



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

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

(11)



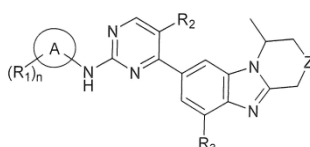
1-0039246

(51)⁷ C07D 487/04; A61K 31/55; C07D 519/00; A61P 35/02; A61K 31/506; A61P 35/00 (13) B

- (21) 1-2019-03833 (22) 22/12/2017
(86) PCT/CN2017/117950 22/12/2017 (87) WO/2018/113771 28/06/2018
(30) PCT/CN2016/111457 22/12/2016 CN; PCT/CN2017/080661 14/04/2017 CN
(45) 25/03/2024 432 (43) 25/09/2019 378A
(73) BETTA PHARMACEUTICALS CO., LTD (CN)
355 Xingzhong Road, Yuhang, Hangzhou, Zhejiang 311100, China
(72) WANG, Yiqian (CN); WANG, Jiabing (US); DING, Lieming (CN).
(74) Công ty Luật TNHH ADMC (ADMC)

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

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất benzimidazol hữu dụng trong điều trị các rối loạn liên quan đến protein kinaza. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này. Có nhu cầu về các hợp chất hữu dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa một hoặc nhiều triệu chứng bệnh ung thư, thải loại mảnh ghép. Ngoài ra, có nhu cầu về phương pháp điều biến hoạt tính protein kinaza, như CDK4 và/hoặc CDK6, bằng cách sử dụng hợp chất được đề xuất trong bản mô tả.



Công thức I

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất benzimidazol hữu dụng để ức chế kinaza phụ thuộc cyclin. Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất các hợp chất và dược phẩm chứa chúng mà được sử dụng làm chất ức chế CDK4/6, và phương pháp điều trị các bệnh qua trung gian CDK4/6, như bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các kinaza phụ thuộc cyclin (Cyclin-dependent kinase - CDK) làm trung gian cho sự tiến triển của chu trình tế bào, điều hòa sự chuyển tiếp từ pha G1 sang pha S và từ pha G2 sang pha M. Hoạt tính CDK được kiểm soát chặt chẽ trong toàn bộ chu trình tế bào bởi các biến đổi sau phiên mã cũng như sự biểu hiện các cyclin và các chất ức chế CDK. Có bốn CDK tăng sinh: CDK1, chủ yếu điều hòa sự chuyển tiếp từ pha G2 sang pha M, và CDK2/4/6, điều hòa sự chuyển tiếp từ pha G1 sang pha S.

Sự tiến triển trong toàn chu trình tế bào là quy trình được điều hòa ở mức cao. Khi không có mặt các tín hiệu sinh trưởng thích hợp, họ các protein túi (pocket protein) bao gồm protein u nguyên bào võng mạc (retinoblastoma protein - pRb) ngăn cản tế bào chuyển vào pha sao chép ADN (pha S). Chu trình sao chép bắt đầu khi các mitogen kích hoạt các con đường tải nạp tín hiệu, dẫn đến tăng mức D-cyclin trong tế bào. Các D-cyclin, về phần mình, hoạt hóa các kinaza phụ thuộc cyclin 4/6 (CDK4/6), mà phosphoryl hóa và bất hoạt pRb.

Sự tăng sinh tế bào không kiểm soát là một trong số những dấu chuẩn của bệnh ung thư, và sự hoạt hóa pRb là sự kiện chính làm cho các tế bào khối u tiến triển qua chu trình tế bào mà không bị cản trở. Trong khi một số khối u tự xóa bỏ gen pRb, hầu hết khối u duy trì pRb chức năng và thay vào đó hoạt hóa hoạt tính CDK4/6 kinaza. Sự thiếu hụt hoạt tính CDK4/6 kinaza dẫn đến sự ức chế sinh trưởng khối u hoàn toàn ở nhiều loại bệnh ung thư như ung thư vú HR+, u lympho tế bào lớp vỏ, u nguyên bào thần kinh đệm và ung thư phổi tế bào vảy. Hơn nữa, các nguyên bào sợi bình thường đã thể hiện là khắc phục được sự thiếu vắng CDK4/6 nhờ bù bằng CDK1, mà sự thiếu vắng CDK1 là không bỏ qua được. Tổng hợp lại, các bằng chứng này cho thấy rằng

chất ức chế chọn lọc CDK4/6 có thể có cửa sổ điều trị rộng hơn so với các chất ức chế pan-CDK.

Ngoài các tác dụng chống ung thư trực tiếp, các chất ức chế CDK4/6 được phát hiện là điều trị các bệnh viêm, bệnh xương, bệnh chuyển hóa, bệnh thần kinh và thoái hóa thần kinh, bệnh tim mạch, dị ứng và hen, bệnh Alzheimer, và các bệnh liên quan đến hormon. Theo đó, đã có nỗ lực đáng kể trong lĩnh vực hóa dược để tìm ra các chất ức chế CDK4/6 hữu dụng làm tác nhân điều trị.

CDK1 là yếu tố xác định chính của sự tiến triển nguyên phân và đó là CDK duy nhất có thể bắt đầu sự khởi phát nguyên phân. Các thử nghiệm bất hoạt gen ở chuột nhất đã thể hiện rằng CDK1 cần thiết cho sự tăng sinh tế bào động vật có vú.^[1] Vì CDK1 là yếu tố cần thiết cho sự tăng sinh tế bào, độc tố do sự ức chế CDK1 gây ra sẽ hạn chế khả năng đạt được mức độ trị liệu, do đó cần giữ được tính chọn lọc CDK1 so với đích hướng đến của dược phẩm là CDK4/6.

CDK2 có liên quan về mặt cấu trúc và chức năng với CDK1; nó có profin cơ chất rộng hơn đáng kể so với CDK4 và CDK6, và nó phosphorylat hóa số lượng lớn protein liên quan đến sự tiến triển chu trình tế bào (ví dụ, p27KIP1 và RB), sự sao chép ADN (ví dụ, các yếu tố sao chép A và C), sự tổng hợp histon (ví dụ, NPAT), sự nhân đôi centrosom (ví dụ, nucleophosmin (NPM)), trong số các quy trình khác. Trái với CDK4 và CDK6, CDK2 không được điều hòa bởi các protein INK4 mà bởi loại protein tương tác CDK/protein ức chế kinaza (CIP/KIP) của các chất ức chế CDK, mà liên kết với các phức CDK2–cyclin và làm chúng bị bất hoạt. [1] Khi các tác giả sáng chế thiết kế chất ức chế CDK4/6 làm thuốc chống ung thư, tốt hơn là giữ được tính chọn lọc chống lại CDK2.

Ngoài các CDK mà thúc đẩy trực tiếp sự tiến triển chu trình tế bào (ví dụ, CDK4, CDK6, CDK2 và CDK1), họ các CDK khác mà điều hòa sự phiên mã được xác định, bao gồm CDK7, CDK8 và CDK9. CDK7 có vai trò chung trong sự phosphoryl hóa vùng tận cùng carboxy của ARN polymeraza II mà góp phần khởi động sự phiên mã, và CDK9 cũng phosphoryl hóa RNA polymeraza II, nhờ đó thúc đẩy sự kéo dài phiên mã. [1] Thế hệ các chất ức chế CDK đầu tiên là các chất ức chế pan-CDK và không thành công do các độc tính không kiểm soát được. Ví dụ, flavopiridol là chất ức chế CDK đã được nghiên cứu sâu rộng nhất. Mặc dù flavopiridol có thể gây ra sự kìm hãm

chu trình tế bào trong pha G1 và pha G2, trong những tình huống nhất định nó cũng gây ra đáp ứng độc tế bào, có thể do sự ức chế CDK7 và CDK9 mà dẫn đến sự kìm hãm phiên mã.^[2] Do đó, cần tránh CDK7/9 khi thiết kế các thuốc hướng đích CDK4/6.

Cho đến nay, nhiều chất ức chế CDK khác nhau đã được đánh giá tiền lâm sàng và lâm sàng. Dựa vào các bằng chứng nêu trên, nhiều nhóm nghiên cứu đã tiến hành khám phá chất ức chế chọn lọc CDK4/6, với chất được nhắc đến nhiều trong tài liệu là Palbociclib (PD-0332991), Ribociclib (LEE-011) và Abemaciclib (LY2835219). Tuy nhiên, vẫn còn nhu cầu cung cấp nhiều chất ức chế CDK4/6 tiềm năng, chọn lọc và an toàn mà có thể được sử dụng trong điều trị các rối loạn tăng sinh tế bào như bệnh ung thư.

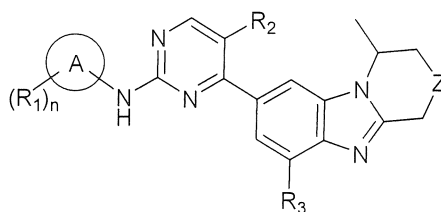
Tài liệu tham khảo:

[1]. Uzma Asghar, Agnieszka K. Witkiewicz, Nicholas C. Turner, Et al. Nat Rev Drug Discov. 2015, 14(2): 130-146.

[2]. Prithviraj Bose, Gary L Simmons, Steven Grant. Expert Opin Investig Drugs. 2013, 22(6): 723-738.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất benzimidazol được sử dụng làm chất ức chế CDK4/6 và để điều trị các bệnh qua trung gian CDK4/6. Các hợp chất theo sáng chế có công thức chung I. Hợp chất có công thức I, hoặc chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hỗn hợp, dạng đa hình, solvat, muối được dùng, hoặc tiền dược chất của chúng,



Công thức I

trong đó,

vòng A là aryl hoặc heteroaryl;

Z được chọn từ nhóm gồm CH₂, NH, O và S;

R_1 độc lập được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, CN, NO_2 , OH, NH_2 , $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-8}\text{alkoxy}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, heteroxyclyl- $(\text{CH}_2)_m$ -, aryl- $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$ -, heteroaryl- $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$ -, $-\text{NR}_{12}\text{R}_{13}$, $-\text{NR}_{12}-\text{C}_{1-6}\text{alkylen}-\text{NR}_{12}\text{R}_{13}$, và heteroxyclyl-C(O)-, trong đó $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-8}\text{alkoxy}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, heteroxyclyl- $(\text{CH}_2)_m$ -, aryl- $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$ -, heteroaryl- $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$ -, hoặc heteroxyclyl-C(O)- mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, heteroxyclyl, $-\text{NR}_{12}\text{R}_{13}$, hoặc $-(\text{CH}_2)_t\text{-OH}$;

R_2 và R_3 mỗi nhóm độc lập được chọn từ H, OH, CN, NO_2 , NH_2 , halogen, $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-8}\text{alkoxy}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl; trong đó $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{1-8}\text{alkoxy}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, hoặc heteroxyclyl;

R_{12} và R_{13} mỗi nhóm độc lập được chọn từ H, $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, hoặc $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$; trong đó $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, aryl, heteroaryl, heteroxyclyl, hoặc $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$ mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, $\text{C}_{1-8}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-8}\text{xycloalkyl}$, hoặc heteroxyclyl;

m là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

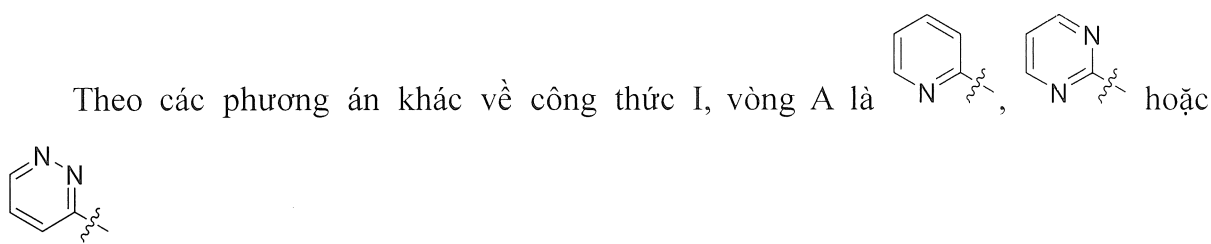
n là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

t là 0, 1, 2, 3 hoặc 4.

Theo một số phương án về công thức I, Z là CH_2 .

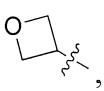
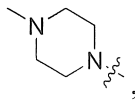
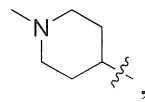
Theo một số phương án về công thức I, Z là O.

Theo một số phương án về công thức I, vòng A là heteroaryl 6 cạnh chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N, ví dụ, pyridyl, pyrimidinyl, pyridazinyl và các nhóm tương tự.



Theo một số phương án về công thức I, R_1 là heteroxyclyl- $(CH_2)_m$ -, hoặc heteroxyclyl- $(CH_2)_m$ - được thế bằng C_{1-8} alkyl, $NR_{12}R_{13}$, heteroxyclyl 4 đến 6 cạnh, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc $-(CH_2)_t-OH$.

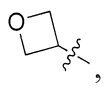
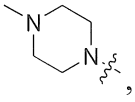
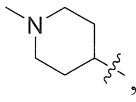
Theo các phương án khác về công thức I, R_1 là heteroxyclyl- CH_2 - 5 đến 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl- CH_2 - 5 đến 6 cạnh được thế bằng C_{1-3} alkyl, $-N(CH_3)_2$,

$-N(CH_2CH_2OH)CH_3$, , , , , $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, hoặc $-OH$.

Theo các phương án khác về công thức I, R_1 là heteroxyclyl- CH_2 - 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl- CH_2 - 6 cạnh được thế bằng metyl hoặc etyl.

Theo một số phương án về công thức I, R_1 là heteroxyclyl, hoặc heteroxyclyl được thế bằng C_{1-8} alkyl, $NR_{12}R_{13}$, heteroxyclyl 4 đến 6 cạnh, C_{3-6} xycloalkyl, hoặc $-(CH_2)_t-OH$.

Theo các phương án khác về công thức I, R_1 là heteroxyclyl 5 đến 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl 5 đến 6 cạnh được thế bằng C_{1-3} alkyl, $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_2CH_2OH)CH_3$,

, , , , $-CH_2OH$, $-CH_2CH_2OH$, hoặc OH .

Theo các phương án khác về công thức I, R_1 là heteroxyclyl 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl 6 cạnh được thế bằng metyl hoặc etyl.

Theo một số phương án về công thức I, R_1 là heteroxyclyl- $C(O)$ - 6 cạnh hoặc heteroxyclyl- $C(O)$ - 6 cạnh được thế bằng C_{1-3} alkyl.

Theo các phương án khác về công thức I, R_1 là heteroxyclyl- $C(O)$ - 6 cạnh được thế bằng metyl.

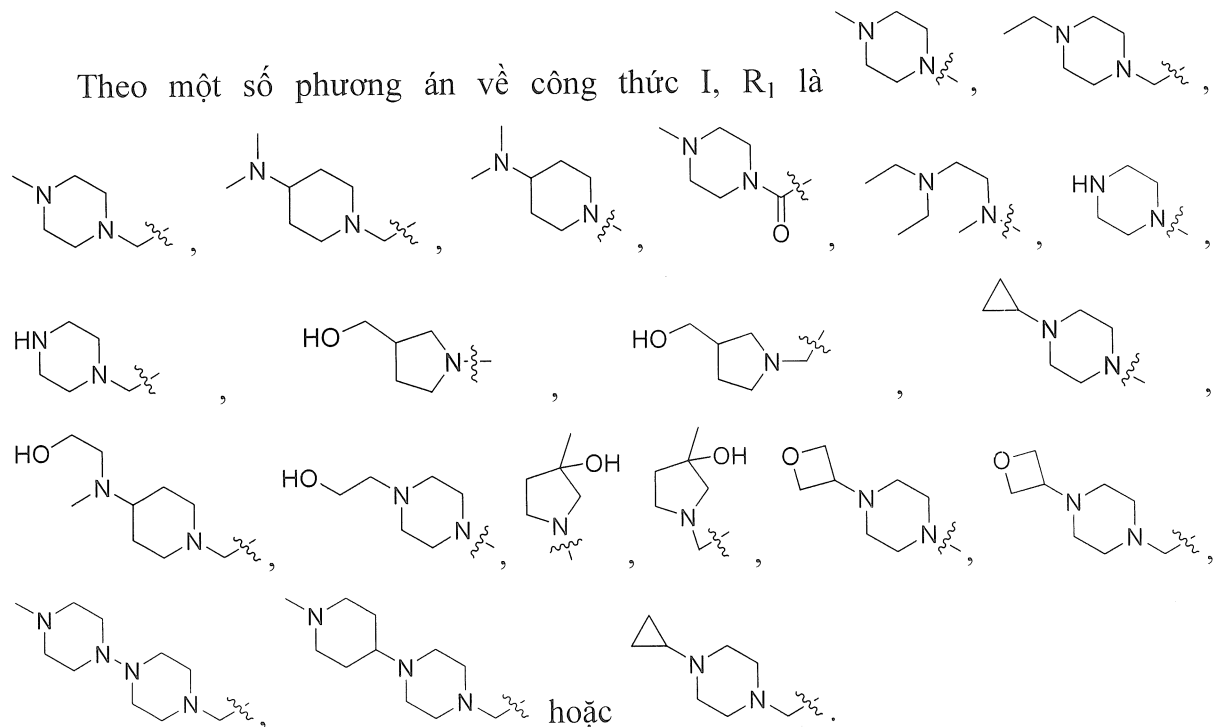
Theo một số phương án về công thức I, heteroxyclyl chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N hoặc O làm nguyên tử của vòng.

Theo một số phương án về công thức I, heteroxyclyl chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N làm nguyên tử của vòng.

Theo một số phương án về công thức I, R_1 là $-NR_{12}-C_{1-3}$ alkylen- $NR_{12}R_{13}$.

Theo một số phương án về công thức I, R_{12} và R_{13} mỗi nhóm độc lập là H, $-(CH_2)_t-OH$ hoặc $C_{1-3}alkyl$.

Tốt hơn, R_{12} và R_{13} mỗi nhóm độc lập là OH, CH_2CH_2OH , metyl hoặc etyl.



Theo một số phương án về công thức I, m là 1.

Theo một số phương án về công thức I, n là 1.

Theo một số phương án về công thức I, t là 0, 1, hoặc 2.

Theo một số phương án về công thức I, R_2 và R_3 mỗi nhóm độc lập là H, OH, halogen, $C_{1-6}alkyl$, $C_{1-6}alkyl$ được thế bằng halogen, $C_{1-6}alkoxy$, $C_{1-6}alkoxy$ được thế bằng halogen.

Theo các phương án khác về công thức I, R_2 và R_3 mỗi nhóm độc lập là H, OH, F, Cl, CH_3 , CH_2CH_3 , CF_3 , $-OCH_3$, hoặc $-OCF_3$.

Theo các phương án khác về Công thức I, R_2 và R_3 đều là F.

