

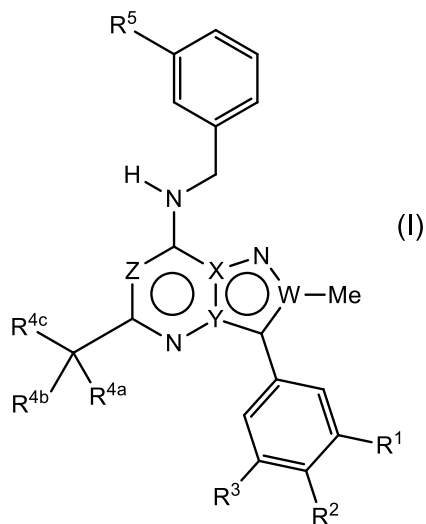


(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
1-0045261
(51)^{2020.01} C07D 487/04; A61K 31/519; A61P (13) B
31/16

(21) 1-2020-04610 (22) 15/01/2019
(86) PCT/EP2019/050983 15/01/2019 (87) WO 2019/141694 25/07/2019
(30) 1800734.4 17/01/2018 GB; 1817616.4 29/10/2018 GB
(45) 25/04/2025 445 (43) 26/10/2020 391A
(71) GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY DEVELOPMENT
LIMITED (GB)
980 Great West Road, Brentford Middlesex TW8 9GS, United Kingdom
(72) BARTON, Nicholas Paul (GB); BERTRAND, Sophie Marie (FR); DOWN, Kenneth
(GB); GRAY, Matthew (GB).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẤT ỨC CHẾ PHOSPHATIDYLINOSITOL-4-KINAZA III BETA (PI4KIIIB)
VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I) là chất ức chế hoạt tính kinaza,



trong đó R¹, R², R³, R^{4a}, R^{4b}, R^{4c}, R⁵, W, X, Y và Z được định nghĩa trong bản mô tả này. Các hợp chất này có thể sử dụng trong điều trị và ngăn ngừa lây nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm do lây nhiễm virus. Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất là chất ức chế hoạt tính kinaza và được phẩm chứa hợp chất này. Các hợp chất này có thể sử dụng trong điều trị và ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm do nhiễm virus.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Chi Enterovirus thuộc họ Picornaviridae là virus ARN mạch đơn mạch dương bao gồm nhiều yếu tố gây bệnh cho người mà có thể gây ra các bệnh rất nghiêm trọng. Các ví dụ về chúng bao gồm poliovirus, virus coxsackie B (viêm màng não vô khuẩn, viêm cơ tim, viêm tụy và ốm sốt không đặc hiệu), enterovirus-A71 (viêm màng não vô khuẩn, viêm não và liệt kiểu bại liệt), enterovirus-D68 (viêm tụy liệt mềm cấp tính) parechovirus (viêm cơ tim và viêm não). Việc nhiễm enterovirus (biến thể coxsackievirus A24 và enterovirus typ 70) chịu trách nhiệm hầu hết các trường hợp viêm kết mạc xuất huyết cấp tính (acute hemorrhagic conjunctivitis - AHC) và đã có nhiều dịch AHC và ba đại dịch từ năm 1969 (Yin-Murphy et al., British Journal of Ophthalmology, 1986, 70, 869; Nilsson et al., Journal of Virology, 2008 82, 3061). Tuy nhiên, hầu hết những người từng nhiễm enterovirus mắc các bệnh ít nghiêm trọng hơn nhiều. Cảm lạnh thông thường là một trong những bệnh thường gặp nhất ở người và thường liên quan đến một loại enterovirus khác, đó là rhinovirus ở người (HRV) mà gây ra 30-50% các trường hợp cảm lạnh.

Nhiệt độ tối ưu cho quá trình sao chép của HRV là 33-35°C, thiên về nhiễm trùng đường hô hấp trên (upper respiratory tract infection - URTI) và một bệnh thường nhẹ nhất và được giải quyết mà không cần can thiệp y tế. Tuy nhiên, URTI có thể có các biến chứng và HRV được phát hiện trong tai giữa ở khoảng 40% trẻ em dưới 7 tuổi bị viêm tai giữa tiết dịch, bao gồm các trường hợp mạn tính (Papadopoulos et al., Paediatric Allergy and Immunology, 2006: 17: 514), trong đờm ở 26% trong số 291 bệnh nhân bị viêm phế quản cấp tính (Park et al. Plos One, 2016, 11, e0165553), trong dịch hút hàm trên và bàn chải từ 15 trong số 34 bệnh nhân bị viêm xoang cấp tính, (Pitkäranta et al., Journal of Clinical Microbiology, 1997, 35, 1791 and Clinical Infectious Diseases, 2001 33, 909) và trong 29% bệnh nhân trải qua phẫu

thuật nội soi chức năng đối với viêm mũi xoang mạn tính (Abshirini et al., Jundishapur Journal of Microbiology, 2015, 8, e20068).

Nhiệt độ của đường dẫn khí lớn và trung bình của phổi cũng cho phép diễn ra sự sao chép của HRV (McFadden ER Jr, et al., J. Appl. Physiol., 1985, 58, 564) và ở các nhóm bệnh nhân nhất định sự lây nhiễm có thể gây ra bệnh rất nghiêm trọng. Ở trẻ em dưới 5 tuổi, việc nhiễm rhinovirut thường dẫn đến việc phải nhập viện (4,8 trường hợp /1000 trẻ em: Miller et al., Journal of Infectious Diseases, 2007; 195, 773), mức độ nghiêm trọng của bệnh tương tự như do nhiễm virut hợp bào hô hấp (RSV) (McMillan et al., Pediatric Infectious Disease Journal, 1993, 12, 321) và thường dẫn đến viêm tiểu phế quản và viêm phổi (Kellner et al., Acta Paediatrica Scandinavica, 1989, 78, 390; McMillan et al., Pediatric Infectious Disease Journal, 1993, 12, 321; El-Sahly et al., Clinical infectious Diseases, 2000, 31, 96; Jartti and Korppi, Pediatric Allergy and Immunology, 2011, 22, 350). Trong nghiên cứu của Asner et al. (Influenza and Other respiratory Viruses, 2014, 8, 436) phần lớn trẻ em nhiễm HRV/enterovirut bị suy giảm miễn dịch cơ bản hoặc đồng mắc các bệnh tim phổi và một điều chắc chắn là hậu quả của việc nhiễm HRV có thể đặc biệt nghiêm trọng đối với bệnh nhân có các tình trạng bệnh lý này (Anzueto et al., Chest, 2003, 123, 1664; Rotbart, Antivir. Res. 2002, 53, 83). Ví dụ, 7 trong số 22 bệnh nhân cấy ghép bị ức chế tủy xương bị nhiễm rhinovirut đã phát triển bệnh viêm phổi gây tử vong (Ghosh et al., Clinical infectious Diseases, 1999, 29, 528).

Việc nhiễm enterovirut cũng thường đi kèm với việc phát ban da (bệnh tay chân miệng, bệnh chàm da cho virut coxsackie và các phát ban da không điển hình: Hubisch et al., Pediatric Infectious Disease Journal, 2014, 33, e92; Korman et al., Journal of the American Academy of Dermatology, 2017, 76, 538; Drago et al., Future Microbiology, 2017 12, 171).

HRV là virut thường liên quan nhất đến đợt trầm trọng của bệnh hen suyễn (làm bệnh trầm trọng thêm khoảng 25% ở người lớn và 50% ở trẻ em, Nicholson et al., BMJ, 1993, 307, 982; Johnston et al., BMJ., 199, 310, 1225) và bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD: 20-26% Seemungal et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2001, 164, 1618; Papi et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2006, 173, 1114), và trong cả hai trường hợp các thử thách rhinovirut thực nghiệm đã thể hiện là làm bệnh trầm trọng thêm (Zambrano et al., J Allergy Clin Immunol., 2003, 111, 1008; Mallia et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2011, 183, 734). Việc nhiễm Rhinovirut cũng thường đi kèm với việc trầm trọng thêm chứng giãn phế quản (16 đến 25%:

Kapur et al. Arch Dis Child 2014, 99, 749; Gao et al Chest 2015, 147, 1635) và bệnh xơ nang (CF) (Etherington, J. Cystic Fibrosis 2014, 13, 49; Flight et al. Thorax, 2014, 69, 247). Trong COPD, CF và chứng giãn phế quản nghiêm trọng hơn khi đi kèm với nhiễm virus (Papi et al. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2006, 173, 1114; Etherington, J. Cystic Fibrosis, 2014, 13, 49; Kapur et al., Arch Dis Child, 2014, 99, 749) và trong mỗi trường hợp mức độ trầm trọng góp phần làm tiến triển bệnh và khả năng sống sót giảm (Liou et al., Am J Epidemiol., 2001, 153, 345; Soler-Cataluna et al., Thorax, 2005, 60, 925; Roberts et al., Intern Med J., 2012 42, 129). Phần lớn sự trầm trọng thêm gây ra bởi rhinovirus của COPD thường kéo theo việc nhiễm vi khuẩn thứ cấp sau đó (Mallia et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2012, 186, 1117; George et al., Eur Respir J., 2014; , 87). Ngoài ra, việc nhiễm HRV là một trong các yếu tố mà thể hướng hệ miễn dịch của nhũ nhi hướng đến kiểu hình hen suyễn (D. J. Jackson et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2008, 178, 667).

Sự tác động đến kinh tế xã hội của HRV rất lớn và việc điều trị thường bao gồm việc sử dụng kháng sinh không phù hợp. Người ta ước tính rằng cảm lạnh thông thường chiếm ít nhất hai mươi lăm triệu lần nghỉ làm, và gần như nhiều lần nghỉ học, hàng năm ở Mỹ (Rotbart, Antivir. Res., 2002 53, 83). Chi phí trực tiếp và gián tiếp do bệnh cảm lạnh thông thường và các biến chứng liên quan chỉ riêng ở bệnh nhân hen đã ước tính lên đến 40 tỷ đôla ở Mỹ (A. M. Fendrick et al., Arch. Intern. Med., 2003, 163, 487).

Có ba loại HRV (A, B, và C) bao gồm hơn 150 kiểu gen. HRV-A và C được phát hiện phổ biến nhất và loại còn lại có vẻ là nhóm gây bệnh nhiều hơn ít nhất là ở nhóm bệnh nhi hen suyễn (Piralla et al., Journal of Clinical Virology, 2009, 45, 311; Bizzintino et al., Eur. Respir. J., 2011, 37, 1037). Các HRV cũng có thể được chia thành 3 nhóm chính dựa trên thụ thể tế bào thông qua cách nhập bào được điều tiết. Nhóm HRV chính (khoảng 90% kiểu huyết thanh HRV-A và B) đi vào tế bào chủ thông qua sự tương tác với phân tử bám dính nội bào người (human intracellular adhesion molecule - ICAM-1). Phần còn lại khoảng ~10% virus HRV-A và B bao gồm nhóm nhỏ và có thể sử dụng thụ thể lipoprotein tỷ trọng thấp để đi vào tế bào. Các loài HRV-C được phát hiện gần đây gắn kết với thành viên họ liên quan đến cadherin người 3 (CDHR³) để tạo điều kiện cho việc xâm nhập. HRV xâm nhập vào tế bào bằng cách kích khởi quá trình nhập bào qua thụ thể, với việc tháo vỏ diễn ra trong bóng nhập bào. Sự khác biệt giữa các kiểu huyết thanh không chỉ ngăn chặn việc cơ thể phát triển tính

miễn dịch chéo, mà chúng còn gây cản trở lớn đến việc phát triển vacxin và các phương pháp đặc hiệu ngăn ngừa và điều trị virus đặc hiệu.

Bộ gen ARN của HRV trần (~8 kb) được bao quanh bởi capsit được cấu thành từ sáu mươi bản sao mỗi bốn protein cấu trúc, được ký hiệu là VP1- VP4, trong cấu hình hai mươi mặt tạo ra hạt virus có đường kính khoảng 30nm. Việc sao chép của HRV cần polymeraza ARN độc lập với ARN virus, cũng như nhiều protein phụ trợ có nguồn gốc từ tế bào chủ và virus. Bộ gen HRV được dịch mã thành polyprotein đơn, mà đầu tiên được phân tách sau khi dịch mã bằng các proteaza được mã hóa bởi virus thành ba protein, mà chính chúng được phân cắt để tạo ra ít nhất là 11 protein. Việc sao chép bộ gen của virus có thể bắt đầu chỉ một giờ sau khi lây nhiễm, và việc giải phóng gần một triệu hạt virus đã được lắp ghép hoàn chỉnh khi chết tế bào có thể diễn ra chỉ bốn giờ sau khi xâm nhập vào tế bào.

Hiện nay, không có thuốc nào được phê duyệt để sử dụng ở người nhằm chữa trị việc lây nhiễm HRV tiềm ẩn. Một vài nỗ lực để tấn công HRV trực tiếp đã cho thấy một vài hứa hẹn. 4-[2-[1-(6-methyl-3-pyridazinyl)-4-piperidinyl]-etoxy]benzoat, còn được gọi là "pirodavir," có thể có chức năng làm chất ức chế gắn kết capsit, nhưng các vấn đề về độ hòa tan, phân cắt nội bào, và chi phí đã làm giảm khả năng của nó trong việc chống lại HRV. Pleconaril (PICOVIR) được thể hiện là có hiệu quả ức chế sự sao chép của HRV, nhưng bị U.S. FDA từ chối, do có sự lo ngại đáng kể về độ an toàn. Rupintrivir, chất ức chế proteaza 3C virus có hiệu quả trong các nghiên cứu thử thách HRV thực nghiệm trên người nhưng không có hiệu quả chống lại việc lây nhiễm HRV diễn ra tự nhiên (Bauer et al., *Current Opinion in Virology*, 2017, 24, 1). Các imidazopyrazin nhất định được đề xuất là các tác nhân chống virus hiệu quả chống lại HRV và các virus khác; kiểu tác động của chúng chưa được biết rõ, mặc dù có ý kiến cho rằng nó không thông qua tác dụng của chúng đối với kinaza phụ thuộc xyclin (U.S. Pub. App. No. 2011/0166147 by Macleod et al.).

Từ những vấn đề trên, hiện vẫn có nhu cầu về các liệu pháp mới chống lại HRV và enterovirus.

Mặc dù có những khác biệt khác, các virus ARN mạch dương phụ thuộc vào một bước cơ bản duy nhất trong quá trình tổng hợp ARN phụ thuộc ARN để sao chép bộ gen virus. Bước này là cần thiết cho vòng đời của virus và các virus này được biết là cũng phụ thuộc vào nhiều protein vật chủ để bắt đầu và duy trì hoạt động polymeraza ARN phụ thuộc ARN. Nếu không có sự tương tác với các yếu tố chủ, virus không thể sao chép/sống sót. Vì thế, phương

pháp can thiệp trị liệu có thể để ức chế sự lây nhiễm virus thuộc nhóm này là ngăn chặn sự tương tác virus-tế bào chủ, đặc biệt là khi nó liên quan đến sự sao chép bộ gen của virus. Nếu các yếu tố vật chủ cần thiết cho virus, nhưng không cần thiết cho vật chủ, có thể được điều khiển, thì có thể đạt được sự ức chế đáng kể trong việc nhân lên của virus. Ngoài ra, các yếu tố chủ với lượng dồi dào có thể là các mục tiêu can thiệp đầy hứa hẹn. Điều này đặc biệt đúng nếu các lớp virus lớn phát triển khả năng tương tác với chỉ một trong một loạt các yếu tố vật chủ dồi dào. Một tập hợp các protein vật chủ mà được coi là đích tiềm năng để ức chế sự sao chép của virus là phosphatidylinositol-4-kinaza.

Phosphatidylinositol-4-kinaza (PI4K) tham gia vào một số hoạt động của tế bào, bao gồm dung hợp màng, vận chuyển bằng các túi và truyền tín hiệu tế bào, thông qua việc xúc tác quá trình phosphoryl hóa phosphatidylinositol để tạo ra phosphatidylinositol-4 phosphat (PI4P). Có một vài dạng tương đồng của PI4K mà khác nhau về một vài tính chất, bao gồm trình tự, kích thước, mô, sự định vị tế bào và chức năng.

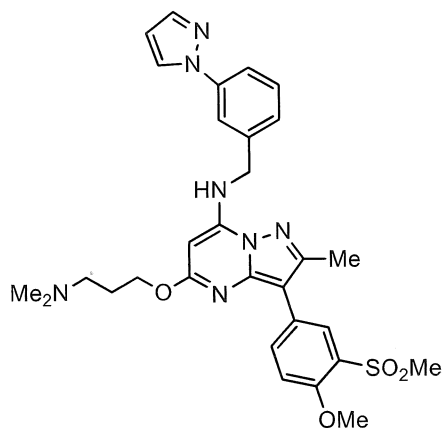
Một loại PI4K, phosphatidylinositol (loại III)-4-kinaza, beta polypeptit (PI4KIII β) (cũng được biết trong tài liệu là phosphatidylinositol 4-kinaza (III) β , PtdIns 4-kinaza (III) β , PI4KB, Pi4kcb, và PI4K92) được cho là rất quan trọng để kiểm soát các nhóm PI4P cụ thể chủ yếu trong mạng lưới golgi nơi mà nó cần để duy trì sự toàn vẹn cấu trúc của bào quan. Enzym này cũng được phát hiện trong nhân. PI4KIII β trong các nghiên cứu gần đây được hiểu là tham gia vào quá trình sao chép của một vài virus ARN, bao gồm HRV, enterovirus 68 và 71, poliovirus, virus coxsackie, virus viêm gan C, kobuvirus ở bò, virus aichi, virus rubella và các virus khác (*See, ví dụ, van der Schaar et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57, 4971; Roulin et al., *Cell Host & Microbe*, 2014, 16, 677; Mello et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2014, 58, 1546; Jun Sasaki et al., *EMBO J.* 2011, 31, 754; Hsu et al., *CELL* 2010, 141, 799; Borawski, *J. Virology* 2009, 83, 10058; Altan-Bonnet et al., *TIBS* 2012, 37, 293). Ngoài ra, hoạt tính xúc tác PI4KB đã được chứng tỏ là cần thiết cho sự nhập bào được điều tiết bởi protein gai của coronavirus SARS, virus gây hội chứng hô hấp cấp tính nặng (Yang et al., *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 8457). SARS là bệnh dịch bắt nguồn từ miền nam Trung Quốc với 8448 trường hợp mắc bệnh và 774 trường hợp tử vong ở 37 quốc gia từ tháng 11/2002 đến tháng 7/ 2003. Tác động kinh tế to lớn của sự bùng phát này đã được ước tính là thiệt hại từ 30 đến 100 tỷ đô la (Smith, *Social Science & Medicine*, 2006, 63, 3113). Đồng ý là việc ức chế PI4KB có thể làm giảm đáng kể sự sao chép

của virus ở nhiều virus ARN, và cụ thể, các virus ARN mạch dương, việc coi PI4KB là đích tiềm năng trong việc phát triển các chất kháng virus phổ rộng. Ngoài ra, các PI4 kinaza có vai trò trong sự xâm nhập và sao chép của vi khuẩn, và PI4KB đã được liên quan đến sự lây nhiễm *Legionella pneumophila* thông qua vai trò của PI4P trong việc neo giữ các protein vi khuẩn với *Legionella* nội bào chứa không bào sao chép (Clayton et al. PU PROGRESS IN LIPID RESEARCH 2013, 52 294). Chất ức chế PI4KB vì thế có thể có hiệu quả chống lại tổn thương phổi cấp tính hoặc hội chứng suy hô hấp cấp nặng đi kèm với lây nhiễm *Legionella* và có thể điều trị các bệnh lây nhiễm vi khuẩn nội bào khác.

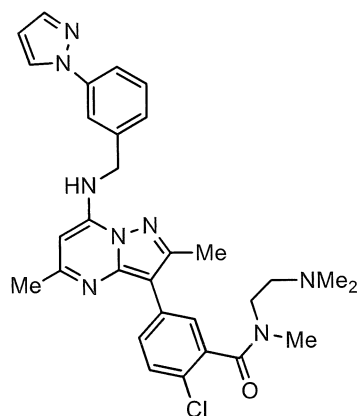
E.P. Keaney *et al.* (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 24 (2014) 3714-3718) mô tả dẫn xuất 2-alkyloxazol làm chất ức chế PI4KIII β để điều trị nhiễm virus viêm gan C.

I. Medrova *et al.* (*J. Med. Chem.*, 2017, 60(1), 100-118) mô tả nhiều dẫn xuất imidazo[1,2-b]pyridazin làm chất ức chế PI4KIII β để điều trị nhiễm virus.

J. B. Shotwell, trong tập các trang thuyết trình có tên “Chemical Optimization of Novel Inhibitor Classes for PI4KIII β : A Critical Host Factor for Enterovirus Replication” nộp cho “The 27th International Conference on Antiviral Research” (held in Raleigh, North Carolina, USA) và trình bày vào 12/5/2014 mô tả nhiều hợp chất có hoạt tính với thụ thể PI4KB. Các trang thuyết trình này chủ yếu hướng đến các hợp chất để sử dụng qua đường miệng và bao gồm trang có tên “Existing Chemotypes were optimized for IN Delivery” thể hiện hiệu quả trên phổi của việc sử dụng trong mũi hợp chất GSK3180404A và hợp chất GSK3159043A trên mô hình chuột cống. Trang này thể hiện sự tích tụ đáng kể của hợp chất trong mô phổi đối với cả hai hợp chất. Các trang sau đó có tên “Nasal Epithelial Findings Observed following IN dose” bao gồm một chuỗi hình ảnh mô học thể hiện hiện tượng loét trong khoang mũi của chuột cống và tăng sản biểu mô phế quản trong phổi chuột do việc dùng trong mũi GSK3159043.



GSK318040A



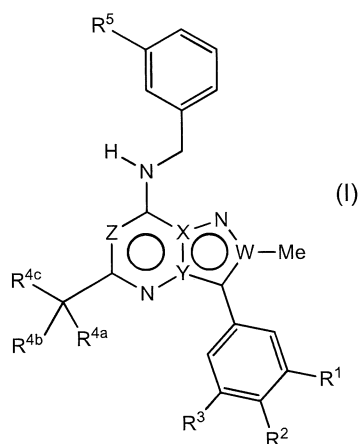
GSK3159043A

Vẫn có nhu cầu về các hợp chất làm chất ức chế PI4KIII β hiệu lực. Vẫn có nhu cầu về các hợp chất cũng có thể sử dụng làm chất ức chế PI4KIII β chọn lọc.

Cụ thể, vẫn có nhu cầu đối với hợp chất là chất ức chế PI4KIII β công hiệu và không tích lũy đáng kể trong mô cơ thể, ví dụ mô phổi, đặc biệt là khi được dùng bằng đường hít hoặc đường trong mũi. Các hợp chất như vậy có thể sử dụng trong điều trị và ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm do nhiễm virus, đặc biệt là nhiễm HRV.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế hướng đến các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng,



trong đó R^1 , R^2 , R^3 , R^{4a} , R^{4b} , R^{4c} , R^5 , W, X, Y và Z được định nghĩa trong bản mô tả này.

Các hợp chất có công thức (I) đã thể hiện là chất ức chế PI4KIII β chọn lọc và có thể sử dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus. Các rối loạn đặc biệt gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi

việc nhiễm virus bao gồm COPD, bệnh suyễn, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản và suy tim sung huyết. Ngoài ra các rối loạn bị gây ra do hoặc bị trầm trọng thêm do nhiễm rhinovirus bao gồm viêm tiểu phế quản, viêm tai giữa, viêm xoang và viêm phế quản cấp tính. Ngoài ra, việc nhiễm rhinovirus có thể gây nhiễm khuẩn thứ cấp ở trẻ em, người già và bị ức chế miễn dịch. Việc nhiễm khuẩn thứ cấp có thể gây viêm phổi.

Do đó, phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi việc nhiễm virus, phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho bệnh nhân có nhu cầu lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng.

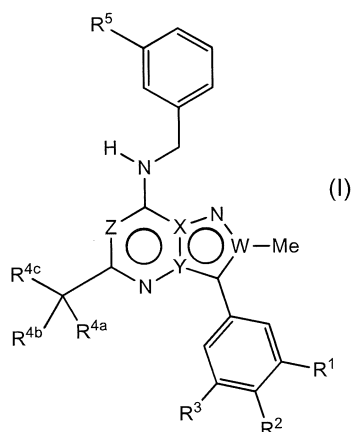
Sáng chế cũng hướng đến được phẩm chứa lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều tá dược được dùng.

Sáng chế cũng hướng đến các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng để sử dụng trong trị liệu.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng trong sản xuất thuốc để điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi việc nhiễm virus.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức chung (I) hoặc muối được dùng của nó,



trong đó

W là C, X là C, Y là N và Z là C;

W là C, X là N, Y là C và Z là C;

W là C, X là N, Y là C và Z là N;

W là N, X là C, Y là C và Z là N; hoặc

W là N, X là C, Y là C và Z là C;

R^1 là C_{1-4} alkoxy, $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$, $-S(=O)_2-N(R^{1a}R^{1b})$, $-S(=O)_2-R^{1c}$ hoặc $-S(=O)-R^{1c}$, trong đó

R^{1a} là C_{1-3} alkyl, halo C_{1-3} alkyl, hydroxy C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkoxy C_{1-3} alkyl, tetrahydropyranyl hoặc tetrahydrofuranyl; R^{1b} là H hoặc C_{1-3} alkyl, hoặc R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng từ 4 đến 7 cạnh, vòng này chứa các nguyên tử cacbon trên vòng và tùy ý một nguyên tử oxy trên vòng, trong đó vòng này là a) tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C_{1-3} alkyl, halo, C_{1-3} alkoxy, hydroxy, hydroxy C_{1-3} alkyl và oxo, mà có thể giống hoặc khác nhau hoặc b) là được ngưng tụ ortho hoặc spiro với vòng xycloalkan 4 đến 6 cạnh không được thế hoặc vòng dị vòng no 4 đến 6 cạnh không được thế; và

R^{1c} là C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkoxy, hydroxy, hydroxy C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} alkoxy C_{1-3} alkyl;

R^2 là H, C_{1-3} alkyl, halo hoặc $-O-R^{2a}$, trong đó R^{2a} là H hoặc chuỗi C_{1-3} alkyl mạch thẳng không được thế, trong đó một hoặc hai nguyên tử cacbon của chuỗi tùy ý được thay thế bằng các nguyên tử oxy;

R^3 là H hoặc halo;

và trong đó hoặc là

i) R^{4a} là H, C_{1-3} alkyl hoặc halo R^{4b} là C_{1-3} alkyl, xyclopropyl hoặc hydroxy C_{1-2} alkyl; hoặc R^{4a} và R^{4b} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no từ 3 đến 6 cạnh không được thế chứa nguyên tử cacbon của vòng và tùy ý nguyên tử oxy trên vòng, trong đó vòng này tùy ý được thế bằng một nhóm C_{1-3} alkyl hoặc một nhóm hydroxy C_{1-2} alkyl; và R^{4c} là OH, hydroxymetyl hoặc hydroxyetyl;

ii) R^{4a} là H, C_{1-3} alkyl, halo hoặc OH; R^{4b} là H, C_{1-3} alkyl hoặc halo R^{4c} là vòng không được thế được chọn từ danh sách bao gồm oxetanyl, tetrahydrofuranyl và tetrahydropyranyl; hoặc

iii) R^{4a} là H, và R^{4b} và R^{4c} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng không được thể được chọn từ danh sách bao gồm oxetan, tetrahydrofuran hoặc tetrahydropyran; và

R^5 là

- a) imidazol-2-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 1 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 5; hoặc
- b) pyrazol-1-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 5 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 4.

Theo một phương án W là C, X là N, Z là C và Y là C.

Theo một phương án khác R^{4c} là OH.

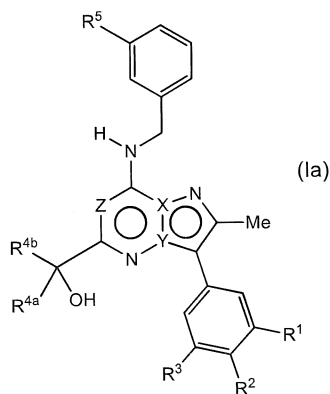
Theo một phương án R^2 là H, C_{1-3} alkyl, cloro hoặc $-O-R^{2a}$, trong đó R^{2a} là H hoặc chuỗi C_{1-3} alkyl mạch thẳng không được thế, trong đó một hoặc hai nguyên tử cacbon của chuỗi tùy ý được thay thế bằng các nguyên tử oxy; và R^3 là H hoặc floro;

Theo một phương án khác i) R^{4a} là H, C_{1-3} alkyl hoặc floro; R^{4b} là C_{1-3} alkyl, xyclopropyl hoặc hydroxy C_{1-2} alkyl; hoặc R^{4a} và R^{4b} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no từ 3 đến 6 cạnh không được thế chứa nguyên tử cacbon của vòng và tùy ý nguyên tử oxy trên vòng, trong đó vòng này tùy ý được thế bằng một nhóm C_{1-3} alkyl hoặc một nhóm hydroxy C_{1-2} alkyl; và R^{4c} là OH, hydroxymethyl hoặc hydroxyetyl;

ii) R^{4a} là H, C_{1-3} alkyl, floro hoặc OH; R^{4b} là H, C_{1-3} alkyl hoặc floro R^{4c} là vòng không được thể được chọn từ danh sách bao gồm oxetanyl, tetrahydrofuranyl và tetrahydropyranyl; hoặc

iii) R^{4a} là H, và R^{4b} và R^{4c} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng không được thể được chọn từ danh sách bao gồm oxetan, tetrahydrofuran hoặc tetrahydropyran;

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) hoặc muối được dụng của chúng:



trong đó

X là N hoặc C, Y là N hoặc C và Z là N hoặc C; trong đó X và Y không đồng thời là N hoặc đồng thời là C; và trong đó khi Z là N, X là N và Y là C;

R^1 là C_{1-4} alkoxy, $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$, $-S(=O)_2-N(R^{1a}R^{1b})$, $-S(=O)_2-R^{1c}$ hoặc $-S(=O)-R^{1c}$, trong đó

R^{1a} là C_{1-3} alkyl, halo C_{1-3} alkyl, hydroxy C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} alkoxy C_{1-3} alkyl; R^{1b} là H hoặc C_{1-3} alkyl, hoặc R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng có từ 4 đến 7 cạnh, vòng này chứa các nguyên tử cacbon trên vòng và tùy ý một nguyên tử oxy trên vòng, trong đó vòng này a) tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C_{1-3} alkyl, halo, C_{1-3} alkoxy, hydroxy và oxo, mà có thể giống hoặc khác nhau hoặc b) được ngưng tụ ortho hoặc spiro với vòng xycloalkan có từ 4 đến 6 cạnh không được thế hoặc vòng dị vòng no có từ 4 đến 6 cạnh không được thế; và

R^{1c} là C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkoxy, hydroxy, hydroxy C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} alkoxy C_{1-3} alkyl;

R^2 là H, C_{1-3} alkyl, cloro hoặc $-O-R^{2a}$, trong đó R^{2a} là H hoặc chuỗi C_{1-3} alkyl mạch thẳng không được thế, trong đó một hoặc hai nguyên tử cacbon của chuỗi tùy ý được thay thế bằng các nguyên tử oxy;

R^3 là H hoặc floro;

R^{4a} là H hoặc metyl;

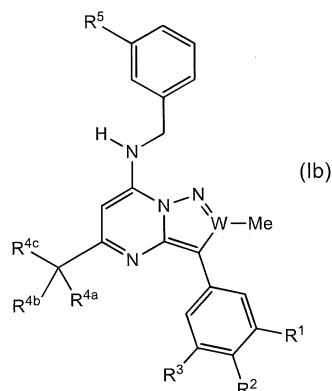
R^{4b} là C_{1-3} alkyl hoặc hydroxy C_{1-2} alkyl; và

R^5 là

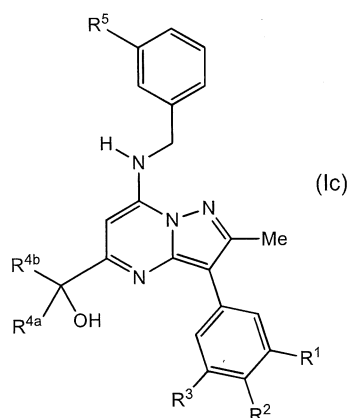
- a) imidazol-2-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 1 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 5; hoặc
- b) pyrazol-1-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 5 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 4.

Theo một phương án, X là N, Z là C và Y là C.

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



Theo một phương án khác, hợp chất là hợp chất có công thức (Ic):



Theo một phương án R^1 là $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$ hoặc $-S(=O)_2-R^{1c}$. Theo một phương án khác R^1 là $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$.

Theo một phương án R^{1a} là hydroxy C_{1-3} alkyl hoặc tetrahydropyranyl. Theo một phương án R^{1a} là hydroxy C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác R^{1a} là 3-hydroxy-1-propyl, 2-hydroxy-1-ethyl, 3-hydroxy-2-propyl hoặc 4-tetrahydropyranyl.

Theo một phương án R^{1b} là C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác R^{1b} là methyl hoặc ethyl.

Theo một phương án khác, R^{1a} là hydroxy C_{1-3} alkyl và R^{1b} là C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác R^{1a} là 3-hydroxy-1-propyl và R^{1b} là C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác, R^{1a}

là 3-hydroxy-2-propyl và R^{1b} là C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác, R^{1a} là 3-hydroxy-1-propyl và R^{1b} là methyl. Theo một phương án khác, R^{1a} là 3-hydroxy-2-propyl và R^{1b} là methyl. Theo một phương án khác R^{1a} là 2-hydroxy-1-ethyl và R^{1b} là ethyl. Theo một phương án khác, R^{1a} là 3-hydroxy-2-propyl và R^{1b} là methyl. Theo một phương án khác, R^{1a} là 4-tetrahydropyranyl và R^{1b} là methyl.

Theo một phương án, R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng no có từ 4 đến 7 cạnh, vòng này chứa các nguyên tử cacbon trên vòng và tùy ý một nguyên tử oxy trên vòng, trong đó vòng này a) tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm được chọn từ C_{1-3} alkyl, halo, C_{1-3} alkoxy, hydroxy, hydroxy C_{1-3} alkyl và oxo, mà có thể giống hoặc khác nhau hoặc b) được ngưng tụ ortho hoặc spiro với vòng xycloalkan có từ 4 đến 6 cạnh không được thế hoặc vòng dị vòng no có từ 4 đến 6 cạnh không được thế.

Theo một phương án, R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng pyrrolidin tùy ý được thế. Theo một phương án khác vòng pyrrolidin được thế bằng C_{1-3} alkyl, hydroxy hoặc hydroxy C_{1-3} alkyl.

Theo một phương án, R^{1c} là hydroxy C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác R^{1c} là 2-hydroxy-1-ethyl.

Theo một phương án, R^2 là C_{1-3} alkyl, cloro hoặc $-O-R^{2a}$. Theo một phương án khác R^2 là C_{1-3} alkyl, cloro hoặc metoxy.

Theo một phương án, R^3 là H hoặc floro; Theo một phương án khác, R^3 là H.

Theo một phương án R^{4a} là methyl.

Theo một phương án R^{4b} là C_{1-3} alkyl. Theo một phương án khác, R^{4b} hoặc methyl hoặc ethyl. Theo một phương án khác R^{4b} là methyl.

Theo một phương án, R^{4a} là methyl và R^{4b} là methyl.

Theo một phương án, R^{4a} là C_{1-3} alkyl, R^{4b} là C_{1-3} alkyl và R^{4c} là OH. Theo một phương án khác, R^{4a} là methyl, R^{4b} là methyl và R^{4c} là OH.

Theo một phương án R^5 là imidazol-2-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 1 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 5. Theo một phương án khác R^5 là 1-methyl-1H-imidazol-2-yl.

Theo một phương án hợp chất là hợp chất có công thức (I) và:

W là C, X là N, Z là C và Y là C;

R^1 là $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$ hoặc $-S(=O)_2-R^{1c}$, trong đó R^{1a} là hydroxy C_{1-3} alkyl và R^{1b} là C_{1-3} alkyl; hoặc R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng pyrrolidin tùy ý được thế; và trong đó R^{1c} là hydroxy C_{1-3} alkyl;

R^2 là C_{1-3} alkyl, cloro hoặc $-O-R^{2a}$;

R^3 là H;

R^{4a} là methyl;

R^{4b} là C_{1-3} alkyl;

R^{4c} là OH; và

R^5 là imidazol-2-yl tùy ý được thế bằng nhóm C_{1-3} alkyl tại vị trí số 1 và tùy ý được thế bằng nhóm methyl tại vị trí số 5.

Theo một phương án hợp chất là hợp chất có công thức (I) và:

W là C, X là N, Z là C và Y là C;

R^1 là $-C(=O)N(R^{1a}R^{1b})$, trong đó R^{1a} là hydroxy C_{1-3} alkyl và R^{1b} là C_{1-3} alkyl; hoặc R^{1a} và R^{1b} , cùng với nitơ mà chúng gắn vào, tạo thành vòng pyrrolidin tùy ý được thế được thế bằng C_{1-3} alkyl, hydroxy hoặc hydroxy C_{1-3} alkyl;

R^2 là C_{1-3} alkyl, cloro hoặc metoxy;

R^3 là H;

R^{4a} là methyl;

R^{4b} là methyl;

R^{4c} là OH; và

R^5 là 1-methyl-1H-imidazol-2-yl.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) được chọn từ nhóm bao gồm:

2-clo-N-etyl-N-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(1-hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)benzamid (Hợp chất 15);

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid (Hợp chất 17);

N-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenamid (Hợp chất 19);

(*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metylbenamid (Hợp chất 20);

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benamid (Hợp chất 21);

(*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimetylbenamid (Hợp chất 22);

(*R*)-(2-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)(5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metylphenyl)metanon (Hợp chất 25);

(*S*)-(5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metylphenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon (Hợp chất 29);

5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxi-*N*-metylbenamid (Hợp chất 32); và

(*R*)-(2-(hydroxymetyl)pyrolidin-1-yl)(5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxiphenyl)metanon (Hợp chất 36);

N-etyl-N-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-2-metylbenzamid (Hợp chất 38);

N-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamid (Hợp chất 43);

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetyl-N-(tetrahydrofuran-3-yl)benzamid (Hợp chất 59);

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N-(2-hydroxypropyl)-N,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 62);

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N-(2-hydroxypropyl)-N,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 2 (Hợp chất 63);

2-clo-N-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N-metylbenzamid (Hợp chất 37);

N-((S)-1-Hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 80);

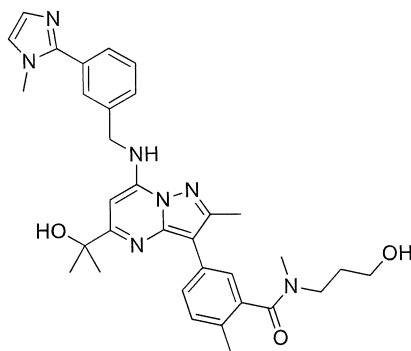
N-((S)-1-Hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 2 (Hợp chất 81);

5-(5-(1-Hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N-(3-hydroxypropyl)-N,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 66); và

5-(5-(1-Hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N-(3-hydroxypropyl)-N,2-dimetylbenzamid chất đồng phân 2 (Hợp chất 67);

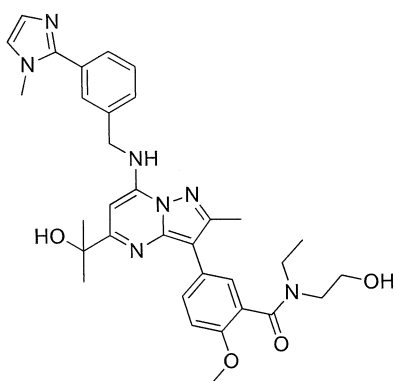
hoặc muối được dùng của bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) là 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid (Hợp chất 17)



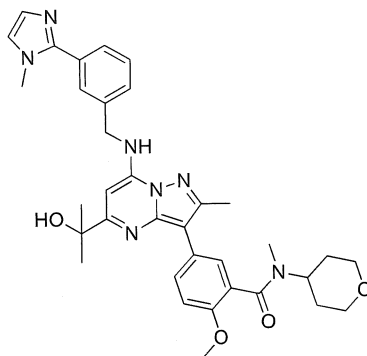
hoặc muối được dùng của nó.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) là *N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenamid (Hợp chất 19)



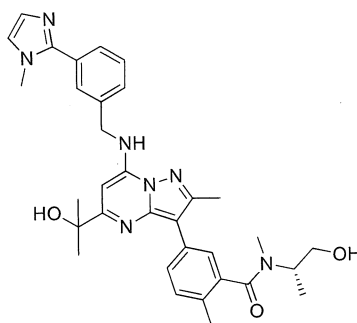
hoặc muối được dùng của nó.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) là 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid (Hợp chất 21)



hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) là (S)-N-(1-hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamid (Hợp chất 22)



hoặc muối được dụng của nó.

Các thuật ngữ và định nghĩa

Alkyl là gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro ra khỏi alkan không vòng. Ví dụ, C₁₋₄alkyl là alkyl chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Alkyl có thể là chuỗi mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Các ví dụ về C₁₋₄alkyl là metyl, etyl, n-propyl, n-butyl, iso-propyl, iso-butyl, sec-butyl và tert-butyl.

Alkoxy là nhóm có công thức “-O-R” trong đó R là alkyl (như được xác định ở trên). Ví dụ, C₁₋₄alkoxy là alkoxy chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về C₁₋₄alkoxy là metoxy, etoxy, n-propoxy, n-butoxy, iso-propoxy, iso-butoxy, sec-butoxy và tert-butoxy.

Halo để chỉ gốc halogen, tức là floro, cloro, bromo hoặc iodo.

Haloalkyl là alkyl (như được xác định ở trên) được thế bằng một hoặc nhiều halo (như được xác định ở trên), mà halo có thể giống hoặc khác nhau. Ví dụ, haloC₁₋₃alkyl là haloalkyl

chứa từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về haloC₁₋₃alkyl là monoflometyl, diflometyl, triflometyl và 1-clo-2-floetyl.

Hydroxyalkyl là alkyl (như được xác định ở trên) được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế hydroxy. Ví dụ, hydroxyC₃alkyl là hợp chất có công thức $-(CH_2)_3OH$ (trong đó “-” để chỉ nguyên tử được gắn vào hợp chất có công thức (I)).

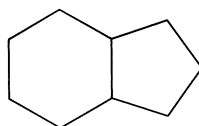
Alkoxyalkyl là alkyl (như được xác định ở trên) được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế alkoxy. Ví dụ, C₃alkoxyC₂alkyl là hợp chất có công thức $-(CH_2)_2O(CH_2)_2CH_3$ (trong đó “-” để chỉ nguyên tử được gắn vào hợp chất có công thức (I)).

Oxo là gốc hóa trị hai có công thức $=O$.

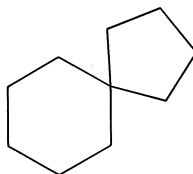
Vòng dị vòng no có từ 4 đến 6 cạnh là đơn vòng và có các nguyên tử cacbon của vòng và các nguyên tử khác loại của vòng được chọn từ nhóm nitơ, oxy và lưu huỳnh. Theo một phương án, vòng dị vòng chứa 1 hoặc 2 nguyên tử khác loại của vòng. Các ví dụ là pyrrolidin, dioxolan, imidazolidin, pyrazolidin, piperidin, dioxan, morpholin, dithian, thiomorpholin và piperazin.

Vòng xycloalkan có từ 4 đến 6 cạnh không chứa các nguyên tử khác loại của vòng bất kỳ và là vòng no và đơn vòng. Các ví dụ là xyclobutan, xyclopentan và xyclohexan.

“Hệ vòng ngưng tụ ortho” bao gồm hai vòng chỉ có hai nguyên tử và một liên kết chung, chẳng hạn.



‘Hệ vòng ngưng tụ spiro’ bao gồm hai vòng được nối tại cùng một nguyên tử cacbon, chẳng hạn



‘Được thế’ khi đề cập đến một nhóm chỉ ra rằng nguyên tử hydro được gắn vào nguyên tử thành phần trong một nhóm được thay thế. Nên hiểu rằng thuật ngữ ‘được thế’ bao gồm quy định ngầm rằng việc thế như vậy phù hợp với hóa trị cho phép của nguyên tử được thế

và phần tử thể và việc thể này dẫn đến hợp chất ổn định (tức là hợp chất không tự trải qua quá trình biến đổi như sắp xếp lại, vòng hóa, hoặc khử). Theo các phương án nhất định, một nguyên tử có thể được thể bằng nhiều hơn một phần tử thể miễn là việc thể này là theo hóa trị được phép của nguyên tử. Các phần tử thể thích hợp được định nghĩa trong bản mô tả này cho mỗi nhóm được thể hoặc tùy ý được thể.

“Dược dụng” để chỉ các hợp chất, các vật liệu, các chế phẩm, và các dạng liều dùng mà, trong phạm vi y tế, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô người và động vật mà không có phản ứng độc hại, kích ứng, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Trong suốt phần mô tả và yêu cầu bảo hộ dưới đây, trừ khi tình huống yêu cầu nếu không thì, từ "bao gồm" và các biến thể chẳng hạn như "gồm có" và "gồm", sẽ được hiểu là ngụ ý bao hàm sự bao gồm số nguyên hoặc bước đã định hoặc nhóm các số nguyên nhưng không loại trừ số nguyên hoặc bước hoặc nhóm số nguyên hoặc bước khác bất kỳ.

Các hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) và muối dược dụng của chúng có thể tồn tại ở dạng rắn hoặc lỏng. Ở trạng thái rắn, chúng có thể tồn tại ở dạng tinh thể hoặc không kết tinh, hoặc dạng hỗn hợp của chúng. Khi ở dạng tinh thể, người có kỹ năng trong lĩnh vực có thể đánh giá được rằng các solvat dược dụng có thể được tạo ra trong đó các phân tử dung môi được kết hợp vào trong mạng tinh thể trong quá trình kết tinh. Solvat có thể liên quan đến các dung môi không chứa nước như etanol, rượu *iso*-propylic, N,N-dimetylformamit (DMF), dimethylsulfoxit (DMSO), axit axetic, etanolamin, và etyl axetat, hoặc chúng có thể liên quan đến nước làm dung môi mà được kết hợp thành mạng tinh thể. Các solvat trong đó nước là dung môi mà được kết hợp vào trong mạng tinh thể thường được gọi là “hydrat.” Các hydrat bao gồm hydrat tỷ lệ cũng như chế phẩm chứa lượng nước có thể thay đổi được.

