



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

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

(11) 
1-0020219

(51)⁷ **C07D 487/14, A61K 31/519, 31/55,**
A61P 35/00; 43/00

(13) **B**

(21) 1-2016-01028

(22) 22.08.2014

(86) PCT/JP2014/071951 22.08.2014

(87) WO2015/025936A1 26.02.2015

(30) 2013-172746 22.08.2013 JP

(45) 25.12.2018 369

(43) 25.07.2016 340

(73) TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)

1-27, Kandanishiki-cho, Chiyoda-ku, Tokyo 1018444, Japan

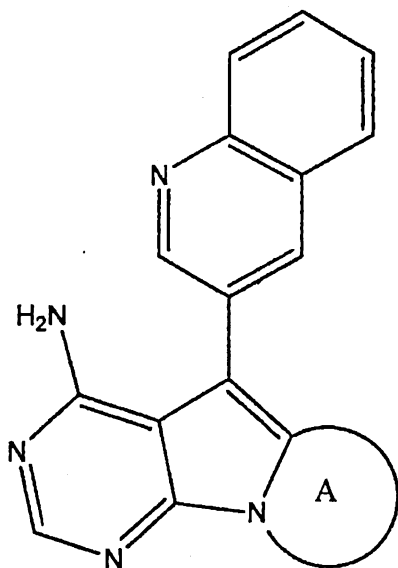
(72) UNO, Takao (JP), NONOSHITA, Katsumasa (JP), SHIMAMURA, Tadashi (JP)

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) **HỢP CHẤT ĐƯỢC THỂ QUINOLIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) dưới đây, hoặc muối của nó.

Hợp chất này là hữu dụng để ức chế thụ thể của yếu tố sinh trưởng biểu bì (Epidermal Growth Factor Receptor - EGFR) và ức chế sự tăng sinh tế bào, cũng như dùng để làm thuốc để phòng và/hoặc điều trị bệnh ung thư dựa trên hiệu quả ức chế EGFR. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này hoặc muối của nó.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất được thể quinolin có hoạt tính ức chế đối với thụ thể của yếu tố phát triển thượng bì (EGFR-Epidermal Growth Factor Receptor), và được phẩm chứa các hợp chất này làm thành phần hoạt tính.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

EGFR là tyrosin kinaza dạng thụ thể, sử dụng chức năng sinh lý của nó trong mô thông thường khi được liên kết với yếu tố phát triển thượng bì (EGF), mà là phối tử, và tham gia vào sự phát triển, sự ức chế gây chết tế bào theo chương trình, v.v., trong các biểu mô (tài liệu phi sáng chế 1).

Ngoài ra, EGFR là một trong số các gen đột biến gây ung thư, và sự khuếch đại của gen EGFR và sự biểu hiện cao độ hoặc sự đột biến của protein của nó đã được tìm thấy ở nhiều loại bệnh ung thư như ung thư đầu và cổ, ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư thực quản, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư buồng trứng, ung thư thận, ung thư bàng quang, ung thư da, và u não (tài liệu phi sáng chế 2). Ở Nhật và các nước phương tây, cứ 100000 người thì có xấp xỉ từ 170 đến 375 người tử vong do ung thư hàng năm, và ung thư đứng ở vị trí cao trong các nguyên nhân gây tử vong (tài liệu phi sáng chế 3). Trong số này, số tử vong do ung thư phổi là khoảng 1400000 người mỗi năm trên toàn thế giới, và vì ung thư phi tiểu bào phổi chiếm 80% hoặc hơn trong số các bệnh ung thư phổi, đã có mong muốn phát triển liệu pháp điều trị cho căn bệnh này (tài liệu phi sáng chế 4).

Trong những năm gần đây, các gen là nguyên nhân gây các bệnh ung thư này đã được xác định, và sự đột biến trong gen EGFR cũng là một trong số các nguyên nhân này và gây ra EGFR đột biến tích cực. Protein EGFR đột biến tích cực là, ví dụ, việc loại bỏ axit amin ở các vị trí từ 746-750 (EGFR (d746-750)), sự đột biến của axit amin ở vị trí 858 từ leuxin đến arginin (EGFR (L858R)), hoặc tương tự. Những đột biến này đã được báo cáo, ví dụ, chiếm 20-40% trường hợp ung thư phi tiểu bào phổi ở Nhật, và chiếm 10-15% trường hợp ung thư phi tiểu bào phổi ở các nước phương tây. Vì ung thư phi tiểu bào phổi có các đột biến này có độ nhạy cao kháng gefitinib (tên sản phẩm: Iressa (nhãn hiệu)) và erlotinib (tên sản phẩm: Tarceva (nhãn hiệu)) mà là các chất hóa học (chất ức chế EGFR) ức chế hoạt tính kinaza của EGFR, các chất hóa học này được sử dụng dưới dạng thuốc điều trị ở Nhật và các nước phương tây. Tuy nhiên, ung thư cần sự đề kháng chống lại gefitinib và erlotinib sau 6 đến 12 tháng từ khi bắt đầu sử dụng và hiệu quả điều trị trở nên yếu. Vì thế, nhu cầu đề kháng đã trở thành một vấn đề nghiêm trọng trong việc điều trị bệnh ung thư phi tiểu bào phổi có EGFR đột

biến có độ nhạy cao. Cũng đã bộc lộ rằng khoảng 50% nhu cầu đề kháng là do sự xuất hiện của protein EGFR đột biến kháng thể (EGFR (d746-750/T790M) hoặc EGFR (T790M/L858R)) có đột biến thứ hai trong gen EGFR tạo ra axit amin ở vị trí 790 để thay đổi từ threonin đến methionin. Một nhiệm vụ quan trọng là cần phát triển thuốc điều trị mà có hiệu quả đối với bệnh ung thư phi tiểu bào phổi có EGFR đột biến kháng thuốc này (tài liệu phi sáng chế 5).

Mặt khác, sự thay đổi bất thường của da và rối loạn ống thức ăn được báo cáo là các tác dụng phụ thông thường của chất ức chế EGFR của gefitinib và erlotinib, mà hiện nay được sử dụng trong lâm sàng làm thuốc điều trị, và chất ức chế EGFR như BIBW2992, v.v., đang được thử nghiệm lâm sàng. Các tác dụng phụ được cho là do các chất ức chế EGFR, mà không chỉ ức chế hoạt tính của EGFR đột biến được biểu hiện ở bệnh ung thư phi tiểu bào phổi mà còn ức chế cả hoạt tính của EGFR thể tự nhiên (EGFR (WT)) được biểu hiện ở da hoặc ống thức ăn (tài liệu phi sáng chế 1). Từ quan điểm làm giảm tác dụng phụ, tốt hơn là cần có hoạt tính ức chế đối với EGFR (WT) yếu trong mô thông thường.

Vì thế, đã có nhu cầu về khả năng ngăn chặn sự phát triển của các tế bào ung thư phi tiểu bào phổi có EGFR đột biến kháng thuốc bằng việc sử dụng chất hóa học có hoạt tính ức chế yếu hơn kháng EGFR thể tự nhiên khi so sánh với hoạt tính ức chế kháng EGFR đột biến kháng thuốc mà có axit amin ở vị trí 790 đã đột biến thành methionin, ở liều lượng sử dụng mà không có tác dụng phụ mạnh cho da hoặc ống thức ăn. Điều này đã báo trước là góp phần điều trị ung thư, kéo dài sự sống và cải thiện QOL của bệnh nhân. Ngoài ra, nếu chất hóa học có hoạt tính ức chế yếu kháng EGFR thể tự nhiên nhưng mạnh ở hoạt tính ức chế không chỉ kháng EGFR đột biến kháng thuốc mà còn kháng các EGFR có độ nhạy cao như EGFR (d746-750) và EGFR (L858R) v.v., mà có độ nhạy cao kháng gefitinib và erlotinib; đã có nhu cầu về khả năng ngăn chặn sự phát triển của các tế bào ung thư phi tiểu bào phổi thể hiện EGFR có độ nhạy cao hoặc EGFR đột biến kháng thuốc ở liều lượng sử dụng mà không có tác dụng phụ mạnh cho da hoặc ống thức ăn, hoặc nhu cầu về khả năng làm giảm sự xuất hiện thường xuyên của EGFR đột biến kháng thuốc, khi cần kháng thể từ bệnh ung thư phi tiểu bào phổi biểu hiện EGFR đột biến có độ nhạy cao. Điều này đã được tiên liệu là góp phần điều trị bệnh ung thư, kéo dài sự sống và cải thiện QOL của bệnh nhân. Ngoài ra, vì những mong đợi về EGFR đột biến có độ nhạy cao và EGFR đột biến kháng thuốc có thể được sử dụng trong thực tế điều trị như các chỉ số cho sự phân tầng để cho phép chọn lọc bệnh nhân, chúng có đóng góp lớn từ quan điểm đạo đức.

Dưới dạng hợp chất có cấu trúc tương tự với hợp chất theo sáng chế, dẫn xuất N-(3-(4-amino-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-5-yl)phenyl)benzamid đã

được biết (tài liệu sáng chế 1). Mặc dù tài liệu sáng chế 1 mô tả có sử dụng hợp chất amit để điều trị các bệnh đặc trưng bởi B-RAF kinase, tài liệu không bộc lộ các thử nghiệm và kết quả cụ thể từ đó đã chứng minh cho hoạt tính ức chế kinase, và hoạt tính này không được xác nhận.

Danh mục tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố quốc tế số WO2006/102079

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Nature Rev. Cancer, vol.6, pp803-811 (2006)

Tài liệu phi sáng chế 2: J. Clin. Oncol., vol.19, 32s-40s (2001)

Tài liệu phi sáng chế 3: Ministry of Internal Affairs and Communications Statistics Bureau homepage / statistical data / world statistics “World Statistics 2011”

Tài liệu phi sáng chế 4: Lung Cancer, vol.69, pp1-12 (2010)

Tài liệu phi sáng chế 5: Nature Rev. Cancer, vol.10, pp760-774 (2010)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Như đã mô tả trên đây, chất ức chế EGFR, dù được mong đợi là có hiệu quả trong điều trị ung thư, hiện nay đã không đủ hữu hiệu trong lâm sàng.

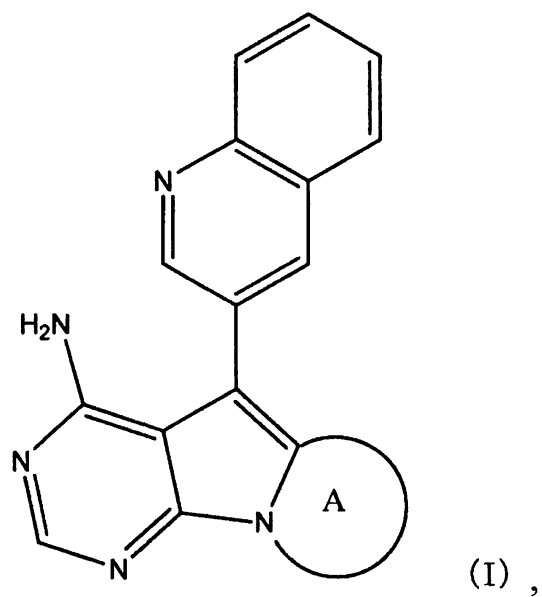
Vì thế, mục đích của sáng chế là nhằm đề cập đến hợp chất mới mà ức chế mạnh EGFR hoặc muối của nó. Một mục đích khác của sáng chế là nhằm đề cập đến hợp chất mới mà ức chế EGFR đột biến, ví dụ, EGFR (d746-750), EGFR (L858R), EGFR (d746-750/T790M), và EGFR (T790M/L858R), nhưng không ức chế EGFR (WT) hoặc muối của nó.

Vấn đề được sáng chế giải quyết

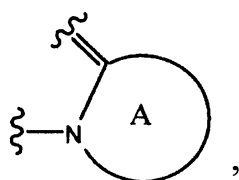
Các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu chuyên sâu để đạt được mục đích nêu trên. Kết quả là, họ đã phát hiện ra rằng nhóm các hợp chất được thể quinolin theo sáng chế có hoạt tính ức chế tuyệt vời đối với EGFR và có hoạt tính ức chế sự phát triển tế bào ung thư, và hữu ích làm thuốc để điều trị ung thư. Từ đó các tác giả sáng chế đã hoàn thành sáng chế.

Vì thế, sáng chế đề cập đến các mục dưới đây.

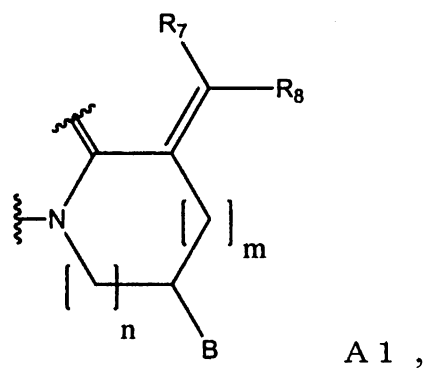
Mục 1. Hợp chất có công thức (I) dưới đây hoặc muối của nó:



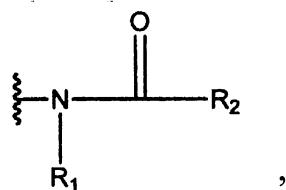
trong đó nhóm:



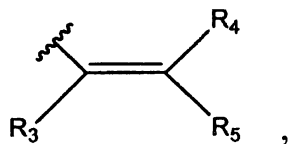
là (1) nhóm có công thức A1:



(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:

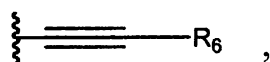


[R₁ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl; và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R_3 , R_4 , và R_5 là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm C1-C6 alkyl, nhóm C6-C12 aryl, nhóm C4-C9 heteroaryl, nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm C1-C6 alkyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl,

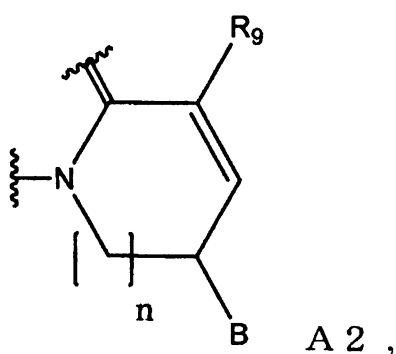
hoặc nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R_6 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl],

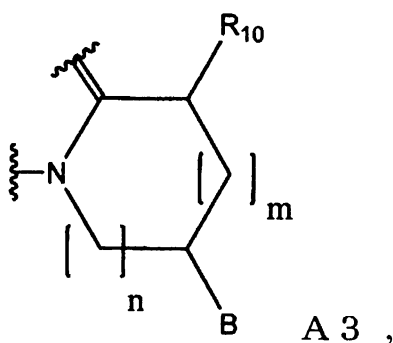
R_7 và R_8 là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl; m là 0 hoặc 1; và n là 1 hoặc 2);

(2) nhóm có công thức A2:



(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1; và R_9 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl); hoặc

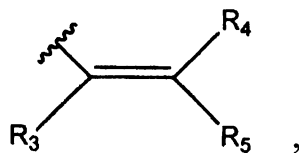
(3) nhóm có công thức A3:



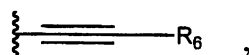
(trong công thức A3, B, m , và n là như được định nghĩa đối với công thức A1; và R_{10} là

nhóm C1-C6 alkyl).

Mục 2. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục 1, trong đó R_2 là nhóm được thể hiện bởi:

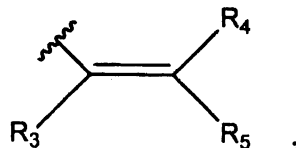


trong đó R_3 , R_4 , và R_5 là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm C1-C6 alkyl, nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm C1-C6 alkyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl, hoặc nhóm được thể hiện bởi:



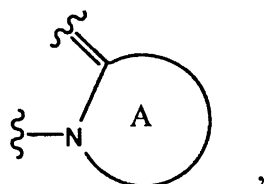
trong đó R_6 là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl.

Mục 3. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục 1 hoặc 2, trong đó R_2 là nhóm được thể hiện bởi:

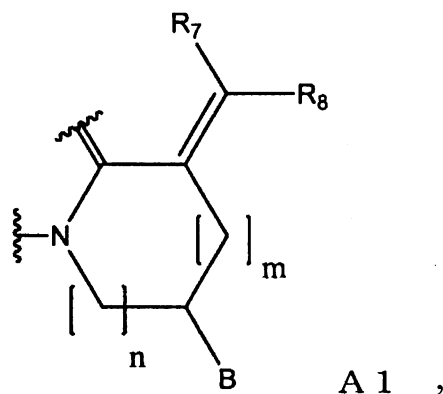


trong đó R_3 , R_4 , và R_5 là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm methyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl.

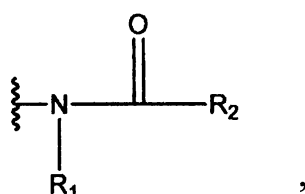
Mục 4. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 3, trong đó nhóm:



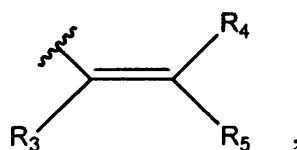
là (1) nhóm có công thức A1:



(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:



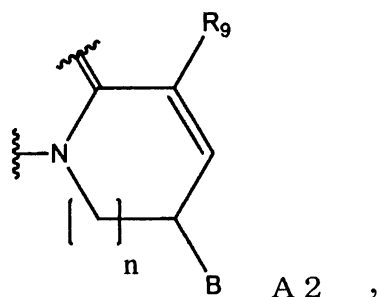
trong đó R₁ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl; và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử halogen,

R₇ và R₈ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl; m là 0 hoặc 1; và n là 1); hoặc

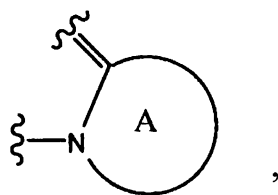
(2) nhóm có công thức A2:



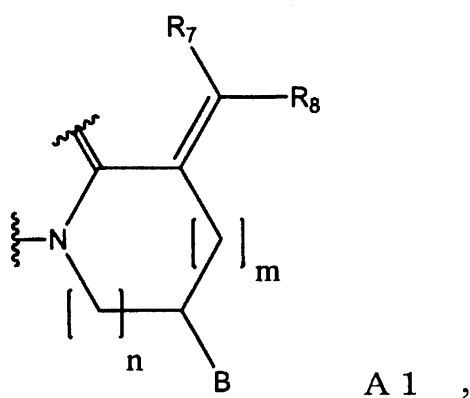
(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1; và R₉ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl).

Mục 5. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 4, trong

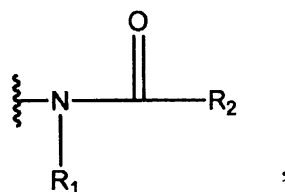
đó nhóm:



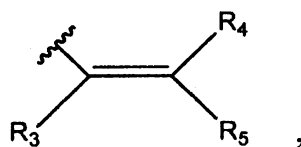
là (1) nhóm có công thức A1:



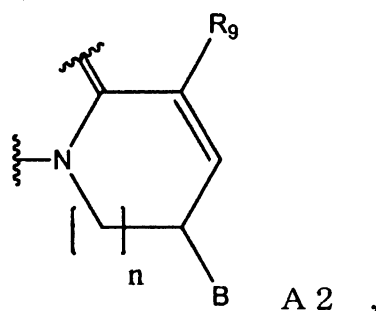
(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₁ là nguyên tử hydro; và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó mỗi R₃, R₄, và R₅ là nguyên tử hydro,
mỗi R₇ và R₈ là nguyên tử hydro; m là 0; và n là 1); hoặc
(2) nhóm có công thức A2:



(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1; và R₉ là nhóm C1-C6 alkyl).

Mục 6. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 5, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm các hợp chất dưới đây:

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 1);

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)metacrylamit (Hợp chất 2);

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-enamit (hỗn hợp gồm E và Z) (Hợp chất 3);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(dimethylamino)but-2-enamit (Hợp chất 4);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 5);

(S,Z)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 6);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(piperidin-1-yl)but-2-enamit (Hợp chất 7);

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)propiolamit (Hợp chất 8);

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-ynamit (Hợp chất 9);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(diethylamino)but-2-enamit (Hợp chất 10);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(etyl(metyl)amino)but-2-enamit (Hợp chất 11);

- (S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(isopropyl(metyl)amino)but-2-enamit (Hợp chất 12);
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 13);
- (S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 14);
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 15);
- (R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 16);
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 17);
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8,9,10-tetrahydro-6H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 18);
- (S,E)-N-(4-amino-6-etyliden-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 19);
- (S)-N-(4-amino-6-isopropyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 20A);
- (S)-N-(4-amino-6-(propan-2-yliden)-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 20B);
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 21);
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 22);
- (R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 23);
- N-((7S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 24);
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 25);
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 26);

(S)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 27);

(R)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-9,10-dihydro-8H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 28);

N-((6R*,8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 29A); và

N-((6S*,8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 29B).

Mục 7. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 5, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm các hợp chất dưới đây:

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 1);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 5);

(S,Z)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 6);

(S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 14);

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 15);

(S,E)-N-(4-amino-6-etyliden-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 19);

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 21);

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 22);

(R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 23); và

(R)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-9,10-dihydro-8H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 28).

Mục 8. (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 1) hoặc muối của nó.

Mục 9. (S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 14) hoặc muối của nó.

Mục 10. Thuốc ức chế EGFR chứa hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 9, làm thành phần hoạt tính.

Mục 11. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 9.

Mục 12. Thuốc kháng khối u chứa hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 9, làm thành phần hoạt tính.

Mục 13. Hợp chất hoặc muối của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 9 để dùng trong việc phòng hoặc điều trị ung thư.

Hiệu quả thực hiện sáng chế

Theo sáng chế, hợp chất mới có công thức (I) nêu trên hoặc muối của nó hữu ích làm chất ức chế EGFR được đề xuất.

Đã được chứng minh là hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có hoạt tính ức chế EGFR tuyệt vời và có hiệu quả ức chế sự phát triển tế bào ung thư. Ngoài ra, có lợi là hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có ít tác dụng phụ do có tính chọn lọc tuyệt vời đối với các EGFR. Vì thế, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó hữu ích làm thuốc phòng và/hoặc điều trị bệnh ung thư.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hợp chất có công thức (I) theo sáng chế là hợp chất được thế quinolin có cấu trúc quinolin và cấu trúc amit không no ở vị trí α , β và là hợp chất mới chưa hề được bộc lộ trong tài liệu kỹ thuật bất kỳ đã biết nêu trên v.v.

Cụ thể, hợp chất được bộc lộ cụ thể ở tài liệu sáng chế 1 là dẫn xuất N-(3-(4-amino-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-5-yl)phenyl)benzamid. Hợp chất theo sáng chế khác với hợp chất được bộc lộ ở tài liệu sáng chế 1 ở chỗ hợp chất theo sáng chế có cấu trúc quinolin và cấu trúc amit không no ở vị trí α , β .

Trong bản mô tả sáng chế này, các ví dụ về “nguyên tử halogen” bao gồm flo, clo, brom và iốt.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “nhóm C1-C6 alkyl” đề cập đến nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, và hexyl.

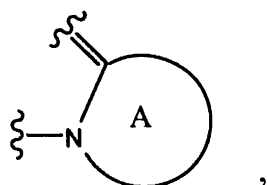
Trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “nhóm C6-C12 aryl” đề cập đến

nhóm aryl có từ 6 đến 12 nguyên tử cacbon. Các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm phenyl, naphthyl, và biphenyl.

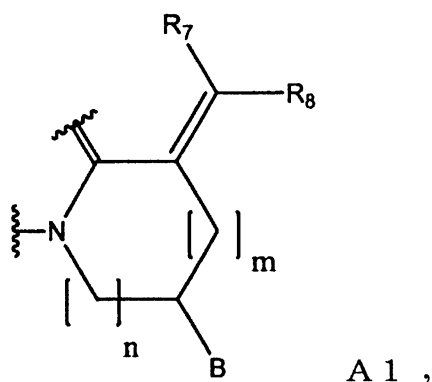
Trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “nhóm C4-C9 heteroaryl” đề cập đến nhóm C4-C9 heteroaryl đơn vòng hoặc hai vòng chứa từ 1 đến 3 dị nguyên tử giống hoặc khác nhau được chọn từ nguyên tử nitơ, oxy, và lưu huỳnh; và tốt hơn là nhóm C4-C9 heteroaryl đơn vòng và hai vòng chứa từ 1 đến 3 nguyên tử nitơ. Các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm thienyl, furyl, pyrrolyl, triazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, isothiazolyl, isoxazolyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, isobenzofuryl, indoliziny, isoindolyl, indolyl, indazolyl, quinolyl, isoquinolyl, phthalazinyl, và naphthyridinyl.

Trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm C1-C6 alkyl” đề cập đến nhóm aminometyl trong đó ít nhất một nguyên tử hydro của gốc amino có thể được thế bằng nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Các ví dụ cụ thể bao gồm aminometyl, N-methylaminometyl, N,N-dimethylaminometyl, N-ethylaminometyl, N,N-diethylaminometyl, N-metylN-ethylaminometyl, N-metylN-isopropylaminometyl, N-propylaminometyl, N-butylaminometyl, N-pentylaminometyl, và N-hexylaminometyl.

