino)-2,3-diflo-benzoat (0,5 g, 1,66 mmol) trong DCM (14 mL), và khuấy trong 12 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để tạo ra ethyl 6-amino-2,3-

diflo-benzoat (0,43 g, 89%), hợp chất này được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 202,3 $[M+H]^+$.

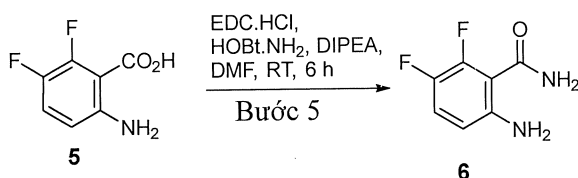
Bước 4:



Bổ sung LiOH·H₂O (0,46 g, 14,3 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa etyl 6-amino-2,3-diflo-benzoat (0,43 g, 1,44 mmol) trong THF:H₂O (2:1, 15 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng tạo ra ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), axit hóa bằng HCl 1N tới khi pH = 4-5 và chiết bằng EtOAc (50 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 6-amino-2,3-diflo-benzoic acid (0,2 g, 80%) hợp chất này được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 174,39 $[M+H]^+$.

Bước 5:

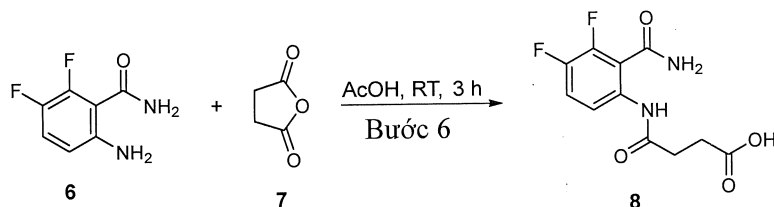


Bổ sung EDC·HCl (1,15 g, 6,0 mmol), HOBT·NH₃ (0,91 g, 6,0 mmol) và DIPEA (2,17 mL, 12,0 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa 6-amino-2,3-diflo-benzoic acid (0,7 g, 4,0 mmol) trong THF (15 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và pha loãng phần còn lại bằng nước lạnh (40 mL) và EtOAc (100 mL). Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước lạnh (2 x 20 mL), nước muối (2 x 20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g,

25% EtOAc-hexan) để thu được 6-amino-2,3-diflo-benzamit (0,45 g, 65%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 173,4 $[M+H]^+$.

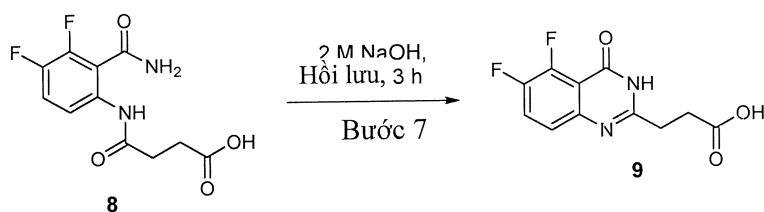
Bước 6:



Bổ sung anhydrit suxinic (0,31 g, 3,13 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 6-amino-2,3-diflo-benzamit (0,45 g, 2,61 mmol) trong AcOH (4,5 mL) ở nhiệt độ trong phòng, và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Rót hỗn hợp phản ứng vào trong nước đá lạnh (10 mL) và khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Lọc phần chất rắn kết tủa, rửa bằng nước (10 mL), axeton lạnh (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 4-(2-carbamoyl-3,4-diflo-anilino)-4-oxo-butanoic (500 mg, 70%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 273,5 $[M+H]^+$.

Bước 7:

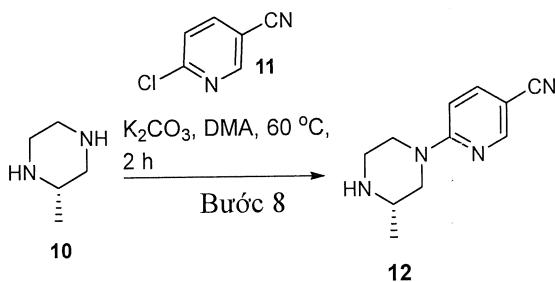


Axit 4-(2-carbamoyl-3,4-diflo-anilino)-4-oxo-butanoic (0,50 g, 1,83 mmol) trong dung dịch nước NaOH 2N (5 mL) được khuấy ở 100 °C trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0 °C và axit hóa bằng dung dịch nước HCl 2N tới khi độ pH = 3-4 trong quá trình này, chất rắn màu trắng kết tủa. Huyền phù được khuấy ở 0 °C trong 30 phút, lọc, rửa bằng nước (10 mL), axeton lạnh (2 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra axit 3-

(5,6-diflo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (300 mg, 65%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 255,46 $[M+H]^+$.

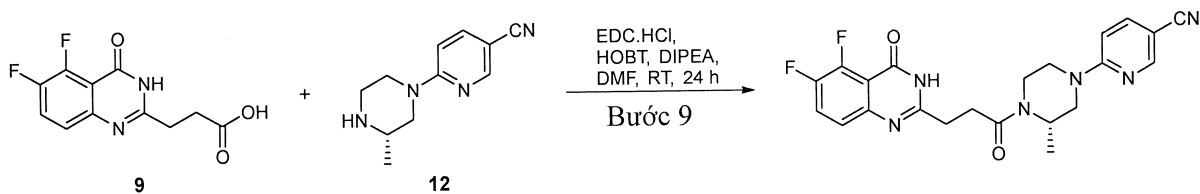
Bước 8:



Bổ sung 6-clopyridin-3-cacbonitril (0,29 g, 2,3 mmol) và K_2CO_3 vào dung dịch được khuấy chứa (2S)-2-metylpipezazin (0,30 g, 2,1 mmol) trong DMA (6 mL). Hỗn hợp phản ứng tạo ra được gia nhiệt tới 60 °C trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước lạnh (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 25 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (20 mL) và nước muối (2 x 20 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 10% MeOH-DCM) để tạo ra 6-[(3S)-3-metylpipezazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (0,29 g, 67%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 203,4 $[M+H]^+$.

Bước 9:



Bổ sung EDC·HCl (0,28 g, 1,4 mmol), HOBT (0,22 g, 1,4 mmol) và DIPEA (0,5 mL, 2,9 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(5,6-diflo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,25 g, 1,0 mmol) và 6-[(3S)-3-metylpipezazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (0,19 g, 1,0 mmol) trong DMF (5 mL) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên

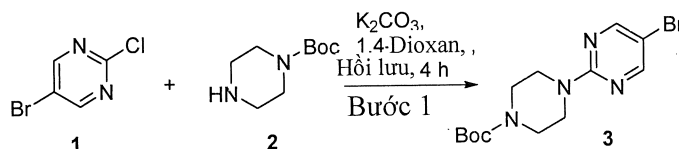
liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và pha loãng phần cặn còn lại bằng nước đá (30 mL) và EtOAc (50 mL). Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước đá (2 x 15 mL), nước muối (2 x 15 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô (200 mg, 47% LCMS) phần này được tinh chế điều chế để tạo ra 6-[(3S)-4-[3-(5,6-diflo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril (40 mg, 9%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, CDCl_3]: δ 12,33 (brs, 1H), 8,48 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 7,86 (dd, $J = 9,2, 2,4$ Hz, 1H), 7,84-7,76 (m, 1H), 7,39-7,33 (m, 1H), 6,95-6,91 (m, 1H), 4,55-4,34 (m, 1H), 4,30-3,86 (m, 3H), 3,49-3,42 (m, 1H), 3,23-3,15 (m, 1H), 3,05-2,94 (m, 1H), 2,89-2,78 (m, 4H), 1,20-0,98 (m, 3H).

LCMS: m/z : 439,7 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 45 – Tổng hợp 2-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrimidine-5-cacbonitril

Bước 1:

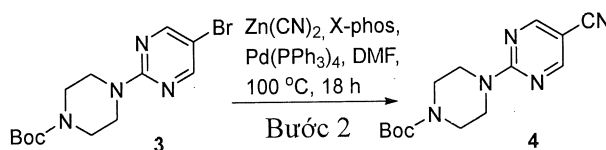


Bổ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (0,722 g, 3,88 mmol) và K_2CO_3 (0,713 g, 5,17 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 5-bromo-2-clo-pyrimidine (0,5 g, 2,58 mmol) trong 1,4-dioxan (20 mL). Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 40 mL), nước muối (1 x 40 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn còn lại. Phần cặn này được tinh chế thêm bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 15 g, 10% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-bromopyrimidin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (0,7 g, 78%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, CDCl_3]: δ 8,29 (s, 2H), 3,75 (t, $J = 4,8$ Hz, 4H), 3,47 (t, $J = 5,2$ Hz, 4H), 1,47 (s, 9H).

LCMS: m/z : 287,44 $[M-^tBu]^+$.

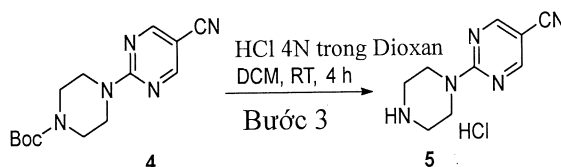
Bước 2:



Bổ sung Zn(CN)_2 (513 mg, 4,37 mmol) và X-phos (84 mg, 0,15 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-bromopyrimidin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (500 mg, 1,46 mmol) trong DMF (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được khử khí bằng khí argon trong 20 phút, sau đó $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (168 mg, 0,15 mmol) được bổ sung và gia nhiệt ở nhiệt độ $100\text{ }^\circ\text{C}$ trong 18 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước (2 x 40 mL), nước muối (1 x 40 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được nguyên liệu thô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 12 g, 10% EtOAc-hexan) để thu được *tert*-butyl 4-(5-xyanopyrimidin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (300 mg, 71%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 290,49 $[M+H]^+$.

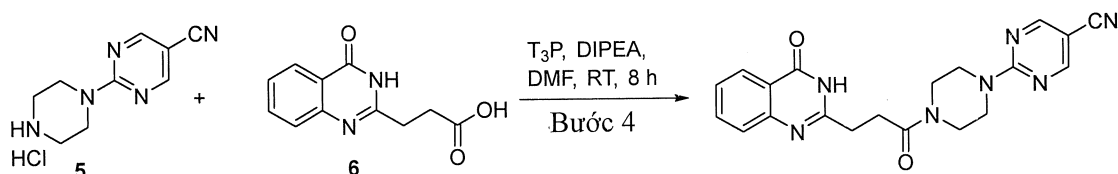
Bước 3:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (5 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-xyanopyrimidin-2-yl)piperazin-1-carboxylat (300 mg, 0,5 mmol) trong DCM (5 mL) ở 0°C . Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et_2O (5 mL) và làm khô trong chân không để tạo ra 2-piperazin-1-ylpyrimidin-5-cacbonitril hydroclorua (200 mg, 80%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 190,46 $[M+H]^+$.

Bước 4:



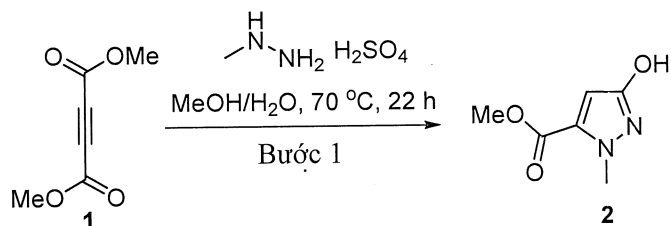
Bổ sung DIPEA (0,3 mL, 1,38 mmol) và T₃P (291 mg, 0,92 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 2-piperazin-1-ylpyrimidine-5-cacbonitril hydroclorua (130 mg, 0,69 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,46 mmol) trong DMF (2 mL), và khuấy trong 8 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết vào trong EtOAc (3 x 40 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước lạnh (3 x 20 mL), nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn còn lại. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 10 g, 5% MeOH-DCM) để tạo ra 2-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrimidin-5-cacbonitril (30 mg, 16%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz DMSO-*d*₆]: δ 12,20 (s, 1H), 8,79 (s, 2H), 8,06 (dd, J = 7,6, 1,2 Hz, 1H), 7,78-7,73 (m, 1H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 1H), 3,93 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,81 (t, J = 4,4 Hz, 2H), 3,66 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,57 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,90 (s, 4H).

LCMS: m/z : 390,67 $[M+H]^+$.

Ví dụ 46 – Tổng hợp 2-metyl-5-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrazol-3-cacbonitril

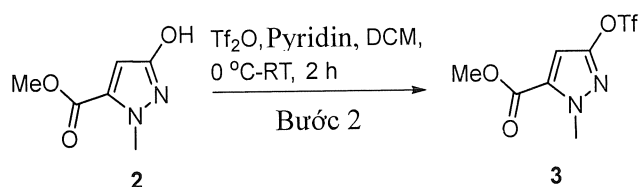
Bước 1:



Et₃N (17,3 mL, 0,12 mol) được bổ sung vào dung dịch chứa dimetyl but-2-ynedioat (8 g, 0,05 mmol) trong MeOH (80 mL), H₂O (40 mL) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Metyl hydrazin sulfat (8,92 g, 61,9 mol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 70 °C trong 22 giờ. Dung dịch được để yên ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và chất rắn tạo ra được lọc, làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra metyl 5-hydroxy-2-metyl-pyrazol-3-carboxylat (3,5 g, 40%) là chất rắn màu nâu nhạt.