Các hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) và muối dược dụng của chúng tồn tại ở dạng tinh thể, bao gồm các solvat khác nhau của chúng, có thể thể hiện dạng đa hình (tức là khả năng xuất hiện ở các cấu trúc tinh thể khác nhau). Các dạng tinh thể khác nhau này thường được biết là “dạng đa hình.” Sáng chế bao gồm các dạng đa hình như vậy. Các dạng đa hình có thành phần hóa học giống nhau nhưng khác nhau ở sự xếp chặt, sự sắp xếp hình học, và các đặc tính mô tả khác của trạng thái rắn kết tinh. Các dạng đa hình vì thế có thể có các đặc tính vật lý khác nhau như hình dạng, tỷ trọng, khả năng biến dạng, độ ổn định, và đặc tính hòa tan. Các dạng đa hình thường có điểm nóng chảy, phổ IR, và phổ nhiễu xạ tia X trên

mẫu bột khác nhau, mà có thể được sử dụng để nhận diện. Sẽ đánh giá được rằng các dạng đa hình khác nhau có thể được sản xuất, ví dụ, bằng cách thay đổi hoặc điều chỉnh các điều kiện phản ứng, được sử dụng trong việc tạo ra hợp chất. Ví dụ, các thay đổi về nhiệt độ, áp suất, hoặc dung môi có thể thu được dạng đa hình. Ngoài ra, một dạng đa hình có thể tự chuyển đổi thành dạng đa hình khác trong các điều kiện nhất định.

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị, mà giống với các hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) và muối được dung của chúng, nhưng thực tế là một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng một nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường thấy trong tự nhiên. Các ví dụ về các chất đồng vị mà có thể kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy và flo, như ^3H , ^{11}C , ^{14}C và ^{18}F .

Hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) có thể chứa một hoặc nhiều tâm bất đối xứng (còn được gọi là tâm bất đối) và có thể, vì thế, tồn tại ở dạng các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang riêng biệt, hoặc các dạng chất đồng phân lập thể khác, hoặc hỗn hợp của chúng. Tâm bất đối, như nguyên tử cacbon bất đối, cũng có thể có mặt trong phân tử thể như nhóm alkyl. Khi hóa học lập thể của tâm bất đối có mặt trong công thức (I), hoặc trong cấu trúc hóa học bất kỳ được minh họa ở đây, không được chỉ ra, cấu trúc này được dự định bao gồm chất đồng phân lập thể bất kỳ và tất cả hỗn hợp của chúng. Vì thế, hợp chất có công thức (I) chứa một hoặc nhiều tâm bất đối có thể được sử dụng làm các cải biến raxemic bao gồm các hỗn hợp raxemic và raxemat, hỗn hợp làm giàu về mặt đồng phân đối ảnh, hoặc các chất đồng phân lập thể riêng biệt tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh.

Các chất đồng phân lập thể riêng biệt của hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) chứa một hoặc nhiều tâm bất đối xứng mà có thể được phân giải bằng phương pháp đã biết với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực. Ví dụ, phương pháp phân giải này có thể được thực hiện (1) bằng cách tạo ra muối của chất đồng phân không đối quang, phức chất hoặc các dẫn xuất khác; (2) bằng phản ứng chọn lọc với chất phản ứng đặc hiệu chất đồng phân lập thể, ví dụ bằng phản ứng oxy hóa hoặc khử nhờ enzym; hoặc (3) bằng sắc ký lỏng hoặc khí-lỏng trong môi trường bất đối, ví dụ, trên giá thể bất đối như silic oxit với phối tử bất đối giới hạn hoặc sự có mặt của dung môi bất đối. Sẽ đánh giá được rằng nơi mà chất đồng phân lập thể mong muốn được chuyển hóa thành một thực thể hóa học khác bằng một trong các quy trình phân tách được mô tả ở trên, cần một bước nữa để giải phóng dạng mong

muối. Theo cách khác, các chất đồng phân lập thể cụ thể có thể được tổng hợp bằng cách tổng hợp không đối xứng bằng các chất phản ứng, cơ chất, chất xúc tác hoặc dung môi hoạt động quang học, hoặc bằng cách chuyển hóa một chất đồng phân đối ảnh thành chất đồng phân lập thể khác bằng phép biến đổi không đối xứng.

Được hiểu rằng ở đây khi nói đến hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) hoặc muối được dụng của chúng thì sẽ bao gồm hợp chất có công thức (I) và công thức (Ia) tương ứng ở dạng bazơ tự do, hoặc ở dạng muối được dụng của chúng. Vì thế, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I). Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến muối được dụng của hợp chất có công thức (I).

Các muối được dụng bao gồm, trong số những loại khá, được mô tả trong Berge, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, hoặc các muối được dụng được liệt kê trong P H Stahl and C G Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts; Properties, Selection and Use, Second Edition* Stahl/Wermuth: Wiley- VCH/VHCA, 2011

Các muối phi được dụng có thể được sử dụng, ví dụ các chất trung gian trong điều chế hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia) hoặc muối được dụng của chúng. Theo cách khác các muối phi được dụng có công thức (I) và công thức (Ia) được bao gồm ở đây.

Các muối được dụng thích hợp có thể bao gồm các muối cộng axit.

Các muối cộng axit như vậy có thể được tạo thành bằng phản ứng của hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia) (mà, ví dụ chứa amin bazơ hoặc nhóm chức bazơ khác) với axit thích hợp, tùy ý trong dung môi thích hợp như dung môi hữu cơ, để thu được muối mà có thể được tách bằng nhiều cách, bao gồm kết tinh và lọc.

Các muối có thể được điều chế tại chỗ trong quá trình tách và tinh chế cuối cùng các hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia). Nếu hợp chất bazơ có công thức (I) hoặc công thức (Ia) được tách ở dạng muối, dạng bazơ tự do tương ứng có thể được điều chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực, bao gồm xử lý muối bằng các bazơ vô cơ hoặc hữu cơ.

Sẽ được hiểu rằng nếu một hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia) chứa hai hay nhiều gốc bazơ, hệ số tỷ lệ tạo thành muối có thể bao gồm 1, 2 hoặc nhiều đương lượng axit. Các muối như vậy có thể chứa 1, 2 hoặc nhiều ion trái dấu axit, ví dụ, muối dihydroclorua. Dạng tỷ lệ và không tỷ lệ của muối được dụng của hợp chất có công

thức (I) hoặc công thức (Ia) được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, bao gồm muối dưới tỷ lệ, ví dụ trong đó ion trái dấu chứa nhiều hơn một proton axit.

Các muối cộng axit được dùng điển hình bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, 4-axetamidobenzoat, axetat, adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzensulfonat (besylat), benzoat, bisulfat, bitatrat, butyrat, canxi edetat, camphorat, camphorsulfonat (camsylat), caprat (decanoat), caproat (hexanoat), caprylat (octanoat), xinnamat, xitrat, cyclamat, digluconat, 2,5-dihydroxybenzoat, disucxinat, dodexylsulfat (estolat), edetat (etylendiamintetraaxetat), estolat (lauryl sulfat), etan-1,2-disulfonat (edisylat), etansulfonat (esylat), format, fumarat, galactarat (mucat), gentisat (2,5-dihydroxybenzoat), glucoheptonat (gluxeptat), gluconat, glucuronat, glutamat, glutarat, glyxerophosphorat, glycolat, hexylresorxinat, hipurat, hydrabamin (*N,N'*-di(dehydroabietyl)-etylendiamin), bromhydric, clohydric, hydroiodua, hydroxynaphtoat, isobutytrat, lactat, lactobionat, laurat, malat, maleat, malonat, mandelat, metansulfonat (mesylat), metylsulfat, mucat, naphtalen-1,5-disulfonat (napadisylat), naphtalen-2-sulfonat (napsylat), nicotinat, nitrat, oleat, palmitat, *p*-aminobenzenesulfonat, *p*-aminosalixyclat, pamoat (embonat), pantothenat, pectinat, persulfat, phenylaxetat, phenyletylbarbiturat, phosphat, polygalacturonat, propionat, *p*-toluensulfonat (tosylat), pyroglutamat, pyruvat, salixylat, sebacat, stearat, subaxetat, sucxinat, sulfamat, sulfat, tannat, tatrat, teoclat (8-clotheophyllinat), thioxyanat, triethiodua, undecanoat, undexylenat, và valerat.

Các hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia) và muối của chúng và muối được dùng của chúng bao gồm solvat (bao gồm hydrat), phức chất, dạng đa hình, , các dẫn xuất đánh dấu phóng xạ và các chất đồng phân lập thể của các hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (Ia) và muối được dùng của chúng, ở đây đều để chỉ “hợp chất theo sáng chế”.

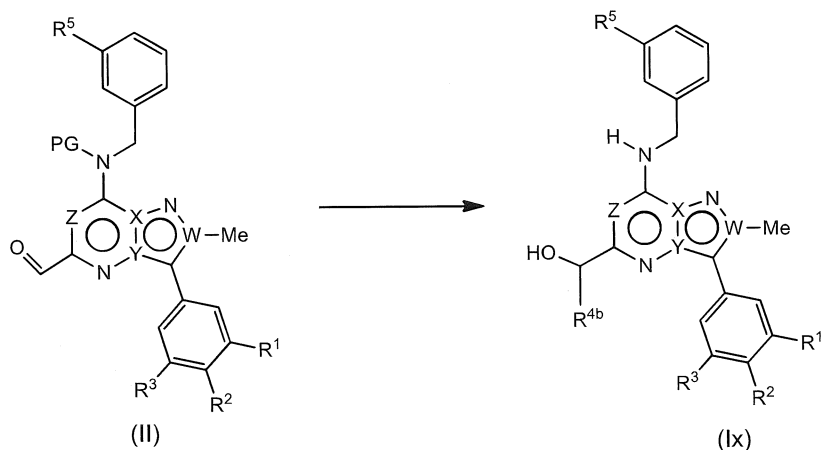
Các quy trình chung

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo nhiều cách khác nhau. Trong các sơ đồ phản ứng dưới đây và sau đây, trừ khi được quy định khác R^1 đến R^5 , R^{4a} , R^{4b} , R^{4c} , R^5 , W, X, Y và Z là như được định nghĩa trong khía cạnh thứ nhất. Trong suốt bản mô tả, công thức tổng quát được đặt tên bằng các chữ số La Mã (I), (II), (III), (IV) etc.

Quy trình chung với công thức (I)

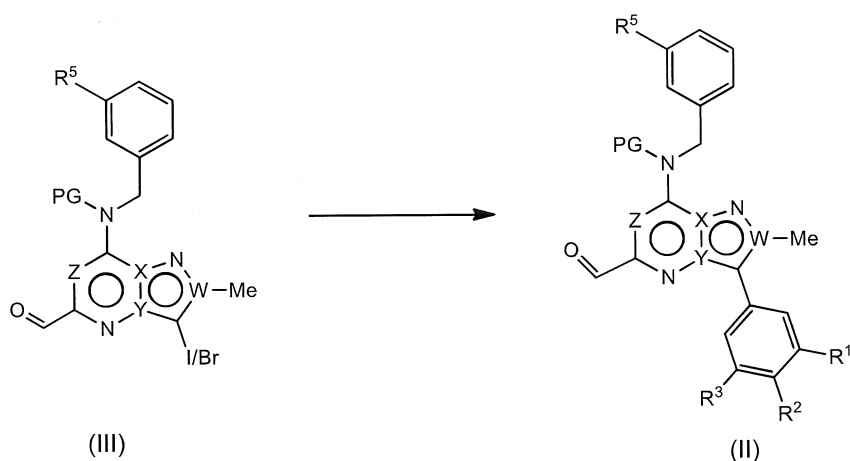
Các hợp chất có công thức (Ix), tức là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^{4a} là H và R^{4c} là OH, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 1 bằng cách xử lý (II) với thuốc thử Grignard thích hợp (như metylmagie bromua) trong dung môi (ví dụ THF) sau đó khử bảo vệ bằng axit thích hợp (ví dụ HCl 4 M trong 1,4-dioxan) trong dung môi (ví dụ metanol).

Sơ đồ 1



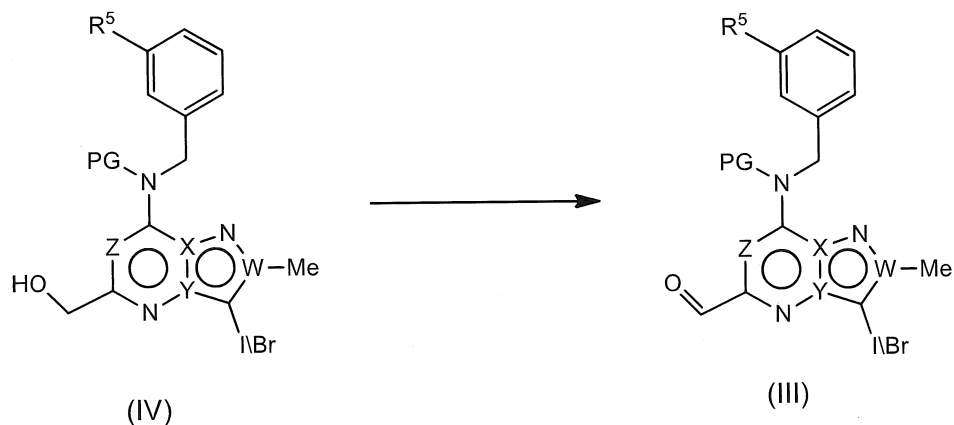
Các hợp chất có công thức (II) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 2 bằng cách xử lý các hợp chất có công thức (III) với boronic este (ví dụ 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol) trong dung môi (ví dụ 1,4-dioxan và nước) với sự có mặt của chất xúc tác [ví dụ PdCl₂(dppf)] và bazơ (ví dụ kali florua).

Sơ đồ 2



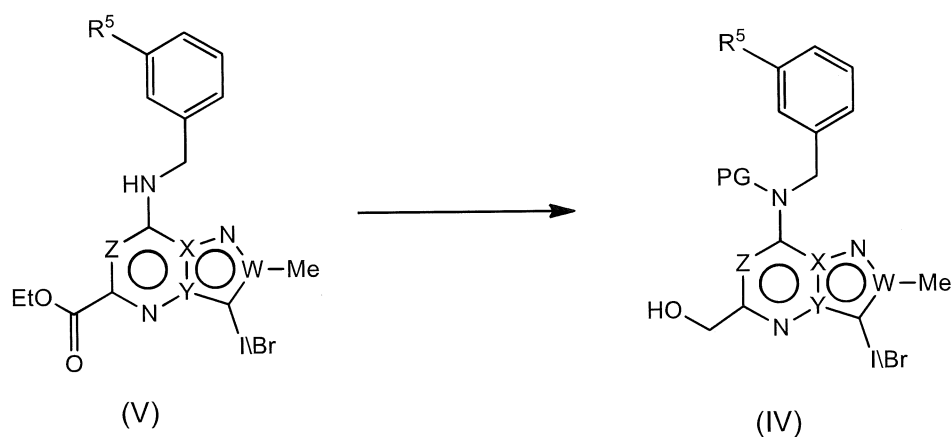
Các hợp chất có công thức (III) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 3 từ các hợp chất có công thức (IV) bằng cách xử lý (IV) với chất oxy hóa thích hợp (ví dụ DMP) trong dung môi (ví dụ DCM).

Sơ đồ 3



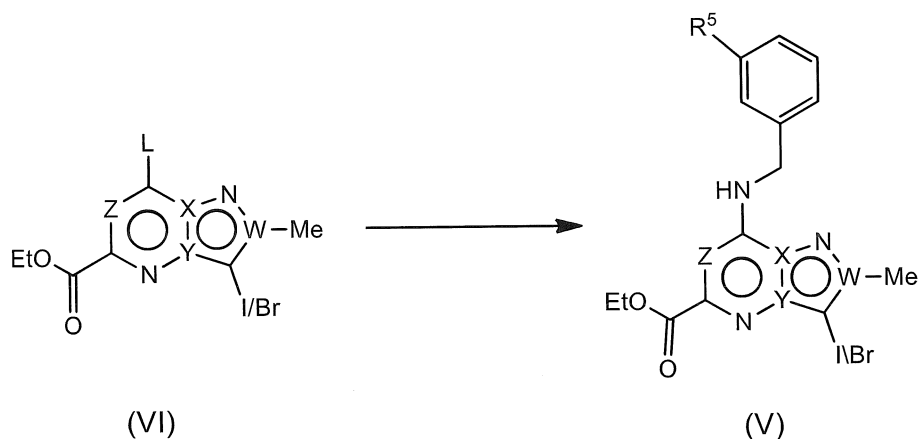
Các hợp chất có công thức (IV) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 4 từ các hợp chất có công thức (V). Đầu tiên, amin được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ amin thích hợp (ví dụ *tert*-butylcarbamate thông qua việc xử lý bằng các chất phản ứng thích hợp ví dụ di-*tert*-butyl dicarbonat, DIPEA và DMAP trong DCM). Tiếp theo, este được khử thành rượu bậc một bằng chất khử thích hợp (ví dụ natri bohydrua) trong dung môi (ví dụ etanol).

Sơ đồ 4



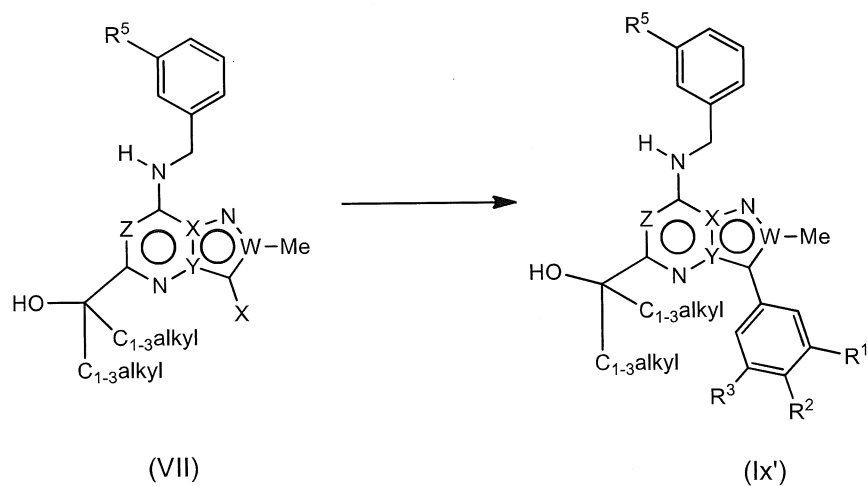
Các hợp chất có công thức (V) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 5 từ các hợp chất có công thức (VI) (trong đó L là Cl hoặc Br hoặc hỗn hợp của các hợp chất có công thức (VI) trong đó L là Cl và Br) bằng cách xử lý bằng amin (ví dụ (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metylamin) và bazơ (ví dụ DIPEA) trong dung môi (ví dụ DMSO).

Sơ đồ 5



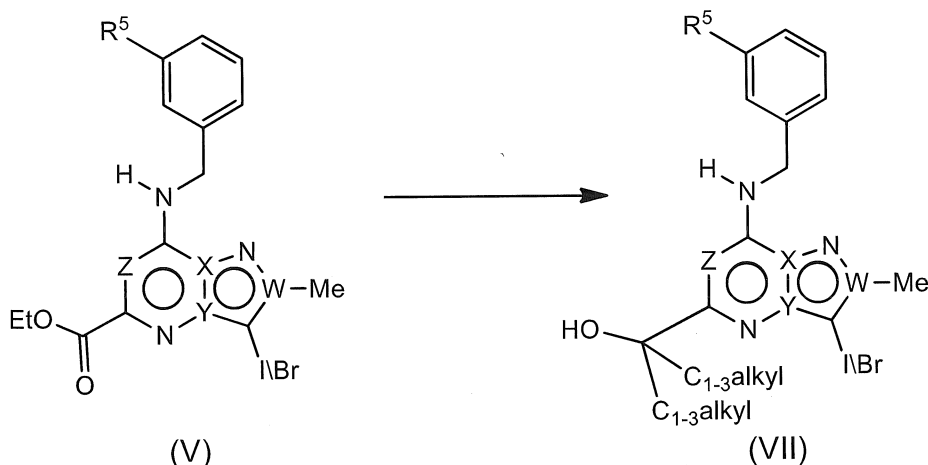
Các hợp chất có công thức (Ix'), tức là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^{4a} và R^{4b} là C_{1-3} alkyl và R^{4c} là OH, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 6 bằng cách xử lý (VII) bằng boronic este (ví dụ *N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid) với sự có mặt của chất xúc tác [ví dụ $PdCl_2(dppf)$] trong dung môi (ví dụ 1,4-dioxan và nước) với bazơ (ví dụ natri cacbonat).

Sơ đồ 6



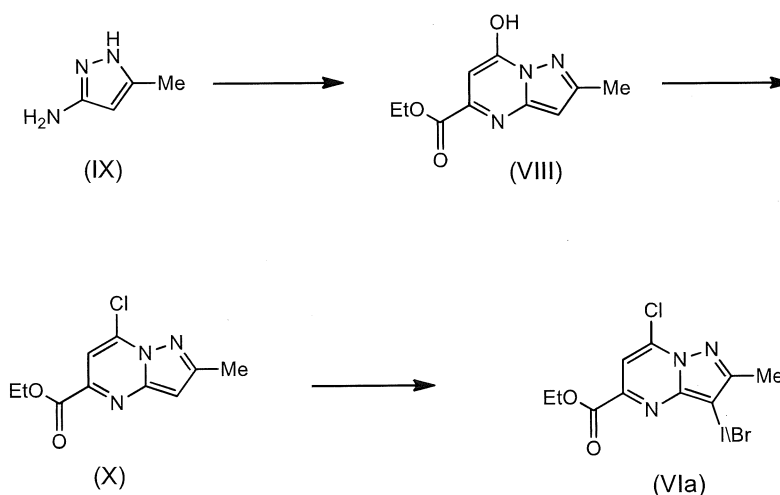
Các hợp chất có công thức (VII) có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (V) theo sơ đồ phản ứng 7 bằng cách xử lý (V) bằng thuốc thử Grignard (ví dụ metylmagie bromua) trong dung môi (ví dụ DCM). Để điều chế hợp chất (V) xem Sơ đồ 5.

Sơ đồ 7



Các hợp chất có công thức (VIa) tức là các hợp chất có công thức (VI) (xem sơ đồ 5) trong đó W là C, X là N, Y là C, Z là C và L là Cl, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 8. Đầu tiên các hợp chất có công thức (VIII) có thể thu được bằng cách ngưng tụ este (ví dụ muối natri của diethyl oxalacetat) và các hợp chất có công thức (IX) bằng cách sử dụng axit (như HCl) trong dung môi (như ethanol) với nhiệt (ví dụ 85 °C) để thu được các hợp chất có công thức (VIII). Tiếp theo xử lý (VIII) bằng thuốc thử clo hóa (ví dụ POCl₃) với nhiệt (ví dụ ở 90 °C) thu được các hợp chất có công thức (X). Xử lý các hợp chất có công thức (X) bằng nguồn hoặc brom [ví dụ N-iodosuccinimit(NIS) hoặc N-bromosuccinimit(NBS)] trong dung môi (ví dụ DCM) thu được các hợp chất có công thức (VIa).

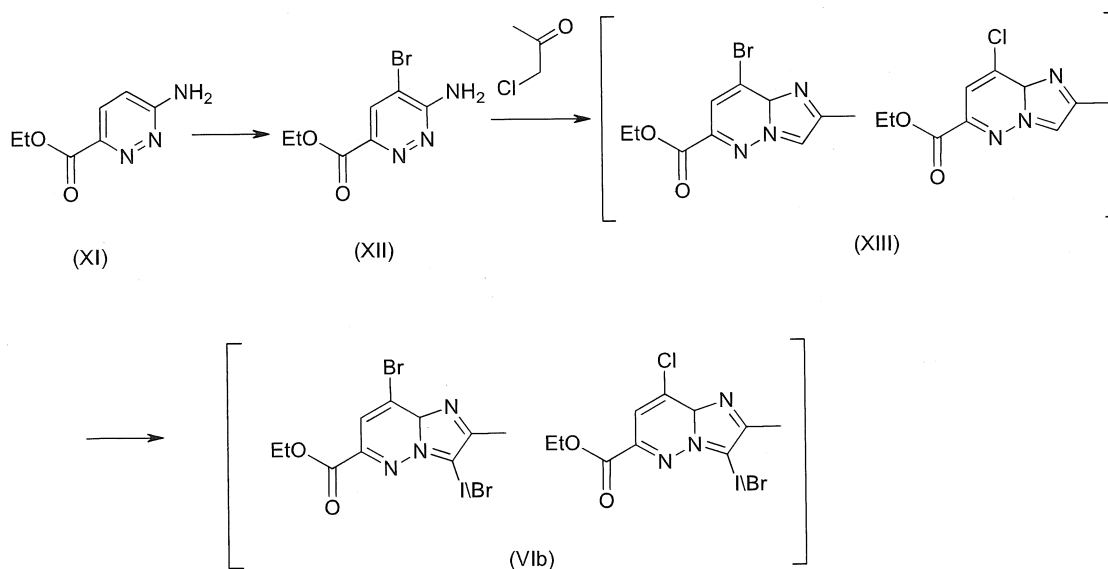
Sơ đồ 8



Hỗn hợp của các hợp chất có công thức (VIb), tức là các hợp chất có công thức (VI) (xem sơ đồ 5) trong đó W là C, X là C, Y là N, Z là C và L là Cl và Br, có thể được điều chế

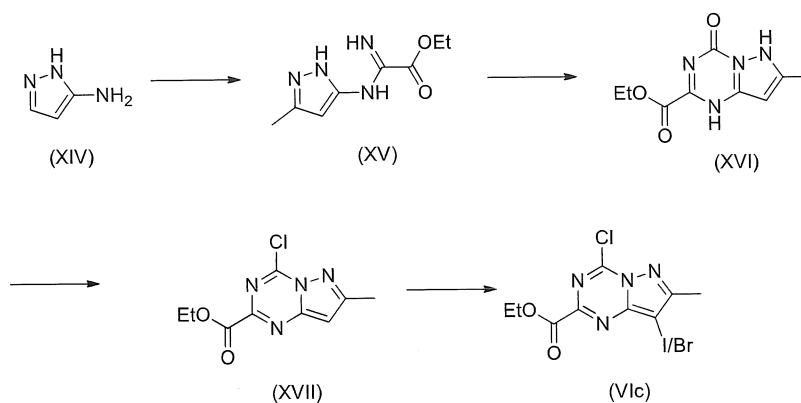
theo sơ đồ phản ứng 9 trong nhiều bước từ các hợp chất (XI). Đầu tiên, các hợp chất có công thức (XI) được xử lý bằng chất brom hóa ví dụ N-bromosuccinimit và natri bicacbonat trong dung môi (ví dụ metanol) để thu được các hợp chất có công thức (XII). Tiếp theo, việc xử lý các hợp chất có công thức (XII) bằng 1-clopropan-2-on ở nhiệt độ cao (ví dụ 90°C) thu được hỗn hợp của các hợp chất có công thức (XIII). Iot hóa hoặc brom hóa hỗn hợp của các hợp chất có công thức (XIII) bằng, ví dụ N-iodosuccinimit hoặc N-bromosuccinimit, trong dung môi (ví dụ DMF) thu được hỗn hợp của các hợp chất có công thức (VIb).

Sơ đồ 9



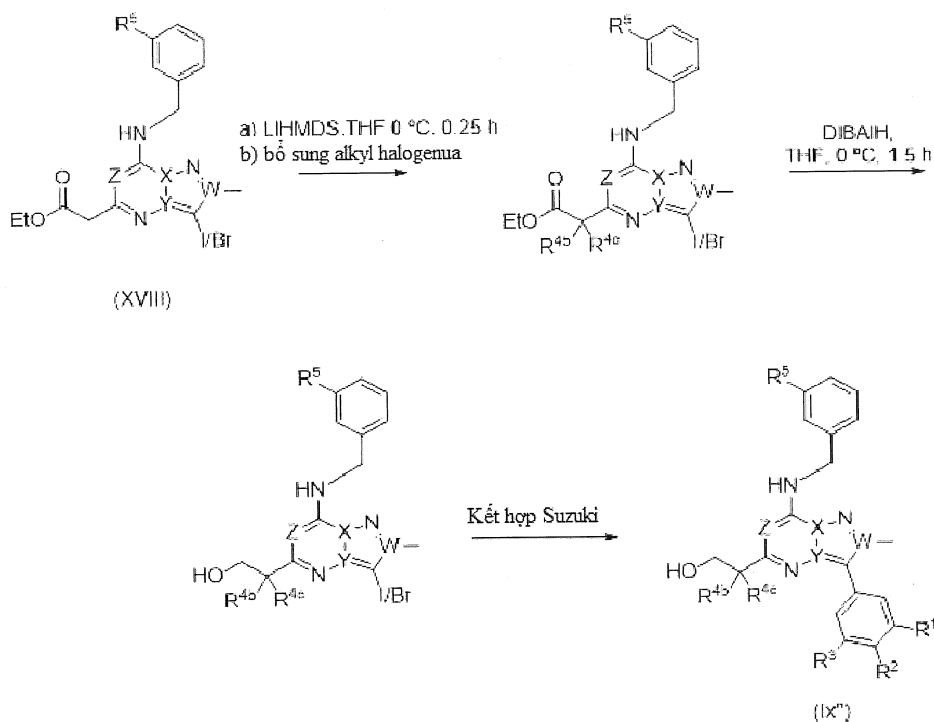
Các hợp chất có công thức (VIc), tức là các hợp chất có công thức (VI) (xem sơ đồ 5) trong đó W là C, X là N, Y là C, Z là N và L là Cl, có thể được điều chế trong nhiều bước từ các hợp chất có công thức (XIV) theo sơ đồ phản ứng 10. Đầu tiên, các hợp chất có công thức (XIV) có thể được phản ứng với metyl xanoformat để thu được các hợp chất có công thức (XV). Tiếp theo, các hợp chất có công thức (XV) có thể được vòng hóa bằng cách sử dụng carbonyldiimidazol trong dung môi (ví dụ DMSO) hoặc theo cách khác sử dụng diethyl cacbonat trong natri etoxit và etanol để thu được các hợp chất có công thức (XVI). Các hợp chất có công thức (XVI) sau đó có thể được clo hóa bằng ví dụ POCl₃, với nhiệt (ví dụ ở nhiệt độ 90 °C) để thu được các hợp chất có công thức (XVII). Việc iot hóa (sử dụng ví dụ N-iodosuccinimit) hoặc brom hóa (sử dụng ví dụ N-bromosuccinimit), trong dung môi (ví dụ DMF) thu được các hợp chất có công thức (VIc).

Sơ đồ 10



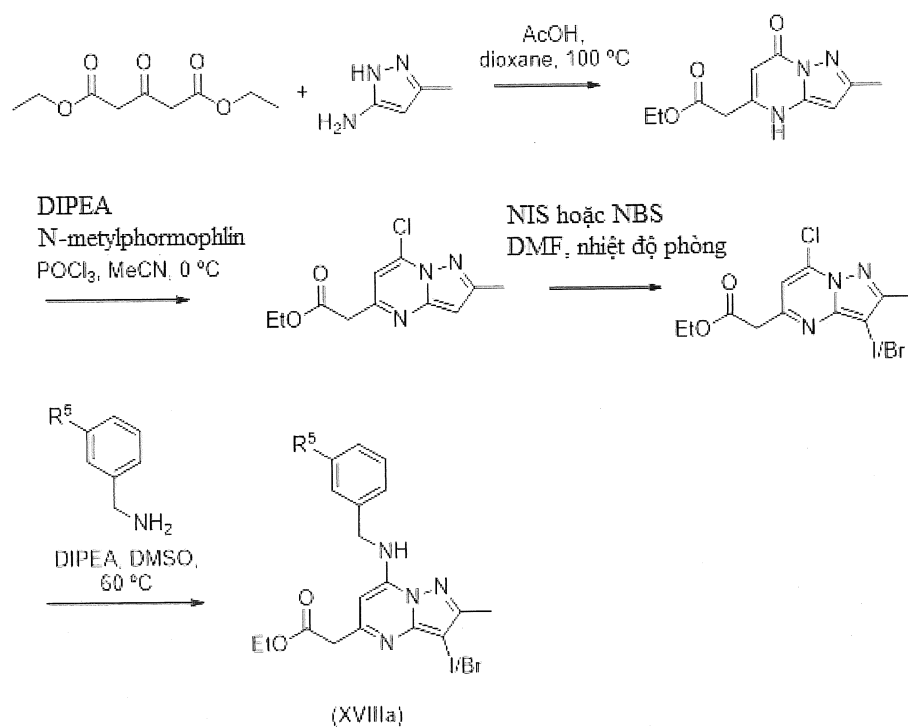
Các hợp chất có công thức (IX''), tức là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^{4c} là hydroxymethyl, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 11 từ các hợp chất có công thức (XVIII).

Sơ đồ 11



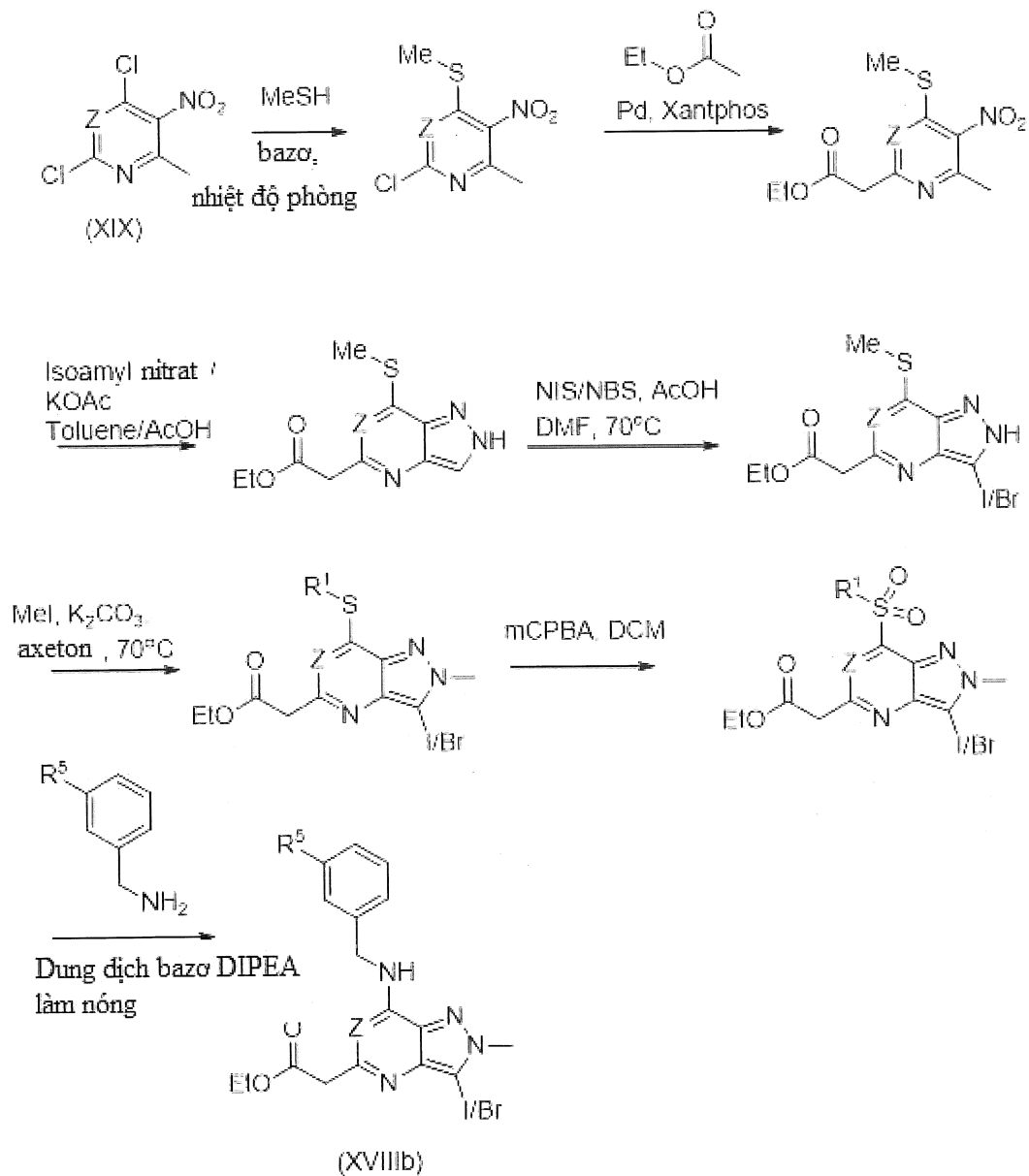
Các hợp chất có công thức (XVIIIa), tức là các hợp chất có công thức (XVIII) trong đó W là C, X là N, Y là C và Z là C, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 12.

Sơ đồ 12



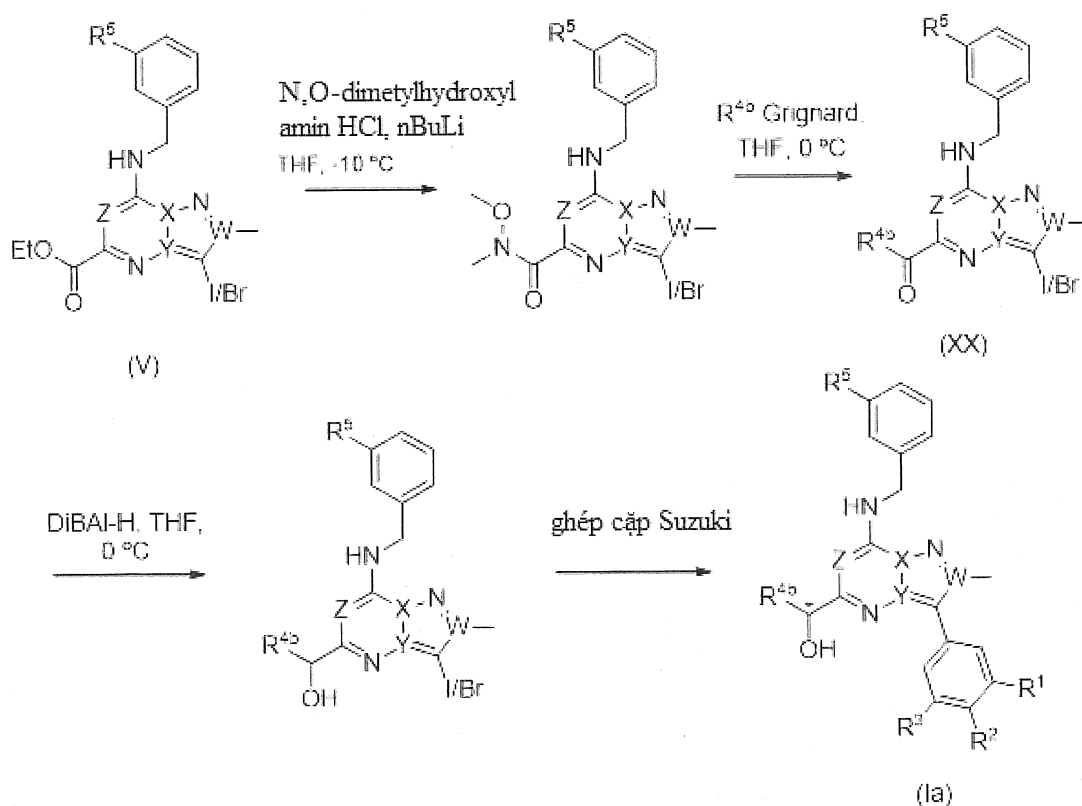
Các hợp chất có công thức (XVIIIb), tức là các hợp chất có công thức (XVIII) (từ Sơ đồ 11) trong đó W là N, X là C và Y là C, có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (XIX) theo sơ đồ phản ứng 13.

Sơ đồ 13



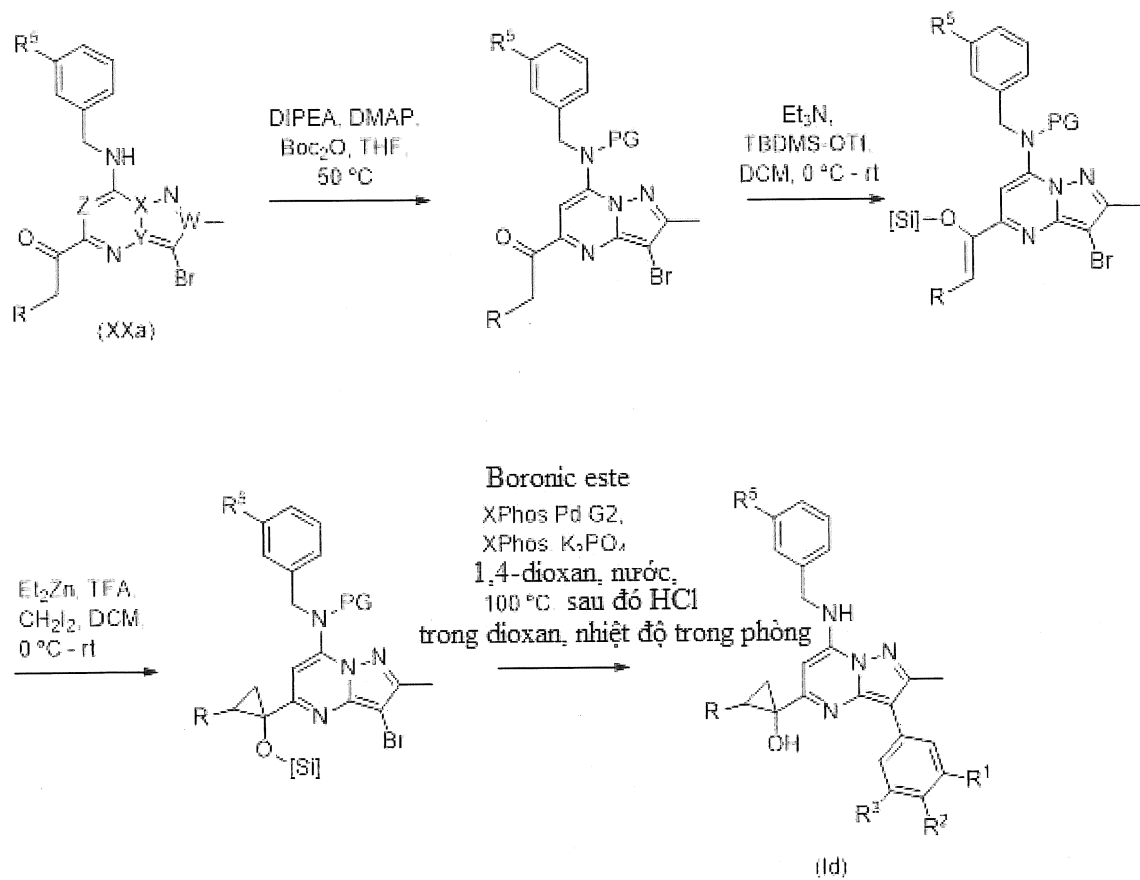
Theo cách khác các hợp chất có công thức (Ia) (xem Sơ đồ 1) có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (V) (xem Sơ đồ 4) theo sơ đồ phản ứng 14. Các hợp chất có công thức (Ia) có thể được phân giải thành các chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ bằng cách sử dụng các kỹ thuật quen thuộc với nhà hóa học có kỹ năng, ví dụ HPLC bất đối.

Sơ đồ 14



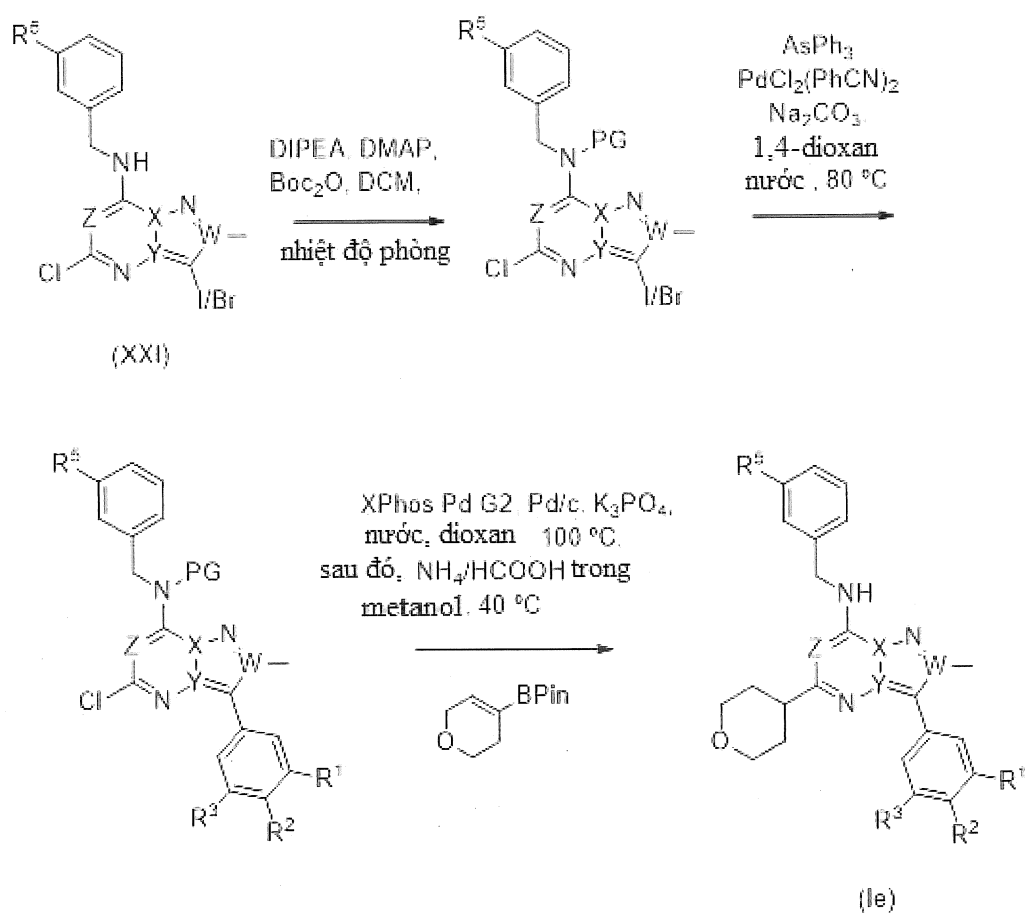
Các hợp chất có công thức (Id), tức là các hợp chất có công thức chung (I) trong đó R^{4a} và R^{4b} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng xyclopropan được thế bằng một nhóm R mà là nhóm C₁₋₃alkyl, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 15 từ các hợp chất có công thức (XXa). Trong sơ đồ phản ứng 15, PG là nhóm bảo vệ như tert-butyloxycarbonyl và [Si] là nhóm bảo vệ rượu trên cơ sở silic oxit như TBDMS.