Sáng chế cũng đề xuất một số giải pháp kỹ thuật được ưu tiên về hợp chất có công thức I, và hợp chất này là:

1) 4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

- 2) N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 3) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 4) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(6-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-3-yl)pyrimidin-2-amin;
- 5) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 6) N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 7) N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 8) N-(5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 9) (2-((5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)metanon;
- 10) (6-((5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)metanon;
- 11) N5-(2-(diethylamino)etyl)-N2-(5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)-N5-methylpyridin-2,5-diamin;
- 12) N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-2-amin;
- 13) N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-methylpyrimidin-2-amin;
- 14) 5-clo-N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 15) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

- 16) N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 17) N-(5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 18) N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 19) 5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 20) 5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-ylmethyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 21) N-(5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)-6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridazin-3-amin;
- 22) 6-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)-N-(5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)pyridazin-3-amin;
- 23) (1-(6-((5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)pyrrolidin-3-yl)metanol;
- 24) (1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)methyl)pyrrolidin-3-yl)metanol;
- 25) N-(5-(4-xyclopropylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 26) N-(5-((4-xyclopropylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 27) 2-((1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)methyl)piperidin-4-yl)(methylamino)etan-1-ol;
- 28) 1-(6-((5-flo-4-(9-flo-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)-3-methylpyrrolidin-3-ol;

- 29) 1-(((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)-3-metylpyrolidin-3-ol;
- 30) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 31) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 32) N-(5-((4-etyl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyrazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 33) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4'-metyl-[1,1'-bipiperazin]-4-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 34) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-(1-metylpyrrolidin-4-yl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin.

Bất ngờ là, chất đồng phân lập thể (-) có độ tinh khiết cao của hợp chất có công thức I có lợi hơn so với chất đồng phân lập thể (+) về mặt hoạt tính sinh học. Ví dụ, chất đồng phân lập thể (-) tinh khiết về mặt quang học của hợp chất 2 (N-(5-((4-etyl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin) có hiệu lực hơn so với chất đồng phân lập thể (+) của hợp chất này.

Trừ khi được chỉ định khác, "(-)" theo sáng chế có nghĩa là độ quay quang có giá trị âm; và "(+)" có nghĩa là độ quay quang có giá trị dương. Hợp chất được mô tả trong bản mô tả có thể là chất đồng phân (-) của hợp chất và/hoặc chất đồng phân (+) của hợp chất.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của nó và tá dược dược dụng.

Theo một số phương án, hợp chất này có tỷ lệ khối lượng so với tá dược nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 đến khoảng 10.

Sáng chế cũng đề xuất hợp chất theo sáng chế, muối dược dụng của nó hoặc dược phẩm nêu trên để bào chế thuốc.

Theo một số phương án, thuốc được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, như bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư trực tràng, u lympho tế bào lớp vỏ, đa u tủy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, u nguyên bào thần kinh đệm, bệnh ung thư thực quản tế bào vảy, sacom mỡ, u lympho tế bào T, u hắc tố, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư não hoặc bệnh ung thư phổi.

Theo một số phương án, thuốc được sử dụng làm chất ức chế CDK, tốt hơn là CDK4 và/hoặc CDK6.

Sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế, muối được dụng của nó hoặc được phẩm nêu trên. Cụ thể, bệnh ung thư được chọn từ nhóm gồm bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư trực tràng, u lympho tế bào lớp vỏ, đa u tủy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, u nguyên bào thần kinh đệm, bệnh ung thư thực quản tế bào vảy, sacom mỡ, u lympho tế bào T, u hắc tố, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư não hoặc bệnh ung thư phổi.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều trị bệnh qua trung gian CDK, ví dụ CDK4 và/hoặc CDK 6 ở đối tượng, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế, muối được dụng của nó hoặc được phẩm nêu trên.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các thuật ngữ hóa học chung được sử dụng trong các công thức nêu trên có ý nghĩa thường dùng của chúng. Ví dụ, thuật ngữ “halogen”, như được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ định khác, nghĩa là flo, clo, bromo hoặc iodo. Các nhóm halogen được ưu tiên bao gồm F, Cl và Br.

Như được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ định khác, alkyl bao gồm các gốc hydrocarbon no hóa trị một có các nhóm mạch thẳng, hoặc mạch nhánh. Ví dụ, các gốc alkyl bao gồm metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, t-butyl, n-pentyl, 3- (2-metyl) butyl, 2-pentyl, 2-metylbutyl, neopentyl, n- hexyl, 2-hexyl, 2-metylpentyl và các gốc tương tự. Tương tự, C₁₋₈, như trong C₁₋₈alkyl được xác định để chỉ nhóm có 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 nguyên tử cacbon trong bố trí mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

Các nhóm alkenyl và alkynyl bao gồm các alken và alkyn mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Tương tự, “C₂₋₈ alkenyl” và “C₂₋₈ alkynyl” nghĩa là các gốc alkenyl hoặc alkynyl có 2, 3, 4, 5, 6, 7 hoặc 8 nguyên tử cacbon trong bố trí mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

Alkoxy là các ete oxy được tạo ra từ các nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh đã mô tả trên đây, tức là -O-alkyl.

Như được sử dụng ở đây, các mạo từ chỉ số ít, “ít nhất một”, và “một hoặc nhiều” được sử dụng thay đổi cho nhau. Do đó, ví dụ, chế phẩm bao gồm một tá được được dụng có thể được hiểu theo nghĩa là chế phẩm này bao gồm “một hoặc nhiều” tá được dụng.

Thuật ngữ “aryl”, như được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ định khác, chỉ hệ vòng gồm một hoặc nhiều vòng không được thể hoặc được thể chứa các nguyên tử của vòng cacbon. Các aryl được ưu tiên là các hệ vòng thơm 6-10 cạnh, một vòng hoặc hai vòng. Phenyl và naphthyl là các aryl được ưu tiên. Aryl được ưu tiên nhất là phenyl.

Thuật ngữ “heterocyclyl”, như được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ định khác, là hệ vòng no một vòng ba đến tám cạnh ổn định không được thể hoặc được thể chứa các nguyên tử cacbon và từ một đến ba nguyên tử khác loại được chọn từ N, O hoặc S, và trong đó các nguyên tử khác loại nitơ hoặc lưu huỳnh có thể tùy ý được oxy hóa, và nguyên tử khác loại nitơ có thể tùy ý được tạo bậc bốn. Nhóm heterocyclyl có thể được gắn kết ở nguyên tử khác loại hoặc nguyên tử cacbon bất kỳ dẫn đến sự tạo thành cấu trúc ổn định. Ví dụ về các nhóm heterocyclyl như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở azetidiny, pyrrolidiny, piperidiny, piperaziny, oxopiperaziny, oxopiperidiny, tetrahydrofurany, dioxolany, tetrahydroimidazolyl, tetrahydrothiazolyl, tetrahydrooxazolyl, tetrahydropyrany, morpholiny, thiomorpholiny, thiamorpholiny sulfoxit, thiamorpholiny sulfon và tetrahydrooxadiazolyl.

Thuật ngữ “heteroaryl”, như được sử dụng ở đây, trừ khi được chỉ định khác, là hệ vòng thơm một vòng năm hoặc sáu cạnh ổn định không được thể hoặc được thể hoặc hệ vòng thơm chín hoặc mười cạnh ngưng tụ benzo không được thể hoặc được thể hoặc hệ vòng thơm hai vòng chứa các nguyên tử cacbon và từ một đến bốn nguyên tử khác loại được chọn từ N, O hoặc S, và trong đó các nguyên tử khác loại nitơ hoặc lưu huỳnh

có thể tùy ý được oxy hóa, và nguyên tử khác loại nitơ có thể tùy ý được tạo bậc bốn. Nhóm heteroaryl có thể được gắn kết tại nguyên tử khác loại hoặc nguyên tử cacbon bất kỳ dẫn đến sự tạo thành cấu trúc ổn định. Ví dụ về các nhóm heteroaryl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở thienyl, furanyl, imidazolyl, isoxazolyl, oxazolyl, pyrazolyl, pyrrolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, triazolyl, pyridyl, pyridazinyl, indolyl, azaindolyl, indazolyl, benzimidazolyl, benzofuranyl, benzothienyl, benzisoxazolyl, benzoxazolyl, benzopyrazolyl, benzothiazolyl, benzothiadiazolyl, benzotriazolyl adeninyl, quinolinyl hoặc isoquinolinyl.

Thuật ngữ “xycloalkyl” chỉ chuỗi alkyl vòng no có từ 3 đến 12 nguyên tử cacbon, ví dụ, xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, hoặc xyclohexyl.

Thuật ngữ “được thế” chỉ nhóm trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro mỗi nguyên tử độc lập được thay thế bằng (các) phần tử thế giống hoặc khác nhau. Các phần tử thế thông thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, halogen (F, Cl, Br hoặc I), C_{1-8} alkyl, C_{3-12} xycloalkyl, $-OR^1$, SR^1 , $=O$, $=S$, $-C(O)R^1$, $-C(S)R^1$, $=NR^1$, $-C(O)OR^1$, $-C(S)OR^1$, $-NR^1R^2$, $-C(O)NR^1R^2$, xyano, nitro, $-S(O)_2R^1$, $-OS(O_2)OR^1$, $-OS(O)_2R^1$, $-OP(O)(OR^1)(OR^2)$; trong đó R^1 và R^2 độc lập được chọn từ $-H$, C_{1-6} alkyl, C_{1-6} haloalkyl. Theo một số phương án, (các) phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm gồm $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-OH$, triflometoxy, etoxy, propyloxy, iso-propyloxy, n-butyloxy, isobutyloxy, t-butyloxy, $-SCH_3$, $-SC_2H_5$, nhóm formaldehyt, $-C(OCH_3)$, xyano, nitro, CF_3 , $-OCF_3$, amino, dimetylamino, metyl thio, sulfonyl và axetyl.

Ví dụ về các nhóm alkyl được thế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 2-aminoetyl, 2-hydroxyetyl, pentacloetyl, triflometyl, metoxymetyl, pentafloretyl và piperazinylmetyl.

Ví dụ về các nhóm alkoxy được thế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, aminometoxy, triflometoxy, 2-dietylaminoetoxi, 2-etoxycarbonyletoxi, 3-hydroxypropoxy.

Thuật ngữ “muối được dùng” chỉ các muối được điều chế từ bazơ hoặc axit không độc được dùng. Khi hợp chất theo sáng chế có tính axit, muối tương ứng của nó có thể được điều chế một cách thuận tiện từ các bazơ không độc được dùng, bao gồm các bazơ vô cơ và bazơ hữu cơ. Các muối thu được từ các bazơ vô cơ như vậy bao gồm muối

nhôm, amoni, canxi, đồng (đồng (II) và đồng (I)), sắt (III), sắt (II), lithi, magie, mangan (mangan (III) và mangan (II)), kali, natri, kẽm và các muối tương tự. Các muối đặc biệt được ưu tiên là muối amoni, canxi, magie, kali và natri. Các muối thu được từ các bazơ hữu cơ không độc được dùng bao gồm các muối của amin bậc một, bậc hai và bậc ba, cũng như các amin vòng và các amin được thể như các amin được thể có trong tự nhiên và tổng hợp. Các bazơ hữu cơ không độc được dùng khác mà có thể tạo ra muối bao gồm các nhựa trao đổi ion như, ví dụ, arginin, betain, cafein, cholin, *N',N'*-dibenzyletylendiamin, dietylamin, 2-dietylaminioetanol, 2-dimetylaminioetanol, etanolamin, etylendiamin, N-etylmorpholin, N-etylpiperidin, glucamin, glucosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, metylglucamin, morpholin, piperazin, piperidin, nhựa polyamin, procain, purin, theobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, trometamin và các bazơ tương tự.

Khi hợp chất theo sáng chế có tính bazơ, muối tương ứng của nó có thể được điều chế một cách thuận tiện từ các axit không độc được dùng, bao gồm axit vô cơ và axit hữu cơ. Các axit như vậy bao gồm, ví dụ, axit axetic, axit benzensulfonic, axit benzoic, axit camphorsulfonic, axit xitric, axit etansulfonic, axit formic, axit fumaric, axit gluconic, axit glutamic, axit hydrobromic, axit clohydric, axit isethionic, axit lactic, axit maleic, axit malic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit mucic, axit nitric, axit pamoic, axit pantothenic, axit phosphoric, axit suxinic, axit sulfuric, axit tartric, axit p-toluensulfonic và các axit tương tự. Các axit được ưu tiên là xitric, axit hydrobromic, axit formic, axit clohydric, axit maleic, axit phosphoric, axit sulfuric và axit tartric, các axit đặc biệt được ưu tiên là axit formic và axit clohydric. Vì các hợp chất có công thức I được dự định để sử dụng làm dược phẩm tốt hơn nếu cũng được cung cấp ở dạng gần như tinh khiết, ví dụ tinh khiết ít nhất 60%, thích hợp hơn là tinh khiết ít nhất 75%, đặc biệt là tinh khiết ít nhất 98% (tỷ lệ % là dựa trên khối lượng trên khối lượng).

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể có mặt ở dạng muối được dùng. Để sử dụng trong dược phẩm, các muối của các hợp chất theo sáng chế chỉ “muối được dùng” không độc. Các dạng muối được dùng bao gồm các muối axit/anion hoặc bazơ/cation được dùng. Muối axit/anion được dùng thường có dạng trong đó nitơ bazơ được proton hóa bằng axit vô cơ hoặc hữu cơ. Các axit hữu cơ hoặc vô cơ đại diện bao gồm clohydric, bromhydric, hydriodic, perchloric, sulfuric, nitric, phosphoric, axetic, propionic, glycolic,

lactic, succinic, maleic, fumaric, malic, tartaric, citric, benzoic, mandelic, metansulfonic, hydroxyetansulfonic, benzensulfonic, oxalic, pantoic, 2-naphthalensulfonic, p-toluensulfonic, cyclohexansulfamic, salicylic, saccharinic hoặc trifluoroacetic. Các muối bazơ/cation được dùng bao gồm, và không chỉ giới hạn ở muối nhôm, canxi, chlorprocain, cholin, dietanolamin, etylenđiamin, lithi, magie, kali, natri và kẽm.

Trong phạm vi của sáng chế bao gồm các tiền dược chất của các hợp chất theo sáng chế. Nói chung, các tiền dược chất như vậy sẽ là các dẫn xuất có chức của các hợp chất mà dễ biến đổi *in vivo* thành hợp chất cần thiết. Ví dụ, muối, este, muối của este được dùng bất kỳ hoặc dẫn xuất khác của hợp chất theo sáng chế mà, khi sử dụng cho người nhận, có khả năng cung cấp, trực tiếp hoặc gián tiếp, hợp chất theo sáng chế hoặc chất chuyển hóa hoặc các gốc có dược tính. Các dẫn xuất hoặc tiền dược chất đặc biệt được ưu tiên là các hợp chất có thể làm tăng độ sinh khả dụng của hợp chất theo sáng chế khi được sử dụng cho bệnh nhân (ví dụ, có thể tạo ra hợp chất dùng đường miệng dễ được hấp thụ vào máu), hoặc tạo thuận lợi cho việc phân phối hợp chất gốc vào sinh vật hoặc các hợp chất mà được phân phối đến vị trí hoạt động (ví dụ, não hoặc hệ bạch huyết). Do đó, trong các phương pháp điều trị theo sáng chế, thuật ngữ “sử dụng” sẽ bao gồm việc điều trị nhiều rối loạn khác nhau được mô tả bằng hợp chất được bộc lộ cụ thể hoặc bằng hợp chất mà không được bộc lộ cụ thể, nhưng chuyển hóa thành hợp chất cụ thể *in vivo* sau khi sử dụng cho đối tượng. Các quy trình thông thường để chọn lọc và bào chế các dẫn xuất tiền dược chất thích hợp được mô tả, ví dụ, trong tài liệu “Design of Prodrugs”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Dự định rằng định nghĩa về phân tử thể hoặc biến bất kỳ ở vị trí cụ thể trong phân tử có thể độc lập với định nghĩa của nó ở vị trí khác trong phân tử. Cần hiểu rằng các phân tử thể và cách thể trên các hợp chất theo sáng chế có thể được chọn bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này để tạo ra các hợp chất mà ổn định về mặt hóa học và có thể dễ dàng tổng hợp được bằng cách kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này cũng như các phương pháp nêu trong đó.

Sáng chế bao gồm các hợp chất được mô tả ở đây có thể chứa một hoặc nhiều tâm bất đối và do đó có thể có các chất đồng phân không đối quang và các chất đồng phân đối ảnh quang học. Sáng chế bao gồm tất cả các chất đồng phân không đối quang có thể có như vậy cũng như hỗn hợp racemic của chúng, các chất đồng phân đối ảnh đã tách gần

như tinh khiết của chúng, tất cả các chất đồng phân đối ảnh hình học có thể có, và muối được dụng của chúng.

Đã phát hiện rằng chất đồng phân đối ảnh (-) tinh khiết về mặt quang học của hợp chất theo sáng chế là chất ức chế CDK4/6 có hiệu lực hơn. Sáng chế bao gồm các phương pháp điều trị bệnh qua trung gian CDK4/6 ở đối tượng, phương pháp này bao gồm việc cho đối tượng này sử dụng lượng chất đồng phân đối ảnh (-) hoặc muối được dụng của nó, gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó, lượng này đủ để làm thuyên giảm bệnh, nhưng không đủ để gây ra các tác dụng phụ bất lợi đã nêu.

Thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” như được sử dụng ở đây nghĩa là chế phẩm chứa tỷ lệ hoặc tỷ lệ phần trăm chất đồng phân đối ảnh (-) lớn hơn so với chất đồng phân đối ảnh (+), tỷ lệ phần trăm này là dựa trên tổng lượng hỗn hợp. Theo một phương án, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít nhất 60% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 40% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn. Theo một phương án ưu tiên, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít nhất 70% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 30% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn. Theo một phương án khác, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít nhất 80% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 20% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn. Ngoài ra, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít nhất 90% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 10% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn. Thậm chí ngoài ra, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít nhất 95% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 5% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn. Hơn nữa, thuật ngữ “gần như không chứa chất đồng phân đối ảnh (+) của nó” nghĩa là chế phẩm chứa ít ít nhất 99% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (-), và 1% khối lượng chất đồng phân đối ảnh (+) hoặc thấp hơn.

Công thức I trên đây được thể hiện không cùng với hóa học lập thể xác định ở các vị trí nhất định. Sáng chế bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể của công thức I và muối được dụng của nó. Ngoài ra, hỗn hợp các chất đồng phân lập thể cũng như các chất đồng phân lập thể được tách riêng cụ thể cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Trong quá

trình tổng hợp được sử dụng để điều chế các hợp chất như vậy, hoặc trong khi sử dụng các quy trình raxemic hóa hoặc epime hóa đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực, các sản phẩm của quy trình như vậy có thể là hỗn hợp các chất đồng phân lập thể.

Khi chất đồng phân hỗn biến của hợp chất có công thức I tồn tại, sáng chế bao gồm các chất đồng phân hỗn biến có thể có bất kỳ và muối dược dụng của chúng, và hỗn hợp của chúng, trừ khi được chỉ định cụ thể khác.

Khi hợp chất có công thức I và muối dược dụng của nó tồn tại dưới dạng solvat hoặc dạng đa hình, sáng chế bao gồm các solvat và dạng đa hình có thể có bất kỳ. Loại dung môi tạo solvat không bị giới hạn cụ thể miễn là dung môi này là dược dụng. Ví dụ, có thể sử dụng nước, etanol, propanol, axeton hoặc dung môi tương tự.