LCMS: m/z : 157,3 $[M+H]^+$.

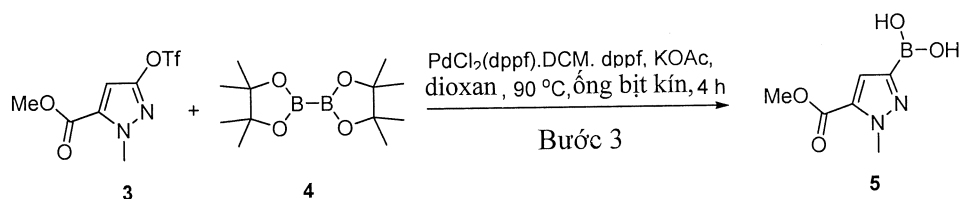
Bước 2:



Bổ sung pyridin (0,18 g, 2,30 mmol) tiếp theo bằng Tf_2O (0,59 g, 2,11 mmol) từng giọt vào dung dịch được khuấy chứa methyl 5-hydroxy-2-methyl-pyrazol-3-carboxylat (0,3 g, 1,92 mmol) trong DCM (30 mL) ở 0 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm từ từ lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 2 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng từ từ hỗn hợp phản ứng bằng nước (15 mL) và chiết bằng DCM (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (25 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra methyl 2-methyl-5-(triflometylsulfonyloxy)pyrazol-3-carboxylat (580 mg, 93%), hợp chất này được chuyển sang bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 289,4 $[M+H]^+$.

Bước 3:

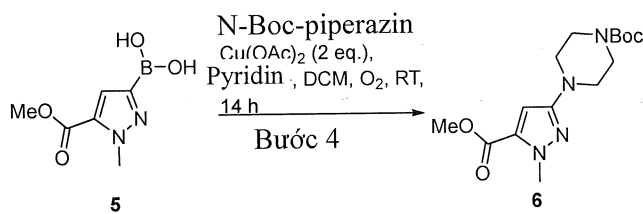


Một ống kín được nạp bằng methyl 2-metyl-5-(triflometylsulfonyloxy)pyrazol-3-carboxylat, (1,7 g, 5,90 mmol), bis(pinacolato)diboron (1,64 g, 6,48 mmol), KOAc (1,73

g, 17,6 mmol) trong 1,4-dioxan (40 mL) và khử khí trong môi trường N₂ trong 15 phút. Dppf (0,15 g, 0,29 mmol) và PdCl₂(dppf).CH₂Cl₂ (0,24 g, 0,29 mmol) được bổ sung và lại được khử khí trong môi trường N₂ trong 10 phút nữa. Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở 90 °C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), pha loãng bằng toluen (30 mL), nước (20 mL) và lọc qua đệm Celite®. Đệm xelit được rửa bằng toluen (50 mL), phần rửa hữu cơ kết hợp được tách, làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô, phần này được nghiền với pentan (70 mL) và lọc. Lớp pentan được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra axit (5-metoxycarbonyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)boronic (1 g, 92%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 185,5 [M+H]⁺.

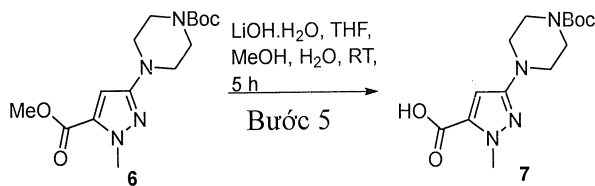
Bước 4:



Bổ sung pyridin (1,03 g, 13,03 mmol), các rây phân tử 4 Å và Cu(OAc)₂ (1,57 g, 8,67 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa axit (5-metoxycarbonyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)boronic (1,05 g, 5,64 mmol) và *N*-Boc-piperazin (0,8 g, 4,34 mmol) trong DCM (20 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường O₂ (áp suất bóng) ở nhiệt độ trong phòng trong 14 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng DCM (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô (độ tinh khiết 41%) mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silica, 30 g, 15% EtOAc-hexan) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-metoxycarbonyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,43 g, 60% LCMS) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 325,7 [M+H]⁺.

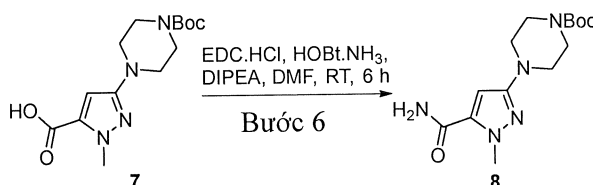
Bước 5:



Bổ sung LiOH·H₂O (0,27 g, 6,63 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-metoxycarbonyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,43 g, 1,32 mmol) trong THF:MeOH:H₂O (1:1:1, 15 mL), và khuấy trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl 1N tới khi pH = 4-5 và chiết bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra axit 5-(4-*tert*-butoxycarbonylpiperazin-1-yl)-2-metyl-pyrazol-3-carboxylic (0,24 g, 58%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 311,4 [M+H]⁺.

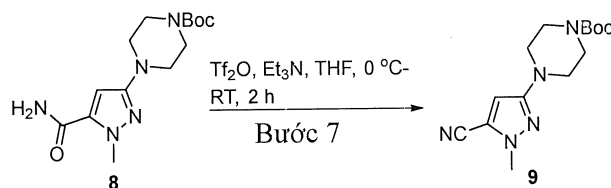
Bước 6:



Bổ sung EDC·HCl (0,43 g, 2,27 mmol), HOBT·NH₃ (0,34 g, 2,27 mmol) và DIPEA (0,8 mL, 4,55 mmol) trong môi trường argon vào dung dịch được khuấy chứa axit 5-(4-*tert*-butoxycarbonylpiperazin-1-yl)-2-metyl-pyrazol-3-carboxylic (0,47 g, 1,51 mmol) trong THF (20 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm và pha loãng phần cặn còn lại bằng nước (40 mL) và EtOAc (100 mL). Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước lạnh (2 x 20 mL), nước muối (2 x 20 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 2,5% MeOH-DCM) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-carbamoyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,40 g, 86%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 310,7 [M+H]⁺.

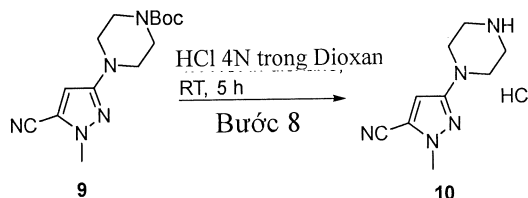
Bước 7:



Bổ sung Et₃N (0,19 mL, 1,37 mmol) tiếp theo bằng Tf₂O (0,27 mL, 1,90 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-carbamoyl-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,17 g, 0,55 mmol) trong THF (5,0 mL), làm lạnh xuống 0°C. Đưa hỗn hợp phản ứng từ từ trở về nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (10 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 25 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa (10 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-xyano-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,11 g, 68%) là chất rắn màu vàng nhạt.

LCMS: m/z : 292,5 [M+H-100]⁺.

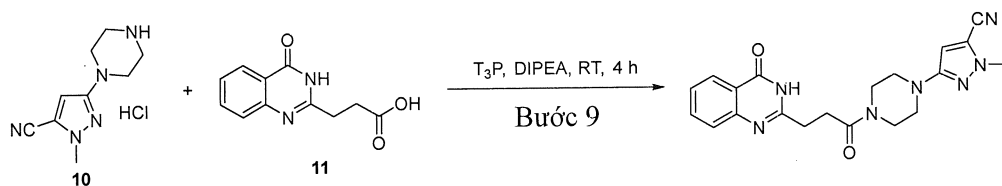
Bước 8:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (3 mL) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-xyano-1-metyl-pyrazol-3-yl)piperazin-1-carboxylat (0,11 g, 0,37 mmol) trong 1,4-dioxan (5 mL), làm lạnh xuống 0 °C. Đưa hỗn hợp phản ứng về nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà phần này được rửa bằng Et₂O (5 mL) và làm khô trong môi trường chân không cao để tạo ra 2-metyl-5-piperazin-1-yl-pyrazol-3-cacbonitril hydroclorua (70 mg, 73%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 192,5 [M+H]⁺.

Bước 9:



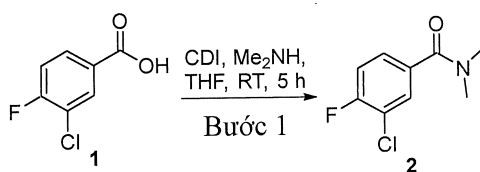
Bổ sung T₃P 50% trong EtOAc (0,36 mL, 0,57 mmol) và DIPEA (0,1 mL, 0,57 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 2-metyl-5-piperazin-1-yl-pyrazol-3-cacbonitril;hydroclorua (0,06 g, 0,28 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (0,075 g, 0,34 mmol) trong DMF (2 mL) ở nhiệt độ trong phòng, và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong môi trường chân không cao để thu được phần cặn thô mà phần này được pha loãng bằng 5% MeOH-DCM (75 mL) và rửa bằng nước lạnh (2 x 10 mL). Tách lớp hữu cơ, làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô còn lại (110 mg, 37% LCMS) phần này được tinh chế điều chế để tạo ra 2-metyl-5-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyrazol-3-cacbonitril (22 mg, 16%) là chất rắn màu trắng.

¹H NMR [400 MHz, DMSO-d₆]: δ 12,15 (brs, 1H), 8,07 (d, *J* = 6,8, 1,2 Hz, 1H), 7,76-7,72 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,44 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,62 (s, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,61 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 3,54 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,18 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,06 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H), 2,87 (s, 4H).

LCMS: *m/z*: 392,7 [M+H]⁺.

Ví dụ 47 – Tổng hợp 3-clo-N,N-dimetyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid

Bước 1:

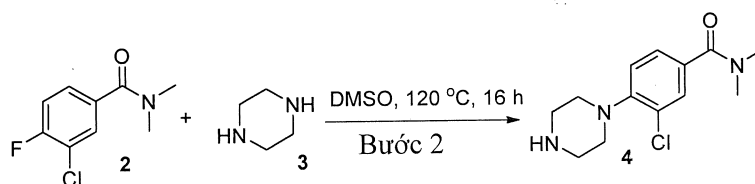


Bổ sung Me₂NH (0,3 mL, 5,74 mmol, 1M trong THF) và CDI (0,7 g, 4,31 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-clo-4-flo-benzoic (0,5 g, 2,87 mmol) trong THF (5 mL), và khuấy trong 5 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (40 mL) và chiết

bằng EtOAc (3 x 30 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại mà phần này được rửa bằng Et_2O và làm khô để tạo ra 3-clo-4-flo-N,N-dimetyl-benzamit (450 mg, 78%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 202,40 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

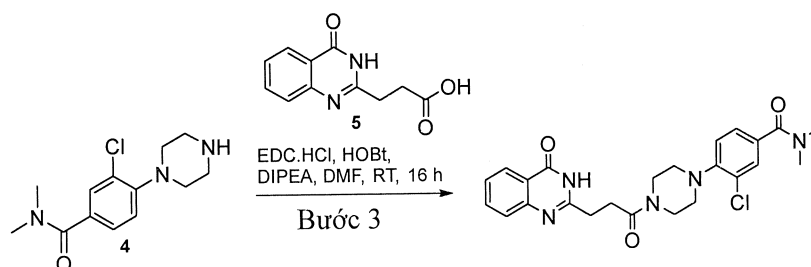
Bước 2:



Dung dịch chứa 3-clo-4-flo-N,N-dimetyl-benzamit (0,4 g, 1,99 mmol) và piperazin (0,8 g, 9,38 mmol) trong DMSO (5 mL) được khuấy trong môi trường argon ở 120 °C trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (40 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và rửa phần cặn còn lại bằng Et_2O (10 mL) để thu được 3-clo-N,N-dimetyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (550 mg, 65%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS: m/z : 268,56 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 3:



Bổ sung EDC·HCl (160 mg, 0,83 mmol), HOBT (113 mg, 0,83 mmol) và DIPEA (0,2 mL, 1,16 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 3-clo-N,N-dimetyl-4-piperazin-1-yl-benzamit (150 mg, 0,55 mmol) và axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (122 mg, 0,55 mmol) trong DMF khô (2 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (20 mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10 mL). Làm khô các phần chiết

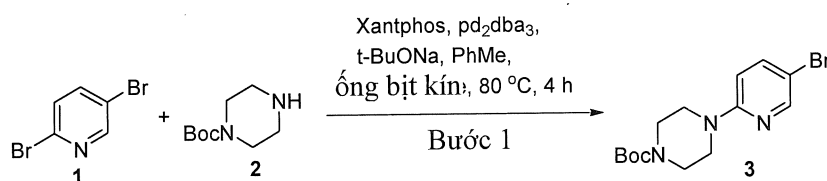
hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , cô đặc dưới áp suất giảm và tinh chế phần cặn còn lại bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 5 g, 5% của MeOH-DCM) để tạo ra 3-clo-N,N-dimetyl-4-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]benzamid (80 mg, 43%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO-d_6]: δ 12,20 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 8, 1,2$ Hz, 1H), 7,78-7,74 (m, 1H), 7,57 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 7,47-7,43 (m, 2H), 7,36 (dd, $J = 8,4, 2$ Hz, 1H), 7,15 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,70 (brs, 2H), 3,61 (brs, 2H), 3,05 (brs, 2H), 2,94 (s, 8H), 2,89 (s, 4H).