Trong công thức (I) nêu trên, gốc được thể hiện bởi:

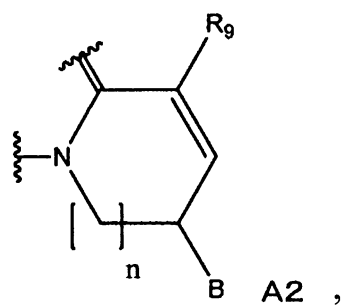


là (1) nhóm có công thức A1:



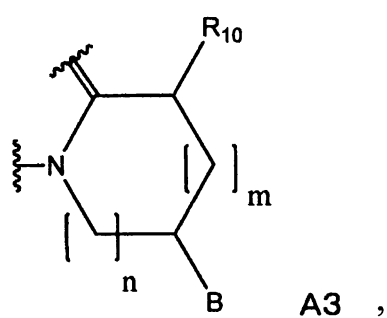
(trong công thức A1, B, m, n, R₇, và R₈ là như được định nghĩa ở trên);

(2) nhóm có công thức A2:



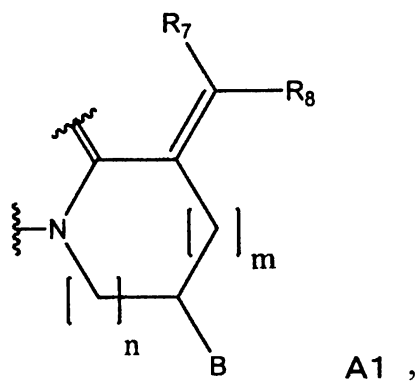
(trong công thức A2, B, n, và R₉ là như được định nghĩa ở trên); hoặc

(3) nhóm có công thức A3:

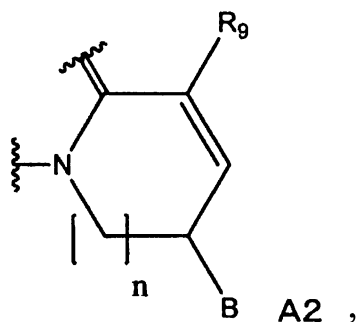


(trong công thức A3, B, m, n, R₇, và R₈ là như được định nghĩa ở trên),

và tốt hơn là (1) nhóm có công thức A1:



(trong công thức, B, m, n, R₇, và R₈ là như được định nghĩa ở trên), hoặc (2) nhóm có công thức A2:



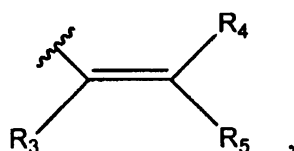
(trong công thức, B, n và R₉ là như được định nghĩa ở trên)

m trong Công thức (I) tốt hơn là 0.

n trong công thức (I) tốt hơn là 1.

R₁ trong công thức (I) tốt hơn là nguyên tử hydro.

R₂ trong công thức (I) tốt hơn là nhóm được thể hiện bởi:



(trong đó R₃, R₄, và R₅ là như được định nghĩa ở trên)

R₃, R₄, và R₅ trong công thức (I) tốt hơn là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm C1-C6 alkyl, nhóm aminometyl mà có thể được thể bằng nhóm C1-C6 alkyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl, tốt hơn nữa là, R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm aminometyl mà có thể được thể bằng nhóm methyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl, tốt hơn nữa là, R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử halogen, đặc biệt tốt hơn là nguyên tử hydro.

R₇ và R₈ trong công thức (I) tốt hơn là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl (tốt hơn là nhóm C1-C3 alkyl, tốt hơn nữa là nhóm methyl), tốt hơn nữa là, ít nhất một trong số R₇ và R₈ là nguyên tử hydro; đặc biệt tốt hơn là, cả R₇ và R₈ đều là nguyên tử hydro.

R₉ trong công thức (I) tốt hơn là nhóm C1-C6 alkyl, tốt hơn nữa là nhóm C1-C3 alkyl, tốt hơn nữa là nhóm methyl.

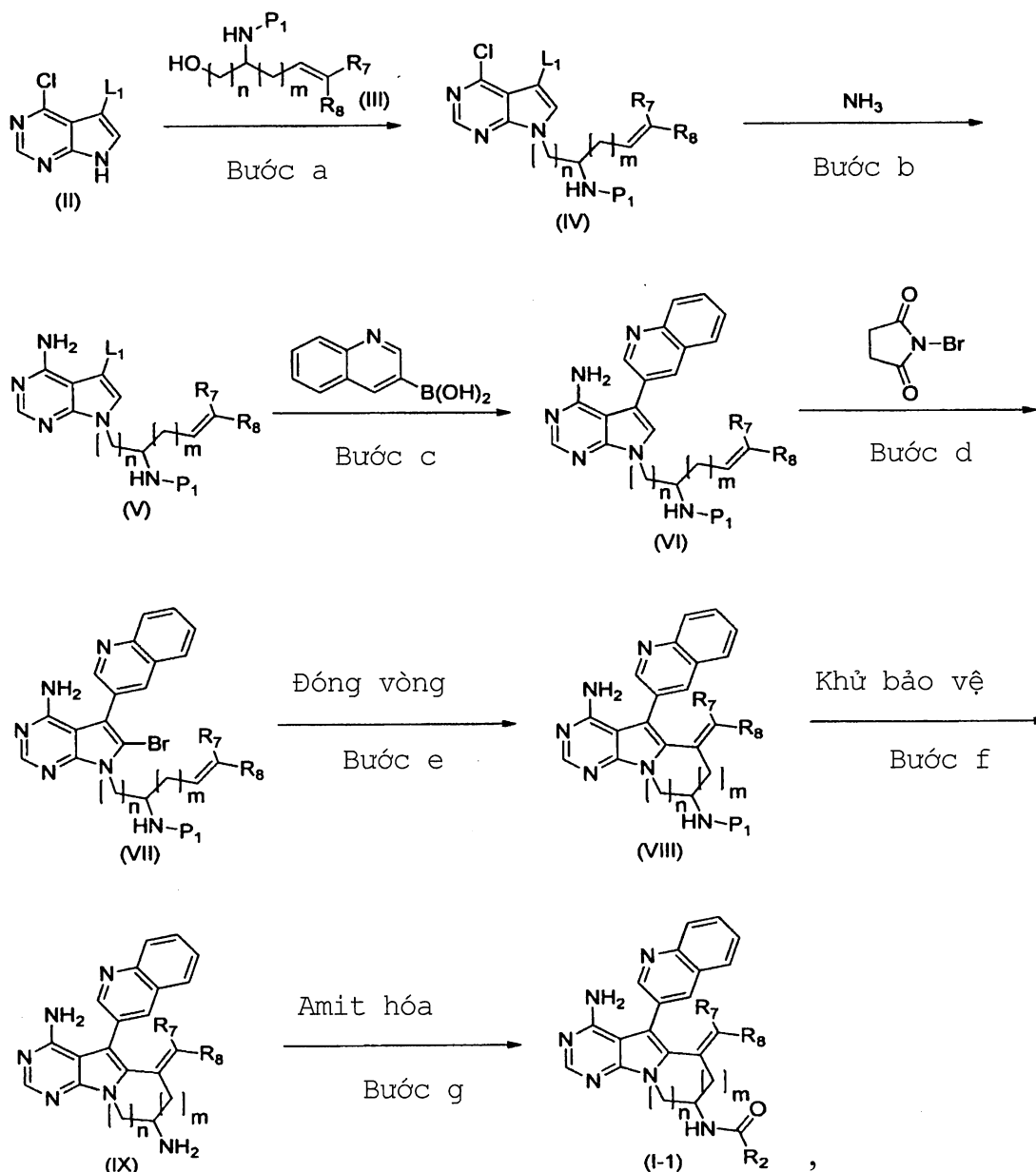
Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó tốt hơn là có hoạt tính ức chế enzym kháng EGFR (T790M/L858R), tốt hơn nữa là, nồng độ của hợp chất mà có thể ức chế

50% enzym là 2nM hoặc thấp hơn. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó tốt hơn là có hoạt tính ức chế enzym kháng EGFR mạnh (d746-750/T790M); còn tốt hơn nữa nếu nồng độ ức chế 50% của hợp chất này là 2nM hoặc ít hơn. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó tốt hơn là có hiệu quả ức chế phát triển tế bào mạnh kháng các tế bào ung thư bằng EGFR (T790M/L858R), tốt hơn nữa là hợp chất này có nồng độ ức chế 50% là 200nM hoặc thấp hơn, tốt hơn nữa là 100nM hoặc thấp hơn, và đặc biệt tốt hơn là 40nM hoặc thấp hơn.

Tiếp theo, phương pháp điều chế hợp chất theo sáng chế được trình bày.

Hợp chất (I) theo sáng chế có thể được điều chế, ví dụ, bằng phương pháp điều chế dưới đây, các phương pháp được mô tả ở phần các ví dụ, và tương tự. Tuy nhiên, phương pháp điều chế hợp chất theo sáng chế là không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Phương pháp điều chế 1



Trong đó P_1 là nhóm bảo vệ của nhóm amino, L_1 là nhóm rời chuyển và R_2 , R_7 , R_8 , m , và n là như được định nghĩa ở trên.

Bước a

Ở bước này, hợp chất có công thức (IV) được điều chế bằng phản ứng Mitsunobu bằng cách sử dụng các hợp chất được thể hiện bằng các công thức (II) và (III).

Các ví dụ về nhóm rời chuyển được thể hiện bởi L_1 trong hợp chất có công thức (II) bao gồm nguyên tử brom hoặc iốt. Hợp chất có công thức (II) có thể là sản phẩm có bán sẵn, hoặc có thể được điều chế bằng phương pháp đã biết. Các ví dụ về nhóm bảo vệ của nhóm amino được thể hiện bởi P_1 trong công thức (III) bao gồm nhóm tert-butoxycarbonyl và nhóm benzoyl. Hợp chất có công thức (III) có thể là sản phẩm có bán sẵn, hoặc có thể được điều chế theo phương pháp đã biết. Hợp chất có công thức (III) có thể được sử dụng với lượng từ 1 đến 10 mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5 mol, trên một mol hợp chất có công thức (II).

Phản ứng Mitsunobu có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết (ví dụ, phương pháp bộc lộ trong tài liệu Synthesis, p.1, 1981) hoặc phương pháp tương tự.

Các ví dụ về este của axit azodicarboxylic bao gồm diethyl azodicarboxylat và diisopropyl azodicarboxylat. Este của axit azodicarboxylic này có thể được sử dụng một lượng từ 1 đến 10 mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5 mol, trên một mol hợp chất có công thức (II).

Dưới dạng hợp chất phosphin, triphenylphosphin, tributylphosphin, hoặc tương tự có thể được sử dụng. Hợp chất phosphin có thể được sử dụng một lượng từ 1 đến 10 mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5 mol, trên một mol hợp chất có công thức (II).

Dưới dạng dung môi, tetrahydrofuran, 1,2-dimetoxyetan, 1,4-dioxan, toluen, N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylaxetamit, dimetyl sulfoxit, N-metylpyrrolidin-2-on, và tương tự có thể được sử dụng riêng lẻ, hoặc dưới dạng hỗn hợp. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 0°C đến 100°C .

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (IV) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước b

Ở bước này, hợp chất có công thức (IV) được cho phản ứng với amonia hoặc

muối của nó để điều chế hợp chất có công thức (V).

Lượng amonia hoặc muối của nó được sử dụng ở bước này thường nằm trong khoảng từ một đương lượng mol đến lượng mol dư trên một mol hợp chất có công thức (IV).

Dung môi phản ứng bất kỳ mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi phản ứng có thể sử dụng bao gồm nước, metanol, etanol, isopropanol, rượu tert-butyl, tetrahydrofuran, 1,2-dimetoxyetan, 1,4-dioxan, N,N-dimetylformamit, N-metylpyrrolidin-2-on, dimetyl sulfoxit, và dung môi hỗn hợp của chúng.

Nhiệt độ phản ứng thông thường là từ 0°C đến 200°C, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C. Thời gian phản ứng thông thường từ 5 phút đến 7 ngày, và tốt hơn là 30 phút đến 24 giờ.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (V) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước c

Ở bước này, hợp chất có công thức (V) được cho tham gia phản ứng kết hợp với axit 3-quinolinboronic hoặc este của axit 3-quinolinboronic để điều chế hợp chất có công thức (VI).

Bước này có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết (ví dụ, Chemical Reviews, Vol. 95, p. 2457, 1995). Bước này có thể được thực hiện dưới sự có mặt của chất xúc tác kim loại chuyển tiếp và bazơ trong dung môi mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng.

Lượng axit 3-quinolinboronic hoặc este của axit 3-quinolinboronic được sử dụng có thể là từ 1 đến 10mol, và tốt hơn là từ 1 đến 3mol, trên một mol hợp chất có công thức (V).

Các ví dụ về chất xúc tác kim loại chuyển tiếp bao gồm chất xúc tác paladi (ví dụ, paladi axetat, paladi clorua, tetrakis(triphenylphosphin)paladi, 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen-paladi (II) diclorua, và tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi (0)), chất xúc tác niken (ví dụ, niken clorua), và tương tự. Nếu cần thiết, có thể bổ sung phối tử (ví dụ, triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin, hoặc 2-dicyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl), và oxit kim loại (như oxit đồng hoặc oxit bạc) có thể được sử dụng dưới dạng đồng xúc tác. Lượng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp được sử dụng có thể thay đổi phụ thuộc vào loại chất xúc tác. Chất xúc

tác kim loại chuyển tiếp thông thường được sử dụng một lượng từ 0,0001 đến 1mol, và tốt hơn là 0,01 đến 0,5mol, trên một mol hợp chất có công thức (V). Lượng phối tử được sử dụng thường nằm trong khoảng từ 0,0001 đến 4mol, và tốt hơn là 0,01 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (V). Lượng chất đồng xúc tác được sử dụng thường nằm trong khoảng từ 0,0001 đến 4mol, và tốt hơn là 0,01 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (V).

Các ví dụ về bazơ có thể được sử dụng bao gồm các amin hữu cơ (ví dụ, trimetylamin, trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en, pyridin, và N,N-dimetylanilin), muối kim loại kiềm (ví dụ, natri hydro cacbonat, kali hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri phosphat, kali phosphat, natri hydroxit, và kali hydroxit), các hydrua kim loại (ví dụ, kali hydrua và natri hydrua), các alkoxit kim loại kiềm (ví dụ, natri metoxit, natri etoxit, natri tert-butoxit, và kali tert-butoxit), các disilazit kim loại kiềm (ví dụ, lithi disilazit, natri disilazit, và kali disilazit), và tương tự. Trong số chúng, các muối kim loại kiềm như natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri phosphat, và kali phosphat; các alkoxit kim loại kiềm như natri tert-butoxit và kali tert-butoxit; và các amin hữu cơ như trietylamin và diisopropyletylamin là được ưu tiên. Lượng bazơ được sử dụng thông thường là từ 0,1 đến 10mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5mol, trên một mol hợp chất có công thức (V).

Dung môi bất kỳ mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi có thể được sử dụng bao gồm các hydrocarbon (ví dụ, benzen, toluen, và xylen), các hydrocarbon đã halogen hóa (ví dụ, cloform và 1,2-dicloetan), nitril (ví dụ, axetonitril), các ête (ví dụ, 1,2-dimetoxyetan, tetrahydrofuran, và 1,4-dioxan), các rượu (ví dụ, metanol và etanol), các dung môi cực aprotic (ví dụ, N,N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, và hexametyl phosphoryl amit), nước, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là từ 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 20 đến 150°C.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (VI) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước d

Ở bước này, hợp chất có công thức (VI) được brom hóa bằng cách cho phản ứng với N-bromosuccinimit để điều chế hợp chất có công thức (VII).

Việc halogen hóa có thể được thực hiện bằng phương pháp được mô tả trong WO 2006/102079, hoặc bằng phương pháp tương tự.

Lượng N-bromosuccinimide được sử dụng ở bước này là từ 0,5 đến 2,0mol, và tốt hơn là từ 0,9 đến 1,2mol, trên một mol hợp chất có công thức (VI).

Dung môi bất kỳ mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Ví dụ, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, N,N-dimethylformamide, N-methylpyrrolidin-2-on, hoặc dung môi hỗn hợp của chúng có thể được ưu tiên sử dụng.

Nhiệt độ phản ứng thông thường là từ -20 đến 50°C, và tốt hơn là từ 0°C đến nhiệt độ phòng. Thời gian phản ứng thông thường từ 1 phút đến 2 ngày, và tốt hơn là 5 phút đến 12 giờ.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (VI) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước e

Bước này cho hợp chất có công thức (VII) vào phản ứng đóng vòng nội phân tử để điều chế hợp chất có công thức (VIII).

Bước này có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết (ví dụ, phương pháp được mô tả trong tài liệu Chemical Reviews, Vol. 103, p. 2945, 2003).

Các ví dụ về chất xúc tác kim loại chuyển tiếp bao gồm chất xúc tác paladi (ví dụ, paladi axetat, paladi clorua, 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen-paladi(II)diclorua, v.v.), và chất xúc tác paladi hóa trị không (ví dụ, tetrakis(triphenylphosphin)paladi, tris(dibenzylidenacetone)dipaladi, v.v.). Nếu cần thiết, có thể bổ sung phối tử (ví dụ, triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin, v.v.). Lượng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp được sử dụng có thể thay đổi phụ thuộc vào loại chất xúc tác. Chất xúc tác kim loại chuyển tiếp thường được sử dụng một lượng từ 0,0001 đến 1mol, và tốt hơn là 0,01 đến 0,5mol, trên một mol hợp chất có công thức (VII). Lượng phối tử được sử dụng từ 0,0001 đến 4mol, và tốt hơn là 0,01 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (VII).

Các ví dụ về bazơ có thể sử dụng bao gồm bazơ vô cơ như natri hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri hydroxit, kali hydroxit, xesi hydroxit, natri hydrua, hoặc kali hydrua. Bazơ này có thể được sử dụng với lượng từ 1 đến 100mol, và tốt hơn là 2 đến 20mol, trên một mol hợp chất có công thức (VII).

Dung môi bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử

dụng. Các ví dụ về dung môi có thể sử dụng bao gồm các hydrocarbon (ví dụ, benzen, toluen, và xylene), ête (ví dụ, 1,2-dimetoxyetan, tetrahydrofuran, và 1,4-dioxan), dung môi cực aprotic (ví dụ, N,N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, và hexametyl phosphoryl amit), nước, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là -20°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là 0°C đến 150°C .

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (VIII) có thể cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước f

Ở bước này, nhóm amino được bảo vệ của hợp chất có công thức (VIII) được loại bỏ nhóm bảo vệ để điều chế hợp chất có công thức (IX).

Việc loại bỏ nhóm bảo vệ được thực hiện theo phương pháp đã biết, như phương pháp được mô tả trong tài liệu: Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene, John Wiley & Sons (1981); hoặc phương pháp tương tự.

Khi nhóm tert-butoxycarbonyl được sử dụng làm nhóm bảo vệ, axit clohydric, axit sulfuric, axit metansulfonic, axit trifloaxetic và tương tự được sử dụng làm chất phản ứng loại bỏ nhóm bảo vệ. Lượng chất phản ứng được sử dụng tốt hơn là từ 1 đến 100 mol trên một mol hợp chất (VIII).

Dung môi bất kỳ mà không gây ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi có thể sử dụng bao gồm nước, metanol, etanol, metylen clorua, cloform, và tương tự, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là từ 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 0 đến 50°C .

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (IX) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước g

Ở bước này, hợp chất có công thức (IX) được amit hóa bằng axit carboxylic không no ở vị trí α , β , hoặc axit clorua hoặc bromua không no ở vị trí α , β để điều chế hợp chất có công thức (I-1) theo sáng chế.

Khi axit carboxylic được sử dụng làm chất phản ứng amit hóa, lượng axit

carboxylic có thể được sử dụng là từ 0,5 đến 10mol, tốt hơn là từ 1 đến 3mol, trên một mol hợp chất có công thức (IX), dưới sự có mặt của chất làm cô thích hợp. Axit carboxylic có thể là sản phẩm có bán sẵn, hoặc có thể được điều chế theo phương pháp đã biết.

Dung môi phản ứng bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi thích hợp bao gồm toluen, benzen, metylen clorua, cloform, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, N,N-dimetylformamit, dimetylaxetamit, N-metylpyrrolidin-2-on, dimetyl sulfoxit, và dung môi hỗn hợp của chúng. Nhiệt độ phản ứng thông thường là từ -78 đến 200°C, và tốt hơn là từ 0 đến 50°C. Thời gian phản ứng thông thường từ 5 phút đến 3 ngày, và tốt hơn là 5 phút đến 10 giờ.

Các ví dụ về chất ngưng tụ bao gồm diphenylphosphoryl azit, N,N'-dixyclohexylcarbodiimit, muối benzotriazol-1-yloxy-trisdimetylaminophosphoni, 4-(4,6-dimetoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-metylmorpholini clorua, 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit, hợp phần bao gồm 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit và 1-hydroxybenzotriazol, 2-clo-1,3-dimetylimidazolini clorua, O-(7-azabenzotriazo-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametylhexauroni hexaflophosphat, và tương tự.

Nếu cần thiết, có thể tùy ý sử dụng bazơ cho phản ứng. Các ví dụ về bazơ thích hợp bao gồm bazơ hữu cơ như trietylamin, diisopropyletylamin, pyridin, lutidin, collidin, 4-(N,N-dimetylamino)pyridin, kali tert-butytrat, natri tert-butytrat, natri metoxit, natri etoxit, lithi hexametyldisilazit, natri hexametyldisilazit, kali hexametyldisilazit, và butyl lithi; và bazơ vô cơ như natri hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri hydroxit, và natri hydrua. Có thể bổ sung lượng bazơ từ 1 đến 100mol, và tốt hơn là từ 1 đến 10mol, trên một mol hợp chất có công thức (IX).

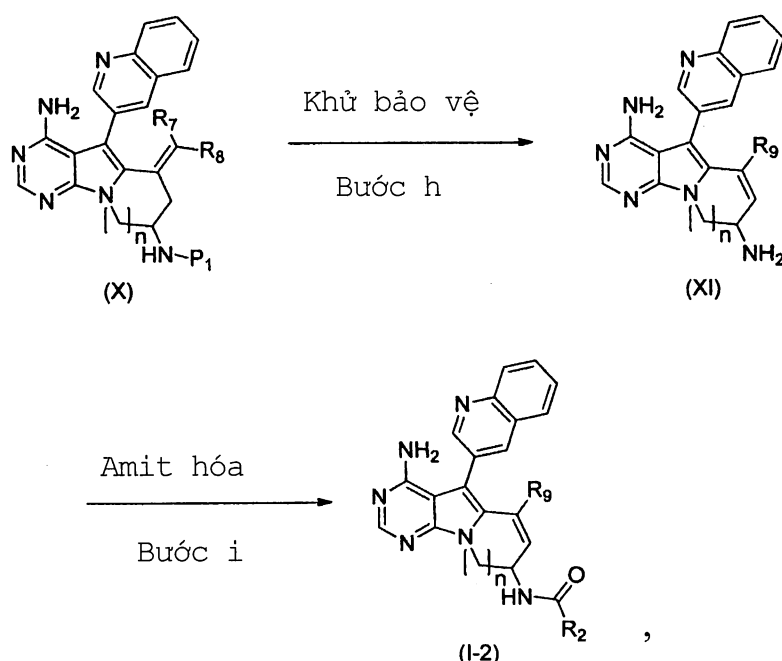
Khi axit clorua hoặc axit bromua được sử dụng làm chất phản ứng amit hóa, lượng axit halogenua được sử dụng là từ 0,5 đến 5mol, và tốt hơn là 0,9 đến 1,1mol, trên một mol hợp chất có công thức (IX). Axit halogenua có thể là sản phẩm có bán sẵn, hoặc có thể được điều chế theo phương pháp đã biết.

Dung môi phản ứng bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về chúng bao gồm toluen, benzen, metylen clorua, cloform, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, N,N-dimetylformamit, dimetylaxetamit, N-metylpyrrolidin-2-on, axetonitril, nước, và dung môi hỗn hợp của chúng. Nhiệt độ phản ứng thông thường là -78 đến 200°C, tốt hơn là từ 0 đến 50°C. Thời gian phản ứng thông thường từ 5 phút đến 3 ngày, và tốt hơn là 5 phút đến 10 giờ.

Nếu cần thiết, có thể bổ sung bazơ cho phản ứng. Các ví dụ về bazơ thích hợp

bao gồm bazơ hữu cơ như trietylamin, diisopropyletylamin, pyridin, lutidin, collidin, 4-(N,N-dimethylamino)pyridin, kali tert-butytrat, natri tert-butytrat, natri metoxit, natri etoxit, lithi hexametyldisilazit, natri hexametyldisilazit, kali hexametyldisilazit, và butyl lithi; và bazơ vô cơ như natri hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri hydroxit, và natri hydrua. Có thể bổ sung một lượng bazơ từ 1 đến 100mol, và tốt hơn là từ 1 đến 20mol, trên một mol hợp chất có công thức (IX). Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (I-1) có thể được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Phương pháp điều chế 2



Trong đó P₁ là nhóm loại bỏ nhóm bảo vệ của nhóm amino và R₂, R₇, R₈, R₉, và n là như được định nghĩa ở trên.

Bước h

Ở bước này, nhóm amino bảo vệ của hợp chất có công thức (X) được loại bỏ nhóm bảo vệ để điều chế hợp chất có công thức (XI).

Việc loại bỏ nhóm bảo vệ có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết, như phương pháp được mô tả trong tài liệu: Protective Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene, John Wiley & Sons (1981); hoặc phương pháp tương tự.

Khi tert-butoxycarbonyl được sử dụng làm nhóm bảo vệ, axit clohydric, axit sulfuric, axit metansulfonic, axit trifloaxetic hoặc tương tự có thể được sử dụng làm chất phản ứng loại bỏ nhóm bảo vệ. Lượng chất phản ứng được sử dụng tốt hơn là từ 1 đến 100 mol trên một mol hợp chất (X).