Thuật ngữ "chế phẩm" ở đây nghĩa là bao gồm các sản phẩm chứa lượng cụ thể của các thành phần cụ thể, cũng như sản phẩm bất kỳ được tạo ra, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ việc kết hợp cụ thể các thành phần cụ thể. Do đó, dược phẩm chứa các hợp chất theo sáng chế làm thành phần hoạt tính và phương pháp điều chế các hợp chất theo sáng chế cũng thuộc phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, một số dạng tinh thể của hợp chất có thể tồn tại ở dạng đa hình, và các dạng đa hình như vậy thuộc phạm vi của sáng chế. Ngoài ra, một số hợp chất có thể tạo solvat với nước (tức là, hydrat) hoặc các dung môi hữu cơ phổ biến, và các solvat như vậy cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các dược phẩm theo sáng chế chứa hợp chất có công thức I (hoặc muối dược dụng của nó) làm thành phần hoạt tính, chất mang dược dụng và tùy ý các thành phần hoặc chất phụ trợ điều trị khác. Các chế phẩm bao gồm chế phẩm thích hợp để dùng đường miệng, đường trực tràng, dùng khi trú, và dùng ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dưới da, trong bắp, và trong tĩnh mạch), mặc dù đường dùng thích hợp nhất trong trường hợp nhất định bất kỳ sẽ phụ thuộc vào vật chủ cụ thể, và bản chất và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh trong đó hoạt chất cần được sử dụng. Các dược phẩm có thể được trình bày một cách thuận tiện ở dạng liều đơn vị và được bào chế theo phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược.

Khi thực hành, các hợp chất có công thức I, hoặc tiền dược chất, hoặc chất chuyển hóa, hoặc muối dược dụng của nó, theo sáng chế có thể được kết hợp làm thành phần hoạt tính trong hỗn hợp trộn kỹ với chất mang dược dụng theo các kỹ thuật bào chế dược phẩm thông thường. Chất mang có thể có nhiều dạng khác nhau tùy thuộc vào dạng bào chế mong muốn để sử dụng, ví dụ, dùng đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (bao gồm trong tĩnh mạch). Do đó, các dược phẩm theo sáng chế có thể được trình bày ở dạng đơn vị riêng rẽ thích hợp để dùng đường miệng như viên nang, viên nhộng hoặc viên nén mỗi loại chứa lượng xác định thành phần hoạt tính. Ngoài ra, các chế phẩm có thể được trình bày ở dạng bột, hạt mịn, dung dịch, hỗn dịch trong dung dịch nước, dạng lỏng không chứa nước, hoặc dạng nhũ dịch dầu trong nước, hoặc dạng nhũ dịch nước trong dầu. Ngoài các dạng liều thông thường nêu trên, hợp chất có công thức I, hoặc muối dược dụng của nó, cũng có thể được sử dụng bằng các phương tiện giải phóng có kiểm soát và/hoặc hoặc dụng cụ phân phối. Các chế phẩm này có thể được bào chế bằng phương pháp bào chế dược phẩm bất kỳ. Nói chung, các phương pháp như vậy bao gồm bước kết hợp thành phần hoạt tính với tạo thành một hoặc nhiều thành phần cần thiết. Nói chung, các chế phẩm này được bào chế bằng cách phối trộn đều và trộn kỹ thành phần hoạt tính với chất mang lỏng hoặc chất mang rắn nghiền mịn hoặc cả hai. Sản phẩm sau đó có thể được tạo hình một cách thuận tiện thành dạng trình bày mong muốn.

Do đó, các dược phẩm theo sáng chế có thể chứa chất mang dược dụng và hợp chất, chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hỗ biến, dạng đa hình, solvat, muối dược dụng, hoặc tiền dược chất của hợp chất có công thức I. Các hợp chất có công thức I, hoặc muối dược dụng của chúng, cũng có thể được đưa vào dược phẩm kết hợp với một hoặc nhiều hoạt chất điều trị khác.

Chất mang dược dụng được sử dụng có thể là, ví dụ, chất rắn, chất lỏng, hoặc chất khí. Ví dụ về các chất mang rắn bao gồm chẳng hạn lactoza, terra alba, sucroza, talc, gelatin, aga, pectin, acaxia, magie stearat, và axit stearic. Ví dụ về các chất mang lỏng bao gồm chẳng hạn sirô đường, dầu lạc, dầu ôliu, và nước. Ví dụ về các chất mang khi bao gồm chẳng hạn cacbon dioxit và nitơ. Khi bào chế các chế phẩm thành dạng liều dùng qua đường miệng, có thể sử dụng môi trường dược dụng thuận tiện bất kỳ. Ví dụ, nước, các glycol, dầu, rượu, chất tạo hương vị, chất bảo quản, chất tạo màu, và các chất tương tự có thể được sử dụng để tạo ra chế phẩm lỏng dùng qua đường miệng như hỗn

dịch, cồn ngọt và dung dịch; trong khi các chất mang như tinh bột, đường, xenluloza vi tinh thể, chất pha loãng, chất kết hạt, chất làm trơn, chất kết dính, chất gây rã, và các chất tương tự có thể được sử dụng để tạo ra các dạng bào chế rắn dùng đường miệng như bột, viên nang và viên nén. Nhờ khả năng dễ dàng sử dụng của chúng, viên nén và viên nang là các đơn vị liều dùng qua đường miệng được ưu tiên trong đó các chất mang rắn được sử dụng. Tùy ý, viên nén có thể được bao bằng các kỹ thuật sử dụng nước hoặc không sử dụng nước chuẩn.

Viên nén chứa chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách ép hoặc đúc, tùy ý với một hoặc nhiều thành phần phụ trợ hoặc chất phụ trợ. Các viên nén được ép có thể được bào chế bằng cách ép, trong máy thích hợp, thành phần hoạt tính ở dạng chảy tự do như bột hoặc hạt mịn, tùy ý được trộn với chất kết dính, chất làm trơn, chất pha loãng trợ, chất hoạt động bề mặt hoặc chất phân tán. Các viên nén được đúc có thể được bào chế bằng cách đúc trong máy thích hợp, hỗn hợp bột đã nghiền được làm ẩm bằng chất pha loãng lỏng trợ. Tốt hơn nếu mỗi viên nén chứa từ khoảng 0,05mg đến khoảng 5g thành phần hoạt tính và tốt hơn nếu mỗi viên nhộng hoặc viên nang chứa từ khoảng 0,05mg đến khoảng 5g thành phần hoạt tính. Ví dụ, dạng bào chế được dự định để dùng đường miệng cho người có thể chứa từ khoảng 0,5mg đến khoảng 5g hoạt chất, được bào chế với lượng nguyên liệu mang thích hợp và thuận tiện mà có thể thay đổi trong khoảng từ khoảng 5 đến khoảng 95 phần trăm tổng lượng chế phẩm. Các dạng liều đơn vị sẽ thường chứa từ khoảng 1 mg đến khoảng 2g thành phần hoạt tính, thường là 25mg, 50mg, 100mg, 200mg, 300mg, 400mg, 500mg, 600mg, 800mg, hoặc 1000mg.

Các dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa có thể được bào chế dưới dạng dung dịch hoặc hỗn dịch chứa hoạt chất trong nước. Chất hoạt động bề mặt thích hợp có thể được đưa vào như, ví dụ, hydroxypropylxenluloza. Các thể phân tán cũng có thể được điều chế trong glyxerol, các polyetylen glycol lỏng, và hỗn hợp của chúng trong dầu. Ngoài ra, chất bảo quản có thể được đưa vào để ngăn ngừa sự phát triển có hại của các vi sinh vật.

Các dược phẩm theo sáng chế thích hợp để tiêm bao gồm các dung dịch hoặc thể phân tán chứa nước vô trùng. Hơn nữa, các chế phẩm này có thể ở dạng bột vô trùng để pha chế ngay các dung dịch hoặc thể phân tán tiêm được vô trùng như vậy. Trong mọi trường hợp, dạng tiêm được cuối cùng phải vô trùng và phải ở dạng lỏng thực sự để dễ

dàng tiêm được. Các dược phẩm này phải ổn định trong các điều kiện sản xuất và bảo quản; do đó, tốt hơn là cần được bảo quản chống lại sự nhiễm vi sinh vật như vi khuẩn và nấm. Chất mang có thể là dung môi hoặc môi trường phân tán bao gồm, ví dụ, nước, etanol, polyol (ví dụ, glyxerol, propylen glycol và polyetylen glycol lỏng), dầu thực vật, và hỗn hợp thích hợp của chúng.

Các dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng thích hợp để dùng khu trú như, ví dụ, sol khí, kem, thuốc mỡ, thuốc xức, bột mịn, hoặc dạng tương tự. Hơn nữa, các chế phẩm này có thể ở dạng thích hợp để dùng trong các dụng cụ qua da. Các dạng bào chế này có thể được bào chế, bằng cách sử dụng hợp chất có công thức I theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó, thông qua các phương pháp xử lý thông thường. Chẳng hạn, kem hoặc thuốc mỡ được bào chế bằng cách phối trộn nguyên liệu ưa nước và nước, cùng với khoảng từ 5% khối lượng đến khoảng 10% khối lượng hợp chất, để tạo ra kem hoặc thuốc mỡ có độ quánh mong muốn.

Dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng thích hợp để dùng đường trực tràng trong đó chất mang là chất rắn. Tốt hơn nếu hỗn hợp tạo ra thuốc đạn dạng liều đơn vị. Các chất mang thích hợp bao gồm bơ cacao và các nguyên liệu khác thường dùng trong lĩnh vực này. Các thuốc đạn có thể được tạo ra một cách thuận tiện bằng cách phối trộn chế phẩm trước với (các) chất mang đã làm mềm hoặc làm tan chảy sau đó làm lạnh và tạo hình trong khuôn.

Ngoài các thành phần chất mang nêu trên, các dược phẩm được mô tả trên đây có thể bao gồm, nếu thích hợp, một hoặc nhiều thành phần chất mang khác như chất pha loãng, chất đệm, chất tạo hương vị, chất kết dính, chất hoạt động bề mặt, chất độn, chất làm trơn, chất bảo quản (bao gồm các chất chống oxy hóa) và các chất tương tự. Hơn nữa, các chất phụ trợ khác có thể được đưa vào để làm cho dạng bào chế này đáng tương so với máu của đối tượng nhận được dự định. Các chế phẩm chứa hợp chất có công thức I, hoặc muối dược dụng của nó, cũng có thể được bào chế ở dạng bột hoặc dung dịch lỏng đặc.

Nói chung, các mức liều theo trật tự từ khoảng 0,01mg/kg đến khoảng 150mg/kg thể trọng mỗi ngày là hữu dụng trong việc điều trị các tình trạng được chỉ định trên đây, hoặc theo cách khác khoảng 0,5mg đến khoảng 7g trên mỗi bệnh nhân trong một ngày. Ví dụ, bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư trực tràng, u lympho tế bào lớp vỏ, đa u tủy,

bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, u nguyên bào thần kinh đệm, bệnh ung thư thực quản tế bào vảy, sarcom mỡ, u lympho tế bào T, u hắc tố, bệnh ung thư tụy, u nguyên bào thần kinh đệm hoặc bệnh ung thư phổi, có thể điều trị được một cách hữu hiệu bằng cách sử dụng từ khoảng 0,01 đến 50mg hợp chất trên một kilogram thể trọng trong một ngày, hoặc theo cách khác từ khoảng 0,5mg đến khoảng 3,5g trên mỗi bệnh nhân trong một ngày.

Tuy nhiên, cần hiểu rằng có thể cần liều thấp hơn hoặc cao hơn so với các mức liều nêu trên. Mức liều và chế độ điều trị cụ thể đối với đối tượng cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau, bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được sử dụng, độ tuổi, thể trọng, sức khỏe chung, giới tính, chế độ dinh dưỡng, thời gian sử dụng, đường dùng, tỷ lệ bài tiết, kết hợp thuốc, mức độ nghiêm trọng và khóa điều trị bệnh cụ thể đang thực hiện, khuynh hướng của đối tượng đối với bệnh, và đánh giá của bác sĩ điều trị.

Những khía cạnh này và cả những khía cạnh khác sẽ trở nên rõ ràng từ phần mô tả sáng chế sau đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Cần hiểu rằng phần mô tả chung trên đây và phần mô tả chi tiết sau đây chỉ nhằm minh họa và giải thích và không giới hạn đối tượng bất kỳ được yêu cầu bảo hộ. Tất cả các phần và tỷ lệ phần trăm là theo khối lượng và tất cả các nhiệt độ đều là độ C (Celsius), trừ khi được chỉ định rõ ràng khác. Các hợp chất được mô tả ở đây có thể thu được từ nguồn thương mại hoặc tổng hợp bằng các phương pháp thông thường như được thể hiện sau đây bằng các nguyên liệu và chất phản ứng có bán trên thị trường. Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng trong các ví dụ:

ATP: Adenosin triphosphat;

Boc₂O: Di-tert-butyl dicacbonat;

con-H₂SO₄: axit sulfuric đặc;

Crk: CT10 (Chicken Tumor Retrovirus 10 – Retrovirut khối u ở gà 10);

DCM: diclometan;

DEA: Diethylamin;

DEAD: Diethyl azodicarboxylat;

DIEA: N,N-Diisopropyletylamin;

DMEM: môi trường Modified Eagle của Dulbecco;

DMF: N,N-Dimetylformamit;

DMA: N,N-Dimetyloxetamit;

DMAP: 4-N,N-Dimetylamipyridin;

DMSO: Dimetyl sulfoxit;

DTT: DL-Dithiothreitol;

EA: Etyl axetat;

EDC: 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimide;

EDTA: axit etylenediamin tetraaxetic;

EtOH: rượu etylic;

FBS: huyết thanh thai bò;

GSR: Glutathion-S-Transferaza;

HATU: O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluron hexafluorophosphat;

HEPES: axit 4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-etansulfonic;

Hex: n-hexan;

h hoặc hr: giờ;

IPA: isopropanol

KOAc: kali axetat;

KTB: kali tert-butoxit;

MeOH: metanol;

min: phút;

MsCl: metylsulfonyl clorua;

MTS: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazoli;

NaBH₄: natri bohýdrua;

NaBH(OAc)₃: Natri triaxetoxýbohýdrua;

P(Cy)₃: Trixyclohexyl fosphín;

Pd₂(dba)₃: Tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi

Pd(dppf)Cl₂: [1,1'-Bis(diphenylphosphino)feroxen]diclopaladi;

Pd(OAc)₂: Paladi axetat;

PE: ete dáu mỡ;

PMS: phenazín methosulfat;

POCl₃: phospho oxýclorua;

P/S: dung dịch Penixilin/Streptomýxin;

RT hoặc rt: nhiệt độ trong phòng;

SDS: Natri Dodexyl Sulfat;

SDS-PAGE: gel điện di Natri Dodexyl Sulfat PolyAcrylamit;

TBAB: Tetrabutyl amoni bromua;

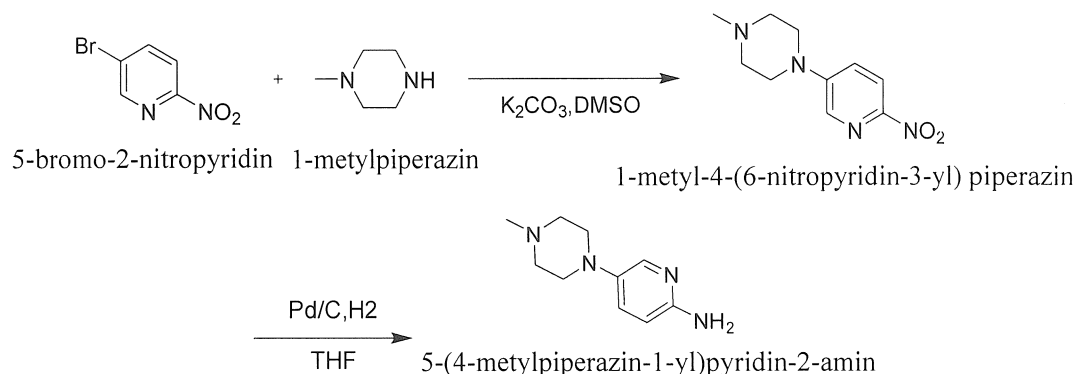
TEA: Trietylamin;

THF: tetrahydrofuran;

TLC: Sắc ký lớp mỏng;

Tol: Toluén.

Điều chế 1: 5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-amin (Hợp chất trung gian M1)



Bổ sung lần lượt 1-methylpiperazin (1,180g) và K_2CO_3 (2,720g) vào dung dịch chứa 5-bromo- 2-nitropyridin (2,010g) trong DMSO (20mL). Khuấy phản ứng ở 82°C trong 15 giờ trong bể dầu. Bổ sung nước (50mL), chiết bằng DCM (20mL $\times$ 8), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc dưới áp suất giảm, tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 1,940g 1-methyl-4-(6-nitropyridin-3-yl)piperazin.

Bổ sung Pd/C (0,194g) vào dung dịch chứa 1-methyl-4-(6-nitropyridin-3-yl) piperazin (1,940g) trong THF (25mL) trong môi trường hydro trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc và sau đó cô đặc để tạo ra 1,480g 5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-amin.

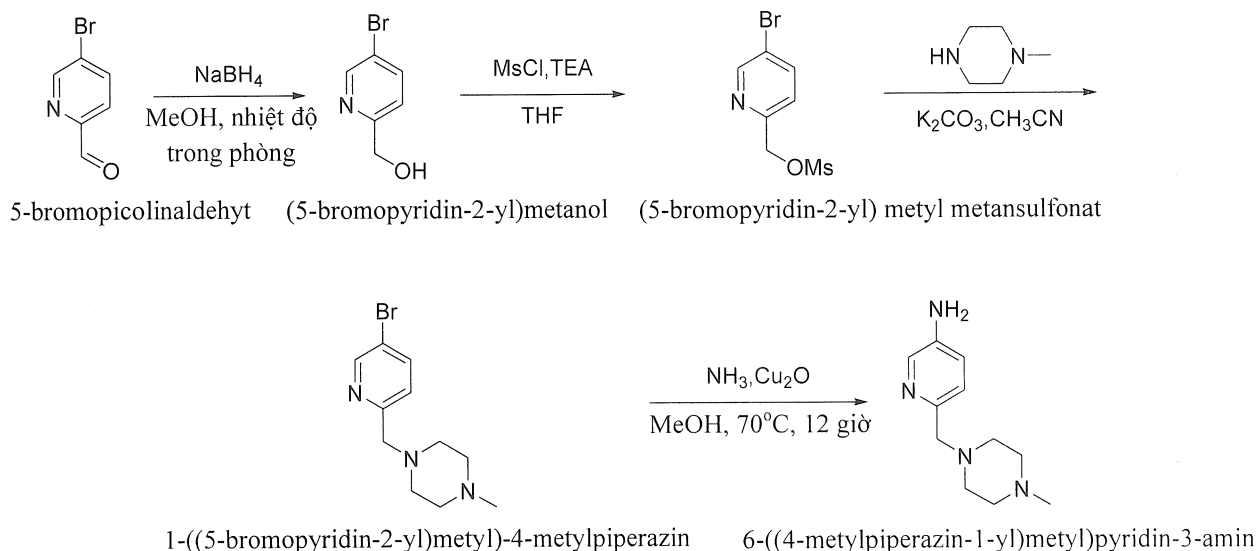
MS(ES^+):m/z=193,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Điều chế các hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trên bảng 1) chủ yếu như được mô tả đối với hợp chất 5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-amin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M1) bằng cách sử dụng dẫn xuất piperazin tương ứng.