LCMS: m/z : 468,73 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 48 – Tổng hợp N-metyl-6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carboxamidin hydroclorua

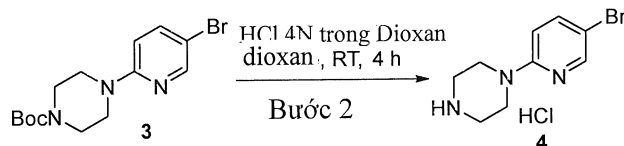
Bước 1:



Khí argon được thổi trong 5 phút vào dung dịch được khuấy chứa 2,5-dibromopyridin (2 g, 10,7 mmol), natri *tert*-butoxit (1,6 g, 16,6 mmol), xantphos (400 mg, 0,7 mmol) và toluen (100 mL) trong ống kín. Bỏ sung *tert*-butyl piperazin-1-carboxylat (3,4 g, 14,30 mmol) tiếp theo bằng $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (200 mg, 0,21 mmol) vào hỗn hợp phản ứng và gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (200 mL), nước (100 mL), lọc qua đệm Celite và rửa bằng EtOAc (2 x 30 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (50 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 50 g, 10-20% EtOAc-hexans) để tạo ra *tert*-butyl 4-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (3 g, 82%) là chất rắn màu vàng.

LCMS (ESI $^+$): m/z : 342,57 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

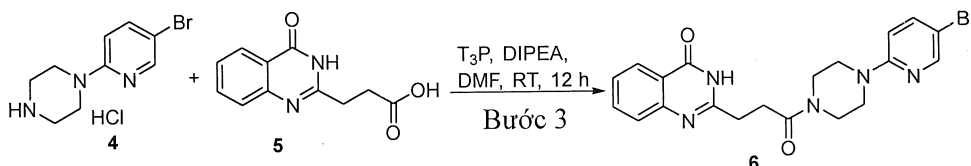
Bước 2:



Bổ sung HCl 4N trong dioxan (10 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (3 g, 8,77 mmol) trong dioxan (30 mL), và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Bổ sung EtOAc (50 mL) vào hỗn hợp phản ứng, khuấy trong 30 phút, chất rắn được lọc, rửa bằng ete (20 mL) và làm khô dưới áp suất giảm để tạo ra 1-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (2,1 g, 93%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI⁺): m/z : 242,43 [M+H]⁺.

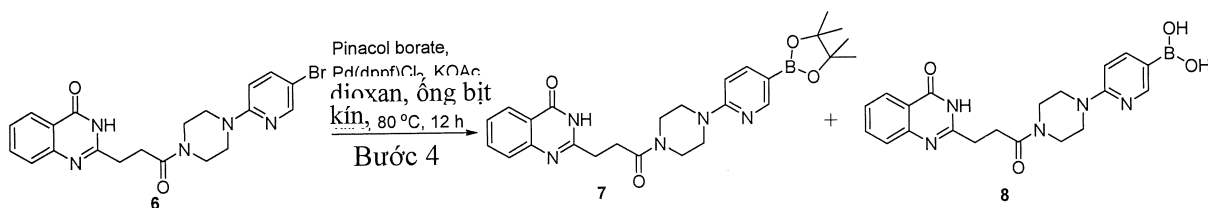
Bước 3:



Bổ sung DIPEA (3,8 mL, 22,01 mmol), axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (1,6 g, 7,34 mmol) tiếp theo bằng dung dịch T₃P 50% trong EtOAc (7 mL, 11,00 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa 1-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin hydroclorua (2,1 g, 8,12 mmol) trong DMF (20 mL), và khuấy trong 12 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá (200 mL), khuấy trong 2 giờ, chất rắn thu được được lọc, rửa bằng nước (50 mL), axeton (20 mL) và làm khô trong chân không để thu được 2-[3-[4-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (1,6 g, 50%) là chất rắn màu trắng nhạt.

LCMS (ESI⁺): m/z : 442,59 [M+H]⁺.

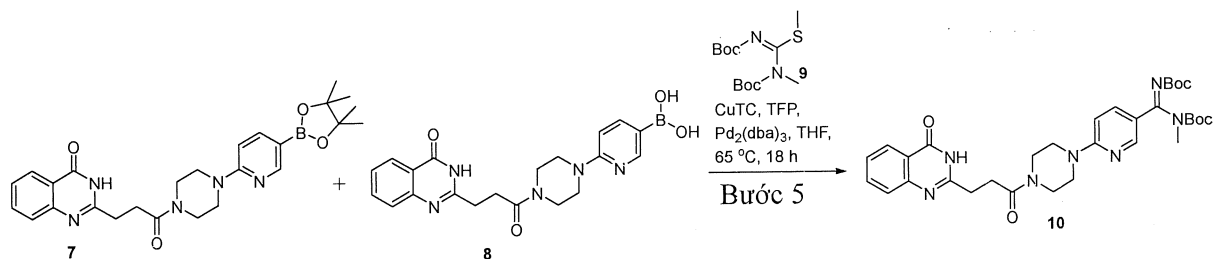
Bước 4:



Bổ sung kali axetat (1,1 g, 11,21 mmol) trong môi trường argon, tiếp theo bằng bis(pinacolato)diboron (1,3 g, 5,12 mmol) và Pd(dppf)Cl₂ (89 mg, 0,11 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa 2-[3-[4-(5-bromo-2-pyridyl)piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (1,6 g, 3,62 mmol) trong dioxan (30 mL) trong một ống kín. Phản ứng được gia nhiệt ở 80 °C trong 12 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (75 mL), lọc qua đệm Celite®, rửa bằng EtOAc (2 x 50 mL); rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (25 mL), làm khô trên natri sulfat và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng pentan (2 x 10 mL) để tạo ra hỗn hợp của cả 2-[3-oxo-3-[4-[5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-yl]propyl]-3H-quinazolin-4-on và axit [6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]-3-pyridyl]boronic (1,16 g), mà nó được sử dụng trong phản ứng tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS (ESI⁺): *m/z*: 408,69 [M+H]⁺.(axit boronic)

Bước 5:

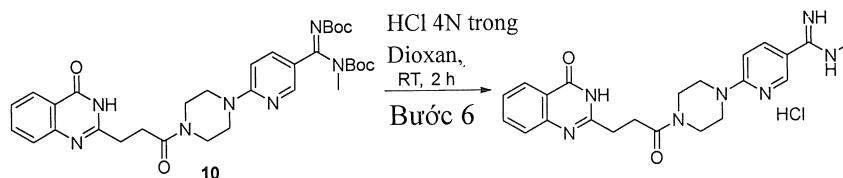


Bổ sung Pd₂(dba)₃ (91 mg, 0,10 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa hỗn hợp của 2-[3-oxo-3-[4-[5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-yl]propyl]-3H-quinazolin-4-on và axit [6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]-3-pyridyl]boronic (1,16 g), đồng (I) thiophen-2-carboxylat (1,1 g, 5,77 mmol), tri-2-furyl phosphin (140 mg, 0,60 mmol) trong THF trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được thổi vào bằng khí argon trong 5 phút, sau đó *N,N'*-Bis(*tert*-butoxycarbonyl)-*S*-methylisothioure (600 mg, 1,97 mmol) trong THF (18 mL) được bổ sung trong môi trường argon, trong quá trình này, dung dịch đồng nhất đặc được tạo ra. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở 65 °C trong 18 giờ (LCMS cho thấy 16% của axit boronic), sau đó đưa về nhiệt độ trong phòng, dung dịch nước NaHCO₃

bão hòa (20 mL) và EtOAc (30 mL) được bổ sung. Tách lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối (25 mL), làm khô trên Na_2SO_4 và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô, sản phẩm này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 100 g, 2-5% MeOH-DCM) để tạo ra *tert*-butyl N-[(E)-N-*tert*-butoxycarbonyl-C-[6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]-3-pyridyl]carbonimidoyl]-N-metyl-carbamat (240 mg, 12% LCMS), hợp chất này được tái tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để tạo ra hợp chất tinh khiết (13 mg) là chất rắn màu trắng.

LCMS (ESI⁺): m/z : 620,92 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 6:

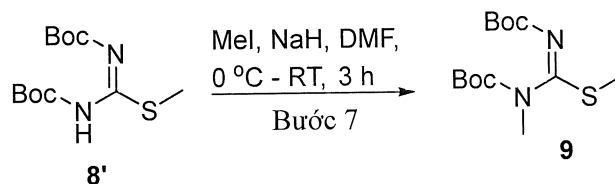


Bổ sung HCl 4N trong dioxan (0,4 mL, 1,744 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl N-[(E)-N-*tert*-butoxycarbonyl-C-[6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]-3-pyridyl]carbonimidoyl]-N-metyl-carbamat (13 mg, 0,021 mmol) trong dioxan (0,5 mL), và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ (LCMS cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm để thu được sản phẩm thô mà sản phẩm này được rửa bằng EtOAc (2 x 5 mL), tiếp theo bằng Et_2O (2 x 5 mL), sau đó làm đông khô trong hỗn hợp của CH_3CN (5 mL) và nước (5 mL) để tạo ra N-metyl-6-[4-[3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]piperazin-1-yl]pyridin-3-carboxamidin hydroclorua (12 mg, 99%) là chất rắn màu trắng nhạt.

^1H NMR [400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$]: δ 8,58 (brs, 1H), 8,14 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,99 (brs, 1H), 7,92-7,78 (m, 2H), 7,63-7,57 (m, 1H), 7,35 (brs, 1H), 7,13-7,08 (m, 1H), 4,26 (brs, 5H), 3,81 (s, 2H), 3,68 (s, 4H), 3,60 (s, 2H), 3,06 (s, 3H).

LCMS (ESI⁺): m/z : 420,70 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 7:

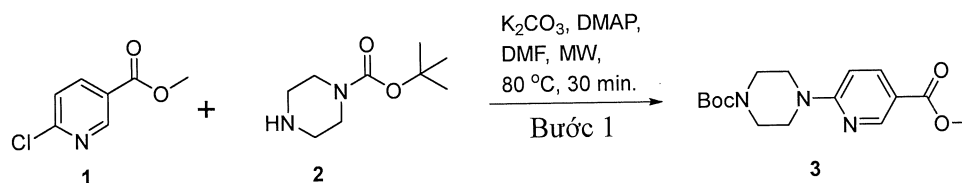


Bổ sung natri hydrua 60% (276 mg, 6,916 mmol), tiếp theo bằng MeI (0,32 mL, 5,162 mmol) từng phần vào dung dịch chứa *tert*-butyl N-[(*tert*-butoxycarbonylamino)-methylsulfanyl-methylene]carbamate (1 g, 3,44 mmol) trong DMF (20 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng lên nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá (30 mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối (30 mL), làm khô trên Na₂SO₄ và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được phần còn lại, phần này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 20 g, 5-10% EtOAc-hexans) để tạo ra *tert*-butyl N-(N-*tert*-butoxycarbonyl-C-methylsulfanyl-carbonimidoyl)-N-methyl-carbamate (650 mg, 63%) là dầu không màu.

LCMS (ESI+): *m/z*: 305,66 [M+H]⁺.

Ví dụ 49 – Tổng hợp 2-[3-[4-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on

Bước 1:

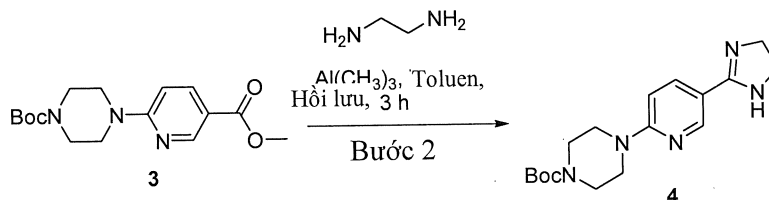


Bổ sung *tert*-butyl piperazine-1-carboxylate (720 mg, 3,87 mmol), K₂CO₃ (1,2 g, 8,74 mmol) và DMAP (35 mg, 0,29 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa methyl 6-chloropyridin-3-carboxylate (500 mg, 2,91 mmol) trong DMF (5 mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng trong lò vi sóng CEM ở 80 °C trong 30 phút (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu) và pha loãng bằng nước (20 mL) trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Chất rắn được lọc và hòa tan trong EtOAc (50 mL), làm khô trên Na₂SO₄, cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất thô, hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (100-200 silicagel, 5 g, 30% EtOAc-hexan) để

tạo ra *tert*-butyl 4-(5-metoxycarbonyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (510 mg, 54%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 322,63 $[M+H]^+$.