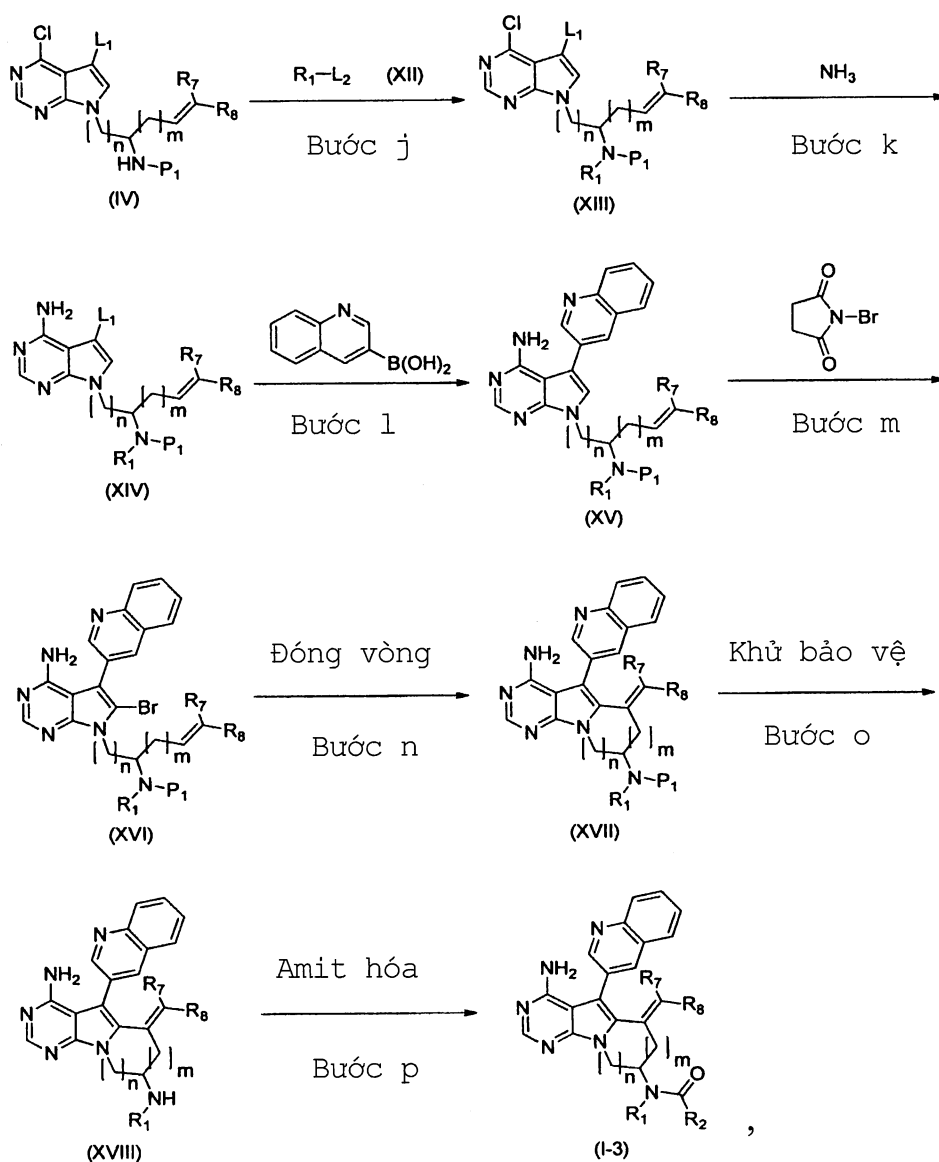
Dung môi bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi có thể sử dụng bao gồm nước, metanol, etanol, metylen clorua, cloform, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 50°C đến nhiệt độ sôi của dung môi.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XXI) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước i

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước g.

Phương pháp điều chế 3



Trong đó P_1 là nhóm bảo vệ của nhóm amino, L_1 và L_2 là nhóm rời chuyển và R_1, R_2, R_7, R_8, m , và n là như được định nghĩa ở trên.

Bước j

Ở bước này, hợp chất có công thức (XIII) được điều chế bằng phản ứng alkyl hóa sử dụng các hợp chất được thể hiện bằng các Công thức (IV) và (XII) dưới sự có mặt của bazơ.

Theo hợp chất có công thức (XII), các ví dụ về nhóm rời chuyển được thể hiện bởi L_2 bao gồm nguyên tử brom, nguyên tử i-ốt, este của axit metansulfonic, este của axit p-toluensulfonic, và tương tự. Hợp chất có công thức (XII) có thể là sản phẩm có bán sẵn, hoặc có thể được điều chế theo phương pháp đã biết. Hợp chất có công thức (XII) có thể được sử dụng một lượng từ 1 đến 10mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5mol, trên một mol hợp chất có công thức (IV). Các ví dụ về bazơ thích hợp bao gồm các amin hữu cơ (ví dụ, trimetylamin, trietylamin, diisopropyletylamin, N-metylmorpholin, 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-en, pyridin, và N,N-dimetylanilin), các muối kim loại kiềm (ví dụ, natri hydro cacbonat, kali hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri phosphat, kali phosphat, natri hydroxit, và kali hydroxit), các hydrua kim loại (ví dụ, kali hydrua và natri hydrua), alkoxit kim loại kiềm (ví dụ, natri metoxit, natri etoxit, natri tert-butoxit, và kali tert-butoxit), các disilazit kim loại kiềm (ví dụ, lithi disilazit, natri disilazit, và kali disilazit), và tương tự. Trong số chúng, muối kim loại kiềm như natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, natri phosphat, và kali phosphat; và các hydrua kim loại như natri hydrua; các alkoxit kim loại kiềm như natri tert-butoxit và kali tert-butoxit được ưu tiên. Lượng bazơ được sử dụng thường là từ 0,1 đến 10mol, và tốt hơn là từ 1 đến 5mol, trên một mol hợp chất có công thức (V).

Dưới dạng dung môi, tetrahydrofuran, 1,2-dimetoxyetan, 1,4-dioxan, N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylaxetamit, dimetyl sulfoxit, N-metylpyrrolidin-2-on, và tương tự có thể được sử dụng riêng rẽ, hoặc dưới dạng hỗn hợp. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 20°C đến 150°C .

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XIII) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước k

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước b.

Bước l

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước c.

Bước m

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước d.

Bước n

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước e.

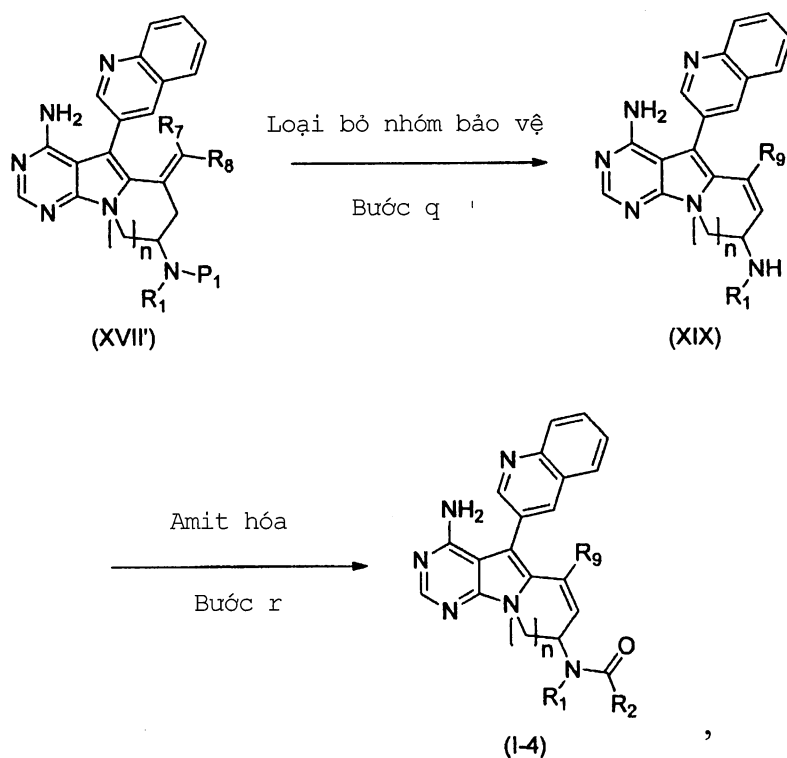
Bước o

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước f.

Bước p

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước g.

Phương pháp điều chế 4



Trong đó P₁ là nhóm bảo vệ của nhóm amino và R₁, R₂, R₇, R₈, R₉, và n là như được định nghĩa ở trên.

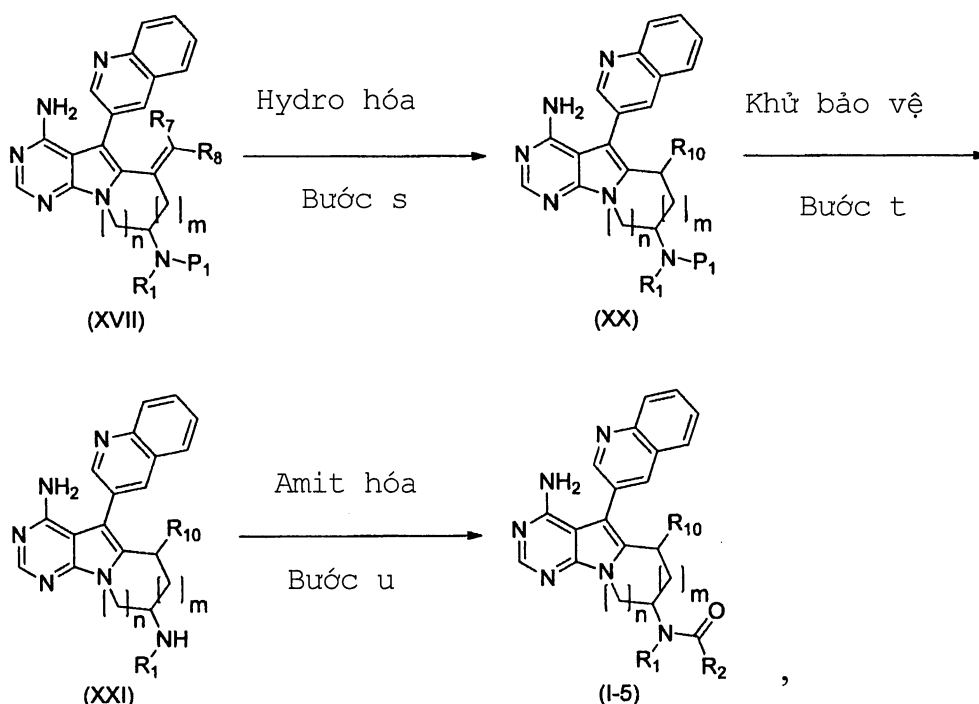
Bước q

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước h.

Bước r

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước g.

Phương pháp điều chế 5



Trong đó P₁ là nhóm bảo vệ của nhóm amino và R₁, R₂, R₇, R₈, R₁₀, m, và n là như được định nghĩa ở trên.

Bước s

Ở bước này, hợp chất có công thức (XX) được điều chế bằng hydro hóa với hợp chất có công thức (XVII) dưới sự có mặt của chất xúc tác.

Các ví dụ về chất xúc tác bao gồm chất xúc tác paladi-cacbon, chất xúc tác paladi hydroxit-cacbon, và chất xúc tác Raney niken. Chất xúc tác có thể được sử dụng với lượng từ 0,01 mol đến lượng dư, tốt hơn là từ 0,1 mol đến 10mol, trên một mol hợp chất có công thức (XVII).

Việc hydro hóa có thể được thực hiện ở 1 atm đến 100 atm, tốt hơn là từ 1 atm đến 10 atm. Dưới dạng dung môi, metanol, etanol, etyl axetat, tetrahydrofuran, 1,2-dimetoxyetan, 1,4-dioxan, N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylxetamit, N-metylpyrrolidin-2-on, nước, và tương tự có thể được sử dụng riêng rẽ, hoặc dưới dạng hỗn hợp. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là từ 0,5 đến 48 giờ. Nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến nhiệt độ sôi của dung môi, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 100°C.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XX) có thể được cho tham gia bước

tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

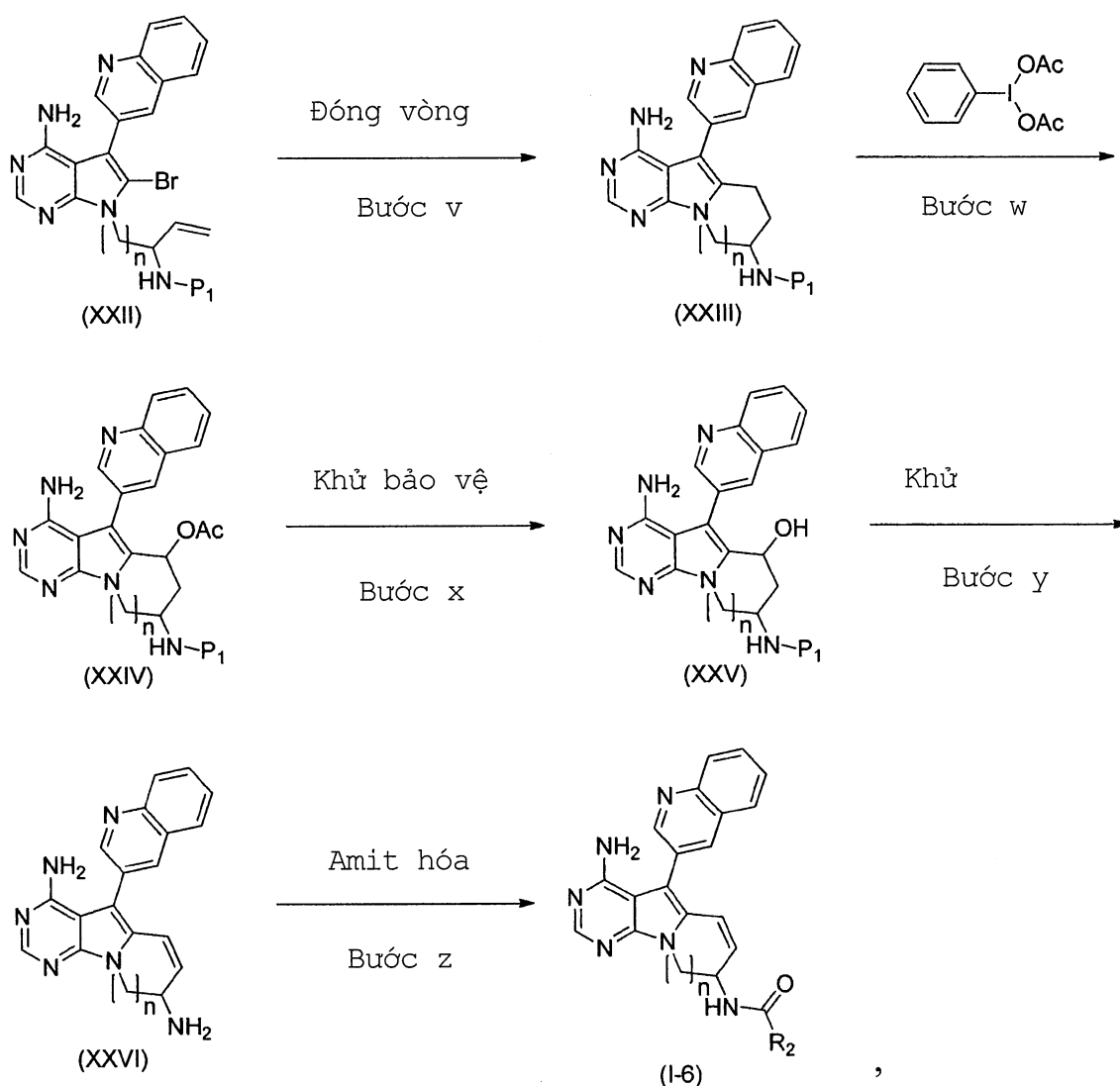
Bước t

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước f.

Bước u

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước g.

Phương pháp điều chế 6



Trong đó P_1 là nhóm bảo vệ của nhóm amino và R_2 và n là như được định nghĩa ở trên.

Bước v

Ở bước này, chất phản ứng bo hữu cơ được cho vào hợp chất có công thức (XXII) để điều chế chất trung gian alkyl bo trong hệ phản ứng, và sau đó hợp chất có công thức (XXIII) được điều chế dưới sự có mặt của chất xúc tác kim loại chuyển tiếp và bazơ.

Bước này có thể được thực hiện theo phương pháp thông thường đã biết (ví dụ, WO 2006/102079).

Các ví dụ về chất phản ứng bo hữu cơ bao gồm 9-BBN(9-borabixyclo[3,3,1]-nonan), 9-BBN(9-borabixyclo[3,3,1]-nonan) dime, disiamyl (bis(1,2-dimethylpropyl)boran), thexylboran(1,1,2-trimethylpropyl)boran), và tương tự. Chất phản ứng bo hữu cơ tốt hơn là 9-BBN(9-borabixyclo[3,3,1]-nonan) hoặc 9-BBN(9-borabixyclo[3,3,1]-nonan) dime, và đặc biệt tốt hơn là 9-BBN(9-borabixyclo[3,3,1]-nonan). Lượng chất phản ứng bo hữu cơ được sử dụng là không bị giới hạn đặc biệt miễn là chất trung gian alkyl bo có thể được điều chế. Chất phản ứng bo hữu cơ có thể được sử dụng với lượng từ 1 đến 20 mol trên một mol hợp chất có công thức (XXII); lượng chất phản ứng bo hữu cơ tốt hơn là từ 6 đến 10 mol từ quan điểm làm thuận lợi cho quá trình phản ứng.

Dưới dạng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, ví dụ, chất xúc tác paladi hóa trị hai (ví dụ, paladi axetat, paladi clorua, và 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen-paladi (II) diclorua) có thể được sử dụng. Nếu cần thiết, phối tử (ví dụ, triphenylphosphin và tri-tert-butylphosphin) có thể được sử dụng. Lượng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp được sử dụng có thể thay đổi phụ thuộc vào loại chất xúc tác. Lượng chất xúc tác kim loại chuyển tiếp được sử dụng là từ 0,0001 đến 1mol, và tốt hơn là từ 0,01 đến 0,5mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXII). Lượng phối tử được sử dụng là từ 0,0001 đến 4mol, và tốt hơn là 0,01 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXII).

Theo cách khác, ví dụ, chất xúc tác paladi hóa trị không có thể được sử dụng. Các ví dụ về chất xúc tác paladi hóa trị không bao gồm tetrakis(triphenylphosphin)paladi, tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi, paladi cacbon, và tương tự. Tetrakis(triphenylphosphin)paladi hoặc tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi được ưu tiên, và tetrakis(triphenylphosphin)paladi đặc biệt được ưu tiên. Lượng chất xúc tác paladi hóa trị không được sử dụng là không bị giới hạn miễn là trong phạm vi mà phản ứng đóng vòng nội phân tử có thể thực hiện và có thể thay đổi phụ thuộc vào loại chất xúc tác. Lượng chất xúc tác paladi hóa trị không có thể được sử dụng là từ 0,0001 đến 1mol, và tốt hơn là 0,01 đến 0,5mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXII).

Nếu cần thiết, có thể bổ sung chất xúc tác paladi hóa trị không vào phối tử. Các ví dụ về phối tử bao gồm triphenylphosphin, 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen, tri-

tert-butylphosphin, trixyclohexylphosphin, 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxibiphenyl, 2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl, 2-(di-tert-butylphosphino)biphenyl, 2-dixyclohexylphosphino-2'-(N,N-dimetylamino)biphenyl, 4,5'-bis(diphenylphosphino)-9,9'-dimetylxanten, và tương tự. Khi tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi được sử dụng làm chất xúc tác paladi hóa trị không, có thể bổ sung triphenylphosphin dưới dạng phối tử. Lượng phối tử được sử dụng là không bị giới hạn cụ thể miễn là trong phạm vi mà phản ứng đóng vòng nội phân tử có thể được thực hiện. Lượng phối tử có thể được sử dụng là từ 0,0001 đến 4mol, và tốt hơn là 0,01 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXII).

Các ví dụ về bazơ bao gồm bazơ vô cơ như natri hydro cacbonat, natri cacbonat, kali cacbonat, xesi cacbonat, và hydroxit kim loại kiềm. Các hydroxit kim loại kiềm được ưu tiên. Các ví dụ về các hydroxit kim loại kiềm bao gồm lithi hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit, và xesi hydroxit. Lithi hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit, hoặc xesi hydroxit được ưu tiên sử dụng. Lithi hydroxit hoặc natri hydroxit đặc biệt được ưu tiên. Lượng bazơ được sử dụng là không bị giới hạn cụ thể miễn là trong phạm vi mà phản ứng được thực hiện. Bazơ có thể được sử dụng với lượng từ 1 đến 100mol, và tốt hơn là 2 đến 20mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXII). Hydroxit kim loại kiềm có thể được sử dụng làm dung dịch hydroxit kim loại kiềm nước.

Dưới dạng hợp phần của chất phản ứng bo hữu cơ, hydroxit kim loại kiềm, và chất xúc tác paladi hóa trị không, được ưu tiên là hợp phần giữa chất phản ứng bo hữu cơ ưu tiên, hydroxit kim loại kiềm ưu tiên, và chất xúc tác paladi hóa trị không ưu tiên. Đặc biệt được ưu tiên là hỗn hợp gồm chất phản ứng bo hữu cơ ưu tiên đặc biệt, hydroxit kim loại kiềm ưu tiên đặc biệt, và chất xúc tác paladi hóa trị không ưu tiên đặc biệt.

Dung môi bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về chúng bao gồm các hydrocarbon (ví dụ, benzen, toluen, và xylen), ête (ví dụ, 1,2-dimetoxietan, tetrahydrofuran, và 1,4-dioxan), dung môi cực aprotic (ví dụ, N,N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, và hexametyl phosphoryl amit), nước, và hỗn hợp giữa chúng. 1,2-dimetoxietan hoặc tetrahydrofuran được ưu tiên sử dụng. Tetrahydrofuran đặc biệt được ưu tiên xét về tính ổn định của chất phản ứng bo hữu cơ và chất trung gian alkylboran sinh ra. Lượng dung môi được sử dụng là không bị giới hạn cụ thể miễn là trong phạm vi mà phản ứng được thực hiện. Lượng dung môi có thể được sử dụng là từ 1 đến 300 lần, và tốt hơn là 10 đến 96 lần trọng lượng của hợp chất có công thức (XXII).

Thời gian phản ứng là không bị giới hạn cụ thể miễn là trong phạm vi mà có

thể thu được hợp chất có công thức (XXIII). Thời gian phản ứng có thể là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ.

Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là cuối cùng có thể thu được hợp chất có công thức (XXIII). Nhiệt độ phản ứng có thể từ -20°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 0°C đến 150°C . Trong phản ứng đóng vòng nội phân tử của chất trung gian alkylboran sử dụng chất xúc tác paladi hóa trị không và dung dịch hydroxit kim loại kiềm nước, nhiệt độ phản ứng thấp có xu hướng gây ra các phản ứng phụ, mà tạo ra hiệu suất thấp. Vì thế, nhiệt độ tốt hơn là 61°C hoặc cao hơn.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XXIII) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Ở bước này, việc sản sinh chất trung gian alkylboran trong hệ phản ứng có thể được xác nhận. Ví dụ, phổ LCMS có thể được sử dụng làm phương pháp xác nhận.

Bước w

Ở bước này, hợp chất có công thức (XXIV) được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (XXIII) phản ứng với iodobenzen diacetat.

Lượng iodobenzen diacetat được sử dụng ở bước này là từ 1 đến 10mol, tốt hơn là từ 1 đến 2mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXIII).

Ở phản ứng nêu trên, nếu cần thiết, có thể bổ sung tetrabutylamoni iodua. Có thể bổ sung một lượng tetrabutylamoni iodua từ 0,01 đến 10mol, tốt hơn là 0,1 đến 1mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXIII).

Dung môi phản ứng bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi phản ứng thích hợp bao gồm metylen clorua, cloform, 1,2-dicloetan, axit axetic và dung môi hỗn hợp của chúng.

Nhiệt độ phản ứng thông thường là từ 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 0°C đến nhiệt độ trong phòng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, tốt hơn là 0,1 đến 24 giờ.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XXIV) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước x

Ở bước này, nhóm hydroxy bảo vệ của hợp chất có công thức (XXIV) được loại bỏ nhóm bảo vệ để điều chế hợp chất có Công thức (XXV).

Việc loại bỏ nhóm bảo vệ có thể được thực hiện bằng phương pháp đã biết, như phương pháp được mô tả trong tài liệu: *Protective Groups in Organic Synthesis*, T.W. Greene, John Wiley & Sons (1981); hoặc phương pháp tương tự.

Khi nhóm axetyl được loại bỏ nhóm bảo vệ, các ví dụ về chất phản ứng bảo vệ bao gồm natri hydroxit, kali hydroxit, và tương tự. Lượng chất phản ứng được sử dụng tốt hơn là từ 1 đến 100 mol trên một mol hợp chất có công thức (XXIV).

Dung môi bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi bao gồm nước, metanol, etanol, tetrahydrofuran, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng là 0°C đến nhiệt độ sôi của dung môi, và tốt hơn là từ 0 đến 50°C.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XXV) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước y

Ở bước này, hợp chất có công thức (XXVI) được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (XXV) vào phản ứng khử.

Ở phản ứng khử, các axit như monohydrat của axit p-toluensulfonic, axit 10-camphorsulfonic và tương tự được sử dụng. Lượng axit được sử dụng từ 0,1 đến 100mol, tốt hơn là từ 1 đến 10mol, trên một mol hợp chất có công thức (XXV).

Dung môi bất kỳ mà không ảnh hưởng bất lợi đến phản ứng có thể được sử dụng. Các ví dụ về dung môi bao gồm toluen, xylen, và dung môi hỗn hợp của chúng. Thời gian phản ứng là từ 0,1 đến 100 giờ, và tốt hơn là 0,5 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng trong phạm vi từ nhiệt độ trong phòng đến nhiệt độ sôi của dung môi.

Hợp chất nhờ đó thu được có công thức (XXVI) có thể được cho tham gia bước tiếp theo sau khi tiến hành hoặc không tiến hành tách hoặc tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế đã biết, như cô, cô chân không, kết tinh, chiết dung môi, tái kết tủa, và sắc ký.

Bước z

Bước này có thể được thực hiện theo cùng phương thức như ở bước g.

Ở các phương pháp điều chế từ 1 đến 6 nêu trên, cho các nhóm phức có proton hoạt tính như các nhóm amino, imino, hydroxy, carboxy, cacbonyl và amit, và indol, chất phản ứng bảo vệ có thể được sử dụng, hoặc có thể đưa nhóm bảo vệ vào nhóm phức này theo phương pháp thông thường; sau đó, có thể loại bỏ nhóm bảo vệ ở bước thích hợp trong từng phương pháp điều chế.

“Nhóm bảo vệ của nhóm amino hoặc nhóm bảo vệ của nhóm imino” là không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chức năng bảo vệ. Các ví dụ về các nhóm bảo vệ này bao gồm các nhóm aralkyl như benzyl, p-metoxybenzyl, 3,4-dimetoxibenzy, o-nitrobenzyl, p-nitrobenzyl, benzhydryl, trityl, và cumyl; các nhóm alkanoyl bậc thấp như formyl, axetyl, propionyl, butyryl, pivaloyl, trifloaxetyl, và tricloaxetyl; benzoyl; các nhóm arylalkanoyl như phenylaxetyl và phenoxyaxetyl, các nhóm alkoxycarbonyl bậc thấp như metoxycarbonyl, etoxycarbonyl, propyloxycarbonyl, và tert-butoxycarbonyl, các nhóm aralkyloxycarbonyl như p-nitrobenzyloxycarbonyl và phenetyloxycarbonyl, các nhóm alkylsilyl bậc thấp như trimetylsilyl và tert-butyldimetylsilyl; tetrahydropyranyl, trimetylsilyletoxymetyl, các nhóm alkylsulfonyl bậc thấp như metylsulfonyl, etylsulfonyl, và tert-butylsulfonyl, các nhóm alkylsulfinyl bậc thấp như tert-butylsulfinyl, các nhóm arylsulfonyl như benzensulfonyl và toluensulfonyl và các nhóm imido như phthalimido. Đặc biệt, trifloaxetyl, axetyl, tert-butoxycarbonyl, benzyloxycarbonyl, trimetylsilyletoxymetyl, cumyl, và tương tự được ưu tiên.