Bảng 1

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) ($\text{M}+\text{H}$) $^+$
M2	5-(piperazin-1-yl)pyridin-2-amin		179,1
M3	2-(4-(6-aminopyridin-3-yl) piperazin-1-yl)ethan-1-ol		223,1

Điều chế 4: 6-((4-metylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-3-amin (Hợp chất trung gian M4)



Bổ sung NaBH_4 (1,220g) vào dung dịch chứa 5-bromopicolinaldehyt (2,010g) trong MeOH (30mL) ở 0°C trong bể nước đá, sau khi việc bổ sung NaBH_4 hoàn thành, loại bỏ bể nước đá, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được ngừng phản ứng bằng nước (50mL) ở 0°C . Chiết bằng EA (50mL $\times$ 2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc để tạo ra 1,940g hợp chất (5-bromopyridin-2-yl) metanol.

Dung dịch chứa (5-bromopyridin-2-yl)metanol (1,940g) trong THF (20mL) được làm mát đến 0°C trong bể nước đá, sau đó bổ sung metylsufonyl clorua (1,780g) từng giọt vào dung dịch này. Sau khi việc bổ sung metylsufonyl clorua hoàn thành, loại bỏ bể nước đá, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được ngừng phản ứng bằng nước (50mL). Chiết bằng EA (50mL $\times$ 2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (50mL) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc để tạo ra 2,750g sản phẩm thô (5-bromopyridin-2-yl) metyl metansulfonat.

Bổ sung lần lượt K_2CO_3 (2,870g) và 1-metylpiperazin (1,560g) vào dung dịch chứa (5-bromopyridin-2-yl) metyl metansulfonat (2,750g) trong axetonitril (30mL), đun nóng đến 50°C trong bể dầu và cho phản ứng trong 2 giờ. Sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng, bổ sung nước, chiết bằng EA (50mL $\times$ 3), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (50mL) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc

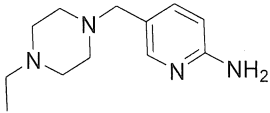
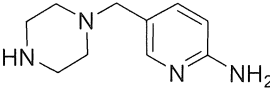
và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 2,010g hợp chất 1-((5-bromopyridin-2-yl)methyl)-4-methylpiperazin.

Bổ sung MeOH (20mL) vào ống 100mL bịt kín trong môi trường amoniac ở -78°C , sau đó bổ sung lần lượt 1-((5-bromopyridin-2-yl)methyl)-4-methylpiperazin (1,000g) và đồng (I) oxit (0,532g) đến khi thể tích dung dịch tăng đến 30mL. Loại bỏ bề bên ngoài, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng, sau đó đun nóng đến 70°C và cho phản ứng trong 12 giờ. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=15/1) để tạo ra 0,730g hợp chất 6-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-3-amin.

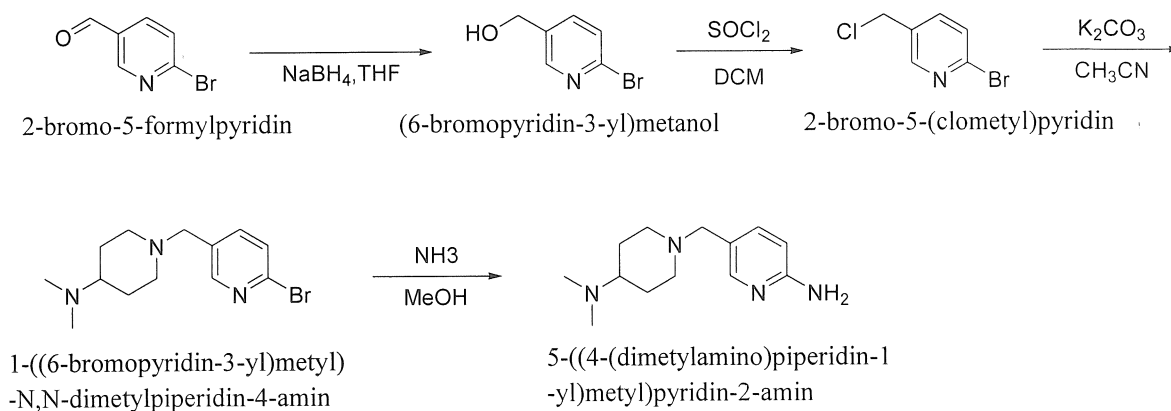
MS(ES^+):m/z=207,2(M+H) $^+$.

Điều chế các hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 2) chủ yếu như được mô tả đối với hợp chất 6-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-3-amin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M4) bằng cách sử dụng dẫn xuất piperazin tương ứng.

Bảng 2

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) $^+$
M5	5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-amin		221,2
M6	5-(piperazin-1-ylmethyl)pyridin-2-amin		193,1

Điều chế 7: 5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)metyl)pyridin-2-amin (Hợp chất trung gian M7)



Bổ sung NaBH_4 (1,640g) vào dung dịch chứa 2-bromo-5-formylpyridin (2,010g) trong THF (20mL) ở 0°C trong bể nước đá, sau khi việc bổ sung NaBH_4 hoàn thành, loại bỏ bể nước đá, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được ngừng phản ứng bằng nước (50mL), chiết bằng EA (50mL $\times$ 2), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=5/1) để tạo ra 1,900g hợp chất (6-bromopyridin-3-yl) metanol.

Dung dịch chứa (6-bromopyridin-3-yl)metanol (1,000g) trong DCM (10mL) được làm mát đến 0°C trong bể nước đá và bổ sung từng giọt vào thionyl clorua (1,260g), sau khi việc bổ sung hoàn thành, loại bỏ bể nước đá, dung dịch này được làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng có khuấy trong 2 giờ, sau đó cô đặc trực tiếp để tạo ra 1,050g hợp chất 2-bromo-5-(clometyl)pyridin.

Bổ sung *N,N*-Dimethylpiperidin-4-amin (0,586g) và K_2CO_3 (1,160g) vào dung dịch chứa 2-bromo-5-(clometyl)pyridin (0,853g) trong axetonitril (10mL). Bổ sung nước (30mL), chiết bằng EA (50mL $\times$ 3), pha hữu cơ kết hợp làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 0,730g hợp chất 1-((6-bromopyridin-3-yl)metyl) -*N,N*-dimethylpiperidin-4-amin.

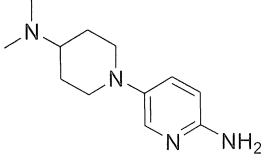
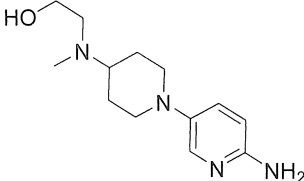
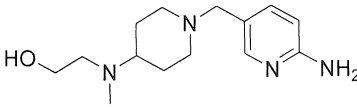
Bổ sung MeOH (20mL) vào ống 100ml đầy kín trong môi trường amoniac ở -78°C , sau đó bổ sung lần lượt 1-((6-bromopyridin-3-yl)metyl)-*N,N*-dimethylpiperidin-4-amin (0,35mg) và đồng II oxit (0,168g) đến khi thể tích dung dịch tăng đến 30mL. Loại bỏ bể bên ngoài, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng, sau

đó đun nóng đến 70°C và cho phản ứng trong 12 giờ. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 0,260g hợp chất 5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridin- 2-amin.

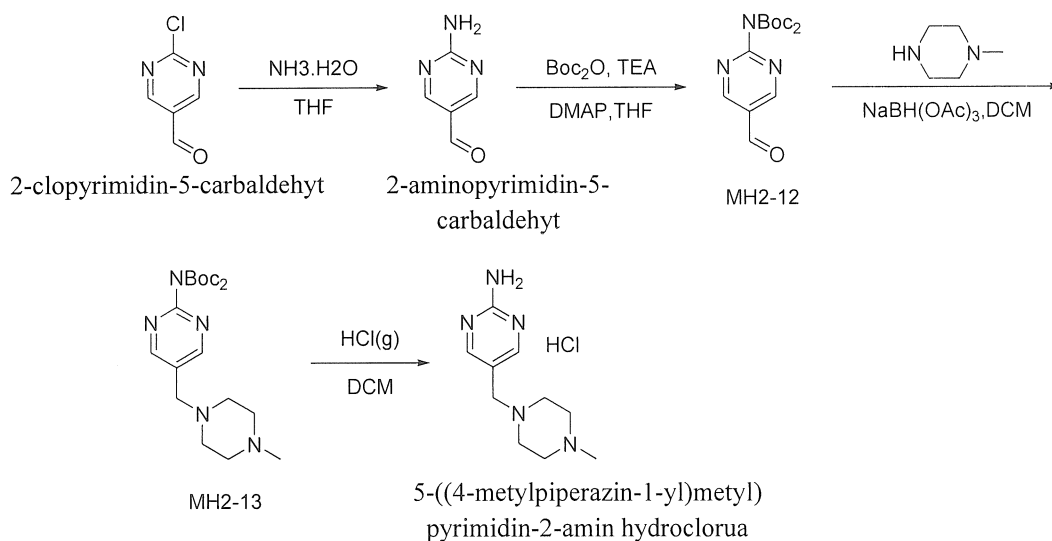
MS(ES⁺):m/z=235,2(M+H)⁺.

Điều chế các hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 3) chủ yếu như được mô tả đối với 5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridin-2-amin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M7) sử dụng dẫn xuất piperidin tương ứng.

Bảng 3

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
M8	5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-amin		221,3
M9	2-((1-(6-aminopyridin-3-yl)piperidin-4-yl)(methylamino)etan-1-ol		251,2
M10	2-(((1-((6-aminopyridin-3-yl)methyl)piperidin-4-yl)(methylamino)etan-1-ol		265,2

Điều chế 11: 5-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-amin hydroclorua (Hợp chất trung gian M11)



Bổ sung dung dịch nước amoniac (25%) (1,200g) vào dung dịch chứa 2-clopyrimidin-5-carbaldehyt (0,500g) trong THF (50mL), khuấy trong 12 giờ. Bổ sung nước (80mL), chiết bằng DCM (80mL×8), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc để tạo ra 0,540g sản phẩm thô 2-aminopyrimidin-5-carbaldehyt.

Bổ sung lần lượt Boc_2O (2,817g), trietylamin (1,310g) và DMAP (0,054g) vào dung dịch chứa 2-aminopyrimidin-5-carbaldehyt (0,540g) trong THF (30mL) có khuấy trong 2 giờ. Bổ sung nước, chiết bằng EA (50mL×2), pha hữu cơ kết hợp làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=5/1) để tạo ra 0,514g hợp chất MH2-12.

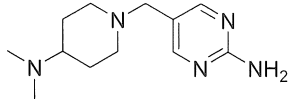
Bổ sung lần lượt 1-methylpiperazin (0,109g) và magie sulfat khan (0,216g) vào dung dịch chứa hợp chất MH2-12 (0,290g) trong DCM (10mL) có khuấy trong 2 giờ, sau đó cho phản ứng trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng sau khi bổ sung natri triaxetoxibohydrua, hỗn hợp phản ứng được ngừng phản ứng bằng nước (20mL), chiết bằng DCM (20mL×3), pha hữu cơ kết hợp làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 0,350g hợp chất MH2-13.

Dung dịch chứa hợp chất MH2-13(0,350g) trong DCM được cho phản ứng trong 2 giờ trong môi trường khí axit clohydric ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc để tạo ra 0,210g hợp chất 5-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-amin hydroclorua.

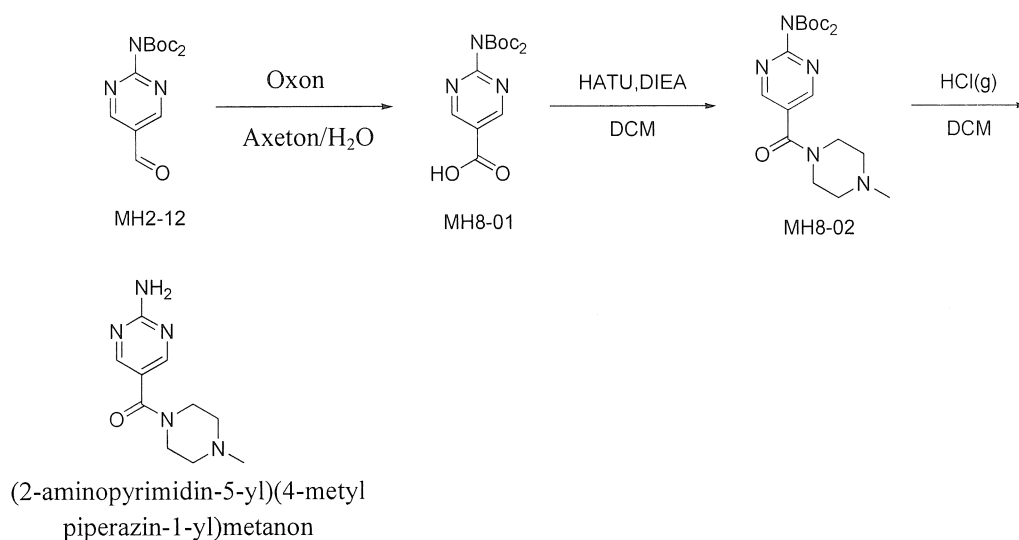
MS(ES⁺):m/z=244,1 (M+H)⁺.

Điều chế hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 4) chủ yếu như được mô tả đối với hợp chất 5-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-amin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M11) hydroclorua sử dụng dẫn xuất piperidin tương ứng thay cho dẫn xuất piperazin.

Bảng 4

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
M12	5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-amin		236,2

Điều chế 13: (2-aminopyrimidin-5-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)metanon (Hợp chất trung gian M13)



Bổ sung oxon (1,810g) vào hỗn hợp chứa hợp chất MH2-12 (0,315g) trong axeton (10mL) và nước (3mL) có khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nước (20mL), chiết bằng DCM (25mL×3), pha hữu cơ kết hợp làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc để tạo ra 0,290g hợp chất MH8-01.

Bổ sung lần lượt HATU (0,488g) và DIEA (0,221g) vào dung dịch chứa hợp chất MH8-01 (0,290g) trong DCM (10mL) có khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch này được cho phản ứng trong 2 giờ sau khi bổ sung 1-methylpiperazin

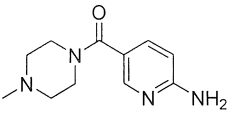
(0,105g) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nước (20mL), chiết bằng DCM (20mL×3), pha hữu cơ kết hợp làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=50/1) để tạo ra 0,250g hợp chất MH8-02.

Dung dịch chứa hợp chất MH8-02 (0,150g) trong DCM (10mL) được cho phản ứng trong 2 giờ trong môi trường khí axit clohydric ở nhiệt độ trong phòng, bổ sung nước (10mL), sau đó điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na₂CO₃, dung dịch nước thu được được chiết bằng dung môi hỗn hợp (DCM/MeOH=10/1) (20mL×5). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc để tạo ra 0,060g hợp chất (2-aminopyrimidin-5-yl)(4-metylpiperazin-1-yl)metanon.

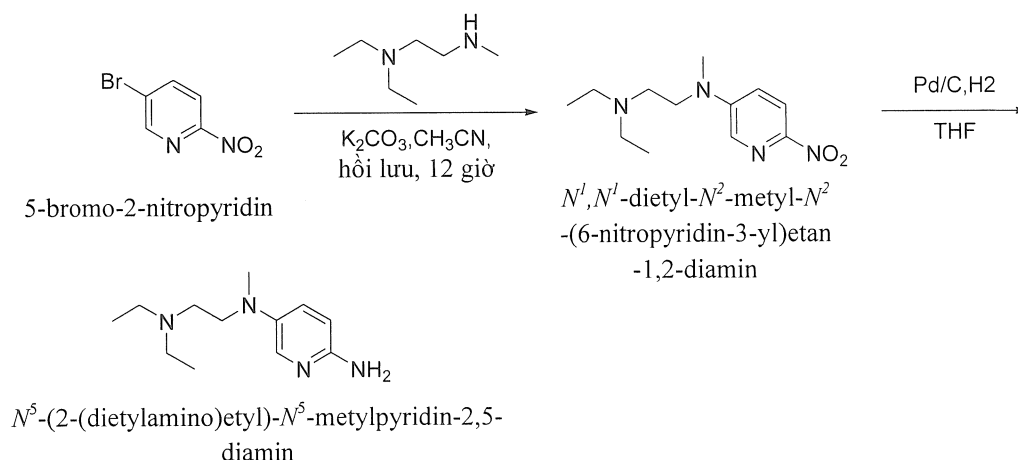
MS(ES⁺):m/z=223,1(M+H)⁺.

Điều chế hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 5) chủ yếu như được mô tả đối với (2-aminopyrimidin-5-yl)-(4-metylpiperazin-1-yl)metanon (sau đây gọi là hợp chất trung gian M13) bằng cách sử dụng dẫn xuất pyridin tương ứng thay cho dẫn xuất pyrimidin.

Bảng 5

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
M14	(6-aminopyridin-3-yl)(4-metylpiperazin-1-yl)metanon		221,1

Điều chế 15: N^5 -(2-(diethylamino)ethyl)- N^5 -methylpyridin-2,5-diamin (Hợp chất trung gian M15)



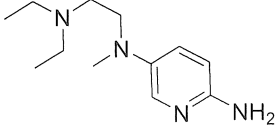
Bổ sung lần lượt N,N -diethyl- N' -metyletylendiamin (0,305g) và K_2CO_3 (0,679g) vào dung dịch chứa 2-nitro-5-bromopyridin (0,500g) trong axetonitril (10mL). Khuấy phản ứng ở $82^\circ C$ trong 15 giờ trong bể dầu. Bổ sung nước (50mL), chiết bằng DCM (80mL $\times$ 3), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 0,400g hợp chất 1-metyl-4-(6-nitropyridin-3-yl)-piperazin.

Bổ sung Pd/C (0,040g) vào dung dịch chứa hợp chất 1-metyl-4-(6-nitropyridin-3-yl)piperazin trong THF (15mL) có khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường khí hydro. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc và sau đó cô đặc để tạo ra 0,350g hợp chất N^5 -(2-(diethylamino)ethyl)- N^5 -methylpyridin-2,5-diamin.

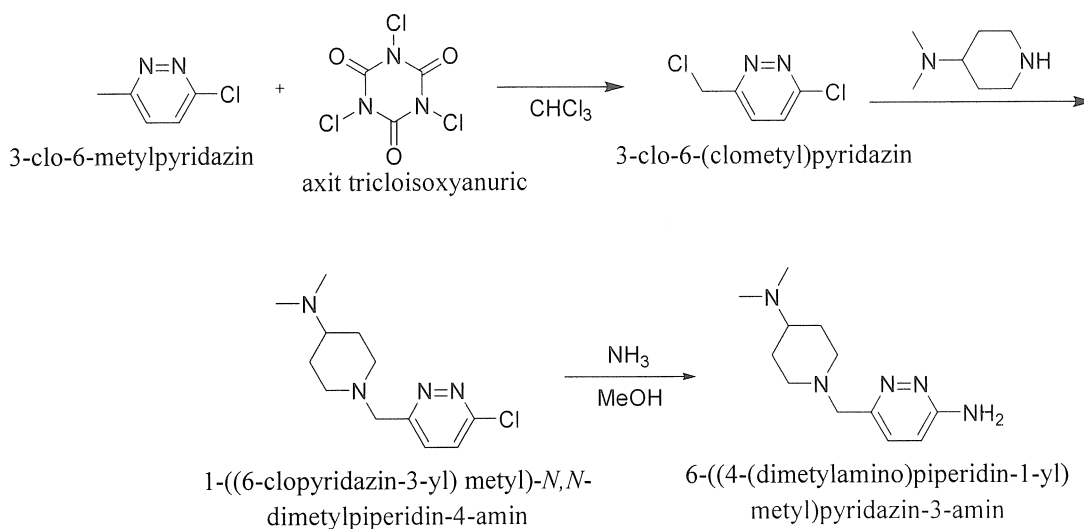
MS(ES^+):m/z=223,2(M+H) $^+$.