Sơ đồ 15



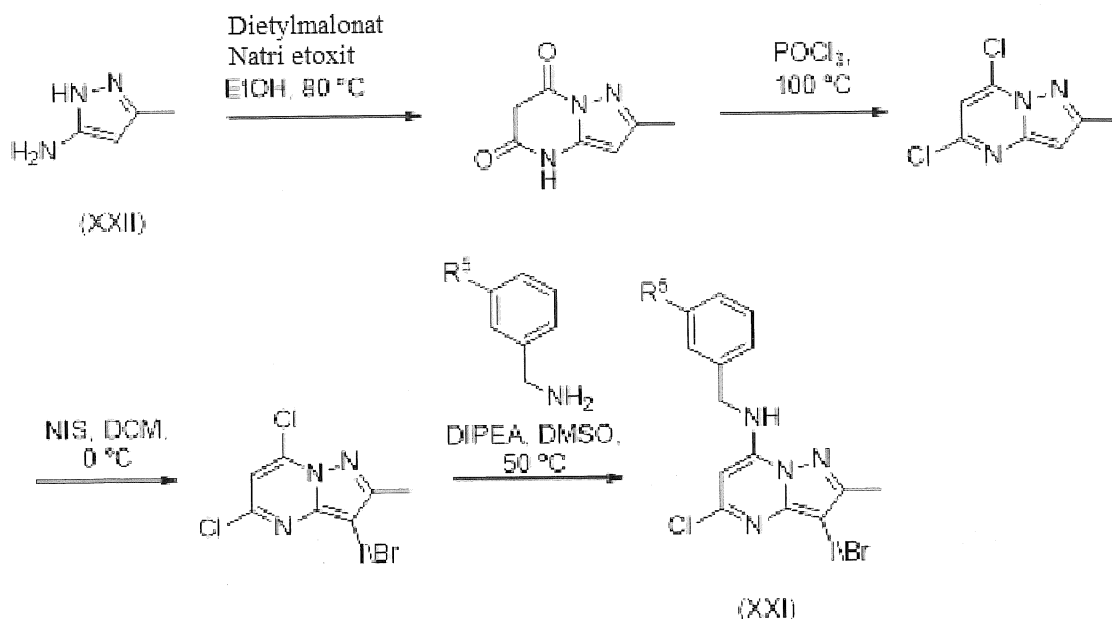
Các hợp chất có công thức (Ie), tức là các hợp chất có công thức (I) trong đó R^{4a} là H và R^{4b} và R^{4c} cùng với cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng tetrahydropyran không được thế, có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (XXI) theo sơ đồ phản ứng 15.

Sơ đồ 15



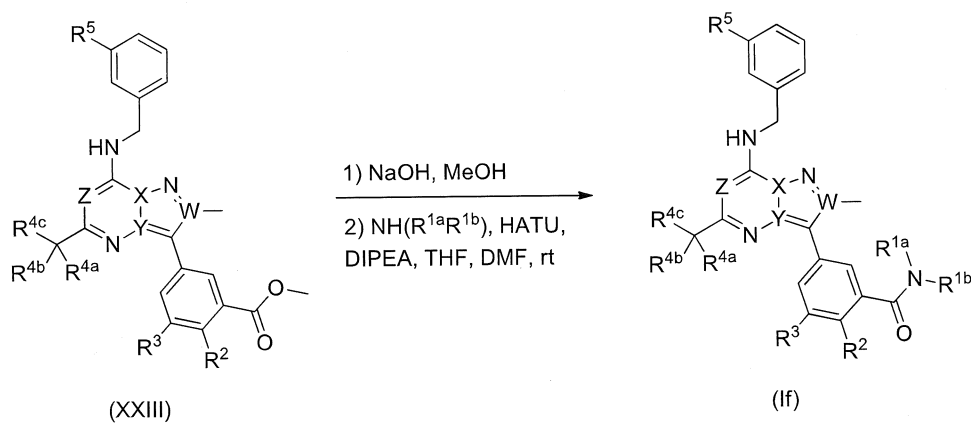
Các hợp chất có công thức (XXI) có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (XXII) theo sơ đồ phản ứng (16).

Sơ đồ 16



Nhà hóa học sẽ đánh giá được rằng các hợp chất có công thức (I) cũng có thể được điều chế bằng cách chuyển đổi R¹ như bước cuối cùng. Trong sơ đồ phản ứng 17, các hợp chất có công thức (If) tức là các hợp chất có công thức (I) trong đó R¹ là -C(=O)N(R^{1a}R^{1b}), có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (XXIII).

Sơ đồ 17



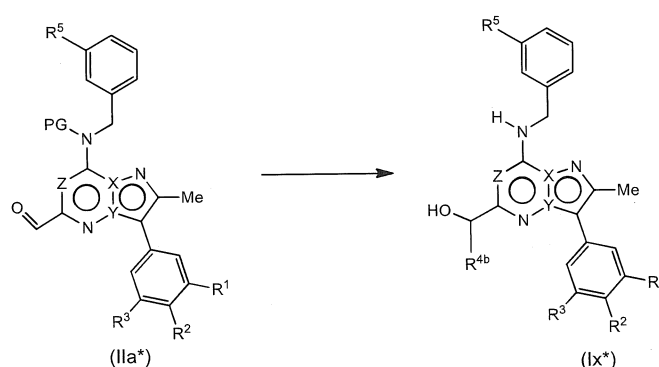
Nhà hóa học sẽ đánh giá được rằng các hợp chất có công thức (I) có thể được chuyển hóa thành các hợp chất khác có công thức (I) bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực. Ngoài ra, các hợp chất trung gian được mô tả trong sơ đồ phản ứng ở trên có thể được chuyển hóa thành các chất trung gian khác và sau đó được chuyển hóa bằng cách sử dụng các hợp chất được mô tả để tạo ra các hợp chất có công thức (I). Sẽ đánh giá được rằng các hợp chất

có công thức (I) có thể được điều chế bằng cách sử dụng chuỗi chuyển hóa khác nhau được mô tả trong các sơ đồ phản ứng, bao gồm kết hợp các bước bảo vệ/khử bảo vệ nếu thích hợp

Quy trình chung với công thức (Ia)

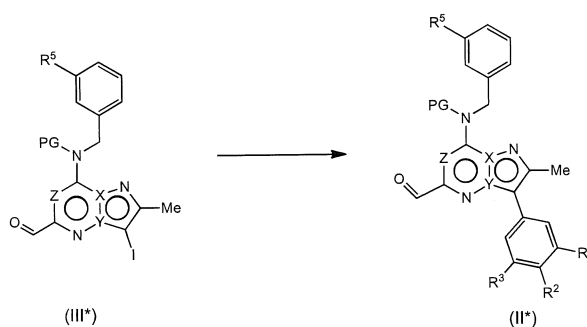
Các hợp chất có công thức (Ix), tức là các hợp chất có công thức (Ia) trong đó R^{4a} là H, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 1 bằng cách xử lý (IIa*) với thuốc thử Grignard thích hợp (như metylmagie bromua) trong dung môi (ví dụ THF) sau đó khử bảo vệ bằng axit thích hợp (ví dụ HCl 4 M trong 1,4-dioxan) trong dung môi (ví dụ metanol).

Sơ đồ 1*



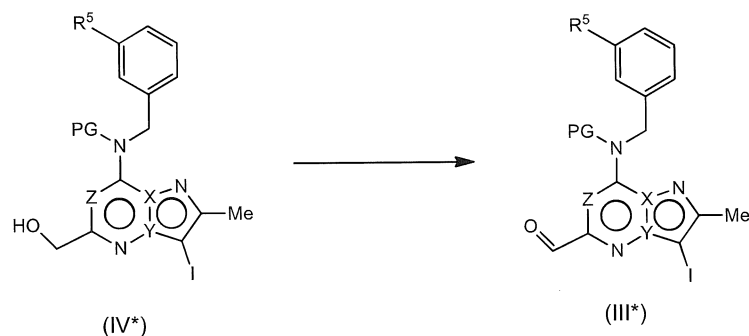
Các hợp chất có công thức (IIa*) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 2a* bằng cách xử lý các hợp chất có công thức (IIIa*) với boronic este (ví dụ 2-((2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol) trong dung môi (ví dụ 1,4-dioxan và nước) với sự có mặt của chất xúc tác (ví dụ $PdCl_2(dppf)$) và bazơ (ví dụ kali florua).

Sơ đồ 2a*



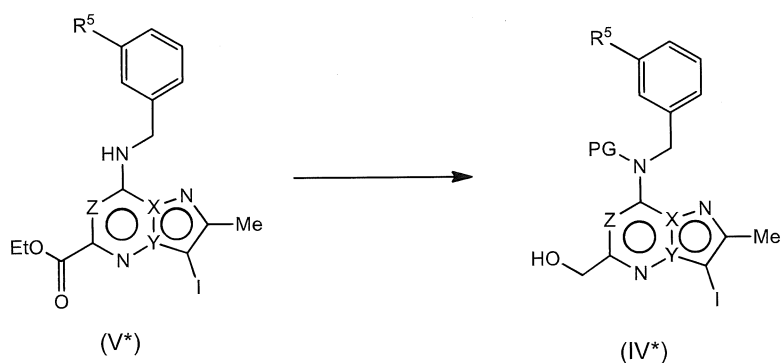
Các hợp chất có công thức (III*) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 3* từ các hợp chất có công thức (IV*) bằng cách xử lý (IV*) với chất oxy hóa thích hợp (ví dụ DMP) trong dung môi (ví dụ DCM).

Sơ đồ 3*



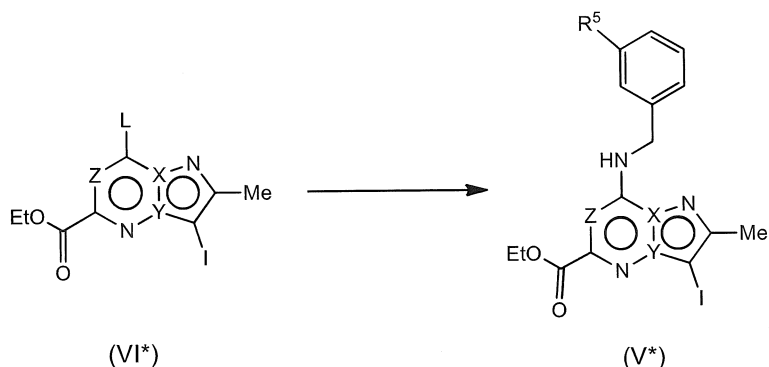
Các hợp chất có công thức (IV*) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 4* từ các hợp chất có công thức (V*). Đầu tiên, amin được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ amin thích hợp (ví dụ *tert*-butylcarbamate thông qua việc xử lý bằng các chất phản ứng thích hợp ví dụ di-*tert*-butyl dicacbonat, DIPEA và DMAP trong DCM). Tiếp theo, este được khử thành rượu bậc một bằng chất khử thích hợp (ví dụ natri bohydrua) trong dung môi (ví dụ etanol).

Sơ đồ 4*



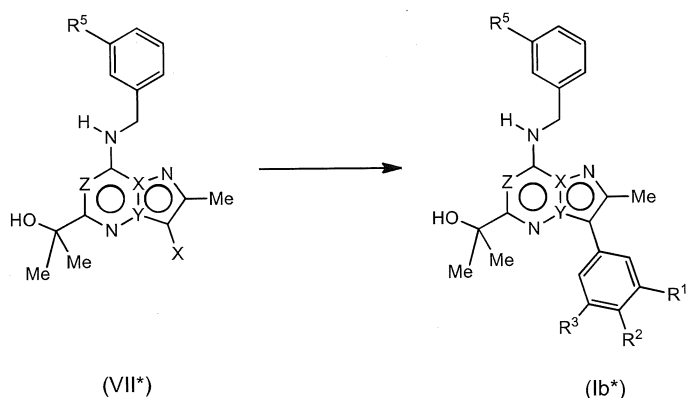
Các hợp chất có công thức (V*) có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 5* từ các hợp chất có công thức (VI*) (trong đó L là Cl hoặc Br hoặc hỗn hợp của các hợp chất có công thức (VI) trong đó L là Cl và Br) bằng cách xử lý bằng amin (ví dụ (3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metylamin) và bazơ (ví dụ DIPEA) trong dung môi (ví dụ DMSO).

Sơ đồ 5*



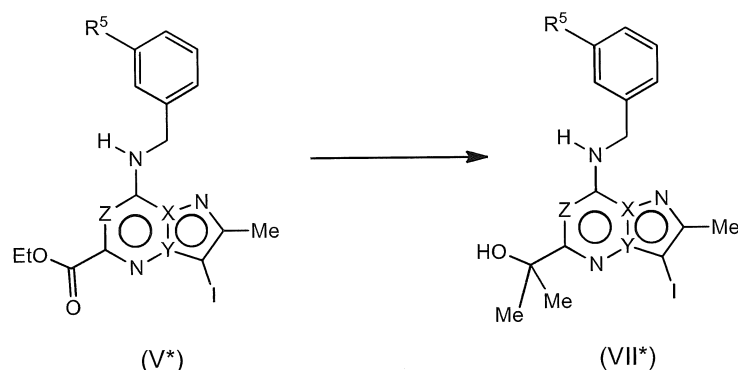
Các hợp chất có công thức (Ib*), tức là các hợp chất có công thức (I*) trong đó R^{4a} và R^{4b} là metyl, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 6 bằng cách xử lý (VII*) bằng boronic este (ví dụ *N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid) với sự có mặt của chất xúc tác (ví dụ $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$) trong dung môi (ví dụ 1,4-dioxan và nước) với bazơ (ví dụ natri cacbonat).

Sơ đồ 6*



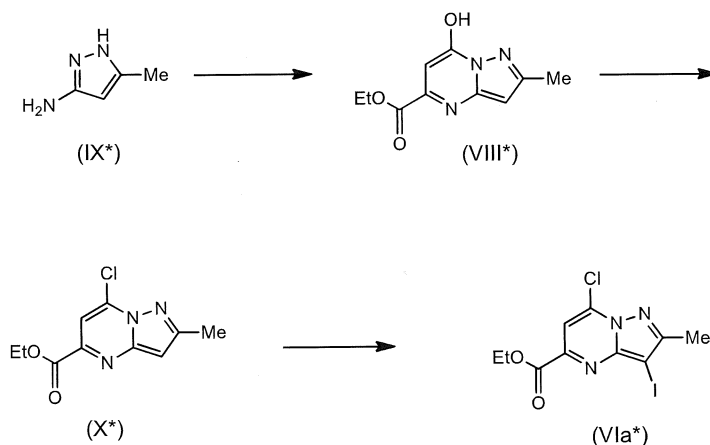
Các hợp chất có công thức (VII*) có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (V*) theo sơ đồ phản ứng 7* bằng cách xử lý (V*) với thuốc thử Grignard (ví dụ metylmagie bromua) trong dung môi (ví dụ DCM).

Sơ đồ 7*



Các hợp chất có công thức (Via*) tức là các hợp chất có công thức (VI*) (xem sơ đồ 5*) trong đó X là N, Y là C, Z là C và L là Cl, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 8*. Đầu tiên các hợp chất có công thức (VIII) có thể thu được bằng cách ngưng tụ este (ví dụ muối natri của diethyl oxalacetat) và các hợp chất có công thức (IX) bằng cách sử dụng axit (như HCl) trong dung môi (như ethanol) với nhiệt (ví dụ 85 °C) để thu được các hợp chất có công thức (VIII). Tiếp theo xử lý (VIII) bằng thuốc thử clo hóa (ví dụ POCl₃) với nhiệt (ví dụ ở 90 °C) thu được các hợp chất có công thức (X). Xử lý các hợp chất có công thức (X*) bằng nguồn iot (ví dụ NIS) trong dung môi (ví dụ DCM) thu được các hợp chất có công thức (Via*).

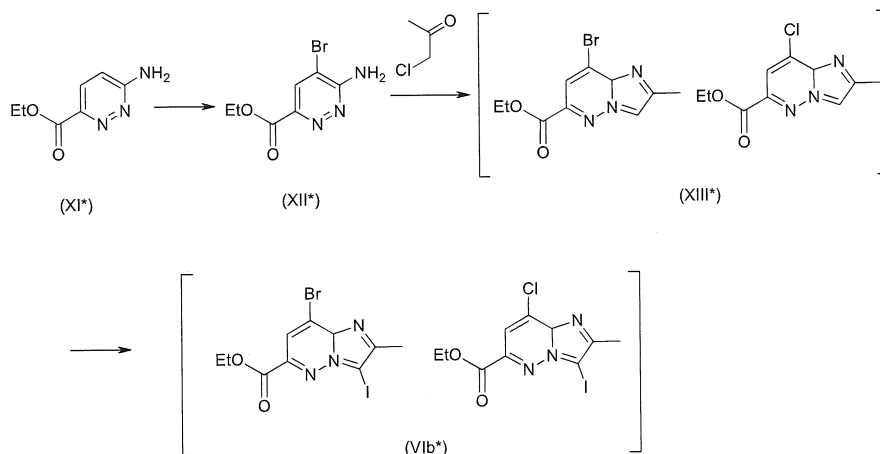
Sơ đồ 8*



Hỗn hợp của các hợp chất có công thức (VIb*), tức là các hợp chất có công thức (VI*) (xem sơ đồ 5*) trong đó X là C, Y là N, Z là C và L là Cl và Br, có thể được điều chế theo sơ đồ phản ứng 9 trong nhiều bước từ các hợp chất (XI*). Đầu tiên, các hợp chất có công thức (XI) được xử lý bằng chất brom hóa ví dụ N-bromosuccinimide và natri bicarbonat trong dung môi (ví dụ metanol) để thu được các hợp chất có công thức (XII). Tiếp theo, xử lý các hợp chất có công thức (XII) bằng 1-clopropan-2-on ở nhiệt độ cao (ví dụ 90°C) thu được hỗn hợp

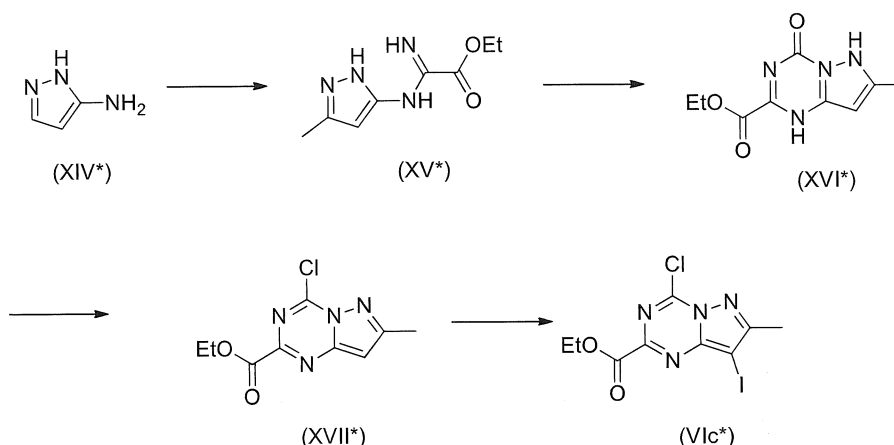
của các hợp chất có công thức (XIII). Iot hóa hỗn hợp của các hợp chất có công thức (XIII*) bằng, ví dụ N-iodosuccinimit, trong dung môi (ví dụ DMF) thu được hỗn hợp các hợp chất có công thức (VIb*).

Sơ đồ 9*



Các hợp chất có công thức (Vic*), tức là các hợp chất có công thức (VI*) (xem sơ đồ 5*) trong đó X là N, Y là C, Z là N và L là Cl, có thể được điều chế trong nhiều bước từ các hợp chất có công thức (XIV*) theo sơ đồ phản ứng 10*. Đầu tiên, các hợp chất có công thức (XIV*) có thể được phản ứng với methyl xyanofomat để thu được các hợp chất có công thức (XV*). Tiếp theo, các hợp chất có công thức (XV*) có thể được vòng hóa bằng cách sử dụng carbonyldiimidazol trong dung môi (ví dụ DMSO) hoặc theo cách khác sử dụng diethyl cacbonat trong natri etoxit và etanol để thu được các hợp chất có công thức (XVI*). Các hợp chất có công thức (XVI*) sau đó có thể được clo hóa bằng ví dụ POCl₃, với nhiệt (ví dụ ở 90 °C) để thu được các hợp chất có công thức (XVII*). Việc iot hóa bằng cách sử dụng ví dụ N-iodosuccinimit, trong dung môi (ví dụ DMF) thu được các hợp chất có công thức (Vic*).

Sơ đồ 10*



Nhà hóa học sẽ đánh giá được rằng các hợp chất có công thức (Ia) có thể được chuyển hóa thành các hợp chất khác có công thức (Ia) bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực. Ngoài ra, các hợp chất trung gian được mô tả trong sơ đồ phản ứng ở trên có thể được chuyển hóa thành các chất trung gian khác và sau đó được chuyển hóa bằng cách sử dụng các hợp chất được mô tả để tạo ra các hợp chất có công thức (Ia). Sẽ đánh giá được rằng các hợp chất có công thức (Ia) có thể được điều chế bằng cách sử dụng chuỗi chuyển hóa khác nhau được mô tả trong các sơ đồ phản ứng, bao gồm kết hợp các bước bảo vệ/khử bảo vệ nếu thích hợp

Phương pháp sử dụng

Các hợp chất theo sáng chế đã thể hiện là các chất ức chế PI4KIII β tiềm năng. Các hợp chất khác theo sáng chế là các chất ức chế PI4KIII β chọn lọc. Các hợp chất theo sáng chế có thể sử dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus và các rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi việc nhiễm virus. Các rối loạn cụ thể được gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus bao gồm COPD, hen, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, suy tim sung huyết, hội chứng suy giảm hô hấp cấp tính và tổn thương phổi cấp tính. Ngoài ra các rối loạn bị gây ra do hoặc bị trầm trọng thêm do nhiễm rhinovirus bao gồm viêm tiểu phế quản, viêm tai giữa, viêm xoang và viêm phế quản cấp tính. Ngoài ra, việc nhiễm rhinovirus có thể gây nhiễm khuẩn thứ cấp ở trẻ em, người già và người bị ức chế miễn dịch. Việc nhiễm khuẩn thứ cấp có thể gây viêm phổi.

Như được sử dụng ở đây, ‘điều trị’, ‘sự điều trị’ hoặc ‘việc điều trị’ khi nói đến rối loạn có nghĩa là: (1) để cải thiện rối loạn hoặc một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của rối loạn; (2) can thiệp vào (a) một hoặc nhiều điểm trong dòng thác sinh học dẫn đến hoặc chịu trách

nhiệm về rối loạn, hoặc (b) một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của rối loạn; (3) làm thuyên giảm một hoặc nhiều triệu chứng hoặc ảnh hưởng đi kèm với rối loạn; hoặc (4) làm chậm quá trình tiến triển của rối loạn hoặc một hoặc nhiều biểu hiện sinh học của rối loạn.

Như được sử dụng ở đây, ‘bệnh nhân’ đề chỉ người (bao gồm người lớn và trẻ em) hoặc động vật khác. Theo một phương án, ‘bệnh nhân’ đề chỉ người.

Dự tính rằng các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng khu trú, ví dụ bằng cách hít hoặc trong mũi. Việc hít đề chỉ việc sử dụng trong phổi của bệnh nhân dù cho được hít qua đường miệng hoặc qua đường mũi. Theo một phương án, các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được sử dụng khu trú. Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được sử dụng bằng cách hít. Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được dùng trong mũi. Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được sử dụng trong mắt. Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được sử dụng trong tai.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng một lần mỗi ngày hoặc theo chế độ dùng liều trong đó nhiều liều được sử dụng ở các khoảng cách thời gian khác nhau trong một khoảng thời gian cho trước. Ví dụ, các liều có thể được sử dụng một, hai, ba, hoặc bốn lần mỗi ngày. Theo một phương án, liều được dùng một lần mỗi ngày. Theo một phương án khác, liều được dùng hai lần mỗi ngày. Các liều có thể được sử dụng cho đến khi đạt được hiệu quả trị liệu mong muốn hoặc vô thời hạn để duy trì hiệu quả trị liệu mong muốn. Chế độ dùng liều thích hợp đối với hợp chất theo sáng chế phụ thuộc vào đặc tính dược động học của hợp chất đó, như mức hấp thụ, sự phân bố, và thời gian bán thải, mà có thể được xác định bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực này. Ngoài ra, chế độ dùng liều thích hợp, bao gồm khoảng thời gian mà chế độ này được sử dụng, đối với hợp chất theo sáng chế phụ thuộc vào rối loạn được điều trị, mức độ nghiêm trọng của rối loạn được điều trị, tuổi và đặc điểm thể chất của bệnh nhân được điều trị, lịch sử y tế của bệnh nhân được điều trị, bản chất của phương pháp điều trị đồng thời, tác dụng trị liệu mong muốn, và các yếu tố tương tự nằm trong phạm vi kiến thức và chuyên môn của người có kỹ năng trong lĩnh vực này. Người có kỹ năng trong lĩnh vực này cũng hiểu thêm rằng chế độ dùng liều thích hợp có thể cần sự điều chỉnh theo đáp ứng của từng bệnh nhân cụ thể với chế độ dùng liều hoặc qua thời gian do bệnh nhân cụ thể cần sự thay đổi.

Các liều lượng hàng ngày điển hình để sử dụng bằng cách hít nằm trong khoảng từ 0,2 μg đến 0,02 mg cho mỗi kg tổng thể trọng, ví dụ từ 0,5 μg đến 0,01 mg cho mỗi kg của tổng thể trọng. Ví dụ, liều hàng ngày để sử dụng bằng cách hít có thể từ 20 μg đến 2,0 mg cho mỗi bệnh nhân, như 50 μg đến 1,0 mg cho mỗi bệnh nhân.

Mặc dù không muốn bị ràng buộc bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, người ta cho rằng các hợp chất theo sáng chế có thể ức chế hoạt tính của enzym tế bào chủ, PI4KIII β và nhờ đó làm giảm khả năng sao chép của virus bên trong tế bào chủ. Nhiều virus sử dụng PI4K để tạo ra màng được làm giàu phosphatidylinositol-4-phosphat (PI4P), mà có thể được sử dụng để làm nền sao chép. Cơ chế sao chép của virus được lắp ráp trên các nền này như một phức hợp siêu phân tử và lipid PI4P giúp cho phép tổng hợp RNA của virus. Các nền lipid nội bào như vậy tạo ra môi trường thuận lợi hơn để virus tự sao chép một cách hiệu quả. Bằng cách phá vỡ khả năng virus sử dụng PI4K, và PI4KIII β cụ thể, để tạo ra các nền lipid này và hỗ trợ sự sao chép của virus, việc nhiễm virus có thể được điều trị và/hoặc ngăn ngừa.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho bệnh nhân cần sử dụng.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho bệnh nhân cần sử dụng.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị việc nhiễm vi khuẩn thứ cấp gây ra bởi lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho bệnh nhân cần sử dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để sử dụng trong trị liệu.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng để sử dụng trong điều trị nhiễm virus.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng để sử dụng trong điều trị rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus. Theo một phương án, rối loạn là COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Theo một phương án khác, rối loạn là COPD hoặc hen suyễn. Theo một phương án khác nữa, rối loạn là COPD.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng để sử dụng trong điều trị nhiễm vi khuẩn thứ cấp gây ra bởi việc nhiễm vi khuẩn.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc để điều trị nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc để điều trị rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc để điều trị việc nhiễm vi khuẩn thứ cấp gây ra bởi nhiễm virus.

Ở những bệnh nhân nhất định như bệnh nhân có hệ miễn dịch bị tổn thương hoặc đồng mắc bệnh tim phổi là những người có nguy cơ cao bị bệnh nghiêm trọng sau khi nhiễm virus, người ta dự tính rằng các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng theo cách phòng bệnh để ngăn ngừa lây nhiễm và nhờ đó tránh trầm trọng thêm các rối loạn, ví dụ COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Sẽ đánh giá được rằng “ngăn ngừa” không phải là một thuật ngữ tuyệt đối. Trong y tế, ‘ngăn ngừa’ được hiểu là để chỉ việc sử dụng dự phòng được chất để giảm đáng kể khả năng hoặc mức độ nghiêm trọng của rối loạn hoặc trì hoãn sự khởi phát của rối loạn đó. Việc sử dụng dự phòng có thể đặc biệt khuyến khích khi có nguy cơ lây nhiễm cao, ví dụ, trong trường hợp HRV trong các tháng mùa đông.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp ngăn ngừa lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho bệnh nhân cần sử dụng.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp ngăn ngừa rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho bệnh nhân cần sử dụng. Theo một phương án, rối loạn là COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Theo một phương án khác, rối loạn là COPD hoặc hen suyễn. Theo một phương án khác nữa, rối loạn là COPD.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng để ngăn ngừa nhiễm virus.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng để ngăn ngừa rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus. Theo một phương án, rối loạn là COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Theo một phương án khác, rối loạn là COPD hoặc hen suyễn. Theo một phương án khác nữa, rối loạn là COPD.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc để ngăn ngừa nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong sản xuất thuốc để ngăn ngừa rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus. Theo một phương án, rối loạn là COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Theo một phương án khác, rối loạn là COPD hoặc hen suyễn. Theo một phương án khác nữa, rối loạn là COPD.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dự phòng cho người khỏe mạnh nếu họ có khả năng phơi nhiễm với nguy cơ cao nhiễm virus, ví dụ trong thời gian bùng phát SARS trong môi trường điều dưỡng hoặc chăm sóc tại nhà khi một số cư dân bị nhiễm HRV. Phần mô tả cũng mô tả phương pháp ngăn ngừa lây nhiễm virus bao gồm việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho người có nhu cầu sử dụng.

Các phương án sau đây áp dụng cho từng khía cạnh trên liên quan đến việc sử dụng trong y tế. Theo một phương án, virus là virus ARN mạch đơn. Theo một phương án khác, virus là virus ARN mạch đơn, mạch dương. Theo một phương án, nhiễm virus là rhinovirus người (HRV). Theo một phương án khác, nhiễm virus là HRV trong đó rối loạn gây ra bởi virus là cảm lạnh thông thường. Theo một phương án khác nhiễm virus là HRV trong đó rối loạn gây ra bởi virus là viêm tiểu phế quản, viêm phổi, viêm tai giữa, viêm xoang hoặc viêm phế quản cấp tính. Theo một phương án khác, việc nhiễm vi khuẩn thứ cấp gây viêm phổi. Theo một phương án khác, các rối loạn bị trầm trọng thêm bởi virus là COPD, bệnh xơ nang, chứng giãn phế quản, hen suyễn hoặc suy tim sung huyết. Theo một phương án khác, HRV là HRV-A. Theo một phương án khác, HRV là HRV-B. Theo một phương án khác, HRV là HRV-C. Theo một phương án khác, hợp chất có công thức (I) được sử dụng khi khởi phát các triệu chứng ở mũi do HRV để ngăn chặn việc nhiễm HRV vào phổi, nhờ đó làm giảm tần suất và mức nghiêm trọng do hen suyễn trầm trọng. Theo một phương án khác, hợp chất có công

thức (I) được sử dụng khi khởi phát các triệu chứng ở mũi do HRV để ngăn chặn việc nhiễm HRV vào phổi, nhờ đó làm giảm tần suất và mức nghiêm trọng do COPD trầm trọng. Theo một phương án khác, hợp chất có công thức (I) được sử dụng khi khởi phát các triệu chứng ở mũi do HRV để ngăn chặn nhiễm HRV vào phổi, nhờ đó làm giảm tần suất và mức nghiêm trọng của bệnh xơ nang trầm trọng. Theo một phương án khác, hợp chất có công thức (I) được sử dụng khi khởi phát các triệu chứng ở mũi do HRV để ngăn chặn việc nhiễm HRV vào phổi, nhờ đó làm giảm tần suất và mức nghiêm trọng của suy tim sung huyết trầm trọng.

Theo một phương án nhiễm virus là coronavirut trong đó bệnh hoặc tình trạng bệnh lý là hội chứng hô hấp cấp tính nghiêm trọng (severe acute respiratory syndrome - SARS).

Dạng bào chế

Các hợp chất theo sáng chế sẽ thường, nhưng không nhất thiết, được bào chế thành được phẩm trước khi sử dụng cho bệnh nhân. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và tá dược được dụng. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm để điều trị lây nhiễm virus chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm để điều trị rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm để điều trị việc nhiễm vi khuẩn thứ cấp gây ra bởi nhiễm virus, bao gồm hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm để ngăn ngừa lây nhiễm virus chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng. Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến được phẩm để ngăn ngừa rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng.

Như được sử dụng ở đây, ‘tá dược được dụng’ có nghĩa là nguyên liệu, chế phẩm hoặc chất dẫn thuốc có thể chấp nhận được về mặt dược phẩm liên quan đến việc tạo ra dạng hoặc phù hợp với dạng bào chế được phẩm. Mỗi tá dược phải tương thích với các thành phần khác của dược phẩm khi pha trộn sao cho tự tương tác mà có thể làm giảm đáng kể hiệu quả của hợp chất theo sáng chế khi được sử dụng cho bệnh nhân và sự tương tác mà có thể dẫn đến dược phẩm không chấp nhận được về mặt dược lý tránh được. Ngoài ra, mỗi tá dược tất nhiên phải chấp nhận được về mặt dược phẩm ví dụ độ tinh khiết cao thích hợp.

Dự tính rằng các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng khu trú, ví dụ bằng cách hít, trong mũi, qua da, trong mắt hoặc trong tai.

Theo một khía cạnh khác sáng chế hướng đến dạng liều được làm phù hợp để sử dụng cho bệnh nhân bằng cách hít, ví dụ, dạng bột khô, sol khí, huyền phù hoặc dung dịch.

Dạng bào chế bột khô để phân phối đến phổi bằng cách hít thường chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng bột mịn cùng với một hoặc nhiều tá dược được dụng khi ở dạng bột mịn. Các tá dược được dụng đặc biệt thích hợp để sử dụng trong bột khô đã được biết với người có kỹ năng trong lĩnh vực và bao gồm lactoza, tinh bột, mannitol, và mono-, di-, và polysacarit. Bột mịn có thể được bào chế bằng cách, ví dụ, micro hóa và nghiền. Thông thường, các hợp chất được làm giảm kích thước (ví dụ được micro hóa) có thể được xác định bằng giá trị D_{50} là khoảng 1 đến 10 micron (ví dụ khi được đo bằng nhiễu xạ laze).

Bột khô có thể được sử dụng cho bệnh nhân thông qua thiết bị hít bột khô có khoang chứa (RDPI) có khoang chứa thích hợp để chứa nhiều (các liều không được đo) thuốc ở dạng bột khô. RDPI thường bao gồm một thiết bị để đo từng liều thuốc từ khoang chứa đến vị trí phân phối. Ví dụ, các thiết bị đo có thể bao gồm một cốc đo, mà có thể di chuyển được từ vị trí thứ nhất nơi cốc được đổ đầy thuốc từ khoang chứa đến vị trí thứ hai nơi liều thuốc được đo sẵn sàng để bệnh nhân hít.

Dạng bào chế bột khô để sử dụng theo sáng chế có thể được sử dụng thông qua thiết bị hít. Như một ví dụ, các thiết bị như vậy có thể bao gồm nang và hộp chứa ví dụ gelatin, hoặc các vỉ bằng, ví dụ, màng nhôm được tạo tấm. Theo các phương án khác nhau, mỗi nang, hộp chứa hoặc vỉ có thể chứa nhiều liều dạng bào chế theo phần mô tả được trình bày ở đây. Các ví dụ về các thiết bị hít có thể bao gồm các thiết bị được dự định để phân phối liều đơn vị hoặc nhiều liều chế phẩm, bao gồm tất cả các thiết bị được nêu trong bản mô tả này. Như là một ví dụ, trong trường hợp phân phối nhiều liều, dạng bào chế có thể được định liều trước (ví dụ, như trong DISKUS, xem GB2242134, các patent Mỹ số 6,032,666, 5,860,419, 5,873,360, 5,590,645, 6,378,519 và 6,536,427 hoặc Diskhaler, xem GB 2178965, 2129691 và 2169265, các patent Mỹ số 4,778,054, 4,811,731, 5,035,237) hoặc được đo khi sử dụng (ví dụ như trong Turbuhaler, xem EP 69715, hoặc trong các thiết bị được mô tả trong các patent Mỹ số 6,321,747). Một ví dụ về thiết bị liều đơn vị là ROTAHALER (xem GB 2064336). Theo một phương án, thiết bị hít DISKUS bao gồm một dải kéo dài được hình thành từ một tấm để có nhiều phần lõm cách nhau dọc theo chiều dài của nó và một tấm nắp

được bịt kín có thể bóc ra được để xác định nhiều bộ phận chứa, mỗi bộ phận chứa có trong đó chế phẩm có thể hít được chứa hợp chất tùy ý với các tá dược và chất phụ trợ khác được đề cập trong bản mô tả này. Lớp bịt có thể bóc ra được là lớp bịt được thiết kế, và theo một phương án lớp bịt được thiết kế này là lớp bịt kín. Tốt hơn là, dải này đủ linh hoạt để được quấn thành một cuộn. Tấm nắp và tấm đế tốt hơn là sẽ có các phần đầu cuối không được bịt kín với nhau và ít nhất một trong các phần đầu cuối được chế tạo để gắn vào một thiết bị cuộn. Ngoài ra, tốt hơn là lớp bịt kín được thiết kế giữa tấm đế và tấm nắp mở rộng trên toàn bộ chiều rộng của chúng. Tấm nắp tốt hơn là có thể được bóc từ tấm đế theo hướng dọc từ đầu thứ nhất của tấm đế.

Chế phẩm bột khô cũng có thể được trình bày trong thiết bị hít để cho phép ngăn cách hai thành phần khác nhau của chế phẩm, vì thế, ví dụ, các thành phần này được sử dụng cùng lúc nhưng được lưu trữ riêng, ví dụ trong các dược phẩm riêng rẽ, ví dụ như được mô tả trong WO 03/061743 A1 WO 2007/012871 A1, WO2007/068896, cũng như các patent Mỹ số 8,113,199, 8,161,968, 8,511,304, 8,534,281, 8,746,242 và 9,333,310.

Theo một phương án, thiết bị hít cho phép tách khoang chứa các thành phần là thiết bị hít có hai dải vì có thể bóc, mỗi dải chứa các liều được đo trước trong gói ép vì được bố trí dọc theo chiều dài của nó, ví dụ, nhiều bộ phận chứa bên trong mỗi dải vì, ví dụ, ELLIPTA. Thiết bị này có cơ chế chia độ bên trong mà, mỗi thời điểm thiết bị được kích hoạt, bóc miệng của một gói của mỗi dải và đặt các vì sao cho mỗi liều mới được lộ ra của mỗi dải liền kề với ống dẫn mà nối thông với miệng loe của thiết bị. Khi bệnh nhân hít vào tại miệng ống hít, mỗi liều được đồng thời rút ra khỏi túi đi kèm của nó vào trong ống và qua miệng loe đi vào đường hô hấp của bệnh nhân. Một thiết bị nữa cho phép tách khoang chứa của các thành phần khác nhau là DUOHALER của Innovata. Ngoài ra, các cấu trúc khác nhau của các thiết bị hít cung cấp sự phân phối lần lượt hoặc đồng thời (các) dược phẩm từ thiết bị, ngoài việc phân phối đồng thời.

Theo một cách khác, bột khô có thể được trình bày trong viên nang (ví dụ gelatin hoặc chất dẻo), khay, hoặc vỉ để sử dụng trong thiết bị hít bột khô nhiều liều (MDPI). MDPI là inhalers trong đó thuốc được chứa trong gói nhiều liều (hoặc vật mang khác) chứa nhiều liều thuốc xác định (hoặc các phần của chúng). Khi bột khô được trình bày ở dạng vỉ phòng, nó gồm nhiều vỉ để chứa thuốc ở dạng bột khô. Các vỉ thường được sắp xếp theo kiểu thông thường để dễ dàng lấy thuốc từ đó. Ví dụ, các vỉ có thể được sắp xếp theo kiểu hình tròn thông

thường trên một vi phông dạng đĩa, hoặc các vi có thể kéo dài ở dạng, ví dụ bao gồm dải hoặc băng. Mỗi viên nang, khay, hoặc vi có thể, ví dụ, chứa từ 200 μ g-10mg hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng.

Các sol khí có thể được hình thành bằng cách tạo huyền phù hoặc hòa tan hợp chất của sáng chế trong một nguyên liệu đẩy được hóa lỏng. Các nguyên liệu đẩy thích hợp bao gồm halocacbon, hydrocacbon, và các khí hóa lỏng khác. Các nguyên liệu đẩy điển hình bao gồm: tricloflometan (nguyên liệu đẩy 11), dicloflometan (nguyên liệu đẩy 12), diclotetrafloetan (nguyên liệu đẩy 114), tetrafloetan (HFA-134a), 1,1-difloetan (HFA-152a), difloetan (HFA-32), pentafloetan (HFA-12), heptaflopropan (HFA-227a), perflopropan, perflobutan, perflopentan, butan, isobutan, và pentan. Sol khí chứa hợp chất theo sáng chế sẽ thường được sử dụng cho bệnh nhân thông qua thiết bị hít định liều (metered dose inhaler - MDI). Các thiết bị như vậy được người có kỹ năng trong lĩnh vực này biết đến.

Sol khí có thể chứa tá dược được dụng bổ sung thường được sử dụng với MDI như chất hoạt động bề mặt, chất làm trơn, đồng dung môi và các tá dược khác để cải thiện độ ổn định vật lý của dược phẩm, để cải thiện hiệu suất van, để cải thiện độ tan, hoặc cải thiện hương vị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm sol khí chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và flocacbon hoặc cloflocacbon chứa hydro làm nguyên liệu đẩy, tùy ý kết hợp với chất hoạt động bề mặt và/hoặc đồng dung môi.

Theo một phương án, nguyên liệu đẩy được chọn từ 1,1,1,2-tetrafloetan, 1,1,1,2,3,3,3-heptafloro-n-propan và hỗn hợp của chúng.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được đệm bằng cách bổ sung các chất đệm thích hợp.

Viên nang và khay để sử dụng trong thiết bị hít hoặc khí cụ bơm, bằng ví dụ gelatin, có thể được bào chế để chứa hỗn hợp bột để hít hợp chất theo sáng chế và nền bột thích hợp như lactoza hoặc tinh bột. Mỗi viên nang hoặc khay có thể thường chứa từ 200 μ g đến 10mg hợp chất theo sáng chế. Theo một cách khác, hợp chất của sáng chế có thể được trình bày mà không có tá dược như lactoza.

Tỷ lệ của hợp chất theo sáng chế trong chế phẩm cục bộ theo sáng chế phụ thuộc vào kiểu chế phẩm chính xác được bào chế nhưng sẽ thường nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10%

khối lượng. Thông thường, đối với hầu hết các loại chế phẩm, tỷ lệ được sử dụng sẽ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1%, ví dụ từ 0,1 đến 0,5%.

Chế phẩm sol khí tốt hơn là được bố trí sao cho mỗi liều được định lượng hoặc 'lần phụt' của sol khí chứa từ 20 μ g đến 10mg, tốt hơn là từ 20 μ g đến 5mg, tốt hơn nữa là từ khoảng từ 20 μ g đến 0,5mg hợp chất theo sáng chế. Việc sử dụng có thể là một lần mỗi ngày hoặc vài lần mỗi ngày, ví dụ 2, 3, 4 hoặc 8 lần, cho ví dụ 1, 2 hoặc 3 liều mỗi lần. Tổng liều hàng ngày với sol khí sẽ là nằm trong khoảng từ 20 μ g đến 2,0 mg, ví dụ từ 50 μ g đến 1,0 mg. Tổng liều hàng ngày và liều được định lượng được phân phối bằng viên nang khay trong thiết bị hít hoặc khí cụ bơm sẽ thường gấp đôi liều được phân phối bằng chế phẩm sol khí.

Trong trường hợp chế phẩm sol khí huyền phù, cỡ hạt của thuốc dạng hạt (ví dụ, được micron hóa) nên phù hợp để cho phép hít về cơ bản toàn bộ thuốc vào trong phổi khi dùng chế phẩm sol khí và vì thế sẽ nhỏ hơn 100 micron, tốt hơn là nhỏ hơn 20 micron, và cụ thể là nằm trong khoảng từ 1 đến 10 micron, như từ 1 đến 5 micron, còn tốt hơn là từ 2 đến 3 micron.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách phân tán hoặc hòa tan thuốc và hợp chất theo sáng chế trong nguyên liệu đầy được chọn trong vật chứa thích hợp, ví dụ, với sự hỗ trợ của siêu âm hoặc máy trộn lực cắt lớn. Quá trình này được thực hiện một cách mong muốn trong điều kiện độ ẩm được kiểm soát.

Độ ổn định hóa học và vật lý và khả năng chấp nhận được lý của chế phẩm sol khí theo sáng chế có thể được xác định bằng các kỹ thuật đã được biết rõ với người có kỹ năng trung bình trong lĩnh vực. Vì thế, ví dụ, độ ổn định hóa học của các thành phần có thể được sử dụng bằng thử nghiệm HPLC, ví dụ, sau thời gian bảo quản kéo dài của sản phẩm. Dữ liệu độ ổn định vật lý có thể thu được từ các kỹ thuật phân tích thông thường khác như, ví dụ, bằng thiết bị kiểm tra rò rỉ, bằng thử nghiệm phân phối van (khối lượng bắn trung bình cho mỗi lần xịt), bằng thử nghiệm tái sản xuất liều (hoạt chất mỗi lần xịt) và phân tích sự phân bố khi xịt.

Độ ổn định của chế phẩm huyền phù sol khí theo sáng chế có thể được đo bằng các kỹ thuật thông thường, ví dụ, bằng cách đo sự phân bố kích thước keo tụ bằng cách sử dụng thiết bị tán xạ ánh sáng trở lại hoặc bằng cách đo sự phân bố cỡ hạt bằng cách va đập theo tầng hoặc bằng quy trình phân tích 'vật va chạm kép'. Như được sử dụng ở đây khi nói đến thử nghiệm 'vật va chạm kép' có nghĩa là 'Xác định sự lắng đọng của liều phát ra trong khi

hít được điều áp bằng cách sử dụng thiết bị A' như được xác định trong British Pharmacopoeia 1988, các trang A204-207, Appendix XVII C. Các thiết bị này có cho phép 'phần có thể hít' của chế phẩm sol khí được tính. Một phương pháp được sử dụng để tính 'phần có thể hít vào' là tham chiếu đến 'phần hạt mịn' mà là lượng hoạt chất được thu thập trong buồng va chạm thấp hơn trong mỗi lần xịt là tỷ lệ phần trăm của tổng lượng hoạt chất được phân phối trong mỗi lần xịt bằng cách sử dụng phương pháp vật va chạm kép được mô tả ở trên.