“Nhóm bảo vệ của nhóm hydroxy” là không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chức năng bảo vệ. Các ví dụ về nhóm bảo vệ này bao gồm các nhóm alkyl bậc thấp như metyl, etyl, propyl, isopropyl, và tert-butyl, các nhóm alkylsilyl bậc thấp như trimetylsilyl và tert-butyldimetylsilyl; các nhóm alkoxymetyl bậc thấp như metoxymetyl và 2-metoxyletoxymetyl; tetrahydropyranyl; trimetylsilyletoxymetyl, các nhóm aralkyl như benzyl, p-metoxybenzyl, 2,3-dimetoxibenzy, o-nitrobenzyl, p-nitrobenzyl, và trityl và các nhóm axyl như formyl, axetyl, và trifloaxetyl. Đặc biệt, metyl, metoxymetyl, tetrahydropyranyl, trimetylsilyletoxymetyl, tert-butyldimetylsilyl, và axetyl được ưu tiên.

“Nhóm bảo vệ của nhóm carboxy” là không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chức năng bảo vệ. Các ví dụ về nhóm bảo vệ này bao gồm nhóm alkyl bậc thấp như metyl, etyl, propyl, isopropyl, và tert-butyl, các nhóm halo-bậc thấp-alkyl như 2,2,2-tricloetyl, nhóm alkenyl bậc thấp như allyl, trimetylsilyletoxymetyl và các nhóm aralkyl như benzyl, p-metoxybenzyl, p-nitrobenzyl, benzhydryl, và trityl. Đặc biệt, metyl, etyl, tert-butyl, allyl, benzyl, p-metoxybenzyl, trimetylsilyletoxymetyl, và tương tự được ưu tiên.

“Nhóm bảo vệ của nhóm cacbonyl” là không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có chức năng bảo vệ. Các ví dụ về nhóm bảo vệ này bao gồm etylene ketal, trimetylen ketal, dimetyl ketal, và các ketal và axetal tương tự.

Phương pháp loại bỏ nhóm bảo vệ này có thể thay đổi phụ thuộc vào loại nhóm bảo vệ, tính ổn định của hợp chất (I) mong muốn, v.v.. Ví dụ, phương pháp dưới đây có thể được sử dụng: phân ly trong dung môi sử dụng một axit hoặc bazơ theo phương pháp được mô tả trong tài liệu ẩn phẩm (Protective Groups in Organic Synthesis, third edition, T.W. Green, John Wiley & Sons (1999)) hoặc phương pháp tương tự, tức là, phương pháp bao gồm cho phản ứng với 0,01 mol hoặc lượng dư axit, tốt hơn là axit trifloaxetic, axit formic, hoặc axit clohydric, hoặc với lượng từ bằng mol đến lượng dư lớn bazơ, tốt hơn là kali hydroxit hoặc canxi hydroxit; khử hóa học sử dụng phức hydrua kim loại, v.v., hoặc khử xúc tác sử dụng chất xúc tác paladi-cacbon, chất xúc tác Raney niken, v.v..

Hợp chất theo sáng chế có thể được tách và tinh chế bằng phương pháp tách và tinh chế thông thường. Các ví dụ về phương pháp này bao gồm chiết dung môi, tái kết tinh, phép sắc ký lỏng hiệu suất cao pha ngược điều chế, phép sắc ký cột, phép sắc ký lớp mỏng điều chế, và tương tự.

Khi hợp chất theo sáng chế có các chất đồng phân như các chất đồng phân quang, chất đồng phân lập thể, chất đồng phân vị trí, chất đồng phân quay, chất đồng phân bất kỳ và hỗn hợp của chúng là được bao hàm trong phạm vi hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, khi hợp chất có chất đồng phân quang, chất đồng phân quang được tách từ hỗn hợp raxemic cũng bao hàm trong phạm vi hợp chất theo sáng chế. Mỗi trong số các chất đồng phân này có thể thu được dưới dạng hợp chất duy nhất theo phương pháp tổng hợp và tách đã biết (ví dụ, cô, chiết dung môi, phép sắc ký cột, tái kết tinh, v.v.).

Theo sáng chế, nguyên tử cacbon liên kết với phần tử thể B trong công thức (I) là cacbon không đối xứng; vì thế, hợp chất này có các chất đồng phân. Như thể hiện ở trên, trừ khi có quy định khác, hợp chất theo sáng chế bao gồm tất cả các chất đồng phân quang và hỗn hợp của chúng. Hợp chất theo sáng chế có thể là hỗn hợp bao gồm các chất đồng phân quang R và S. Hỗn hợp này có thể là hỗn hợp bao gồm 90% hoặc nhiều hơn, 95% hoặc nhiều hơn, hoặc 99% hoặc nhiều hơn chất đồng phân quang R, hoặc hỗn hợp bao gồm 90% hoặc nhiều hơn, 95% hoặc nhiều hơn, hoặc 99% hoặc nhiều hơn chất đồng phân quang S.

Các phương pháp phân giải bất đối bao gồm, ví dụ: phương pháp đồng phân lập thể làm cho chất phân giải bất đối tác động lên hợp chất theo sáng chế để tạo thành muối, và phân giải một trong số các chất đồng phân quang bằng cách sử dụng sự khác

biệt về tính tan v.v., của muối thu được; phương pháp kết tinh ưu tiên là bổ sung một trong số chất đồng phân quang vào dung dịch raxemat quá bão hoà làm mầm kết tinh; và phép sắc ký cột như HPLC sử dụng cột bất đối. Chất phân giải bất đối mà có thể được sử dụng trong phương pháp đồng phân lập thể có thể được chọn một cách thích hợp từ, ví dụ, chất phân giải có tính axit như axit tartaric, axit malic, axit lactic, axit mandelic, axit 10-camphorsulfonic và các dẫn xuất của chúng; và các chất phân giải có tính bazơ như bruxin, strychnin, quinin, và các hợp chất alkaloit tương tự, các dẫn xuất axit amin, xinchonidin, và α -metylbenzylamin. Ngoài ra, một trong số các chất đồng phân quang của hợp chất theo sáng chế riêng rẽ có thể thu được không chỉ bằng cách tạo thành hợp chất theo sáng chế dưới dạng hỗn hợp chứa một trong số các chất đồng phân quang và sau đó tiến hành các phương pháp phân giải bất đối được mô tả trên đây, mà còn thu được bằng cách phân giải bất đối theo các phương pháp được mô tả ở trên v.v., và sử dụng một chất đồng phân quang của hợp chất theo sáng chế dưới dạng chất thô tổng hợp. Ngoài ra, phương pháp để thu được một trong số các chất đồng phân quang của hợp chất theo sáng chế hoặc hợp chất thô của nó bao gồm phương pháp ưu tiên để thu được một trong số các chất đồng phân quang bằng cách điều chỉnh các điều kiện phản ứng cho chất xúc tác hoặc tương tự ở bước phản ứng tạo ra cacbon không đối xứng.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể ở dạng tinh thể. Các tinh thể đơn và hỗn hợp đa hình được bao hàm trong phạm vi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó. Các tinh thể này có thể được điều chế bằng kết tinh theo phương pháp kết tinh đã biết trong lĩnh vực này. Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có thể là solvat (ví dụ, hydrat) hoặc phi solvat. Dạng bất kỳ trong số chúng cũng được bao hàm trong phạm vi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó. Hợp chất được đánh dấu bằng chất đồng vị (ví dụ, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , và ^{125}I) cũng được bao hàm trong phạm vi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó.

Muối của hợp chất theo sáng chế hoặc chất trung gian của nó đề cập đến muối thông thường được sử dụng trong lĩnh vực hóa hữu cơ. Các ví dụ về muối này bao gồm muối cộng bazơ vào carboxy khi hợp chất có carboxy, và muối cộng axit vào amino hoặc nhóm dị vòng bazơ khi hợp chất có amino hoặc nhóm dị vòng bazơ.

Các ví dụ về muối cộng bazơ bao gồm muối kim loại kiềm như muối natri và muối kali, muối kim loại kiềm thổ như muối canxi và muối magiê, muối amoni, và muối amin hữu cơ như muối trimetylamin, muối trietylamin, muối dicyclohexylamin, muối etanolamin, muối dietanolamin, muối trietanolamin, muối procain, và muối N,N'-dibenzylethylenediamin.

Các ví dụ về muối cộng axit bao gồm muối của axit vô cơ như các hydroclorua,

sulfat, nitrat, phosphat, và perchlorat; muối của axit hữu cơ như axetat, format, maleat, fumarat, tartrat, xitrat, ascorbat, và trifloaxetat; và sulfonat như metansulfonat, isethionat, benzensulfonat, và p-toluensulfonat.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có hoạt tính ức chế EGFR tuyệt vời và hữu ích làm chất chống khối u. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có tính chọn lọc tuyệt vời đối với EGFR, và có lợi là có ít tác dụng phụ do các kinaza khác. Loại u ác tính được điều trị bằng hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó là không bị giới hạn cụ thể. Các ví dụ về u ác tính bao gồm ung thư biểu mô (ví dụ, các bệnh ung thư hệ hô hấp, các bệnh ung thư hệ tiêu hóa, các bệnh ung thư hệ sinh sản, các bệnh ung thư hệ bài tiết, và tương tự), xacôm, u tạo huyết, u hệ thần kinh trung ương, và u thần kinh ngoại vi. Các ví dụ được ưu tiên bao gồm ung thư biểu mô. Các ví dụ được ưu tiên hơn bao gồm các bệnh ung thư hệ hô hấp. Ngoài ra, cơ quan mà từ đó khối u phát triển không bị giới hạn cụ thể. Các ví dụ bao gồm ung thư đầu và cổ, ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư kết tràng, ung thư trực tràng, ung thư gan, ung thư túi mật, ung thư đường mật, ung thư đường dẫn mật, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư cổ tử cung, ung thư tử cung, ung thư thận, ung thư bàng quang, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư tinh hoàn, ung thư xương, ung thư phần mềm, ung thư máu, đa u tủy xương, ung thư da, u não, và u trung biểu mô. Tốt hơn là, bệnh ung thư mục tiêu là ung thư đầu và cổ, ung thư da dày, ung thư kết tràng, ung thư trực tràng, ung thư gan, ung thư tuyến tụy, ung thư phổi, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư thận, hoặc ung thư tuyến tiền liệt, đặc biệt tốt hơn là ung thư phổi.

Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó có hoạt tính ức chế tuyệt vời kháng EGFR đột biến. Các ví dụ về EGFR đột biến này bao gồm EGFR đột biến do dung nạp thuốc và EGFR đột biến do huyết áp cao. Vì thế, hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó hữu ích làm thuốc chống khối u để điều trị các khối u ác tính nêu trên có EGFR đột biến.

Khi hợp chất theo sáng chế hoặc muối của nó được sử dụng làm dược phẩm, có thể bổ sung chất mang dược dụng, khi cần thiết, bằng cách đó tạo thành dạng liều lượng thích hợp theo mục đích phòng và điều trị. Các ví dụ về dạng liều lượng bao gồm chế phẩm dùng đường miệng, tiêm, thuốc đạn, thuốc mỡ, miếng dán, và tương tự. Trong số này, chế phẩm dùng đường miệng được ưu tiên. Các dạng liều lượng có thể được hình thành bằng các phương pháp thông thường đã biết với những người có trình độ trong lĩnh vực này.

Ở dạng chất mang dược dụng, các chất mang hữu cơ hoặc vô cơ thường được sử dụng làm nguyên liệu bào chế có thể được kết hợp ở dạng tá dược, chất kết dính, chất gây rã, chất làm trơn, chất tạo màu cho các chế phẩm rắn; hoặc ở dạng dung môi,

chất hòa tan, chất tạo huyền phù, chất đẳng trương, chất đệm và chất làm dịu cho các chế phẩm lỏng. Hơn nữa, các phụ gia điều chế như chất bảo quản, như chất khử trùng, chất chống oxy hóa, chất tạo màu, chất tạo ngọt và chất ổn định có thể được sử dụng nếu cần.

Các chế phẩm rắn dùng đường miệng được bào chế như sau. Sau khi tùy ý bổ sung tá dược vào hợp chất theo sáng chế bằng chất kết dính, chất gây rắn, chất làm trơn, chất tạo màu, chất tạo vị hoặc tạo mùi thơm, v.v., hỗn hợp thu được được bào chế thành viên nén, viên nén phủ, hạt, bột, viên nang, hoặc tương tự bằng phương pháp thông thường.

Ví dụ về tá dược bao gồm lactoza, sucroza, D-manitol, glucoza, tinh bột, canxi cacbonat, kaolin, xenluloza tinh thể, axit silixic khan nhẹ. Ví dụ về chất kết dính bao gồm nước, etanol, 1-propanol, 2-propanol, sirô, glucoza lỏng, tinh bột α lỏng, gelatin lỏng, D-mannitol, carboxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, tinh bột hydroxypropyl, metyl xenluloza, etyl xenluloza, senlac, canxi phosphat, polyvinylpyrrolidon, và tương tự. Các ví dụ về chất gây rắn bao gồm tinh bột khô, natri alginat, thạch trắng bột, natri hydro cacbonat, canxi cacbonat, natri lauryl sulfat, monoglyxerit của axit stearic, lactoza, và tương tự. Các ví dụ về chất làm trơn bao gồm đá tan tinh khiết, muối natri của axit stearic, magiê stearat, borax, polyetylen glycol, và tương tự. Các ví dụ về chất tạo màu bao gồm oxit titan, oxit sắt, và tương tự. Các ví dụ về chất tạo vị hoặc mùi thơm bao gồm sucroza, vỏ cam đắng, axit xitric, axit tartaric, và tương tự.

Khi chế phẩm lỏng dùng đường miệng được bào chế, có thể bổ sung chất tạo vị, chất đệm, chất ổn định, chất tạo mùi thơm, và tương tự vào hợp chất theo sáng chế; và hỗn hợp thu được có thể được bào chế thành chế phẩm lỏng dùng đường miệng, sirô, cồn ngọt, v.v., theo phương pháp thông thường.

Trong trường hợp này, chất tạo vị hoặc mùi thơm giống như những chất nêu trên có thể được sử dụng. Ví dụ về chất đệm là natri xitrat, và các ví dụ chất ổn định bao gồm tragacan, gôm arabic, và gelatin. Khi cần thiết, chế phẩm dùng đường miệng này có thể được phủ theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực bằng lớp phủ tan trong ruột hoặc lớp phủ khác vì mục đích, ví dụ, duy trì hiệu quả. Các ví dụ về các chất phủ này bao gồm hydroxypropyl metylxenluloza, etyl xenluloza, hydroxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, polyoxyethylene glycol, và Tween 80 (nhãn hiệu).

Khi thuốc tiêm được bào chế, có thể bổ sung chất điều chỉnh độ pH, chất đệm, chất ổn định, chất đẳng trương, chất gây mê cục bộ, và tương tự, vào hợp chất theo sáng chế; và hỗn hợp có thể được bào chế thành thuốc tiêm dưới da, trong cơ hoặc trong tĩnh

mạch theo phương pháp thông thường.

Các ví dụ về chất điều chỉnh độ pH và chất đệm được sử dụng ở đây bao gồm natri xitrat, natri axetat, và natri phosphat. Các ví dụ về chất ổn định bao gồm natri pyrosulfit, EDTA, axit thioglycolic, và axit thiolactic. Các ví dụ về chất gây mê cục bộ bao gồm procain hydroclorua và lidocain hydroclorua. Các ví dụ về chất làm trương bao gồm natri clorua, dextroza, D-manitol, và glyxerol.

Khi bào chế thuốc đạn, có thể bổ sung chất mang được dụng đã biết trong lĩnh vực như polyetylen glycol, lanolin, chất đệm cacao, và triglyxerit của axit béo và khi cần thiết, chất hoạt động bề mặt như Tween 80 (nhãn hiệu), vào hợp chất theo sáng chế, và hỗn hợp thu được có thể được bào chế thành thuốc đạn theo phương pháp thông thường.

Khi bào chế thuốc mỡ, có thể trộn chất nền, chất ổn định, chất làm ướt, chất bảo quản được sử dụng thông thường và tương tự, vào hợp chất theo sáng chế, khi cần thiết; và hỗn hợp thu được có thể được trộn và bào chế thành thuốc mỡ theo phương pháp thông thường.

Các ví dụ về bazơ bao gồm paraffin lỏng, mỡ dầu hoả trắng, sáp ong trắng, rượu octyl dodexyl, và paraffin.

Các ví dụ về chất bảo quản bao gồm methyl paraoxybenzoat, etyl paraoxybenzoat, và propyl paraoxybenzoat.

Khi điều chế cao dán, có thể sử dụng thuốc mỡ, kem, gel, bột nhão, hoặc tương tự, vào chất nền thông thường theo phương pháp thông thường.

Ở dạng chất nền, vải len hoặc vải không pha len bao gồm bông, sợi bông, hoặc sợi hóa học và màng phim hoặc tấm bột vinyl clorua mềm, polyetylen, polyuretan, v.v., là phù hợp.

Lượng hợp chất theo sáng chế được đưa vào mỗi dạng đơn vị định liều phụ thuộc vào tình trạng bệnh nhân mà sử dụng hợp chất, dạng định liều của nó, v.v.. Thông thường, trong trường hợp thuốc dùng qua đường miệng, lượng hợp chất là từ 0,05 đến 1000mg trên mỗi dạng đơn vị định liều. Trong trường hợp thuốc tiêm, lượng hợp chất là từ 0,01 đến 500mg trên mỗi dạng đơn vị định liều; và trong trường hợp thuốc đạn, lượng hợp chất là từ 1 đến 1000mg trên mỗi dạng đơn vị định liều.

Liều thuốc dùng hàng ngày ở dạng định liều này phụ thuộc vào tình trạng bệnh, thể trọng, độ tuổi, giới tính, v.v., của bệnh nhân, và không thể được tổng quát hóa. Ví dụ, liều dùng hàng ngày cho người lớn (thể trọng: 50 kg) thường là từ 0,05 đến 5,000mg, và tốt hơn là 0,1 đến 1,000mg; và tốt hơn là được sử dụng ở một liều, hoặc hai hoặc ba

liều chia ra, mỗi ngày.

Các ví dụ về động vật có vú mà hợp chất theo sáng chế được sử dụng bao gồm người, khỉ, chuột, chuột nhắt, thỏ, chó, mèo, bò, ngựa, lợn, và cừu.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả cụ thể hơn dưới đây bằng các ví dụ, tuy nhiên, sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Trong phần các ví dụ, các chất phản ứng có bán sẵn được sử dụng, trừ phi được quy định khác. Purif-Pack® SI, do Moritex Corp. sản xuất (do Shoko Scientific Co., Ltd. sản xuất); cột KP-Sil® Silica đóng gói sẵn, do Biotage sản xuất; cột HP-Sil(r) Silica đóng gói sẵn, do Biotage sản xuất, hoặc cột HP-Sphere® Silica đóng gói sẵn, do Biotage sản xuất, được sử dụng cho sắc ký cột silica gel. Purif-Pack® NH, do Moritex Corp. sản xuất (do Shoko Scientific Co., Ltd. sản xuất); hoặc cột KP-NH® đóng gói sẵn, do Biotage sản xuất, được sử dụng cho sắc ký cột silica gel bazơ. Kieselgel TM 60F254, Art. 5744, do Merck sản xuất, hoặc NH₂ Silica Gel 60F254 Plat, do Wako sản xuất, được sử dụng cho phép sắc ký lớp mỏng điều chế. Phổ NMR được đo bằng cách sử dụng AL400 (400 MHz; do JEOL sản xuất), hoặc máy đo phổ Mercury 400 (400 MHz; do Agilent Technologies, Inc. sản xuất). Khi dung môi đotori hóa chứa tetrametylsilan, tetrametylsilan được sử dụng ở dạng tham chiếu nội bộ. Một cách khác, dung môi NMR được sử dụng làm tham chiếu nội bộ. Tất cả các trị số δ được thể hiện bằng ppm. Phản ứng vi sóng được thực hiện sử dụng chất khơi mào, do Biotage sản xuất.

Ngoài ra, phổ LCMS được đo sử dụng Acquity SQD (mạch bốn cực), do Waters Corporation sản xuất, theo các điều kiện dưới đây.

Cột: Acquity UPLC® BEH C18, 2,1 X 50mm, 1,7 μ m, do Waters Corporation sản xuất

Dò MS: ESI dương

Dò UV: 254 và 210 nm

Tốc độ dòng chảy cột: 0,5ml/phút

Pha động: Nước/acetonitril (0,1% axit formic)

Thể tích tiêm: 1 μ l

Gradient (Bảng 1)

Thời gian (phút)	Nước	Axetonitril
0	95	5
0,1	95	5
2,1	5	95
3,0	STOP.	

Việc tinh chế HPLC điều chế pha ngược được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống tách điều chế có bán sẵn từ Gilson.

Cột: CombiPrep Pro C18, 50 X 30mm I.D., S-5 μ m (do YMC sản xuất).

Dò UV : 254 nm

Tốc độ dòng chảy cột: 40ml/phút

Pha động: Nước/axetonitril (0,1% axit trifloaxetic)

Thể tích tiêm: 0,1 đến 1ml.

Mỗi biểu tượng được thể hiện như dưới đây.

s: vạch đơn

d: vạch đôi

t: vạch ba

q: vạch bốn

dd: vạch đôi đúp

dt: vạch ba đúp

ddd: vạch đôi đúp hai lần

m: vạch bội

brs: dải rộng

DMSO-d₆: dimetyl sulfoxit đơteri hóa

CDCl₃: cloform đơteri hóa

CD₃OD: metanol đơteri hóa

THF: Tetrahydrofuran

DMF: N,N-dimetylformamit

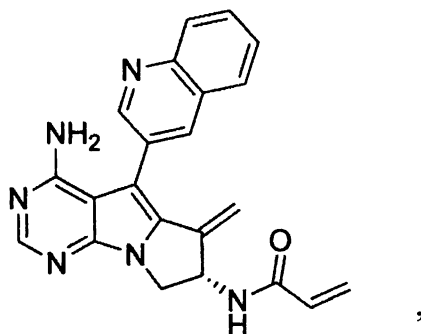
DME: 1,2-Dimetoxietan

DMSO: Dimetylsulfoxit

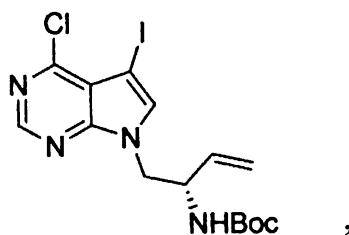
HATU: O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphat

Ví dụ 1

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 1)



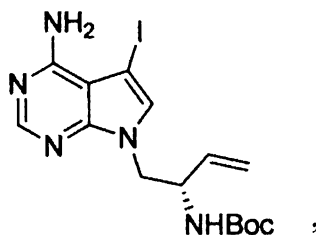
Bước 1: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrololo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamát



Bổ sung từ từ diisopropyl azodicarboxylat (2,44ml) vào dung dịch chứa triphenylphosphin (13,1g) trong THF (70ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 1 giờ, và sau đó dung dịch (S)-tert-butyl (1-hydroxybut-3-en-2-yl)carbamát (7,0g) được tổng hợp theo phương pháp được mô tả trong tài liệu NPD Org. Lett., 2005, vol. 7, No. 5, pp. 847-849 và bổ sung từ từ 4-clo-5-iodo-7H-pyrololo[2,3-d]pyrimidin (6,97g) trong THF (35ml) vào đó. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (20,84g) ở dạng chất dầu màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 448, 450 $[M+H]^+$.

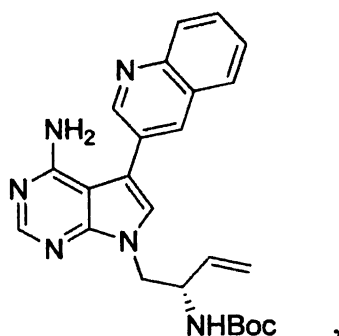
Bước 2: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-amino-5-iodo-7H-pyrololo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamát



Bổ sung dung dịch amonia-metanol 8N (89,4ml) vào (S)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (20,84g) thu được ở bước 1, và khuấy hỗn hợp trong nồi hấp ở 120°C trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng nước đá, và lọc dung môi dưới áp suất giảm. Sau khi pha loãng chất cặn thu được bằng một lượng nhỏ metanol, chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng metanol lạnh (11ml), và sau đó được làm khô dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,28g) ở dạng chất rắn màu trắng sữa.

ESI-MS m/z 430 $[M+H]^+$.

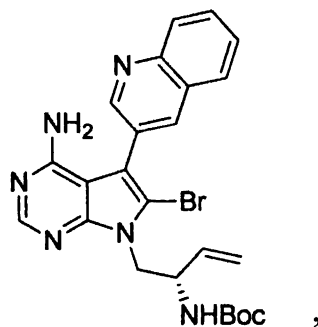
Bước 3: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate



Khuấy hỗn hợp bao gồm (S)-tert-butyl (1-(4-amino-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (8,26g) thu được ở bước 2, axit 3-quinolinboronic (4,99g), xesi cacbonat (12,54g), 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxenpaladi(II)diclorua (785,6mg), DME (66ml), và nước (33ml) dưới khí quyển nitơ ở 100°C trong 2 giờ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng, bổ sung nước và etyl axetat vào đó để tách lớp hữu cơ. Sau đó lớp nước được chiết hai lần bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng magiê sulfat khan, và lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat, etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,0g) ở dạng chất rắn màu cam nhạt.

ESI-MS m/z 431 $[M+H]^+$.

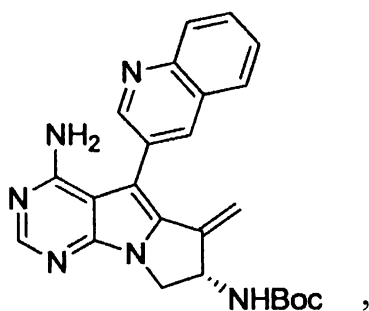
Bước 4: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate



Bổ sung N-bromosuccinimide (3,63g) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl (1-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (7,98g) thu được ở bước 3 trong DMF (64ml) ở -15°C , và hỗn hợp được khuấy ở -15°C trong 1 giờ. Bổ sung dung dịch nước natri thiosulfat 10% và ethyl axetat vào hỗn hợp phản ứng, và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Tách lớp hữu cơ, và lớp nước được chiết hai lần bằng ethyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được rửa hai lần bằng dung dịch natri clorua bão hòa, và được làm khô bằng magiê sulfat khan. Lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: ethyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (6,30g) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 509, 511 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$.