Điều chế hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 6) chủ yếu như được mô tả đối với hợp chất N^5 -(2-(diethylamino)ethyl)- N^5 -methylpyridin-2,5-diamin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M15) bằng cách sử dụng hợp chất N^1,N^1 -diethyl- N^2,N^2 -dimetyletan-1,2-diamin thay cho hợp chất N,N -Diethyl- N' -metyletylendiamin.

Bảng 6

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
M16	<i>N</i> ⁵ -(2-(diethylamino)etyl)- <i>N</i> ⁵ -metylpyridin-2,5-diamin		223,2

Điều chế 17: 6-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)metyl)pyridazin-3-amin (Hợp chất trung gian M17)



Bổ sung axit tricloisoxyanuric (0,189g) vào dung dịch chứa 3-clo-6-metylpyridazin (0,208g) trong CHCl_3 (10mL), đun nóng đến 60°C trong 12 giờ trong bể dầu. Làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=10/1) để tạo ra 0,201g hợp chất 3-clo-6-(clometyl)pyridazin.

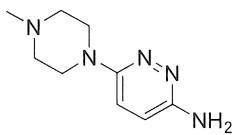
Bổ sung lần lượt K_2CO_3 (0,578g), KI (0,070g) và *N,N*-Dimetylpiiperidin-4-amin (0,322g) vào dung dịch chứa 3-clo-6-(clometyl)pyridazin (0,340g) trong DMF (15mL), đun nóng đến 50°C trong 1 giờ trong bể dầu. Làm mát đến nhiệt độ trong phòng, bổ sung DCM (50mL), rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng dung dịch NaCl bão hòa và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=10/1) để tạo ra 0,370g hợp chất 1-((6-clopyridazin-3-yl)metyl)-*N,N*- dimetylpiiperidin-4-amin.

Bổ sung MeOH (20mL) vào ống 100ml đầy kín trong môi trường amoniac ở -78°C, sau đó bổ sung lần lượt hợp chất 1-((6-clopyridazin-3-yl)methyl)-*N,N*-dimethylpiperidin-4-amin (0,370g) và đồng II oxit (0,532g) đến khi thể tích dung dịch tăng đến 30mL. Loại bỏ bể bên ngoài, làm ấm tự nhiên đến nhiệt độ trong phòng, sau đó đun nóng đến 70°C và cho phản ứng trong 12 giờ. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=15/1) để tạo ra 0,230g hợp chất 6-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridazin-3-amin.

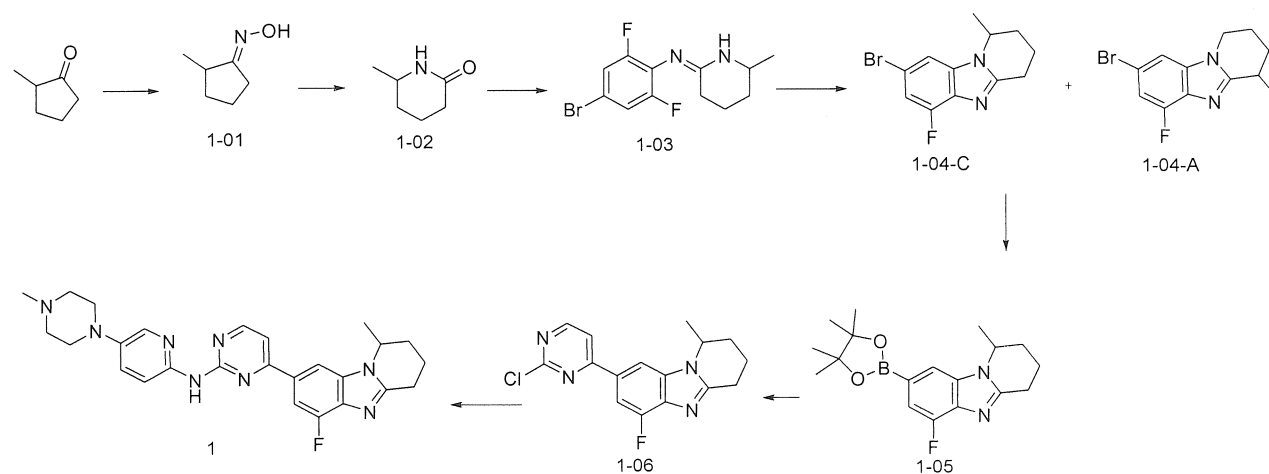
MS(ES⁺):m/z=236,2(M+H)⁺.

Điều chế hợp chất trung gian sau đây (được thể hiện trong bảng 7) chủ yếu như được mô tả đối với hợp chất 6-((4-(dimethylamino) piperidin-1-yl)methyl)pyridazin-3-amin (sau đây gọi là hợp chất trung gian M17) bằng cách sử dụng dẫn xuất piperazin thay cho dẫn xuất piperidin.

Bảng 7

Hợp chất trung gian	Hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
M18	6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridazin-3-amin		194,1

Ví dụ 1: Tổng hợp hợp chất 1



1. Hợp chất 1-01

Hỗn hợp chứa hợp chất 2-methylcyclopentanone (5,200g), hydroxylamine hydrochloride (9,200g) và triethylamine (16,080g) trong ethanol khan (70mL) được khuấy ở 85°C qua đêm trong bể dầu. Sau đó, dung dịch phản ứng được cô đặc; phần cặn được rửa bằng EA. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc và sau đó cô đặc để tạo ra 5,820g hợp chất thô 1-01.

2. Hợp chất 1-02

Hợp chất thô 1-01 (5,820g) được hòa tan trong dung dịch axit sulfuric (con-H₂SO₄: H₂O=20mL:5mL), hỗn hợp thu được được khuấy ở 90°C trong bể dầu trong 90 phút, nước (10mL) được bổ sung vào, sau đó điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na₂CO₃, dung dịch nước thu được được chiết bằng DCM (20mL×5), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 4,110g hợp chất thô 1-02.

3. Hợp chất 1-03

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-02 (4,110g) và 4-bromo-2,6-difluoroaniline (3,780g) trong methylbenzene (40mL) được bổ sung POCl₃ (4,180g) và đun nóng trong bể dầu, TEA (2,770g) được bổ sung vào khi nhiệt độ được tăng đến 110°C, hỗn hợp thu được được cho phản ứng ở 110°C trong 20 phút. Một phần methylbenzene được lấy ra, sau đó điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na₂CO₃, chiết bằng EA, pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 6,550g hợp chất thô 1-03.

4. Hợp chất 1-04

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-03 (6,100g) và kali tert-butoxide (4,520g) trong DMF (60mL) được khuấy ở 100°C trong 20 phút trong bể dầu và sau đó chiết bằng 300mL EA, pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (120mL×3) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=1/5) để tạo ra 0,705g hợp chất 1-04-A, và 1,500g hợp chất thô 1-04-C.

5. Hợp chất 1-05

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-04-C (0,957g), bis(pinacolato)diboron (1,290g), tricyclohexyl phosphine (0,047g), palladium acetate (0,038g) trong DMSO (20mL) được

khuấy trong môi trường nitơ trong 1 giờ ở 90°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EA (60mL), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (30mL×3) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 2,290g hợp chất thô 1-05.

6. Hợp chất 1-06

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-05 (2,290g), 2,4-diclopypyrimidin (0,755g), K₂CO₃ (1,400g) và Pd(dppf)Cl₂·DCM (0,138g) trong 1,4-dioxan (30mL) và nước (3mL) được khuấy trong môi trường nitơ trong 2 giờ ở 60°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EA (30mL×2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (30mL×1) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=1/1) để tạo ra 0,927g hợp chất 1-06.

7. Hợp chất 1

Hỗn hợp chứa hợp chất 1-06 (0,400g), hợp chất trung gian M1 (0,291g), Cs₂CO₃ (0,822g), Xanphos (0,017g) và Pd₂(dba)₃ (0,027g) trong 1,4-dioxan (12mL) được khuấy trong môi trường khí nitơ trong 1 giờ ở 110°C trong bể dầu, tiếp tục cho phản ứng trong điều kiện vi sóng trong 0,5 giờ ở 110°C. Hỗn hợp thu được được bổ sung nước (10mL), sau đó chiết bằng DCM (20mL×3), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (30mL×1) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH=20/1), chất rắn được rửa bằng metyl tert butyl ete (10mL) và n-hexan (10mL) để tạo ra 290mg hợp chất 1.

MS(ES⁺):m/z=473,2(M+H)⁺.

H-NMR(CDCl₃): δ8,498-8,511(d,1H,CH), 8,373-8,396(d,1H,CH), 8,167(s,1H,CH), 8,040-8,047(d,1H,CH), 7,963(s,1H,CH), 7,631-7,660 (d,1H,CH), 7,346-7,660(dd,1H,CH), 7,177-7,190(d,1H,CH), 4,687-4,719(m,1H,CH), 3,190-3,10(m,4H,CH₂), 2,651-2,675(m,4H,CH₂), 2,999-3,024(m,1H,CH₂), 2,403(s,3H,CH₃), 2,337-2,356(m,1H,CH₂), 2,267-2,357(m,1H,CH₂), 2,219-2,248(m,1H,CH₂), 2,010-2,056(m,2H,CH₂), 1,602-1,618(d,3H,CH₃).

Ví dụ 1-1: Tách bất đối hợp chất 1-06

Các kỹ thuật hữu dụng để tách các chất đồng phân, ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ và được mô tả

trong tài liệu Eliel, E.L.; Wilen, S.H.; Mander, L.N. *stereochemistry of Organic Compounds*, Wiley Interscience, NY, 1994. Ví dụ hợp chất 1, 2 hoặc 15 có thể được tách đến lượng dư chất đồng phân đối ảnh (enantiomeric excess) cao (ví dụ, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% hoặc cao hơn) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao bằng cách sử dụng cột bất đối. Theo một số phương án, hợp chất thô 1-06 theo ví dụ 1 được tinh chế trực tiếp trên cột bất đối để tạo ra hợp chất giàu chất đồng phân đối ảnh.

Các điều kiện HPLC bất đối:

Cột	CHIRALPAK IE
Kích thước cột	2cm *25cm
Bơm	0,7mL
Pha động	Hex: EtOH =65:35 (thể tích/thể tích)
Tốc độ dòng	19ml/phút
Bước sóng	UV 220nm
Nhiệt độ	35 °C
Dung dịch mẫu	80mg/mL trong pha động
Thiết bị HPLC điều chế	Prep-Gilson-HPLC
Tên mẫu	Hợp chất 1-06

Ví dụ 1-2: Tổng hợp hợp chất 1a và hợp chất 1b

Hợp chất thô 1-06 được tinh chế bằng cột bất đối trong các điều kiện trên đây để tạo ra hợp chất 1-06-A và hợp chất 1-06-B.

Điều chế hợp chất 1a và hợp chất 1b chủ yếu như được mô tả đối với bước 7 của ví dụ 1 bằng cách sử dụng lần lượt hợp chất 1-06-A và hợp chất 1-06-B.

Ngoài ra, độ quay quang được đo 3 lần đối với từng hợp chất như được thể hiện dưới đây trên phân cực kế Rudolf.

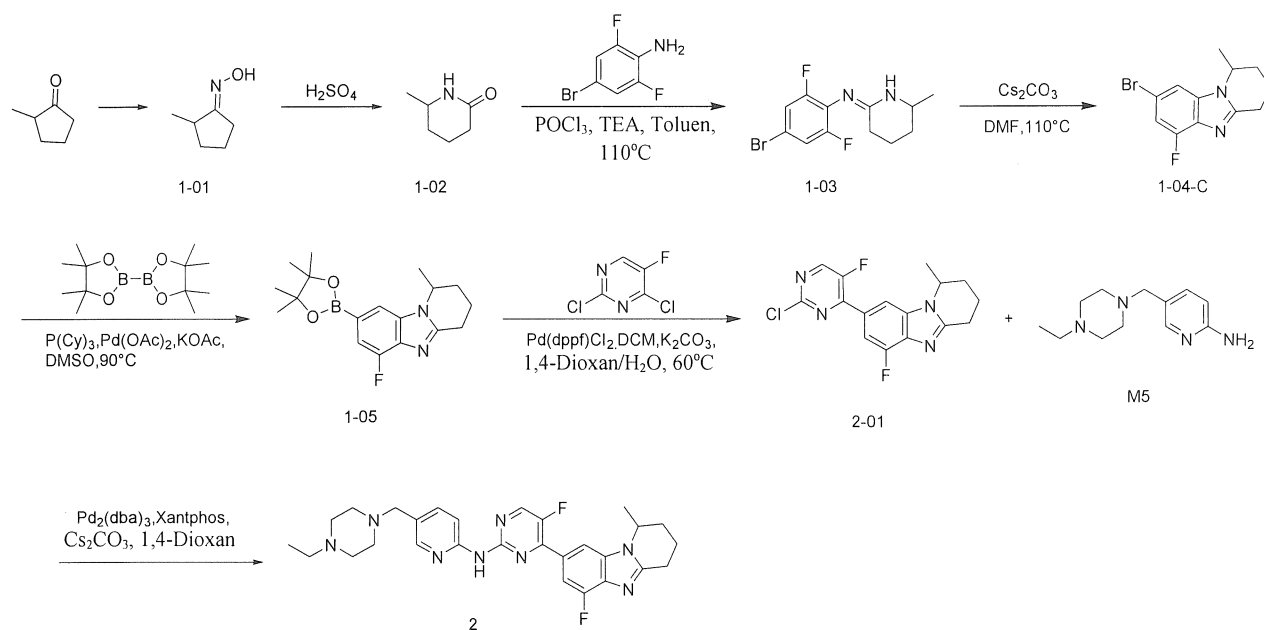
Điều kiện:

Độ dài ống phân cực kế	100mm
Nhiệt độ	20 °C
Dung dịch mẫu	3,0mg/mL trong EtOH
Tên mẫu	Hợp chất 1a và hợp chất 1b

Kết quả:

	Lần thứ nhất (°)	Lần thứ 2 (°)	Lần thứ 3 (°)	Trung bình (°)
Hợp chất 1a	30,357	30,711	29,906	30,325
Hợp chất 1b	-35,430	-35,453	-35,298	-35,394

Ví dụ 2: Tổng hợp hợp chất 2



1. Hợp chất 1-01

Hỗn hợp chứa 2-methylcyclopentanone (5,200g), hydroxylamin hydroclorua (9,200g) và triethylamin (16,080g) trong etanol khan (70mL) được khuấy ở 85°C qua đêm trong bể dầu. Sau đó, dung dịch phản ứng được cô đặc; phần cặn được rửa bằng EA. Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc và sau đó cô đặc để tạo ra 5,820g hợp chất thô 1-01,

2. Hợp chất 1-02

Hợp chất thô 1-01 (5,820g) được hòa tan trong dung dịch axit sulfuric (con- H_2SO_4 : H_2O =20mL:5mL), hỗn hợp thu được được khuấy ở 90°C trong bể dầu trong 90 phút, nước (10mL) được bổ sung vào, sau đó điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na_2CO_3 , dung dịch nước thu được được chiết bằng DCM (20mL×5), pha hữu cơ kết hợp được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 4,110g hợp chất thô 1-02.

3. Hợp chất 1-03

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-02 (4,110g) và 4-bromo-2,6-difloanilin (3,780g) trong metylbenzen (40mL) được bổ sung POCl_3 (4,180g) và được đun nóng trong bể dầu, TEA (2,770g) được bổ sung vào khi nhiệt độ được tăng đến 110°C , hỗn hợp thu được được cho phản ứng ở 110°C trong 20 phút. Một phần a metylbenzene được lấy ra, sau đó điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na_2CO_3 , chiết bằng EA, pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 6,550g hợp chất thô 1-03.

4. Hợp chất 1-04

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-03 (6,100g) và kali tert-butoxit (4,520g) trong DMF (60mL) được khuấy ở 100°C trong 20 phút trong bể dầu và sau đó chiết bằng 300mL EA, pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa ($120\text{mL} \times 3$) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=1/5) để tạo ra 0,705g hợp chất 1-04-A, và 1,500g hợp chất thô 1-04-C.

5. Hợp chất 1-05

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-04-C (0,200g), bis(pinacolato)diboron (0,270g), trixyclohexyl phosphin (0,039g), paladi axetat (0,031g) trong DMSO (5mL) được khuấy trong môi trường nitơ trong 1 giờ ở 90°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EA (50mL), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa ($20\text{mL} \times 3$) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra 0,398g hợp chất thô 1-05.

6. Hợp chất 2-01

Hỗn hợp chứa hợp chất thô 1-05 (0,398g), 2,4-diclopyrimidin (0,304g), K_2CO_3 (0,502g) và $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{DCM}$ (0,050g) trong 1,4-dioxan (10mL) và nước (1mL) được khuấy trong môi trường nitơ trong 80 phút ở 60°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được bổ sung nước (10mL) và sau đó chiết bằng EA ($20\text{mL} \times 2$), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa ($20\text{mL} \times 1$) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=1/1) để tạo ra 0,165g hợp chất 2-01.

7. Hợp chất 2

Hỗn hợp chứa hợp chất 2-01 (0,030g), hợp chất trung gian M5 (0,025g), Cs_2CO_3 (0,067g), Xanphos (0,005g) và $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,005g) trong 1,4-dioxan (2mL) được khuấy trong môi trường khí nitơ trong 3,5 giờ 110°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được bổ sung 20mL dung môi hỗn hợp (DCM/MeOH = 10/1), sau đó lọc, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (DCM/MeOH = 8/1), chất rắn được rửa bằng 1,4-dioxan (5mL) để tạo ra 0,024g hợp chất 2.

MS(ES^+): $m/z = 519,3(\text{M}+\text{H})^+$.

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 8,587(s, 1H, NH), 8,448-8,457(d, 1H, CH), 8,383-8,405(d, 1H, CH), 8,280-8,286(d, 1H, CH), 8,009-8,013(d, 1H, CH), 7,804-7,837(dd, 1H, CH), 7,686-7,714(dd, 1H, CH), 4,681-4,728(m, 1H, CH), 3,532(s, 2H, CH_2), 3,189-3,256(m, 1H, CH_2), 3,008-3,091(m, 1H, CH_2), 2,654(s, 8H, CH_2), 2,571-2,608(m, 2H, CH_2), 2,226-2,299(m, 1H, CH_2), 2,111-2,15(m, 1H, CH_2), 2,012-2,053(m, 2H, CH_2), 1,596-1,612(d, 3H, CH_3), 1,174-1,210(t, 3H, CH_3).

Ví dụ 2-1: Tách bất đối hợp chất 2-01

Theo phương án này, hợp chất thô 2-01 theo ví dụ 2 được tinh chế trực tiếp trên cột bất đối để tạo ra hợp chất 2-01-A và hợp chất 2-01-B trong các điều kiện sau.

