

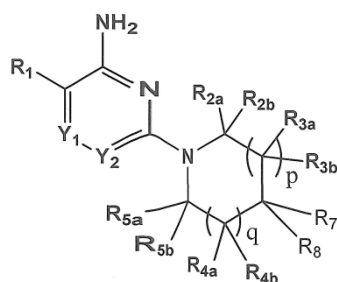


(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07D 241/18; C07D 241/20; A61K 31/495; A61P 35/04 (13) B



(21) 1-2016-03049 (22) 16/01/2015
(86) PCT/IB2015/050345 16/01/2015 (87) WO2015/107495 23/07/2015
(30) 61/928,754 17/01/2014 US; 61/991,129 09/05/2014 US
(45) 27/07/2020 388 (43) 25/10/2016 343A
(73) NOVARTIS AG (CH)
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland
(72) CHEN, Christine Hiu-tung (US); CHEN, Zhuoliang (CN); DORE, Michael (CA);
FORTANET, Jorge Garcia (ES); KARKI, Rajesh (CA); KATO, Mitsunori (JP);
LAMARCHE, Matthew J. (US); PEREZ, Lawrence Blas (US); SMITH, Troy
Douglas (GB); WILLIAMS, Sarah (GB); GIRALDES, John William (US); TOURE,
Bakary-barry (CA); SENDZIK, Martin (US).
(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) HỢP CHẤT N-HETEROARYL ĐƯỢC THỂ BẰNG N-
AZASPIROXYCLOALKAN VÀ ĐƯỢC PHẠM CHỨA HỢP CHẤT NÀY HOẶC
MUỐI ĐƯỢC DỰNG CỦA NÓ
(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I:



I

trong đó p, q, Y₁, Y₂, R₁, R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b}, R₇ và R₈ được xác định trong phần bản chất kỹ thuật của sáng chế; có khả năng ức chế hoạt tính của Src homology-2-phosphatase (SHP2). Sáng chế còn đề xuất quy trình để điều chế hợp chất này và dược phẩm chứa nó trong việc quản lý bệnh và rối loạn liên quan đến hoạt tính bất thường của SHP2.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất có khả năng ức chế hoạt tính của SHP2. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất quy trình để điều chế hợp chất theo sáng chế, và được phẩm chứa hợp chất này để dùng trong việc quản lý bệnh và rối loạn liên quan đến hoạt tính bất thường của SHP2.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Src Homolgy-2 phosphatase (SHP2) là protein tyrosin phosphatase không phải thụ thể được mã hóa bằng gen PTPN11 mà góp phần vào nhiều chức năng tế bào bao gồm tăng sinh, biệt hóa, duy trì chu trình tế bào và sự di chuyển của tế bào. SHP2 liên quan đến việc truyền tín hiệu thông qua con đường protein kinase được hoạt hóa bởi Ras-mitogen, JAK-STAT hoặc phosphoinositol 3-kinase-AKT.

SHP2 có hai miền Src tương đồng 2 ở đầu N (N-SH2 và C-SH2), một miền xúc tác (PTP), và một đuôi chứa đầu C. Hai miền SH2 kiểm soát sự định vị dưới tế bào và điều hòa chức năng của SHP2. Phân tử này tồn tại ở dạng bất hoạt, tự ức chế được ổn định bởi một mạng lưới liên kết gồm các gốc của cả hai miền N-SH2 và PTP. Sự kích thích bởi, ví dụ, cytokin hoặc các yếu tố tăng trưởng dẫn đến sự tiếp xúc của vị trí xúc tác dẫn đến sự kích hoạt enzym của SHP2.

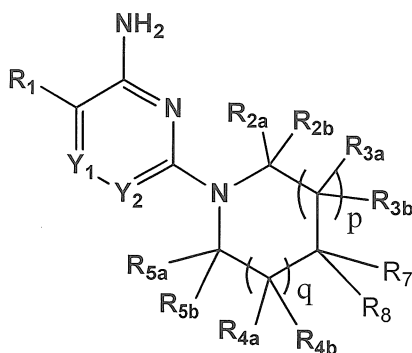
Các đột biến ở gen PTPN11 và sau đó ở SHP2 đã được xác định ở một vài bệnh ở người, chẳng hạn như hội chứng Noonan, hội chứng Leopard, bệnh bạch cầu tủy đơn bào ở người trẻ, u nguyên bào thần kinh, u sắc tố, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính và các bệnh ung thư vú, phổi và ruột già. SHP2, vì thế, là mục tiêu rất được quan tâm đối với sự phát triển các phương pháp trị liệu mới để điều trị rất nhiều bệnh. Các hợp chất theo sáng chế đáp ứng yêu cầu các phân tử nhỏ mà ức chế hoạt tính của SHP2.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có khả năng ức chế hoạt tính của SHP2. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất quy trình để điều chế hợp chất theo sáng chế, và