Bước 5: Tổng hợp (S)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)carbamate



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 4N (28,8ml) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (5,00g) thu được ở bước 4 trong THF (100ml), và hỗn hợp được khử khí dưới áp suất giảm, sau đó khử khí nitơ. Sau khi bổ sung tetrakis(triphenylphosphin)paladi (1,13g), hỗn hợp được khuấy qua đêm trong khi gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, chiết bằng ethyl axetat, và lớp hữu cơ thu được được rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa và được làm khô bằng natri sulfat khan. Sau khi lọc và cô, chất cặn thu

được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng (5,01g).

ESI-MS m/z 429 $[M+H]^+$.

Bước 6: Tổng hợp hợp chất 1

Bổ sung dung dịch hydro clorua - dioxan 4N (1ml) và metanol (1ml) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)carbamate (100mg) thu được ở bước 5 trong cloform (1ml), và hỗn hợp được khuấy trong 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-4,7-diamin hydroclorua.

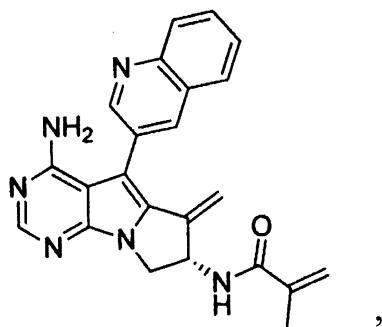
Bổ sung diisopropyletylamin (0,187ml) vào dung dịch (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-4,7-diamin hydroclorua trong cloform (4ml), và bổ sung 100mg/ml dung dịch acryloyl clorua trong cloform (0,19ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp được khuấy trong 40 phút. Hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol); sau khi cô, chất cặn thu được được tạo huyền phù và rửa trong etyl axetat/hexan. Chất rắn thu được bằng cách lọc và được làm khô dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (49mg) ở dạng chất rắn màu xanh lá cây nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 3,88-3,93 (1H, m), 4,57-4,63 (1H, m), 5,03 (1H, d, $J=2,4\text{Hz}$), 5,24 (1H, d, $J=2,4\text{Hz}$), 5,55-5,62 (1H, m), 5,68 (1H, dd, $J=10,0, 2,4\text{Hz}$), 6,12-6,38 (4H, m), 7,65 (1H, dd, $J=7,8, 7,8\text{Hz}$), 7,77-7,83 (1H, m), 8,04-8,11 (2H, m), 8,15 (1H, s), 8,41 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$), 8,82 (1H, d, $J=7,8\text{Hz}$), 8,98 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 383 $[M+H]^+$.

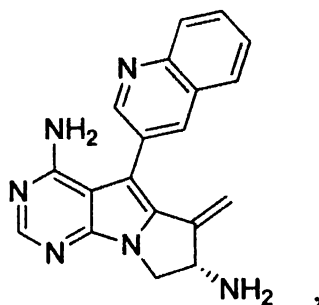
Ví dụ 2

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)metacrylamit (Hợp chất 2)



Bước 1: Tổng hợp (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-

b]pyrolizin-4,7-diamin



Bổ sung axit clohydric 5N (12ml) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)carbamate (5,01g) thu được ở bước 5 của ví dụ 1 trong etanol (25ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ bên ngoài từ 70 đến 80°C. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được rửa bằng cloform, và lớp nước được điều chỉnh đến khoảng độ pH 10 sử dụng dung dịch natri hydroxit 5N nước, sau đó chiết bằng cloform. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel bazơ (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,10g) ở dạng chất rắn màu vàng.

ESI-MS m/z 329 $[M+H]^+$.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 2

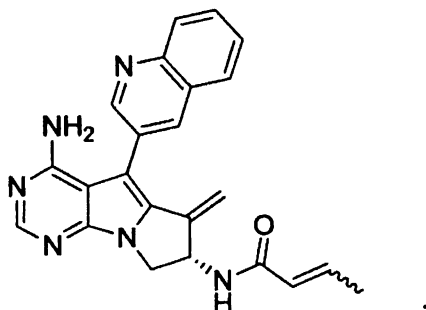
Bổ sung liên tiếp diisopropyletylamin (0,0318ml) và metacryloyl clorua (0,0148ml) vào dung dịch chứa (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-4,7-diamin (50,0mg) thu được ở bước 1 trong axetonitril (2,0ml) và nước (2,0ml) ở 0°C, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 45 phút ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, sau đó chiết bằng cloform. Sau khi lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (38,0mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,02 (3H, s), 4,03 (1H, dd, $J=11,6, 4,9\text{Hz}$), 4,70 (1H, dd, $J=11,6, 8,2\text{Hz}$), 5,20-5,22 (3H, m), 5,44 (2H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,73-5,75 (1H, m), 5,82 (1H, s), 6,89 (1H, d, $J=7,6\text{Hz}$), 7,61-7,65 (1H, m), 7,76-7,80 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,15 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,21-8,25 (2H, m), 9,06 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 397 $[M+H]^+$.

Ví dụ 3

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-enamit (hỗn hợp bao gồm E và Z) (Hợp chất 3)



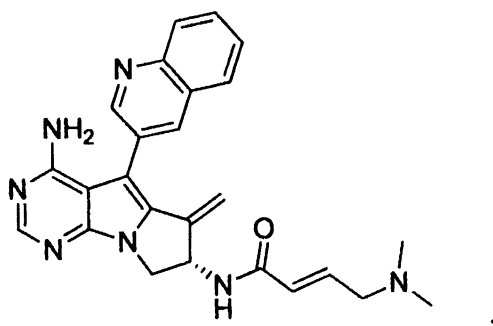
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 2 của ví dụ 2 sử dụng crotonoyl clorua thay cho metacryloyl clorua được sử dụng ở bước 2 của ví dụ 2, bằng cách đó thu được hỗn hợp nêu ở đề mục (8,8mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,83-1,90 (3H, m), 4,01 (1H, dd, $J=11,6, 5,2\text{Hz}$), 4,73 (1H, dd, $J=11,6, 8,2\text{Hz}$), 5,00 (2H, s), 5,19 (1H, d, $J=1,5\text{Hz}$), 5,44 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 5,75-5,77 (1H, m), 5,87-5,91 (1H, m), 6,27 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 6,92-7,01 (1H, m), 7,62-7,66 (1H, m), 7,78-7,82 (1H, m), 7,88 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$), 8,18 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,28-8,29 (2H, m), 9,08 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 397 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 4

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(dimetylamino)but-2-enamit (Hợp chất 4)



Bổ sung liên tiếp hydroclorua của axit (E)-4-(dimetylamino)but-2-enoic (60,6mg), HATU (139mg), diisopropyletylamin (0,106ml), và DMF (1,0ml) vào hỗn

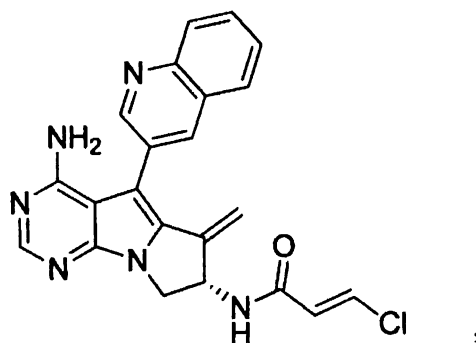
dịch chứa (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolidin-4,7-diamin (100mg) thu được ở bước 1 của ví dụ 2 trong metylen clorua (3,0ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 1,5 giờ ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà, sau đó chiết bằng etyl axetat. Sau khi lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (114mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,23 (6H, s), 3,07 (2H, dd, $J=6,0, 1,3\text{Hz}$), 4,01 (1H, dd, $J=11,6, 5,0\text{Hz}$), 4,70 (1H, dd, $J=11,6, 8,2\text{Hz}$), 5,09 (2H, brs), 5,20 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 5,43 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 5,73-5,79 (1H, m), 6,07 (1H, dt, $J=15,4, 1,3\text{Hz}$), 6,72 (1H, brs), 6,94 (1H, dt, $J=15,4, 6,0\text{Hz}$), 7,61-7,65 (1H, m), 7,77-7,81 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,16 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,25-8,26 (2H, m), 9,05 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 440 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 5

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 5)



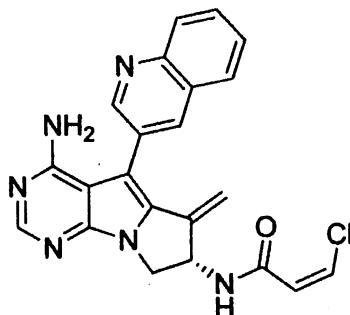
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng axit trans-3-cloacrylic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimetylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (49,2mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 4,04 (1H, dd, $J=11,7, 4,6\text{Hz}$), 4,69 (1H, dd, $J=11,7, 8,0\text{Hz}$), 5,03 (2H, s), 5,22 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,44 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,72-5,75 (1H, m), 6,34 (1H, d, $J=13,0\text{Hz}$), 6,89 (1H, brs), 7,41 (1H, d, $J=13,0\text{Hz}$), 7,63-7,65 (1H, m), 7,79-7,81 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,16 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,25-8,26 (2H, m), 9,02 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 417, 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 6

(S,Z)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit (Hợp chất 6)



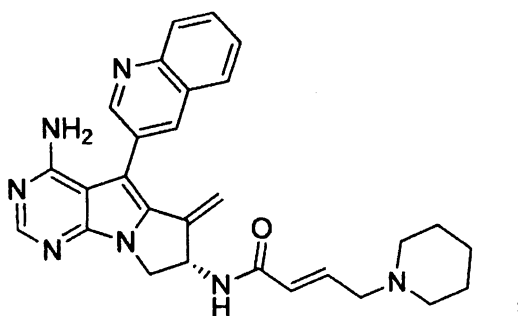
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng axit cis-3-cloacrylic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (74,7mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 4,07 (1H, dd, $J=11,6$, 5,4Hz), 4,82 (1H, dd, $J=11,6$, 8,2Hz), 4,96 (2H, s), 5,26 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 5,48 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 5,75-5,78 (1H, m), 6,28 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 6,61 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 6,81 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$), 7,64-7,67 (1H, m), 7,79-7,83 (1H, m), 7,90 (1H, d, $J=7,1\text{Hz}$), 8,19 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,31 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,33 (1H, s), 9,12 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 417, 419 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 7

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-4-(piperidin-1-yl)but-2-enamit (Hợp chất 7)



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng hydroclorua của axit (E)-4-(piperidin-1-yl)but-2-enoic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (122mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

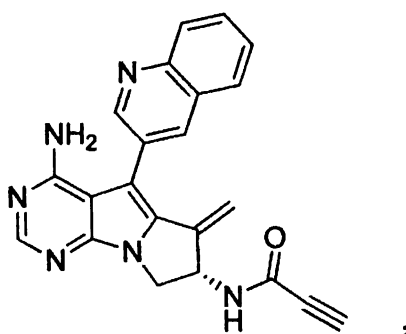
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,42-1,59 (5H, m), 2,14 (1H, s), 2,39 (4H, brs), 3,10 (2H, dd, $J=6,0$, -49-

1,4Hz), 4,01 (1H, dd, $J=11,6, 5,0\text{Hz}$), 4,69 (1H, dd, $J=11,5, 8,0\text{Hz}$), 5,10 (2H, brs), 5,20 (1H, d, $J=2,1\text{Hz}$), 5,43 (1H, d, $J=2,1\text{Hz}$), 5,73-5,79 (1H, m), 6,06 (1H, dt, $J=15,3, 1,4\text{Hz}$), 6,76 (1H, brs), 6,96 (1H, dt, $J=15,3, 6,0\text{Hz}$), 7,62-7,64 (1H, m), 7,77-7,80 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,16 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,24-8,25 (2H, m), 9,04 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 480 $[M+H]^+$.

Ví dụ 8

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)propiolamit (Hợp chất 8)



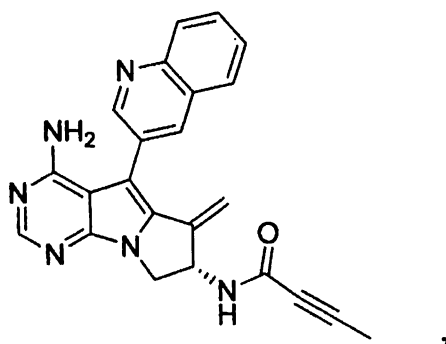
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng axit propiolic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimetylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (30,0mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,91 (1H, s), 4,08 (1H, dd, $J=11,7, 4,9\text{Hz}$), 4,76 (1H, dd, $J=11,7, 8,0\text{Hz}$), 4,91 (2H, s), 5,24 (1H, d, $J=1,2\text{Hz}$), 5,49 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,68-5,69 (1H, m), 6,34-6,37 (1H, m), 7,65-7,67 (1H, m), 7,81-7,83 (1H, m), 7,90 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,20 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,30 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,34 (1H, s), 9,11 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 381 $[M+H]^+$.

Ví dụ 9

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-ynamit (Hợp chất 9)



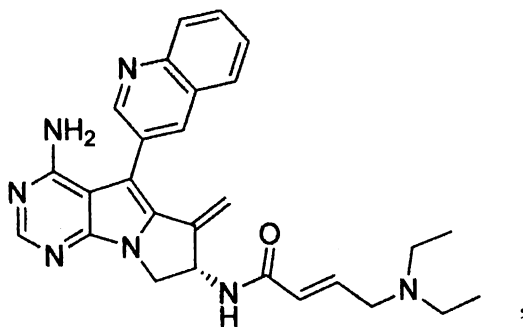
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng axit but-2-ynoic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (98,0mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,96 (3H, s), 4,02 (1H, dd, $J=11,6$, 5,0Hz), 4,70 (1H, dd, $J=11,6$, 8,3Hz), 5,05 (2H, s), 5,24 (1H, d, $J=1,6$ Hz), 5,45 (1H, d, $J=1,6$ Hz), 5,70-5,72 (1H, m), 6,95-7,01 (1H, brs), 7,63-7,67 (1H, m), 7,78-7,83 (1H, m), 7,88 (1H, d, $J=8,3$ Hz), 8,21 (1H, d, $J=8,5$ Hz), 8,26-8,28 (2H, m), 9,02 (1H, d, $J=2,0$ Hz).

ESI-MS m/z 395 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 10

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-4-(diethylamino)but-2-enamit (Hợp chất 10)



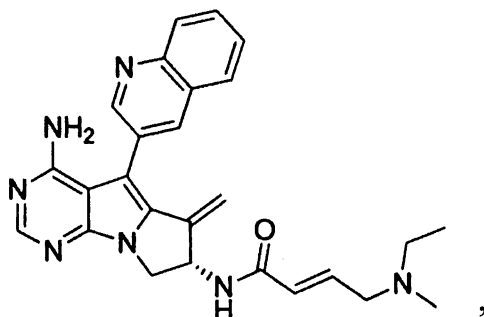
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng hydroclorua của axit (E)-4-(diethylamino)but-2-enoic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (38,2mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,00 (6H, t, $J=7,2$ Hz), 2,51 (4H, q, $J=7,2$ Hz), 3,22 (2H, dd, $J=5,9$, 1,5Hz), 4,00 (1H, dd, $J=11,5$, 4,9Hz), 4,62 (1H, dd, $J=11,5$, 8,2Hz), 5,22-5,24 (3H, m), 5,40 (1H, d, $J=2,0$ Hz), 5,74-5,80 (1H, m), 6,12 (1H, dt, $J=15,4$, 1,5Hz), 6,98 (1H, dt, $J=15,4$, 5,9Hz), 7,50 (1H, brs), 7,58-7,62 (1H, m), 7,74-7,78 (1H, m), 7,84 (1H, d, $J=7,6$ Hz), 8,12-8,14 (2H, m), 8,22 (1H, d, $J=1,7$ Hz), 8,99 (1H, d, $J=2,0$ Hz).

ESI-MS m/z 468 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 11

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-4-(etyl(metyl)amino)but-2-enamit (Hợp chất 11)



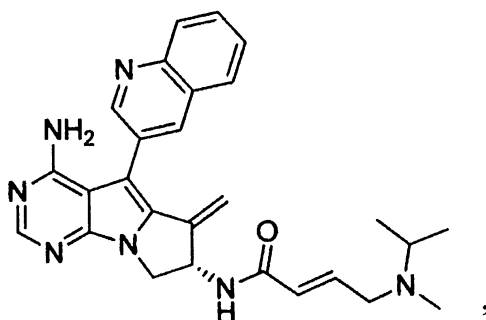
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng hydroclorua của axit (E)-4-(etyl(metyl)amino)but-2-enoic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (13,5mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,06 (3H, t, $J=7,2\text{Hz}$), 2,24 (3H, s), 2,44 (2H, q, $J=7,2\text{Hz}$), 3,15 (2H, dd, $J=6,0, 1,6\text{Hz}$), 4,03 (1H, dd, $J=11,6, 5,1\text{Hz}$), 4,73 (1H, dd, $J=11,6, 8,2\text{Hz}$), 5,01 (2H, s), 5,20 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,44 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,75-5,77 (1H, m), 6,05 (1H, dt, $J=15,4, 1,6\text{Hz}$), 6,42 (1H, d, $J=6,8\text{Hz}$), 6,96 (1H, dt, $J=15,4, 6,0\text{Hz}$), 7,62-7,66 (1H, m), 7,78-7,82 (1H, m), 7,88 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,18 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,29 (2H, s), 9,08 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 454 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 12

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)-4-(isopropyl(metyl)amino)but-2-enamit (Hợp chất 12)



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 4 sử dụng hydroclorua của axit (E)-4-(isopropyl(metyl)amino)but-2-enoic thay cho hydroclorua của axit (E)-4-(dimethylamino)but-2-enoic được sử dụng ở ví dụ 4, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (25,8mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

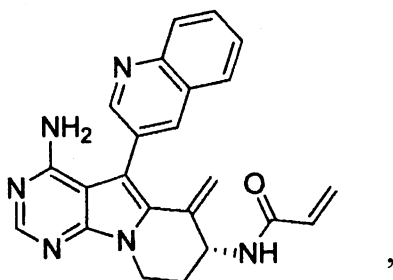
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,00 (6H, d, $J=6,6\text{Hz}$), 2,15-2,36 (3H, m), 2,79-2,88 (1H, m), 3,18 (2H, dd, $J=5,9, 1,5\text{Hz}$), 4,01 (1H, dd, $J=11,5, 5,0\text{Hz}$), 4,70 (1H, dd, $J=11,5, 8,0\text{Hz}$), 5,11

(2H, s), 5,21 (1H, d, $J=1,8\text{Hz}$), 5,43 (1H, d, $J=1,8\text{Hz}$), 5,73-5,79 (1H, m), 6,10 (1H, dt, $J=15,4, 1,5\text{Hz}$), 6,74 (1H, brs), 6,94 (1H, dt, $J=15,4, 5,9\text{Hz}$), 7,61-7,65 (1H, m), 7,77-7,81 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,16 (1H, d, $J=8,8\text{Hz}$), 8,23-8,26 (2H, m), 9,05 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

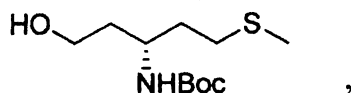
ESI-MS m/z 468 $[M+H]^+$.

Ví dụ 13

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 13)

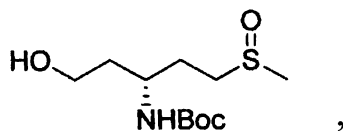


Bước 1: Tổng hợp (R)-tert-butyl (1-hydroxy-5-(methylthio)pentan-3-yl)carbamate



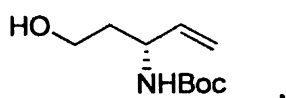
Bổ sung N-metylmorpholin (3,63ml) và etyl cloformate (3,01ml) vào dung dịch axit (R)-3-((tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(methylthio)pentanoic (7,92g) trong THF (79,2ml) ở -10°C . Sau khi khuấy ở -10°C trong 15 phút, chất không tan sinh ra được lọc. Bổ sung dung dịch nước natri borohydrua (1,55g) (15ml) vào chất lọc ở -10°C , và hỗn hợp được khuấy ở -10°C trong 1 giờ. Bổ sung dung dịch amoni clorua nước bão hoà vào hỗn hợp phản ứng, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Bổ sung etyl axetat vào hỗn hợp phản ứng để tách lớp hữu cơ. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước kali hydro sulfat 0,5N, nước, dung dịch nước natri hydroxit 0,5N, và dung dịch natri clorua bão hoà, và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: cloform/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục chất có dầu màu vàng nhạt (7,18g).

Bước 2: Tổng hợp tert-butyl ((3R)-1-hydroxy-5-(methylsulfinyl)pentan-3-yl)carbamate



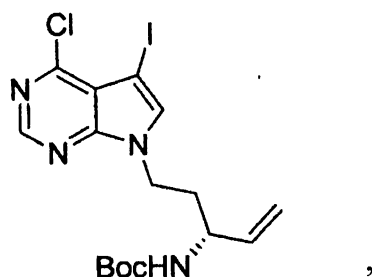
Bổ sung hỗn dịch natri periodat (7,0g) trong nước (32ml) vào dung dịch chứa (R)-tert-butyl (1-hydroxy-5-(methylthio)pentan-3-yl)carbamate (8,16g) thu được ở bước 1 trong metanol (98ml) ở nhiệt độ 10°C hoặc thấp hơn, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất không tan sinh ra được lọc, và chất lọc được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được hoà tan trong dung dịch natri clorua bão hoà, sau đó chiết bằng cloform 3 lần. Lỏng hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, và lọc dung môi dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (9,38g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Bước 3: Tổng hợp (R)-tert-butyl (5-hydroxypent-1-en-3-yl)carbamate



Bổ sung natri axetat (13,45g) vào dung dịch chứa tert-butyl ((3R)-1-hydroxy-5-(methylsulfinyl)pentan-3-yl)carbamate (9,38g) thu được ở bước 2 trong 1,2-diclobenzen (140ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ bên ngoài 166°C trong 18 giờ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng, chất không tan được lọc, và 1,2-diclobenzen được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được hoà tan trong etyl axetat, được rửa bằng dung dịch natri hypoclorit nước, nước, và dung dịch natri clorua bão hoà, và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,50g) chất có dầu màu vàng nhạt.

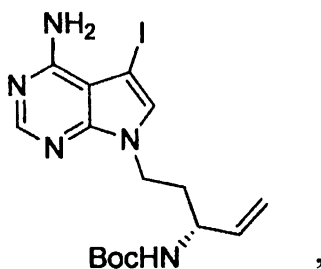
Bước 4: Tổng hợp (R)-tert-butyl (5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate



Bổ sung triphenylphosphin (3,25g) và hoà tan trong dung dịch (R)-tert-butyl (5-hydroxypent-1-en-3-yl)carbamate (2,5g) thu được ở bước 3 và 4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin (2,31g) trong DME (23ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá. Sau đó, bổ sung từ từ diisopropyl azodicarboxylate (2,44ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 30 phút, và ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, và dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được hoà tan trong ethyl axetat, rửa bằng nước, và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/ethyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,49g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 463, 465 $[M+H]^+$.

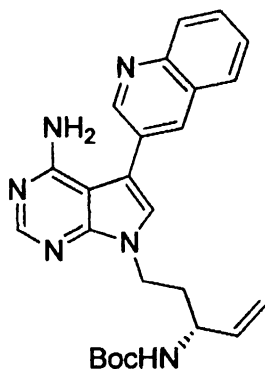
Bước 5: Tổng hợp (R)-tert-butyl (5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate



Bổ sung amonia nước 28% (17,5ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate (3,49g) thu được ở bước 4 trong DME (17,5ml), và khuấy hỗn hợp trong nồi hấp ở nhiệt độ bên ngoài 105°C trong 8 giờ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng, bổ sung nước (70ml), và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Chất kết tủa thu được bằng cách lọc, rửa bằng nước, và làm khô, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,20g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 444 $[M+H]^+$.

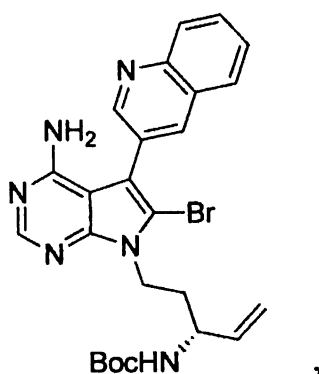
Bước 6: Tổng hợp (R)-tert-butyl (5-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate



Hỗn hợp bao gồm (R)-tert-butyl (5-(4-amino-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate (3,2g) thu được ở bước 5, axit 3-quinolinboronic (1,37g), natri cacbonat (843mg), tetrakis(triphenylphosphin)paladi (250mg), DME (32ml) và nước (32ml) được khuấy dưới khí quyển nitơ ở 100°C trong 6 giờ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng, bổ sung dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa và etyl axetat. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi lọc chất không tan, tách lớp hữu cơ và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat, etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,21g) ở dạng chất rắn màu cam nhạt.

ESI-MS m/z 445 $[M+H]^+$.

Bước 7: Tổng hợp (R)-tert-butyl (5-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate

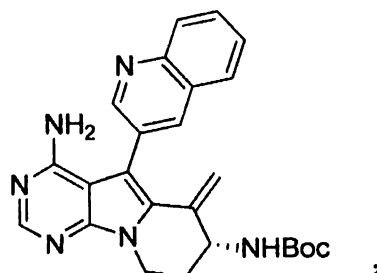


Bổ sung dung dịch N-bromosuccinimide (1,35g) trong THF (23ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (5-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate (3,21g) thu được ở bước 6 trong THF (26ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá hơn 30 phút. Hỗn hợp được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 30 phút. Sau khi bổ sung dung dịch natri thiosulfat nước 5% vào hỗn hợp phản ứng, hỗn hợp được rót vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, sau đó chiết bằng etyl

axetat. Lóp hữu cơ được rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat, etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,15g) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 523, 525 $[M+H]^+$.