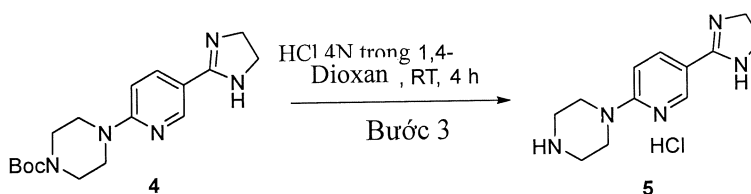
Bước 2:



Bổ sung etylendiamin (0,25 mL, 3,73 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa trimetyl nhôm (1,86 mL, 3,73 mmol, 2 M trong toluen) trong toluen (12 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng, khuấy trong 5 phút và *tert*-butyl 4-(5-metoxycarbonyl-2-pyridyl)piperazin-1-carboxylat (200 mg, 0,62 mmol) trong toluen (4 mL) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 3 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu), được đưa từ từ về nhiệt độ trong phòng, làm dừng bằng nước (5 mL) và hòa tan trong MeOH (15 mL) & DCM (15 mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua Na_2SO_4 ; dịch lọc thu được được cho bay hơi trong chân không để thu được phần cặn thô. Phần cặn này được hòa tan trong EtOAc (50 mL), gia nhiệt ở nhiệt độ 80 °C trong 5 phút, lọc qua Na_2SO_4 và cô đặc trong chân không để thu được hợp chất thô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột (100-200 silicagel, 4 g, 10% MeOH-80% DCM-10% NH_3 lỏng) để tạo ra *tert*-butyl 4-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-carboxylat (160 mg, 78%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: m/z : 332,70 $[M+H]^+$.

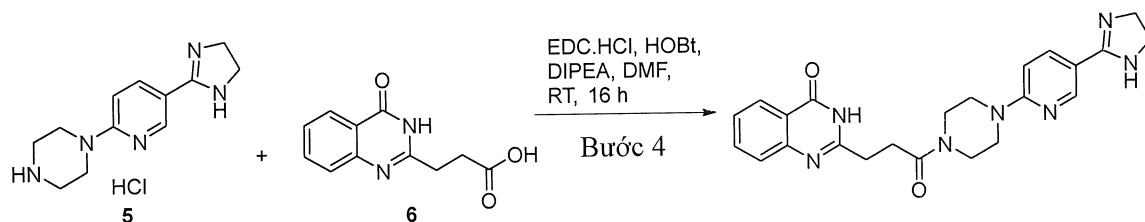
Bước 3:



Bổ sung HCl 4N trong 1,4-dioxan (0,48 mL, 1,93 mmol) vào dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl 4-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-carboxylat (160 mg, 0,48 mmol) trong 1,4-dioxan (3 mL), làm lạnh xuống 0°C. Làm ấm hỗn hợp phản ứng tới nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Làm bay hơi các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được 1-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin hydroclorua (130 mg, 100%) mà nó được sử dụng trong bước tiếp theo không cần tinh chế thêm.

LCMS: m/z : 232,56 $[M+H]^+$.

Bước 4:



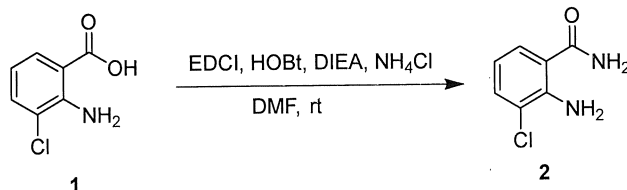
Bổ sung 1-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin hydroclorua (127 mg, 0,55 mmol), EDC·HCl (131 mg, 0,68 mmol), HOBT (93 mg, 0,68 mmol) và DIPEA (0,32 mL, 1,83 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-(4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (100 mg, 0,458 mmol) trong DMF (5 mL), và khuấy trong 16 giờ (TLC cho thấy sự tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu khởi đầu). Loại bỏ các chất dễ bay hơi dưới áp suất giảm để thu được phần cặn thô mà được pha loãng bằng nước lạnh (30 mL) trong quá trình này, chất rắn được kết tủa. Lọc phần kết tủa, làm khô trong chân không để thu được sản phẩm thô (120 mg, 92% LCMS) và được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để thu được 2-[3-[4-[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-pyridyl]piperazin-1-yl]-3-oxo-propyl]-3H-quinazolin-4-on (55 mg, 28%) là chất rắn màu trắng.

^1H NMR [400 MHz, DMSO- d_6]: δ 12,0 (s, 1H), 8,54 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,07 (dd, $J = 1,6, 8,0$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 2,4, 9,2$ Hz, 1H), 7,76-7,71 (m, 1H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 6,87 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H), 3,70-3,65 (m, 4H), 3,56 (brs, 8H), 2,89 (brs, 4H).

LCMS: m/z : 432,73 $[M+H]^+$.

Ví dụ 50 – Tổng hợp 8-clo-2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on

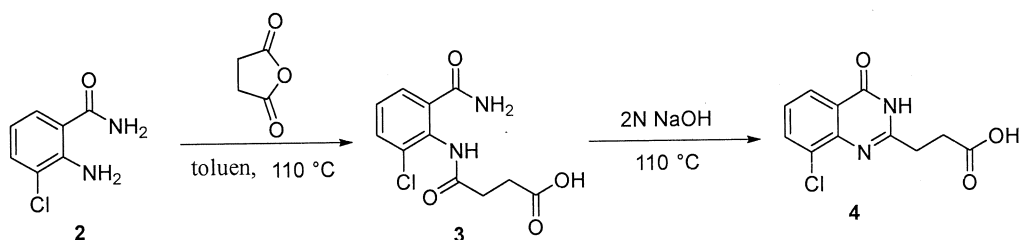
Bước 1:



Hòa tan axit 2-amino-3-clobenzoic (10 g, 58,3 mmol) trong DMF (30 mL) và tiếp theo bằng việc bổ sung HOBt (10,2 g, 75,8 mmol), EDCI (13,4 g, 69,9 mmol), amoni clorua (12,5 g, 233 mmol) và DIEA (40,6 mL, 233 mmol) theo thứ tự đó. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 20 giờ. Phân tách hỗn hợp thành H_2O (200 mL) và EtOAc (200 mL) và tách riêng các pha. Chiết lớp nước bằng EtOAc (2 x 150 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ kết hợp bằng nước muối bão hòa 50%, làm khô (MgSO_4), và lọc. Dịch lọc được cô đặc để thu được phần cặn rắn màu vàng/trắng. Phần cặn rắn được hòa tan trong DMF (10 mL). Bổ sung DCM (10 mL) dẫn tới kết tủa màu trắng, thu gom chất kết tủa bằng cách lọc. Quá trình này được lặp lại hai lần nữa để tạo ra 2-amino-3-clo-benzamit (5,1 g) là chất rắn dạng lỏng tơ màu trắng.

LC-MS: m/z : 171,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Bước 2:



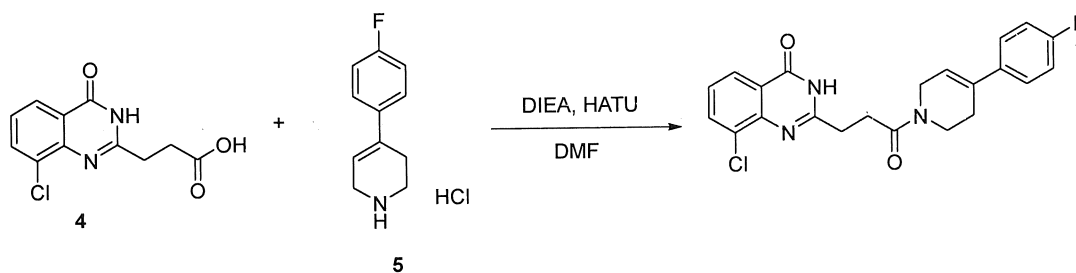
Huyền phù chứa 2-amino-3-clo-benzamit (500 mg, 2,93 mmol) và anhydrit suxinic (293 mg, 2,93 mmol) trong toluen (5 mL) được khuấy ở 110°C . Hỗn hợp trở nên đồng nhất sau 1 giờ. Sau 16 giờ nữa, sự kết tủa được hình thành. Làm lạnh hỗn hợp xuống nhiệt độ trong phòng và cô đặc trong chân không. Bổ sung NaOH 1N (10 mL) vào phần cặn và gia nhiệt hỗn hợp thu được ở 110°C trong 10 phút, sau đó làm lạnh

xuống nhiệt độ trong phòng. Bỏ sung HCl 1N cho tới khi độ pH đạt ~ 1. Sự kết tủa màu trắng được hình thành và thu gom bằng cách lọc. Chất rắn được rửa bằng nước (2 x 5mL) và làm khô để thu được axit 3-(8-clo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (294 mg) là chất rắn màu trắng.

LC-MS: m/z 253,0 $[M+H]^+$

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,45 (s, 1H), 12,20 (br.s, 1H), 8,04 (dd, $J = 7,9, 1,5$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J = 7,8, 1,4$ Hz, 1H), 7,43 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 2,89 (dd, $J = 10,6, 3,7$ Hz, 2H), 2,78 (dd, $J = 10,6, 3,6$ Hz, 2H).

Bước 3:

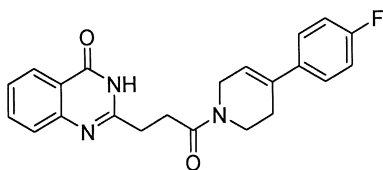


Bỏ sung HATU (33,1 mg, 0,087 mmol), tiếp theo bằng DIEA (33,9 μL , 0,190 mmol) vào dung dịch chứa 4-(4-flophenyl)-1,2,3,6-tetrahydropyridin hydroclorua (18,6 mg, 0,087 mmol) và axit 3-(8-clo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoic (20,0 mg, 0,079 mmol) trong DMF (3 mL). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, sau đó pha loãng bằng EtOAc (40 mL) và rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa (lỏng) (10 mL), nước muối bão hòa 50% (3x5 mL), làm khô (MgSO_4), lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế phần cặn còn lại bằng silicagel phương pháp sắc ký nhanh để thu được sản phẩm thô (13 mg) là chất rắn màu trắng mà nó là nguyên liệu 90% tinh khiết theo LC-MS và NMR. Chất rắn này được nghiền với EtOAc (3 mL) và thu gom chất rắn bằng cách lắng gạn chất lỏng để thu được 8-clo-2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on (1,2 mg) là chất rắn màu trắng.

LC-MS: m/z 412,1 $[M+H]^+$

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 11,08 (s, 1H), 8,18 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,79 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,38 – 7,28 (m, 3H), 7,03 (td, $J = 8,7, 2,0$ Hz, 2H), 5,98 (d, $J = 45,0$ Hz, 1H), 4,23 (d, $J = 77,1$ Hz, 2H), 3,80 (dt, $J = 100,6, 5,7$ Hz, 2H), 3,17 (dd, $J = 13,7, 7,8$ Hz, 2H), 3,02 – 2,84 (m, 2H), 2,65 – 2,48 (m, 2H).

Ví dụ 51 – Tổng hợp 2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on

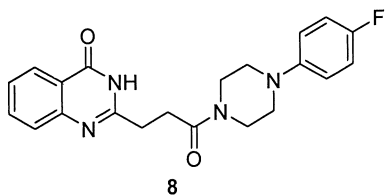


Hợp chất được tổng hợp theo trình tự tương tự như đối với 8-clo-2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on (ví dụ 50) bằng nguyên liệu khởi đầu thích hợp.

LC-MS: m/z 378,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 12,19 (s, 1H), 8,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,72 (ddd, $J = 8,5, 7,2, 1,6$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,50 – 7,46 (m, 2H), 7,46 – 7,41 (m, 1H), 7,18 (t, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,20 – 6,12 (m, 1H), 4,24 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 4,09 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,72 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,66 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 2,98 – 2,85 (m, 4H), 2,58 (s, 1H), 2,42 (s, 1H).

Ví dụ 52 – Tổng hợp 2-(3-(4-(4-flophenyl)piperazin-1-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on

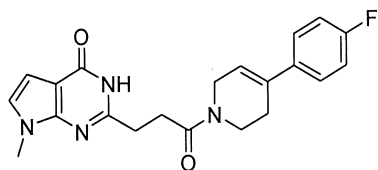


Hợp chất được tổng hợp theo trình tự tương tự như đối với 8-clo-2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on (ví dụ 50) bằng nguyên liệu khởi đầu thích hợp.

LC-MS: m/z 381,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ 12,18 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 8,0, 1,2$ Hz, 1H), 7,77 – 7,71 (m, 1H), 7,55 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,44 (ddd, $J = 8,1, 7,3, 1,1$ Hz, 1H), 7,10 – 7,04 (m, 2H), 7,01 – 6,95 (m, 2H), 3,70 – 3,63 (m, 2H), 3,63 – 3,54 (m, 2H), 3,15 – 3,10 (m, 2H), 3,04 – 2,98 (m, 2H), 2,89 (s, 4H).

Ví dụ 53 – Tổng hợp 2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)-7-metyl-3,7-dihydro-4H-pyrol[2,3-d]pyrimidin-4-on



Hợp chất được tổng hợp theo trình tự tương tự như đối với 8-clo-2-(3-(4-(4-flophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2H)-yl)-3-oxopropyl)quinazolin-4(3H)-on (ví dụ 50) bằng nguyên liệu khởi đầu thích hợp (2-amino-1-metyl-1H-pyrol-3(2H)-carboxamit, CAS No:1894093-24-3).

LC-MS: m/z 381,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 11,70 (s, 1H), 7,48 (ddd, $J = 8,7, 5,6, 2,1$ Hz, 2H), 7,21 – 7,14 (m, 2H), 6,98 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,37 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 6,16 (t, $J = 3,3$ Hz, 1H), 4,23 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H), 4,10 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 3,71 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 3,67 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,61 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 2,92 – 2,80 (m, 4H), 2,60 – 2,54 (m, 1H), 2,46 – 2,40 (m, 1H).