được phẩm chứa hợp chất này trong việc quản lý bệnh và rối loạn liên quan đến hoạt tính bất thường của SHP2.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



I

trong đó: p được chọn từ 0 và 1; q được chọn từ 0 và 1; Y₁ được chọn từ CH và N; Y₂ được chọn từ CR₆ và N; R₁ là -XR_{1a}; trong đó R_{1a} được chọn từ C₆₋₁₀aryl, C₃₋₈xycloalkyl, C₃₋₈xycloalkenyl và nhóm heteroaryl có 5-9 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S; trong đó aryl hoặc heteroaryl là R_{1a} nêu trên được thế bằng 1 đến 5 nhóm R₉ độc lập được chọn từ halo, amino, hydroxy, N₃, C₁₋₄alkyl, dimetyl-amino, C₁₋₄alkyl được thế hydroxy, C₁₋₄alkyl được thế halo, và C₁₋₄alkyl được thế amino; và X được chọn từ liên kết, S(O)_m, O, C(O), COR₁₁, CR_{10a}R_{10b}, NR₁₁; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; mỗi R_{10a} và R_{10b} độc lập được chọn từ halo và C₁₋₄alkyl; và R₁₁ được chọn từ hydro và C₁₋₄alkyl; R_{2a} và R_{2b} độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{3a} và R_{3b} độc lập được chọn từ halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b} và R₇ có thể tạo thành vòng không no hoặc no một phần có 5 đến 6 cạnh; R₆ được chọn từ hydro, halo, xyano, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino-cacbonyl, C₁₋₄alkyl được thế halo, C₁₋₄alkoxy được thế halo, C₁₋₄alkyl được thế hydroxy, C₁₋₄alkyl được thế amino, -S(O)₁₋₂R_{6a}, -C(S)R_{6a}, -C(O)NR_{6a}R_{6b}, -

$C(NH)NR_{6a}R_{6b}$ và $-NR_{6a}C(O)R_{6b}$; trong đó R_{6a} và R_{6b} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$; R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 3 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, metyl, metyl-amino và isobutyryloxy hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc muối được dụng của nó, trong hỗn hợp với một hoặc nhiều tá được thích hợp.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ở động vật trong đó sự điều biến hoạt tính SHP2 có thể ngăn ngừa, ức chế hoặc cải thiện tình trạng bệnh lý và/hoặc triệu chứng của các bệnh, trong đó hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng của nó được dùng cho động vật với lượng có hiệu quả điều trị bệnh.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh ở động vật trong đó sự điều biến hoạt tính SHP2 có thể ngăn ngừa, ức chế hoặc cải thiện tình trạng bệnh lý và/hoặc triệu chứng của các bệnh, trong đó hợp chất có công thức I, hoặc muối được dụng của nó được dùng cho động vật với lượng có hiệu quả điều trị bệnh và dùng kết hợp đồng thời hoặc liên tiếp với chất chống ung thư.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa:

Các thuật ngữ chung được sử dụng trên đây và dưới đây ưu tiên là có các ý nghĩa sau đây trong phạm vi của bản mô tả, trừ phi có quy định khác, trong đó nhiều thuật ngữ chung có thể sử dụng ở bất kỳ đâu, độc lập với nhau, được thay thế bằng nhiều định nghĩa cụ thể hơn hoặc tương tự, do đó xác định nhiều phương án chi tiết theo sáng chế:

“Alkyl” dùng để chỉ gốc hydrocacbon phân nhánh hoặc không phân nhánh bão hòa hoàn toàn có tới 20 nguyên tử cacbon. Trừ phi có quy định khác, alkyl dùng để chỉ

các gốc hydrocacbon có 1 đến 7 nguyên tử cacbon (C_{1-7} alkyl), hoặc 1 đến 4 nguyên tử cacbon (C_{1-4} alkyl). Các ví dụ đại diện cho alkyl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, iso-butyl, tert-butyl, n-pentyl, isopentyl, neopentyl, n-hexyl, 3-methylhexyl, 2,2- dimethylpentyl, 2,3-dimethylpentyl, n-heptyl, n-octyl, n-nonyl, n-dexyl và tương tự. Alkyl được thể là nhóm alkyl chứa một hoặc nhiều, chẳng hạn như một, hai hoặc ba phần tử thể được chọn từ các nhóm halogen, hydroxy hoặc alkoxy. Alkyl được thể halo và alkoxy được thể halo, có thể hoặc là mạch thẳng hoặc là phân nhánh và bao gồm, metoxy, etoxy, diflometyl, triflometyl, pentafloretyl, diflometoxy, triflometoxy, và tương tự.

“Aryl” nghĩa là tập hợp vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ngưng tụ chứa sáu đến mười nguyên tử cacbon trên vòng. Ví dụ, aryl có thể là phenyl hoặc naphtyl, tốt hơn là phenyl. “Arylen” nghĩa là gốc hóa trị hai sinh ra từ nhóm aryl.