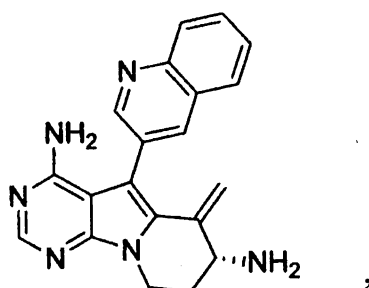
Bước 8: Tổng hợp (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)carbammat



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 4N (0,454ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (5-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbammat (475mg) thu được ở bước 7 trong THF (5ml). Sau đó, hỗn hợp được khử khí dưới áp suất giảm, sau đó khử khí nitơ. Sau khi bổ sung tetrakis(triphenylphosphin)paladi (41,6mg), hỗn hợp được khuấy qua đêm trong khi gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, rót hỗn hợp phản ứng vào nước, và chiết bằng etyl axetat. Lóp hữu cơ thu được được rửa bằng dung dịch natri clorua bão hòa, và được làm khô bằng natri sulfat khan. Sau khi lọc và cô, chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (293mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

ESI-MS m/z 443 $[M+H]^+$.

Bước 9: Tổng hợp (R)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,7-diamin



Bổ sung axit clohydric 5N (1ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)carbammat (290mg) thu được ở bước 8 trong etanol (4ml). Sau đó, hỗn hợp được khuấy trong 6 giờ ở 70°C. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến khoảng độ pH 10 sử dụng dung dịch natri hydroxit 5N nước, sau đó chiết bằng cloform. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel bazơ (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (218mg) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 343 $[M+H]^+$.

Bước 10: Tổng hợp hợp chất 13

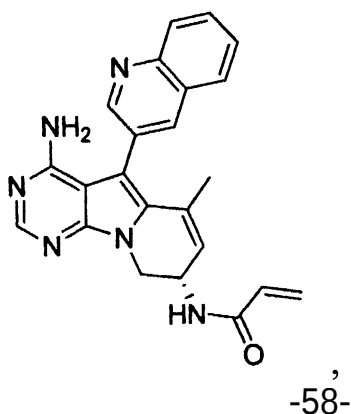
Bổ sung diisopropyletylamin (0,129ml) và dung dịch acryloyl clorua (56,1mg) trong cloform (0,5ml) vào dung dịch (R)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,7-diamin (215mg) thu được ở bước 9 trong cloform (4ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 30 phút. Sau khi hỗn hợp phản ứng được cô, chất cặn được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (117mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,28-2,41 (2H, m), 4,32-4,50 (2H, m), 4,64 (2H, brs), 4,97 (1H, s), 5,07 (1H, s), 5,05-5,12 (1H, m), 5,72 (1H, dd, $J=10,2, 1,2\text{Hz}$), 5,75-5,85 (1H, m), 6,14 (1H, dd, $J=16,8, 10,2\text{Hz}$), 6,36 (1H, dd, $J=16,8, 1,2\text{Hz}$), 7,61-7,68 (1H, m), 7,77-7,84 (1H, m), 7,87 (1H, d, $J=8,4\text{Hz}$), 8,18 (1H, d, $J=8,4\text{Hz}$), 8,27 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,33 (1H, s), 8,98 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

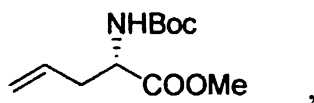
ESI-MS m/z 397 $[M+H]^+$.

Ví dụ 14

(S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 14)

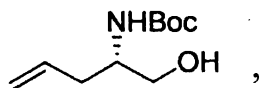


Bước 1: Tổng hợp (S)-metyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)pent-4-enoat



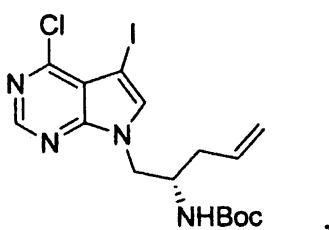
Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 5N (2,1ml) và di-tert-butyl dicarbonat (2,128ml) vào hỗn dịch chứa axit (S)-2-amino-4-pentenoic (1,016g) trong metanol (20ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 8 giờ ở cùng nhiệt độ. Bổ sung di-tert-butyl dicarbonat (0,304ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở cùng nhiệt độ. Bổ sung 4-hydroxy-1H-benzotriazol (1,796g) và 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydroclorua (3,882g) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở cùng nhiệt độ. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm, và sau đó được rót vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, sau đó chiết bằng ethyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,0311g) chất có dầu màu vàng nhạt.

Bước 2: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-hydroxypent-4-en-2-yl)carbamate



Bổ sung lithi alumini hydrua (668,2mg) vào dung dịch (S)-metyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)pent-4-enoat (1,983g) thu được ở bước 1 trong THF (50ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 1,5 giờ ở cùng nhiệt độ. Bổ sung natri sulfat decahydrat (1,1375g) và THF (10ml) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở cùng nhiệt độ. Chất không tan được lọc. Sau khi rửa bằng THF và ethyl axetat, chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/ethyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,2601g) chất có dầu màu vàng nhạt.

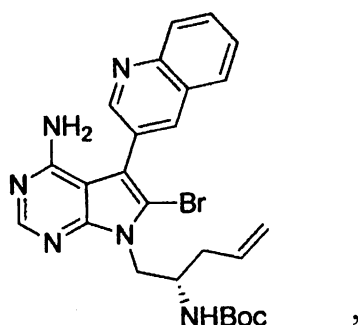
Bước 3: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-chloro-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 4 của ví dụ 13 sử dụng (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate thu được ở bước 2 thay cho (R)-tert-butyl (5-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate được sử dụng ở bước 4 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,7679g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 463, 465 $[M+H]^+$.

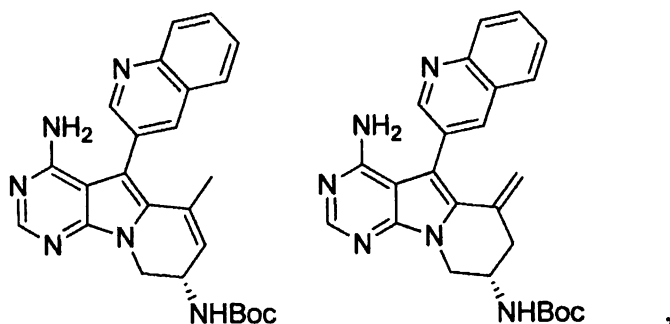
Bước 4: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các Bước từ 5 đến 7 của ví dụ 13 sử dụng (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate thu được ở bước 3 thay cho (R)-tert-butyl (5-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate được sử dụng ở bước 5 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,669g) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 523, 525 $[M+H]^+$.

Bước 5: Tổng hợp (S)-tert-butyl (4-amino-6-methyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate và (S)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate

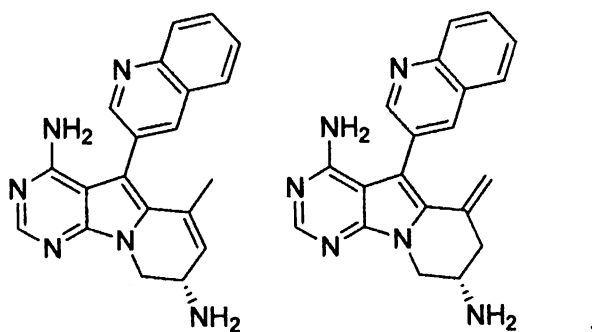


Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 4N (5,1ml) và tetrakis(triphenylphosphin)paladi (235,4mg) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate (2,669g) thu được ở bước 4 trong THF (50ml), và hỗn hợp được khử khí

dưới áp suất giảm, sau đó khử khí nito. Khuấy hỗn hợp phản ứng overnight trong khi gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà, và chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan. Sau khi lọc và cô, chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hỗn hợp chứa hợp chất nêu ở đề mục (2,427g) ở dạng chất rắn màu vàng.

ESI-MS m/z 443 $[M+H]^+$.

Bước 6: Tổng hợp (S)-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin và (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin



Bổ sung axit clohydric 5N (5,1ml) vào dung dịch hỗn hợp (2,427g) bao gồm (S)-tert-butyl (4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat và (S)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat thu được ở bước 5 trong etanol (20ml), và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở 60°C. Sau khi bổ sung thêm axit clohydric 5N (5,1ml), hỗn hợp được khuấy trong 10 giờ trong khi gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu. Sau khi hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước, và rửa bằng cloform. Bổ sung dung dịch natri hydroxit 5N nước (10ml) vào lớp nước, sau đó chiết bằng cloform. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel bazơ (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hỗn hợp bao gồm hợp chất nêu ở đề mục (1,4098g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 343 $[M+H]^+$.

Bước 7: Tổng hợp hợp chất 14

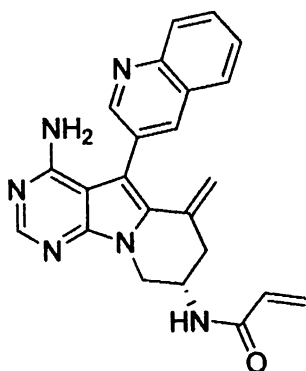
Bổ sung liên tiếp diisopropyletylamin (0,8452ml) và dung dịch acryloyl clorua (0,35ml) trong axetonitril (3,5ml) vào dung dịch hỗn hợp (1,407g) bao gồm (S)-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin và (S)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin thu được ở bước 6 trong axetonitril (10ml) và nước (10ml) ở 0°C, và hỗn hợp được khuấy trong 45 phút ở cùng nhiệt độ. Sau khi hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước, rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà, sau đó chiết bằng ethyl axetat. Sau khi lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: ethyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (897,1mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1,51 (3H, s), 4,17 (1H, dd, $J=13,2, 5,1\text{Hz}$), 4,25 (1H, dd, $J=13,2, 5,1\text{Hz}$), 4,73-4,83 (1H, m), 5,61 (1H, dd, $J=9,8, 2,7\text{Hz}$), 5,65-6,00 (2H, brs), 5,81 (1H, dd, $J=5,1, 1,2\text{Hz}$), 6,14 (1H, dd, $J=17,1, 2,4\text{Hz}$), 6,24 (1H, dd, $J=17,1, 9,8\text{Hz}$), 7,67 (1H, ddd, $J=8,1, 7,1, 1,0\text{Hz}$), 7,81 (1H, ddd, $J=8,3, 7,1, 1,5\text{Hz}$), 8,05 (1H, d, $J=8,1\text{Hz}$), 8,09 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,13 (1H, s), 8,39 (1H, brs), 8,46 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$), 8,94 (1H, s).

ESI-MS m/z 397 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 15

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-



Phân đoạn hỗn hợp thu được bằng cách tinh chế bằng sắc ký cột silica gel ở bước 7 của ví dụ 14 được tinh chế bằng HPLC điều chế pha ngược, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (32,2mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

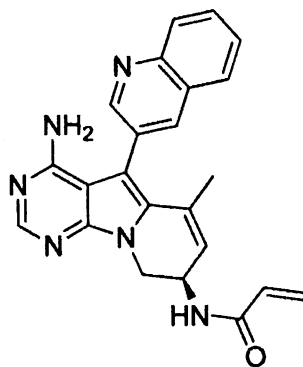
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 2,56-2,70 (1H, m), 2,72-2,82 (1H, m), 4,19 (1H, dd, $J=14,1, 8,3\text{Hz}$), 4,25-4,36 (1H, m), 4,72 (1H, d, $J=13,7\text{Hz}$), 5,62 (1H, dd, $J=10,0, 2,2\text{Hz}$), 5,80 (1H, dt, $J=12,2, 4,6\text{Hz}$), 6,00-6,20 (3H, m), 6,20-6,31 (2H, m), 7,65 (1H, t, $J=8,1\text{Hz}$), 7,80 (1H, t, $J=8,3\text{Hz}$), 8,05 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,08 (1H, d, $J=8,3\text{Hz}$), 8,15 (1H, s), 8,28-

8,39 (2H, m), 8,87 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

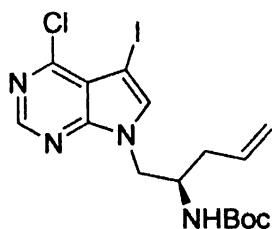
ESI-MS m/z 397 $[M+H]^+$.

Ví dụ 16

(R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 16)



Bước 1: Tổng hợp (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbammat



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước từ 1 đến 3 của ví dụ 14 sử dụng axit (R)-2-amino-4-pentenoic thay cho axit (S)-2-amino-4-pentenoic được sử dụng ở bước 1 của ví dụ 14, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,4217g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 463, 465 $[M+H]^+$.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 16

Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước từ 4 đến 7 của ví dụ 14 sử dụng (R)-tert-butyl(1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbammat thu được ở bước 1, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (21,0mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

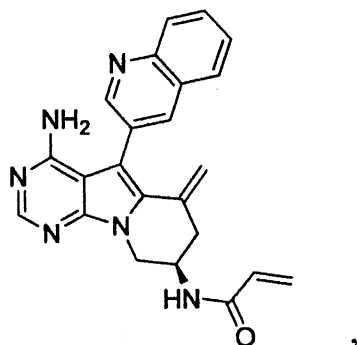
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 1,51 (3H, s), 4,17 (1H, dd, $J=13,2, 5,1\text{Hz}$), 4,25 (1H, dd, $J=13,2, 5,1\text{Hz}$), 4,73-4,83 (1H, m), 5,61 (1H, dd, $J=9,8, 2,7\text{Hz}$), 5,65-6,00 (2H, brs), 5,81 (1H, dd, $J=5,1, 1,2\text{Hz}$), 6,14 (1H, dd, $J=17,1, 2,4\text{Hz}$), 6,24 (1H, dd, $J=17,1, 9,8\text{Hz}$), 7,67 (1H,

t, J=7,1Hz), 7,81 (1H, t, J=7,6Hz), 8,05 (1H, d, J=8,1Hz), 8,09 (1H, d, J=8,6Hz), 8,13 (1H, s), 8,39 (1H, brs), 8,46 (1H, d, J=7,1Hz), 8,94 (1H, s).

ESI-MS m/z 397[M+H]⁺.

Ví dụ 17

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 17)



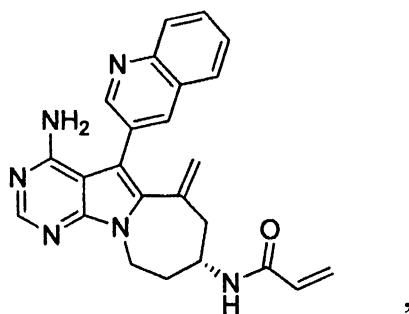
Phân đoạn hỗn hợp thu được bằng cách tinh chế bằng sắc ký cột silica gel ở ví dụ 16 được tinh chế theo cùng phương pháp như ở ví dụ 15, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,4mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

¹H-NMR (DMSO-d₆)δ: 2,57-2,70 (1H, m), 2,71-2,82 (1H, m), 4,19 (1H, dd, J=13,2, 8,3Hz), 4,25-4,36 (1H, m), 4,72 (1H, d, J=13,2Hz), 5,62 (1H, dd, J=10,0, 2,2Hz), 5,80 (1H, dt, J=12,2, 4,6Hz), 6,00-6,20 (3H, m), 6,20-6,31 (2H, m), 7,65 (1H, t, J=7,6Hz), 7,79 (1H, ddd, J=8,3, 7,1, 1,5Hz), 8,05 (1H, d, J=8,5Hz), 8,08 (1H, d, J=8,5Hz), 8,15 (1H, s), 8,33 (1H, d, J=2,2Hz), 8,36 (1H, d, J=7,6Hz), 8,87 (1H, d, J=2,2Hz).

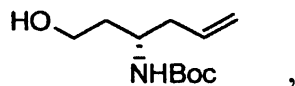
ESI-MS m/z 397[M+H]⁺.

Ví dụ 18

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8,9,10-tetrahydro-6H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 18)



Bước 1: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-hydroxyhex-5-en-3-yl)carbamate



Bổ sung N-metylmorpholin (2,1g) vào dung dịch axit (S)-3-((tert-butoxycarbonyl)amino)hex-5-enoic (4,0g) trong THF (40ml), và bổ sung từ từ ethyl cloformat (1,75ml) ở -10°C . Sau đó, hỗn hợp được khuấy trong 20 phút ở cùng nhiệt độ, và chất không tan tinh ra được lọc qua Celite. Bổ sung từ từ dung dịch natri tetrahydroborat (904mg) trong nước (8ml) vào chất lọc thu được ở -10°C . Sau khi hỗn hợp được khuấy trong 30 phút ở cùng nhiệt độ, bổ sung dung dịch amoni clorua nước bão hoà. Sau khi chiết bằng ethyl axetat, rửa bằng dung dịch nước kali hydro sulfat 0,5N, dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà, và dung dịch natri clorua bão hoà theo trình tự. Lốp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan và sau đó lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/ethyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,54g) ở dạng chất có dầu.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 18

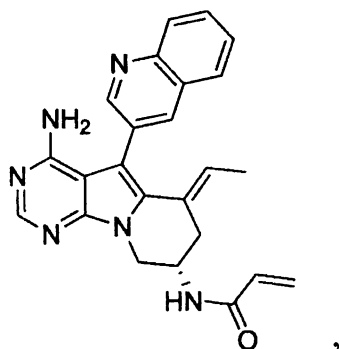
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước 4 đến 10 của ví dụ 13 sử dụng (S)-tert-butyl (1-hydroxyhex-5-en-3-yl)carbamate thu được ở bước 1 thay cho (R)-tert-butyl (5-hydroxypent-1-en-3-yl)carbamate được sử dụng ở bước 4 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (147mg) ở dạng chất rắn không màu.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 1,68-1,82 (1H, m), 2,17-2,25 (1H, m), 2,42-2,53 (1H, m), 2,75-2,83 (1H, m), 3,86-4,16 (2H, m), 4,64-4,78 (1H, m), 4,84 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$), 5,26 (1H, s), 5,60 (1H, dd, $J=10,0, 2,4\text{Hz}$), 6,00 (2H, brs), 6,11 (1H, dd, $J=17,1, 2,4\text{Hz}$), 6,27 (1H, dd, $J=17,1, 10,0\text{Hz}$), 7,60-7,64 (1H, m), 7,73-7,77 (1H, m), 7,99-8,04 (2H, m), 8,17 (1H, s), 8,22 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,30 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,78 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

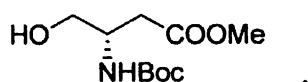
ESI-MS m/z 411 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 19

(S,E)-N-(4-amino-6-etyliden-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 19)

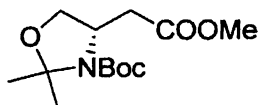


Bước 1: Tổng hợp (S)-metyl 3-((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-hydroxybutanoat



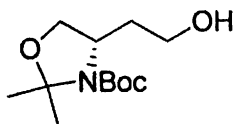
Bổ sung N-metylmorpholin (9,78ml) và etyl cloformat (8,09ml) vào dung dịch axit (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-methoxy-4-oxobutanoic (20,0g) trong THF (200ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ trong khi làm lạnh bằng nước đá. Chất không tan sinh ra được lọc. Bổ sung dung dịch natri borohydrua (4,14g) trong nước (41,4ml) vào chất lọc trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung dung dịch nước kali hydro sulfat và etyl axetat vào hỗn hợp phản ứng. Tách lớp hữu cơ, rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà và dung dịch natri clorua bão hoà, và được làm khô bằng magiê sulfat khan. Dung môi sau đó được chưng cất dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (10,82g).

Bước 2: Tổng hợp (S)-tert-butyl 4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-2,2-dimetyloxazolidin-3-carboxylat



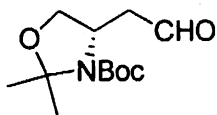
bổ sung 2,2-dimethoxypropan (28,52ml) và phức boron triflorua-dietylête (0,294ml) vào dung dịch (S)-metyl 3-((tert-butoxycarbonyl)amino)-4-hydroxybutanoat (10,82g) thu được ở bước 1 trong axeton (108,2ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 4 giờ ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà, và chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng magiê sulfat khan, và sau đó được lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,72g).

Bước 3: Tổng hợp (S)-tert-butyl 4-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimetyloxazolidin-3-carboxylat



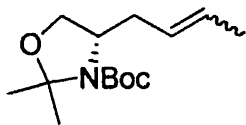
Bổ sung dung dịch diisobutylaluminium hydrua-toluen 1M (65,7ml) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl 4-(2-methoxy-2-oxoethyl)-2,2-dimethyl-1-oxazolidin-3-carboxylat (8,71g) thu được ở bước 2 trong metylen clorua (87,1ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung dung dịch nước kali natri tartrat 5% và etyl axetat vào hỗn hợp phản ứng, và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng magiê sulfat khan, và sau đó được lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,94g).

Bước 4: Tổng hợp (S)-tert-butyl 2,2-dimethyl-4-(2-oxoethyl)oxazolidin-3-carboxylat



Bổ sung triethylamin (16,9ml) và phức sulfur trioxit pyridin (12,56g) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl 4-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1-oxazolidin-3-carboxylat (5,94g) thu được ở bước 3 trong DMSO (59,4ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, và chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng magiê sulfat khan, và sau đó được lọc và cô. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (6,06g).

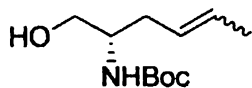
Bước 5: Tổng hợp (S)-tert-butyl 4-(but-2-en-1-yl)-2,2-dimethyl-1-oxazolidin-3-carboxylat



Bổ sung dung dịch n-butyllithi-hexan 2,69M (7,0ml) vào hỗn dịch bao gồm etyltriphenylphosphoni bromua (5,60g) trong THF (25,2ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung dung dịch chứa (S)-tert-butyl 4-(2-oxoethyl)-2,2-dimethyl-1-oxazolidin-3-carboxylat (3,06g) thu được ở bước 4 trong THF (3,06ml) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong 14 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung hexan vào hỗn hợp phản ứng, và chất không tan được lọc, sau đó rửa bằng THF-

hexan=2/1. Chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất cần thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,81g).

Bước 6: Tổng hợp (S)-tert-butyl (1-hydroxyhex-4-en-2-yl)carbamat



Bổ sung dung dịch hydro clorua-dioxan 4N (18,1ml) vào (S)-tert-butyl 4-(but-2-en-1-yl)-2,2-dimetyloxazolidin-3-carboxylat (1,81g) thu được ở bước 5 ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ ở 70°C. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh, và sau đó cô dưới áp suất giảm. Chất cần thu được được hoà tan trong THF (18,1ml), và bổ sung dung dịch nước natri bicarbonat bão hoà (18,1ml) và di-tert-butyl dicarbonat (1,53g) vào đó ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước, và chiết bằng etyl axetat. Lóp hữu cơ thu được được làm khô bằng magiê sulfat khan, và sau đó được lọc và cô. Chất cần thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: hexan/etyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,57g).

Bước 7: Tổng hợp hợp chất 19

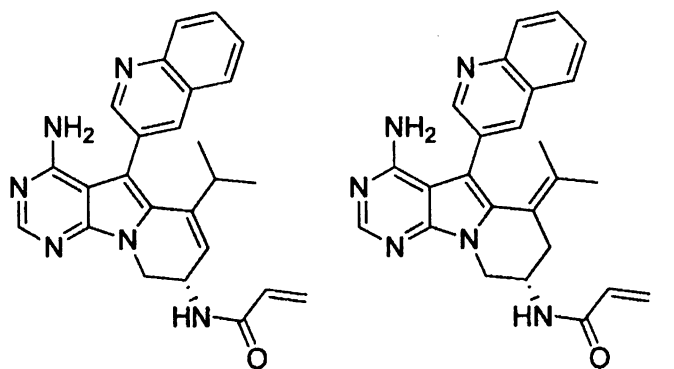
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước từ 4 đến 10 của ví dụ 13 sử dụng (S)-tert-butyl (1-hydroxyhex-4-en-2-yl)carbamate thu được ở bước 6 thay cho (R)-tert-butyl (5-hydroxypent-1-en-3-yl)carbamate được sử dụng ở bước 4 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (327mg).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 1,47 (3H, d, $J=7,1\text{Hz}$), 2,64-2,70 (1H, m), 2,81-2,85 (1H, m), 4,00-4,09 (1H, m), 4,32-4,43 (2H, m), 5,41-5,46 (1H, m), 5,60-5,63 (1H, m), 5,82 (2H, brs), 6,11-6,16 (1H, m), 6,21-6,31 (1H, m), 8,05 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$), 8,08 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,13 (1H, s), 8,35-8,39 (2H, m), 8,87-8,92 (1H, m).

ESI-MS m/z 411 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 20

Hỗn hợp bao gồm (S)-N-(4-amino-6-isopropyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 20A) và (S)-N-(4-amino-6-(propan-2-yliden)-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 20B)



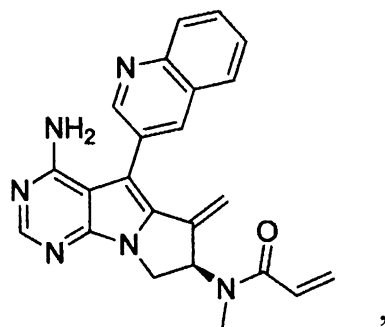
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 19 sử dụng isopropyltriphenylphosphoni iodua thay cho etyltriphenylphosphoni bromua được sử dụng ở bước 5 của ví dụ 19, bằng cách đó thu được hỗn hợp (18,9mg) chứa hợp chất nêu ở đề mục.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 0,85-4,71 (11H, m), 5,63-5,68 (1H, m), 5,88 (1H, brs), 6,03 (1H, brs), 6,12-6,19 (1H, m), 6,24-6,31 (1H, m), 7,59-7,64 (1H, m), 7,72-7,78 (1H, m), 7,96-7,99 (1H, m), 8,01-8,05 (1H, m), 8,16 (1H, d, $J=3,4\text{Hz}$), 8,24-8,28 (1H, m), 8,39-8,44 (1H, m), 8,90 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

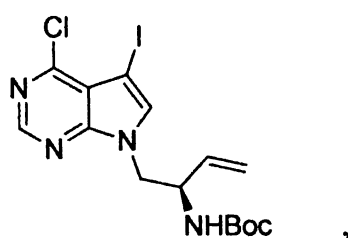
ESI-MS m/z 425 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 21

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 21)



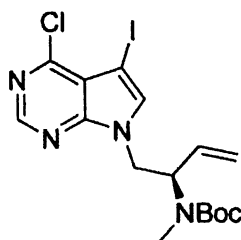
Bước 1: Tổng hợp (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbammat



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 1 của ví dụ 1 sử dụng (R)-tert-butyl (1-hydroxybut-3-en-2-yl)carbamate thay cho (S)-tert-butyl (1-hydroxybut-3-en-2-yl)carbamate được sử dụng ở bước 1 của ví dụ 1, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,083g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 448, 450 $[M+H]^+$.