Ví dụ 54 Thử nghiệm PARP người

Poly (ADP-riboza) polymeraza-1 (PARP-1) và Poly (ADP-riboza) polymeraza-2 (PARP-2) là hai enzym nhân có liên quan đến nhiều hoạt tính tế bào bao gồm cả sửa chữa ADN và đóng vai trò chính trong việc duy trì tính nguyên vẹn của ADN và cấu trúc chất nhiễm sắc (chromatin). Thử nghiệm này được thiết kế để đánh giá tiềm năng của chất thử nghiệm trong việc ức chế hoạt tính của PARP-1 hoặc PARP-2 và sử dụng định dạng thử nghiệm độ lân cận nhấp nháy (SPA).

Thử nghiệm độ lân cận nhấp nháy (SPA) được thiết kế để đo hoạt tính PARP sử dụng enzym PARP-1 tái tổ hợp tinh khiết và là lý tưởng để sàng lọc lưu lượng cao đối với các chất ức chế phân tử nhỏ trong khám phá thuốc. Ở đây, enzym PARP-1 hoặc

PARP-2 người tái tổ hợp được ủ với hỗn hợp chất nền (NAD, ^3H -NAD và NAD biotiny hóa) và ^3H và các polyme ADP-riboza đánh dấu biotin được thu thập sử dụng các hạt PVT SPA liên hợp Streptavidin. Khi không có sự ức chế enzym, thu được 100% tín hiệu. Các chất ức chế được nhận diện bởi sự giảm tín hiệu khi sự hình thành polyme poly-ADP riboza trung gian bởi PARP-1 hoặc PARP-2 giảm.

Các hóa chất và chất phản ứng sử dụng trong quy trình này được liệt kê dưới đây với nguồn và số hạng mục.

Số TT	Vật liệu và các chất phản ứng	Nhà cung cấp	Số hạng mục
1	enzym PARP-1 người tái tổ hợp (hoạt tính đặc hiệu cao)	Trevigen	4668-500-01
2	enzym rh-PARP-2, 10 $\mu\text{g/l}$	BPS Bioscience	80502
3	Đĩa vi chuẩn độ 96 lỗ, màu trắng, FB	Corning	3600 hoặc CLS3600-
4	Đĩa vi chuẩn độ 96 lỗ, polypropylen,	Corning	3365 hoặc P070
5	ADN tuyến ức bê hoạt hóa	Amersham	27-4575
6	Nicotinamit-Adenin Dinucleotit	Sigma	N1511-250MG
7	NAD Biotinyl hóa (6-biotin-17-	Trevigen	4670-500-01
8	[Adenin-2,8- ^3H]-NAD, 250 $\mu\text{Ci/l}$	Perkin Elmer	NET443H250UC
9	Hạt streptavidin-SPA	Perkin Elmer	RPNQ 0007
10	DL-Dithiothreitol	Sigma	43815-1G
11	Trizma [®] bazơ	Sigma	T6791-100G
12	Magie clorua	Sigma	449172-10G
13	Spermin	Sigma	85590-5G
14	Kali clorua	Sigma	746436-500G
15	Chất thay thế NONIDET [®] P-40	Amresco	M158
16	Chất phản ứng dimetyl sulfoxit ACS, $\geq 99,9\%$	Sigma	472301-500 mL
17	4-Amino-1,8-Naphthalimit (4-ANI)	Alfa Aesar	J64358
18	TOPSEAL-A 96	Perkin Elmer	6005185
19	Ống hút	Eppendorf	

Lưu ý: Cân tất cả các hóa chất sử dụng cân có độ nhạy 0,01mg.

Thiết bị: Perkin Elmer; TopCount NXT

Điều chế chất phản ứng và dung dịch đệm

Dung dịch đệm A 4X:

Tris pH 8 : 100 mM; $MgCl_2$: 4 mM; Spermin: 4 mM; KCl: 200 mM; chất thay thế
Nonidet P-40: 0,04%;

Hỗn hợp thử nghiệm A cho mỗi lỗ

- Dung dịch đệm A 4X : 12,5 μ L
- DTT 100mM : 0,5 μ L
- Enzym PARP-1 : 1 đơn vị/lỗ, thể tích tùy thuộc vào hoạt tính cụ thể của lỗ
- Enzym PARP-2 : 30 ng/lỗ, thể tích tùy thuộc vào hoạt tính cụ thể của lỗ
- H_2O : tới 35 μ L

Hỗn hợp thử nghiệm B cho mỗi lỗ

- [Adenin-2,8-3H]-NAD 100 uCi/ml : 1 μ L (0,1 μ Ci/lỗ)
- 3H-NAD 100 uCi/ml : 2 μ L (0,2 μ Ci/lỗ)
- NAD 1,5 mM : 0,05 μ L
- NAD Biotinyl hóa 2501.iM: 0,03 μ L
- ADN tuyến ức bê hoạt hóa : 50 μ g
- H_2O : tới 10 μ L

Hỗn hợp thử nghiệm C

- Các hạt streptavidin-SPA: 2,5 mg/mL trong 200 mM EDTA pH 8,0 (trong thử nghiệm PARP-1)
- Các hạt streptavidin-SPA: 2,5 mg/ml d H_2O (trong thử nghiệm PARP-2)

Quy trình thử nghiệm

Dung dịch 10 mM chứa hợp chất tham chiếu, 4-amino-1,8-naphthalimit (4-ANI) được điều chế bằng cách sử dụng 100% DMSO. 10 mM 4-ANI được pha loãng tới 2 mM và được pha loãng thêm tới 200 μ M sử dụng 100% DMSO. Việc pha loãng hàng loạt 200 μ M 4-ANI trong 100% DMSO được thực hiện để thu được 10 nồng độ pha loãng 3 lần. 5 μ L của các dung dịch pha loãng hàng loạt được chuyển vào 95 μ L nước để thu được nồng độ cuối 10X trong thử nghiệm. Nồng độ đỉnh của 4-ANI trong thử nghiệm là 1 μ M.

Dung dịch chứa 2 mM 4-ANI điều chế trước đó được pha loãng tới 100 μ M trong nước. 5 μ L của 100 μ M 4-ANI này được bổ sung vào các lỗ đối chứng âm “NC” (negative control). Nồng độ cuối của 4-ANI trong các lỗ “NC” là 10 μ M. Lỗ “NC” được xác định là các lỗ có tín hiệu thấp nhất.

Dung dịch 10 mM chứa hợp chất thử nghiệm được điều chế bằng cách sử dụng 100% DMSO. Dung dịch 10 mM được pha loãng tới 200X nồng độ sau cùng mong muốn trong thử nghiệm. Việc pha loãng hàng loạt 200X dung dịch chứa hợp chất trong 100% DMSO được thực hiện để thu được 10 nồng độ pha loãng 3 lần.

Đĩa pha loãng trước: 5 μ L các dung dịch pha loãng hàng loạt được chuyển sang 95 μ L nước trong đĩa polypropylen để thu được 10X nồng độ mong muốn cuối cùng trong thử nghiệm.

Triển khai phản ứng PARP: Đĩa thử nghiệm

5 μ L/lỗ từ đĩa vi chuẩn độ pha loãng trước được chuyển vào vi đĩa chuẩn độ 96 lỗ màu trắng (Corning 3600). 35 μ L/lỗ của hỗn hợp thử nghiệm A được bổ sung và được ủ trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. 10 μ L/lỗ của hỗn hợp thử nghiệm B được bổ sung để khởi đầu phản ứng. Đĩa thử nghiệm được ủ trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Phát hiện đĩa thử nghiệm:

50 μ L/lỗ của hỗn hợp thử nghiệm C được bổ sung. Đĩa có TOPSEAL-A 96 được làm kín. Thử nghiệm được ủ trong 15 phút kết hợp lắc nhẹ. Đĩa thử nghiệm được đọc trên TopCount sử dụng phương thức được tối ưu hóa đối với các hạt Tritium và PVT SPA.

Các điều kiện thử nghiệm

- TRIS pH 8 : 25 mM
- MgCl₂ : 1 mM
- Spermin : 1 mM
- KCl : 50 mM
- Nonidet P-40 : 0,01%
- DTT : 1 mM
- PARP-1 : 1 đơn vị/lỗ
- PARP-2 : 20-30 ng (phụ thuộc vào hoạt tính cụ thể của mỗi một)
- Tuyến ức bê hoạt hóa : 1 ug/ml
- NAD lạnh : 1,5 uM
- NAD biotinyll hóa : 150 nM
- 3H-NAD : 0,2 uCi
- Hạt streptavidin-SPA : 1,25 mg/ml

Phân tích kết quả và dữ liệu:

Dữ liệu thô được tập hợp ở dạng CPM. Phương pháp hồi quy phi tuyến tính 4 tham số được sử dụng để lắp ráp vào đường cong đáp ứng nồng độ và để tính toán các giá trị IC₅₀. Các giá trị CPM kép của các nhóm NC, PC được tính trung bình. Lấy tất cả lượng CPM thô trừ đi giá trị trung bình của NC. Sau đó, các giá trị trừ nền này được chia cho đối chứng dương trung bình để sinh ra % hoạt tính. Lấy 100 trừ đi % hoạt tính để sinh ra % ức chế. Dữ liệu được vẽ biểu đồ và lắp ráp vào phương trình sau:

$$\% \text{ Ức chế} = \text{MIN} + \frac{(\text{MAX}-\text{MIN})}{1 + 10^{\frac{IP - \text{minIP}}{\text{slope}}}}$$

Ví dụ 55 Thử nghiệm dựa vào tế bào PARP-1

Đáp ứng lại sự tổn thương ADN, poly-(ADP-riboza) polymeraza-1 (PARP-1), nó là dạng tương đồng chính của họ PARP, nhanh chóng được hoạt hóa bởi những sự đứt gãy sợi ADN xuất phát từ sự tiếp xúc với các tác nhân môi trường, liệu pháp điều trị ung thư, viêm, thiếu máu cục bộ-tái tưới máu và thoái hóa thần kinh. Một khi được hoạt hóa, NAD⁺ được tiêu thụ để tổng hợp polyme tích điện âm cao poly-ADPriboza (PAR), nó được phát hiện ở các protein nhân đích bao gồm cả PARP-1 ở dạng chất tiếp nhận chính.

Kết quả của sự hoạt hóa PARP, sự tổn thương ADN rộng có thể dẫn đến sự tiêu tán NAD^+ trong tế bào, và dẫn tới sự chết tế bào. Do đó, PARP-1 được xem là đích hứa hẹn trong việc phát triển các thuốc hữu dụng trong nhiều phả đồ điều trị ung thư, viêm, thiếu máu cục bộ và thoái hóa thần kinh.

Trong thử nghiệm này, để giám sát hoạt tính PARP bên trong tế bào, các tế bào HeLa được xử lý bằng chất ức chế PARP-1, tiếp theo bằng việc cảm ứng gây tổn thương ADN bằng H_2O_2 . Hoạt tính PARP1 sau cùng được đánh giá bằng cách đo các mức NAD^+ và NADH trong các dịch dung giải tế bào được tập hợp từ các tế bào được xử lý và không được xử lý.

Vật liệu và các chất phản ứng

Số TT	Vật liệu và các chất phản ứng	Nhà cung cấp	Số hạng mục
1	Tế bào HeLa	ATCC	ATCC® CCL-2TM
2	Huyết thanh thai bò, HI	Invitrogen	10438-026
3	Penicillin-Streptomycin (10,000 U/mL), 100	Invitrogen	15140-122
4	DMEM, Glucoza cao, Pyruvat, 6 x 1,000 mL	Invitrogen	11995-065
5	0,25% Trypsin-EDTA (1X), đỏ phenol, 100 ml	Invitrogen	25200-056
6	175 cm ² , bình nuôi cấy mô, 100/ trường hợp	Corning	CLS431306-84EA
7	1X PBS, pH 7,4, 500 mL	Invitrogen	10010-023
8	Đĩa 96 lỗ, màu trắng, đáy phẳng, vô trùng,	Corning	CLS3917-100EA
9	Đĩa vi chuẩn độ 96 lỗ, polypropylen, trong suốt	Corning	P070
10	Chất phản ứng dimetyl sulfoxit ACS, $\geq 99,9\%$	Sigma	472301-500 mL
11	Các đầu đa năng, trong suốt, 0,5-10UL, 1000	Axygen	T-300
12	Các đầu đa năng, trong suốt, 1-200UL,	Axygen	T-200-C
13	Bộ kit NAD/NADH Glo	Promega	G9072
14	Dodexyltrimetylamonium bromua	Sigma	D5047-5G
15	NaOH	Sigma	S8045-500G
16	Natri Bicarbonat	Sigma	S5761-500G
17	Natri carbonat	Sigma	S7795-500G
18	Nicotinamit	Sigma	N5535-100G
19	TritonX-100	Sigma	T9284-100 mL
20	Trizma® baza	Sigma	93362-250G

21	Axit clohydric	Sigma	H1758-100 mL
22	Olaparib	Medchem Express	HY-10162
23	Thiết bị đọc đĩa Envision	Perkin Elmer	2104
24	Máy hút ẩm tủ ủ CO ₂	Thermo Scientific	
25	Các ống hút/ống hút huyết thanh	Eppendorf/ Corning	

Thiết bị: Phát hiện: Phát hiện phát quang trong thiết bị đọc đĩa Envision/TopCount (Perkin Elmer)

Điều chế chất phản ứng và môi trường

Điều chế môi trường nuôi cấy

- Môi trường DMEM : 1X
- FBS (bất hoạt bằng nhiệt) : 10%
- Pen-Strep (10,000 U/mL) : 0,1 mg/mL
- L-Glutamin : 2 mM

Điều chế chất phản ứng phát hiện luciferin

Dung dịch đệm hoàn nguyên được làm tan bằng. Dung dịch đệm hoàn nguyên và chất phản ứng phát hiện luciferin được làm cân bằng về nhiệt độ trong phòng. Toàn bộ lượng dung dịch hoàn nguyên trong chai được chuyển sang chai bằng hồ phách chứa chất phản ứng phát hiện luciferin đông khô. Hai chất phản ứng được kết hợp bằng cách tạo xoáy hoặc lộn ngược chai để thu được dung dịch đồng nhất. Không tạo xoáy. Chất phản ứng phát hiện luciferin cần phải hòa lẫn vào trong dung dịch một cách dễ dàng trong thời gian dưới 1 phút.