Điều kiện HPLC bất đối:

Cột	CHIRALPAK AD-H
Kích thước cột	2cm*25cm, 5 μm
Bơm	1,0mL
Pha động	Hex: IPA = 90:10(thể tích/thể tích)
Tốc độ dòng	20ml/phút
Bước sóng	UV 220nm
Nhiệt độ	25 $^\circ\text{C}$
Dung dịch mẫu	25,9mg/mL trong EtOH:CAN=3:1
Thiết bị HPLC điều chế	Prep-YMC-HPLC
Tên mẫu	Hợp chất 2-01

Ví dụ 2-2: Tổng hợp hợp chất 2a và hợp chất 2b

Hợp chất thô 2-01 được tinh chế bằng cột bất đối trong các điều kiện nêu trên để tạo ra hợp chất 2-01-A và hợp chất 2-01-B.

Điều chế hợp chất 2a và hợp chất 2b chủ yếu như được mô tả đối với bước 7 của ví dụ 2 bằng cách sử dụng lần lượt hợp chất 2-01-A và hợp chất 2-01-B.

Ngoài ra, độ quay quang được đo 3 lần đối với mỗi hợp chất như được thể hiện dưới đây trên phân cực kế Rudolf.

Điều kiện:

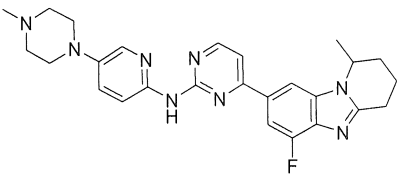
Độ dài ống phân cực kế	100mm
Nhiệt độ	20 °C
Dung dịch mẫu	4,0mg/mL trong DCM
Tên mẫu	Hợp chất 2a và hợp chất 2b

Kết quả:

	Lần thứ nhất (°)	Lần thứ 2 (°)	Lần thứ 3 (°)	Trung bình (°)
Hợp chất 2a	38,074	38,111	38,078	38,088
Hợp chất 2b	-32,070	-32,134	-31,903	-32,036

Điều chế các hợp chất ví dụ sau đây (được thể hiện trong bảng 8) chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 2 bằng cách sử dụng các hợp chất trung gian tương ứng. Trong đó hai chất đồng phân đối ảnh của từng hợp chất được tách trên cột bất đối, sau đó kiểm tra độ quay quang của chúng chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 2-2.

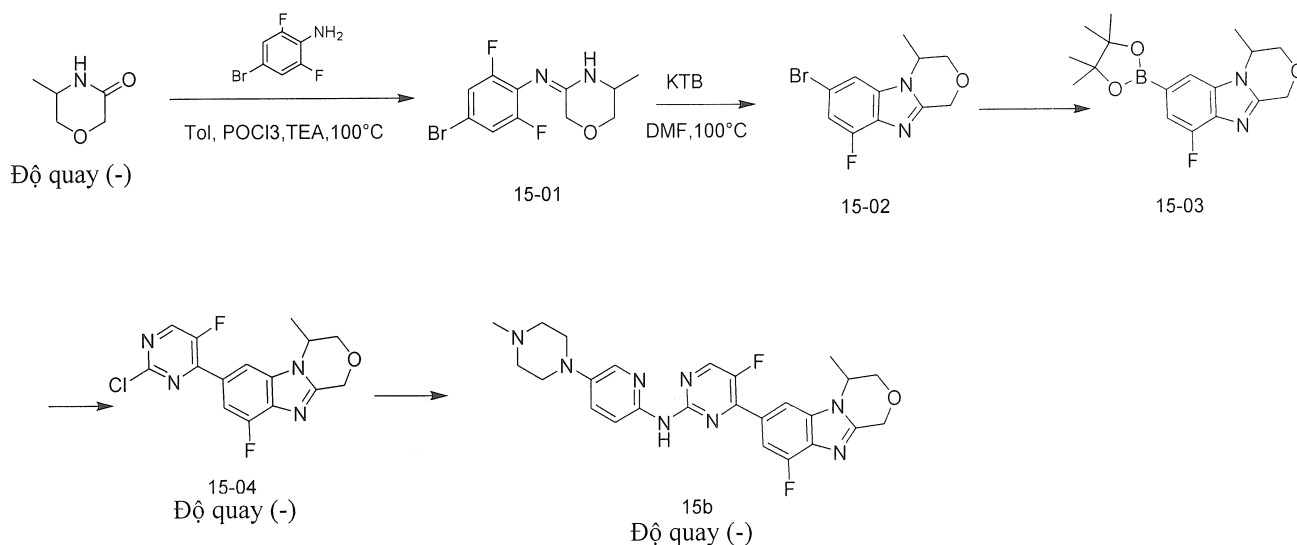
Bảng 8

Ví dụ số	Tên hóa học	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺	Các chất đồng phân đối ảnh (độ quay quang)
1	4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		473,2	1a (+) 1b (-)

2	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		519,3	2a (+) 2b (-)
3	5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		491,2	3a (+) 3b (-)
4	5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(6-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-3-yl)pyrimidin-2-amin		505,3	4a (+) 4b (-)
5	5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-((4-methylpiperazin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-amin		506,3	5a (+) 5b (-)
6	N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		534,3	6a (+) 6b (-)
7	N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyrimidin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		533,3	7a (+) 7b (-)
8	N-(5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		519,3	8a (+) 8b (-)
9	(2-((5-fluoro-4-(6-fluoro-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)(4-methylpiperazin-1-yl)methanone		520,2	9a (+) 9b (-)

10	(6-((5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)(4-metylpiperazin-1-yl)metanon		519,2	10a (+) 10b (-)
11	N5-(2-(diethylamino)etyl)-N2-(5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)-N5-metylpayridin-2,5-diamin		521,3	11a (+) 11b (-)
12	N-(5-((4-etylperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-2-amin		571,3	12a (+) 12b (-)
13	N-(5-((4-etylperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-metylpayrimidin-2-amin		517,3	13a (+) 13b (-)
14	5-clo-N-(5-((4-etylperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		535,2	14a (+) 14b (-)

Ví dụ 15: Tổng hợp hợp chất 15b



1. Hợp chất 15-01

Hỗn hợp chứa chất đồng phân đối ảnh (-) của hợp chất 5-metylmorpholin-3-on (0,200g) và 4-bromo-2,6-difloanilin (0,210g) trong metylbenzen (20mL) được bổ sung POCl_3 (0,510g) và được đun nóng trong bể dầu, TEA (0,210g) được bổ sung vào khi nhiệt độ được tăng đến 110°C , hỗn hợp thu được được cho phản ứng ở 110°C trong 40 phút. Một phần metylbenzene được lấy ra, điều chỉnh độ pH đến 8~9 bằng Na_2CO_3 sau khi bổ sung nước (10mL). Sau đó chiết bằng EA (20mL $\times$ 2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (20mL $\times$ 1) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc để tạo ra 0,280g hợp chất 15-01.

2. Hợp chất 15-02

Hỗn hợp chứa hợp chất 15-01 (0,275g) trong DMF (5mL) được bổ sung kali tert-butoxit (0,482g), sau đó khuấy trong 30 phút ở 70°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EA (20mL $\times$ 3), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (30mL $\times$ 4) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan, cô đặc và tinh chế bằng cột sắc ký (PE/EA=5/1) để tạo ra 0,260g hợp chất 15-02.

3. Hợp chất 15-03

Hỗn hợp chứa hợp chất 15-02 (0,260g), bis(pinacolato)diboron (0,320g), trixyclohexyl phosphin (0,050g), paladi axetat (0,040g) trong DMSO (6mL) được khuấy trong môi trường nitơ trong 50 phút ở 90°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được

được chiết bằng EA (20mL×2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (10mL×3) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc để tạo ra 0,258g hợp chất 15-03.

4. Hợp chất 15-04

Hỗn hợp chứa hợp chất 15-03 (0,120g), 2, 4-diclo-5-flopyrimidin (0,060g), K₂CO₃ (0,099g) và Pd(dppf)Cl₂·DCM (0,012g) trong 1,4-dioxan (10mL) và nước (1mL) được khuấy trong môi trường nitơ trong 1 giờ ở 60°C trong bể dầu. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EA (20mL×2), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch NaCl bão hòa (20mL×1) và làm khô bằng Na₂SO₄ khan, cô đặc và sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế (DCM/MeOH=30/1) để tạo ra 0,052g chất đồng phân đối ảnh (-) của hợp chất 15-04.

5. Hợp chất 15b

Chất đồng phân đối ảnh (-) của hợp chất 15-04(20mg), hợp chất trung gian M1(0,017g), Cs₂CO₃ (0,056g), Xanphos (0,005g) và Pd₂(dba)₃ (0,005g) trong 1,4-dioxan (2mL) được cho phản ứng trong điều kiện vi sóng ở 110°C trong 1,5 giờ trong dòng nitơ. Hỗn hợp thu được được bổ sung 20mL dung môi hỗn hợp (DCM/MeOH=10/1). Dịch lọc được thu gom bằng cách lọc và sau đó cô đặc, tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (DCM/MeOH=20/1), chất rắn thu được được rửa bằng n-hexan (10mL) để tạo ra 0,014g hợp chất 15b.

MS(ES⁺):m/z=493,2(M+H)⁺.

H-NMR(CDCl₃): δ8,409-8,418(d,1H,CH), 8,211-8,288(m,2H,CH), 8,070-8,077(d,1H,CH), 8,019-8,023(d,1H,CH), 7,833-7,868(m,1H,CH), 5,118-5,158(d,1H,CH₂), 4,912-5,002(d,1H,CH₂), 4,522-4,584(m,1H,CH), 4,111-4,168(m,1H,CH₂), 4,039-4,075(m,1H,CH₂), 3,249-3,275(m,4H,CH₂), 2,724-2,748(m,4H,CH₂), 2,462(s,3H,CH₃), 1,662-1,678(d,3H, CH₃) .

Ví dụ 15-1: Tổng hợp hợp chất 15a và hợp chất 15

Hợp chất 15a và hợp chất 15b là các chất đồng phân đối ảnh. Điều chế hợp chất 15a chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 15 bằng cách sử dụng chất đồng phân đối ảnh (+) của hợp chất 5-metylmorpholin-3-on làm nguyên liệu ban đầu.

Theo một phương án khác, hợp chất 5-metylmorpholin-3-on thô được sử dụng làm nguyên liệu ban đầu; cuối cùng sẽ thu được hợp chất 15 thô bao gồm hợp chất 15a và hợp chất 15b.

Ngoài ra, độ quay quanh được đo 3 lần đối với mỗi hợp chất như được thể hiện sau đây trên phân cực kế Rudolf.

Điều kiện:

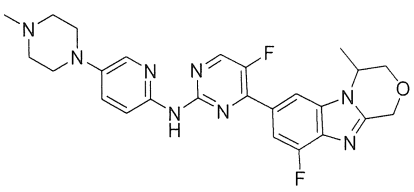
Độ dài ống phân cực kế	100mm
Nhiệt độ	20 °C
Dung dịch mẫu	4,6mg/mL trong DCM/MeOH(1:1)
Tên mẫu	Hợp chất 15a và hợp chất 15b

Kết quả:

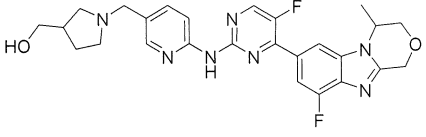
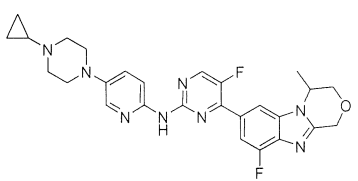
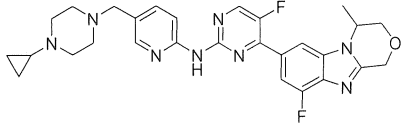
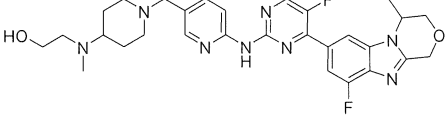
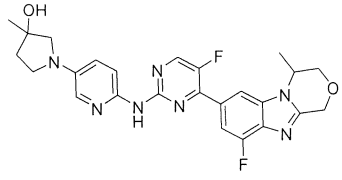
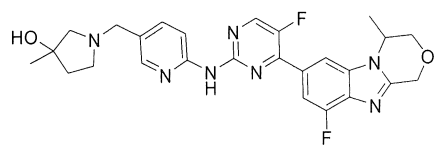
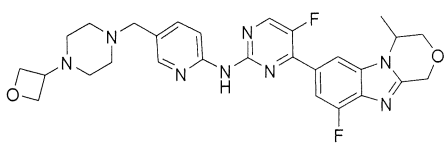
	Lần thứ nhất (°)	Lần thứ 2 (°)	Lần thứ 3 (°)	Trung bình (°)
Hợp chất 15a	32,859	32,818	32,809	32,829
Hợp chất 15b	-28,979	-28,840	-28,967	-28,929

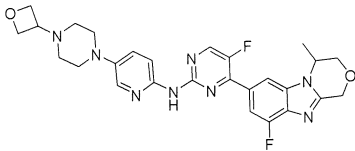
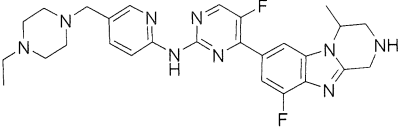
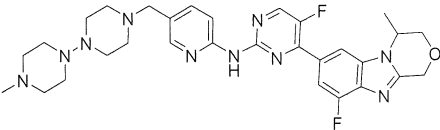
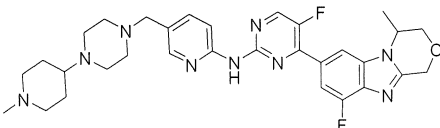
Điều chế các hợp chất ví dụ sau đây (được thể hiện trong bảng 9) chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 15 bằng cách sử dụng các hợp chất trung gian tương ứng, và sử dụng chất đồng phân đối ảnh (+) và/hoặc (-) của hợp chất 5-metylmorpholin-3-on làm nguyên liệu ban đầu. Độ quay quang của chúng được kiểm tra chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 15-1.

Bảng 9

Ví dụ số	Tên hóa học	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺	Các chất đồng phân đối ảnh (độ quay quang)
15	5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-di hydro-1H-benzo[4,5]imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		493,2	15a (+) 15b (-)

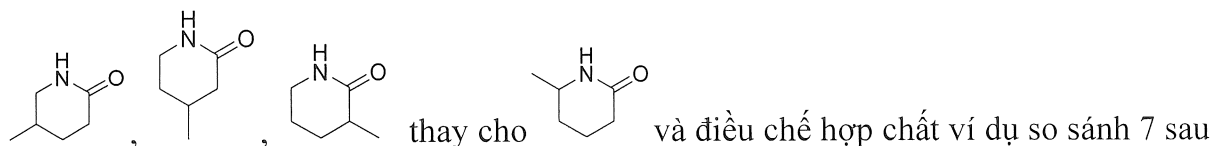
16	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		521,3	16a (+) 16b (-)
17	N-(5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		521,3	17a (+) 17b (-)
18	N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		535,3	18a (+) 18b (-)
19	5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		479,2	19a (+) 19b (-)
20	5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-ylmethyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		493,2	20a (+) 20b (-)
21	N-(5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)-6-(4-methylpiperazin-1-yl)pyridazin-3-amin		494,2	21a (+) 21b (-)
22	6-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)-N-(5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)pyridazin-3-amin		522,2	22a (+) 22b (-)
23	(1-(6-((5-fluoro-4-(9-fluoro-4-methyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)pyrrolidin-3-yl)metano		494,2	23a (+) 23b (-)

	1			
24	(1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)pyrrolidin-3-yl)metanol		508,2	24a (+) 24b (-)
25	N-(5-(4-xyclopropylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		519,2	25a (+) 25b (-)
26	N-(5-((4-xyclopropylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		533,3	26a (+) 26b (-)
27	2-((1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)piperidin-4-yl)(metyl)amino)ethan-1-ol		565,3	27a (+) 27b (-)
28	1-(6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)-3-metylpyrrolidin-3-ol		494,2	28a (+) 28b (-)
29	1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)-3-metylpyrrolidin-3-ol		508,2	29a (+) 29b (-)
30	5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		549,2	30a (+) 30b (-)

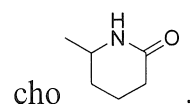
31	5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-di hydro-1H-benzo[4,5]imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5 -(4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		535,2	31a (+) 31b (-)
32	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-1,2,3,4-tetrahydro benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyra zin-7-yl)pyrimidin-2-amin		520,3	32 (+) 32b (-)
33	5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-di hydro-1H-benzo[4,5]imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5 -(4-(4'-metyl-[1,1'-bipiperazin]-4-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyri midin-2-amin		591,3	33a (+) 33b (-)
34	5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-di hydro-1H-benzo[4,5]imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5 -(4-(1-metyl piperidin-4-yl)pi perazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		590,3	34a (+) 34b (-)

Các ví dụ so sánh

Điều chế các hợp chất ví dụ so sánh sau đây chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 1, 2 hoặc 15 bằng cách sử dụng các hợp chất trung gian hoặc các nguyên liệu ban đầu tương ứng. Ví dụ, điều chế các hợp chất ví dụ so sánh 8, 9 và 10 sau đây (được thể hiện trong bảng 10) chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 2 bằng cách sử dụng



đây chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 1 bằng cách sử dụng



Bảng 10

Ví dụ so sánh số	Tên hóa học	Cấu trúc	Dữ liệu vật lý (MS) (M+H) ⁺
1	5-flo-4-(6-flo-3,4-dihydro-2H-spiro[benzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-1,1'-xyclopropan]-8-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		503,2
2	5-flo-4-(6-flo-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		476,2
3b	(R)-N-(5-((4-etyl piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-isopropyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin		548,3
4b	(R)-4-(4-etyl-9-flo-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-etyl piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-fluoropyrimidin-2-amin		534,3
5	5-flo-4-(6-flo-1,1-dimetyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		546,3
6	5-flo-4-(6-flo-1,1-dimetyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(piperazin-1-ylmetyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		504,3
7	4-(6-flo-4-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin		473,3

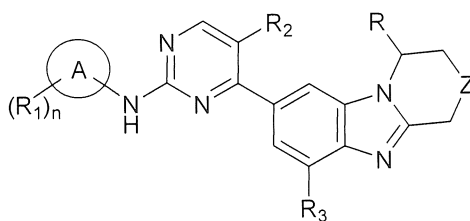
8	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		519,3
9	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-3-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		519,3
10	N-(5-((4-ethylpiperazin-1-yl)methyl)pyridin-2-yl)-5-fluoro-4-(6-fluoro-4-methyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin		519,3

Trong bảng trên, các hợp chất ví dụ so sánh 3b và 4b được tổng hợp chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 15, và sau đó lần lượt kiểm tra độ quay quang của chúng chủ yếu như được mô tả trong ví dụ 15-1. Các hợp chất ví dụ so sánh 3b và 4b đều thể hiện độ quay quang âm.

Thử nghiệm dược lý

Kết quả của các thử nghiệm sau đây chứng tỏ bằng chứng rằng các hợp chất làm ví dụ trong bản mô tả này hữu dụng làm chất ức chế CDK4/6 và làm chất chống ung thư đặc hiệu. Như được sử dụng ở đây, “IC₅₀” chỉ nồng độ chất mà tạo ra 50% đáp ứng ức chế tối đa có thể có đối với chất này.