Thuật ngữ 'thiết bị hít định liều' hoặc MDI có nghĩa là đơn vị bao gồm một lon, một nắp an toàn bọc ngoài lon này và van định liều được phẩm được nằm trong lon này. Hệ thống MDI bao gồm dụng cụ tạo kênh thích hợp. Các dụng cụ tạo kênh bao gồm, ví dụ, bộ xịt van và ống dẫn hình trụ hoặc hình nón mà qua đó thuốc có thể được phân phối từ bình chứa được nạp đầy thông qua van định lượng vào mũi hoặc miệng của bệnh nhân, như, bộ xịt miệng loe.

Các hộp MDI thường bao gồm vật chứa có thể chịu được áp suất hơi của nguyên liệu đẩy được sử dụng như chai chất dẻo hoặc chai thủy tinh bọc chất dẻo hoặc tốt hơn là lon kim loại, ví dụ, nhôm hoặc hợp kim của chúng mà có thể tùy ý được mạ, được phủ sơn bóng và/hoặc được phủ chất dẻo (ví dụ được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn WO 96/32099 trong đó một phần hoặc toàn bộ bề mặt bên trong được phủ bằng một hoặc nhiều polyme flocacbon tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều polyme phi flocacbon), mà vật chứa được đóng bằng van định lượng. Nắp có thể được ráp chắc chắn trên lon bằng cách hàn siêu âm, lắp vít hoặc gấp mép. Các MDI được đề cập ở đây có được tạo ra bằng phương pháp trong lĩnh vực (ví dụ xem tài liệu của Byron, nêu trên và WO 96/32099). Tốt hơn là hộp được lắp một cụm nắp, trong đó van định lượng thuốc được nằm trong nắp, và nắp này được đặt đúng chỗ.

Theo một phương án của sáng chế, bề mặt bên trong bằng kim loại của lon được phủ bằng floropolyme, tốt hơn là được trộn với hợp chất khác flopolyme. Theo một phương án khác của sáng chế, bề mặt bên trong bằng kim loại của lon được phủ bằng hỗn hợp polyme của polytetrafluetylen (PTFE) và polyetesulfon (PES). Theo một phương án khác của sáng chế, toàn bộ bề mặt bên trong bằng kim loại của lon được phủ bằng hỗn hợp polyme của polytetrafluetylen (PTFE) và polyetesulfon (PES).

Van định lượng được thiết kế để phân phối lượng định sẵn của chế phẩm mỗi lần xịt và kết hợp miếng đệm để ngăn chặn sự rò rỉ của nguyên liệu đẩy qua van. Miếng đệm có thể bao gồm vật liệu đàn hồi thích hợp như, ví dụ, polyetylen tỷ trọng thấp, clo butyl, bromobutyl, EPDM, cao su butadien-acrylonitril đen và trắng, cao su butyl và neopren. Các van thích hợp

sẵn có từ các nhà sản xuất đã được biết rõ trong ngành công nghiệp sol khí, ví dụ, từ Valois, France (ví dụ DF10, DF30, DF60), Bepak plc, UK (ví dụ BK300, BK357) và 3M-Neotechnic Ltd, UK (ví dụ SPRAYMISER).

Theo các phương án khác, MDI cũng có thể được sử dụng kết hợp với các cấu trúc khác như, không giới hạn ở, các gói gấp lại để bảo quản và chứa MDI, bao gồm các cấu trúc được mô tả trong các patent Mỹ số 6,119,853; 6,179,118; 6,315,112; 6,352,152; 6,390,291; và 6,679,374, cũng như đơn vị đếm liều như, nhưng không bị giới hạn ở, các đơn vị được mô tả trong các patent Mỹ số 6,360,739 và 6,431,168.

Các phương pháp và thiết bị sản xuất ở quy mô lớn thông thường là đã biết với người có kỹ năng trong lĩnh vực sản xuất dược phẩm dạng sol khí có thể được sử dụng để điều chế các mẻ quy mô lớn để sản xuất thương mại các bình đã được nạp đầy. Vì thế, ví dụ, trong một phương pháp sản xuất ở quy mô lớn để bào chế chế phẩm sol khí huyền phù, van định lượng được xếp nếp lên trên lon nhôm để tạo thành bình trống. Thuốc dạng hạt được bổ sung vào bình nạp và nguyên liệu đẩy được hóa lỏng cùng với tá dược tùy ý được điền đầy áp suất thông qua van nạp vào trong bình sản xuất. Hỗn dịch dược chất được trộn trước khi tái tuần hoàn vào máy nạp và một phần phân ước của hỗn dịch dược chất sau đó được nạp thông qua van định lượng vào trong hộp. Trong một phương pháp sản xuất ở quy mô lớn để bào chế chế phẩm sol khí dung dịch, van định lượng được xếp nếp lên trên lon nhôm để tạo thành hộp trống. Nguyên liệu đẩy được hóa lỏng cùng với tá dược tùy ý và thuốc hòa tan được nạp nhờ áp suất thông qua van nạp vào trong bình sản xuất.

Trong một quy trình khác, một phần phân ước của dược phẩm được hóa lỏng được bổ sung vào hộp mở trong điều kiện đủ lạnh để đảm bảo dược phẩm không bị bay hơi, và sau đó van định lượng được xếp nếp lên trên hộp.

Thông thường, trong các mẻ được chuẩn bị để sử dụng dược phẩm, mỗi hộp đã điền đầy được cân kiểm tra, được mã hóa bằng số mẻ và được đóng gói vào khay để bảo quản trước khi thử nghiệm phát hành.

Hỗn dịch và dung dịch chứa hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng cho bệnh nhân thông qua máy xông khí dung. Dung môi hoặc chất tạo huyền phù được sử dụng để khí dung hóa có thể là chất lỏng được dụng bất kỳ như nước, nước muối, rượu hoặc glycol, ví dụ, etanol, rượu isopropylic, glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, v.v. hoặc hỗn hợp của chúng. Dung dịch nước muối có thể sử dụng muối thể hiện ít hoặc không có hoạt tính

được lý sau khi sử dụng. Cả các muối hữu cơ, như muối halogen của kim loại kiềm hoặc amoni, ví dụ, natri clorua, kali clorua hoặc các muối hữu cơ, như các muối kali, natri và amoni hoặc các muối vô cơ, ví dụ, axit ascorbic, axit xitric, axit axetic, axit tartric, v.v. có thể được sử dụng cho mục đích.

Các tá được được dụng may be được bổ sung vào hỗn dịch hoặc dung dịch. Hợp chất theo sáng chế có thể được làm ổn định bằng cách bổ sung axit vô cơ, ví dụ, axit clohydric, axit nitric, axit sulfuric và/hoặc axit phosphoric; axit hữu cơ, ví dụ, axit ascorbic, axit xitric, axit axetic, và axit tartric, v.v, tác nhân tạo phức như EDTA hoặc axit xitric và các muối của chúng; hoặc các chất chống oxy hóa như vitamin E hoặc axit ascorbic. Các chất này có thể được sử dụng một mình hoặc cùng nhau để làm ổn định hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng. Các chất bảo quản có thể được bổ sung vào như benzalkoni clorua hoặc axit benzoic và muối của nó. Chất hoạt động bề mặt có thể được bổ sung cụ thể để cải thiện độ ổn định vật lý của hỗn dịch. Các chất này có thể bao gồm lexithin, dinatri dioctylsulfosuccinat, axit oleic và sorbitan este.

Các dược phẩm để dùng qua đường mũi có thể bao gồm dược phẩm sol khí được tạo áp và chế phẩm dạng nước được sử dụng cho mũi bằng cách bơm áp suất. Các dược phẩm không được tạo áp và được làm phù hợp để được sử dụng khu trú cho khoang mũi đặc biệt quan tâm. Các dược phẩm thích hợp chứa nước là chất pha loãng hoặc chất mang nhằm mục đích này. Các dược phẩm chứa nước để sử dụng cho phổi hoặc mũi có thể được cung cấp với các tá dược thông thường như các chất đệm, chất cải biến trương lực và các chất tương tự. Các dược phẩm chứa nước cũng có thể được dùng cho mũi bằng cách khí dung hóa.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng dược phẩm dạng chất lưu để phân phối từ thiết bị phân phối chất lưu, ví dụ thiết bị phân phối chất lưu có vòi phân phối hoặc vòi phun phân phối thông qua đó liều được định lượng của dược phẩm dạng chất lưu được phân tán khi sử dụng lực tác dụng của người dùng vào cơ cấu bơm của thiết bị phân phối chất lưu. Các thiết bị phân phối chất lưu như vậy thường được cung cấp với khoang gồm nhiều liều đã định lượng của dược phẩm dạng chất lưu, các liều này được phân tán khi tác động lên bơm lần lượt. Vòi phun hoặc lỗ phân phối có thể được tạo kết cấu để đưa vào lỗ mũi của người sử dụng để phân phối dược phẩm dạng chất lưu vào khoang mũi. Một thiết bị phân phối chất lỏng thuộc loại nêu trên được mô tả và minh họa trong WO 05/044354, toàn bộ nội dung được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Một thiết bị phân phối có vỏ chứa bộ phận xả

chất lưu có bơm nén được lắp trên vật chứa để chứa được phẩm dạng chất lưu. Vỏ có ít nhất một đòn bẩy bên có thể vận hành bằng ngón tay, có thể di chuyển vào bên trong đối với vỏ để đưa vật chứa lên cao trong vỏ làm cho máy bơm nén lại và bơm một liều được định lượng của dược phẩm ra khỏi thân bơm qua vòi phun vào mũi của vỏ. Theo một phương án, thiết bị phân phối chất lưu là loại thông thường được minh họa trên các Fig. 30-40 của WO 05/044354.

Các dược phẩm thích hợp để dùng trong mũi trong đó chất mang là chất rắn bao gồm bột thô có cỡ hạt, ví dụ, nằm trong khoảng từ 20 đến 500 micron mà được dùng bằng cách hít nhanh qua đường mũi từ đồ chứa bột được giữ ở gần với mũi. Dược phẩm thích hợp trong đó chất mang là chất lưu, để dùng làm thuốc xịt qua mũi hoặc dưới dạng thuốc nhỏ giọt vào mũi, bao gồm các dung dịch dạng nước hoặc dạng dầu chứa hợp chất theo sáng chế.

Một số rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus có thể gây ra các vấn đề về da, ví dụ phát ban da. Các dược phẩm thích hợp để dùng qua da có thể được trình bày dưới dạng các tấm dán riêng biệt được dự tính để duy trì tương tác mật thiết với biểu bì của bệnh nhân trong thời gian dài. Ví dụ, các hoạt chất có thể được phân phát từ tấm dán bằng cách điện chuyển ion như thường được mô tả trong *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

Các dược phẩm thích hợp để dùng tại chỗ có thể được bào chế dưới dạng thuốc mỡ, kem, hỗn dịch, thuốc xức, thuốc bột, dung dịch, hồ nhão, gel, thuốc phun, sol khí hoặc dầu.

Thuốc mỡ, kem hoặc gel, có thể, ví dụ, được phối chế với nền nước hoặc nền dầu có bổ sung chất làm đặc và/hoặc chất tạo gel và/hoặc dung môi thích hợp. Các nền này vì thế có thể, ví dụ, bao gồm nước và/hoặc dầu như parafin lỏng hoặc dầu thực vật như dầu lạc hoặc dầu thầu dầu, hoặc dung môi như polyetylen glycol. Các chất làm đặc và chất tạo gel có thể được sử dụng theo bản chất của nền bao gồm parafin mềm, nhôm stearat, rượu xetostearylic, polyetylen glycol, mỡ lông cừu, sáp ong, carboxypolymetylen và dẫn xuất xenluloza, và/hoặc glyxeryl monostearat và/hoặc chất nhũ hóa không ion.

Kem dưỡng có thể được bào chế với nền nước hoặc nền dầu và sẽ thường cũng chứa một hoặc nhiều chất nhũ hóa, chất làm ổn định, chất phân tán, chất tạo huyền phù hoặc chất làm đặc.

Bột để dùng ngoài có thể được tạo thành với sự hỗ trợ của nền bột thích hợp bất kỳ, ví dụ, bột talc, lactoza hoặc tinh bột. Thuốc nhỏ giọt có thể được bào chế với nền nước hoặc không chứa nước cũng bao gồm một hoặc nhiều chất phân tán, chất hòa tan, chất tạo huyền phù hoặc chất bảo quản.

Chế phẩm khu trú có thể được sử dụng một hoặc nhiều lần mỗi ngày cho vùng được tác động. Trên các vùng da, có thể sử dụng băng kín có thể thuận lợi được sử dụng. Việc phân phối liên tục hoặc kéo dài có thể đạt được nhờ hệ khoang chứa chất kết dính.

Đối với các dược phẩm điều trị trong mắt hoặc tai có thể được sử dụng dưới dạng thuốc mỡ hoặc kem bôi khu trú. Nếu được bào chế dưới dạng thuốc mỡ, hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được sử dụng với parafin hoặc nền thuốc mỡ có thể trộn lẫn với nước. Theo cách khác, hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng có thể được bào chế thành dạng kem hoặc trong nền kem dầu trong nước.

Dược phẩm thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch tiêm vô trùng chứa nước và không chứa nước mà có thể chứa các chất chống oxy hóa, các chất đệm, chất kìm hãm vi khuẩn, và dung dịch khiến cho dược phẩm có tính đẳng trương với máu của đối tượng nhận dự tính, và hỗn dịch vô trùng chứa nước hoặc không chứa nước có thể bao gồm chất tạo hỗn dịch và chất làm đặc. Các dược phẩm có thể được chứa trong đồ chứa đơn liều hoặc đa liều, ví dụ, ampun và ống thuốc tiêm bịt kín, và có thể bảo quản trong điều kiện sấy khô lạnh (đông khô nhanh) mà chỉ đòi hỏi việc bổ sung chất mang lỏng vô trùng, ví dụ, nước để tiêm, ngay trước khi sử dụng. Dung dịch và hỗn dịch tiêm pha chế ngay lúc dùng có thể được điều chế từ các thuốc bột, thuốc hạt và viên nén vô trùng.

Các hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cùng với chất chống viêm như corticosteroid hoặc dược phẩm của chúng, để điều trị bệnh hen suyễn bị trầm trọng hơn do nhiễm virus, đặc biệt là nhiễm HRV. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được phối chế cùng với chất chống viêm, như corticosteroid, trong một chế phẩm, như chế phẩm dạng bột khô để hít. Theo cách khác, dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với dược phẩm chứa chất chống viêm, như corticosteroid, đồng thời hoặc lần lượt. Ví dụ, dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế và dược phẩm khác chứa chất chống viêm, như corticosteroid, mỗi dược phẩm có thể được chứa trong một bộ phận thích hợp để sử dụng đồng thời cả hai dược phẩm qua đường hô hấp.

Các corticosteroid thích hợp để sử dụng cùng với các hợp chất theo sáng chế bao gồm fluticason furoat, fluticason propionat, beclomethason dipropionat, budesonid, ciclesonid, mometason furoat, triamcinolon, flunisolid và prednisilon. Các corticosteroid thích hợp để sử dụng cùng với hợp chất theo sáng chế bằng cách hít bao gồm fluticason furoat, fluticason propionat, beclomethason dipropionat, budesonid, ciclesonid, mometason furoat, và flunisolid.

Vì thế theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid hoặc chất ức chế phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat 3-kinaza-delta (PI3K δ).

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hen suyễn bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus, ví dụ HRV, mà phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng có nhu cầu một lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, để sử dụng trong điều trị bệnh hen suyễn bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh hen suyễn bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh xơ nang bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus, ví dụ HRV, trong đó phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị một lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, để sử dụng trong điều trị bệnh xơ nang bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dùng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh xơ nang bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh suy tim sung huyết bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus, ví dụ HRV, trong đó phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị một lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, để sử dụng trong điều trị bệnh suy tim sung huyết bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và một hoặc nhiều chất chống viêm, như corticosteroid, trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh suy tim sung huyết bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Các phương án sau đây áp dụng cho mỗi một trong số các khía cạnh nêu trên liên quan đến tổ hợp với một hoặc nhiều chất chống viêm.

Theo một phương án được phẩm này bao gồm một chất chống viêm.

Theo một phương án, chất chống viêm này là corticosteroid.

Theo một phương án, corticosteroid là fluticason furoat.

Theo một phương án, corticosteroid là fluticason propionat.

Theo một phương án, chất chống viêm là chất ức chế của phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat 3-kinaza-delta (PI3K δ), như nemiralisib (xem Sriskantharajah et al., *Annals of the New York Academy of Sciences*, (2013), 1280, 35; Cahn et al., *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, (2017), 46, 69; and Stark et al., *Current Opinion in Pharmacology*, (2015), 23, 82).

Các hợp chất hoặc được phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng cùng với một hoặc nhiều chất giãn phế quản, hoặc được phẩm của chúng, để điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được phối chế cùng với một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản trong một được phẩm, như được phẩm dạng bột khô để hít. Theo cách khác, được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với được phẩm chứa một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, đồng thời hoặc lần lượt. Theo một cách khác, được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế và chất làm giãn phế quản có thể được sử dụng kết hợp với được phẩm chứa một chất làm giãn phế quản khác. Ví dụ, được phẩm chứa

hợp chất theo sáng chế và dược phẩm khác chứa một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản có thể được chứa trong một dụng cụ thích hợp để sử dụng đồng thời cả hai dược phẩm bằng cách hít.

Các chất làm giãn phế quản thích hợp để sử dụng cùng với hợp chất theo sáng chế bao gồm chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 và chất chống tiết cholin. Các ví dụ về chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 bao gồm, ví dụ, vilanterol, salmeterol, salbutamol, formoterol, salmefamol, fenoterol, carmoterol, etanterol, naminterol, clenbuterol, pirbuterol, flerbuterol, reproterol, bambuterol, indacaterol, terbutalin và muối của chúng, ví dụ muối xinafoat (1-hydroxy-2-naphtalencarboxylat) của salmeterol, muối sulphat của salbutamol hoặc muối fumarat của formoterol. Các ví dụ về chất chống tiết cholin bao gồm umeclidini (ví dụ bromua), ipratropium (ví dụ, như bromua), oxitropium (ví dụ, như bromua) và tiotropi (ví dụ, như bromua). Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng cùng với chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 , như vilanterol, và chất chống tiết cholin, như, umeclidini.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng và một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị COPD bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virut trong đó phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng có nhu cầu điều trị một lượng có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng và một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng và một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản để sử dụng trong điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virut.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng và một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virut.

Các phương án sau đây áp dụng cho mỗi một trong số các khía cạnh nêu trên liên quan đến tổ hợp với một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 .

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 và một hoặc nhiều chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 và chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một chất làm giãn phế quản là chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 .

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một chất làm giãn phế quản mà là chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 là vilanterol.

Theo một phương án, chất chống tiết cholin là umeclidini. Theo một phương án khác, chất chống tiết cholin là umeclidini bromua.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, b) một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, và c) một hoặc nhiều chất chống viêm.

Phần mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus, trong đó phương pháp này bao gồm việc sử dụng cho đối tượng có nhu cầu điều trị một lượng có tác dụng điều trị bệnh của a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, b) một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, và c) một hoặc nhiều chất chống viêm.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, b) một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, và c) một hoặc nhiều chất chống viêm để sử dụng trong điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của chúng, b) một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản, và c) một hoặc nhiều chất chống viêm trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh COPD bị trầm trọng thêm bởi nhiễm virus.

Các phương án sau đây áp dụng cho mỗi một trong số các khía cạnh nêu trên liên quan đến tổ hợp với một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản và một hoặc nhiều chất chống viêm.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 .

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một hoặc nhiều chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 và một hoặc nhiều chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 và chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một chất làm giãn phế quản là chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 .

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản bao gồm một chất làm giãn phế quản mà là chất chống tiết cholin.

Theo một phương án, chất chủ vận thụ thể gây tiết adrenalin β_2 là vilanterol.

Theo một phương án, chất chống tiết cholin là umeclidini. Theo một phương án khác, chất chống tiết cholin là umeclidini bromua.

Theo một phương án, một hoặc nhiều chất chống viêm là corticosteroid.

Theo một phương án khác, corticosteroid là fluticason furoat.

Theo một phương án khác, corticosteroid là fluticason propionat.

Theo một phương án khác, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản là vilanterol và umeclidini.

Theo một phương án khác, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản là cả vilanterol và umeclidini, và một hoặc nhiều chất chống viêm là fluticason furoat.

Theo một phương án khác, một hoặc nhiều chất làm giãn phế quản là cả vilanterol và umeclidini, và một hoặc nhiều chất chống viêm là fluticason propionat.

Các hợp chất theo sáng chế có thể có profil được cải thiện so với các chất ức chế PI4KIII β ức chế, ví dụ, được so sánh với các chất ức chế PI4KIII β đã biết các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể có một hoặc nhiều tính chất sau đây:

- (i) hoạt tính ức chế PI4KIII β công hiệu;

- (ii) khả năng cải thiện đối với PI4KIII β ;
- (iii) $T_{1/2}$ của enzym tăng;
- (iv) công hiệu tế bào được cải thiện;
- (v) thời gian lưu trong phổi được cải thiện
- (vi) độ hòa tan được cải thiện; và/hoặc
- (vii) các hợp chất tích tụ trong mô cơ thể ở mức độ thấp.

Như được nêu trên, khi được sử dụng, các hợp chất theo sáng chế có thể tích tụ trong mô cơ thể ở mức độ thấp so với chất ức chế PI4KIII β . Cụ thể, các hợp chất theo sáng chế có mức độ tích tụ thấp trong lách. Các nghiên cứu trước đây đã thể hiện sự tích tụ của chất ức chế PI4KIII β trong lách có thể có bất lợi *ví dụ* có thể gây chết theo chương trình.

Các hợp chất hỗ trợ

Các hợp chất hỗ trợ sau đây minh họa cho sáng chế, như là hướng dẫn cho người có kỹ năng trong lĩnh vực điều chế và sử dụng hợp chất, được phẩm, và phương pháp theo sáng chế. Trong khi các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả, người có kỹ năng trong lĩnh vực sẽ đánh giá được các thay đổi và cải biến khác nhau có thể được thực hiện. Khi nói đến phương pháp điều chế được thực hiện theo cách tương tự với, hoặc bằng phương pháp chung của, các phương pháp điều chế khác, có thể bao gồm các cải biến về các thông số thông thường như thời gian, nhiệt độ, điều kiện thực hiện, sự thay đổi về lượng chất phản ứng v.v.

Các phản ứng bao gồm các hydrua (bao gồm natri hydrua) và các chất phản ứng kim loại hữu cơ được thực hiện trong môi trường argon hoặc nitơ trừ khi được quy định khác.

Trong các hợp chất trung gian và các hợp chất hỗ trợ sau đây, trong đó hệ số tỷ lệ của hợp chất được chỉ ra, chúng được chỉ ra cả tên và công thức cấu trúc của hợp chất.

Trong các hợp chất trung gian và các hợp chất hỗ trợ nhất định sau đây, các nguyên liệu ban đầu được xác định bằng cách tham chiếu đến số hợp chất trung gian hoặc hợp chất. Điều này không có nghĩa là nguyên liệu (hoặc “mê”) thực tế thu được từ hợp chất trung gian hoặc hợp chất hỗ trợ cụ thể bất kỳ cần thiết được sử dụng trong bước tiếp theo được lấy làm ví dụ trong bản mô tả này.

Trừ khi được quy định khác, các nguyên liệu ban đầu có bán trên thị trường. Tất cả các dung môi và chất phản ứng thương mại là loại điều chế trong phòng thí nghiệm và được sử dụng như nhận được.

Trong trường hợp hóa học lập thể tuyệt đối được biết đến và và hợp chất là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ, các ký hiệu hình nêm được in đậm hoặc gạch gạch ($\text{—}/\text{.....}$) được sử dụng nếu thích hợp. Trường hợp hóa học lập thể tuyệt đối chưa được biết nhưng được biết là chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ, dấu sao (*) được sử dụng.

Tên của các chất trung gian và các hợp chất hỗ trợ thu được bằng cách sử dụng chương trình đặt tên hợp chất trong “ChemBioDraw Ultra v12” hoặc “ACD Name Pro 6,02”.

Như được sử dụng ở đây, các ký hiệu và các quy ước được sử dụng trong các quy trình, sơ đồ và ví dụ này là nhất quán với những cái được sử dụng trong các tài liệu khoa học đương thời, ví dụ, the Journal of the American Chemical Society.

Các chữ viết tắt

Danh sách dưới đây cung cấp định nghĩa về các chữ viết tắt và các ký hiệu nhất định khi được sử dụng trong bản mô tả này. Nên hiểu rằng danh sách này không đầy đủ, nhưng ý nghĩa của những chữ viết tắt và ký hiệu không được nêu dưới đây sẽ rõ ràng hiển nhiên đối với những người có kỹ năng trong lĩnh vực này. Khi mô tả sáng chế, các nguyên tố hóa học được xác định theo Bảng tuần hoàn các nguyên tố.

Bu	Butyl
m-CPBA	Axit Meta-cloperoxybenzoic
CV	(Các) thể tích cột
DCM	Diclorometan
DIBAL-H	Diisobutylnhôm hydrua
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropyletylamin
DMAP	4-Dimetylaminopyridin
DMP	Dess–Martin periodinan
DMF	<i>N,N</i> -Dimetylformamit
DMSO	Dimetylsulfoxit

dppf	1,1'-Bis(diphenylphosphino)feroxen	
HATU	1-[Bis(dimethylamino)metylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridini	3-oxit
hexaflophosphat		
HCl	Axit clohydric	
IPA	Iso-propanol	
2-MeTHF	2-Metyltetrahydrofuran	
NBS	<i>N</i> -Bromosucinimit	
NIS	<i>N</i> -Iodosucinimit	
Rt	Thời gian lưu	
TFA	Axit trifloaxetic	
THF	Tetrahydrofuran	
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao	
MDAP	HPLC điều chế tự động hướng khối lượng	
XPhos	Dixyclohexyl(2',4',6'-triisopropyl-[1,1'-biphenyl]-3-yl)phosphan	
XPhos Pd G2	Clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]palladi(II)	

Phương pháp LCMS

Phương pháp A

Cột: Acquity BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: axit formic 0,1% trong nước; B: Axit formic 0,1% trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 2,0 / 98, 3,4 / 98, 3,5 / 3, 4,0 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 0,6 mL/phút.

Phương pháp B

Cột: XBridge BEH C₁₈ (50 mm x 4,6 mm, 2,5 µM). Pha động: A: 5 mM amoni bicarbonat; B: axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 5, 0,5 / 5, 1 / 15, 3,3 / 98, 5,2 / 98, 5,5 / 5, 6,0 / 5. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 1,3 mL/phút.

Phương pháp C

Cột: Acquity BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: axit formic 0,1% trong nước; B: Axit formic 0,1% trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 2,5 / 98, 3,4 / 98, 3,5 / 3, 4,0 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 0,6 mL/phút.

Phương pháp D

Cột: XBridge BEH C₁₈ (50 mm x 4,6 mm, 2,5 µM). Pha động: A: 5 mM amoni bicacbonat; B: axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 5, 1,5 / 15, 7 / 98, 9 / 98, 9,5 / 5, 10 / 5. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 1,3 mL/phút.

Phương pháp E

Cột: Acquity BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: axit formic 0,05% trong nước; B: Axit formic 0,05% trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 3,2 / 98, 3,8 / 98, 4,2 / 3, 4,5 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 0,6 mL/phút.

Phương pháp F

Cột: Acquity UPLC CSH C₁₈ cột (50 mm x 2,1 mm i.d. 1,7 µm) ở 40 °C. Các dung môi được sử dụng là: A = 10 mM amoni bicacbonat trong nước được điều chỉnh độ pH=10 bằng dung dịch amoniac. B = Axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,05 / 3, 1,5 / 95, 1,9 / 95, 2,0 / 3. Tốc độ dòng: 1 mL/phút. MS: Waters ZQ. Chế độ ion hóa : Phun điện âm và dương quét luân phiên

Phương pháp G

Cột: Acquity BEH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: axit formic 0,1% trong nước; B: Axit formic 0,1% trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 3,2 / 98, 3,8 / 98, 4,2 / 3, 4,5 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, Tốc độ dòng: 0,6 mL/phút.

Phương pháp H

Cột: Acquity BEH C₁₈ (50 mm x 2,1mm, 1,7 µm). Pha động: A: 5 mM Ammoni bicacbonat trong nước (độ pH=10); B: axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 2,5 / 98, 3,4 / 98, 3,5 / 3, 4,0 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, tốc độ dòng: 0,6 mL/phút.

Phương pháp I

Cột: Acquity BEH C₁₈ (100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: 0,05% TFA trong nước; B: axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 0,4 / 3, 3,5 / 98, 4,5 / 98, 5,0 / 3, 5,5 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, tốc độ dòng: 0,45 mL/phút.

Phương pháp J

Cột: Acquity UPLC CSH C₁₈ (50 mm x 2,1 mm, i.d. 1,7 µm) ở 40 °C. Các dung môi được sử dụng là: A = dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong nước. B = dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 1,5 / 95, 1,9 / 95, 2,0 / 3. Tốc độ dòng: 1 mL/phút. MS: Waters ZQ. Chế độ ion hóa : Phun điện âm và dương quét luân phiên

Phương pháp K

Cột: XSelect CSH C₁₈ (150 mm x 3,0 mm, 2,5 µm). Pha động: A: 0,05% TFA trong nước; B: 100% axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 1 / 3, 8 / 98, 11 / 98, 11,1 / 3, 12 / 3. Nhiệt độ cột: 35 °C, tốc độ dòng: 0,7 mL/phút.

Phương pháp L

Cột: BEH C₁₈ (100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm). Pha động: A: 0,1% TFA trong nước, B: 0,1% TFA trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 8,5 / 100, 9,0 / 100, 9,5 / 3, 10 / 3. Nhiệt độ cột: 50 °C, tốc độ dòng: 0,55 mL/phút.

Phương pháp M

Cột: CSH C₁₈ (100mm x 2,1mm i.d. 1,7µm). Pha động: A: dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong nước; B: dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong axetonitril. Thời gian (phút) /% B: 0 / 3, 8,5 / 99,9, 9 / 99,9, 9,5 / 3, 10 / 3. Nhiệt độ cột: 50 °C. Tốc độ dòng: 0,8 mL/phút.

HPLC điều chế tự động hướng khối lượng (MDAP)

Các phương pháp cho HPLC điều chế tự động hướng khối lượng được sử dụng để tinh chế các hợp chất được mô tả dưới đây. Gradient rửa giải dung môi nằm trong khoảng từ 0 đến 99% dung môi B trong dung môi A và chạy trong khoảng thời gian lên đến 25 phút.

Đối với tất cả các phương pháp (trừ khi được chỉ rõ):

Việc dò DAD được thực hiện trong khoảng từ 210 nm đến 350 nm. Điều kiện MS:MS : Waters ZQ

Chế độ ion hóa: Phun điện dương/âm quét luân phiên

Khoảng quét: 100 đến 1000 AMU. Thời gian quét : 0,2 giây hoặc 0,50 giây. Độ trễ giữa các lần quét: 0,1 giây hoặc 0,2 giây

Thể tích bơm: 1 mL hoặc 3 mL

Phương pháp A

Cột: Cột Xselect CSH C₁₈ (150 mm x 30 mm i.d. 5 µm đường kính nhồi) ở nhiệt độ môi trường các dung môi được sử dụng là:

A = 10 mM amoni bicacbonat được điều chỉnh đến độ pH=10 bằng amoniac trong nước.

B = axetonitril.

Tốc độ dòng: 40 mL/phút.

Phương pháp B

Cột: Cột Xselect CSH C₁₈ (150 mm x 30 mm i.d. 5 µm đường kính nhồi) ở nhiệt độ môi trường Các dung môi được sử dụng là:

A = dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong nước

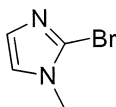
B = dung dịch axit formic 0,1% thể tích/thể tích trong axetonitril.

Tốc độ dòng: 40 mL/phút.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Hợp chất trung gian 1

2-Bromo-1-metyl-1*H*-imidazol

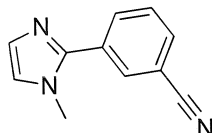


1-Metyl-1*H*-imidazol (20 g, 244 mmol) được hòa tan trong THF khan (200 mL) trong môi trường nitơ. Dung dịch được khuấy ở -78 °C và n-BuLi (167 mL, 268 mmol) được bổ sung từ từ từng giọt ở -78 °C. Sau 1 giờ, dung dịch CBr₄ (97 g, 292 mmol) trong THF khan (200 mL) được bổ sung. Dung dịch được khuấy trong 2 giờ ở -78 °C và trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (300 mL), được chiết bằng etyl axetat (2 x 200 mL), được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký

silicagel rửa giải bằng 60% etyl axetat trong ete dầu mỏ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp B): $rt = 1,89$, $[M+H]^+ = 161$.

Hợp chất trung gian 2

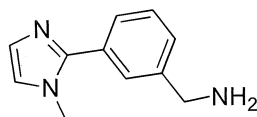
3-(1-Metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzonitril



Hỗn hợp của axit (3-xyanophenyl)boronic (16 g, 109 mmol), 2-bromo-1-metyl-1*H*-imidazol (hợp chất trung gian 1, 15,8 g, 98 mmol) và natri cacbonat (46,2 g, 436 mmol) trong IPA (120 mL) và nước (120 mL) được khuấy và được loại khí bằng nitơ trong 20 phút, và sau đó sản phẩm cộng PdCl₂(dppf)-DCM (4,45 g, 5,44 mmol) được bổ sung và được khuấy ở nhiệt độ 130 °C trong 18 giờ trong ống được bịt kín. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (300 mL), được rửa bằng nước (300 mL), được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel rửa giải bằng 70% etyl axetat trong ete dầu mỏ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp C): $rt = 0,57$, $[M+H]^+ = 184$.

Hợp chất trung gian 3

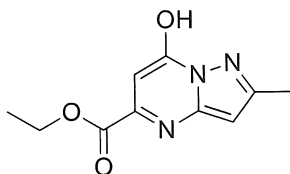
(3-(1-Metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metanamin



Hỗn hợp của 3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzonitril (hợp chất trung gian 2, 12 g, 65,5 mmol) trong amoniac 7 M trong metanol (150 mL) được bổ sung niken Raney (5 g, 65,5 mmol) ở 0 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong áp suất hydro (60 psi) ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua miếng CELITE, được rửa bằng metanol (300 mL) và dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phản ứng được lặp lại trên quy mô tương tự. Hai mẻ nguyên liệu thô được kết hợp và được tinh chế bằng sắc ký nhôm oxit trung tính để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp D): $rt = 2,91$, $[M+H]^+ = 188$.

Hợp chất trung gian 4

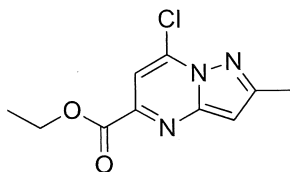
Etyl 7-hydroxy-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Dung dịch natri (*Z*)-1,4-dietoxy-1,4-dioxobut-2-en-2-olat (21,64 g, 103 mmol) trong etanol (100 mL) được bổ sung HCl 4M trong 1,4 dioxan (28,3 mL) sau đó là 5-metyl-1*H*-pyrazol-3-amin (10 g, 103 mmol) ở 0 °C. Hỗn hợp được làm nóng đến 85 °C và được khuấy trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và được cô. Phần cặn được hòa tan trong 10% metanol trong DCM (200 mL) và được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (100 mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (50 mL), được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và được bay hơi đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được nghiền với diethyl ete để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp A): *rt* = 1,53, $[M+H]^+ = 222$.

Hợp chất trung gian 5

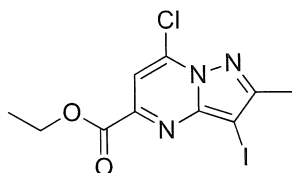
Etyl 7-clo-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Etyl 7-hydroxy-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 4, 10 g, 45,2 mmol) được bổ sung phospho oxyclorea (50 mL, 536 mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 24 giờ ở 90 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong DCM (100 mL) và độ pH được điều chỉnh đến trung hòa bằng cách sử dụng dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (60 mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (100 mL), nước muối (100 mL), được làm khô bằng natri sulphat, được lọc và được cô. Phần cặn được hòa tan trong 10% metanol trong DCM (100 mL), và được hấp thụ trên silic oxit (14 g) sau đó được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (50 g), rửa giải bằng 10% etyl axetat trong ete dầu mỏ. Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp B): *rt* = 3,13, $[M+H]^+ = 240$.

Hợp chất trung gian 6

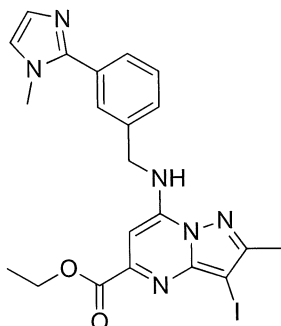
Etyl 7-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Dung dịch etyl 7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 5, 15 g, 62,6 mmol) trong DCM (220 mL) được bổ sung axit axetic (25 mL) và NIS (14,79 g, 65,7 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 6 giờ ở 28 °C. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (150 mL), được rửa bằng natri thiosulphat bão hòa (2 x 90 mL), nước muối (60 mL), được làm khô bằng natri sulphat, được lọc và được cô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp A): $rt = 2,24$, $[M+H]^+ = 366$.

Hợp chất trung gian 7

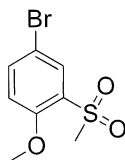
Etyl 3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Dung dịch DIPEA (14,33 mL, 82 mmol) trong DMSO (50 mL) được bổ sung (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metanamin (hợp chất trung gian 3, 5,38 g, 28,7 mmol) và etyl 7-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 6, 10 g, 27,4 mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá lạnh (200 mL) và chất rắn được lọc, được rửa bằng nước (50 mL) và được làm khô trong chân không để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp A): $rt = 1,79$, $[M+H]^+ = 517$.

Hợp chất trung gian 8

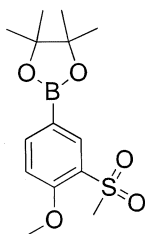
4-Bromo-1-metoxi-2-(metylsulfonyl)benzen



Dung dịch natri sulfit được khuấy (16,55 g, 131 mmol) và natri bicacbonat (11,03 g, 131 mmol) trong nước (160 mL) được bổ sung 5-bromo-2-metoxybenzen-1-sulfonyl clorua (25 g, 88 mmol) trong 1,4-dioxan (160 mL) ở 70 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 70 °C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất trung gian thô ở dạng chất rắn màu trắng. Sản phẩm thô được hòa tan trong DMF (300 mL) và methyl iodua (10,95 mL, 175 mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước được làm lạnh bằng nước đá, được chiết bằng etyl axetat (300 mL), được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và được làm khô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô được rửa bằng n-pentan (100 mL) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp A): $rt = 1,84$, $[M+H]^+ = 265$.

Hợp chất trung gian 9

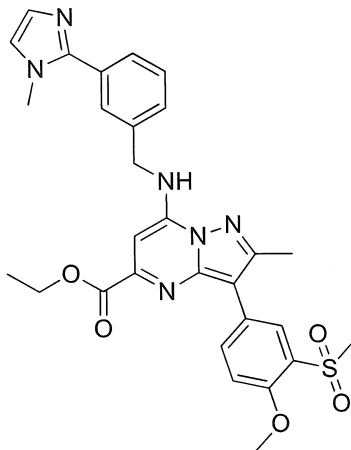
2-(4-Metoxy-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan



Dung dịch 4-bromo-1-metoxy-2-(metylsulfonyl)benzen được khuấy (hợp chất trung gian 8, 15 g, 56,6 mmol) và 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (21,55 g, 85 mmol) trong 1,4-dioxan (150 mL) được bổ sung kali axetat (8,33 g, 85 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được loại khí bằng argon trong 15 phút sau đó sản phẩm cộng $PdCl_2(dppf)$ -DCM (2,31 g, 2,83 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng và được khử khí lần nữa trong 15 phút trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100 °C trong 3 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm CELITE, được rửa bằng metanol (50 mL) và dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel rửa giải bằng 20% etyl axetat trong hexan để thu được hợp chất ở tiêu đề. LCMS (phương pháp E): $rt = 2,16$, $[M+H]^+ = 313$.

Hợp chất trung gian 10

Etyl 3-(4-metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat

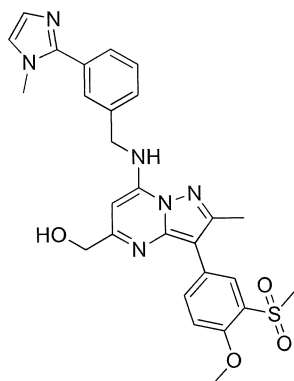


2-(4-Metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (hợp chất trung gian 9, 680 mg, 2,179 mmol), etyl 3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 7, 750 mg, 1,453 mmol), cloro (2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (57,1 mg, 0,073 mmol) và kali florua (253 mg, 4,36 mmol) được hòa tan trong 1,4-dioxan (10 mL) và nước (5 mL) trong ống vi sóng, và ống này được bịt kín và được loại khí bằng nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở 80 °C trong 16 giờ. Thêm clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (57,1 mg, 0,073 mmol), kali florua (253 mg, 4,36 mmol) và 2-(4-metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (hợp chất trung gian 9, 680 mg, 2,179 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 8 giờ nữa ở 80 °C. Thêm clo(2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropyl-1,1'-biphenyl)[2-(2'-amino-1,1'-biphenyl)]paladi(II) (57,1 mg, 0,073 mmol), kali florua (253 mg, 4,36 mmol) và 2-(4-metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (hợp chất trung gian 9, 680 mg, 2,179 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 16 giờ nữa ở 80 °C. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, được lọc qua CELITE (được rửa bằng 3 x 20 mL etyl axetat) và dung môi được loại bỏ trong chân không. Hỗn hợp phản ứng được tách giữa etyl axetat (50 mL) và nước (20 mL) và pha hữu cơ được tách, được làm khô bằng cách thiết bị lọc kị nước, và dung môi được loại bỏ trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký silic

oxit (120g) rửa giải bằng 0 - 100% etyl axetat trong xyclohexan bằng 20 CV thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,04$, $[M+H]^+ = 515$.

Hợp chất trung gian 11

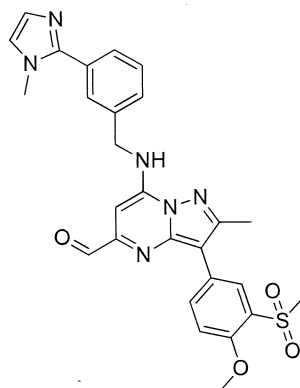
(3-(4-Metoxý-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)metanol



Etyl 3-(4-metoxý-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 10, 180 mg, 0,313 mmol) được hòa tan trong THF (5 mL) trong môi trường nitơ ở 0 °C, và lithi alumin hydrua (1 M trong THF) (0,626 mL, 0,626 mmol) được bổ sung sau đó hỗn hợp được khuấy trong 3 giờ nữa. Hỗn hợp được làm ngừng bằng cách bổ sung natri hydroxit 2 M (5 mL) và được khuấy trong 1 giờ nữa. Pha hữu cơ được chiết bằng etyl axetat (3 x 10 mL), pha hữu cơ được làm khô thông qua thiết bị lọc kị nước và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,89$, $[M+H]^+ = 533$.

Hợp chất trung gian 12

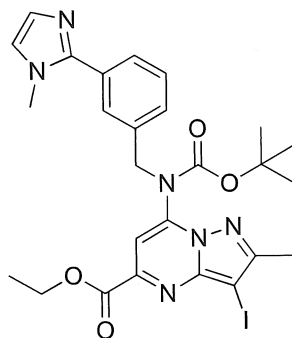
3-(4-Metoxý-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carbaldehyt



(3-(4-Metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)metanol (hợp chất trung gian 11, 112 mg, 0,21 mmol) được hòa tan trong DCM (2,5 mL), mangan dioxit (32 mg, 0,368 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Thêm mangan dioxit (183 mg, 2,103 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ nữa. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua hộp CELITE, được rửa bằng DCM (3 x 5 mL) và dung môi được loại bỏ *trong chân không* để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,0$, $[M+H]^+ = 531$.

Hợp chất trung gian 13

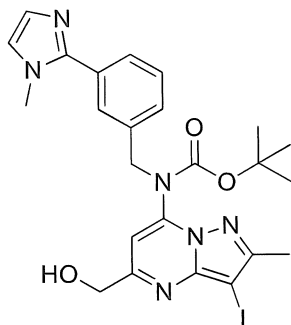
Etyl 7-((*tert*-butoxycarbonyl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Dung dịch etyl 2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 7, 3,8 g, 9,73 mmol) trong DCM (25 mL) được bổ sung DIPEA (5,1 mL, 29,2 mmol), DMAP (1,189 g, 9,73 mmol) và Boc-anhydrua (3,39 mL, 14,6 mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (50 mL), được rửa bằng nước (25 mL), được làm khô bằng natri suphat, được lọc và được cô. Phần cặn được hòa tan trong DCM (30 mL), được hấp thụ trên silicagel (5 g) và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (15 g) rửa giải bằng etyl axetat trong ete dầu mỏ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp G): $rt = 2,14$, $[M+H]^+ = 617$.

Hợp chất trung gian 14

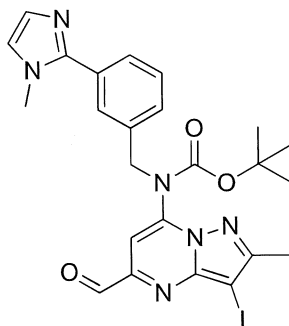
tert-Butyl (5-(hydroxymetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbammat



Dung dịch etyl 7-((tert-butoxycarbonyl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 13, 500 mg, 0,811 mmol) trong etanol (10 mL) được bổ sung natri borohydrua (92 mg, 2,433 mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 3 giờ ở 10 °C. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng HCl 1M (5 mL), độ pH được điều chỉnh đến 6, sau đó được cô. Phần cặn được hòa tan trong etyl axetat (25 mL), được rửa bằng nước (20 mL), được làm khô bằng natri sulphat, được lọc và được cô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp H): $r_t = 2,01$, $[M+H]^+ = 573$.