Điều chế chất phản ứng phát hiện NAD/NADH-GloTM

Thể tích tương đương của chất phản ứng phát hiện NAD/NADH-GloTM được bổ sung vào mỗi một mẫu chứa NAD⁺ hoặc NADH.

Chất phản ứng phát hiện luciferin hoàn nguyên được cân bằng về nhiệt độ trong phòng. Chất nền reductaza, reductaza và chất nền tuần hoàn NAD^+ được làm tan bằng ở nhiệt độ trong phòng hoặc trên nước đá ngay trước khi sử dụng. Enzym tuần hoàn NAD^+ được hoàn nguyên bằng cách bổ sung 275 μL nước. Hỗn hợp được tạo xoáy nhẹ nhàng trong lọ, và được bảo quản trên nước đá. Lượng yêu cầu của chất phản ứng phát hiện NAD/NADH-GloTM được điều chế bằng cách bổ sung 5 μL reductaza, 5 μL chất nền reductaza, 5 μL enzym tuần hoàn NAD^+ và 25 μL chất nền tuần hoàn NAD^+ cho 1 mL chất phản ứng phát hiện luciferin hoàn nguyên. Hỗn hợp được dốc lộn ngược nhẹ nhàng 5 lần.

Các điều kiện thử nghiệm sau cùng:

- Thể tích thử nghiệm : 100 μL
- Loại tế bào : Tế bào HeLa
- Mật độ gieo tế bào : 10000 tế bào/lỗ
- Môi trường : DMEM, 10% FBS, 0,1 mg/mL Pen-Strep, 2 mM L-Glutamin
- Nồng độ DMSO : 0,5%
- Đĩa thử nghiệm : Đĩa 96 lỗ màu trắng, TC, vô trùng, có nắp
- Thời gian ủ hợp chất : 18 giờ
- Mức CO_2 : 5 %
- Độ ẩm : 95%
- Nhiệt độ : 37 °C
- Nồng độ H_2O_2 : 200 μM

Gieo tế bào và xử lý hợp chất:

Các tế bào HeLa trong đĩa vi chuẩn độ nuôi cấy tế bào 96 lỗ được gieo với mật độ 10000 tế bào/lỗ trong 90 μL môi trường nuôi cấy. Các đĩa được ủ trong 4 giờ ở nhiệt độ 37 °C trong môi trường 5% CO_2 . 10 μL hợp chất 10X (5% DMSO) với các dung dịch pha loãng hàng loạt theo 8 điểm (khoảng nồng độ: 0,3-100 nM) được bổ sung. Ủ các đĩa xử lý trong 18 giờ ở nhiệt độ 37 °C trong 5% CO_2 . 5 μL dung dịch H_2O_2 trong H_2O (nồng độ cuối 200 μM) được bổ sung để gây thương tổn ADN. Các tế bào không được

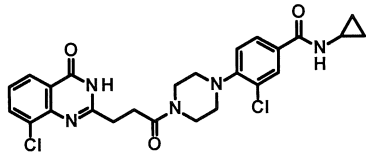
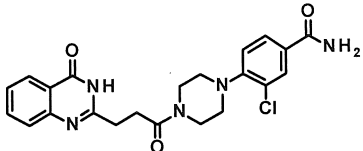
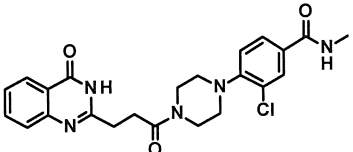
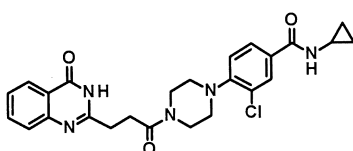
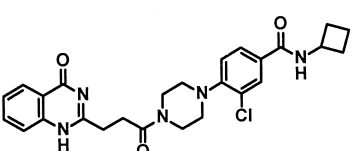
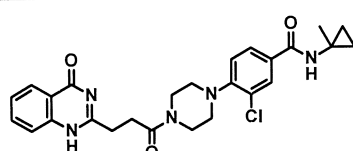
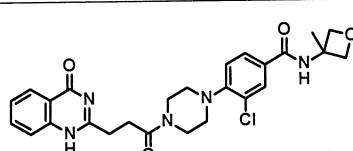
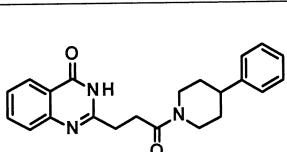
xử lý bằng H_2O_2 được giữ trong các lỗ đối chứng âm. Ủ đĩa ở nhiệt độ $37^\circ C$ trong 5 phút, và sau đó được lật ngược nhẹ nhàng để loại bỏ môi trường. Bổ sung $50\ \mu L$ $1\times PBS$ vào tất cả các lỗ.

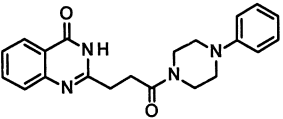
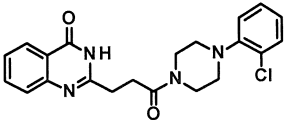
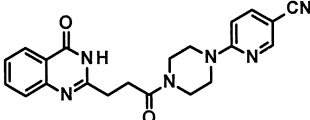
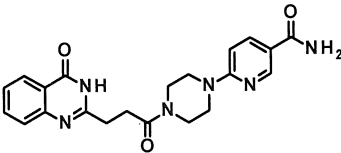
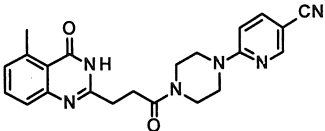
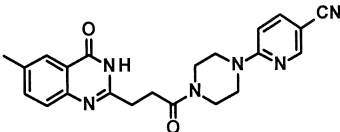
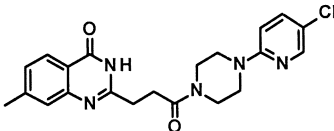
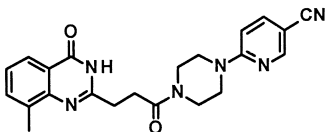
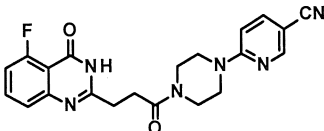
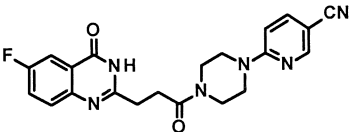
Xác định hoạt tính PARP: đo NAD^+ và $NADH$ riêng biệt

Phương thức này là để thử nghiệm tế bào trong $50\ \mu L$ PBS mỗi lỗ trong các đĩa đo độ sáng 96 lỗ màu trắng. Mỗi một lỗ tế bào được chia thành hai mẫu: Một mẫu được xử lý bằng axit để định lượng NAD^+ , và mẫu còn lại được xử lý bằng bazơ để định lượng $NADH$. Khi cấy tế bào, các lỗ trên đĩa được giữ để phân tách các mẫu. Theo cách khác, sử dụng đĩa thứ hai khi phân tách các mẫu.

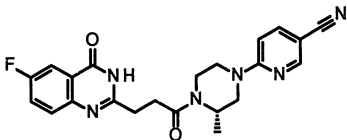
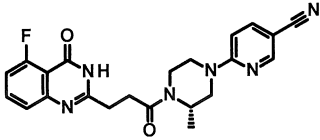
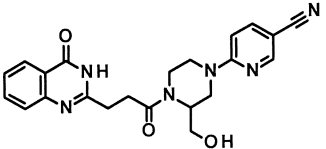
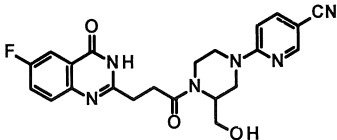
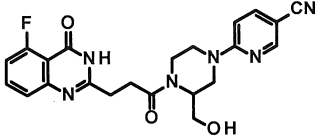
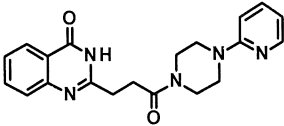
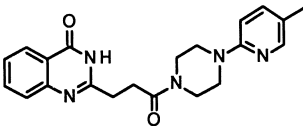
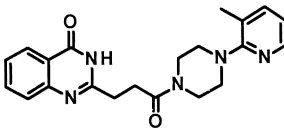
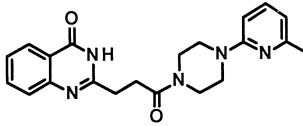
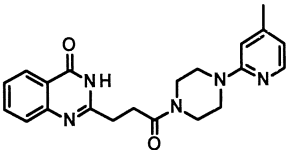
$50\ \mu L$ dung dịch bazơ có 1% DTAB được bổ sung vào mỗi một lỗ tế bào trong $50\ \mu L$ PBS. Đĩa được trộn nhanh trên thiết bị lắc đĩa để bảo đảm tính đồng nhất và phân giải tế bào. $50\ \mu L$ của mỗi một mẫu được lấy sang lỗ trống để xử lý axit. Bổ sung $25\ \mu L$ của $0,4\ N$ HCl vào các mẫu này cho mỗi một lỗ; các lỗ này chứa các mẫu được xử lý bằng axit. Các lỗ mẫu ban đầu là các mẫu được xử lý bằng bazơ. Phủ đầy đĩa và ủ trong 15 phút ở nhiệt độ $60^\circ C$. Sau đó, làm cân bằng đĩa trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung $25\ \mu L$ của $0,5\ M$ bazơ Trizma[®] vào mỗi một lỗ chứa tế bào được xử lý axit để trung hòa axit. Bổ sung $50\ \mu L$ dung dịch HCl/Trizma[®] vào mỗi một lỗ chứa các mẫu xử lý bằng bazơ. Điều chế chất phản ứng phát hiện $NAD/NADH$ -GloTM như mô tả ở trên. Bổ sung một thể tích tương đương của chất phản ứng phát hiện $NAD/NADH$ -GloTM (ví dụ, $100\ \mu L$) vào mỗi một lỗ. Lắc nhẹ đĩa để trộn kết hợp. Ủ đĩa trong 30–60 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sự phát sáng được ghi lại bằng cách sử dụng dụng cụ đo độ sáng (Envision, PerkinElmer). Các giá trị phát sáng được tập hợp. Phương pháp hồi quy phi tuyến tính được sử dụng để tạo ra đường cong đáp ứng liều lượng và để tính toán các giá trị IC_{50} .

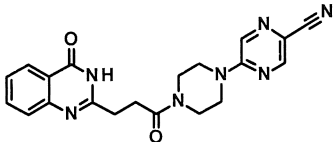
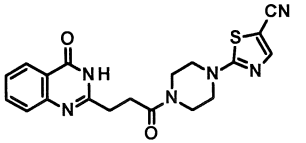
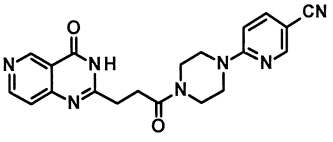
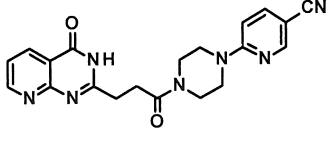
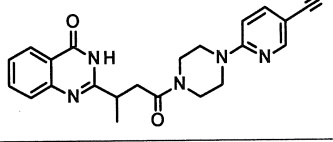
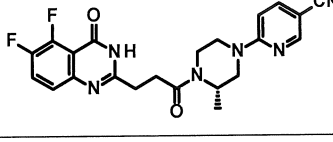
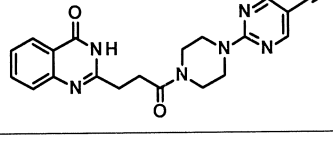
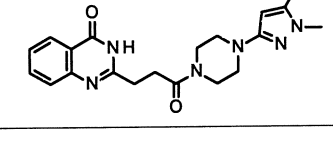
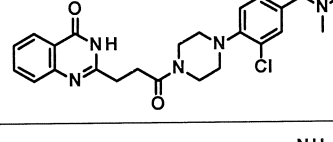
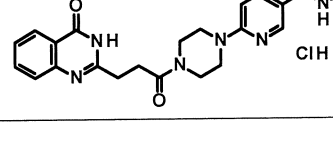
Bảng dưới đây liệt kê các tác dụng ức chế của các hợp chất đại diện theo sáng chế đối với các hoạt tính PARP1-1 và PARP-2. Kết quả chỉ ra rằng, hợp chất theo sáng chế ức chế theo cách chọn lọc PARP1-1 so với PARP-2 và hữu dụng trong việc làm gia tăng lượng NAD^+ trong các tế bào.