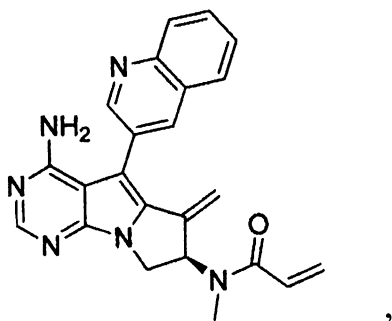
Bước 2: Tổng hợp (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)(metyl)carbamate



Bổ sung methyl iodua (1,58ml), và natri hydrua (224mg) phân tán trong paraffin lỏng vào dung dịch (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (2,28g) thu được ở bước 1 trong DMF (11,4ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở cùng nhiệt độ. Rót hỗn hợp thu được vào nước, và chiết bằng ethyl axetat. Lớp hữu cơ thu được được rửa bằng nước và dung dịch natri clorua bão hòa, và được làm khô bằng natri sulfat khan; sau đó, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: hexan/ethyl axetat), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,41g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 462, 464 $[M+H]^+$.

Bước 3: Tổng hợp hợp chất 21



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước từ 5 đến 10 của ví dụ 13 sử dụng (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)(metyl)carbamate thu được ở bước 2 thay cho (R)-tert-butyl (5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate được sử dụng ở bước 5 của ví dụ

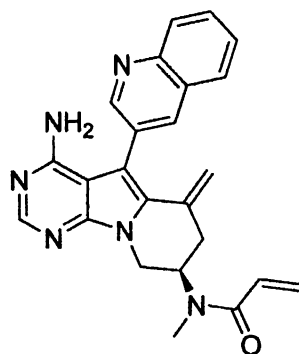
13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (256mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 2,75 và 2,94 (total 3H, each s), 4,06-4,20 (1H, m), 4,46-4,72 (1H, m), 4,81-4,89 (1H, m), 5,26-5,35 (1H, m), 5,70-5,80 (1H, m), 5,98-6,37 (4H, m), 6,77-7,01 (1H, m), 7,62-7,68 (1H, m), 7,77-7,83 (1H, m), 8,03-8,10 (2H, m), 8,14-8,18 (1H, m), 8,41-8,45 (1H, m), 8,96-9,01 (1H, m).

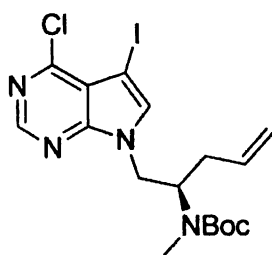
ESI-MS m/z 397 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 22

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit
(Hợp chất 22)



Bước 1: Tổng hợp (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)(metyl)carbammat

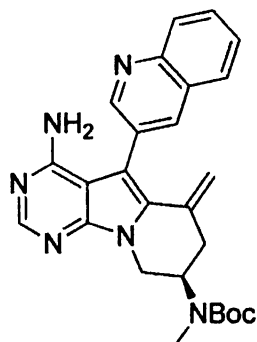


Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 2 của ví dụ 21 sử dụng (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbammat thu được ở bước 1 của các Ví dụ 16 và 17 thay cho (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbammat được sử dụng ở bước 2 của ví dụ 21, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,743g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 477, 479 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 2: Tổng hợp (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-

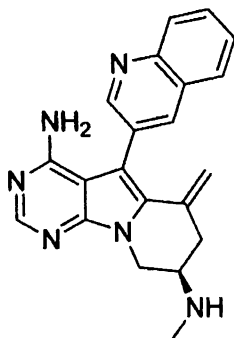
tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)(metyl)carbammat



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước 5 đến 8 của ví dụ 13 sử dụng (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)(metyl)carbammat thu được ở bước 1 thay cho (R)-tert-butyl (5-(4-clo-5-iodo-7H-pyrollo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbammat được sử dụng ở bước 5 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,366g) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 457 $[M+H]^+$.

Bước 3: Tổng hợp (R)-N⁸-metyl-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin



Bổ sung axit clohydric 5N (0,5ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)(metyl)carbammat (228mg) thu được ở bước 2 trong etanol (3ml), và hỗn hợp được khuấy trong 4 ngày ở 50°C. Sau khi làm lạnh, hỗn hợp phản ứng được bazơ hóa bằng dung dịch natri hydroxit 5N nước, sau đó chiết bằng cloform. Sau khi lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng basic sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (197mg) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 357 $[M+H]^+$.

Bước 4: Tổng hợp hợp chất 22

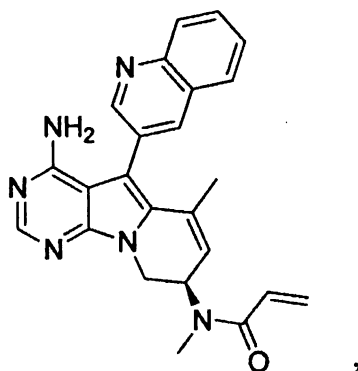
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 10 của ví dụ 13 sử dụng (R)-N⁸-metyl-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin thu được ở bước 3 thay cho ((R)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,7-diamin được sử dụng ở bước 10 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (68,5mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 2,53-2,68 (1H, m), 2,88-3,11 (4H, m), 4,04-4,20 (1H, m), 4,34-4,96 (4H, m), 5,58-6,21 (4H, m), 6,72-7,01 (1H, m), 7,62-7,68 (1H, m), 7,78-7,83 (1H, m), 8,02-8,10 (2H, m), 8,15 (1H, brs), 8,37-8,44 (1H, m), 8,86-8,90 (1H, m).

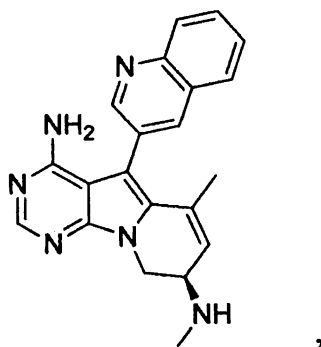
ESI-MS m/z 411 $[M+H]^+$.

Ví dụ 23

(R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 23)



Bước 1: Tổng hợp (R)-N⁸,6-dimetyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin



Bổ sung axit clohydric 5N (1ml) vào dung dịch (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)(metyl)carbammat (228mg) thu được ở bước 2 của ví dụ 22 trong etanol (4ml), và hỗn

hợp được khuấy trong 24 giờ trong khi gia nhiệt ở điều kiện hồi lưu. Sau khi làm lạnh, hỗn hợp phản ứng được bazơ hóa bằng dung dịch nước natri hydroxit 5N, sau đó chiết bằng cloform. Sau khi lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (190,8mg) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 357 $[M+H]^+$.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 23

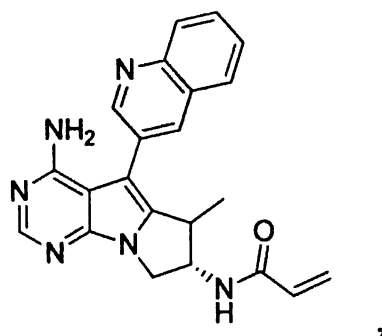
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 10 của ví dụ 13 sử dụng (R)-N⁸,6-dimethyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin thu được ở bước 1 thay cho ((R)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,7-diamin được sử dụng ở bước 10 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (150,9mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ : 1,52 (3H, s), 2,74 và 2,88 (total 3H, each brs), 4,14-4,42 (2H, m), 5,21-5,98 (5H, m), 6,09-6,22 (1H, m), 6,71-7,03 (1H, m), 7,64-7,69 (1H, m), 7,79-7,85 (1H, m), 8,02-8,07 (1H, m), 8,08-8,12 (1H, m), 8,14 (1H, s), 8,43-8,49 (1H, m), 8,89-8,96 (1H, m).

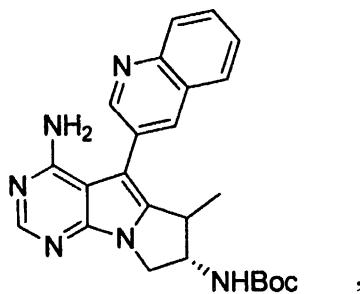
ESI-MS m/z 411 $[M+H]^+$.

Ví dụ 24

N-((7S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 24)



Bước 1: Tổng hợp tert-butyl ((7S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)carbamate



Bổ sung 10% paladi-cacbon (50% ướt, 15,0mg) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)carbamát (15,0mg) thu được ở bước 5 của ví dụ 1 trong etyl axetat (2ml)-etanol (1ml), và hỗn hợp được khuấy trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng dưới khí quyển hydro. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua Celite, và chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng cách sắc ký lớp mỏng điều chế (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (10,0mg).

ESI-MS m/z 357 $[M+H]^+$.

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 24

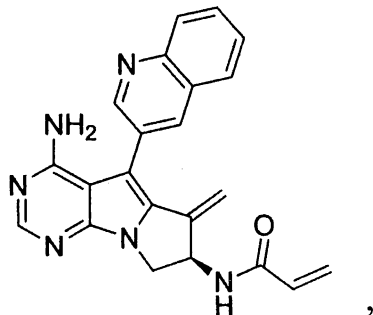
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước 9 và 10 của ví dụ 13 sử dụng tert-butyl ((7S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)carbamát thu được ở bước 1 thay cho (R)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)carbamát được sử dụng ở bước 9 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,10mg) ở dạng chất rắn không màu.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 0,86 (2,7H, d, $J=7,6\text{Hz}$), 1,08 (0,3H, d, $J=7,6\text{Hz}$), 3,43-4,02 (2H, m), 4,34-4,62 (1H, m), 5,08-5,19 (1H, m), 5,59-5,68 (1H, m), 5,99-6,17 (3H, m), 6,18-6,33 (1H, m), 7,62 (1H, dd, $J=7,6, 7,6\text{Hz}$), 7,75 (1H, dd, $J=7,6, 7,6\text{Hz}$), 7,99-8,07 (2H, m), 8,12 (1H, s), 8,29-8,36 (1H, m), 8,53-8,76 (1H, m), 8,98 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 385 $[M+H]^+$.

Ví dụ 25

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrrolizin-7-yl)acrylamit (Hợp chất 25)



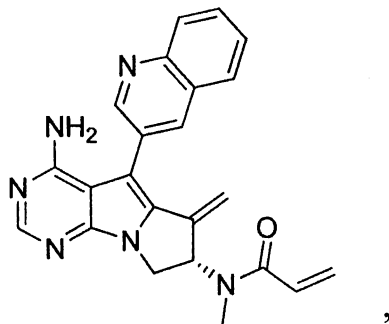
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước 2 đến 6 của ví dụ 1 sử dụng (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate thu được ở bước 1 của ví dụ 21 thay cho (S)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate được sử dụng ở bước 2 của ví dụ 1, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (44,6mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 3,88-3,93 (1H, m), 4,57-4,63 (1H, m), 5,03 (1H, d, $J=2,4\text{Hz}$), 5,24 (1H, d, $J=2,4\text{Hz}$), 5,55-5,62 (1H, m), 5,68 (1H, dd, $J=10,0, 2,4\text{Hz}$), 6,12-6,38 (4H, m), 7,65 (1H, dd, $J=7,8, 7,8\text{Hz}$), 7,77-7,83 (1H, m), 8,04-8,11 (2H, m), 8,15 (1H, s), 8,41 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$), 8,82 (1H, d, $J=7,8\text{Hz}$), 8,98 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 383 $[M+H]^+$.

Ví dụ 26

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolozin-7-yl)-N-metylacrylamit (Hợp chất 26)



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở các bước 2 và 3 của ví dụ 21 sử dụng (S)-tert-butyl(1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate thu được ở bước 1 của ví dụ 1 thay cho (R)-tert-butyl (1-(4-clo-5-iodo-7H-pyrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate được sử dụng ở bước 2 của ví dụ 21, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (143mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

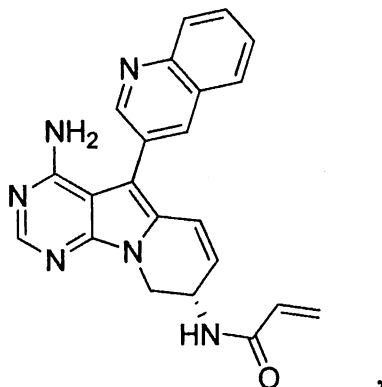
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 2,75 và 2,94 (total 3H, each s), 4,06-4,20 (1H, m), 4,46-4,72 (1H, m), 4,81-4,89 (1H, m), 5,26-5,35 (1H, m), 5,70-5,80 (1H, m), 5,98-6,37 (4H, m),

6,77-7,01 (1H, m), 7,62-7,68 (1H, m), 7,77-7,83 (1H, m), 8,03-8,10 (2H, m), 8,14-8,18 (1H, m), 8,41-8,45 (1H, m), 8,96-9,01 (1H, m).

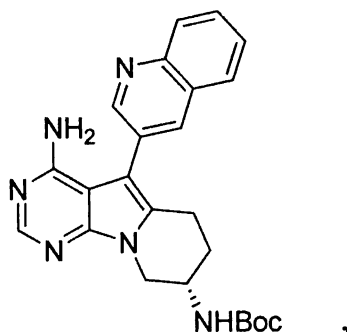
ESI-MS m/z 397 $[M+H]^+$.

Ví dụ 27

(S)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit
(Hợp chất 27)



Bước 1: Tổng hợp (S)-tert-butyl (4-amino-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate

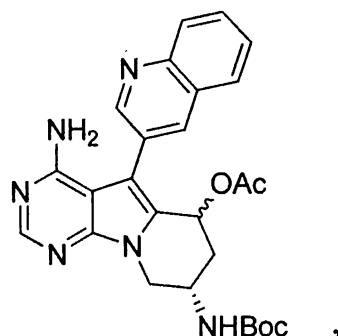


Bổ sung dung dịch 9-borabicyclo[3,3,1]nonan 0,5M trong tetrahydrofuran (141,3ml) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate (6,0g) thu được ở bước 4 của ví dụ 1 trong tetrahydrofuran (42ml) dưới khí quyển nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Bổ sung từ từ dung dịch natri hydroxit 2N nước (84,8ml) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, và khử khí dưới áp suất giảm. Dưới khí quyển nitơ, bổ sung (tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0)) (1,70g), và hỗn hợp được khuấy ở 66°C trong 12 giờ. Sau khi hỗn hợp phản ứng làm lạnh, tách lớp hữu cơ và rửa bằng dung dịch nước amoni clorua 20% (60ml). Sau đó bổ sung SH silica gel (6,0g) vào lớp hữu cơ, và hỗn hợp được khuấy ở 50°C dưới khí quyển nitơ trong 14 giờ, và sau đó được lọc. Bổ sung một lần nữa SH silica gel (do Fuji Silysia Chemical Ltd. sản xuất) (6,0g) vào chất lọc, và hỗn hợp được khuấy dưới khí quyển nitơ ở 50°C trong 14

giờ, và sau đó được lọc. Dung môi được chưng cất từ chất lọc dưới áp suất giảm. Chất cần thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (dung môi phát triển: ethyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,46 g; hiệu suất = 88%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 431 $[M+H]^+$.

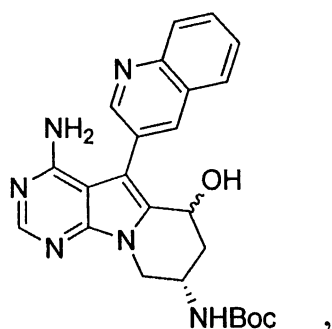
Bước 2: Tổng hợp (8S)-4-amino-8-((tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-6-yl axetat



Bổ sung tetrabutylamoni iodua (37mg) và iodobenzen điaxetat (241mg) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat (215mg) thu được ở bước 1 trong axit axetic (2ml) và metylen clorua (2ml) trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ trong khi làm lạnh bằng nước đá và trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi cô dưới áp suất giảm, hỗn hợp phản ứng được bazơ hóa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, sau đó chiết bằng ethyl axetat. Lóp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó lọc. Sau đó lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cần thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: ethyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (216mg) ở dạng chất rắn màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 489 $[M+H]^+$.

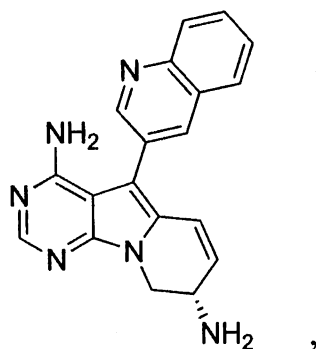
Bước 3: Tổng hợp tert-butyl ((8S)-4-amino-6-hydroxy-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat



Bổ sung dung dịch nước natri hydroxit 2N (1ml) vào dung dịch (8S)-4-amino-8-((tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-6-yl axetat (215mg) thu được ở bước 2 trong metanol (3ml) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước, và chiết bằng cloform. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng natri sulfat khan, sau đó được lọc. Sau đó, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (166,7mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 447 $[M+H]^+$.

Bước 4: Tổng hợp (S)-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin



Khuấy hỗn hợp bao gồm tert-butyl ((8S)-4-amino-6-hydroxy-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate (44,6mg) thu được ở bước 3, monohydrate của axit p-toluensulfonic (95mg), và toluen (3ml) được khuấy trong 4 giờ ở 100°C. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng, lọc dung môi dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (39mg) ở dạng chất có dầu màu nâu nhạt.

ESI-MS m/z 329 $[M+H]^+$.

Bước 5: Tổng hợp hợp chất 27

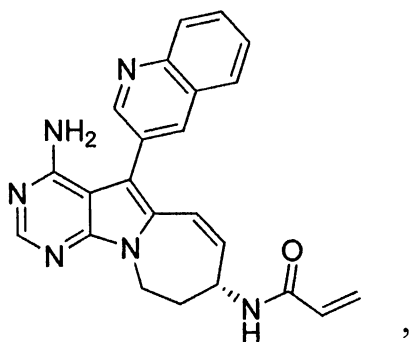
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 10 của ví dụ 13 sử dụng (S)-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin thu được ở bước 4 thay cho (R)-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,7-diamin được sử dụng ở bước 10 của ví dụ 13, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (44,1mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 4,19-4,30 (2H, m), 4,86-4,94 (1H, m), 5,63 (1H, dd, $J=9,8$, 2,7Hz), 6,08-6,32 (5H, m), 6,70 (1H, dd, $J=9,8$, 1,1Hz), 7,62-7,69 (1H, m), 7,75-7,82 (1H, m), 8,04-8,09 (2H, m), 8,17 (1H, s), 8,34 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,55 (1H, d, $J=7,3\text{Hz}$), 8,91 (1H, d, $J=2,4\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 383 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 28

(R)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-9,10-dihydro-8H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 28)



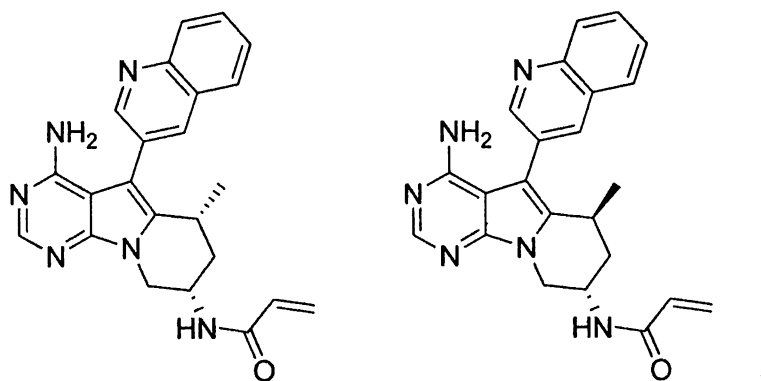
Thực hiện quy trình tổng hợp như ở ví dụ 27 sử dụng (R)-tert-butyl (5-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-1-en-3-yl)carbamate thu được ở bước 7 của ví dụ 13 thay cho (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)but-3-en-2-yl)carbamate được sử dụng ở bước 1 của ví dụ 27, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (101,8mg) ở dạng chất rắn màu vàng.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ : 2,01-2,12 (1H, m), 2,23-2,33 (1H, m), 4,28-4,38 (1H, m), 4,55-4,63 (1H, m), 4,84-4,92 (1H, m), 5,62 (1H, dd, $J=10,0$, 2,4Hz), 5,68 (1H, dd, $J=12,6$, 3,8Hz), 6,08-6,31 (5H, m), 7,63-7,69 (1H, m), 7,78-7,83 (1H, m), 8,03-8,10 (2H, m), 8,18 (1H, s), 8,31 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$), 8,51 (1H, d, $J=8,2\text{Hz}$), 8,84 (1H, d, $J=2,2\text{Hz}$).

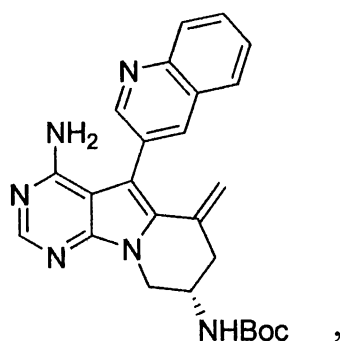
ESI-MS m/z 397 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 29

N-((6R*,8S)-4-amino-6-methyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 29A) và N-((6S*,8S)-4-amino-6-methyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit (Hợp chất 29B)



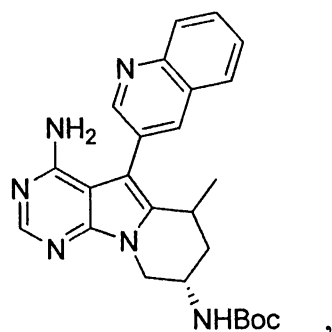
Bước 1: Tổng hợp (S)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate



Hỗn hợp bao gồm (S)-tert-butyl (4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate và (S)-tert-butyl (4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate thu được bằng cách tổng hợp như ở bước 5 của ví dụ 14 sử dụng (S)-tert-butyl (1-(4-amino-6-bromo-5-(quinolin-3-yl)-7H-pyrido[2,3-d]pyrimidin-7-yl)pent-4-en-2-yl)carbamate (1,263g) thu được ở bước 4 của ví dụ 14 được tinh chế bằng sắc ký silica gel (dung môi phát triển: etyl axetat/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (0,805g) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 443 $[M+H]^+$.

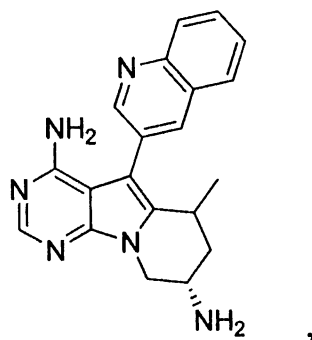
Bước 2: Tổng hợp tert-butyl ((8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbamate



Bổ sung paladi-cacbon 10% (50% uớt, 100,6mg) vào dung dịch chứa (S)-tert-butyl(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat (100,0mg) thu được ở bước 1 trong metanol (10ml), và hỗn hợp được khuấy trong 12 giờ ở nhiệt độ trong phòng dưới khí quyển hydro. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua thiết bị lọc sợi thủy tinh, và chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn thu được được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel bazơ (dung môi phát triển: cloform/metanol), bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (122,1mg).

ESI-MS m/z 445 $[M+H]^+$.

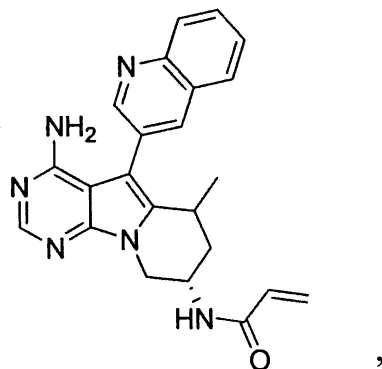
Bước 3: Tổng hợp (8S)-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin



Bổ sung axit trifloaxetic (1ml) vào dung dịch tert-butyl ((8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)carbammat (122,1mg) thu được ở bước 2 trong cloform (3ml), và hỗn hợp này được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm, và chất cặn thu được được hoà tan trong metanol. Sau khi khử muối bằng cột chiết pha rắn bazơ (VARIAN BondElut), hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (58,9mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 345 $[M+H]^+$.

Bước 4: Tổng hợp N-((8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit



Thực hiện quy trình tổng hợp như ở bước 7 của ví dụ 14 sử dụng (8S)-6-methyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-4,8-diamin (58,9mg) thu được ở bước 3, bằng cách đó thu được hợp chất nêu ở đề mục (30,3mg) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

ESI-MS m/z 399 $[M+H]^+$.

Bước 5: Tổng hợp hợp chất 29A và hợp chất 29B

Hỗn hợp chất đồng phân phi đối ảnh chứa chất đồng phân (6R*,8S) và chất đồng phân (6S*,8S) thu được ở bước 4 được tách bằng cách sắc ký cột bất đối điều chế (cột: CHIRALCEL OZ-H (20mm X 250mm X 5 μ m), do Daicel Chemical Industries, Ltd. sản xuất, dung môi phát triển: hexan/etanol/triethylamin =60/40/0,01), bằng cách đó thu được hợp chất 29A và hợp chất 29B lần lượt là phân đoạn thứ nhất (15,8mg) và phân đoạn thứ hai (6,1mg), là các chất rắn không màu.

Hợp chất 29A

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 0,96 (3H, d, $J=6,6\text{Hz}$), 1,68 (1H, m), 2,29-2,39 (1H, m), 3,49-3,63 (1H, m), 3,81 (1H, dd, $J=11,7, 10,2\text{Hz}$), 4,56-4,69 (1H, m), 4,76 (1H, dd, $J=12,2, 5,1\text{Hz}$), 4,81 (2H, brs), 5,70 (1H, dd, $J=10,5, 1,2\text{Hz}$), 6,17 (1H, dd, $J=16,6, 10,2\text{Hz}$), 6,15-6,25 (1H, m), 6,36 (1H, dd, $J=17,1, 1,2\text{Hz}$), 7,64 (1H, t, $J=7,6\text{Hz}$), 7,75-7,82 (1H, m), 7,88 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,18 (1H, d, $J=8,5\text{Hz}$), 8,21-8,29 (2H, m), 9,05 (1H, d, $J=2,0\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 399 $[M+H]^+$.