Hợp chất trung gian 15

tert-Butyl (5-formyl-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbammat

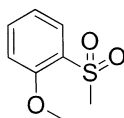


DMP (1752 mg, 4,13 mmol) được bổ sung trong một phần vào dung dịch *tert*-butyl(5-(hydroxymetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbammat được khuấy (hợp chất trung gian 14, 1306 mg, 2,274 mmol) trong DCM (7,5 mL). Hỗn hợp được khuấy trong 18 giờ. Dung dịch natri sulphit bão hòa (10 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được tách giữa DCM (150 mL) và nước (150 mL). Lớp hữu cơ được tách và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 50 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch natri hydro

cacbonat bão hòa (100 mL), nước (100 mL), được đi qua thủy tinh frit kị nước và sau đó được bay hơi *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong lượng tối thiểu DCM và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (120 g), rửa giải bằng 0 - 50% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,27$, $[M+H]^+ = 573$.

Hợp chất trung gian 16

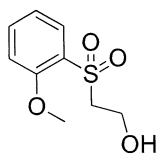
1-Metoxy-2-(metylsulfonyl)benzen



Dung dịch (2-metoxyphenyl)(metyl)sulfan được khuấy (50 g, 324 mmol) trong DCM (1 L) ở 0 °C trong môi trường nito được bổ sung m-CPBA (140 g, 810 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (300 mL), được rửa bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa (2 x 500 mL). Lốp nước được chiết bằng DCM (200 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp I): $rt = 2,28$, $[M+H]^+ = 187$.

Hợp chất trung gian 17

2-((2-Metoxyphenyl)sulfonyl)etanol

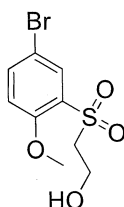


Dung dịch được khuấy của 1-metoxy-2-(metylsulfonyl)benzen (hợp chất trung gian 16, 25 g, 123 mmol) trong THF (250 mL) ở -78 °C trong môi trường nito được bổ sung từng giọt n-butyllithi (115 mL, 184 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78 °C trong 30 phút sau đó làm lạnh xuống 0 °C. Paraformaldehyt (73,6 g, 2450 mmol) được bổ sung từng phần sau đó hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0 °C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua (120 mL), được chiết bằng etyl axetat (2 x 200 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (150 mL) và được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô được hấp thụ trước

lên silicagel (4 g) và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (10 g column, 80% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp C): $rt = 1,16$, $[M+H]^+ = 217$.

Hợp chất trung gian 18

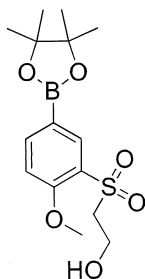
2-((5-Bromo-2-metoxyphenyl)sulfonyl)etanol



Dung dịch được khuấy của 2-((2-metoxyphenyl)sulfonyl)etanol (hợp chất trung gian 17, 10 g, 46,2 mmol) trong DMF (100 mL) trong môi trường nitơ ở nhiệt độ phòng được bổ sung NBS kết tinh lại (16,46 g, 92 mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm ấm lên đến 50 °C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ phòng và được pha loãng bằng etyl axetat (300 mL) và được rửa bằng nước đá lạnh (2 x 500 mL). Lớp hữu cơ được tách, và lớp nước lại được chiết bằng etyl axetat (300 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (300 mL) và được làm khô bằng natri sulphat, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất thô được hấp thụ trước lên silicagel (10 g) và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (90 g column, 40% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp C): $rt = 1,85$, $[M+H]^+ = 295$.

Hợp chất trung gian 19

2-((2-Metoxy-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol

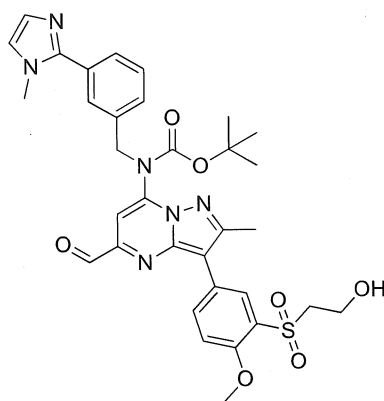


Dung dịch được khuấy của 2-((5-bromo-2-metoxyphenyl)sulfonyl)etanol (hợp chất trung gian 18, 10 g, 33,9 mmol) trong 1,4-dioxan (150 mL) được bổ sung 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (17,2 g, 67,8 mmol) và kali axetat (9,98 g, 102 mmol) ở nhiệt độ phòng, sau đó hỗn hợp phản ứng được loại khí bằng nitơ trong 15 phút. Sản

phẩm cộng $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-DCM}$ (2,77 g, 3,39 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được làm nóng ở 100°C trong 3 giờ trong ống được bịt kín. Hỗn hợp phản ứng được lọc trên miếng CELITE và CELITE được rửa bằng ethyl axetat (2 x 100 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phản ứng được lặp lại trên quy mô tương tự. Hai mẻ sản phẩm thô được trộn và được hòa tan trong DCM (100 mL). Hỗn hợp được xử lý bằng than củi (5 g) và được hồi lưu trong 10 phút sau đó được lọc trên miếng CELITE. CELITE được rửa bằng DCM (2 x 100 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel (ethyl axetat trong ete dầu mỏ) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp C): $\text{rt} = 2,17$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 343$.

Hợp chất trung gian 20

tert-Butyl (5-formyl-3-(3-((2-hydroxyethyl)sulfonyl)-4-methoxyphenyl)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate

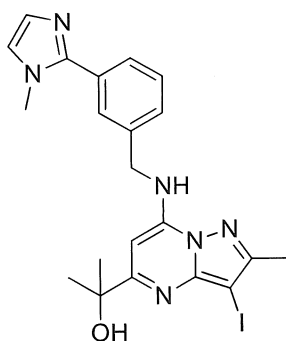


Ống vi sóng được nạp *tert*-butyl (5-formyl-3-iodo-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 15, 487 mg, 0,851 mmol), 2-((2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol (hợp chất trung gian 19, 415 mg, 1,03 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (64 mg, 0,087 mmol) và kali florua (151 mg, 2,6 mmol) trong 1,4-dioxan (2 mL) và nước (1 mL). Bình phản ứng được bịt kín và được làm nóng trong thiết bị phản ứng vi sóng ở 100°C trong tổng 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đi qua CELITE, được rửa bằng metanol (50 mL) và được bay hơi trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong DCM (30 mL) và được tách bằng nước (15 mL). Lớp hữu cơ được tách và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 20 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được bay hơi trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (80 g), rửa giải bằng 50 - 100% ethyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể

tích chứa 1% triethylamin) trong xyclohexan bằng 20 CV để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,06$, $[M+H]^+ = 661$.

Hợp chất trung gian 21

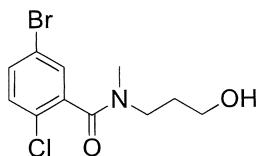
2-(3-Iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol



Etyl 3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 7, 275 mg, 0,533 mmol) được khuấy trong THF (5 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. Metylmagie bromua (1 M trong dibutyl ete) (1,75 mL, 1,75 mmol) được bổ sung trong 2 phút và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng sau đó được để yên trong 4,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng nước (2 mL) sau đó được tách bằng DCM (50 mL) và nước (50 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (50 mL) và sau đó là etyl axetat (50 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được nạp vào DCM (2 mL) trên cột silicagel (40 g) và được rửa giải bằng 10 - 60% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích chứa 1% triethylamin) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,7$, $[M+H]^+ = 503$.

Hợp chất trung gian 22

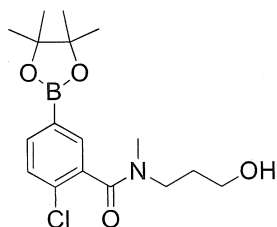
5-Bromo-2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamidit



Dung dịch được khuấy của axit 5-bromo-2-clobenzoic (12,5 g, 53,1 mmol) trong THF (100 mL) được bổ sung 3-(methylamino)propan-1-ol (5,21 g, 58,4 mmol), DIPEA (27,8 mL, 159 mmol) và HATU (22,2 g, 58,4 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (100 mL) và được chiết bằng ethyl axetat (200 mL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulphat khan và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được hòa tan trong DCM (50 mL), được hấp thụ trước lên trên silicagel (50 g) và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (150 g, 100% ethyl axetat) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp K): $rt = 5,30$, $[M+H]^+ = 306$.

Hợp chất trung gian 23

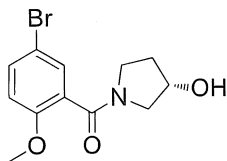
2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Dung dịch được khuấy của 5-bromo-2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamid (hợp chất trung gian 22, 10 g, 32,6 mmol) trong 1,4-dioxan (100 mL) được bổ sung 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (9,69 g, 38,2 mmol), kali axetat (9,60 g, 98 mmol) và hỗn hợp được loại khí bằng argon trong 30 phút. Sản phẩm cộng $PdCl_2(dppf)$ -DCM (0,266 g, 0,326 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được loại khí trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nóng đến 100 °C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và được lọc qua miếng CELITE và được rửa bằng metanol 10% trong DCM sau đó được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được hòa tan trong DCM (50 mL), được hấp thụ trước lên trên florisil (50 g) và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (250 g, 0 - 100% ethyl axetat trong ete dầu mỏ) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp L): $rt = 2,45$, $[M+H]^+ = 354$.

Hợp chất trung gian 24

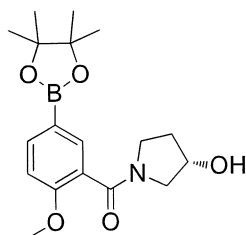
(*S*)-(5-Bromo-2-metoxyphehyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon



DIPEA (1,134 mL, 6,49 mmol) được bổ sung vào dung dịch axit 5-bromo-2-metoxibenzoic (500 mg, 2,164 mmol) và HATU (987 mg, 2,6 mmol) trong 2-MeTHF (10 mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút trong môi trường nitơ. (S)-pyrrolidin-3-ol (226 mg, 2,6 mmol) sau đó được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và bổ sung DMF (5 mL). Hỗn hợp phản ứng được cô trong điều kiện áp suất giảm, được pha loãng bằng dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa (50 mL) và dung dịch lithi clorua 5% (50 mL), và được chiết bằng etyl axetat (2 x 100 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước, được cô trong điều kiện áp suất giảm và làm khô thêm trong dòng nitơ qua đêm. Phần cặn được nạp vào DCM và được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (80 g) rửa giải bằng etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% triethylamin) trong etyl axetat (0%, 2 CV; 0-100%, 12 CV) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,73$, $[M+H]^+ = 300$.

Hợp chất trung gian 25

(S)-(3-Hydroxypyrrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon

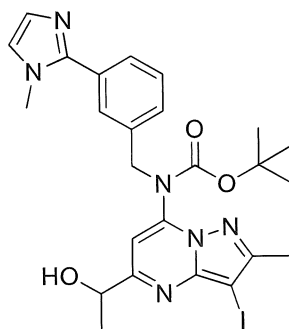


(S)-(5-Bromo-2-metoxiphenyl)(3-hydroxypyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 24, 750 mg, 2,249 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (628 mg, 2,474 mmol), kali axetat (662 mg, 6,75 mmol), $PdCl_2(dppf)$ (165 mg, 0,225 mmol), và 1,4-dioxan (6 mL) được kết hợp và được đặt trong môi trường nitơ bằng cách thoát khí-nạp lại. Hỗn hợp được làm nóng trong thiết bị phản ứng vi sóng ở 100 °C trong 1 giờ. Dung môi được loại bỏ khỏi hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tạo huyền phù trong etyl axetat (50 mL) và nước (30 mL) và được lọc qua CELITE, rửa bằng etyl axetat thêm (50 mL). Dung dịch được pha loãng bằng nước muối (20 mL) và lớp nước được rửa

bằng etyl axetat thêm vào (100 mL), các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,85$, $[M+H]^+ = 348$.

Hợp chất trung gian 26

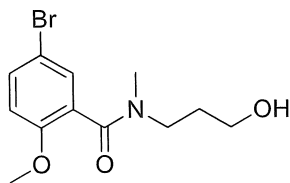
tert-Butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate



tert-Butyl (5-formyl-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 15, 465 mg, 0,812 mmol) được hòa tan trong THF (10 mL) và được làm lạnh xuống -78°C . Metylmagie bromua (1 M trong dibutyl ete) (0,85 mL, 0,85 mmol) được bổ sung từng giọt trong 2 phút. Sau 1 giờ 45 phút metylmagie bromua (1 M trong dibutyl ete) (0,203 mL, 0,203 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở -78°C trong 3 giờ nữa. Dung dịch amoni clorua bão hòa (5 mL) và nước (10 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút trong khi được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng DCM (20 mL) được bổ sung và hỗn hợp được chuyển và lớp hữu cơ được thu gom. Pha nước được rửa thêm bằng DCM (2 x 20 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được nạp ướt vào DCM (1,5 mL) lên trên cột silicagel và được rửa giải bằng 50-60% etyl axetat trong xyclohexan bằng 30 CV và sau đó 60-85% etyl axetat trong xyclohexan bằng 10 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được bay hơi đến khô sau đó được nghiền với dietyl ete để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,2$, $[M+H]^+ = 589$.

Hợp chất trung gian 27

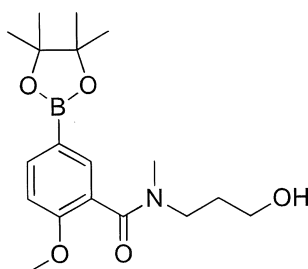
5-Bromo-*N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxyl-*N*-metylbenzamidit



HATU (458,3 mg, 1,205 mmol) và DIPEA (0,655 mL, 3,75 mmol) được bổ sung vào dung dịch được khuấy của axit 5-bromo-2-metoxibenzoic (288,9 mg, 1,250 mmol) trong THF (10 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Sau 10 phút, 3-(metylamino)propan-1-ol (0,146 mL, 1,500 mmol) được bổ sung. Sau 2 giờ, dung môi được loại bỏ *trong chân không* và phần cặn thu được được pha loãng bằng etyl axetat (10 mL) và nước (10 mL). Pha nước được tách được chiết thêm bằng etyl axetat (2 x 10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ *trong chân không* để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,78$, $[M+H]^+ = 303$.

Hợp chất trung gian 28

N-(3-Hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit

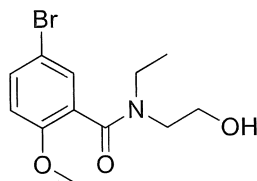


4,4,4',4',5,5,5',5'-Octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (1,114 g, 4,39 mmol), kali axetat (1,077 g, 10,97 mmol), sản phẩm cộng $PdCl_2(dppf)$.DCM (0,299 g, 0,366 mmol) và 1,4-dioxan (7 mL) được kết hợp và được đặt trong môi trường nitơ (tạo chu trình giữa chân không/nitơ 3 lần). Dung dịch 5-bromo-*N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metylbenzamidit (hợp chất trung gian 27, 1,7 g, 3,66 mmol) trong 1,4-dioxan (7 mL) được bổ sung và hỗn hợp được tạo chu trình giữa chân không/nitơ 3 lần. Hỗn hợp sau đó được làm nóng tại 100 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 90 phút. Sau khi làm nguội, hỗn hợp được lọc qua CELITE, được rửa bằng DCM (50 mL) và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn thu được được hòa tan trong etyl axetat (60 mL), nước (60 mL) và nước muối (20 mL). Lớp nước được tách được chiết lại bằng etyl axetat (2 x 30 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Sản phẩm thô

được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 50-100% etyl axetat trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,89$, $[M+H]^+ = 350$.

Hợp chất trung gian 29

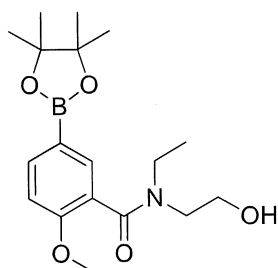
5-Bromo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxybenzamid



DIPEA (1,2 mL, 6,87 mmol) và HATU (980 mg, 2,58 mmol) được bổ sung vào dung dịch được khuấy của axit 5-bromo-2-metoxybenzoic (500 mg, 2,164 mmol) trong 2-MeTHF (10 mL). Sau 15 phút, 2-(etylamin)etan-1-ol (0,25 mL, 2,56 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy qua đêm. Hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (50 mL) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa (50 mL). Pha nước được chiết tiếp bằng etyl axetat (50 mL). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (50 mL) và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silicagel rửa giải bằng 0-100% etyl axetat: ethanol (3:1, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp): $rt = 0,8$, $[M+H]^+ = 302$.

Hợp chất trung gian 30

N-Etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxy-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid

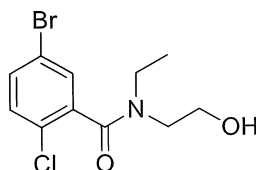


5-Bromo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxybenzamid (hợp chất trung gian 29, 1,2 g, 3,97 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (1,18 g, 4,65 mmol), $PdCl_2(dppf)$ (0,301 g, 0,411 mmol), kali axetat (1,17 g, 11,92 mmol) và 1,4-dioxan (8 mL) được kết hợp và được đặt trong môi trường nitơ bằng cách thoát khí và nạp lại. Hỗn hợp được làm nóng tại 100 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 1,5 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng được lọc qua CELITE, được rửa bằng metanol (250 mL) và dung môi được loại bỏ

trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan lại trong DCM (30 mL) và được tách bằng nước (30 mL). Lớp nước được chiết lại bằng DCM (3 x 30 mL) và các chất chiết hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được bay hơi đến khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): rt 0,92, $[M+H]^+ = 350$.

Hợp chất trung gian 31

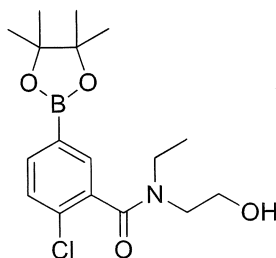
5-Bromo-2-clo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)benzamidit



DIPEA (1,1 mL, 6,30 mmol) và HATU (1,05 g, 2,76 mmol) được bổ sung vào dung dịch được khuấy của axit 5-bromo-2-clobenzoic (509 mg, 2,162 mmol) trong 2-MeTHF (10 mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. 2-(Etylamino)etan-1-ol (0,25 mL, 2,56 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy qua ngày cuối tuần. Hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (50 mL) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa (50 mL). Pha nước được rửa tiếp bằng etyl axetat (50 mL) và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (50 mL) và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 20 - 100% etyl axetat trong xyclohexan. Gom các phân đoạn chứa sản phẩm và làm bay hơi đến khô. Phần cặn được tinh chế tiếp bằng sắc ký cột pha đảo rửa giải bằng 20 - 60% axetonitril (chứa 0,01% amoniac) trong amoni bicacbonat 10 mM trong nước được điều chỉnh đến độ pH=10 bằng dung dịch amoniac để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp E): rt = 0,85, $[M+H]^+ = 306$.

Hợp chất trung gian 32

2-clo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit

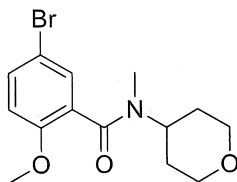


4,4,4',4',5,5,5',5'-Octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (462 mg, 1,819 mmol), 5-

bromo-2-clo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)benzamid (hợp chất trung gian 31, 453 mg, 1,478 mmol), PdCl₂(dppf) (111 mg, 0,152 mmol) và kali axetat (445 mg, 4,53 mmol) được kết hợp trong 1,4-dioxan (4 mL). Hỗn hợp được loại khí và được làm nóng tại 100 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 1 giờ, ba lần. Sau khi làm nguội, hỗn hợp được lọc qua CELITE, được rửa bằng metanol (100 mL) và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tách giữa DCM (20 mL) và nước (10 mL). Lớp nước được tách được rửa tiếp bằng DCM (2 x 10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp D): rt = 1,05, [M+H]⁺ = 354.

Hợp chất trung gian 33

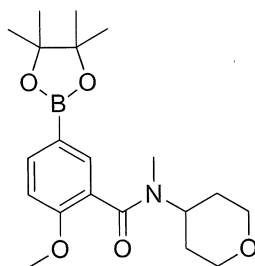
5-Bromo-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid



HATU (1,391 g, 3,66 mmol) và DIPEA (1,72 mL, 9,85 mmol) được bổ sung vào thể huyền phù được khuấy của axit 5-bromo-2-metoxibenzoic (0,752 g, 3,25 mmol) trong THF (10 mL) và được khuấy trong 20 phút. *N*-Metyltetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (0,382 g, 3,32 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 18 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Hỗn hợp phản ứng được tách giữa DCM (50 mL) và nước (50 mL), pha nước được chiết tiếp bằng DCM (2 x 20 mL) và pha hữu cơ được lọc qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong lượng tối thiểu DCM và được tinh chế bằng sắc ký silicagel (120 g), rửa giải bằng 0 - 100% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): rt = 0,89, [M+H]⁺ = 328.

Hợp chất trung gian 34

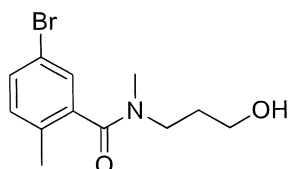
2-Metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



5-Bromo-2-methoxy-*N*-methyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamidit (hợp chất trung gian 33, 746 mg, 2,273 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (692 mg, 2,73 mmol), PdCl₂(dppf).DCM (194 mg, 0,238 mmol), kali axetat (664 mg, 6,77 mmol) và 1,4-dioxan (10 mL) được kết hợp và được làm nóng trong thiết bị phản ứng vi sóng ở 100 °C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua CELITE và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tách giữa nước (25 mL) và DCM (25 mL), pha nước được chiết tiếp bằng DCM (2 x 15mL) và pha hữu cơ được lọc qua thủy tinh frit kỵ nước, sau đó được làm bay hơi đến khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,01, [M+H]⁺ = 376.

Hợp chất trung gian 35

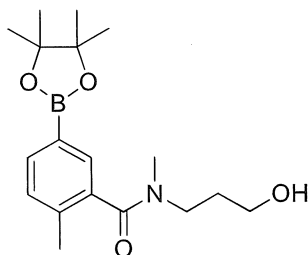
5-Bromo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamidit



Axit 5-Bromo-2-metylbenzoic (504 mg, 2,344 mmol), HATU (1053 mg, 2,77 mmol) và DIPEA (0,5 mL, 2,86 mmol) trong DMF (4 mL) được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút mà 3-(methylamino)propan-1-ol (0,275 mL, 2,83 mmol) được bổ sung. Sau 3 giờ hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (20 mL) và nước (15 mL). Lóp nước được tách được chiết tiếp bằng etyl axetat (15 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước lithi clorua 5% (2 x 10 mL), nước (10 mL) và nước muối (10 mL). Lóp hữu cơ được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 50 - 100% etyl axetat trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp): *rt* = 0,80, [M+H]⁺ = 286.

Hợp chất trung gian 36

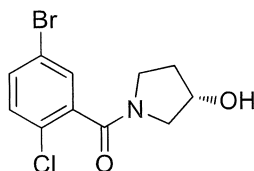
N-(3-Hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit



Kali axetat (636 mg, 6,48 mmol), 5-bromo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimethylbenzamid (hợp chất trung gian 35, 685 mg, 2,154 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (663 mg, 2,61 mmol) và PdCl₂(dppf) (131 mg, 0,179 mmol) được kết hợp trong 1,4-dioxan (5 mL). Hỗn hợp được đặt trong môi trường nitơ bằng cách tạo chu kỳ giữa chân không và nitơ năm lần và được làm nóng trong thiết bị phản ứng vi sóng tại 100 °C trong 1 giờ. Sau khi làm nguội, dung môi được loại bỏ *trong chân không* và phần cặn được tách giữa DCM (30 mL) và nước (20 mL). Lớp nước đã tách ra được rửa tiếp bằng DCM (2 x 20 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): rt = 0,97, [M+H]⁺ = 334.

Hợp chất trung gian 37

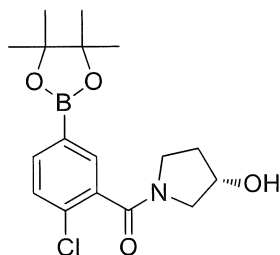
(*S*)-(5-bromo-2-clophenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-clobenzoic (480mg, 2,039 mmol) và (*S*)-pyrolidin-3-ol (178 mg, 2,039 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): rt = 0,73, [M+H]⁺ = 303.

Hợp chất trung gian 38

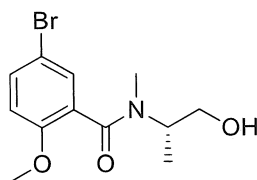
(*S*)-(2-clo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*S*)-(5-bromo-2-clophenyl)(3-hydroxypyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 37), để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,72$, $[M+H]^+ = 352$.

Hợp chất trung gian 39

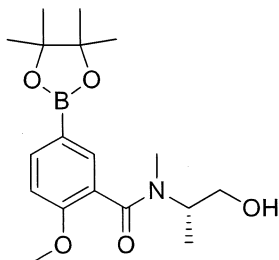
(*S*)-5-Bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-metoxy-*N*-metylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 35, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxybenzoic (0,747 g, 3,23 mmol) và (*S*)-2-(metylamino)propan-1-ol (0,321 g, 3,6 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,77$, $[M+H]^+ = 302$.

Hợp chất trung gian 40

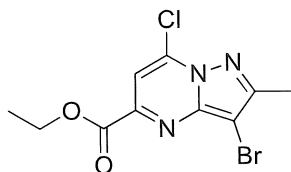
(*S*)-*N*-(1-Hydroxypropan-2-yl)-2-metoxy-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*S*)-5-bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-metoxy-*N*-metylbenzamid (hợp chất trung gian 39) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,89$, $[M+H]^+ = 350$.

Hợp chất trung gian 41

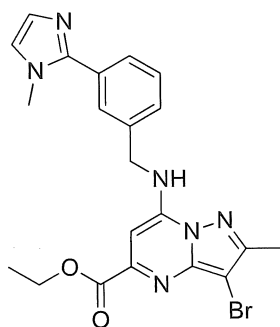
Etyl 3-bromo-7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 6, sử dụng NBS, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 1,11$, $[M+H]^+ = 320$.

Hợp chất trung gian 42

Etyl 3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Etyl 3-bromo-7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 41, 685 mg, 2,15 mmol), (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metanamin (hợp chất trung gian 3, 443 mg, 2,365 mmol) và DIPEA (0,751 mL, 4,3 mmol) được khuấy trong DMSO (5 mL) tại 80 °C trong môi trường nitơ trong 3,5 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp được rót lên trên nước đá lạnh và kết tủa được thu gom bằng cách lọc. Bánh lọc sau đó được hòa tan trong DCM, được làm khô trong điều kiện áp suất giảm và được nghiền với dietyl ete để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,06$, $[M+H]^+ = 469$.

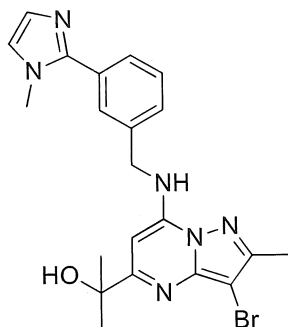
Phương pháp khác để điều chế hợp chất trung gian 42

Etyl 3-bromo-7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 41, 50 g, 157 mmol), (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metanamin (hợp chất trung gian 3, 35,3 g, 188 mmol) và DIPEA (54,8 mL, 314 mmol) được khuấy trong DMSO (500 mL) tại 80 °C trong 3 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá lạnh và kết tủa được thu gom bằng cách lọc. Chất rắn thu được được nghiền với dietyl ete (500 mL), được lọc và được làm khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương

pháp C): $rt = 1,44$, $[M+H]^+ = 469$.

Hợp chất trung gian 43

2-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol



Etyl 3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 42, 1,76 g, 3,75 mmol) được khuấy trong THF (35 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. Metylmagie clorua (3 M trong THF) (5,6 mL, 16,8 mmol) được bổ sung trong 10 phút và hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 30 phút. Hỗn hợp được làm ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (5 mL), sau đó được tách bằng DCM (100 mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa (100 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (2 x 25 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được khuấy trong THF (35 mL) trong môi trường nitơ tại 0 °C. Metylmagie clorua (3 M trong THF) (3,75 mL, 11,25 mmol) được bổ sung trong 10 phút và hỗn hợp được khuấy tại 0 °C trong 40 phút sau khi nó được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (5 mL) sau đó được tách bằng DCM (100 mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa (100 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (2 x 25 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước, được cô trong điều kiện áp suất giảm và được làm khô trong 4 ngày trên đường chân không cao để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,65$, $[M+H]^+ = 455$.

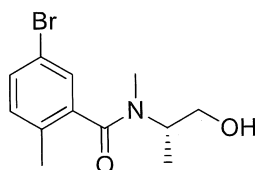
Phương pháp khác để điều chế hợp chất trung gian 43

Etyl 3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 42, 81g, 173 mmol) được khuấy trong DCM

(300 mL) và THF (100 mL) tại 5 °C trong môi trường nitơ. Metylmagie clorua (3 M trong THF) (230 mL, 690 mmol) được bổ sung từng giọt trong 45 phút đồng thời duy trì nhiệt độ bên trong dưới 15 °C và được khuấy trong 10 phút nữa. Hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (400 mL) và được tách giữa DCM (2 L) và nước (2 L). Pha hữu cơ được sấy khô trên magie sulphat và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thu được được hòa tan trong DCM (500 mL) và THF (250 mL) và được làm lạnh xuống 0 °C trong môi trường nitơ. Metylmagie clorua (3 M trong THF) (173 mL, 518 mmol) được bổ sung từng giọt trong 1 giờ, duy trì nhiệt độ bên trong 10 °C. Sau khi bổ sung, hỗn hợp được khuấy tại 5 °C trong 10 phút. Hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (400 mL) và được tách giữa DCM (2 L) và nước (2 L). Pha hữu cơ được làm khô bằng magie sulphat và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,60$, $[M+H]^+ = 455$.

Hợp chất trung gian 44

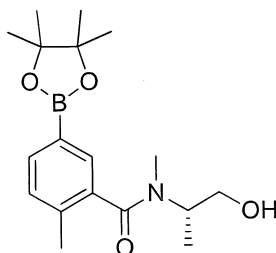
(*S*)-5-Bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethylbenzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-methylbenzoic (800 mg, 3,72 mmol) và (*S*)-2-(methylamino)propan-1-ol (332 mg, 3,72 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,82$, $[M+H]^+ = 286$.

Hợp chất trung gian 45

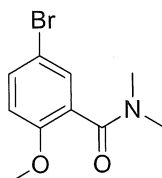
(*S*)-*N*-(1-Hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*S*)-5-bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethylbenzamid (hợp chất trung gian 44) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,92$, $[M+H]^+ = 334$.

Hợp chất trung gian 46

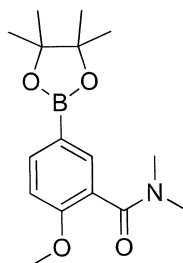
5-Bromo-2-metoxy-*N,N*-dimethylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxybenzoic (483 mg, 2,091 mmol) và dimethylamin (2 M trong THF) (1,254 mL, 2,509 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,85$, $[M+H]^+ = 258$.

Hợp chất trung gian 47

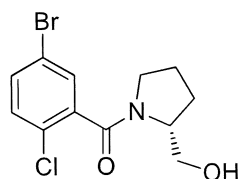
2-Metoxy-*N,N*-dimethyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng 5-bromo-2-metoxy-*N,N*-dimethylbenzamid (hợp chất trung gian 46) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,01$, $[M+H]^+ = 306$.

Hợp chất trung gian 48

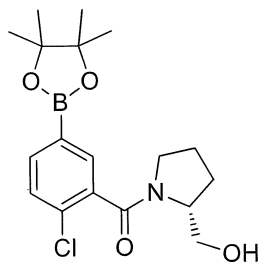
(*R*)-(5-Bromo-2-clophenyl)(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-clobenzoic (503 mg, 2,136 mmol) và (*R*)-pyrrolidin-2-ylmetanol để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,89$, $[M+H]^+ = 320$.

Hợp chất trung gian 49

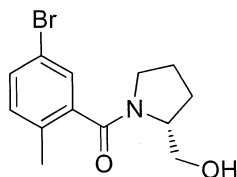
(*R*)-(2-clo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*R*)-(5-Bromo-2-clophenyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 48) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,94$, $[M+H]^+ = 366$.

Hợp chất trung gian 50

(*R*)-(5-Bromo-2-metylphenyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon

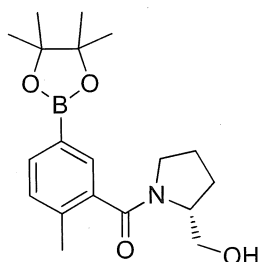


Axit 5-Bromo-2-metylbenzoic (534 mg, 2,483 mmol), HATU (1074 mg, 2,82 mmol) và DIPEA (0,520 mL, 2,98 mmol) trong DMF (1 mL) và THF (5 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút khi (*R*)-pyrrolidin-2-ylmetanol (0,3 mL, 3,04 mmol) được bổ sung trong một phần. Hỗn hợp được khuấy trong 18 giờ. Dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong etyl axetat (40 mL) và được tách bằng nước (20 mL). Lớp hữu cơ được tách và được rửa bằng dung dịch nước lithi clorua 5% (2 x 10 mL), nước (10 mL) và nước muối (10 mL). Lớp hữu cơ sau đó được đi qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong lượng tối thiểu DCM và được tải lên cột silic oxit (80 g) và được rửa giải bằng 12 CV với 0 - 100% etyl axetat: ethanol (3:1, thể

tích/thể tích, chứa 1% triethylamin) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề.
LCMS (phương pháp F): $rt = 0,87$, $[M+H]^+ = 298$.

Hợp chất trung gian 51

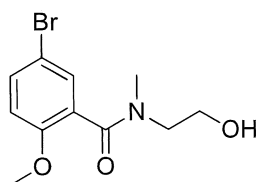
(*R*)-(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng (*R*)-(5-bromo-2-metylphenyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 50) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,02$, $[M+H]^+ = 346$.

Hợp chất trung gian 52

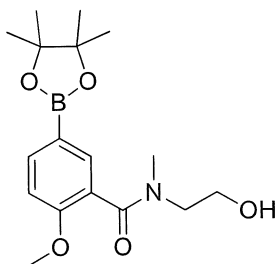
5-Bromo-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxi-*N*-metylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxibenzoic (400 mg, 1,731 mmol) và 2-(metylamino)etan-1-ol (0,167 mL, 2,078 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,72$, $[M+H]^+ = 288$.

Hợp chất trung gian 53

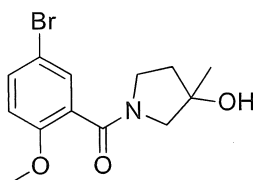
N-(2-Hydroxyetyl)-2-metoxi-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32 bằng cách sử dụng 5-bromo-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-methoxy-*N*-metylbenzamid (hợp chất trung gian 52) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,85$, $[M+H]^+ = 336$.

Hợp chất trung gian 54

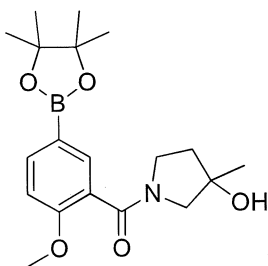
(5-Bromo-2-methoxyphenyl)(3-hydroxy-3-methylpyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33 sử dụng axit 5-bromo-2-methoxybenzoic (503 mg, 2,177 mmol) và 3-methylpyrrolidin-3-ol (244 mg, 2,412 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,76$, $[M+H]^+ = 314$.

Hợp chất trung gian 55

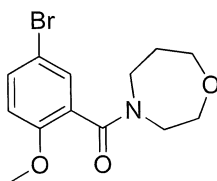
(3-Hydroxy-3-methylpyrrolidin-1-yl)(2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (5-bromo-2-methoxyphenyl)(3-hydroxy-3-methylpyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 54) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,91$, $[M+H]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 56

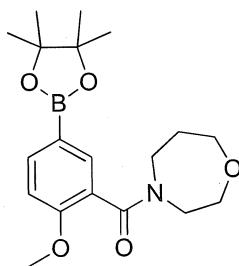
(5-Bromo-2-metoxyphenyl)(1,4-oxazepan-4-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxybenzoic (528 mg, 2,285 mmol) và 1,4-oxazepan (272 mg, 2,69 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,87$, $[M+H]^+ = 316$.

Hợp chất trung gian 57

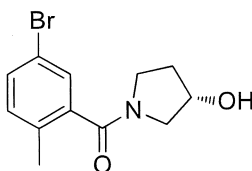
(2-Metoxy-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(1,4-oxazepan-4-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (5-bromo-2-metoxyphenyl)(1,4-oxazepan-4-yl)metanon (hợp chất trung gian 56) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,0$, $[M+H]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 58

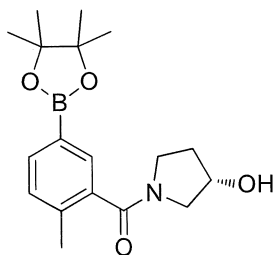
(*S*)-(5-Bromo-2-metylphenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-metylbenzoic (493 mg, 2,293 mmol) và (*S*)-pyrolidin-3-ol (0,23 mL, 2,77 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,75$, $[M+H]^+ = 284$.

Hợp chất trung gian 59

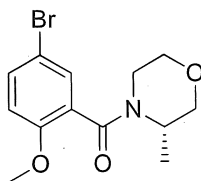
(*S*)-(3-Hydroxypyrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*S*)-(5-bromo-2-metylphenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 58) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,87$, $[M+H]^+ = 332$.

Hợp chất trung gian 60

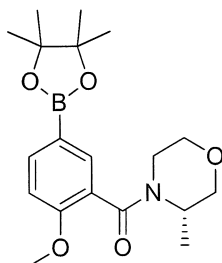
(*S*)-(5-Bromo-2-metoxypheyl)(3-metylmorpholino)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 50, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxibenzoic (505 mg, 2,186 mmol) và (*S*)-3-metylmorpholin (251 mg, 2,481 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,92$, $[M+H]^+ = 314$.

Hợp chất trung gian 61

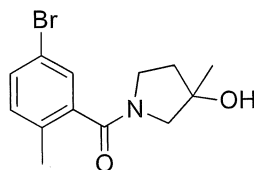
(*S*)-(2-Metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(3-metylmorpholino)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (*S*)-(5-bromo-2-metoxypheyl)(3-metylmorpholino)metanon (hợp chất trung gian 60) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,04$, $[M+H]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 62

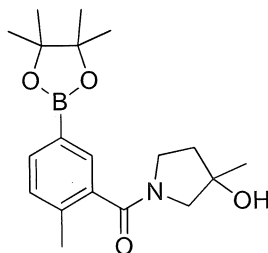
(5-Bromo-2-metylphenyl)(3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-metylbenzoic (394 mg, 1,832 mmol) và 3-metylpyrrolidin-3-ol (222 mg, 2,199 mmol) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,81$, $[M+H]^+ = 298$.

Hợp chất trung gian 63

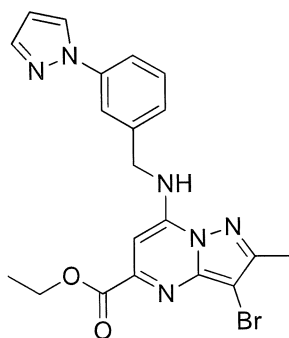
(3-Hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng (5-bromo-2-metylphenyl)(3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 62) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,91$, $[M+H]^+ = 346$.

Hợp chất trung gian 64

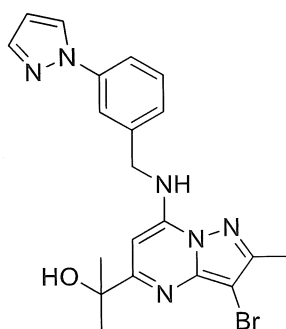
Etyl 7-((3-(1H-pyrazol-1-yl)benzyl)amino)-3-bromo-2-metylpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-carboxylat



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 42, sử dụng (3-(1*H*-pyrazol-1-yl)phenyl)metanamin (sẵn có từ Sigma-Aldrich Inc.) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,21$, $[M+H]^+ = 455$.

Hợp chất trung gian 65

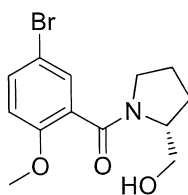
Etyl 7-((3-(1*H*-pyrazol-1-yl)benzyl)amino)-3-bromo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 43, sử dụng etyl 7-((3-(1*H*-pyrazol-1-yl)benzyl)amino)-3-bromo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 64) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,20$, $[M+H]^+ = 441$.

Hợp chất trung gian 66

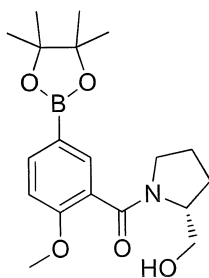
(*R*)-(5-Bromo-2-metoxypheyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 35, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxypheyl và (*R*)-pyrrolidin-2-ylmetanol để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,83$, $[M+H]^+ = 314$.

Hợp chất trung gian 67

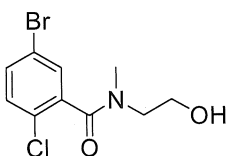
(*R*)-(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng (*R*)-(5-bromo-2-metoxypheyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 66) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,02$, $[M+H]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 68

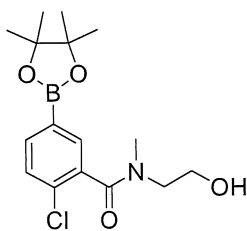
5-Bromo-2-clo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-clobenzoic và 2-(metylamin)etan-1-ol trong THF, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,77$, $[M+H]^+ = 294$.

Hợp chất trung gian 69

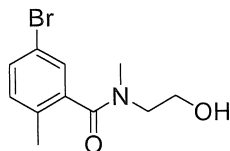
2-clo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng hợp chất trung gian 68, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,75$, $[M+H]^+ = 340$.

Hợp chất trung gian 70

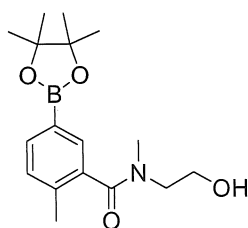
5-Bromo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*,2-dimetylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-metylbenzoic và 2-(metylamin)etan-1-ol, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,76$, $[M+H]^+ = 274$.

Hợp chất trung gian 71

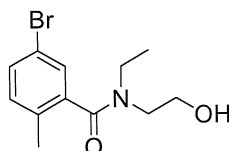
N-(2-Hydroxyetyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng hợp chất trung gian 70, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,85$, $[M+H]^+ = 320$.

Hợp chất trung gian 72

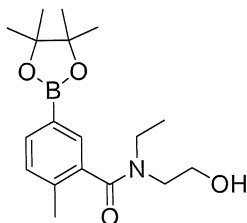
5-Bromo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*,2-dimetylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-metylbenzoic và 2-(etylamin)etan-1-ol, trong THF, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,84$, $[M+H]^+ = 286$.

Hợp chất trung gian 73

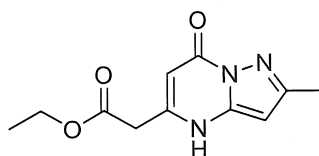
N-Etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng hợp chất trung gian 72, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,95$, $[M+H]^+ = 334$.

Hợp chất trung gian 74

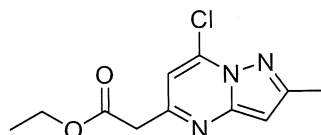
Etyl 2-(2-metyl-7-oxo-4,7-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat



Dung dịch được khuấy 5-metyl-1*H*-pyrazol-3-amin (25 g, 257 mmol) trong 1,4-dioxan (150 mL), được bổ sung diethyl 3-oxopentanedioate (56,8 mL, 309 mmol), sau đó là axit axetic (7,37 mL, 129 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy tại 100 °C trong 6 giờ. Hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng etyl ete, và được làm khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp H): $rt = 1,55$, $[M+H]^+ = 236$.

Hợp chất trung gian 75

Etyl 2-(7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat

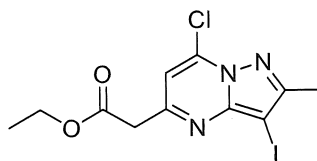


Dung dịch được khuấy etyl 2-(2-metyl-7-oxo-4,7-dihydropyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat (Hợp chất trung gian 74, 22,5 g, 96 mmol) trong axetonitril (250 mL), được bổ sung DIPEA (33,4 mL, 191 mmol), *N*-metylmorpholin (0,105 mL, 0,956 mmol) và POCl₃ (17,83 mL, 191 mmol) tại 0 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp được cô, và được rót lên trên nước đá/nước. Hỗn hợp được trung hòa bằng natri bicacbonat và được chiết bằng etyl axetat (2 x 300 mL). Các lớp

hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (0 - 20% ethyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp H): $rt = 2,05$, $[M+H]^+ = 254$.

Hợp chất trung gian 76

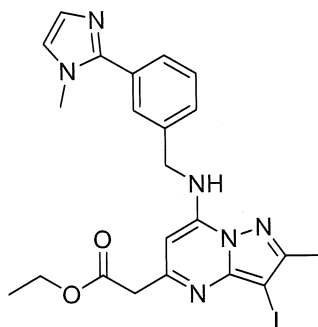
Etyl 2-(7-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat



Dung dịch được khuấy etyl 2-(7-clo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat (Hợp chất trung gian 75, 8 g, 31,5 mmol) trong DMF (160 mL) được bổ sung *N*-iodosuccinimit (7,09 g, 31,5 mmol) ở 0 °C. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót lên trên nước được làm lạnh bằng nước đá và chất rắn kết tủa được thu gom bằng cách lọc. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (0 - 10% ethyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp H): $rt = 2,43$, $[M+H]^+ = 380$.

Hợp chất trung gian 77

Etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat

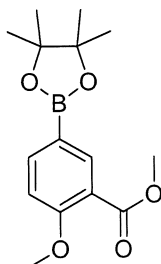


Hỗn hợp của etyl 2-(7-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat (Hợp chất trung gian 76, 6 g, 15,81 mmol), (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metanamin (hợp chất trung gian 3, 3,55 g, 18,97mmol) và DIPEA (5,52 mL, 31,6 mmol) trong DMSO (50 mL) được khuấy và được làm nóng ở 60 °C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng

được rót lên trên nước được làm lạnh bằng nước đá (300 mL) và chất rắn kết tủa được thu gom bằng cách lọc, sau đó được làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp H): $rt = 1,74$, $[M+H]^+ = 531$.