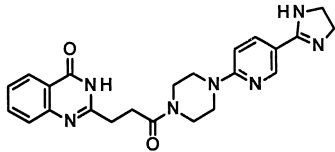
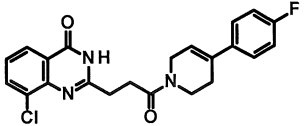
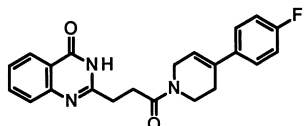
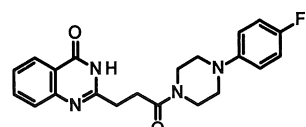
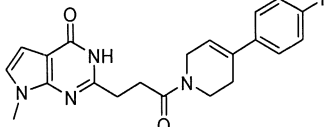
Ví dụ số	Cấu trúc	Trung bình PARP-1 IC ₅₀ (nồng độ đỉnh 10 uM) (nM)	Trung bình PARP-2 IC ₅₀ (nồng độ đỉnh 10 uM) (nM)	EC ₅₀ (nM) trong thử nghiệm tế bào H ₂ O ₂ NAD ⁺ HeLa
Ví dụ 1		27	181	909
Ví dụ 2		7	69	
Ví dụ 3		16	196	1322
Ví dụ 4		26		1658
Ví dụ 5		51		1096
Ví dụ 6		29		1271
Ví dụ 7		30		2630
Ví dụ 8		325		

Ví dụ 9		160		
Ví dụ 10		180		
Ví dụ 11		6	338	50
Ví dụ 12		25		
Ví dụ 13		54		
Ví dụ 14		23		974
Ví dụ 15		196		
Ví dụ 16		7	40	163
Ví dụ 17		8	215	16
Ví dụ 18		7	216	24

Ví dụ 19		83		
Ví dụ 20		12		288
Ví dụ 21		99		
Ví dụ 22		395		
Ví dụ 23		35	10294	552
Ví dụ 24		11	1591	341
Ví dụ 25		70		
Ví dụ 26		47		770
Ví dụ 27		94		
Ví dụ 28		10	910	138

Ví dụ 29		12	611	156
Ví dụ 30		12	624	110
Ví dụ 31		6	42	440
Ví dụ 32		5		1232
Ví dụ 33		7		2736
Ví dụ 34		54		
Ví dụ 35		35		562
Ví dụ 36		120		
Ví dụ 37		359		
Ví dụ 38		129		

Ví dụ 39		14	468	754
Ví dụ 40		53		1502
Ví dụ 41		97		
Ví dụ 42		58		12271
Ví dụ 43		42	3817	440
Ví dụ 44		11		345
Ví dụ 45		92		
Ví dụ 46		278		
Ví dụ 47		922		
Ví dụ 48		30		7564

Ví dụ 49		36		22383
Ví dụ 50		255		
Ví dụ 51		83	339	
Ví dụ 52		68	999	
Ví dụ 53		189		

Ví dụ 56 Mẫu chuột tổn thương thận cấp (AKI)

Động vật, phẫu thuật và phân liều: Chuột đực Sprague-Dawley cân nặng xấp xỉ 300-350g, tiếp cận tùy ý với thức ăn và nước tiêu chuẩn được sử dụng trong các thực nghiệm này. Chuột cống được gây mê bằng isoflurane và được đặt phần bụng lên nền đốt nóng được điều khiển nhiệt độ. Vết rạch trên da được tạo trên bề mặt lưng, để phô ra cả hai thận thông qua vết rạch ở sườn. Việc kẹp mạch được áp dụng đối với cả hai mảnh ghép thận và giữ trong 45 phút. Sau 45 phút, kẹp được tháo bỏ, thận được theo dõi việc tái tưới máu thành công, và các vị trí phẫu thuật được khâu lại. Nhóm phẫu thuật giả được cho tiến hành các phương thức phẫu thuật tương tự, chỉ khác ở chỗ, kẹp bịt mạch không được áp dụng. Hợp chất được phối chế ở dạng dung dịch mới trong suốt hàng ngày của ví dụ 29 hoặc ví dụ 30 trong *N*-methyl pyrrolidon: PEG300: Propylen glycol: nước muối thường (10: 30: 20: 40). Hợp chất hoặc chất mang được định liều theo đường tĩnh mạch thông qua tĩnh mạch đuôi với liều 15 mg/kg (3mL/kg) 4 giờ sau khi truyền lại vào ngày phẫu thuật. Vào ngày 1 (ngày sau phẫu thuật), động vật được dùng chất mang hoặc

15mg/kg hợp chất của ví dụ 29 hoặc ví dụ 30 (3mL/kg tĩnh mạch) khi bắt đầu chu trình sáng. Các động vật đối chứng phẫu thuật giả được định liều tương tự bằng chất mang.

Thu gom huyết tương và đo dấu ấn sinh học: Hai mươi bốn (24) giờ sau khi tái tưới máu, máu được thu vào ống K2 EDTA bằng cách gây chảy máu sau hốc mắt từ tất cả các nhóm trong sự gây mê bằng isoflurane nhẹ. Huyết tương được tách bằng cách ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút ở nhiệt độ 4°C. Creatinin huyết tương và nitơ urê trong máu (BUN) được phân tích sử dụng máy phân tích sinh hóa lâm sàng hoàn toàn tự động hóa (Siemens Dimension® Xpand® Plus Integrated Chemistry System)

Phân tích dữ liệu và phân tích thống kê: Phần mềm GraphPad Prism, Version 6,05 được sử dụng để vẽ đồ thị và thử nghiệm thống kê. Creatinin và BUN được thử nghiệm về sự phân bố bình thường trong tất cả các nhóm thông qua thử nghiệm chuẩn hóa nhiều mục đích D'Agostino-Pearson hoặc thử nghiệm chuẩn hóa Shapiro-Wilk. Ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) được xác định bằng thử nghiệm t của sinh viên (student's t-test) so sánh nhóm xử lý bằng giả dược - thể mang với nhóm xử lý bằng IR - thể mang hoặc nhóm xử lý bằng IR - thể mang với nhóm xử lý bằng hợp chất. $##p < 0,01$, $###p < 0,001$, $####p < 0,0001$ nhóm xử lý bằng giả dược - thể mang với nhóm xử lý bằng IR - thể mang; $*p < 0,05$, $**p < 0,01$ nhóm xử lý bằng IR - thể mang với nhóm xử lý bằng hợp chất (ví dụ 29 hoặc ví dụ 30).

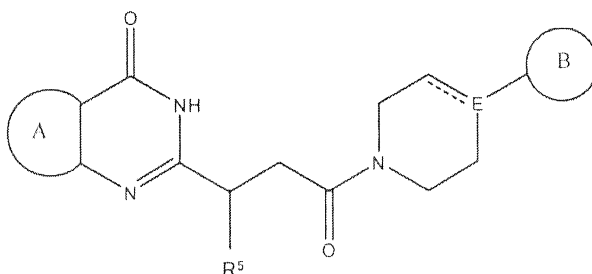
Kết quả: Các chất ức chế PARP1 ví dụ 29 và ví dụ 30, định liều theo đường tĩnh mạch sau tổn thương thận gây ra bởi thiếu máu cục bộ-tái tưới máu. Cả hai hợp chất làm giảm đáng kể creatinin huyết tương và BUN khi được định liều ở mức 15mg/kg (hình vẽ trên Fig.1).

Ví dụ 57 Thử nghiệm vi nhân *in vitro* và *in vivo*

Một số hợp chất của sáng chế này không thể hiện hoạt tính gây đột biến nhiễm sắc thể trong thử nghiệm vi nhân *in vitro* và/hoặc *in vivo*.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng và hợp chất có công thức cấu trúc sau:



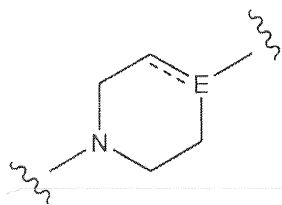
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

vòng A là phenyl được thế tùy ý hoặc heteroaryl có từ 5 đến 6 cạnh được thế tùy ý;

vòng B là aryl, heteroaryl có từ 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có từ 5 đến 6 cạnh, mỗi vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ;

“-----” là không có mặt hoặc là liên kết;

E là N hoặc CH khi “----” là không có mặt hoặc E là C khi “-----” là liên kết;



được thế tùy ý bằng (C_1-C_5) alkyl hoặc hydroxy (C_1-C_5) alkyl;

mỗi R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, -NO₂, -OR^d, -S(O)_iR^e, -C(=NR^e)NR^eR^f, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f, -O(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)OR^f, -O(C=S)NR^eR^f, -NR^e(C=O)NR^eR^f, -NR^e(C=S)NR^eR^f, -C(=S)R^e, -C(=O)R^e, halo(C₁-C₅)alkyl, và (C₁-C₅)alkyl, trong đó (C₁-C₅)alkyl biểu thị bằng R^3 được thế tùy ý bằng -CN, -NO₂, -OR^e, -NR^eR^f, -S(O)_iR^e, -NR^eS(O)_iR^f, -S(O)_iNR^eR^f, -C(=O)OR^e, -OC(=O)OR^e, -C(=S)OR^e, -O(C=S)R^e, -C(=O)NR^eR^f, -NR^eC(=O)R^f, -C(=S)NR^eR^f, -NR^eC(=S)R^f, -NR^e(C=O)OR^f,

$-\text{O}(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$, $-\text{NR}^{\text{e}}(\text{C}=\text{S})\text{OR}^{\text{f}}$, $-\text{O}(\text{C}=\text{S})\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$, $-\text{NR}^{\text{e}}(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$, $-\text{NR}^{\text{e}}(\text{C}=\text{S})\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$,
 $-\text{C}(=\text{S})\text{R}^{\text{e}}$, hoặc $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{e}}$;

R^{d} là $-\text{H}$, $\text{halo}(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ hoặc $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$, trong đó $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc $(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{alkoxy}$;

mỗi R^{e} được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-\text{H}$ và $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc $(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{alkoxy}$;

mỗi R^{f} được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-\text{H}$, $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$ được thế tùy ý bằng hydroxyl hoặc $(\text{C}_1\text{-C}_3)\text{alkoxy}$, $(\text{C}_3\text{-C}_6)\text{cycloalkyl}$ được thế tùy ý bằng $(\text{C}_1\text{-C}_2)\text{alkyl}$, và heterocyclyl chứa oxy có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng $(\text{C}_1\text{-C}_2)\text{alkyl}$; hoặc

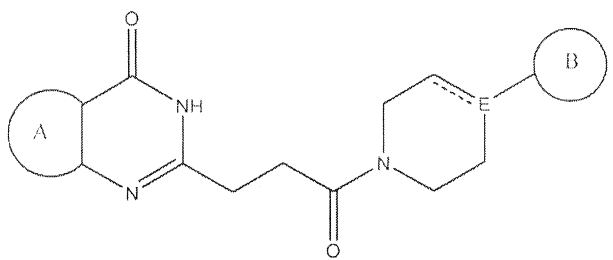
$-\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$ cùng nhau là heterocyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng $(\text{C}_1\text{-C}_2)\text{alkyl}$; hoặc

$-\text{C}(=\text{NR}^{\text{e}})\text{NR}^{\text{e}}\text{R}^{\text{f}}$ cùng nhau là heterocyclyl có 4 đến 6 cạnh được thế tùy ý bằng R^{e} ;

R^{g} là $-\text{H}$ hoặc $(\text{C}_1\text{-C}_5)\text{alkyl}$; và

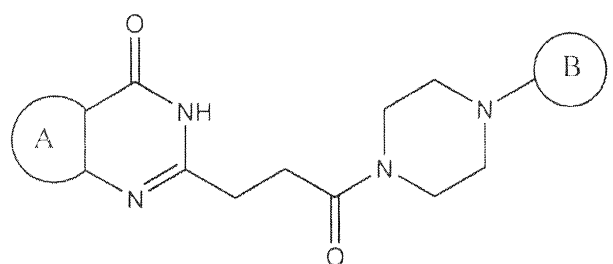
i là 0, 1, hoặc 2.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó hợp chất có công thức cấu trúc sau:

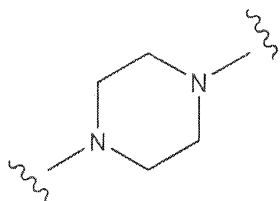


hoặc muối dược dụng của nó, hoặc

trong đó hợp chất có công thức cấu trúc sau:

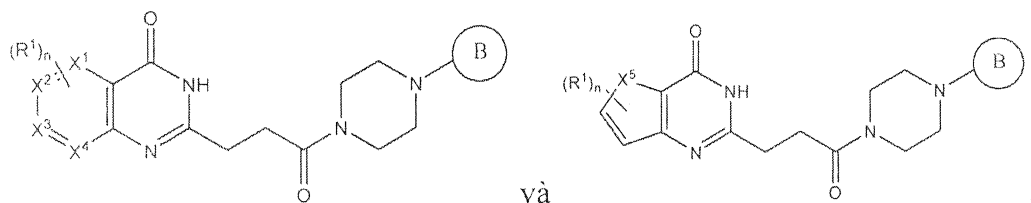


hoặc muối được dụng của nó, và trong đó



được thế tùy ý bằng (C₁-C₅)alkyl hoặc hydroxy (C₁-C₅)alkyl.