Để thuận tiện cho việc minh họa, cấu trúc chung sau đây được thể hiện dưới đây. Bất ngờ là, các tác giả sáng chế đã phát hiện rằng “R” có ảnh hưởng quan trọng đến hoạt tính sinh học, độ chọn lọc và độ an toàn.



Thử nghiệm 1: So sánh phần tử thể khác nhau bằng thử nghiệm tăng sinh tế bào

Tác dụng của các hợp chất thử nghiệm đến sự tăng sinh *in vitro* được xác định bằng thử nghiệm độ sống sót của tế bào MTS.

Nuôi cấy tế bào

Các tế bào bệnh ung thư đại trực tràng ở người (colo-205) được nhân lên bằng cách nuôi cấy (colo-205 được nuôi trong môi trường DMEM với 12%FBS, 1%P/S, và 1% L-glutamin).

Thử nghiệm độ sống sót của tế bào MTS:

1. Cấy tế bào ở mật độ 4×10^3 tế bào trên một giếng của các đĩa 96-giếng, nuôi trong 24 giờ;
2. Bổ sung các hợp chất thử nghiệm với nồng độ khác nhau vào các tế bào;
3. Ủ để phơi nhiễm trong 7 ngày;
4. Chuẩn bị chất phản ứng theo hướng dẫn trong thử nghiệm tăng sinh tế bào (Promega);
5. Chuyển sang môi trường không chứa huyết thanh với thể tích cuối là 100 μ l/giếng. Chuẩn bị tập hợp các giếng chỉ chứa môi trường để trừ đi giá trị nền;
6. Bổ sung 20 μ l dung dịch MTS chứa PMS và từng giếng (nồng độ MTS cuối sẽ là 0,33 mg/mL);
7. Ủ từ 1 đến 4 giờ ở 37°C trong khí quyển 5% CO₂ ẩm;
8. Ghi nhận độ hấp thụ ở bước sóng 490nm bằng bộ đọc đĩa VICTOR™X5 (PerkinElmer).

Tất cả các điểm thử nghiệm đều được thực hiện trong ba giếng và tất cả các thử nghiệm đều được lặp lại ít nhất ba lần. Trị số IC₅₀ được tính toán từ đường cong đáp ứng liều bằng cách sử dụng phần mềm (Graphpad prism 6), và kết quả được thể hiện trong bảng 11.

Bảng 11

Mẫu	IC ₅₀ (colo-205) / μ M
LY2835219	0,136
Hợp chất ví dụ 1	0,078
Hợp chất ví dụ 2	0,053
Hợp chất ví dụ so	6,644

Mẫu	IC ₅₀ (colo-205) / μ M
LY2835219	0,136
sánh 1	
Hợp chất ví dụ so sánh 2	8,897

Các hợp chất làm ví dụ trên đây thể hiện hoạt tính chống khối u trong mô hình này như được thể hiện trong bảng 11, do đó chứng tỏ rằng các hợp chất làm ví dụ theo sáng chế hoạt tính *in vivo* chống lại các khối u Rb⁺ hiệu lực hơn so với hợp chất đã biết LY2835219 (Abemaciclib), hợp chất theo sáng chế, ví dụ hợp chất ví dụ 1 hoặc hợp chất ví dụ 2 có khả năng ức chế chống lại các khối u Rb⁺ hiệu lực hơn so với hợp chất theo ví dụ so sánh 1 (sau đây gọi là hợp chất ví dụ so sánh 1; R là cấu trúc xoắn) và hợp chất theo ví dụ so sánh 2 (sau đây gọi là hợp chất ví dụ so sánh 2; R là H), hợp chất theo sáng chế, ví dụ hợp chất theo ví dụ 1 hoặc hợp chất theo ví dụ 2 (R là methyl) có khả năng ức chế chống lại các khối u Rb⁺ hiệu lực hơn.

Các hợp chất làm ví dụ trên đây cũng thể hiện rằng R là methyl chứ không phải H hoặc cấu trúc xoắn có hoạt tính sinh học hiệu lực hơn nhiều trong mô hình này. Từ các kết quả trên, có thể thấy rằng loại phân tử thể có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng ức chế chống lại các khối u Rb⁺.

Thử nghiệm 2: So sánh phần tử thể khác nhau bằng thử nghiệm độ an toàn

Các hợp chất được chọn được điều chế như đã mô tả trên đây được thử nghiệm về độ an toàn theo sự thay đổi về thể trọng và xem có chết hay không, và quy trình được mô tả trong bản mô tả này. Hợp chất thử nghiệm được bào chế trong chất dẫn thích hợp và được sử dụng cho chuột nhắt BALB/c (22-23g) bằng ống thông đường miệng. Thể trọng và tỷ lệ chết được lấy làm số đo độc tính. Giảm khối lượng (% thay đổi thể trọng) được tính toán hai lần một tuần bằng cách so sánh các nhóm được điều trị với nhóm đối chứng sử dụng chất dẫn trong suốt khóa điều trị. Các hợp chất 2 và 16 thể hiện sự giảm khối lượng hầu như nhỏ, trong các mô hình này khi được định liều ở mức 200 mg/kg (một lần một ngày). Nhưng ở cùng liều lượng này, các hợp chất ví dụ so sánh, ví dụ, hợp chất ví dụ so sánh 3b và hợp chất ví dụ so sánh 4b có khả năng gây ra giảm khối

lượng nhiều hơn nhiều, thậm chí gây ra tỷ lệ chết cao với 4 và 5 chuột nhất chết trong mỗi nhóm (6 chuột nhất) sau khi điều trị trong 2 tuần.

Kết quả được đưa ra trong bảng 12. “*” chỉ “mức giảm khối lượng dưới 5%”; “***” chỉ “mức giảm khối lượng trên 5% và dưới 10%”; “*****” chỉ “mức giảm khối lượng trên 10% và dưới 30%”; “*****” chỉ “mức giảm khối lượng trên 30%”. “+” chỉ việc “có chuột bị chết”; “-” chỉ việc “không có chuột bị chết”.

Bảng 12

Mẫu	Thể trọng	Quan sát
LY2835219	*	-
Hợp chất ví dụ 2b	*	-
Hợp chất ví dụ 16b	*	-
Hợp chất ví dụ so sánh 3b	***	+
Hợp chất ví dụ so sánh 4b	***	+

Bất ngờ là, các tác giả sáng chế đã phát hiện rằng hợp chất ví dụ so sánh 3b (R là isopropyl) hoặc hợp chất ví dụ so sánh 4b (R là etyl) có nhiều tác dụng phụ và độc tính hơn. Tuy nhiên, các hợp chất làm ví dụ theo sáng chế, ví dụ hợp chất 2b hoặc hợp chất 16b (R là metyl), an toàn hơn nhiều, do đó chứng tỏ rằng loại phân tử thế có ảnh hưởng đáng kể đến độ an toàn.

Thử nghiệm 3: Ảnh hưởng của số phân tử thế bằng thử nghiệm CDK kinaza

Để chứng tỏ rằng các hợp chất này thể hiện ái lực với các CDK kinaza (CDK2/CycA2, CDK4/CycD3, CDK6/cycD3), các thử nghiệm CDK kinaza được thực hiện.

Đệm phản ứng được chuẩn bị như sau: đệm bazơ kinaza cho CDK2, CDK6 (50 mM HEPES, độ pH=7,5; 0,0015% Brij-35; 10 mM MgCl₂; 2 mM DTT); Đệm bazơ kinaza cho CDK4 (20 mM HEPES, độ pH=7,5; 0,01% Triton X-100; 10 mM MgCl₂;

2 mM DTT); đệm ngừng phản ứng (100 mM HEPES, độ pH=7,5; 0,015% Brij-35; 0,2% chất phản ứng phủ #3; 50 mM EDTA).

Quy trình phản ứng enzym:

1) Pha loãng hợp chất đến 50X nồng độ cao nhất mong muốn cuối cùng trong phản ứng bằng DMSO 100%. Chuyển 100 μ L thể pha loãng hợp chất này vào giếng trong đĩa 96-giếng. Sau đó, pha loãng hàng loạt hợp chất bằng cách chuyển 30 μ L vào 60 μ L DMSO 100% trong giếng tiếp theo và cứ như vậy đối với tổng số 10 nồng độ. Bổ sung 100 μ L DMSO 100% vào hai giếng trống để làm đối chứng không có hợp chất và đối chứng không có enzym trong cùng đĩa 96-giếng. Đánh dấu đĩa này là đĩa gốc.

2) Chuẩn bị đĩa trung gian bằng cách chuyển 10 μ L hợp chất từ đĩa gốc sang đĩa 96-giếng mới chứa 90 μ L đệm kinaza làm đĩa trung gian.

3) Chuyển 5 μ L hợp chất từ đĩa trung gian 96-giếng sang đĩa 384-giếng thành hai bộ.

4) Bổ sung 10 μ L dung dịch enzym 2,5x vào từng giếng của đĩa thử nghiệm 384-giếng.

5) Ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút.

6) Bổ sung 10 μ L dung dịch cơ chất 2,5x được điều chế bằng cách bổ sung peptit được đánh dấu FAM và ATP trong đệm bazơ kinaza. Các nồng độ phản ứng đối với enzym và cơ chất là như trong bảng sau (bảng 13):

Bảng 13

Enzym	Enzym (nM)	ATP (μ M)	Peptit	Nồng độ peptit (μ M)
CDK2	10	30	P18	3
CDK4	10	280	P8	3
CDK6	15	800	P8	3

7) Ủ ở 28°C trong khoảng thời gian đã định.

8) Bổ sung 25 μ L đệm ngừng phản ứng để ngừng phản ứng.

9) Thu thập dữ liệu trên thiết bị Caliper. Sau đó chuyển các giá trị chuyển đổi thành giá trị ức chế.

$$\text{Tỷ lệ phần trăm ức chế} = (\text{max-giá trị chuyển đổi})/(\text{max-min}) \times 100.$$

“max” là đối với đối chứng DMSO và “min” là đối với đối chứng thấp ở đây.

10) Khớp đường cong bằng cách sử dụng tỷ lệ phần trăm ức chế trong tính năng excel XLFit phiên bản 4.3.1 để thu được các giá trị IC_{50} . Phương trình được sử dụng là: $Y = \text{Đáy} + (\text{Đỉnh} - \text{Đáy}) / (1 + (IC_{50}/X)^{\text{Độ dốc}})$. Trong đó, Y là tỷ lệ phần trăm ức chế (%); X là nồng độ hợp chất thử nghiệm.

Kết quả được biểu thị dưới dạng giá trị IC_{50} được thể hiện trong bảng 14.

Bảng 14

Mẫu	$IC_{50}(\text{CDK2})/\mu\text{M}$	$IC_{50}(\text{CDK4})/\mu\text{M}$	$IC_{50}(\text{CDK6})/\mu\text{M}$
LY2835219	0,039	0,002	0,022
Hợp chất ví dụ 1	>0,3	0,002	0,023
Hợp chất ví dụ 2	>0,3	0,002	0,031
Hợp chất ví dụ 16b	>0,3	0,003	0,040
Hợp chất ví dụ so sánh 5	0,040	0,003	0,017
Hợp chất ví dụ so sánh 6	0,040	0,007	0,014

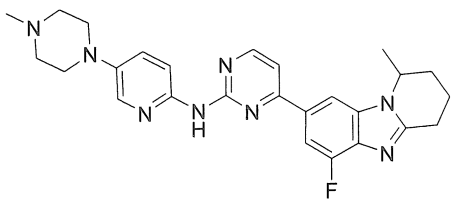
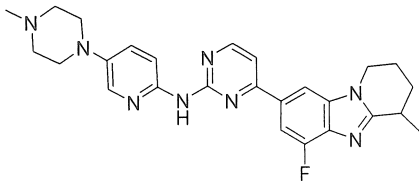
Như được thể hiện trong bảng trên, có thể thấy số methyl có ảnh hưởng rất quan trọng đến độ chọn lọc. Bất ngờ là, các hợp chất làm ví dụ theo sáng chế thể hiện $IC_{50} > 0,3\mu\text{M}$ trong thử nghiệm ức chế CDK2 kinaza trên đây và $IC_{50} \leq 0,04\mu\text{M}$ trong thử nghiệm ức chế CDK4/6 kinaza trên đây như được thể hiện trong bảng 14. Điều này chứng tỏ rằng các hợp chất làm ví dụ theo sáng chế là các chất ức chế hoạt tính CDK4/6 kinaza chọn lọc hơn. Do đó thể hiện rằng các hợp chất làm ví dụ (R chỉ là một methyl) là các chất ức chế CDK4/6 đặc hiệu hơn so với hợp chất đã biết

LY2835219 và hợp chất ví dụ so sánh, ví dụ hợp chất ví dụ so sánh 5 hoặc hợp chất ví dụ so sánh 6 (R là hai metyl).

Thử nghiệm 4: Ảnh hưởng của vị trí thế

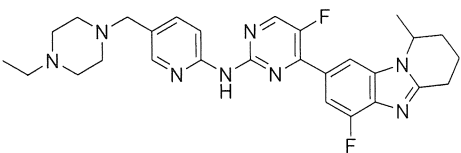
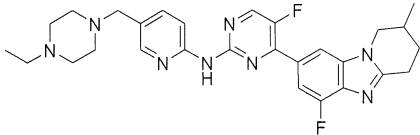
Hợp chất đã chọn được điều chế như được mô tả trên đây được thử nghiệm theo các quy trình sinh học được mô tả ở đây. Kết quả được thể hiện trong bảng sau.

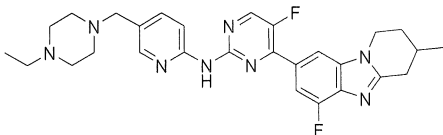
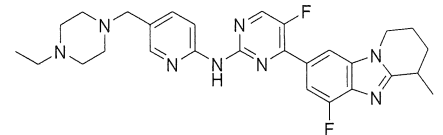
Bảng 15

Mẫu	Cấu trúc	IC ₅₀ (CDK4)/ μ M	IC ₅₀ (CDK6)/ μ M
Hợp chất ví dụ 1		0,002	0,023
Hợp chất ví dụ so sánh 7		0,057	0,110

Ngoài ra, việc so sánh trực tiếp (head-to-head) hợp chất ví dụ 2 và hợp chất ví dụ so sánh của nó 8, 9 hoặc 10 được thể hiện trong bảng sau. Kết quả được đưa ra trong bảng 16. “++++” chỉ “giá trị IC₅₀ dưới 0,2 μ M”; “+++” chỉ “giá trị IC₅₀ trên 0,2 μ M và dưới 1,0 μ M”; “++” chỉ “giá trị IC₅₀ trên 1,0 μ M và dưới 2,0 μ M”; “+” chỉ “giá trị IC₅₀ trên 2,0 μ M”.

Bảng 16

Mẫu	Cấu trúc	IC ₅₀ (colo-205)/ μ M
Hợp chất ví dụ 2		++++
Hợp chất ví dụ so sánh 8		++

Hợp chất ví dụ so sánh 9		++
Hợp chất ví dụ so sánh 10		++

Như được thể hiện trong bảng 15 và 16, có thể thấy vị trí thế cũng đóng vai trò quan trọng đến hoạt tính sinh học. Ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của việc thay đổi vị trí của các phần tử thế là bất ngờ đáng kể.

Như được thể hiện trong các kết quả đưa ra trên đây, có thể thấy rằng “R” của dị vòng 6 cạnh có ảnh hưởng quan trọng đến hoạt tính sinh học, độ chọn lọc và độ an toàn. Bất ngờ là, khi có một và chỉ một metyl trong dị vòng 6 cạnh này, ảnh hưởng thu được sẽ ít nhất là như sau:

- ① hoạt tính sinh học được cải thiện;
- ② chọn lọc tốt; và
- ③ ít tác dụng phụ.

Thử nghiệm 5: Ảnh hưởng của độ quang hoạt

Các hợp chất đã chọn được điều chế như được mô tả trên đây được thử nghiệm theo các quy trình sinh học được mô tả như trong thử nghiệm 3 (thử nghiệm CDK kinaza). Kết quả được thể hiện trong bảng sau.

Bảng 17

Ví dụ	IC ₅₀ (CDK4) /nM	IC ₅₀ (CDK6)/ nM	Ví dụ	IC ₅₀ (CDK4) /nM	IC ₅₀ (CDK6) /nM
LY2835219	2	22			
Hợp chất 1a	3,0	121	Hợp chất 1b	1,7	23
Hợp chất 2a	4,1	108	Hợp chất 2b	1,9	22
Hợp chất 15a	6,7	230	Hợp chất 15b	1,8	23
Hợp chất 16a	17,6	>300	Hợp chất 16b	3,4	45

Như được thể hiện trong bảng trên, có thể thấy các hợp chất 1b, 2b, 15b, 16b lần lượt có hiệu lực hơn so với các hợp chất 1a, 2a, 15a, 16a trong việc ức chế CDK4/6, do đó chứng tỏ rằng các chất đồng phân đối ảnh (-) của các hợp chất theo sáng chế có lợi hơn so với các chất đồng phân đối ảnh (+).

Trong một số trường hợp, hợp chất được mô tả ở đây được sử dụng trong đó một chất đồng phân đối ảnh [ví dụ, chất đồng phân đối ảnh (-) hoặc chất đồng phân đối ảnh (+)] có mặt với lượng dư chất đồng phân đối ảnh cao. Trong trường hợp khác, chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 1b có độ quay quang âm, ví dụ, $-35,394^\circ$ ($c=3,0\text{mg/mL}$, EtOH) có hoạt tính chống lại enzym CDK4/6 lớn hơn so với chất đồng phân đối ảnh (hợp chất 1a) mà có độ quay quang dương $+30,325^\circ$ ($c=3,0\text{mg/mL}$, EtOH). Trong trường hợp khác, chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 2b có độ quay quang âm, ví dụ, $-32,036^\circ$ ($c=4,0\text{mg/mL}$, DCM) có hoạt tính chống lại enzym CDK4/6 lớn hơn so với chất đồng phân đối ảnh mà có độ quay quang dương $+38,088^\circ$ ($c=4,0\text{mg/mL}$, DCM). Trong các trường hợp khác, chất đồng phân đối ảnh của hợp chất 15b có độ quay quang âm, ví dụ, $-28,929^\circ$ ($c=4,6\text{mg/mL}$, DCM/MeOH=1:1) có hoạt tính chống lại enzym CDK4/6 lớn hơn so với chất đồng phân đối ảnh mà có độ quay quang dương $+32,829^\circ$ ($c=4,6\text{mg/mL}$, DCM/MeOH=1:1).

Thử nghiệm 6: Thử nghiệm hoạt tính ức chế và độ chọn lọc trên các kiểu phụ CDK kinaza khác ở mức độ phân tử

Hợp chất đại diện 2b theo sáng chế được sử dụng làm hợp chất thử nghiệm, và được so sánh với thuốc đối chứng dương LY2835219 (Abemaciclib) để so sánh hoạt tính ức chế CDK kinaza và độ đặc hiệu chọn lọc giữa chúng.