Hợp chất trung gian 78

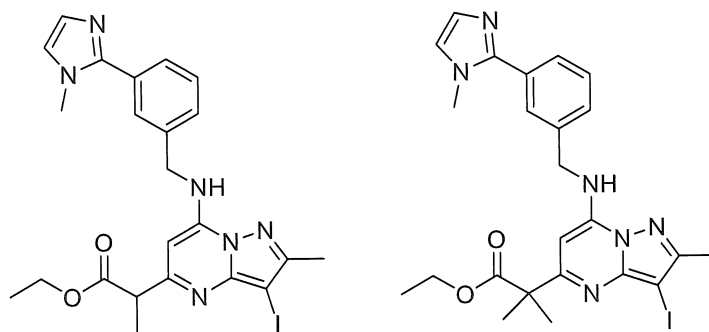
Metyl 2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoat



Dung dịch/huyền phù của metyl 5-iodo-2-metoxibenzoat (20 g, 68,5 mmol), bis(pinacolato)diboron (17,39 g, 68,5 mmol), kali axetat (20,16 g, 205 mmol) và bis(triphenylphosphin)paladi(II) clorua (3,85 g, 5,48 mmol) trong 1,4-dioxan (200 mL) được làm nóng đến 100 °C trong môi trường nito. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100 °C trong 20 giờ và sau đó được làm nguội. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua miếng CELITE. Miếng này được rửa bằng etyl axetat (250 mL). Dịch lọc được bổ sung axit clohydric 1M (250 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (100 mL) và sau đó được làm khô bằng magie sulphat. Dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Sản phẩm được hòa tan trong DCM và được đưa lên cột silic oxit (750 g) và được rửa giải bằng gradient 0 - 50% etyl axetat trong xyclohexan trong 9 CV. Các phân đoạn yêu cầu được kết hợp và được bay hơi *trong chân không* để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 1,16$, $[M+H]^+ = 293$.

Hợp chất trung gian 79 và hợp chất trung gian 80

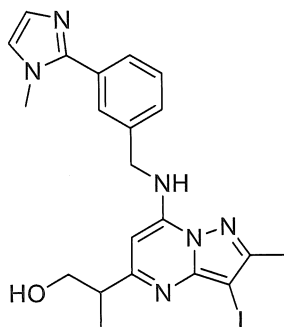
Etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propanoat và etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-metylpropanoat



Trong một lọ khô, ethyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat (Hợp chất trung gian 77, 400 mg, 0,754 mmol) được khuấy trong THF (4,0 mL) trong môi trường nitơ ở 0 °C. Metyl iodua (0,05 mL, 0,8 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 1 phút sau đó LiHMDS (1M trong THF) (1,6 mL, 1,6 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 5 phút, sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng. Sau 15 phút, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng dung dịch NH₄Cl bão hòa (2 mL) và được khuấy trong 5 phút. Hỗn hợp được chuyển sang phễu tách với DCM (20 mL) và nước (20 mL). Các pha được tách và lớp hữu cơ được thu gom. Pha nước được rửa tiếp bằng DCM (2 x 10 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20 mL), được lọc qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần thô được tải ướ từ DCM (1 mL) lên trên cột KP-NH 28 g và được rửa giải bằng 10 - 50% với ethyl axetat: etanol (3:1, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan. Mẫu được tinh chế tiếp bằng sắc ký pha đảo rửa giải bằng 40 - 90% axetonitril trong pH10 được đệm dung dịch amoni cacbonat. Các phân đoạn chứa mỗi sản phẩm được kết hợp riêng rẽ, được cô trong điều kiện áp suất giảm và được làm khô trong lò sấy chân không qua ngày cuối tuần để thu được các hợp chất mong muốn được nêu ở tiêu đề. Hợp chất trung gian 79: LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,16, [M+H]⁺ = 545. Hợp chất trung gian 80: LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,27, [M+H]⁺ = 559.

Hợp chất trung gian 81

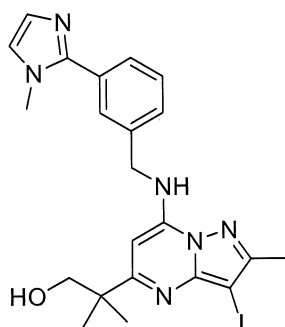
2-(3-Iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol



Ethyl 2-(3-iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propanoat (hợp chất trung gian 79, 87 mg, 0,160 mmol) được khuấy trong THF (1,5 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. DIBAL-H (1 M trong THF) (0,5 mL, 0,5 mmol) được bổ sung từng giọt và hỗn hợp được khuấy trong 45 phút. Hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch muối Rochelle 1M và được khuấy mạnh trong 30 phút. Hỗn hợp được tách bằng DCM (10 mL) và nước (10 mL). Pha nước đã tách được rửa tiếp bằng DCM (2 x 10 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở đề mục. LCMS (phương pháp F): *rt* = 0,99, $[M+H]^+ = 503$.

Hợp chất trung gian 82

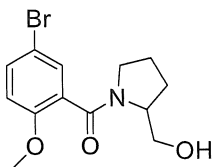
2-(3-Iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-methylpropan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất trung gian 81, sử dụng ethyl 2-(3-iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-methylpropanoat (hợp chất trung gian 80) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,12, $[M+H]^+ = 517$.

Hợp chất trung gian 83

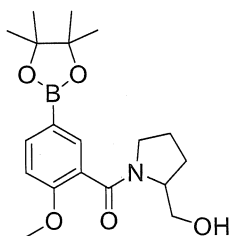
(5-Bromo-2-metoxypheyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxibenzoic và pyrrolidin-2-ylmetanol trong THF, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,84$, $[M+H]^+ = 314$.

Hợp chất trung gian 84

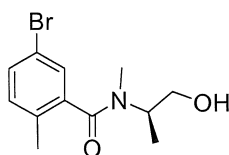
(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng hợp chất trung gian 83, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,96$, $[M+H]^+ = 362$.

Hợp chất trung gian 85

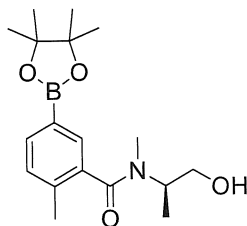
(*R*)-5-Bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetylbenzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-metoxibenzoic và (*R*)-2-(metylaminopropan-1-ol trong THF, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,82$, $[M+H]^+ = 286$.

Hợp chất trung gian 86

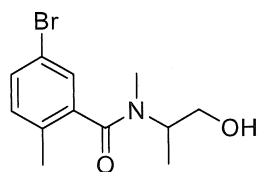
(*R*)-*N*-(1-Hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng hợp chất trung gian 85, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,91$, $[M+H]^+ = 334$.

Hợp chất trung gian 87

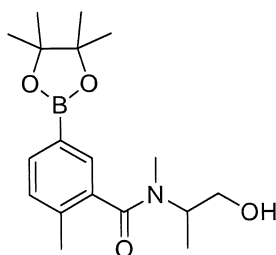
5-Bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethylbenzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-methylbenzoic và 2-(methylamino)propan-1-ol trong THF để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,82$, $[M+H]^+ = 286$.

Hợp chất trung gian 88

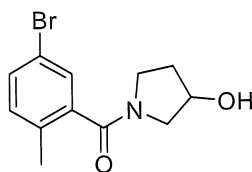
N-(1-Hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng 5-bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimethylbenzamidit (hợp chất trung gian 87) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,91$, $[M+H]^+ = 334$.

Hợp chất trung gian 89

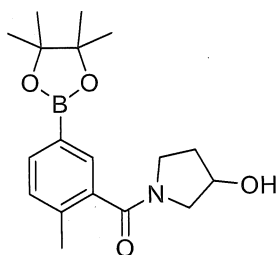
(5-Bromo-2-methylphenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-methylbenzoic và pyrrolidin-3-ol trong THF để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,75$, $[M+H]^+ = 284$.

Hợp chất trung gian 90

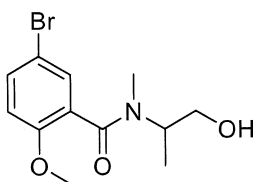
(3-Hydroxypyrrolidin-1-yl)(2-methyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng (5-bromo-2-methylphenyl)(3-hydroxypyrrolidin-1-yl)metanon (Hợp chất trung gian 89) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,84$, $[M+H]^+ = 332$.

Hợp chất trung gian 91

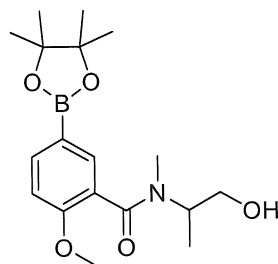
5-Bromo-N-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-methoxy-N-methylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 29, sử dụng axit 5-bromo-2-methoxybenzoic và 2-(methylamino)propan-1-ol trong THF để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,76$, $[M+H]^+ = 302$.

Hợp chất trung gian 92

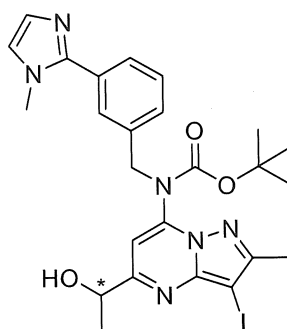
N-(1-Hydroxypropan-2-yl)-2-methoxy-N-methyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 36, sử dụng 5-Bromo-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-metoxyl-*N*-metylbenzamid (hợp chất trung gian 91) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,89$, $[M+H]^+ = 350$.

Hợp chất trung gian 93 và hợp chất trung gian 94

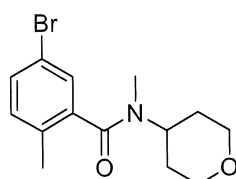
tert-Butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát, chất đồng phân 1 và chất đồng phân 2



tert-Butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát (hợp chất trung gian 26, 60 mg, 0,123 mmol) được tách bằng cách sử dụng Chiralpak AD-H (30 mm x 250 mm, 5 μ m) và hệ dung môi gồm 30% etanol (chứa 0,2% isopropylamin)/ heptan (chứa 0,2% isopropylamin) ở tốc độ 30 mL/phút để thu được hợp chất bất đối được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,97$, $[M+H]^+ = 489$. HPLC bất đối: $rt 10,73$, 99,7%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,97$, $[M+H]^+ = 489$. HPLC bất đối: $rt 7,53$, 100%.

Hợp chất trung gian 95

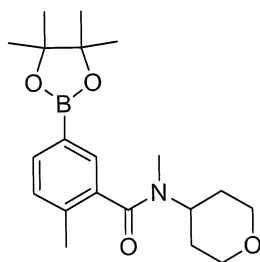
5-Bromo-*N*,2-dimetyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 33, sử dụng axit 5-bromo-2-methylbenzoic và *N*-metyltetrahydro-2*H*-pyran-4-amin trong THF để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,96$, $[M+H]^+ = 312$.

Hợp chất trung gian 96

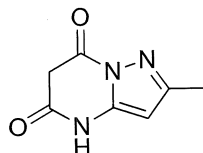
N,2-Dimetyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 32, sử dụng 5-bromo-*N*,2-dimetyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamidit (Hợp chất trung gian 95) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,06$, $[M+H]^+ = 360$.

Hợp chất trung gian 97

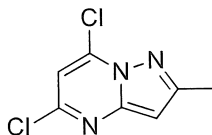
2-Metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5,7(4*H*,6*H*)-dion



5-Metyl-1*H*-pyrazol-3-amin (50 g, 515 mmol) được hòa tan trong etanol (500 mL) trong môi trường nitơ. Natri etanolat (334 g, 1030 mmol) trong etanol được bổ sung sau đó là diethyl malonat (86 mL, 566 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80 °C trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và chất rắn kết tủa được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng lượng dư etanol (1000 mL) và được làm khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp B): $rt = 0,48$, $[M+H]^+ = 166$.

Hợp chất trung gian 98

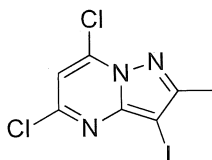
5,7-Diclo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin



2-Methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5,7(4*H*,6*H*)-dion (hợp chất trung gian 97, 35 g, 212 mmol) được bổ sung vào phospho oxyclorea (395 ml, 4239 mmol) và hỗn hợp được làm nóng ở 100 °C trong 24 giờ. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và phospho oxyclorea dư được chưng cất trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp được chiết đồng thời với toluen (2 x 200 mL). Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (etyl axetat 20% trong ete dầu mỏ) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp B): *rt* = 3,21, $[M+H]^+ = 201$.

Hợp chất trung gian 99

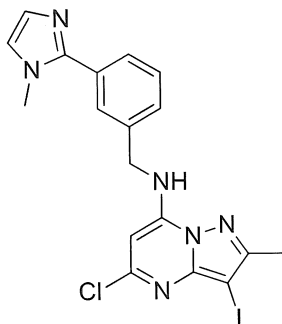
5,7-diclo-3-iodo-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin



Dung dịch được khuấy 5,7-diclo-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin (hợp chất trung gian 98, 15 g, 74,2 mmol) trong DCM (200 mL) ở 0 °C được bổ sung axit axetic (29,8 mL, 520 mmol) sau đó là NIS (16,70 g, 74,2 mmol) từng phần. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở 0 °C trong 1 giờ. Dung dịch natri sulphit 10% (200 mL) được bổ sung và được khuấy mạnh ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Lớp DCM được tách và được rửa bằng natri thiosulphat bão hòa (300 mL), nước muối (200 mL), sau đó là nước (100 mL) và lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulphat khan và được lọc. Dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp E): *rt* = 2,37, $[M+H]^+ = 328$.

Hợp chất trung gian 100

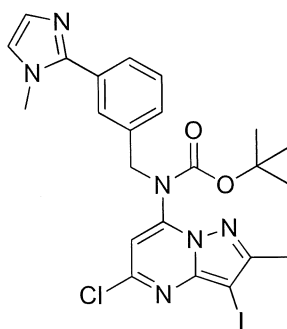
5-clo-3-iodo-2-methyl-*N*-(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-amin



Hỗn hợp của (3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)phenyl)metylamin (hợp chất trung gian 3, 31 g, 122 mmol), 5,7-diclo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin (Hợp chất trung gian 99, 39,9 g, 122 mmol) và DIPEA (63,8 mL, 365 mmol) trong DMSO (500 mL) được khuấy và được làm nóng ở 50 °C trong 18 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp phản ứng được rót lên trên nước được làm lạnh bằng nước đá (1500 mL). Chất rắn kết tủa được thu gom bằng cách lọc, được làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp C): $rt = 2,19$, $[M+H]^+ = 479$.

Hợp chất trung gian 101

tert-Butyl (5-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbammat

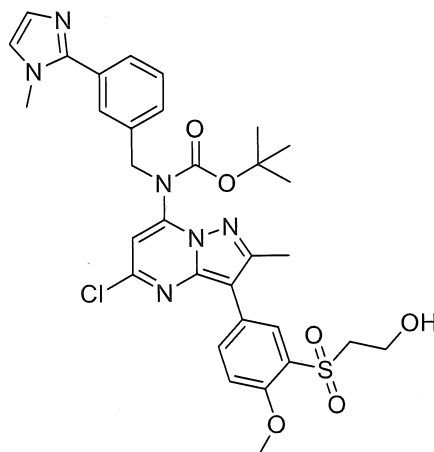


Dung dịch được khuấy 5-clo-3-iodo-2-metyl-*N*-(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-amin (hợp chất trung gian 100, 50 g, 96 mmol) trong DCM (1000 mL) được bổ sung DIPEA (25,03 mL, 143 mmol), DMAP (1,167 g, 9,55 mmol) và di-*tert*-butyl dicacbonat (33,3 mL, 143 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM (1000 mL), được rửa bằng nước (1000 mL), được làm khô bằng natri sulphat khan, được lọc và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel (80% etyl axetat trong ete dầu

mỏ) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp D): $rt = 6,33$, $[M+H]^+ = 579$.

Hợp chất trung gian 102

tert-Butyl (5-clo-3-(3-((2-hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxyphenyl)-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate

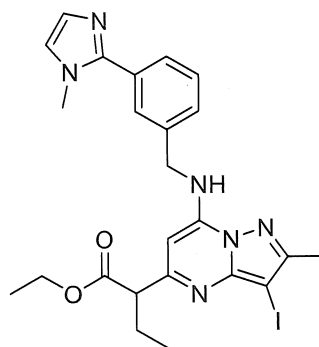


tert-Butyl (5-clo-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 101, 506 mg, 0,874 mmol), 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol (hợp chất trung gian 19, 268 mg, 0,783 mmol), triphenylarsin (13 mg, 0,042 mmol), $PdCl_2(PhCN)_2$ (18 mg, 0,047 mmol) và natri cacbonat (193 mg, 1,821 mmol) được kết hợp trong 1,4-dioxan (6 mL) và nước (1,5 mL). Hỗn hợp được xả nitơ trong 1 phút và được làm nóng đến 80 °C trong 4 giờ. 2-((2-Metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol (hợp chất trung gian 19, 113 mg, 0,330 mmol), triphenylarsin (13 mg, 0,042 mmol) và $PdCl_2(PhCN)_2$ (18 mg, 0,047 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được xả nitơ trong 1 phút và sau đó được làm nóng đến 80 °C qua đêm. Hỗn hợp được làm nguội và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tạo huyền phù trong etyl axetat (20 mL) và được lọc qua CELITE, được rửa bằng etyl axetat (40 mL) và sau đó là DCM (40 mL). Phần lọc kết hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm để loại bỏ DCM và sau đó được tách bằng nước (40 mL). Pha hữu cơ được tách, được đi qua thủy tinh frit kị nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong DMSO: metanol (6 mL, 1:1) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được cô trong điều

kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,12$, $[M+H]^+ = 667$.

Hợp chất trung gian 103

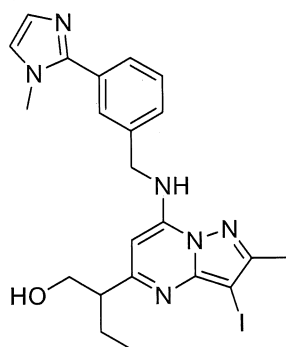
Etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butanoat



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất trung gian 79, sử dụng iodoetan, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,24$, $[M+H]^+ = 559$.

Hợp chất trung gian 104

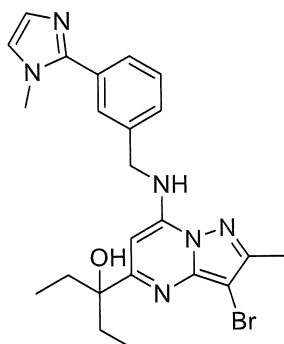
2-(3-Iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 81, sử dụng etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butanoat (hợp chất trung gian 103), để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,05$, $[M+H]^+ = 517$.

Hợp chất trung gian 105

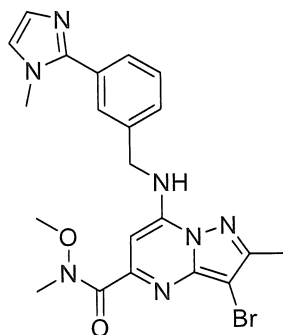
3-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)pentan-3-ol



Etyl 3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 42, 253 mg, 0,539 mmol) được khuấy trong THF (5 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. Etylmagie bromua (1 M trong THF) (2,4 mL, 2,4 mmol) được bổ sung trong 5 phút và hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 30 phút sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (2 mL) và được tách bằng DCM (10 mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa (10 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (2 x 5 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được khuấy trong THF (5 mL) trong môi trường nitơ tại 0 °C. Etylmagie bromua (1 M trong THF) (1,6 mL, 1,6 mmol) được bổ sung trong 5 phút và hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 30 phút. Hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (2 mL) và được tách bằng DCM (10 mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa (10 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (2 x 5 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong metanol: DMSO (2 mL, 1:1) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được làm bay hơi đến khô và làm khô thêm trong lò chân không qua đêm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,80, $[M+H]^+ = 483$.

Hợp chất trung gian 106

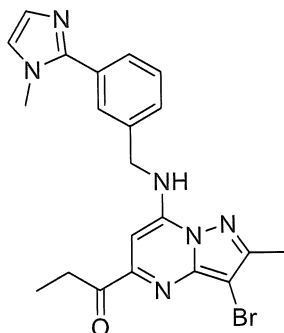
3-Bromo-*N*-metoxy-*N*,2-dimetyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxamit



Huyền phù của *N,O*-dimethylhydroxylamin hydroclorua (1,62 g, 16,61 mmol) trong THF (10 mL) được làm lạnh xuống -10°C . *n*-Butyllithi (2,5 M trong hexan) (13 mL, 32,5 mmol) được bổ sung từng giọt trong 40 phút để duy trì nhiệt độ hỗn hợp dưới 5°C . Hỗn hợp sau đó được khuấy trong bồn nước đá trong 15 phút. Dung dịch này được bổ sung từ từ etyl 3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-carboxylat (hợp chất trung gian 42, 1,5 g, 3,2 mmol) trong THF (10 mL). Nhiệt độ của hỗn hợp được giữ dưới 0°C trong khi bổ sung. Khi hoàn thành việc bổ sung, hỗn hợp được khuấy trong bồn nước đá (ở -8°C) trong 20 phút và sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 1 giờ. Dung dịch amoni clorua bão hòa (20 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. DCM (50 mL) được bổ sung. Dung dịch được chiếu sáng siêu âm và được chuyển vào phễu tách. Chất rắn còn lại được tạo huyền phù trong hỗn hợp gồm nước (50 mL) và DCM (50 mL) và được chiếu sáng siêu âm. Hỗn hợp được bổ sung vào phễu tách. Các chất hữu cơ được tách và pha nước được chiết tiếp bằng DCM (100 mL x 2). Các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong DCM và được tinh chế bằng sắc ký silic oxit rửa giải bằng 30 - 100% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan bằng 10 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $r_t = 0,63$, $[M+H]^+ = 484$.

Hợp chất trung gian 107

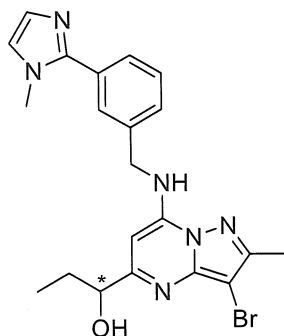
1-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)propan-1-on



3-Bromo-*N*-metoxy-*N*,2-dimetyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carboxamit (Hợp chất trung gian 106, 530 mg, 1,094 mmol) được hòa tan trong THF (20 mL) và được làm lạnh xuống 0 °C. Etylmagie bromua (1 M trong THF) (2,7 mL, 2,7 mmol) được bổ sung từ từ. Sau 20 phút hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (5 mL) và được khuấy mạnh trong 10 phút. Huyền phù đặc được tách giữa nước (50 mL) và DCM (50 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng DCM bổ sung (2 x 50 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký pha đảo (C₁₈, 60 g) rửa giải bằng 30 - 85% axetonitril trong 10 mM amoni bicacbonat trong nước (được điều chỉnh đến độ pH=10 bằng dung dịch amoniac) trong 25 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký pha đảo (C₁₈, 40 g) rửa giải bằng 20 - 50% axetonitril trong nước (chứa axit formic 0,1%). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được trung hòa bằng cách sử dụng dung dịch natri bicacbonat bão hòa, sau đó được chiết bằng DCM (2 x 50 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được làm khô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): rt = 0,84, [M+H]⁺ = 453.

Hợp chất trung gian 108 và 109

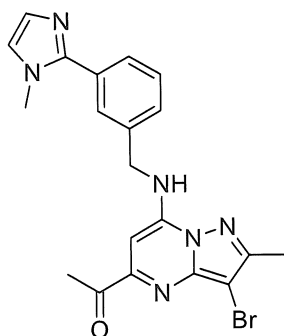
1-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 1 và chất đồng phân 2.



1-(3-Bromo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-on (Hợp chất trung gian 107, 164 mg, 0,362 mmol) được khuấy trong THF (3 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. DIBAL-H (1 M trong THF) (0,75 mL, 0,75 mmol) được bổ sung từng giọt và hỗn hợp được khuấy trong 90 phút. Hỗn hợp được làm dừng bằng dung dịch kali natri tartrat (1 M) và được khuấy mạnh trong 1 giờ. Hỗn hợp được tách bằng DCM (20 mL) và nước (20 mL). Pha nước đã tách được rửa thêm bằng DCM (2 x 20 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký pha đảo (C₁₈, 30 g) rửa giải bằng 10 - 40% axetonitril (chứa axit formic 0,1%) trong nước (chứa axit formic 0,1%) trong 10 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được bazơ hóa bằng cách sử dụng dung dịch natri bicacbonat bão hòa sau đó được chiết bằng cách sử dụng DCM (2 x 50 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sử dụng cột Chiralpak AD-H (30 mm x 250 mm, 5 μm), rửa giải bằng 30% etanol (chứa 0,2% isopropylamin) trong hexan (chứa 0,2% isopropylamin) để thu được các hợp chất được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,61, [M+H]⁺ = 455. HPLC bất đối, *rt* 5,95, 100%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,61, [M+H]⁺ = 455. HPLC bất đối, *rt* 9,02, 100%.

Hợp chất trung gian 110

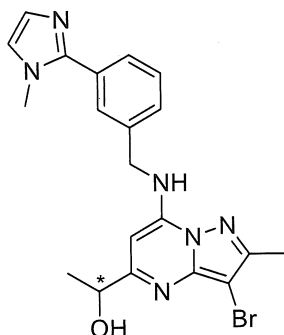
1-(3-Bromo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-on



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất trung gian 107, sử dụng methylmagie bromua, để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,73$, $[M+H]^+ = 439$.

Hợp chất trung gian 111 và 112

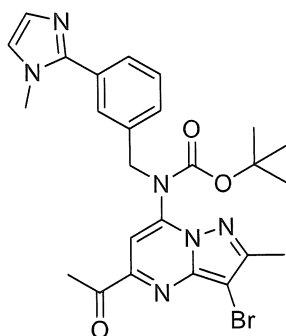
1-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-ol, chất đồng phân 1 và chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất trung gian 108 và 109, để thu được các hợp chất được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,95$, $[M+H]^+ = 441$. HPLC bất đối, rt 7,37, 100%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,95$, $[M+H]^+ = 441$. HPLC bất đối, rt 11,07, 99,4%.

Hợp chất trung gian 113

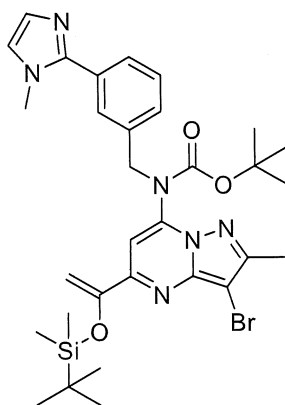
tert-Butyl (5-acetyl-3-bromo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbammat



1-(3-Bromo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-on (hợp chất trung gian 110, 358 mg, 0,815 mmol) được tạo huyền phù trong THF (10 mL). DIPEA (0,21 mL, 1,202 mmol) và DMAP (10 mg, 0,082 mmol) được bổ sung sau đó là Boc-anhydrua (0,28 mL, 1,206 mmol). Hỗn hợp được khuấy và được làm nóng đến 50 °C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp được làm nguội xuống nhiệt độ môi trường, được pha loãng bằng nước (25 mL) và etyl axetat (25 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa tiếp bằng etyl axetat (2 x 25 mL). Các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được hòa tan trong lượng tối thiểu DCM (1,5 mL) và được tải ướn trên cột silicagel 40 g. Sản phẩm được rửa giải bằng 0 - 50% etanol: etyl axetat (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% triethylamin) trong xyclohexan. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được bay hơi đến khô, sau đó được làm khô trong điều kiện chân không cao trong 2 ngày để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 1,35$, $[M+H]^+ = 539$.

Hợp chất trung gian 114

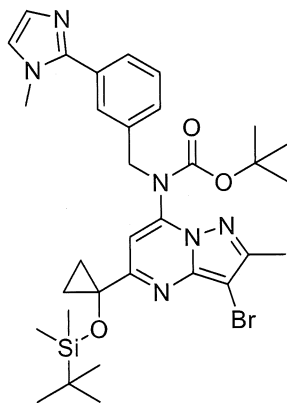
tert-Butyl (3-bromo-5-(1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)vinyl)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate



tert-Butyl (5-acetyl-3-bromo-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 113, 456 mg, 0,676 mmol) được khuấy trong DCM (5 mL) và triethylamin (0,32 mL, 2,296 mmol) ở 0 °C trong môi trường nitơ. TBS-OTf (0,21 mL, 0,914 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ môi trường nơi nó được khuấy trong 4 giờ. Triethylamin bổ sung (0,3 mL, 2,152 mmol) sau đó đó TBS-OTf (0,25 mL, 1,089 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được để qua đêm. Hỗn hợp được tách giữa DCM (20 mL) và nước (20 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng DCM (2 x 10 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit rửa giải bằng 0 - 50% ethyl axetat trong xyclohexan. Phần cặn được nghiền với DCM và được làm khô trong điều kiện chân không cao trong 2 ngày để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,70, $[M+H]^+ = 653$.

Hợp chất trung gian 115

tert-Butyl (3-bromo-5-(1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)xyclopropyl)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate

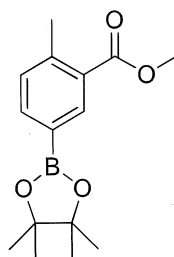


Diethylzinc (1 M trong heptan) (0,795 mL, 0,795 mmol) được khuấy trong DCM (0,5 mL) ở 0 °C trong môi trường nitơ. TFA (0,061 mL, 0,795 mmol) trong DCM (0,5 mL) được bổ sung rất chậm từng giọt và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút. Diiodometan (0,064 mL, 0,795 mmol) trong DCM (0,5 mL) được bổ sung từng giọt. Sau 5 phút khuấy *tert*-butyl (3-bromo-5-(1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)viny)l)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (Hợp chất trung gian 114, 260 mg, 0,398 mmol) trong DCM (2 mL) được bổ sung. Sau 1 giờ hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ môi trường. Sau 6 giờ, dung dịch amoni clorua bão hòa (1 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy

mạnh trong 30 phút. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút nữa. Hỗn hợp được tách giữa DCM (20 mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa (20 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng DCM (2 x 10 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Nguyên liệu thô được kết hợp với nguyên liệu thô từ phản ứng tương tự được thực hiện với *tert*-butyl (3-bromo-5-(1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)vinyl)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 114, 51 mg, 0,078 mmol) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cô trong điều kiện áp suất giảm và được làm khô trong điều kiện chân không cao để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 1,72$, $[M+H]^+ = 667$.

Hợp chất trung gian 116

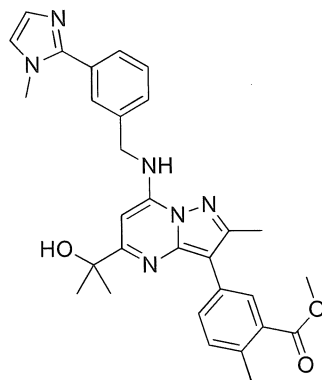
Methyl 2-methyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoat



Methyl 5-bromo-2-methylbenzoat (50 g, 218 mmol), bis(pinacolato)diboron (55,4 g, 218 mmol), kali axetat (64,3 g, 655 mmol) và bis(triphenylphosphin)paladi(II) clorua (12,26 g, 17,46 mmol) trong 1,4-dioxan (500 mL) được làm nóng đến 100 °C trong môi trường nitơ trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp được lọc CELITE và được rửa bằng etyl axetat (500 mL). Dung dịch axit clohydric 1 M (500 mL) được bổ sung vào dịch lọc và các pha được tách. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch axit clohydric 1 M (250 mL), nước muối (250 mL), được làm khô bằng magie sulphat và dung môi được loại bỏ trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 0-50% etyl axetat trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $r_t = 1,34$, $[M+H]^+ = 277$.

Hợp chất trung gian 117

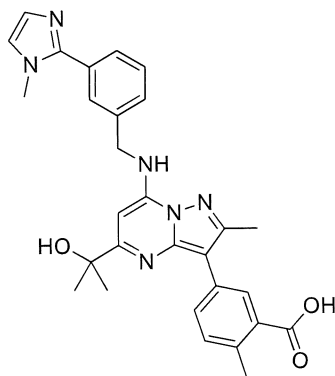
Methyl 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-methylbenzoat



2-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (hợp chất trung gian 43, 25,77 g, 56,6 mmol), metyl 2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoat (hợp chất trung gian 116, 23,44 g, 85 mmol), kali phosphat (18,02 g, 85 mmol), XPhos (2,70 g, 5,66 mmol) và XPhos Pd G2 (4,45 g, 5,66 mmol) được kết hợp trong 1,4-dioxan (300 mL) và nước (100 mL). Hỗn hợp được tuần hoàn giữa chân không và nitơ ba lần và sau đó được khuấy và được làm nóng đến 100 °C trong 2 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (250 mL) và dung dịch axit clohydric 2 M (250 mL). Pha hữu cơ đã tách được rửa bằng dung dịch axit clohydric 2 M (250 mL). Pha nước được kết hợp được bazơ hóa bằng dung dịch natri hydroxit 1 M đến độ ~pH=10 và được chiết bằng etyl axetat (2 x 250 mL). Các pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (100 mL), được làm khô bằng magie sulphat và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,78, $[M+H]^+ = 525$.

Hợp chất trung gian 118

Axit 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metylbenzoic

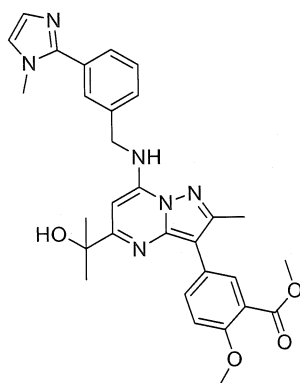


Metyl 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metylbenzoat (hợp chất trung gian 117,

32,66 g, 62,3 mmol) được khuấy trong metanol (300 mL). Dung dịch natri hydroxit 10 M (31,1 mL, 311 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50 °C trong 6 giờ. Sau khi làm nguội, ethyl axetat (500 mL) và nước (500 mL) được bổ sung và các pha được tách. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch natri hydroxit 1 M (2 x 100mL). Các pha nước kết hợp được trung hòa đến độ ~pH= 5-6 bằng cách sử dụng dung dịch axit clohydric 2 M và được chiết bằng ethyl axetat (4 x 500 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,65$, $[M+H]^+ = 511$.

Hợp chất trung gian 119

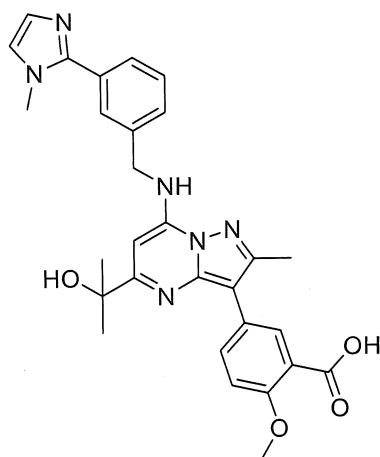
Methyl 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-methoxybenzoat



2-(3-Bromo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (hợp chất trung gian 43, 10 g, 21,96 mmol), methyl 2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoat (hợp chất trung gian 78, 9,62 g, 32,9 mmol), kali phosphat (6,99 g, 32,9 mmol), XPhos (1,047 g, 2,196 mmol) và XPhos Pd G2 (1,728 g, 2,196 mmol) trong 1,4-dioxan (100 mL) và nước (33,3 mL) được loại khí (chân không/nitơ x3). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường nitơ ở 100 °C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội và được tách giữa ethyl axetat (250 mL) và axit clohydric 2 M (200 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng axit clohydric 2 M (100 mL). Pha nước được kết hợp được bazơ hóa bằng dung dịch natri hydroxit 1 M đến độ pH ~ 10 và được chiết bằng ethyl axetat (250 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối và được làm khô bằng magie sulphat. Dung môi được làm bay hơi *trong chân không* để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,63$, $[M+H]^+ = 541$.

Hợp chất trung gian 120

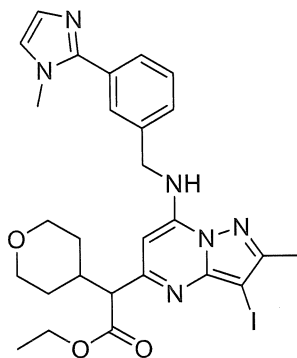
Axit 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenzoic



Dung dịch methyl 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenzoat (hợp chất trung gian 119, 13,55g, 25,06 mmol) trong metanol (100 mL) được bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 1 M (12,53 mL, 125 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50 °C trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội sau đó được pha loãng bằng ethyl axetat (200 mL) và nước (200 mL) và sau đó được lọc. Các pha được tách. Pha nước được trung hòa đến độ pH ~5-6 bằng cách sử dụng axit clohydric 2M và sau đó được chiết bằng cách sử dụng ethyl axetat (3 lần). Pha nước được bổ sung natri clorua rắn. Pha này được chiết bằng ethyl axetat (2 x 150 mL). Các chiết phẩm ethyl axetat kết hợp được làm khô bằng magie sulphat. Dung môi được làm bay hơi trong chân không để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $r_t = 0,57$, $[M+H]^+ = 527$.

Hợp chất trung gian 121

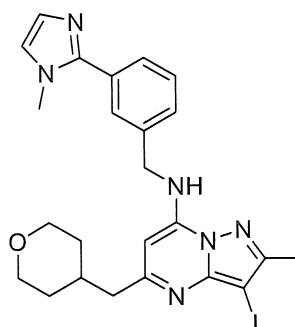
Etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)axetat



Trong một lọ khô etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)axetat (hợp chất trung gian 77, 255 mg, 0,481 mmol) được khuấy trong THF (2 mL) trong môi trường nitơ ở 0°C. 4-Iodotetrahydro-2*H*-pyran (0,06 mL, 0,503 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở 0 °C trong 1 phút sau đó LiHMDS (1 M trong THF) (1 mL, 1 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0 °C trong 10 phút, sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và sau đó được làm nóng đến 40 °C trong 2 ngày. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (3 mL) và được khuấy trong 5 phút. Huyền phù đặc được chuyển sang phễu tách với DCM (20 mL) và nước (20 mL). Các pha được tách và lớp hữu cơ được thu gom. Pha nước được rửa tiếp bằng DCM (20 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20 mL), sau đó được lọc qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được nạp từ DCM (1 mL) lên trên cột silicagel (40 g) và được rửa giải bằng 10 - 60% etanol: etyl axetat (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp và được bay hơi đến khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,14$, $[M+H]^+ = 615$.

Hợp chất trung gian 122

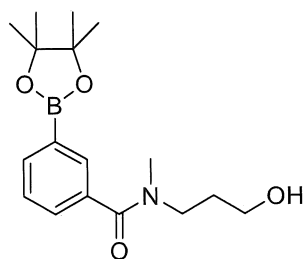
3-iodo-2-metyl-*N*-(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)-5-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)metyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-amin



Etyl 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)axetat (Hợp chất trung gian 121, 158 mg, 0,188 mmol) được hòa tan trong THF (2 mL) và natri hydroxit 2 M (dung dịch) (1 mL, 2 mmol) và được làm nóng đến 110 °C trong ống được bịt kín trong 6 giờ. Sau khi làm nguội, DCM (20 mL) và nước (20 mL) được bổ sung và pha nước được trung hòa đến độ pH=7 bằng dung dịch HCl 2M. Các pha được tách và lớp hữu cơ được thu gom. Lớp nước được chiết tiếp bằng DCM (2 x 10 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được bay hơi đến khô để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 1,07, $[M+H]^+ = 543$.

Hợp chất trung gian 123

N-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit

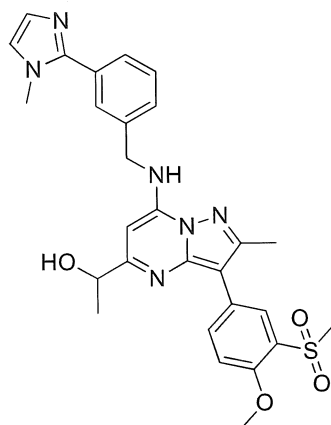


Axit 3-(4,4,5,5-Tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzoic (245 mg, 0,988 mmol) và HATU (413 mg, 1,086 mmol) và DIPEA (0,35 mL, 2,004 mmol) được khuấy trong THF (5 mL) trong không khí ở nhiệt độ môi trường. Sau 10 phút 3-(metylamino)propan-1-ol (0,12 mL, 1,234 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy qua đêm. Hỗn hợp được tách giữa dung dịch natri bicacbonat bão hòa (30 mL) và etyl axetat (20 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng etyl axetat bổ sung (2 x 20 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20 mL). Lớp hữu cơ được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 40-100% etyl axetat: etanol (3:1 chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,93, $[M+H]^+ = 320$.

Các hợp chất hỗ trợ

Hợp chất 1

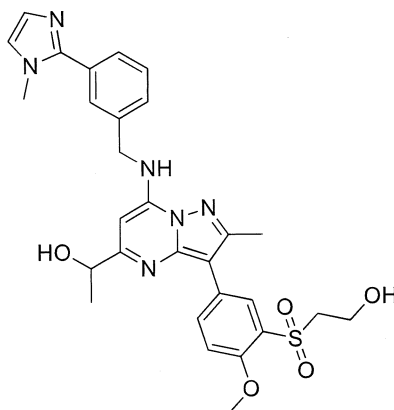
1-(3-(4-Metoxi-3-(metylsulfonyl)phenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etanol



3-(4-Methoxy-3-(methylsulfonyl)phenyl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-carbaldehyt (hợp chất trung gian 12, 30 mg, 0,057 mmol) được hòa tan trong THF (2,5 mL) và được làm lạnh xuống 0 °C. Metylmagie bromua (3 M trong dietyl ete) (0,1 mL, 0,3 mmol) được bổ sung từng giọt và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 3 giờ nữa. Metylmagie bromua bổ sung (3 M trong dietyl ete) (0,1 mL, 0,3 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 20 giờ nữa. Hỗn hợp được làm ngừng bằng bổ sung 1 M HCl (10 mL), và sau đó được chiết bằng etyl axetat (3 x 10 mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô thông qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,94$, $[M+H]^+ = 547$.

Hợp chất 2

2-((5-(5-(1-Hydroxyetyl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxyphenyl)sulfonyl)etan-1-ol



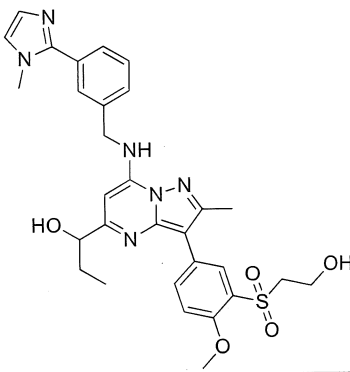
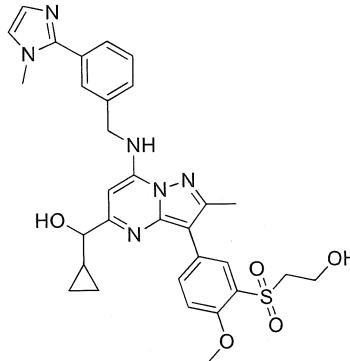
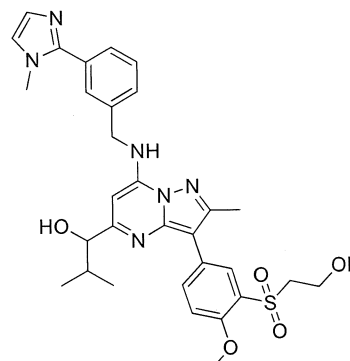
tert-Butyl (5-formyl-3-(3-((2-hydroxyethyl)sulfonyl)-4-metoxyphenyl)-2-methylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamate (hợp chất trung gian 20, 100 mg, 0,151 mmol) trong THF (3 mL) được khuấy ở 0 °C trong môi trường nitơ khi 3,4 M metylmagie bromua trong 2-MeTHF (0,1 mL) được bổ sung trong một phần. Hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy trong môi trường nitơ trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng nước (10 mL) và được khuấy trong môi trường nitơ trong 5 phút. Dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Nguyên liệu thô được hòa tan trong DCM (20 mL) và được tách bằng nước (15 mL). Lớp hữu cơ được tách và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 20 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Nguyên liệu thô được hòa tan trong metanol (3 mL) và 4 M HCl trong 1,4-dioxan (2 mL, 8 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy trong môi trường nitơ trong 5 giờ. Dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Nguyên liệu thô được hòa tan trong metanol:DMSO (2 x 1 mL, 1:1, thể tích/thể tích) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,86$, $[M+H]^+ = 577$.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 2 bằng cách sử dụng các thuốc thử grignard sau đây:

1 M Etylmagie bromua trong THF,

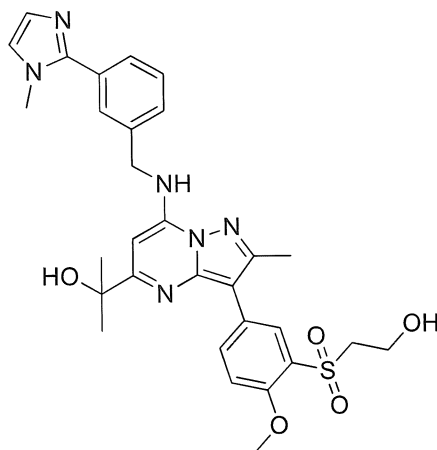
0,5 M xyclopropylmagie bromua trong THF,

1 M isopropylmagie bromua trong THF.

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
3		B	F	0,91	591
4		A	E	0,9	603
5		A	E	0,95	605

Hợp chất 6

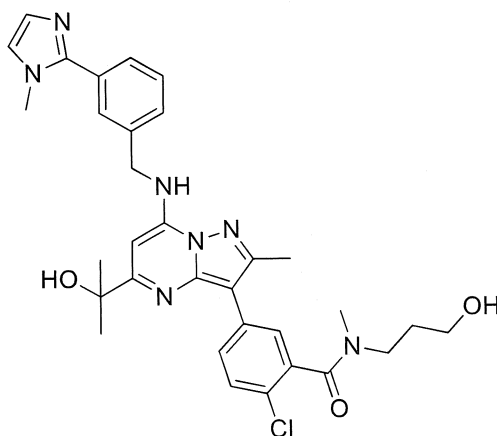
2-(3-(3-((2-Hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxypheyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol



2-((2-Methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)ethan-1-ol (hợp chất trung gian 19, 121 mg, 0,354 mmol), natri cacbonat (87 mg, 0,821 mmol), $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (19 mg, 0,026 mmol), nước (1 mL) và 2-(3-iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (hợp chất trung gian 21, 136 mg, 0,271 mmol) trong IPA (1 mL) được kết hợp và được làm nóng ở 120 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua CELITE (được rửa bằng DCM) và được bay hơi đến khô. Dịch lọc sau đó được tách giữa nước (20 mL) và DCM (20 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (2 x 10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được bay hơi đến khô. Phần cặn được hòa tan trong DMSO:metanol (2 mL) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,91$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 591$.