3. Dược phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất được biểu thị bằng công thức cấu trúc được lựa chọn từ nhóm gồm:

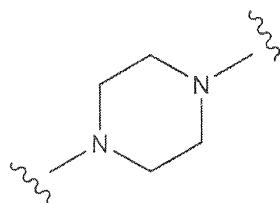


hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

mỗi X¹, X², X³ và X⁴ được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm N và CH, với điều kiện không nhiều hơn hai trong số X¹, X², X³ và X⁴ là N;

X⁵ là NR², O, hoặc S;

vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi một vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R³;



được thế tùy ý bằng (C₁-C₅)alkyl hoặc hydroxy(C₁-C₅)alkyl;

mỗi R¹ được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, -NO₂, -OR^c, -NR^aR^b, -S(O)_iR^a, -NR^aS(O)_iR^b, -S(O)_iNR^aR^b, -C(=O)OR^a, -OC(=O)OR^a, -C(=S)OR^a, -O(C=S)R^a, -C(=O)NR^aR^b, -NR^aC(=O)R^b, -C(=S)NR^aR^b, -NR^aC(=S)R^b, -NR^a(C=O)OR^b, -O(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)OR^b, -O(C=S)NR^aR^b, -NR^a(C=O)NR^aR^b, -NR^a(C=S)NR^aR^b, -C(=S)R^a, -C(=O)R^b, halo(C₁-C₅)alkyl và (C₁-C₅)alkyl, trong đó (C₁-C₅)alkyl biểu thị bằng R¹ được thế tùy ý bằng -CN, -NO₂, -OR^c,

$-NR^aR^b$, $-S(O)_iR^a$, $-NR^aS(O)_iR^b$, $-S(O)_iNR^aR^b$, $-C(=O)OR^a$, $-C(=S)NR^aR^b$, $-NR^aC(=S)R^b$, $-NR^a(C=O)OR^b$, $-O(C=O)NR^aR^b$, $-NR^a(C=S)OR^b$, $-O(C=S)NR^aR^b$, $-NR^a(C=O)NR^aR^b$, $-NR^a(C=S)NR^aR^b$, $-C(=S)R^a$, hoặc $-C(=O)R^a$;

R^2 là $-H$, C_{1-5} alkyl, phenyl, $-C(O)(C_{1-5}$ alkyl), $-C(O)(phenyl)$, $-C(O)O(C_{1-5}$ alkyl), $-C(O)O(phenyl)$, $-S(O)_2(C_{1-5}$ alkyl) hoặc $-S(O)_2(phenyl)$, trong đó mỗi alkyl trong các nhóm biểu thị bằng R^2 độc lập được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thể được lựa chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, xyano, phenyl, heteroaryl từ 5 đến 6 cạnh, (C_1-C_5) alkoxy, và halo(C_1-C_5)alkoxy, và trong đó mỗi phenyl trong các nhóm biểu thị bằng R^2 độc lập được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thể được lựa chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, nitro, xyano, amino, (C_1-C_5) alkyl, halo(C_1-C_5)alkyl, (C_1-C_5) alkoxy và halo(C_1-C_5)alkoxy;

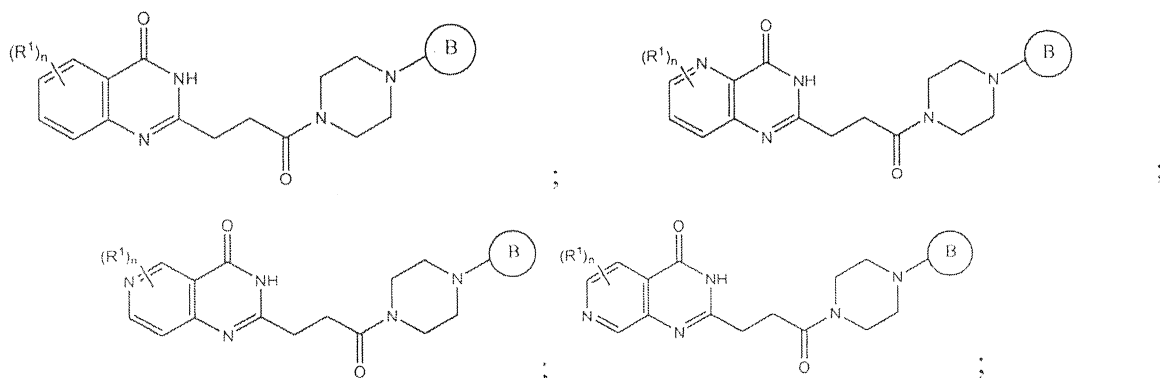
mỗi R^a và mỗi R^b được lựa chọn độc lập từ $-H$ và (C_1-C_5) alkyl được thể tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C_1-C_3) alkoxy;

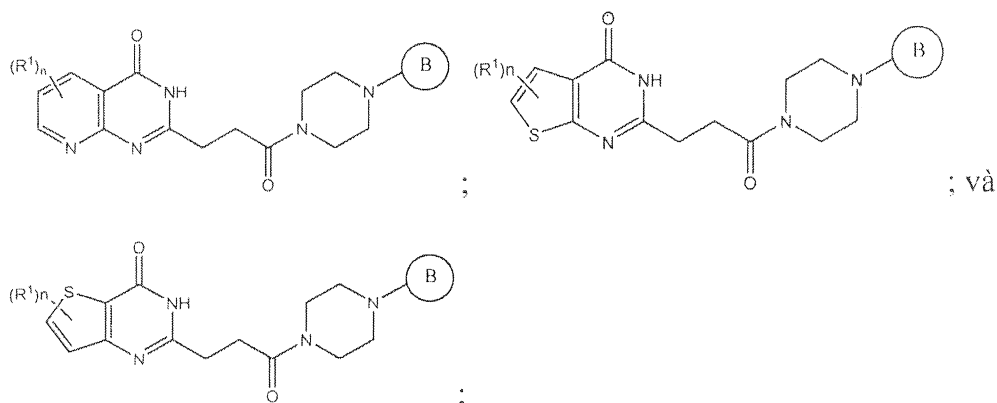
R^c là $-H$, halo(C_1-C_5)alkyl hoặc (C_1-C_5) alkyl, trong đó (C_1-C_5) alkyl được thể tùy ý bằng hydroxyl hoặc (C_1-C_3) alkoxy;

i là 0, 1, hoặc 2; và

n là 0, 1 hoặc 2.

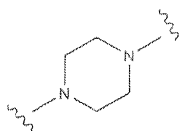
4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó hợp chất được biểu thị bằng công thức cấu trúc được lựa chọn từ nhóm gồm:





hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

vòng B là aryl, heteroaryl có 5 đến 6 cạnh hoặc heterocyclyl có 5 đến 6 cạnh, mỗi vòng được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế biểu thị bằng R^3 ; và



được thế tùy ý bằng (C_1-C_5) alkyl hoặc hydroxy (C_1-C_5) alkyl.

5. Được phẩm theo điểm 3 hoặc 4, trong đó:

mỗi R^1 độc lập là halogen, (C_1-C_5) alkyl, halo (C_1-C_5) alkyl, (C_1-C_5) alkoxy, halo (C_1-C_5) alkoxy hoặc xyno;

mỗi R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, $-C(=NR^e)NHR^f$, $-S(O)_iNR^eR^f$, $-C(=O)NR^eR^f$, $-C(=S)NR^eR^f$, $-O(C=O)NR^eR^f$, $-O(C=S)NR^eR^f$, $-NR^d(C=O)NR^eR^f$, $-NR^d(C=S)NR^eR^f$, và (C_1-C_5) alkyl.

6. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 5, trong đó:

mỗi R^1 độc lập là halogen hoặc (C_1-C_5) alkyl;

mỗi R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm -halogen, -CN, $-C(=O)NR^eR^f$, $-C(=NR^e)NHR^f$ và (C_1-C_5) alkyl.

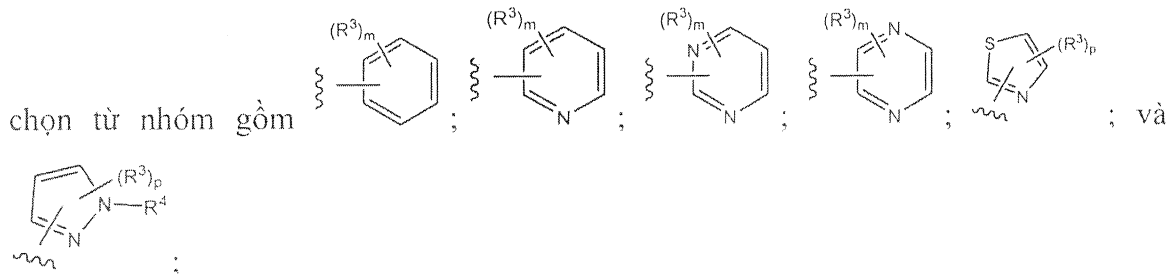
7. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 3 đến 6, trong đó:

mỗi R^1 độc lập là clo, flo hoặc metyl;

mỗi R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm clo, flo, -CN, $-C(=NR^e)NHR^f$, $-C(=O)NR^eR^f$ và metyl;

nhóm được thế tùy ý bằng methyl hoặc hydroxymethyl.

8. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó vòng B được lựa

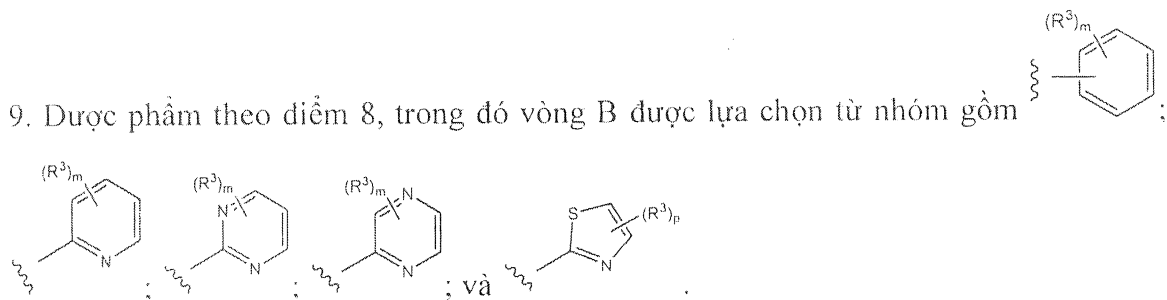


mỗi R^4 là $-H$, (C_1-C_5) alkyl, hoặc hydroxy (C_1-C_5) alkyl;

mỗi p độc lập là 0 hoặc 1; và

mỗi m là 0 hoặc 1, hoặc 2.

9. Được phẩm theo điểm 8, trong đó vòng B được lựa chọn từ nhóm gồm



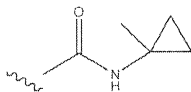
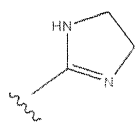
10. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 9, trong đó:

mỗi R^e và mỗi R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-H$ và methyl; hoặc R^e là $-H$ và R^f là $-(C_3-C_6)$ cycloalkyl hoặc heterocyclyl chứa oxy có 4 đến 6 cạnh mỗi loại được thế tùy ý bằng (C_1-C_2) alkyl.

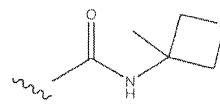
11. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 9, trong đó:

mỗi R^e và mỗi R^f được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm $-H$ và methyl; hoặc R^e là $-H$ và R^f là cyclopropyl, cyclobutyl hoặc oxetanyl mỗi loại được thế tùy ý bằng methyl.

12. Được phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 5 đến 9, trong đó mỗi R^3 được lựa chọn độc lập từ nhóm gồm clo, flo, $-CN$, $-C(O)NH(\text{cyclopropyl})$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH(CH_3)$, $-C(O)N(CH_3)_2$,



, -C(O)NH(xyclobutyl),



-C(=NH)NHCH₃, và metyl.

13. Được phẩm theo điểm 3, trong đó R² là -H hoặc (C₁-C₅)alkyl, tốt hơn là -H hoặc metyl.

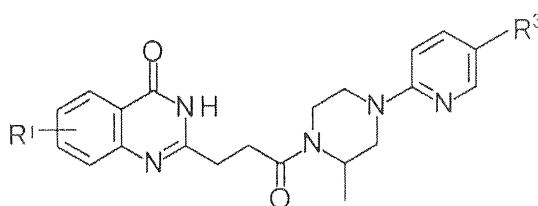
14. Được phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất là

6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

15. Được phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất là

6-[(3S)-4-[3-(5-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

16. Hợp chất có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R¹ là F hoặc metyl; và

R³ là -CN, -C(=NH)NHCH₃, hoặc metyl.

17. Hợp chất theo điểm 16, trong đó:

R¹ là F; và

R³ là -CN.

18. Hợp chất, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(6-flo-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-metyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-cacbonitril hoặc muối được dụng của hợp chất này.

19. Hợp chất, trong đó hợp chất là 6-[(3S)-4-[3-(5-fluoro-4-oxo-3H-quinazolin-2-yl)propanoyl]-3-methyl-piperazin-1-yl]pyridin-3-carbonitril hoặc muối được dùng của hợp chất này.

Fig. 1: Các chất ức chế PARP1 trong ví dụ 29 và ví dụ 30 làm giảm tổn thương thận