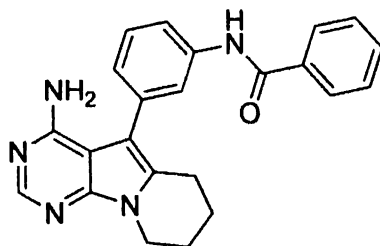
Hợp chất 29B

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,06 (3H, d, $J=6,8\text{Hz}$), 1,83-2,08 (1H, m), 2,18-2,31 (1H, m), 3,46-3,59 (1H, m), 4,00 (1H, dd, $J=12,4, 7,6\text{Hz}$), 4,59 (1H, dd, $J=12,4, 4,6\text{Hz}$), 4,73-4,93 (3H, m), 5,70 (1H, d, $J=10,5\text{Hz}$), 6,18 (1H, dd, $J=16,8, 10,2\text{Hz}$), 6,26-6,42 (2H, m), 7,63 (1H, t, $J=7,6\text{Hz}$), 7,78 (1H, t, $J=8,3\text{Hz}$), 7,88 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,17 (1H, d, $J=8,0\text{Hz}$), 8,20-8,27 (2H, m), 9,02 (1H, d, $J=1,7\text{Hz}$).

ESI-MS m/z 399 $[M+H]^+$.

Ví dụ so sánh 1

N-(3-(4-amino-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-5-yl)phenyl)benzamid (Hợp chất so sánh 1)



Hợp chất được tổng hợp theo phương pháp được mô tả trong tài liệu Công bố quốc tế số WO2006/102079.

ESI-MS m/z 384 $[M+H]^+$.

Các ví dụ thử nghiệm

Các hợp chất theo sáng chế được đánh giá bằng cách sử dụng các phương pháp thử nghiệm dưới đây.

Ví dụ thử nghiệm 1: Đánh giá hoạt tính ức chế đối với các hoạt tính kinaza EGFR (In Vitro)

1) Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (T790M/L858R)

Các hoạt tính ức chế các hợp chất theo sáng chế kháng hoạt tính kinaza EGFR (T790M/L858R) được đánh giá.

Trong số các vật liệu đánh giá hoạt tính ức chế, peptit cơ chất và protein kinaza thu được như sau. Peptit có đầu chặn mạch N được biotinyl hóa (biotin-EEPLYWSFPAKKK) được tổng hợp theo FL-Peptit 22, chất phản ứng có seri LabChip® của PerkinElmer, Inc. Đối với protein kinaza, protein người tái tổ hợp được tinh chế EGFR (T790M/L858R) được mua từ hãng Carna Biosciences, Inc.

Việc đánh giá hoạt tính ức chế được thực hiện như dưới đây. Từng hợp chất theo sáng chế được hoà tan riêng rẽ với dimetyl sulfoxit (DMSO), và các dung dịch pha loãng liên tiếp của các hợp chất này được điều chế bằng cách sử dụng DMSO. Tiếp theo, dung dịch chứa peptit cơ chất (nồng độ cuối: 250nM), magiê clorua (nồng độ cuối: 10mM), mangan clorua (nồng độ cuối: 10mM), và ATP (nồng độ cuối: 1 μ M) trong dung dịch đệm dùng cho phản ứng kinaza (Carna Biosciences, Inc.) được trộn với các dung dịch pha loãng của các hợp chất (nồng độ cuối của DMSO sau phản ứng kinaza: 2,5%) hoặc DMSO (nồng độ cuối: 2,5%). Protein EGFR (T790M/L858R) được bổ sung thêm vào, và các hỗn hợp được ủ ở 25°C trong 120 phút để thực hiện phản ứng kinaza. EDTA được bổ sung vào để đạt nồng độ cuối là 24mM để nhờ đó chấm dứt phản ứng. Dung dịch phát hiện thyrosin được phosphoryl hóa chứa kháng thể thyrosin kháng phosphory hóa được đánh dấu bằng europi (Eu) PT66 (PerkinElmer,

Inc.) và SureLight APC-SA (PerkinElmer, Inc.) được bổ sung vào các hỗn hợp phản ứng, và các hỗn hợp này được giữ yên ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ hoặc lâu hơn. Để làm đối chứng, mẫu mà được bổ sung EDTA trước khi bổ sung protein EGFR (T790M/L858R) được ủ ở 25°C trong 120 phút, sử dụng DMSO thay vì dung dịch DMSO chứa hợp chất. Dung dịch dò cũng được bổ sung vào mẫu này, và hỗn hợp này được giữ yên trong 2 giờ hoặc lâu hơn. Cuối cùng, tất cả các mẫu thử nghiệm đều được xác định mức huỳnh quang ở thời điểm chiếu ánh sáng kích thích có bước sóng 337nm ở các bước sóng kép là 620nm và 665nm bằng PHERAstar FS (BMG LABTECH), và tỷ lệ giữa các mức huỳnh quang ở hai bước sóng này được lấy làm số liệu.

Khi phân tích dữ liệu đã được xác định, tỷ lệ giữa các mức huỳnh quang của mẫu trong đó phản ứng kinaza được thực hiện mà không bổ sung DMSO ở nồng độ cuối là 2,5% được đặt làm tỷ lệ ức chế sự phosphoryl hóa là 0%, và tỷ lệ giữa các mức huỳnh quang của mẫu đối chứng được đặt làm tỷ lệ ức chế sự phosphoryl hóa là 100%. Dựa vào các tỷ lệ nêu trên, tỷ lệ ức chế sự phosphoryl hóa (%) được tính cho các mẫu mà được bổ sung các dung dịch chứa hợp chất với các nồng độ khác nhau. Cuối cùng, tỷ lệ ức chế phản ứng thu được (%) ở các nồng độ tương ứng được lập đồ thị cho từng hợp chất, và trị số IC_{50} (nM), mà là nồng độ hợp chất mà tại đó quá trình phosphoryl hóa bởi EGFR (T790M/L858R) bị ức chế 50%, được xác định bằng cách sử dụng phần mềm XLfit curve-fitting (IDBS).

2) Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (d746-750/T790M)

Các hoạt tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính kinaza EGFR (d746-750/T790M) được đánh giá.

Các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích số liệu về cơ bản là giống với các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích số liệu được thể hiện trong phần mô tả trên đây liên quan đến “Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (T790M/L858R)” ngoại trừ protein người tái tổ hợp đã tinh chế EGFR (d746-750/T790M) mua từ hãng Carina Biosciences, Inc. được sử dụng làm protein kinaza, và việc đánh giá được thực hiện ở nồng độ của ATP là 1,5 μ M. Cuối cùng, trị số IC_{50} (nM) của từng hợp chất đối với EGFR (d746-750/T790M) được xác định bằng cách phân tích số liệu.

3) Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (L858R)

Các hoạt tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính kinaza EGFR (L858R) được đánh giá.

Các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích số liệu về cơ bản

là giống như các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích được thể hiện ở phần mô tả trên đây liên quan đến “Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (T790M/L858R),” ngoại trừ protein tái tổ hợp EGFR (L858R) mua từ hãng Carina Biosciences, Inc. được sử dụng làm protein kinaza, và việc đánh giá được thực hiện bằng ATP ở nồng độ cuối là 4 μ M. Cuối cùng, trị số IC₅₀ (nM) của mỗi hợp chất đối với EGFR (L858R) được xác định bằng cách phân tích số liệu.

4) Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (d746-750)

Các hoạt tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính kinaza EGFR (d746-750) được xác định.

Các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích số liệu về cơ bản là giống như các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích được thể hiện ở phần mô tả trên đây liên quan đến “Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (T790M/L858R),” ngoại trừ protein tái tổ hợp EGFR (d746-750) mua từ hãng Carina Biosciences, Inc. được sử dụng làm protein kinaza, việc đánh giá được thực hiện bằng ATP ở nồng độ cuối là 5 μ M, và quá trình ủ cho phản ứng kinaza được thực hiện trong 90 phút. Cuối cùng, trị số IC₅₀ (nM) của mỗi hợp chất đối với EGFR (d746-750) được xác định bằng cách phân tích số liệu.

5) Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (WT)

Các hoạt tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế đối với hoạt tính kinaza EGFR (WT) activity được xác định.

Các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích số liệu về cơ bản là giống như các vật liệu, phương pháp đánh giá và phương pháp phân tích được thể hiện ở phần mô tả trên đây liên quan đến “Đánh giá hoạt tính ức chế kinaza EGFR (T790M/L858R),” ngoại trừ protein kinaza được điều chế bằng cách biểu hiện miễn bào tương của EGFR (WT) người với đầu chặn mạch N được ngưng tụ vào đuôi FLAG trong các tế bào côn trùng Sf9 bằng cách sử dụng hệ biểu hiện baculovirus và sau đó tinh chế nó bằng agarose kháng thể kháng FLAG (Sigma-Aldrich) được sử dụng làm protein kinaza, nồng độ cuối của peptit cơ chất là 500nM, và nồng độ cuối của ATP là 4,7 μ M. Cuối cùng, trị số IC₅₀ (nM) của từng hợp chất đối với EGFR (WT) được xác định bằng cách phân tích số liệu.

Bảng 1 thể hiện các kết quả thử nghiệm sử dụng EGFR khác nhau.

Được xác nhận là các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế mạnh không chỉ đối với EGFR (L858R) và EGFR (d746-750), mà đối với cả EGFR (T790M/L858R) và EGFR (d746-750/T790M). Cũng được xác nhận là các hoạt tính

ức chế đối với EGFR (WT) thấp hơn hoạt tính ức chế đối với các protein EGFR.

Trái lại, cũng được xác nhận là hợp chất của ví dụ so sánh 1, mà là hợp chất có cấu trúc tương tự với cấu trúc của hợp chất theo sáng chế, hầu như không có hoạt tính ức chế đối với các kinaza EGFR này.

Bảng 1

Loại EGFR	EGFR (T790M/ L858R)	EGFR (d746-750/ T790M)	EGFR (L858R)	EGFR (d746-750)	EGFR (WT)
Ví dụ					
1	<0,50	<0,15	<0,50	<0,15	0,70
2	77	30	230	78	1400
3	6,1	1,8	15	7,6	110
4	0,40	<0,50	0,63	0,45	6,0
5	<0,15	<0,15	<0,15	<0,15	0,78
6	0,24	<0,15	0,45	0,24	4,9
7	1,0	0,53	1,7	1,2	12
8	<0,50	<0,15	<0,50	<0,15	1,0
9	2,1	0,45	5,9	2,3	52
10	1,5	0,61	2,6	1,8	22
11	0,76	0,32	1,4	0,88	12
12	0,66	0,29	1,2	0,75	11
13	2,1	1,1	2,8	2,1	24
14	0,24	<0,50	0,32	0,19	2,9
15	1,6	1,2	1,3	1,4	7,9
16	11	3,0	39	15	480
17	23	11	50	39	580
18	4,7	1,3	12	4,5	68
19	0,26	0,28	0,27	0,42	2,2
20	3,7	2,4	4,1	2,9	28
21	0,60	0,34	1,1	0,72	7,8
22	0,35	0,23	0,37	0,33	5,5
23	0,44	0,30	0,63	0,29	7,3
24	0,83	0,31	1,1	0,85	8,6
25	36	11	100	59	
26	1,0	0,31	1,7	1,1	
27	0,34	0,25	0,35	0,38	
28	0,30	<0,50	0,49	0,27	
29	14	8,4	19	21	
Ví dụ so sánh 1	>5000	>5000	>5000	1500	>5000

Ví dụ thử nghiệm 2: Thử nghiệm hoạt tính ức chế sự phát triển đối với các dòng tế bào biểu hiện EGFR trưởng thành và thể hoang dại (In Vitro)

(1) Dòng tế bào ung thư tiểu bào phổi người NCI-H1975 biểu hiện EGFR (T790M/L858R), (2) dòng tế bào ung thư phi tiểu bào phổi người HCC827 biểu hiện EGFR (d746-750), và (3) dòng tế bào ung thư biểu mô A431 biểu hiện EGFR (WT) được tạo huyền phù riêng từng loại trong môi trường phát triển hoàn thiện theo khuyến nghị của ATCC. Các dịch huyền phù tế bào được cấy vào từng lỗ của vi đĩa phẳng có 384 lỗ hoặc đĩa phẳng có 96 lỗ, và được nuôi cấy trong thiết bị ủ chứa 5% khí cacbon dioxid ở 37°C trong một ngày. Mỗi hợp chất của sáng chế được hoà tan trong DMSO, và các dung dịch pha loãng hàng loạt chứa hợp chất thử nghiệm được điều chế bằng cách sử dụng DMSO (đến nồng độ gấp 500 lần nồng độ cuối). Dung dịch DMSO của hợp chất thử nghiệm hoặc DMSO được pha loãng với môi trường phát triển hoàn thiện, và dung dịch tạo thành được cho vào từng lỗ của đĩa nuôi cấy tế bào sao cho nồng độ cuối của DMSO là 0,2%. Tiếp đó, các tế bào được nuôi cấy trong thiết bị ủ chứa 5% khí cacbon dioxid ở 37°C trong ba ngày. Số lượng tế bào được nuôi cấy trước khi bổ sung dung dịch DMSO chứa hợp chất thử nghiệm, cũng như sau khi bổ sung và nuôi cấy bằng cách sử dụng thiết bị CellTiter-Glo Assay® (do Promega sản xuất) theo quy trình được Promega khuyến nghị.

Đối với mỗi lỗ, tỷ lệ ức chế phát triển tế bào của các lỗ mà các hợp chất thử nghiệm được bổ sung với các nồng độ khác nhau được tính theo công thức dưới đây. Sau đó, tỷ lệ ức chế thu được (%) ở các nồng độ tương ứng được lập đồ thị cho từng hợp chất thử nghiệm, và trị số GI₅₀ (nM), mà là nồng độ hợp chất thử nghiệm mà ức chế 50% sự phát triển, được xác định bằng cách sử dụng phần mềm XLfit (IDBS).

$$\text{Tỷ lệ ức chế sự phát triển tế bào (\%)} = (C - T) / (C - C_0) \times 100$$

T: mật độ huỳnh quang của lỗ được nuôi cấy trong ba ngày sau khi bổ sung dung dịch chứa hợp chất thử nghiệm

C: mật độ huỳnh quang của lỗ được nuôi cấy trong ba ngày sau khi bổ sung DMSO

C₀: mật độ huỳnh quang của lỗ trước khi bổ sung dung dịch chứa hợp chất thử nghiệm

Bảng 2 thể hiện các kết quả.

Được xác nhận là các hợp chất theo sáng chế không những thể hiện hiệu quả ức chế sự phát triển đối với các tế bào biểu hiện EGFR (d746-750), mà thể hiện hiệu quả ức chế sự phát triển đối với cả các tế bào biểu hiện EGFR (T790M/L858R). Cũng xác nhận rằng hiệu quả ức chế sự phát triển của chúng đối với các tế bào biểu hiện EGFR (WT) là thấp hơn hiệu quả ức chế sự phát triển của chúng đối với các protein

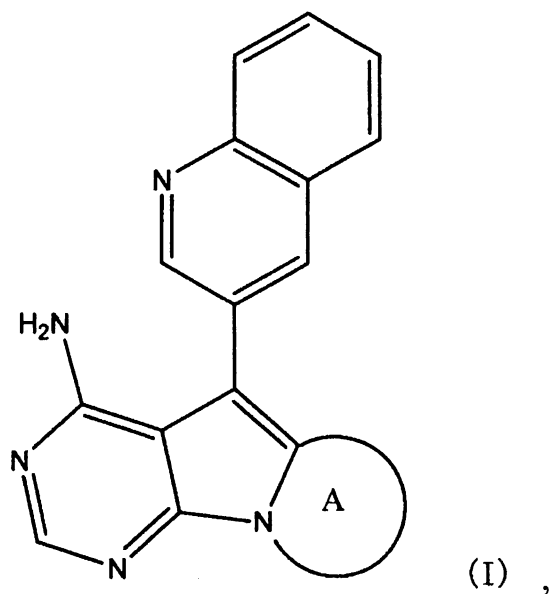
EGFR nêu trên.

Bảng 2

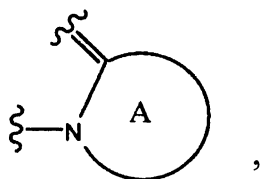
Loại EGFR	EGFR (T790M/L858R)	EGFR (d746-750)	EGFR (WT)
Tên tế bào	NCI-H1975	HCC827	A431
Ví dụ			
1	9,0	1,9	370
2	4200	780	>10000
3	560	16	>10000
4	140	5,5	2400
5	51	8,1	2200
6	54	3,3	520
7	150	5,6	2600
8	800	66	1100
9	770	7,5	4200
10	310	8,1	4400
11	260	9,7	3900
12	240	7,9	3500
13	150	13	1200
14	22	2,5	1900
15	85	22	2000
16	600	27	>10000
17	2900	160	>10000
18	160	8,9	4000
19	49	5,6	990
20	310	23	3900
21	56	8,1	2600
22	56	5,7	1500
23	47	3,3	5100
24	110	4,9	3400
25	2500	260	>10000
26	150	18,4	4700
27	110	15	1000
28	48	14	1200
29	1600	89	>10000

YÊU CẦU BẢO HỘ

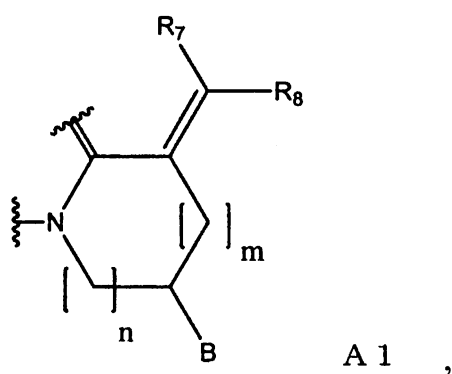
1. Hợp chất có công thức (I) dưới đây hoặc muối của nó:



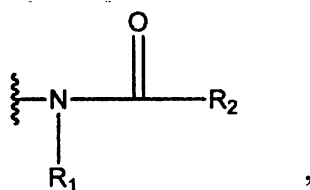
trong đó nhóm:



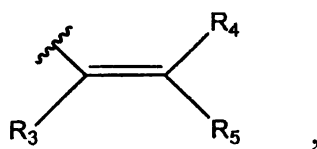
là (1) nhóm có công thức A1:



(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:

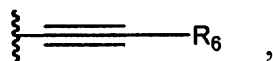


[R₁ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl] và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm C1-C6 alkyl, nhóm C6-C12 aryl, nhóm C4-C9 heteroaryl, nhóm aminometyl mà có thể được thể bằng nhóm C1-C6 alkyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl,

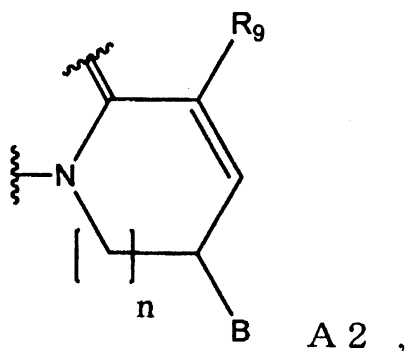
hoặc nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₆ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl],

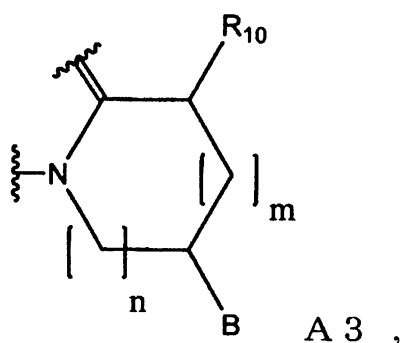
R₇ và R₈ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl, m là 0 hoặc 1, và n là 1 hoặc 2);

(2) nhóm có công thức A2:



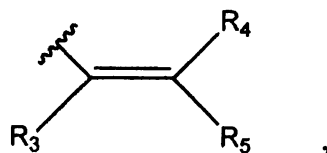
(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1 và R₉ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl); hoặc

(3) nhóm có công thức A3:



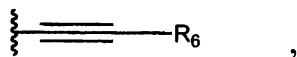
(trong công thức A3, B, m, và n là như được định nghĩa đối với công thức A1 và R₁₀ là nhóm C1-C6 alkyl).

2. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



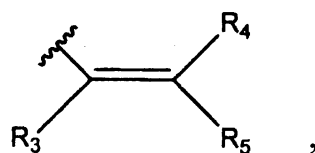
trong đó R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm C1-C6 alkyl, nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm C1-C6 alkyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl,

hoặc nhóm được thể hiện bởi:



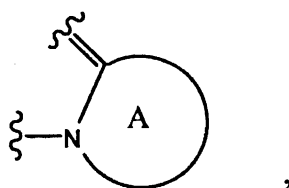
trong đó R₆ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl.

3. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R₂ là nhóm được thể hiện bởi:

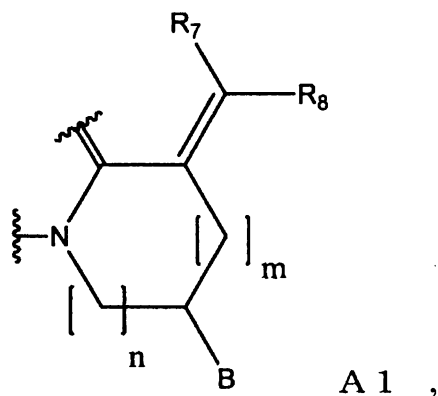


trong đó R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro, nguyên tử halogen, nhóm aminometyl mà có thể được thế bằng nhóm methyl, hoặc nhóm 1-piperidinometyl.

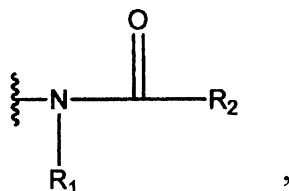
4. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó nhóm:



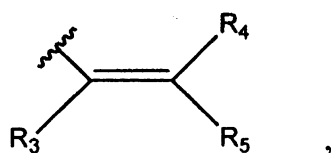
là (1) nhóm có công thức A1:



(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:



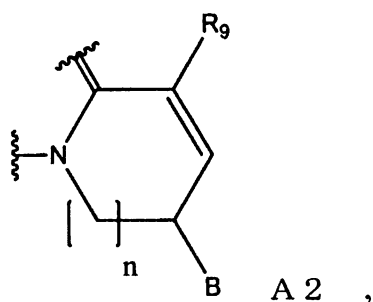
trong đó R₁ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl; và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₃, R₄, và R₅ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nguyên tử halogen,

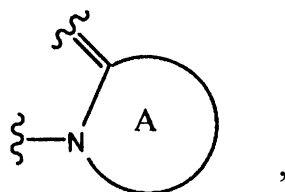
R₇ và R₈ là giống hoặc khác nhau, và mỗi trong số chúng là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl, m là 0 hoặc 1, và n là 1); hoặc

(2) nhóm có công thức A2:

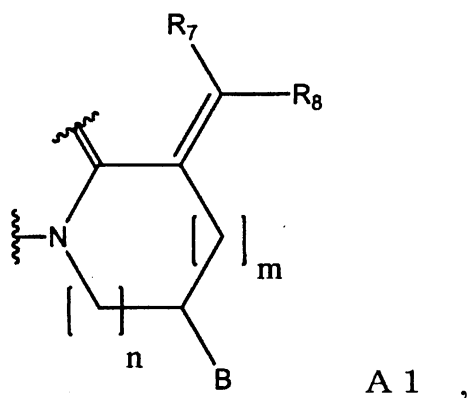


(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1 và R₉ là nguyên tử hydro hoặc nhóm C1-C6 alkyl).

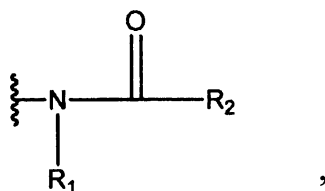
5. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó nhóm:



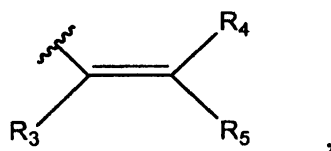
là (1) nhóm có công thức A1:



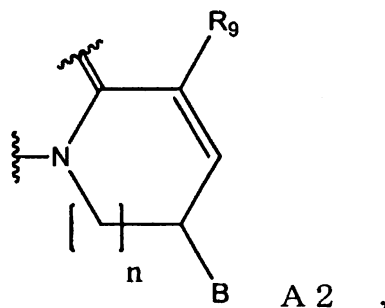
(trong công thức A1, B là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó R₁ là nguyên tử hydro và R₂ là nhóm được thể hiện bởi:



trong đó mỗi R₃, R₄, và R₅ là nguyên tử hydro,
mỗi R₇ và R₈ là nguyên tử hydro, m là 0, và n là 1); hoặc
(2) nhóm có công thức A2:



(trong công thức A2, B và n là như được định nghĩa đối với công thức A1 và R₉ là nhóm C1-C6 alkyl).

6. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm các hợp chất dưới đây:

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit;

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)metacrylamit;

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-enamit (hỗn hợp bao gồm E và Z);

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(dimetylamino)but-2-enamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit;

(S,Z)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(piperidin-1-yl)but-2-enamit;

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)propiolamit;

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)but-2-ynamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(dietylamino)but-2-enamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(etyl(metyl)amino)but-2-enamit;

- (S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-4-(isopropyl(metyl)amino)but-2-enamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-7-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8,9,10-tetrahydro-6H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit;
- (S,E)-N-(4-amino-6-etyliden-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-isopropyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-(propan-2-yliden)-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit;
- N-((7S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit;
- (R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit;
- (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit;

(S)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;

(R)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-9,10-dihydro-8H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit;

N-((6R*,8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit; và

N-((6S*,8S)-4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit.

7. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm 1 đến 5, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm các hợp chất dưới đây:

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit;

(S,Z)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-3-cloacrylamit;

(S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;

(S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;

(S,E)-N-(4-amino-6-etyliden-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit;

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)-N-metylacrylamit;

(R)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-6,7,8,9-tetrahydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit;

(R)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)-N-metylacrylamit; và

(R)-N-(4-amino-5-(quinolin-3-yl)-9,10-dihydro-8H-pyrimido[5',4':4,5]pyrolo[1,2-a]azepin-8-yl)acrylamit.

8. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 6 hoặc 7, trong đó hợp chất là (S)-N-(4-amino-6-metylen-5-(quinolin-3-yl)-7,8-dihydro-6H-pyrimido[5,4-b]pyrolizin-7-yl)acrylamit hoặc muối của nó.

9. Hợp chất hoặc muối của nó theo điểm 6 hoặc 7, trong đó hợp chất là (S)-N-(4-amino-6-metyl-5-(quinolin-3-yl)-8,9-dihydropyrimido[5,4-b]indolizin-8-yl)acrylamit hoặc muối của nó.
10. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.
11. Thuốc chống khối u chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, làm thành phần hoạt tính.
12. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.