Hợp chất 7

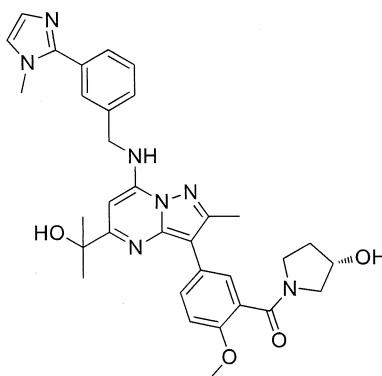
2-clo-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-methylbenzamidit



2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 23, 105 mg, 0,297 mmol), natri cacbonat (69,6 mg, 0,657 mmol), PdCl₂(dppf)-DCM (12,5 mg, 0,015 mmol), nước (1 mL) và 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (hợp chất trung gian 21, 110 mg, 0,219 mmol) trong IPA (1 mL) được kết hợp và được làm nóng ở 120 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 2 giờ. 2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid bổ sung (hợp chất trung gian 23, 105 mg, 0,297 mmol) được thêm vào và hỗn hợp được làm nóng ở 120 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua CELITE bằng cách sử dụng DCM (20 mL). Dịch lọc được rửa bằng nước (20 mL) và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 20 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong metanol:DMSO (0,6 mL, 1:1, thể tích/thể tích) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Phần cặn được tải vào DCM (2 mL) và được đi qua cột silic oxit (1 g) rửa giải bằng etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin). Phần cặn được nạp vào DCM (2 mL) và được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (4 g), rửa giải bằng etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan (0%, 2 CV; 0 - 100%, 5 CV; 100%, 7 CV) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 0,98, [M+H]⁺ = 602.

Hợp chất 8

(*S*)-(5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxypheyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon

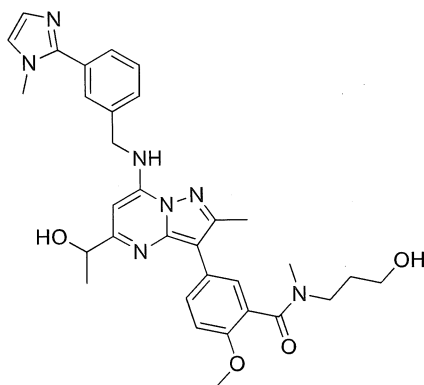


Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất 7, sử dụng (*S*)-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất

trung gian 25) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,88$, $[M+H]^+ = 596$.

Hợp chất 9

5-(5-(1-Hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metylbenzamid

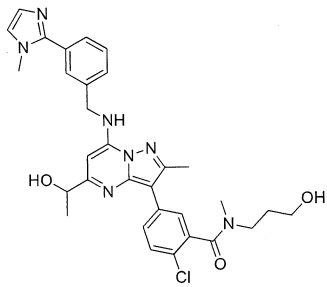
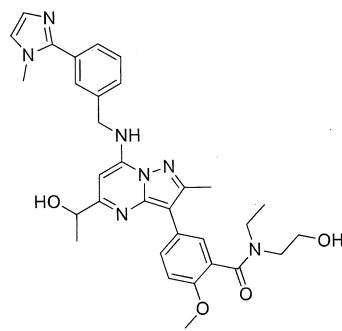


N-(3-Hydroxypropyl)-2-metoxý-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 28, 80 mg, 0,160 mmol) trong IPA (0,5 mL), *tert*-butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát (hợp chất trung gian 26, 80 mg, 0,136 mmol), PdCl₂(dppf) (9 mg, 0,012 mmol), natri cacbonat (45 mg, 0,425 mmol) và nước (0,5 mL) được kết hợp và được làm nóng ở 120 °C trong 1,5 giờ trong thiết bị phản ứng vi sóng. Hỗn hợp được pha loãng vào DCM (10 mL) và nước (10 mL) và các pha được tách. Lóp hữu cơ được thu gom và dung dịch được rửa tiếp bằng DCM (2 x 10 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và sau đó được làm bay hơi đến khô. Phần cặn được hòa tan trong DMSO:metanol (1:1, thể tích/thể tích, 1 mL) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Gom các phân đoạn chứa sản phẩm và làm bay hơi đến khô. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 50 - 100% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,87$, $[M+H]^+ = 584$.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 9, sử dụng các boronic este sau đây

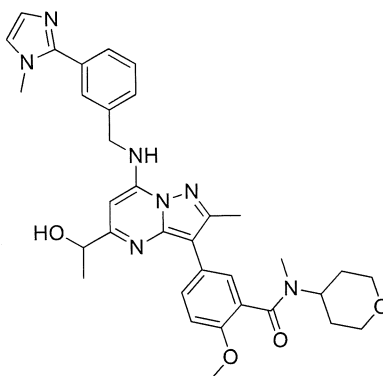
2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 23),

N-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit
(hợp chất trung gian 30),

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
10		A	F	0,93	588
11		B	F	0,89	584

Hợp chất 12

5-(5-(1-Hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamidit



tert-Butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamit (hợp chất trung gian 26, 70 mg, 0,119 mmol), 2-

metoxy-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 34, 77 mg, 0,143 mmol), PdCl₂(dppf) (9 mg, 0,012 mmol), natri cacbonat (41 mg, 0,387 mmol), IPA (2 mL) và nước (1 mL) được kết hợp và được làm nóng trong thiết bị phản ứng vi sóng ở 120 °C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua CELITE, được rửa bằng metanol (100 mL) và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong DCM (20 mL) và được tách bằng nước (10 mL). Lớp hữu cơ được tách và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong metanol (2 mL) và HCl 4 M trong 1,4-dioxan (2 mL) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được hòa tan trong nước (15 mL), được trung hòa bằng 2 M natri hydroxit và được tách bằng DCM (20 mL). Lớp hữu cơ được tách và nước được chiết bằng DCM bổ sung (2 x 20 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và dung môi được loại bỏ trong chân không. Mẫu được hòa tan trong metanol:DMSO (1 mL, 1:1, thể tích/thể tích) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp B). Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được nghiền với etyl axetat sau đó dietyl ete để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): *rt* = 0,94, [M+H]⁺ = 610.

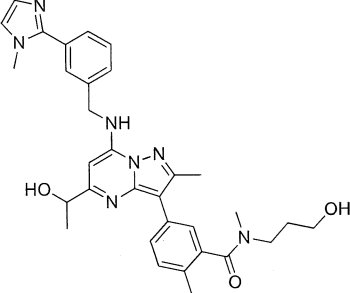
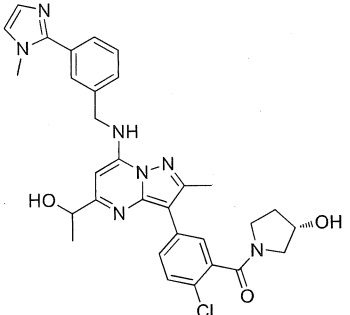
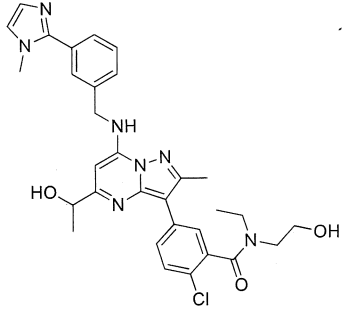
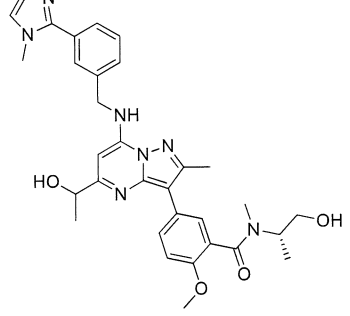
Các hợp chất sau đây được tiến hành theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 12, thay đổi dung môi phản ứng hữu cơ giữa IPA hoặc 1,4-dioxan, và sử dụng các boronic este sau đây:

N-(3-Hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 36),

(*S*)-(2-clo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(3-hydroxypyrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 38),

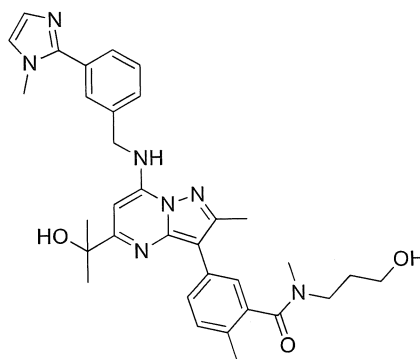
2-clo-*N*-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 32),

(*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-metoxy-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 40),

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
13		A	F	0,9	568
14		A	F	0,88	586
15		B	J	0,61	588
16		A	F	0,88	584

Hợp chất 17

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid



N-(3-Hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 36, 542 mg, 0,813 mmol), 2-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (hợp chất trung gian 43, 333 mg, 0,622 mmol), PdCl₂(dppf) (47 mg, 0,064 mmol), natri cacbonat (198 mg, 1,865 mmol), 1,4-dioxan (3 mL) và nước (1 mL) được kết hợp và được làm nóng ở nhiệt độ 120 °C trong 1,5 giờ trong thiết bị phản ứng vi sóng. *N*-(3-Hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 36, 262 mg, 0,393 mmol) và PdCl₂(dppf) (20 mg, 0,027 mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được làm nóng ở 120 °C trong 1,5 giờ trong thiết bị phản ứng vi sóng. Hỗn hợp được pha loãng vào DCM (20 mL) và nước (20 mL) và các pha được tách. Lớp hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa tiếp bằng DCM (2 x 20 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước sau đó được làm bay hơi đến khô. Phần cặn được hòa tan trong DMSO:metanol (4 mL) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Gom các phân đoạn chứa sản phẩm và làm bay hơi đến khô. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 20 - 100% etyl axetat: etanol (3:1, thể tích/thể tích, chứa 1% trietylamin) trong xyclohexan. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được làm bay hơi đến khô và được làm khô tiếp trên lò chân không cao trong 3 ngày để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): rt = 0,96, [M+H]⁺ = 582.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 17, sử dụng 1,4-dioxan hoặc IPA làm dung môi phản ứng, và các boronic este sau đây:

(*S*)-(2-clo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(3-hydroxypyrolidin-

1-

yl)metanon (hợp chất trung gian 38),

N-etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid
(hợp chất trung gian 30),

(*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 40),

N-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 34),

(*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 45),

2-metoxi-*N*,*N*-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 47),

(*R*)-(2-clo-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)metanon (hợp chất trung gian 49),

(*R*)-(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 51),

N-(2-hydroxyetyl)-2-metoxi-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 53),

(3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 55),

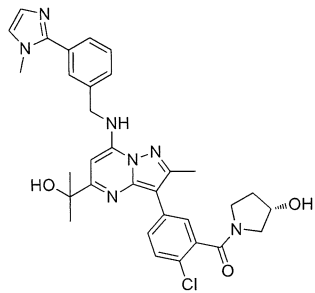
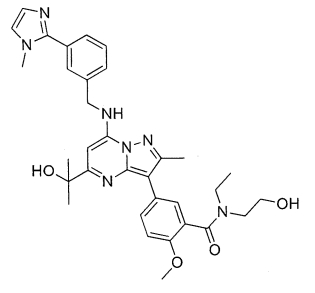
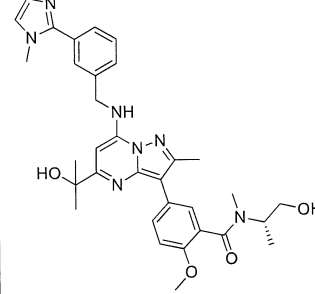
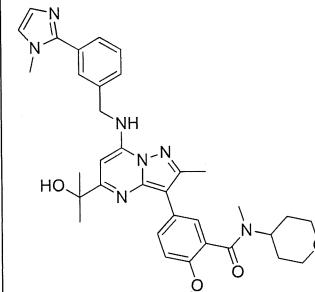
(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(1,4-oxazepan-4-yl)metanon (hợp chất trung gian 57),

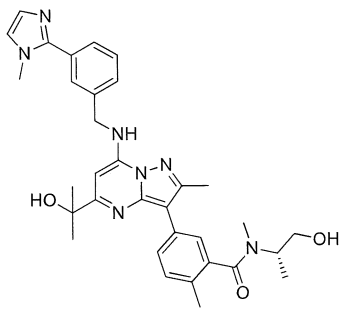
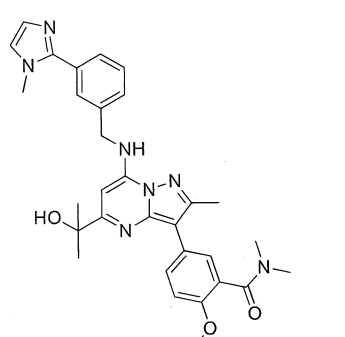
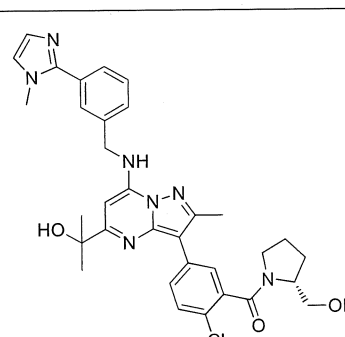
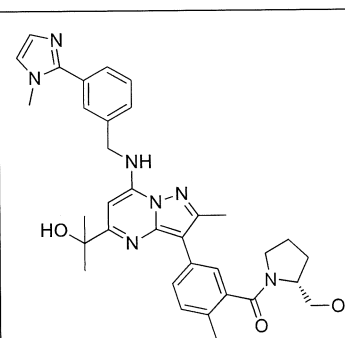
(*S*)-(3-hydroxypyrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 59),

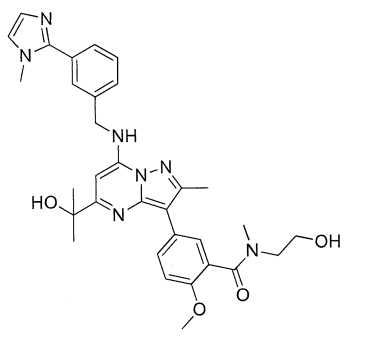
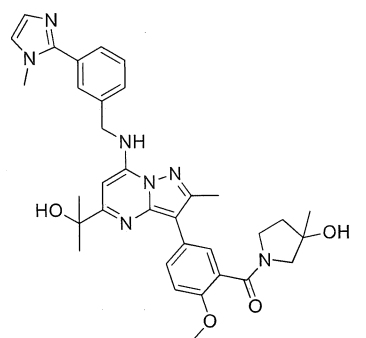
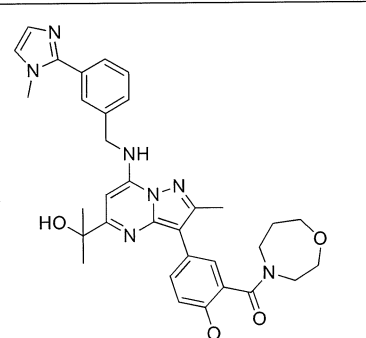
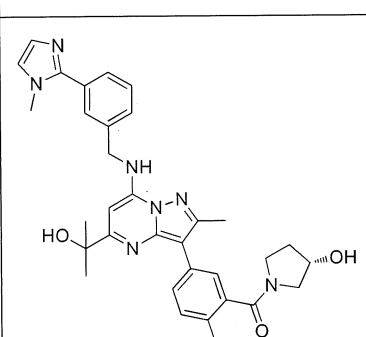
(*S*)-(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)(3-metylmorpholino)metanon (hợp chất trung gian 61),

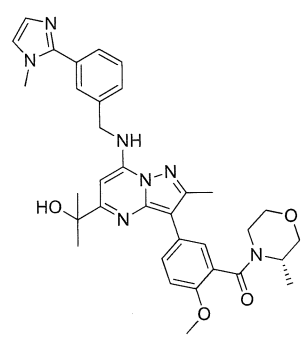
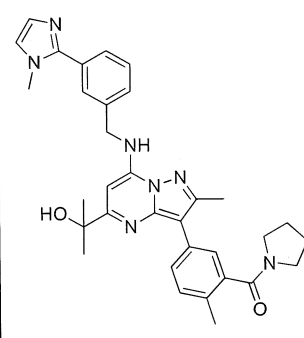
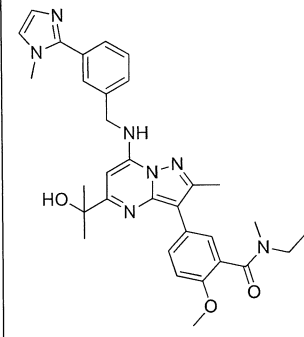
(3-hydroxy-3-metylpyrrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 63),

N-(3-hydroxypropyl)-2-methoxy-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 28)

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
18		A	F	0,96	600
19		A	F	0,95	598
20		A	F	0,93	598
21		A	F	0,99	624

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
22		A	F	0,98	582
23		A	F	1,0	554
24		A	F	1,05	614
25		A	F	1,01	594

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	$[M+H]^+$
26		A, A	F	0,9	584
27		A	F	0,92	610
28		A	F	0,98	610
29		A	F	0,92	580

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
30		A	F	1,02	610
31		A	F	0,95	594
32		A, A	F	0,93	598

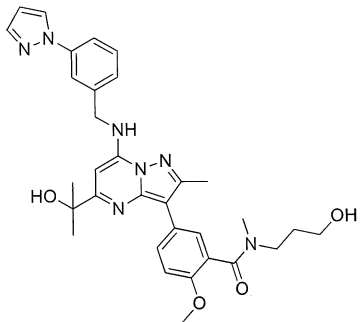
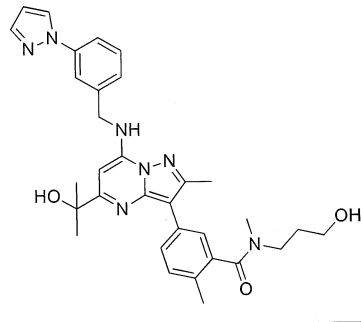
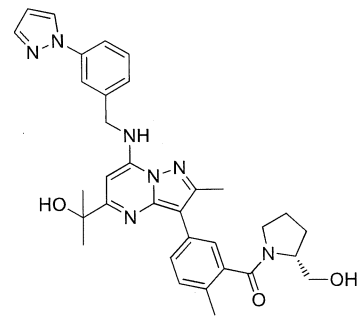
Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 17, sử dụng hợp chất trung gian 65, và 1,4-dioxan hoặc IPA làm dung môi phản ứng, và nhiệt độ từ 100 °C đến 120 °C, và các boronic este sau đây:

N-(3-Hydroxypropyl)-2-metoxyl-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 28),

N-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 36),

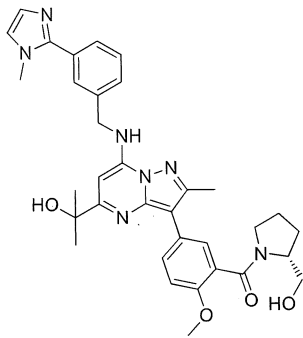
(*R*)-(2-(hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-

yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 51).

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
33		A	F	1,03	584
34		A, B	F	1,06	568
35		A	F	1,11	580

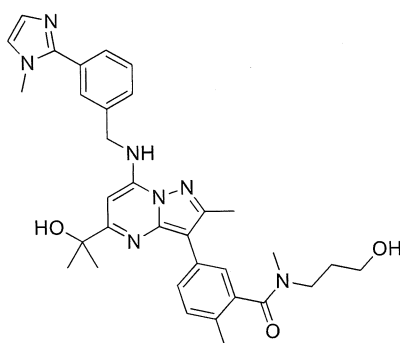
Hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 17, sử dụng boronic este sau đây:

(*R*)-(2-(hydroxymethyl)pyrrolidin-1-yl)(2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (Hợp chất trung gian 67).

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
36		A	F	0,96	610

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất 17

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid

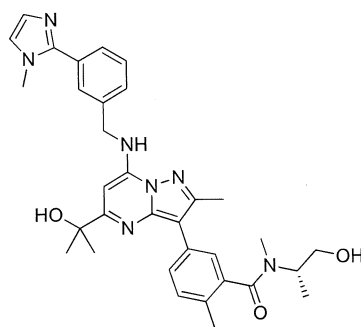


Axit 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metylbenzoic (Hợp chất trung gian 118, 12 g, 23,5 mmol), 3-(metylamino)propan-1-ol (2,81 mL, 29,4 mmol) và DIPEA (8,21 mL, 47,0 mmol) được khuấy trong THF (100 mL). HATU (11,17 g, 29,4 mmol) và DMF (10 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (400 mL) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa (400 mL). Pha nước được chiết lại bằng etyl axetat (200 mL). Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (200 mL), được làm khô bằng magie sulphat và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tiến hành sắc ký cột silicagel rửa giải bằng 0 - 25% etanol trong etyl axetat đối với 5 CV và 25% etanol trong etyl axetat đối với 7 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được làm bay hơi *trong chân không* và được tinh chế bằng phương

pháp sắc lý tương tự cho đến khi nguyên liệu >97,5% bằng HPLC. Phần cặn được nghiền với diethyl ete và dung môi được làm bay hơi *trong chân không*. Etyl axetat (40 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 ngày. Chất rắn màu trắng thu được được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng etyl axetat (25 mL) và được làm khô *trong chân không* ở 40 °C để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp M): $rt = 2,49$, $[M+H]^+ = 582$. δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) (hỗn hợp của các đồng phân quay) 8,53 (t, $J = 6,5$ Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,71-7,67 (m, 0,75H), 7,65 (s, 0,75H), 7,61 (d, $J = 1,3$ Hz, 0,5H), 7,59-7,54 (m, 1H), 7,48-7,42 (m, 2H), 7,33-7,27 (m, 1H), 7,22 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 6,94 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 6,45 (s, 1H), 5,18 (s, 1H), 4,70 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 4,47 (t, $J = 5,3$ Hz, 0,5H), 4,34 (t, $J = 4,9$ Hz, 0,5H), 3,70 (s, 3H), 3,56-3,46 (m, 2H), 3,28-3,20 (m, 2H), 3,00 (s, 1,5H), 2,82 (s, 1,5H), 2,58 (s, 3H), 2,21 (app. d, $J = 5,1$ Hz, 3H), 1,79-1,70 (m, 1H), 1,66-1,57 (m, 1H), 1,39 (s, 6H) ppm. δ_C (151 MHz, d_6 -DMSO) (hỗn hợp của các đồng phân quay) 170,3, 170,2, 169,0, 150,3, 150,2, 146,39, 146,36, 146,3, 145,4, 138,6, 137,0, 136,9, 130,8, 130,14, 130,05, 130,0, 128,6, 127,5, 127,4, 126,89, 126,86, 126,81, 124,84, 124,79, 123,4, 104,72, 104,67, 81,55, 81,53, 72,39, 72,38, 58,4, 58,0, 47,4, 44,4, 43,5, 36,3, 34,3, 31,8, 31,0, 30,1, 30,0, 18,2, 18,1, 14,7, 14,6 ppm. HRMS (ESI) tính toán đối với $C_{33}H_{39}N_7O_3+H^+$ 582,3193, phát hiện là 582,3190 $[M+H]^+$.

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất 22

(S)-N-(1-Hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamid

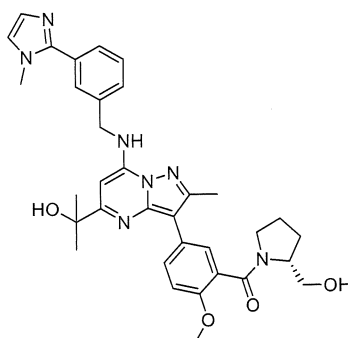


Axit 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-2-metylbenzoic (Hợp chất trung gian 118, 7,55 g, 14,79 mmol), (S)-2-(metyl-amino)propan-1-ol (1,977 g, 22,18 mmol) và DIPEA (5,17 mL, 29,6 mmol) được khuấy trong THF (50 mL). DMF (2,5 mL) và HATU (7,03 g, 18,48 mmol) được bổ sung hỗn hợp được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ trong phòng trong

20 giờ. Hỗn hợp được tách giữa etyl axetat (200 mL) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa (200 mL). Pha nước được chiết bằng cách sử dụng etyl axetat (100 mL). Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100 mL), được làm khô bằng magie sulphat và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tiến hành sắc ký cột silicagel được gắn mũ đầu KP-NH rửa giải bằng 0 - 100% etyl axetat trong xyclohexan. Hỗn hợp được tinh chế tiếp bằng sắc ký cột pha đảo rửa giải bằng 5 - 50% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (amoni bicacbonat/amoniac 10 mM). Phần cặn thu được được nghiền trong metanol sau đó là diethyl ete (50 mL) trong đó hỗn hợp được khuấy nhanh trong 30 phút. Dung môi được loại bỏ *trong chân không* và phần cặn được hòa tan trong etyl axetat (70 mL) và được khuấy nhanh trong 24 giờ. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng etyl axetat được làm khô *trong chân không* ở 40 °C. LCMS (phương pháp M): $rt = 2,56$, $[M+H]^+ = 582$. δ_H (400 MHz, d_6 -DMSO) (hỗn hợp của các đồng phân quay) 8,58-8,49 (m, 1H), 7,81 (d, $J = 8,1$ Hz, 0,3H), 7,73 (s, 1H), 7,71-7,62 (m, 1H), 7,59-7,51 (m, 1,7H), 7,49-7,42 (m, 2H), 7,32-7,25 (m, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,97-6,92 (m, 1H), 6,49-6,42 (m, 1H), 5,17 (s, 1H), 4,80 (t, $J = 5,3$ Hz, 0,7H), 4,76 (t, $J = 5,5$ Hz, 0,3H), 4,70 (d, $J = 6,2$ Hz, 2H), 3,74-3,64 (m, 3,5H), 3,64-3,57 (m, 0,5H), 3,53-3,39 (m, 1,3H), 3,29-3,23 (m, 0,7H), 2,90-2,84 (m, 2H), 2,68 (s, 1H), 2,60-2,56 (m, 3H), 2,25-2,18 (m, 3H), 1,41-1,35 (m, 6H), 1,10 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 1,06-1,00 (m, 2H) ppm. δ_C (176 MHz, d_6 -DMSO, 120 °C) 170,2, 168,3, 149,8, 146,1, 146,0, 145,0, 137,9, 137,2, 130,7, 130,2, 129,3, 128,0, 127,1, 126,6, 126,50, 126,47, 124,5, 122,6, 104,8, 81,2, 71,8, 62,0, 44,5, 33,5, 29,5, 17,5, 13,8 ppm. HRMS (ESI) tính toán đối với $C_{33}H_{39}N_7O_3+H^+$ 582,3193, phát hiện là 582,3195 $[M+H]^+$.

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất 36

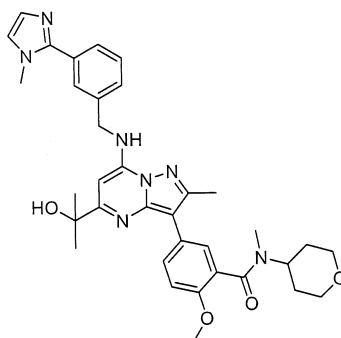
(*R*)-(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxypheyl)metanon



Dung dịch/huyền phù của axit 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenzoic (Hợp chất trung gian 120, 3,0 g, 5,7 mmol), (*R*)-pyrrolidin-2-ylmetanol (0,576 g, 5,7 mmol) và DIPEA (1,990 mL, 11,39 mmol) trong THF (100 mL) được bổ sung HATU (2,71 g, 7,12 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được tách giữa etyl axetat (200 mL) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa (200 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (100 mL) và được làm khô bằng magie sulphat. Dung môi được loại bỏ *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong DCM và được đưa lên cột silic oxit (120 g) và được rửa giải bằng 0 - 25% etanol trong etyl axetat đối với 5 CV và 25% etanol trong etyl axetat đối với 6 CV. Các phân đoạn yêu cầu được kết hợp và được bay hơi *trong chân không*. Phần cặn được hòa tan trong DMSO: metanol (1:1 thể tích/thể tích) và được đưa lên cột C₁₈ (120 g), được làm ổn định trước vào 5% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniac). Phần này được rửa giải với gradien là 5 - 40% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniac). Gradien được giữ ở 29% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniac) trong khi sản phẩm được rửa giải. Các phân đoạn yêu cầu được kết hợp và được bay hơi *trong chân không*. Phần cặn được nghiền với dietyl ete và dung môi được làm bay hơi. Phần cặn được bổ sung etyl axetat (25 mL) và metanol (1 mL). Hỗn hợp được tạo chu kỳ nhiệt độ từ nhiệt độ phòng đến 45 °C và trở lại 6 lần và sau đó được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Chất rắn màu trắng thu được được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng etyl axetat (25 mL). Chất rắn này được làm khô *trong chân không* ở 40 °C trong 20 giờ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,59, [M+H]⁺ = 610. δ_H (700 MHz, DMSO-d₆, 120 °C) 7,94 (br s, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,75 - 7,72 (m, 1H), 7,65 (br s, 1H), 7,58 (br d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 7,50 - 7,47 (m, 1H), 7,47 - 7,42 (m, 1H), 7,16 - 7,14 (m, 1H), 7,16 - 7,13 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,44 (s, 1H), 4,74 (s, 2H), 4,18 (br s, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,75 - 3,71 (m, 1H), 3,70 (s, 3H), 3,51 - 3,42 (m, 1H), 3,39 - 3,15 (m, 2H), 2,56 (s, 3H), 1,96 - 1,71 (m, 2H), 2,04 - 1,68 (m, 2H), 1,44 (s, 6H) ppm. δ_C NMR (176 MHz, DMSO-d₆, 120 °C) 168,11, 166,71, 152,36, 149,48, 146,05, 146,01, 144,77, 137,90, 130,71, 128,70, 127,90, 127,35, 127,05, 126,65, 126,56, 126,44, 126,43, 125,52, 122,51, 111,87, 104,61, 81,02, 71,72, 61,77, 58,17, 55,49, 47,62, 44,49, 33,51, 29,45, 26,86, 23,05, 13,61 ppm. HRMS (ESI) tính toán đối với C₃₄H₃₉N₇O₄+H⁺ 610,3063, phát hiện là 610,3141 [M+H]⁺.

Phương pháp khác để điều chế Hợp chất 21

5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid

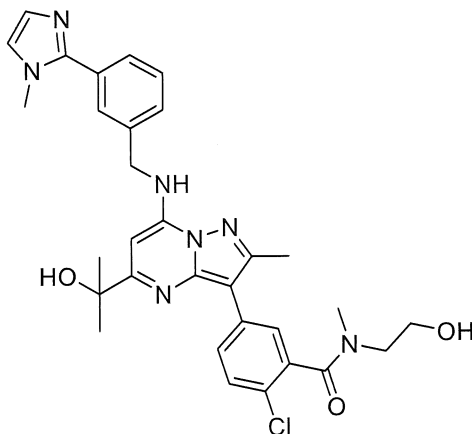


Dung dịch/huyền phù của axit 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenzoic (Hợp chất trung gian 120, 2,35 g, 4,46 mmol) và DIPEA (1,6 mL, 9,16 mmol) trong THF (50 mL) được bổ sung HATU (2,35 g, 6,18 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và *N*-metyltetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (0,514 g, 4,46 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được tách giữa etyl axetat (100 mL) và dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa (100 mL). Pha nước được chiết hai lần bằng etyl axetat (100 mL). Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (100 mL) và được đi qua thủy tinh frit kỵ nước. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký silic oxit (340 g). Hợp chất được hòa tan trong lượng tối thiểu DCM (+ vài giọt metanol), được tải lên đỉnh cột bằng cách bơm, sau đó được rửa giải bằng cách sử dụng 0 - 25% etanol trong etyl axetat bằng 6 CV và sau đó được ở ở 25 % etanol trong etyl axetat trong 6 CV. Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Khoảng một nửa nguyên liệu được hòa tan trong DMSO: metanol (1:1 thể tích/thể tích) và được đưa lên ống C₁₈ (120 g), được điều chỉnh trước với được làm ổn định trước với 5% axetonitril (chứa amoniác) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniác), sau đó được rửa giải bằng gradien từ 5 - 20% axetonitril (chứa amoniác) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniác) bằng 6 CV và sau đó 20 - 60% axetonitril (chứa amoniác) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniác) bằng 6 CV. Gradien được giữ ở 47,5% axetonitril (chứa amoniác) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniác) trong khi sản phẩm được rửa giải. Phần nguyên liệu

còn lại được tinh chế theo cách tương tự, sử dụng gradien 25 - 55% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniac), bicacbonat/NH₃). Gradien được giữ ở 45% axetonitril (chứa amoniac) trong nước (10 mM amoni bicacbonat chứa amoniac) trong khi sản phẩm được rửa giải. Các phân đoạn chứa các sản phẩm tinh khiết từ cả hai lần tinh chế được kết hợp, được cô trong điều kiện áp suất giảm, sau đó được làm khô trong chân không trong 24 giờ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,65, [M+H]⁺ = 624. δ_H (600 MHz, d₆-DMSO) (hỗn hợp của các đồng phân quay) 8,54-8,49 (m, 1H), 7,77-7,72 (m, 2H), 7,63 (d, *J* = 1,8 Hz, 0,5H), 7,59-7,54 (m, 1H), 7,53 (d, *J* = 2,2 Hz, 0,5H), 7,47-7,43 (m, 2H), 7,22 (s, 1H), 7,18-7,13 (m, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,43 (s, 1H), 5,17 (s, 1H), 4,69 (d, *J* = 6,2 Hz, 2H), 4,64-4,58 (m, 0,5H), 3,98-3,91 (m, 1H), 3,90-3,85 (m, 0,5H), 3,82-3,75 (m, 3,5H), 3,70 (s, 3H), 3,57-3,50 (m, 0,5H), 3,43 (t, *J* = 11,2 Hz, 1H), 3,12 (t, *J* = 11,2 Hz, 0,5H), 3,00 (t, *J* = 11,6 Hz, 0,5H), 2,88 (s, 1,5H), 2,69 (s, 1,5H), 2,56 (ap. d, *J* = 15,8 Hz, 3H), 1,89-1,72 (m, 2H), 1,59-1,51 (m, 1,5H), 1,42 (d, *J* = 11,4 Hz, 0,5H), 1,39-1,33 (m, 6H) ppm. δ_C (151 MHz, d₆-DMSO) (hỗn hợp của các đồng phân quay) 168,80, 168,77, 168,1, 167,9, 152,50, 152,47, 150,0, 149,9, 146,4, 146,34, 146,26, 145,18, 145,16, 138,6, 130,8, 129,2, 128,9, 128,6, 127,5, 126,89, 126,87, 126,80, 126,7, 126,6, 126,5, 125,9, 123,4, 111,6, 111,4, 104,7, 104,5, 81,4, 81,3, 72,4, 72,3, 66,5, 66,3, 66,2, 55,7, 55,4, 54,9, 54,8, 49,4, 44,4, 34,3, 30,5, 30,3, 30,09, 30,07, 30,0, 29,2, 26,6, 14,5, 14,4 ppm. HRMS (ESI) tính toán đối với C₃₅H₄₁N₇O₄+H⁺ 624,3220, phát hiện là 624,3294 [M+H]⁺.

Hợp chất 37

2-clo-*N*-(2-hydroxyetyl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-metylbenzamidit



Ống vi sóng được nạp 2-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (Hợp chất trung gian 43, 305 mg, 0,636 mmol), XPhos (32 mg, 0,067 mmol), XPhos Pd G2 (53 mg, 0,067 mmol) và trikali phosphat (443 mg, 2,087 mmol). 2-clo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 69), 446 mg, 0,788 mmol) được hòa tan trong 1,4-dioxan (7,5 mL) và được bổ sung vào ống vi sóng sau đó là nước (2,5 mL). Ống này được bịt kín và được làm nóng trong lò vi sóng ở 100 °C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (25 mL) và được tách bằng DCM (25 mL). Pha hữu cơ được thu gom và pha nước được rửa bằng DCM (4 x 25 mL). Các pha hữu cơ được kết hợp và dung môi được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và sau đó thủy tinh frit kỵ nước thứ hai với Florisil (sâu 2 cm). Lớp Florisil được rửa bằng etyl axetat: etanol (3:1, chứa 1% trietylamin) (25 mL). Phần lọc được làm bay hơi đến khô. Phần cặn được hòa tan trong lượng tối thiểu DMSO: metanol (1:1, thể tích/thể tích) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn liên quan được kết hợp và dung môi được loại bỏ. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silic oxit rửa giải bằng 30 - 100 etyl axetat: etanol (3:1, chứa 1% trietylamin) trong cyclohexan. Các phân đoạn liên quan được kết hợp và dung môi được loại bỏ. Phần cặn được nghiền với lượng tối thiểu dietyl ete để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,96$, $[M+H]^+ = 588$.

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 37, sử dụng các boronic este sau đây

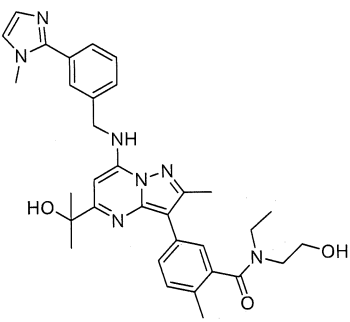
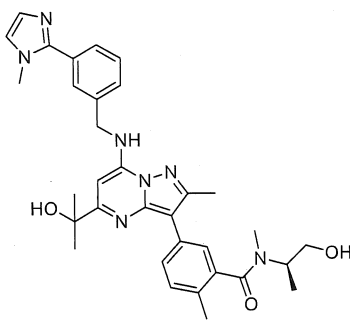
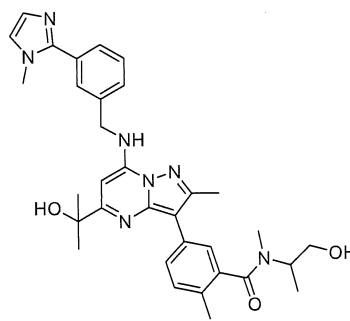
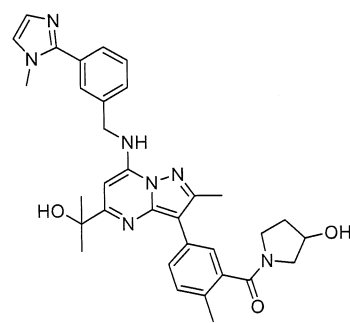
N-Etyl-*N*-(2-hydroxyetyl)-2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 73),

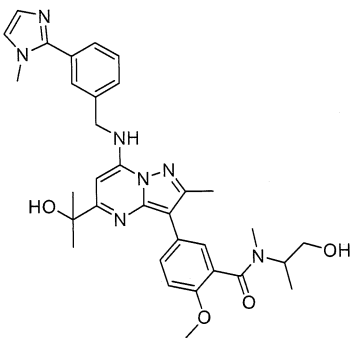
(*R*)-*N*-(1-Hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 86),

N-(1-Hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 88),

(3-Hydroxypyrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 90),

N-(1-Hydroxypropan-2-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 92)

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
38		F	0,98	582
39		F	0,98	582
40		F	0,99	582
41		F	0,92	580

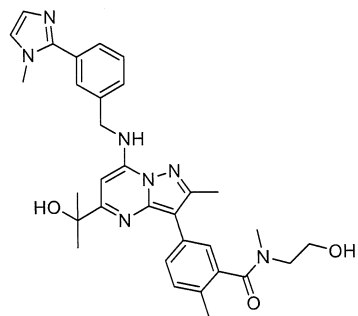
Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
42		F	0,93	598

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 17, và 1,4-dioxan hoặc IPA làm dung môi phản ứng, và nhiệt độ từ 100 °C đến 140 °C, và các boronic este sau đây:

N-(2-Hydroxyetyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 71),

(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (hợp chất trung gian 84),

N,2-Dimetyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 96),

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
43		A	F	0,93	568

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
44		A	F	0,97	610
45		A, B	F	1,04	608

Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như phương pháp điều chế hợp chất 17, sử dụng hợp chất trung gian 65, và 1,4-dioxan hoặc IPA làm dung môi phản ứng, và nhiệt độ từ 100 °C đến 140 °C, và các boronic este sau đây:

N-(2-hydroxyetyl)-2-metoxý-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 53),

N-(2-Hydroxyetyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 71),

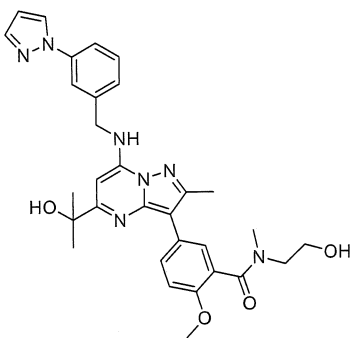
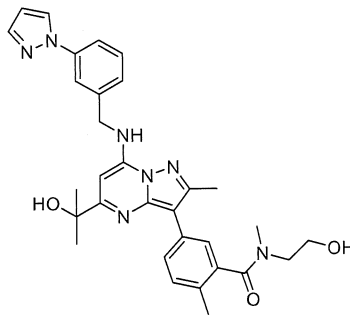
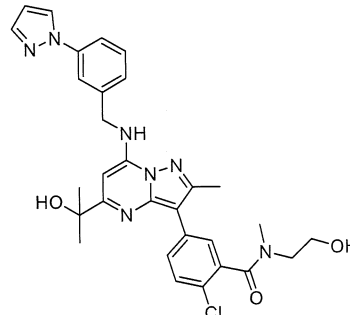
2-clo-*N*-(2-hydroxyetyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 69),

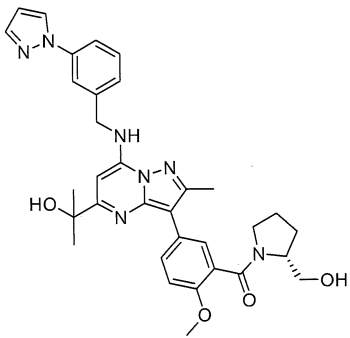
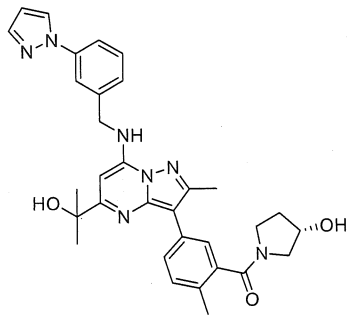
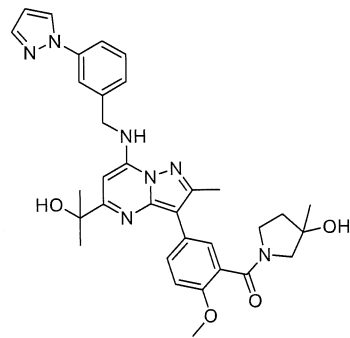
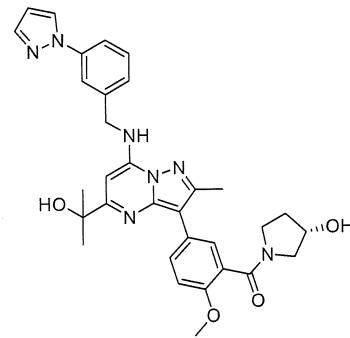
(*R*)-(2-(Hydroxymetyl)pyrrolidin-1-yl)(2-metoxý-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (Hợp chất trung gian 67),

(*S*)-(3-Hydroxypyrolidin-1-yl)(2-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (Hợp chất trung gian 59),

(3-Hydroxy-3-methylpyrrolidin-1-yl)(2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (Hợp chất trung gian 55),

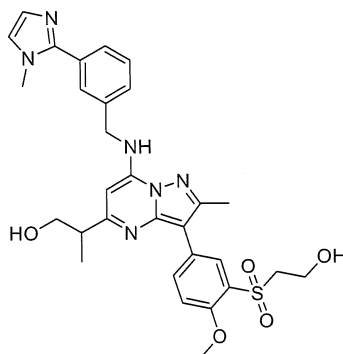
(*S*)-(3-Hydroxypyrrolidin-1-yl)(2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanon (Hợp chất trung gian 25),

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
46		A, B	F	1,00	570
47		A, B	F	1,04	554
48		A	F	1,07	574

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
49		A, A	F	1,08	596
50		A, B	F	1,02	566
51		A	F	1,02	596
52		B, B	J	0,87	582

Hợp chất 53

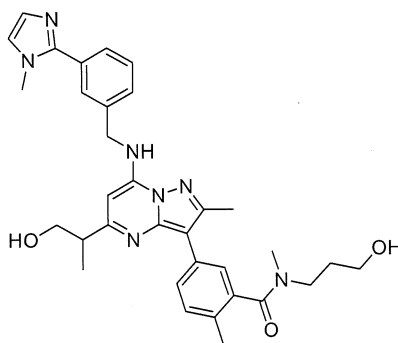
2-(3-(3-((2-Hydroxyethyl)sulfonyl)-4-metoxypheyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol (hợp chất trung gian 81) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,53$, $[M+H]^+ = 591$.

Hợp chất 54

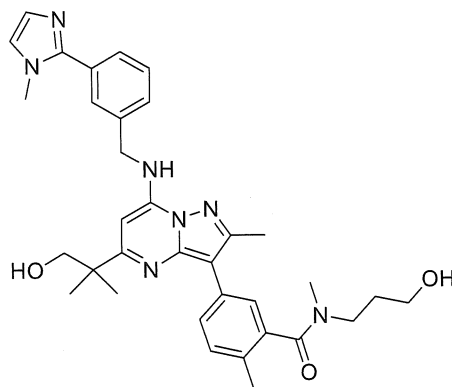
5-(5-(1-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamidit



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 17, sử dụng 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol (Hợp chất trung gian 81) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit (Hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,92$, $[M+H]^+ = 582$.

Hợp chất 55

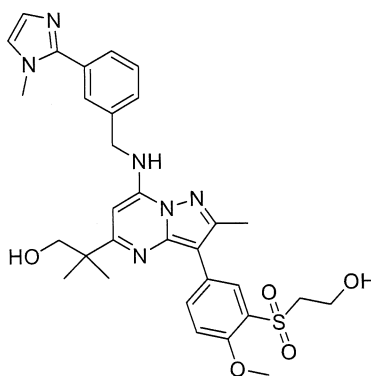
5-(5-(1-Hydroxy-2-methylpropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimethylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 17 sử dụng 2-(3-Iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-methylpropan-1-ol (Hợp chất trung gian 82) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimethyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,99$, $[M+H]^+ = 596$.