Cơ chế của phương pháp này được thể hiện trong công thức (II). Kinaza xúc tác phản ứng phosphoryl hóa cơ chất protein để đánh dấu ^{33}P trên ATP được đánh dấu ^{33}P ($\gamma\text{-}^{33}\text{P}\text{-ATP}$) thành cơ chất protein trong hệ phản ứng; hệ phản ứng được đưa lên màng trao đổi ion P81, và màng này được rửa kỹ bằng đệm phosphat 0,75%; cơ chất được phosphoryl hóa phóng xạ được để lại trên màng, và hoạt tính kinaza được phản ánh bằng cách ghi lại cường độ của nhãn phóng xạ cơ chất protein.



Công thức (II)

Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm Prism4 (GraphPad), và công thức khớp đường cong là:

$Y = \text{Đáy} + (\text{Đỉnh} - \text{Đáy}) / (1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{Độ dốc}))}$; trong đó, Y là tỷ lệ phần trăm ức chế (%); X là logarit của nồng độ chất ức chế.

Kết quả: Qua việc sàng lọc các CDK kinaza khác nhau, đã phát hiện rằng các hợp chất đại diện 2, 2a, và 2b có IC_{50} lớn hơn $0,4\mu\text{M}$ đối với ức chế CDK1/2/7/9, cao hơn hàng chục đến hàng nghìn lần so với đối với CDK4/6. (Xem bảng 18)

Bảng 18: Hoạt tính ức chế CDK kinaza

Kinaza	$\text{IC}_{50}(\text{nM})$			
	LY2835219	Hợp chất 2	Hợp chất 2a	Hợp chất 2b
CDK1/xyclin B	308	2350	3573	1683
CDK2/xyclin E	90	474	596	441
CDK7/xyclin H	2071	1050	2370	664
CDK9/xyclin T1	111	572	779	649

Kết luận: Ở mức độ phân tử, các hợp chất đại diện 2 và hợp chất 2b theo sáng chế thể hiện tác dụng ức chế mạnh đến CDK4/6 và tác dụng ức chế yếu đến CDK1/2/7/9, điều này chỉ ra rằng hợp chất 2 và hợp chất 2b là chất ức chế CDK4/6 kinaza có độ chọn lọc tuyệt vời. Hợp chất 2a thể hiện tác dụng ức chế mạnh đến CDK4, tác dụng ức chế nhẹ đến CDK6, và tác dụng ức chế rất yếu đến CDK1/2/7/9, điều này chỉ ra rằng hợp chất 2a là chất ức chế CDK4 kinaza có độ chọn lọc rất lớn và chất ức chế CDK6 kinaza có độ chọn lọc tốt. Ngoài ra, độ chọn lọc của các hợp chất đại diện theo sáng chế giữa CDK1/2/9 và CDK4/6 là cao hơn đáng kể so với độ chọn lọc của LY2835219 (Abemaciclib).

Thử nghiệm 7: Tác dụng thoái triển khối u trong mô hình động vật ghép khác loài JeKo-1

Các tế bào JeKo-1 được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 chứa 20% huyết thanh thai bò. Tế bào ở giai đoạn sinh trưởng lũy thừa JeKo-1 được thu nhận và tạo huyền phù lại trong PBS đến nồng độ thích hợp để tiêm khối u dưới da cho chuột nhắt NOD/SCID. 70 chuột nhắt cái được tiêm dưới da vào bên phải với 5×10^6 tế bào

JeKo-1, được tạo huyền phù lại trong PBS và matrigel (1:1). Khi thể tích khối u trung bình đạt 134mm^3 , các chuột được chia ngẫu nhiên thành nhóm theo kích thước khối u và được cấp thuốc. 48 chuột chia vào nhóm thử nghiệm, và 22 chuột còn lại không được dùng trong thử nghiệm. Thể tích khối u được tính toán như sau: đường kính dài $\times$ đường kính ngắn²/2. Thử nghiệm được chia thành nhóm đối chứng dung môi, thử nghiệm hợp chất thuốc đại diện 2b (10mg/kg), thử nghiệm hợp chất thuốc đại diện 2b (25mg/kg), thử nghiệm hợp chất thuốc đại diện 2b (50mg/kg), thử nghiệm hợp chất thuốc đại diện 2b (100mg/kg), tổng số 6 nhóm với 8 chuột nhất mỗi nhóm, và các chuột được cho sử dụng đường uống một lần một ngày bằng ống thông và sau đó tiếp tục cấp thuốc trong 19 ngày. Hiệu lực được đánh giá theo tỷ lệ ức chế sự phát triển khối u tương đối TGI.

Công thức tính toán là như sau: $\text{TGI}(\%) = (\text{C}-\text{T})/\text{C} \times 100\%$ (C và T lần lượt là khối lượng khối u trung bình của nhóm đối chứng dung môi và khối lượng khối u trung bình của nhóm điều trị). Giá trị TGI (%) càng cao chứng tỏ hiệu lực càng tốt; và ngược lại.

Kết quả: Hợp chất 2b chứng tỏ hoạt tính chống khối u tuyệt vời.

Bảng 19: Đánh giá hiệu lực chống khối u của hợp chất đại diện 2b trong mô hình ghép khác loài JeKo-1

Nhóm	Liều (mg/kg)	Tỷ lệ ức chế sự phát triển khối u tương đối (TGI(%))	Giá trị p^a
Đối chứng dung môi	--	--	--
Hợp chất 2b	10	42,7	0,087
Hợp chất 2b	25	73,8	0,003
Hợp chất 2b	50	98,3	0,001
Hợp chất 2b	100	104,5	0,001

Lưu ý:

a: Giá trị p là phân tích so sánh thể tích khối u của nhóm điều trị và nhóm đối chứng dung môi.

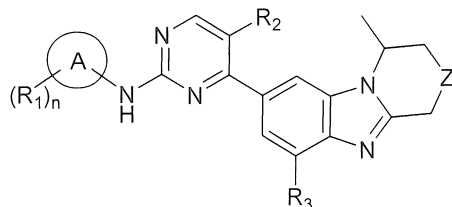
Theo đó, trong một số trường hợp, có lợi nếu cho đối tượng sử dụng hợp chất 1, 2 hoặc 15 có lượng dư chất đồng phân đối ảnh của chất đồng phân đối ảnh có độ quay

quang âm để điều trị bệnh. Bất ngờ là, chất đồng phân đối ảnh (-) tinh khiết về mặt quang học của hợp chất theo sáng chế, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở hợp chất 1b, 2b hoặc 15b là thuốc có hiệu lực hơn để điều trị bệnh qua trung gian CDK4/6 ở đối tượng.

Một số phương án của sáng chế đã được mô tả. Tuy nhiên, cần hiểu rằng các thay đổi khác nhau có thể được thực hiện mà không vượt ra ngoài phạm vi của sáng chế. Các phương án khác được thể hiện trong các yêu cầu bảo hộ.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I, hoặc chất đồng phân lập thể, chất đồng phân hỗn hợp, dạng đa hình, solvat, hoặc muối được dụng của nó,



công thức I

trong đó,

vòng A là aryl hoặc heteroaryl;

Z được chọn từ nhóm gồm CH₂, NH, O và S;

R₁ độc lập được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, CN, NO₂, OH, NH₂, C₁₋₈alkyl, C₁₋₈alkoxy, C₃₋₈cycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl, heterocyclyl-(CH₂)_m-, aryl-C₁₋₆alkyl-, heteroaryl-C₁₋₆alkyl-, -NR₁₂R₁₃, -NR₁₂-C₁₋₆alkylen-NR₁₂R₁₃, và heterocyclyl-C(O)-, trong đó C₁₋₈alkyl, C₁₋₈alkoxy, C₃₋₈cycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl, heterocyclyl-(CH₂)_m-, aryl-C₁₋₆alkyl-, heteroaryl-C₁₋₆alkyl-, hoặc heterocyclyl-C(O)- mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, C₁₋₈alkyl, C₃₋₈cycloalkyl, heterocyclyl, -NR₁₂R₁₃, hoặc -(CH₂)_t-OH;

R₂ và R₃ mỗi nhóm độc lập được chọn từ H, OH, CN, NO₂, NH₂, halogen, C₁₋₈alkyl, C₁₋₈alkoxy, C₃₋₈cycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl; trong đó C₁₋₈alkyl, C₁₋₈alkoxy, C₃₋₈cycloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, C₁₋₈alkyl, C₃₋₈cycloalkyl, hoặc heterocyclyl;

R₁₂ và R₁₃ mỗi nhóm độc lập được chọn từ H, C₁₋₈alkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl, C₃₋₈cycloalkyl; trong đó C₁₋₈alkyl, aryl, heteroaryl, heterocyclyl, hoặc C₃₋₈cycloalkyl mỗi nhóm này không được thể hoặc được thể bằng ít nhất một phần tử thể được chọn từ halogen, hydroxyl, C₁₋₈alkyl, C₃₋₈cycloalkyl, hoặc heterocyclyl;

m là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

n là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

t là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

aryl là hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng 6-10 cạnh;

heteroaryl là hệ vòng thơm một vòng ổn định năm hoặc sáu cạnh không được thế hoặc được thế hoặc hệ dị vòng thơm ngưng tụ benzo chín hoặc mười cạnh không được thế hoặc được thế hoặc hệ dị vòng thơm hai vòng bao gồm các nguyên tử cacbon và từ một đến bốn nguyên tử khác loại được chọn từ N, O hoặc S; và

heteroxyclyl là hệ vòng no một vòng ổn định ba đến tám cạnh không được thế hoặc được thế bao gồm các nguyên tử cacbon và từ một đến ba nguyên tử khác loại được chọn từ N, O hoặc S.

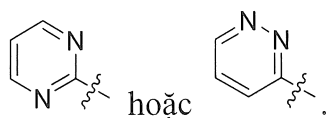
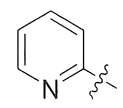
2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó Z là CH₂.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó Z là O.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó vòng A là heteroaryl 6 cạnh chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó vòng A là pyridyl, pyrimidinyl, hoặc pyridazinyl.

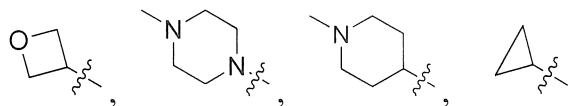
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó vòng A là



7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R₁ là heteroxyclyl-(CH₂)_m-, hoặc heteroxyclyl-(CH₂)_m- được thế bằng C₁₋₈alkyl, NR₁₂R₁₃, heteroxyclyl 4 đến 6 cạnh, C₃₋₆cycloalkyl, hoặc (CH₂)_t-OH.

8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R₁ là heteroxyclyl-CH₂- 5 đến 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl-CH₂- 5 đến 6 cạnh được thế bằng

C₁₋₃alkyl, -N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₂OH)CH₃,

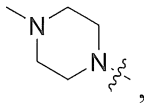
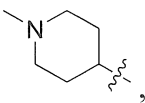


-CH₂OH, -CH₂CH₂OH, hoặc OH.

9. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó R_1 là heteroxyclyl-CH₂- 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl-CH₂- 6 cạnh được thế bằng metyl hoặc etyl.

10. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R_1 là heteroxyclyl, hoặc heteroxyclyl được thế bằng C₁₋₈alkyl, NR₁₂R₁₃, heteroxyclyl 4 đến 6 cạnh, C₃₋₆cycloalkyl, hoặc (CH₂)_t-OH.

11. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 hoặc 10, trong đó R_1 là heteroxyclyl 5 đến 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl 5 đến 6 cạnh được thế bằng C₁₋₃alkyl,

-N(CH₃)₂, -N(CH₂CH₂OH)CH₃, , , , , -CH₂OH, -CH₂CH₂OH, hoặc OH.

12. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, 10, hoặc 11, trong đó R_1 là heteroxyclyl 6 cạnh, hoặc heteroxyclyl 6 cạnh được thế bằng metyl hoặc etyl.

13. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R_1 là heteroxyclyl-C(O)- 6 cạnh hoặc heteroxyclyl-C(O)- 6 cạnh được thế bằng C₁₋₃alkyl.

14. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 hoặc 13, trong đó R_1 là heteroxyclyl-C(O)- 6 cạnh được thế bằng metyl.

15. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, trong đó heteroxyclyl chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N hoặc O làm nguyên tử của vòng.

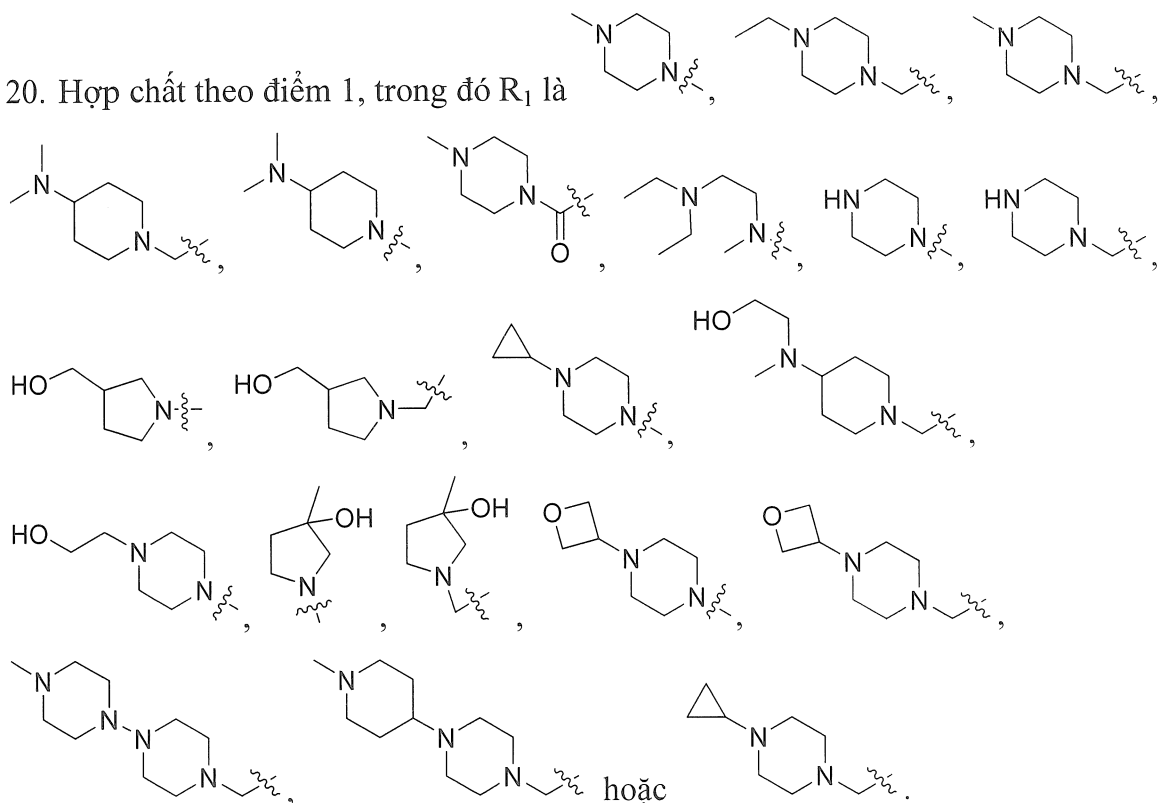
16. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, trong đó heteroxyclyl chứa một hoặc hai nguyên tử khác loại N làm nguyên tử của vòng.

17. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R_1 là -NR₁₂-C₁₋₃alkylen-NR₁₂R₁₃.

18. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 17, trong đó R₁₂ và R₁₃ mỗi nhóm độc lập là H, (CH₂)_t-OH hoặc C₁₋₃alkyl.

19. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 18, trong đó R₁₂ và R₁₃ mỗi nhóm độc lập là OH, CH₂CH₂OH, metyl hoặc etyl.

20. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R₁ là



21. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 20, trong đó m là 1.

22. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 21, trong đó n là 1.

23. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 22, trong đó t là 0, 1, hoặc 2.

24. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 23, trong đó R₂ và R₃ mỗi nhóm độc lập là H, OH, halogen, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆alkyl được thế bằng halogen, C₁₋₆alkoxy, C₁₋₆alkoxy được thế bằng halogen.

25. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 24, trong đó R₂ và R₃ mỗi nhóm độc lập là H, OH, F, Cl, CH₃, CH₂CH₃, CF₃, OCH₃, hoặc OCF₃.

26. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 25, trong đó R₂ và R₃ đều là F.

27. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:

1) 4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-metylpiiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

2) N-(5-((4-etylpiiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;

- 3) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 4) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(6-((4-metylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-3-yl)pyrimidin-2-amin;
- 5) 5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-N-(5-((4-metylpiperazin-1-yl)metyl)pyrimidin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 6) N-(5-((4-(dimetylamino)piperidin-1-yl)metyl)pyrimidin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 7) N-(5-((4-(dimetylamino)piperidin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 8) N-(5-(4-(dimetylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 9) (2-((5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyrimidin-5-yl)(4-metylpiperazin-1-yl)metanon;
- 10) (6-((5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)(4-metylpiperazin-1-yl)metanon;
- 11) N5-(2-(dietylamino)etyl)-N2-(5-flo-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-yl)-N5-metylpipridin-2,5-diamin;
- 12) N-(5-((4-etylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-(triflometyl)pyrimidin-2-amin;
- 13) N-(5-((4-etylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)-5-metylpiprimidin-2-amin;
- 14) 5-clo-N-(5-((4-etylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-4-(6-flo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyridin-8-yl)pyrimidin-2-amin;
- 15) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(4-metylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 16) N-(5-((4-etylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;

- 17) N-(5-(4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 18) N-(5-((4-(dimethylamino)piperidin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 19) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 20) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;
- 21) N-(5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)-6-(4-metyl piperazin-1-yl)pyridazin-3-amin;
- 22) 6-((4-etyl piperazin-1-yl)metyl)-N-(5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)pyridazin-3-amin;
- 23) (1-(6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)pyrolidin-3-yl)metanol;
- 24) (1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)pyrolidin-3-yl)metanol;
- 25) N-(5-(4-xyclopropylpiperazin-1-yl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 26) N-(5-((4-xyclopropylpiperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;
- 27) 2-((1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)piperidin-4-yl)(metyl)amino)ethan-1-ol;
- 28) 1-(6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)-3-metylpyrolidin-3-ol;
- 29) 1-((6-((5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)pyrimidin-2-yl)amino)pyridin-3-yl)metyl)-3-metylpyrolidin-3-ol;

30) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

31) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-(4-(oxetan-3-yl)piperazin-1-yl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

32) N-(5-((4-etyl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)-5-flo-4-(9-flo-4-metyl-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[4,5]imidazo[1,2-a]pyrazin-7-yl)pyrimidin-2-amin;

33) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4'-metyl-[1,1'-bipiperazin]-4-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin;

34) 5-flo-4-(9-flo-4-metyl-3,4-dihydro-1H-benzo[4,5]imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-7-yl)-N-(5-((4-(1-metyl)piperidin-4-yl)piperazin-1-yl)metyl)pyridin-2-yl)pyrimidin-2-amin.

28. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, trong đó hợp chất này là chất đồng phân đối ảnh (-) của hợp chất.

29. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 27, trong đó hợp chất này là chất đồng phân đối ảnh (+) của hợp chất.

30. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 29 với lượng hữu hiệu điều trị, và tá dược dược dụng.

31. Dược phẩm theo điểm 30, trong đó tỷ lệ khối lượng giữa hợp chất đã nêu so với tá dược đã nêu nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 đến khoảng 10.