Hợp chất 56

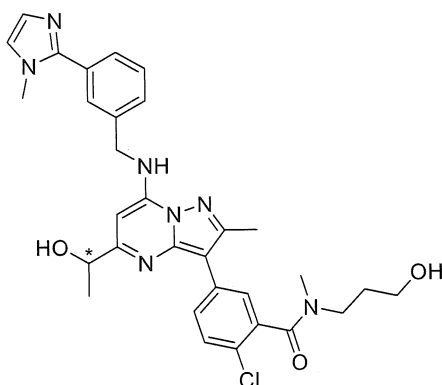
2-(3-(3-((2-Hydroxyethyl)sulfonyl)-4-methoxyphenyl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-methylpropan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 17 sử dụng 2-(3-Iodo-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)-2-methylpropan-1-ol (hợp chất trung gian 82) và 2-((2-methoxy-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,95$, $[M+H]^+ = 605$.

Hợp chất 57

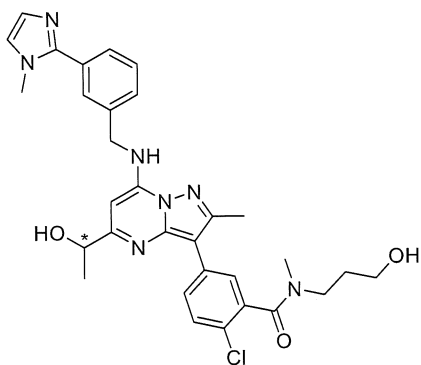
2-clo-5-(5-(1-hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamid, chất đồng phân 1



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng *tert*-butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát, chất đồng phân 1 (Hợp chất trung gian 93) và 2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 23) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,95$, $[M+H]^+ = 588$.

Hợp chất 58

2-clo-5-(5-(1-hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamid, chất đồng phân 2

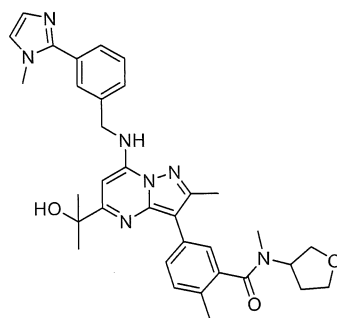


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng *tert*-butyl (5-(1-hydroxyetyl)-3-iodo-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-

yl)benzyl)carbamate, chất đồng phân 2 (hợp chất trung gian 94) và 2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-methyl-5-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 23) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,95$, $[M+H]^+ = 588$.

Hợp chất 59

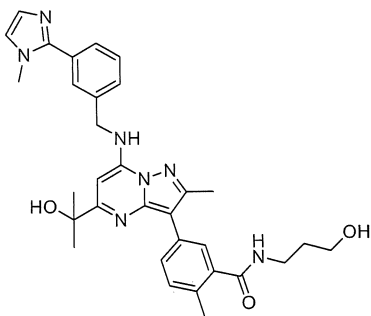
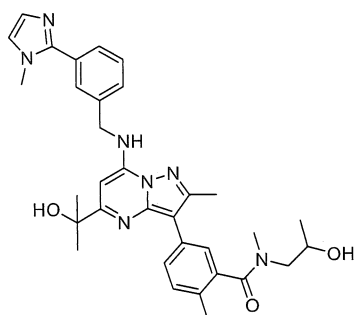
5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimethyl-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)benzamid



Dung dịch axit 5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-methyl-7-((3-(1-methyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-methylbenzoic (Hợp chất trung gian 118, 49 mg, 0,096 mmol), HATU (40,1 mg, 0,106 mmol) và DIPEA (0,034 mL, 0,192 mmol) trong DMF (0,4 mL) được khuấy trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng. *N*-Metyltetrahydrofuran-3-amin (0,013 mL, 0,115 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng sau đó được để qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng metanol (0,6 mL) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp, được cô, được nghiền với diethyl ete, sau đó được làm khô trong điều kiện chân không cao để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 1,04$, $[M+H]^+ = 594$.

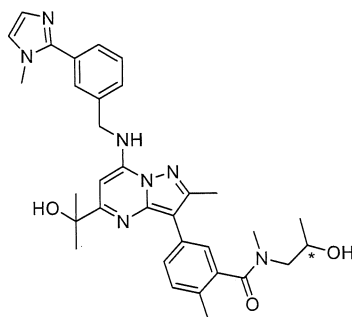
Các hợp chất sau đây được điều chế theo cách tương tự như với hợp chất 59, sử dụng các amin thích hợp sau đây:

3-Aminopropan-1-ol, 1-(methylamino)propan-2-ol

Hợp chất số	Công thức cấu trúc	Phương pháp MDAP	Phương pháp LCMS	Nhiệt độ trong phòng	[M+H] ⁺
60		A	F	0,92	568
61		A	J	0,6	582

Hợp chất 62 và hợp chất 63

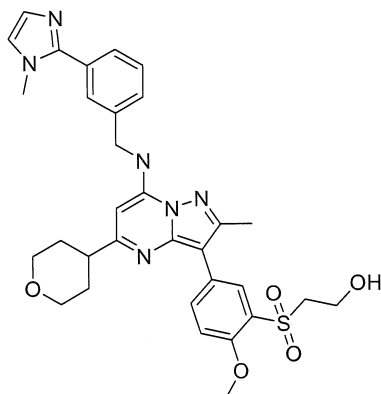
5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(2-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 62) và chất đồng phân 2 (Hợp chất 63)



Hợp chất 61 được tinh chế bằng cách sử dụng cột Chiralpak AS-H (30 mm x 250 mm, 5 μm), rửa giải bằng axetonitril chứa 0,2% isopropylamin để thu được các hợp chất được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp F): *rt* = 0,98, [M+H]⁺ = 582. HPLC bất đối: *rt* 6,85, 100%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp F): *rt* = 0,98, [M+H]⁺ = 582. HPLC bất đối: *rt* 8,36, 98,5%.

Hợp chất 64

2-((2-Metoxi-5-(2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)-5-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol

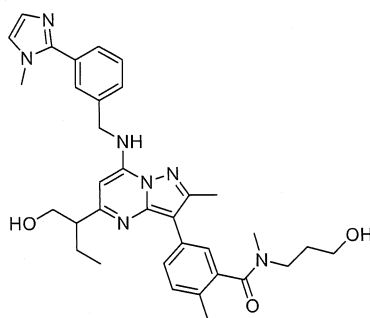


Lọ khô được bổ sung 2-(3,6-dihydro-2*H*-pyran-4-yl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (18 mg, 0,086 mmol), Pd XPhos G2 (6 mg, 7,63 μ mol), Pd/C (51 mg, 0,048 mmol), trikali phosphat (51 mg, 0,240 mmol) và *tert*-butyl (5-clo-3-(3-((2-hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxiphenyl)-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát (Hợp chất trung gian 102, 55 mg, 0,082 mmol). Lọ này được đậy nắp và được đuổi khí bằng nitơ. Nước (0,2 mL) và 1,4-dioxan (0,8 mL) được bổ sung và hỗn hợp được làm nóng đến 100 °C trong 45 phút. Hỗn hợp được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng Amoni format (1,25 M trong metanol) (0,659 mL, 0,824 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy qua đêm. Hỗn hợp được làm nóng đến 40 °C trong 6 giờ. Lọ này được đuổi khí bằng nitơ và các thành phần được lọc qua CELITE, được rửa bằng DCM (10 mL). Dịch lọc được tách bằng nước (10 mL) và pha nước đã tách được rửa bằng DCM (2 x 10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được kết hợp với phần cặn từ phản ứng tương tự được thực hiện với *tert*-butyl (5-clo-3-(3-((2-hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxiphenyl)-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát (Hợp chất trung gian 102, 20 mg, 0,03 mmol), được hòa tan trong metanol (1,4 mL) và axit clohydric (3 M trong CPME) (0,35 mL, 1,05 mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng, sau đó là 40 °C trong 7 giờ. Hỗn hợp được để yên ở nhiệt độ trong phòng qua ngày cuối tuần. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa (1 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 5 phút. DCM (2 mL) được bổ sung và hỗn hợp được tách. Pha nước đã tách được rửa bằng DCM (2 x 1 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kị nước và được cô

dưới luồng khí trơ. Phần cặn được hòa tan trong DMSO: metanol (0,5 mL, 1:1) và được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn chứa sản phẩm được kết hợp, được cô trong điều kiện áp suất giảm và được làm khô trên đường chân không cao để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,95$, $[M+H]^+ = 617$.

Hợp chất 65

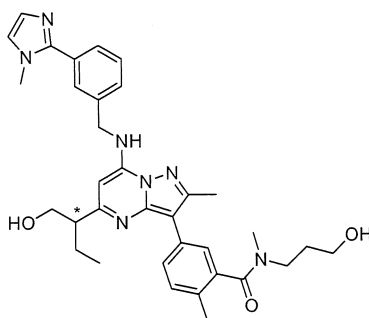
5-(5-(1-Hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất 37, sử dụng 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butan-1-ol (Hợp chất trung gian 104) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,97$, $[M+H]^+ = 596$.

Các hợp chất 66 và 67

5-(5-(1-Hydroxybutan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 66) và chất đồng phân 2 (Hợp chất 67)

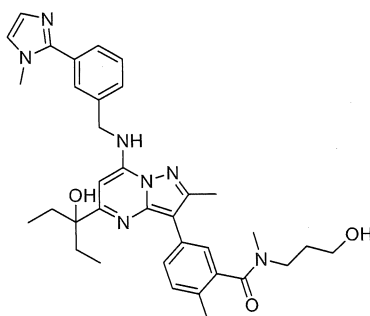


Hợp chất 65 được tinh chế bằng cách sử dụng cột Chiralpak AD-H (30 mm x 250 mm, 5 μ m), rửa giải bằng 40% etanol (chứa 0,2% isopropylamin) trong heptan (chứa 0,2%

isopropylamin) để thu được các hợp chất được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp J): $rt = 0,58$, $[M+H]^+ = 596$. HPLC bất đối: $rt = 9,41$, 100%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp J): $rt = 0,58$, $[M+H]^+ = 596$. HPLC bất đối: $rt = 14,57$, 99,5%.

Hợp chất 68

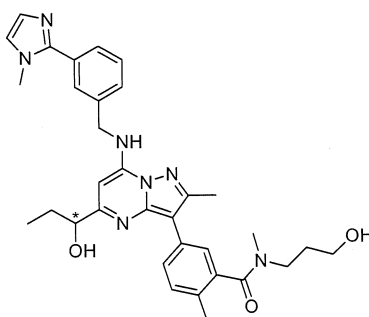
5-(5-(3-Hydroxypentan-3-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất 37, sử dụng 3-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)pentan-3-ol (Hợp chất trung gian 105) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,71$, $[M+H]^+ = 610$.

Hợp chất 69

N-(3-Hydroxypropyl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1

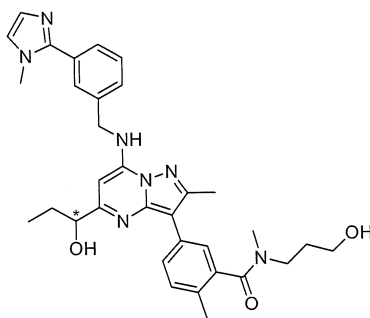


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 1 (hợp chất trung gian 108) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-

tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit (Hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,65$, $[M+H]^+ = 582$.

Hợp chất 70

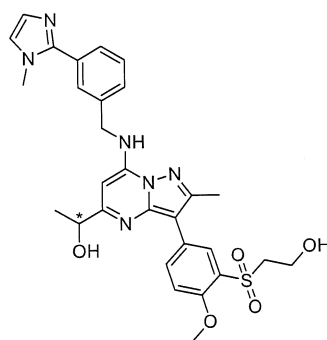
N-(3-Hydroxypropyl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimetylbenzamidit, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 2 (Hợp chất trung gian 109) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit (Hợp chất trung gian 36) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,61$, $[M+H]^+ = 582$.

Hợp chất 71

2-((5-(5-(1-Hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxypheyl)sulfonyl)etan-1-ol, chất đồng phân 1

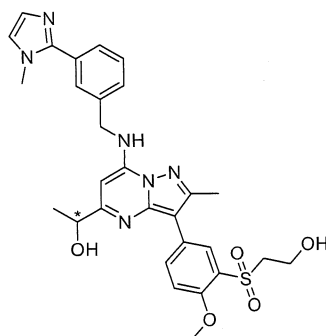


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-ol, chất đồng phân 1 (Hợp chất trung gian 111) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-

dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)ethanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,87$, $[M+H]^+ = 577$.

Hợp chất 72

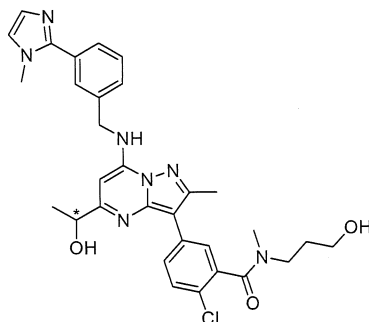
2-((5-(5-(1-Hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxyphe-nyl)sulfonyl)etan-1-ol, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-ol, chất đồng phân 2 (hợp chất trung gian 112) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)ethanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,86$, $[M+H]^+ = 577$.

Hợp chất 73

2-clo-5-(5-(1-hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamid, chất đồng phân 1

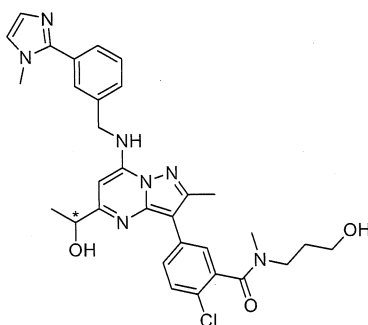


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-ol, chất

đồng phân 1 (hợp chất trung gian 111) và 2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 23) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,93$, $[M+H]^+ = 588$.

Hợp chất 74

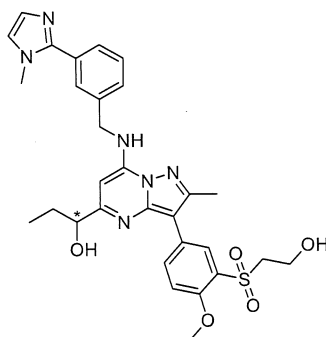
2-clo-5-(5-(1-hydroxyetyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamid, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)etan-1-ol, chất đồng phân 2 (hợp chất trung gian 112) và 2-clo-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 23) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,93$, $[M+H]^+ = 588$.

Hợp chất 75

1-(3-(3-((2-Hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxyphenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 1

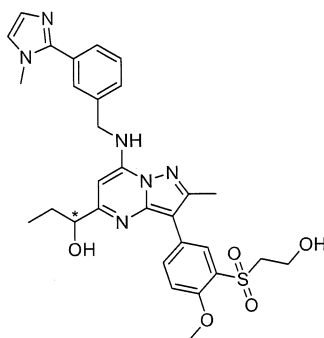


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất

đồng phân 1 (hợp chất trung gian 108) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,91$, $[M+H]^+ = 591$.

Hợp chất 76

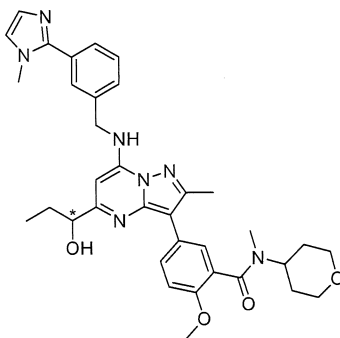
1-(3-(3-((2-Hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxiphenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như Hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 2 (Hợp chất trung gian 109) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,91$, $[M+H]^+ = 591$.

Hợp chất 77

5-(5-(1-Hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxi-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid, chất đồng phân 1

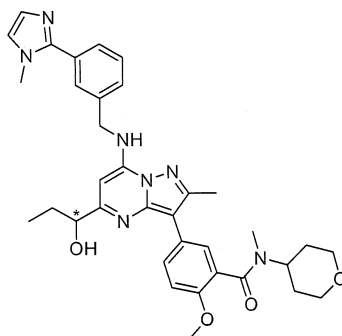


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất

đồng phân 1 (hợp chất trung gian 108) và 2-metoxý-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 34) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,63, $[M+H]^+ = 624$.

Hợp chất 78

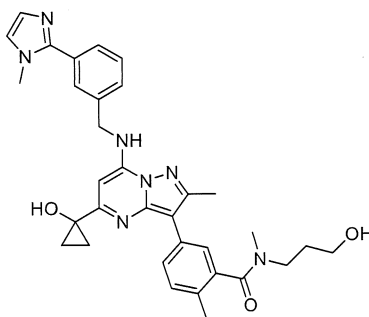
5-(5-(1-Hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxý-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)benzamid, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 2 (Hợp chất trung gian 109) và 2-metoxý-*N*-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 34) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): *rt* = 0,64, $[M+H]^+ = 624$.

Hợp chất 79

5-(5-(1-Hydroxycyclopropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetylbenzamid

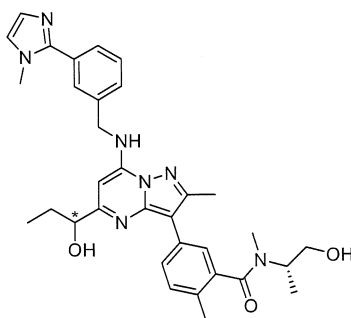


tert-Butyl (3-bromo-5-(1-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)cyclopropyl)-2-metylpyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-yl)(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)carbamát (Hợp chất trung gian 115, 26 mg, 0,039 mmol), kali phosphat (24 mg, 0,113 mmol), XPhos (2 mg,

4,20 μmol), XPhos Pd G2 (3 mg, 3,81 μmol) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 36, 25 mg, 0,053 mmol) được kết hợp trong 1,4-dioxan (0,4 mL) và nước (0,133 mL). Hỗn hợp được làm nóng đến nhiệt độ 60 °C trong lọ được bịt kín trong 1 giờ 45 phút. XPhos Pd G2 (3 mg, 3,81 μmol) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 36, 25 mg, 0,053 mmol) được bổ sung. Sau 1 giờ, nhiệt độ phản ứng được tăng lên 80 °C. Sau 2 giờ XPhos Pd G2 (3 mg, 3,81 μmol) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 36, 25 mg, 0,053 mmol) được bổ sung và hỗn hợp được làm nóng đến 100 °C trong 1 giờ. Hỗn hợp được tách giữa nước (10 mL) và etyl axetat (10 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng etyl axetat (2 x 10 mL) và các chất hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong 1,4-dioxan (1,0 mL) và sau đó HCl (4 M trong 1,4-dioxan) (0,1 mL) được bổ sung. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 4 ngày. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa (3 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút. Nước (10 mL) và DCM (10 mL) được bổ sung và các pha được tách. Pha nước đã tách được rửa bằng DCM (2 x 5 mL) và các lớp hữu cơ kết hợp được đi qua thủy tinh frit kỵ nước và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,97$, $[M+H]^+ = 580$.

Hợp chất 80

N-((*S*)-1-Hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 1

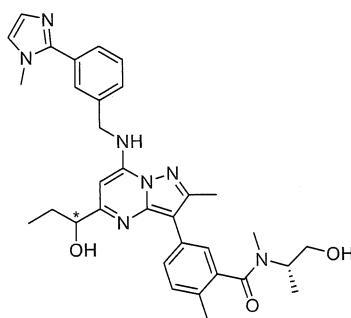


Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-

(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 1 (hợp chất trung gian 108) và (*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (Hợp chất trung gian 45) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,62$, $[M+H]^+ = 582$.

Hợp chất 81

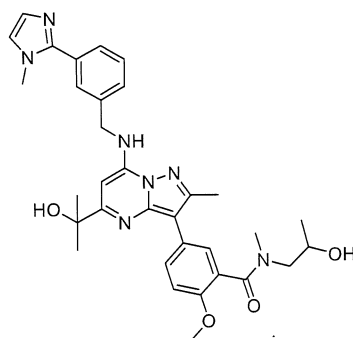
N-((*S*)-1-Hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(1-hydroxypropyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-*N*,2-dimetylbenzamid, chất đồng phân 2



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 1-(3-bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-5-yl)propan-1-ol, chất đồng phân 2 (Hợp chất trung gian 109) và (*S*)-*N*-(1-hydroxypropan-2-yl)-*N*,2-dimetyl-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamid (hợp chất trung gian 45) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp J): $rt = 0,61$, $[M+H]^+ = 582$.

Hợp chất 82

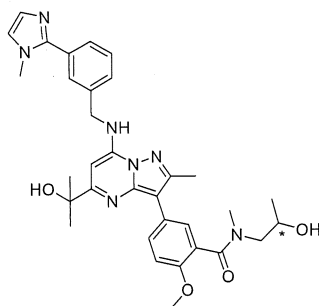
5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-*N*-(2-hydroxypropyl)-2-metoxyl-*N*-metylbenzamid



Axit 5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-2-metoxibenzoic (hợp chất trung gian 120, 65 mg, 0,101 mmol), HATU (47 mg, 0,124 mmol) và DIPEA (0,055 mL, 0,315 mmol) được khuấy trong THF (1 mL) ở nhiệt độ phòng trong 5 phút sau đó 1-(metyl-amino)propan-2-ol (13 mg, 0,146 mmol) được bổ sung. Sau 2 giờ, HATU bổ sung (12 mg, 0,032 mmol) và DIPEA (0,018 mL, 0,101 mmol) được bổ sung. Sau 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng MDAP (phương pháp A). Các phân đoạn sản phẩm được kết hợp và được làm khô dưới luồng khí trơ để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,96$, $[M+H]^+ = 598$.

Các hợp chất 83 và 84

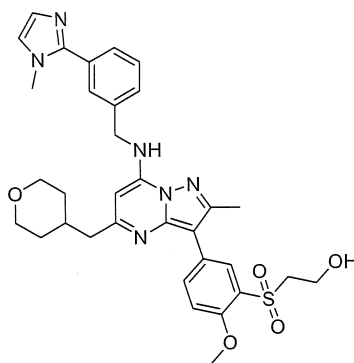
5-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(2-hydroxypropyl)-2-metox-*N*-metylbenzamid, chất đồng phân 1 (Hợp chất 83) và chất đồng phân 2 (Hợp chất 84)



Hợp chất 82 được tinh chế trên cột Chiralpak IC (30 mm x 250 mm, 5 μ m), rửa giải bằng 30% ethanol (chứa 0,2% isopropylamin) trong heptan (chứa 0,2% isopropylamin) để thu được các hợp chất được nêu ở tiêu đề. Chất đồng phân 1: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,94$, $[M+H]^+ = 598$. HPLC bất đối: rt 28,8, 100%. Chất đồng phân 2: LCMS (phương pháp F): $rt = 0,94$, $[M+H]^+ = 598$. HPLC bất đối: rt 33,68, 96,6%.

Hợp chất 85

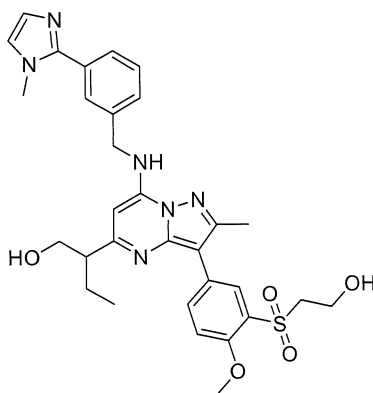
2-((2-Metox-5-(2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)-5-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)metyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)phenyl)sulfonyl)etan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 9 sử dụng 3-iodo-2-metyl-*N*-(3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)-5-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)metyl)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-7-amin (Hợp chất trung gian 122) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,94$, $[M+H]^+ = 631$.

Hợp chất 86

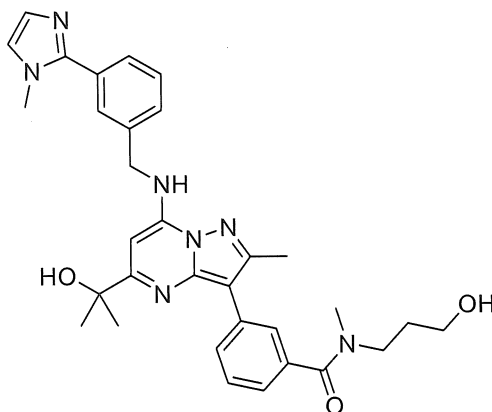
2-(3-(3-((2-Hydroxyetyl)sulfonyl)-4-metoxiphenyl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butan-1-ol



Được điều chế theo cách tương tự như hợp chất 37 sử dụng 2-(3-iodo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-5-yl)butan-1-ol (Hợp chất trung gian 104) và 2-((2-metoxi-5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)sulfonyl)etanol (Hợp chất trung gian 19) để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $rt = 0,92$, $[M+H]^+ = 605$.

Hợp chất 87

3-(5-(2-Hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-*a*]pyrimidin-3-yl)-*N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metylbenzamidit



2-(3-Bromo-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1*H*-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo [1,5-*α*]pyrimidin-5-yl)propan-2-ol (Hợp chất trung gian 43, 150 mg, 0,313 mmol), kali phosphat (165 mg, 0,777 mmol), dixyclohexyl(2',4',6'-triisopropyl-[1,1'-biphenyl]-2-yl)phosphane (12 mg, 0,025 mmol), XPhos Pd G2 (22 mg, 0,028 mmol) và *N*-(3-hydroxypropyl)-*N*-metyl-3-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)benzamidit (Hợp chất trung gian 123, 219 mg, 0,412 mmol) được kết hợp trong ống vi sóng. 1,4-Dioxan (1,8 mL) và nước (0,6 mL) được bổ sung, ống này được bịt kín và hỗn hợp được làm nóng đến 100 °C trong thiết bị phản ứng vi sóng trong 1 giờ. Sau khi làm nguội, lớp hữu cơ hỗn hợp phản ứng hai pha được lọc qua len sợi bông và được tinh chế trực tiếp bằng MDAP (phương pháp A). Phần cặn thu được được tách giữa dung dịch natri bicacbonat bão hòa (10 mL) và DCM (5 mL). Pha nước đã tách được rửa bằng DCM bổ sung (2 x 5 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp, được đi qua thủy tinh frit kỵ nước, được cô dưới luồng khí trơ và được làm khô trong điều kiện chân không cao ở 40 °C trong 1 ngày để thu được hợp chất được nêu ở tiêu đề. LCMS (phương pháp F): $r_t = 0,94$, $[M+H]^+ = 568$.

Thử nghiệm sinh học

a) Thử nghiệm hoạt tính PI4KB

Khả năng ức chế in vitro hoạt tính PI4KIII-beta 13-828 (D316-330) người được xác định bằng cách sử dụng kit thử nghiệm ADP-GLO Kinaza từ Promega. Các chất ức chế được hòa tan trong 100% DMSO ở nồng độ là 1 mM. Các dịch pha loãng được điều chế trong 100% DMSO bằng cách sử dụng cách pha loãng từng bước theo chuỗi 1/3. Khuôn 60 nL từ chuẩn độ 11 điểm được chuyển sang đĩa thử nghiệm Greiner 384 lỗ thể tích thấp màu trắng đảm bảo nồng độ DMSO cuối là 1% trên đĩa và nồng độ đỉnh cuối cùng của chất ức chế là 10 μ M. Thử nghiệm PI4KIII-beta chứa 25 mM HEPES pH 7,5 (NaOH), 10 mM MgCl₂, 0,5 mM EGTA,

0,1% Triton X-100, 2 mM TCEP, và 0,1 mg/ml BSA, 1 mM ATP, 60 μ M phosphatidylinositol, và 1,5 nM PI4K-beta 13-828 (D316-330) người trong tổng thể tích là 6 μ L. Thử nghiệm được bắt đầu bằng việc bổ sung enzym, được đẩy lại, và ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Các thử nghiệm được làm ngừng bằng cách bổ sung 6 μ L ADP-GLO Reagent chứa 0,1% CHAPS để xả hết ATP không tiêu thụ. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút và sau đó 12 μ L thuốc thử phát hiện Kinaza chứa 0,1 % CHAPS được bổ sung để chuyển hóa ADP thành ATP và đưa luciferaza và luciferin. Sau 40 phút ủ ở nhiệt độ trong phòng tín hiệu phát quang được đọc trên thiết bị BMG Labtech PHERAstar FS với các thông số cài đặt sau đây; Gain 3600, Focal height 13,7 mm, thời gian giữa các lần đo 1 giây, thời gian lắng 0,2 giây. Hiệu quả ức chế hoạt tính PI4K-beta của các hợp chất được đánh giá bằng giá trị IC₅₀ của đáp ứng so với hàm lượng hợp chất cao, không có hợp chất, và hợp chất với hàm lượng thấp, không có enzym, đối chứng bằng cách khớp với phương trình đáp ứng liều bốn thông số.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm này: tất cả các hợp chất có pIC₅₀ trung bình lớn hơn hoặc bằng 8,1; các hợp chất 1-7, 9-11, 14, 15, 17-20, 22-29 và 31-87 có pIC₅₀ trung bình lớn hơn hoặc bằng 8,4; các hợp chất 17 và 19 có pIC₅₀ trung bình bằng 8,6; Hợp chất 21 có pIC₅₀ trung bình bằng 8,2; và Hợp chất 22 có pIC₅₀ trung bình bằng 8,5.

b) Thử nghiệm thời gian lưu

Thử nghiệm điều chỉnh kẹp

Các dịch pha loãng hợp chất được điều chế trong 100% DMSO bằng cách sử dụng pha loãng từng bước theo chuỗi 1 trong 3 và nồng độ cao nhất là 1 mM. 200 nL quần thể sinh vật từ phép chuẩn độ 12 điểm được chuyển sang đĩa thử nghiệm Greiner 384 lỗ màu đen đảm bảo nồng độ DMSO cuối cùng là 1% trong đĩa và nồng độ đỉnh cuối cùng của chất ức chế là 10 μ M trong 20 μ L thể tích thử nghiệm cuối cùng. Trong mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm 384 lỗ, 10 μ L dung dịch đệm Enzym 2X được ủ trước với hợp chất trong 1 giờ. Dung dịch đệm không chứa enzym được sử dụng làm chất đối chứng ức chế 100%. 10 μ L dung dịch cơ chất 2X được bổ sung để bắt đầu thử nghiệm này sao cho nồng độ cuối cùng là 2 mM ATP và 1 μ M Bodipy-PI và đĩa này được ủ ở 25°C trong 3 giờ. Phản ứng enzym được kết thúc bằng cách bổ sung 40 μ L dung dịch đệm ngừng phản ứng và cơ chất (PI) và sản phẩm (PIP) có mặt trong mỗi mẫu được tách bằng cách điện di bằng cách sử dụng hệ thống phát hiện thuốc CALIPER LABCHIP 3000 thiết bị điện di mao dẫn LabChip 3000 và được phát hiện bằng cách sử dụng

laze xanh dương (480 nm) để kích thích và CCD xanh lá cây (520 nm) để phát hiện (CCD2). Các mẫu đối chứng âm (0% ức chế trong điều kiện vắng mặt chất ức chế) và các mẫu đối chứng dương tính (100% ức chế, không có mặt enzym) được lắp ráp với 48 bản sao (4 bản sao mỗi kẹp) và được sử dụng để tính giá trị % ức chế trong mỗi giếng thử nghiệm. Phần trăm ức chế (Pinh) được xác định bằng phương trình sau:

$$\text{Pinh} = (\text{PSR}0\% - \text{PSRinh})/(\text{PSR}0\% - \text{PSR}100\%) \times 100$$

Trong đó PSRinh là tổng tỷ lệ sản phẩm khi có mặt chất ức chế, PSR0% là tổng tỷ lệ sản phẩm khi vắng mặt chất ức chế và PSR100% là tổng tỷ lệ sản phẩm trung bình trong mẫu đối chứng 100% ức chế; các giá trị IC50 của chất ức chế được xác định bằng cách khớp đường cong ức chế (Pinh đối với nồng độ chất ức chế) với mô hình đáp ứng liều sigma 4 thông số bằng cách sử dụng phần mềm XLfit 4 (IBDS).

Pha loãng vô hạn

Trong ống Eppendorf nhỏ, 5 μL dung dịch enzym 2x (0,4 μM -0,8 μM) được trộn với 5 μL dung dịch hợp chất 2x chứa 40 đến 120 lần giá trị IC50 được xác định ở 2 mM ATP như được mô tả ở trên, và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Thử nghiệm được bắt đầu bằng cách trộn nhanh 2 μL hỗn hợp ủ trước enzym với 800 μL hỗn hợp cơ chất chứa 2 mM ATP và 1 μM Bodipy-PI. 60 μL mỗi mẫu được chuyển vào đĩa Greiner 384 lỗ thể tích thấp, và cơ chất (PI) và sản phẩm (PIP) có mặt trong mỗi mẫu được phân tách điện di bằng cách sử dụng hệ thống phát hiện thuốc CALIPER LABCHIP 3000 thiết bị điện di mao dẫn LabChip 3000 và được phát hiện bằng cách sử dụng laze xanh dương (480 nm) để kích thích và CCD xanh lá cây (520 nm) để phát hiện (CCD2) trong khoảng 8 giờ (200 lần đo từ mỗi lỗ). Đường cong tiến trình, theo % chuyển hóa theo thời gian, với sự có mặt của hợp chất được so sánh với đường cong trong các mẫu đối chứng không chứa hợp chất. Các đường cong được khớp với phương trình đường cong tiến trình bằng cách sử dụng phần mềm Lfit:

$$[P] = V_s \times t + ((V_i - V_s)/K_{obs}) \times (1 - \exp(-K_{obs} \times t))$$

Trong đó V_i là vận tốc ban đầu của enzym, V_s là vận tốc trạng thái tĩnh với sự có mặt của chất ức chế được pha loãng, và t là thời gian sau khi pha loãng.

Các giá trị V_i , V_s và K_{obs} quan sát sẽ phụ thuộc vào bản chất của chất ức chế (tức là cân bằng nhanh so với gắn kết chặt). Phụ thuộc vào điều kiện thử nghiệm ban đầu (nồng độ tương đối của hợp chất so với enzym), các thông số V_i và V_s có thể được làm khớp trước

và/hoặc được chặn. Đối với các hợp chất phân ly chậm $> [E]$, vận tốc enzym ban đầu (sau khi pha loãng nhanh) thường không được phong bế; vận tốc trạng thái tĩnh có thể được phong bế đến vận tốc mà có mặt hợp chất còn lại (thu được từ đường cong IC50). Đối với một số hợp chất cân bằng nhanh ($1/2$ thời gian lưu $<$ độ phân giải thử nghiệm) được thử nghiệm $> [E]$, vận tốc ban đầu có thể được chặn đến % hoạt tính lý thuyết từ đường cong IC50 tại các nồng độ hợp chất tương ứng và vận tốc trạng thái tĩnh có thể được làm khớp trước để kiểm soát nhưng không được chặn. Đối với phần còn lại của các hợp chất cân bằng nhanh phân ly chậm, một phương pháp khác để ước lượng trước nhưng không chặn V_i và V_s đến các vận tốc lý thuyết thu được từ các đường cong IC50 ở các nồng độ hợp chất tương ứng có thể được thực hiện, ví dụ, trong các trường hợp sao cho khi các tiến trình trên không tạo ra sự điều chỉnh phù hợp.

Trong thử nghiệm này, Hợp chất 17 đã thể hiện thời gian lưu trung bình là 542 phút; Hợp chất 19 đã thể hiện thời gian lưu trung bình là 997 phút; Hợp chất 21 đã thể hiện thời gian lưu trung bình là 528 phút; và Hợp chất 22 đã thể hiện thời gian lưu trung bình là 1666 phút.

Quy trình thử nghiệm tác dụng trên tế bào (CPE)

Thử nghiệm ức chế in vitro đối với hoạt tính PI4KB được xác định bằng cách phân tích sự ức chế của việc rút cạn ATP trong các tế bào HeLa Ohio trong việc đáp ứng với lây nhiễm với rhinovirus người typ A chủng 16 (HRVA16). Mức ATP được xác định bằng cách sử dụng thuốc thử CellTiter-GLO từ Promega. Các hợp chất ức chế PI4KB cũng là các chất ức chế tiềm năng của rhinovirus người và có thể bảo vệ tế bào HeLa Ohio khỏi CPE gây ra bởi sự lây nhiễm và sao chép của virus. Các tế bào được bảo vệ có khả năng sống sau khi lây nhiễm virus và vì thế có mức ATP lớn hơn.

Các hợp chất được hòa tan trong 100% DMSO đến nồng độ bằng 3mM và các dịch pha loãng sau đó được điều chế trong 100% DMSO bằng cách sử dụng chuỗi pha loãng theo bước 1:3. 0,5µL nhóm quần thể sinh vật từ phép chuẩn độ 10 điểm được chuyển sang đĩa đáy phẳng Greiner nuôi cấy mô 96 lỗ (655083). 0,5µL nhóm quần thể sinh vật từ 100% DMSO được đóng dấu thành các cột 11 và 12 của đĩa, đảm bảo nồng độ DMSO thử nghiệm cuối cùng là 0,33% trong đĩa và nồng độ thử nghiệm cuối đỉnh cuối cùng của hợp chất là 10µM.

Tế bào HeLa Ohio được ủ ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ trong môi trường (DMEM được bổ sung 10% huyết thanh thai bò nguồn gốc Úc và 2mM glutamax). Các tế bào được cấy chuyển khi mức độ bám dính đạt $>80\%$. Đối với thử nghiệm này, các tế bào được nuôi đến mức độ bám dính 80-90% trước khi tách ra.

Các tế bào được tách ra cho thử nghiệm này bằng cách rửa bằng PBS và được tách ra bằng cách sử dụng 3mL TrypLE Express đối với 5mL ở 37°C. Các tế bào được tách ra được trộn với 7mL môi trường và được ly tâm ở tốc độ 300g trong 5 phút. Các viên tế bào được tái huyền phù trong 50mL môi trường và được đếm trên thiết bị Beckman Coulter ViCell. Các tế bào được pha loãng đến $6,6 \times 10^4$ tế bào/mL và một số thể tích tế bào được loại bỏ vào trong ống mới được sử dụng làm cột 12 đối chứng. Dung dịch gốc HRVA16 được bổ sung vào huyền phù tế bào còn lại ở nồng độ pha loãng thích hợp đối với dung dịch gốc virus để đạt được MOI bằng 1.

150µL tế bào+huyền phù virus được bổ sung vào mỗi lỗ vào các cột 1-11 bằng cách sử dụng Multidrop Combi. 150µL huyền phù tế bào riêng rẽ được bổ sung vào mỗi lỗ vào các cột 12 bằng cách sử dụng pipet nhiều kênh. Các đĩa thử nghiệm được bịt kín và được ủ ở 33°C, 5% CO₂ trong 2 ngày. Sau 2 ngày, các đĩa thử nghiệm được lấy ra khỏi tủ ủ và được làm cân bằng đến nhiệt độ trong phòng. 60µL thuốc thử CellTiter-Glo được bổ sung vào tất cả các lỗ bằng cách sử dụng Thermo Scientific Multidrop Combi. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút trước khi được đọc trên thiết bị Perkin Elmer Envision (các thông số cài đặt: Chiều cao kẹp 2,5, chiều cao đo cố định (mm) 6,5, khoảng cách giữa đĩa và thiết bị phát hiện 0, thời gian đo (giây) 0,1, hệ số điều chỉnh Glow (ct2) (0%)).

Tác dụng ức chế của các hợp chất lên hoạt tính PI4KB được đánh giá bằng giá trị IC₅₀ của đáp ứng so với đối chứng cao (không có virus, cột 12) và đối chứng thấp (virus+không chất ức chế, cột 11) bằng cách khớp với phương trình đáp ứng liều bốn thông số.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm này: tất cả các hợp chất có giá trị pIC₅₀ trung bình bằng hoặc lớn hơn 7,2; các hợp chất 1-8, 10-15 và 17-87 có giá trị pIC₅₀ trung bình lớn hơn hoặc bằng 7,6; các hợp chất 1, 3, 5, 6, 7, 10-12, 14, 15, 17-25, 29, 31, 33-37, 39-53, 55-59, 61-68, 70, 76, 80-82, 84 và 86 có giá trị pIC₅₀ trung bình lớn hơn hoặc bằng 8,4; các hợp chất 17 và 19 có giá trị pIC₅₀ trung bình bằng 8,9; Hợp chất 21 có giá trị pIC₅₀ trung bình bằng 8,8; và Hợp chất 22 có giá trị pIC₅₀ trung bình ít nhất là 9,1.

c) Thử nghiệm độ ổn định chuyển hoá tiểu thể người

Tóm tắt quy trình

Hợp chất thử nghiệm ($0,5\mu\text{M}$) được ủ với tiểu thể gan người đã được gom lại. Hợp chất thử nghiệm được trong thời gian thử nghiệm 45 phút và hợp chất thử nghiệm được phân tích bằng LC-MS/MS.

Quy trình thử nghiệm

Tiểu thể gan người được gom lại được mua từ nhà cung cấp thương mại danh tiếng, ví dụ Corning Life Sciences. Tiểu thể (nồng độ protein cuối cùng $0,5\text{mg/mL}$), 50mM dung dịch đệm phosphat độ $\text{pH}=7,4$ và NADPH (nồng độ cuối cùng $= 1\text{mM}$) được ủ trước ở nhiệt độ 37°C trước khi bổ sung hợp chất thử nghiệm (nồng độ cơ chất cuối cùng $= 0,5\mu\text{M}$; nồng độ DMSO cuối cùng $= 0,25\%$) để khơi mào phản ứng. Thể tích ủ cuối cùng là $500\mu\text{L}$. Một quá trình ủ đối chứng được bao gồm cho mỗi hợp chất được thử nghiệm là 50mM dung dịch đệm phosphat độ $\text{pH}=7,4$ được bổ sung thay vì NADPH (không có NADPH). Hai hợp chất đối chứng được ủ với mỗi loại. Tất cả quá trình ủ đều được thực hiện riêng lẻ cho mỗi hợp chất thử nghiệm.

Mỗi hợp chất được ủ trong 45 phút và các mẫu ($50\mu\text{L}$) của mẻ ủ được lấy ra lúc 0, 5, 15, 30 và 45 phút. Đối chứng (không có NADPH) chỉ được lấy mẫu lúc 45 phút. Các phản ứng được ngừng lại bằng cách bổ sung $100\mu\text{L}$ axetonitril chứa chất nội chuẩn vào mẫu. Các mẫu đã kết thúc được ly tâm ở tốc độ 2500 vòng/phút trong 20 phút ở 4°C để làm kết tủa protein.

Phân tích định lượng

Sau khi kết tủa protein, các mẫu được phân tích bằng cách sử dụng điều kiện LC-MS/MS chung.

Phân tích dữ liệu

Từ đồ thị của tỷ lệ vùng đỉnh ln (vùng đỉnh của hợp chất/vùng đỉnh của chất nội chuẩn) theo thời gian, đường gradient được xác định. Sau đó, độ thanh thải nội tại được tính bằng các phương trình dưới đây, sau đó được chuyển đổi thành mL/phút/g :

$$\text{Hằng số tốc độ loại bỏ (k)} = (-\text{gradient})$$

$$\text{Thời gian bán thải (t}_{1/2}\text{) (phút)} = 0,693 \div k$$

$$\text{Độ thanh thải nội tại (CL}_{\text{int}}\text{) (}\mu\text{L/phút/mg protein)} = (V \times 0,693) \div t_{1/2}$$

trong đó V = thể tích ủ $\mu\text{L/mg}$ protein tiểu thể.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm này, độ thanh thải nội tại của Hợp chất 17 là 28,9 mL/phút/g; độ thanh thải nội tại của Hợp chất 19 là 11,6 mL/phút/g; độ thanh thải nội tại của Hợp chất 21 là 34,0 mL/phút/g; và độ thanh thải nội tại của Hợp chất 22 là 33,7 mL/phút/g.

d) Thử nghiệm nồng độ hợp chất trong lách

Các hợp chất 17, 18, 19, 22 và 23 được thử nghiệm trong thử nghiệm nồng độ hợp chất trong lách. Các hợp chất được sử dụng trong tĩnh mạch cho chuột để xác định mức độ hợp chất trong lách có phải toàn bộ liều được hít vào được hấp thu hay không (qua đường miệng hoặc qua phổi) và hệ tuần hoàn toàn thân được tiếp xúc với toàn bộ liều.

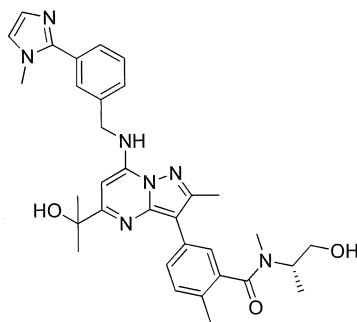
Các hợp chất 17, 19, 22 và 23 được bào chế trong 2% DMSO trong Kleptose (dung dịch, 10% khối lượng/thể tích). Hợp chất 18 được bào chế với tỷ lệ 5:45:50 của DMSO:PEG200:nước. Các dược phẩm được sử dụng ở dạng truyền tĩnh mạch (1mg/kg trong 1 giờ) cho một chuột đực Wistar Han.

12 giờ sau khi bắt đầu dùng theo liều, chuột cống được cho chết nhân đạo và lách được thu thập. Khoảng 0,5g mẫu lách được lấy và được đồng nhất trong 4mL nước. 100µL dịch đồng nhất thu được được điều chế bằng cách kết tủa protein với 300µL axetonitril chứa chất nội chuẩn và được thử nghiệm (cùng với chất chuẩn hiệu chuẩn được điều chế theo cách tương tự) bằng sắc ký lỏng đảo pha-phổ khối, sử dụng nguồn phun điện tử được làm nóng và được vận hành trong chế độ theo dõi nhiều phản ứng ion dương. Cột sắc ký lỏng được sử dụng là Waters Cortecs C18 cỡ hạt 2,7µm, cột 50 x 2,1mm ở 60°C, và pha động, được vận hành ở dạng gradien, có thể sử dụng (A) 0,1% axit formic (dung dịch) và (B) 0,1% axit formic trong axetonitril, được thực hiện ở tốc độ dòng 1mL/phút.

Tất cả các hợp chất có nồng độ trong lách nhỏ hơn 30 ng/g. Các hợp chất 17, 19, 22 và 23 có nồng độ trong lách nhỏ hơn 7 ng/g. Cụ thể, hợp chất 17 có nồng độ trong lách là 1,76 ng/g và hợp chất 22 có nồng độ trong lách là 5,54 ng/g.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất (S)-N-(1-hydroxypropan-2-yl)-5-(5-(2-hydroxypropan-2-yl)-2-metyl-7-((3-(1-metyl-1H-imidazol-2-yl)benzyl)amino)pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl)-N,2-dimetylbenzamidit (Hợp chất 22)



hoặc muối được dụng của nó.

2. Dược phẩm để điều trị lây nhiễm virus chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó.
3. Dược phẩm để điều trị rối loạn gây ra bởi hoặc bị trầm trọng thêm bởi lây nhiễm virus chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó.
4. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, và tá dược được dụng.