“Heteroaryl” là như được xác định đối với aryl ở trên trong đó một hoặc nhiều nguyên tử của vòng là nguyên tử khác loại. Ví dụ C_{5-10} heteroaryl tối thiểu có 5 cạnh như được xác định bởi các nguyên tử cacbon nhưng những nguyên tử cacbon này có thể được thay thế bằng nguyên tử khác loại. Do đó, C_{5-10} heteroaryl bao gồm pyridyl, indolyl, indazolyl, quinoxaliny, quinoliny, benzofuranyl, benzopyranyl, benzothiopyranyl, benzo[1,3]dioxol, imidazolyl, benzo-imidazolyl, pyrimidinyl, furanyl, oxazolyl, isoxazolyl, triazolyl, tetrazolyl, pyrazolyl, thienyl, v.v.

“Xycloalkyl” nghĩa là tập hợp vòng đơn vòng, đa vòng ngưng tụ hoặc đa vòng có cầu bão hòa hoặc không bão hòa một phần chứa số lượng nguyên tử của vòng xác định. Ví dụ, C_{3-10} xycloalkyl bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xyclohexenyl, v.v.

“Heteroxycloalkyl” nghĩa là xycloalkyl, như được xác định trong đơn này, miễn là một hoặc nhiều cacbon của vòng xác định, được thay thế bằng gốc được chọn từ -O-, -N=, -NR-, -C(O)-, -S-, -S(O) – hoặc -S(O)₂-, trong đó R là hydro, C_{1-4} alkyl hoặc nhóm bảo vệ nitơ. Ví dụ, C_{3-8} heteroxycloalkyl như được sử dụng trong đơn này để mô tả các hợp chất theo sáng chế bao gồm morpholino, pyrrolidinyl, pyrrolidinyl-2-on, piperazinyl, piperidinyl, piperidinylon, 1,4-dioxa-8-aza-spiro[4.5]dec-8-yl, thiomorpholino, sulfanomorpholino, sulfonomorpholino, v.v.

“Halogen” (hay halo) ưu tiên là clo hoặc flo, nhưng cũng có thể là bromo hoặc iodo.

“SHP2” nghĩa là “Src Homolgy-2 phosphataza” và cũng được biết đến như là SH-PTP2, SH-PTP3, Syp, PTP1D, PTP2C, SAP-2 hoặc PTPN11.

Các bệnh ung thư chứa “các đột biến PTPN11” bao gồm nhưng không giới hạn ở: N58Y; D61Y, V; E69K; A72V, T, D; E76G, Q, K (ALL); G60A; D61Y; E69V; F71K; A72V; T73I; E76G, K; R289G; G503V (AML); G60R, D61Y, V, N; Y62D; E69K; A72T, V; T73I; E76K, V, G, A, Q; E139D; G503A, R; Q506P (JMML); G60V; D61V; E69K; F71L; A72V; E76A (MDS); Y63C (CMML); Y62C; E69K; T507K (u nguyên bào thần kinh); V46L; N58S; E76V (ung thư phổi); R138Q (u sắc tố); E76G (ung thư ruột già).

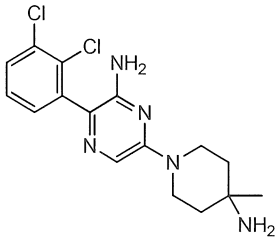
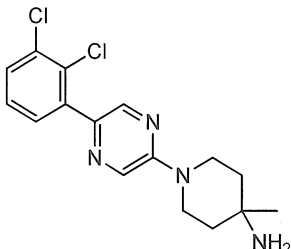
Các hợp chất có công thức I có thể có các dạng đồng phân khác nhau. Ví dụ, nguyên tử cacbon không đối xứng bất kỳ có thể có mặt trong cấu hình (R)-, (S)- hoặc (R,S)-, tốt hơn là trong cấu hình (R)- hoặc (S)-. Các phần tử thế ở liên kết đôi hoặc đặc biệt là ở vòng có thể có mặt ở dạng cis- (= Z-) hoặc trans (= E-). Do đó, các hợp chất có thể có mặt dưới dạng hỗn hợp các chất đồng phân hoặc tốt hơn là dưới dạng các chất đồng phân tinh khiết, tốt hơn là dưới dạng các chất đồng phân không đối quang tinh khiết hoặc các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết.

Trường hợp dạng số nhiều (ví dụ các hợp chất, các muối) được sử dụng, nó bao gồm cả dạng số ít (ví dụ một hợp chất đơn lẻ, một muối đơn lẻ). “Một hợp chất” không loại trừ rằng (ví dụ ở dạng dược phẩm) nhiều hơn một hợp chất có công thức I (hoặc muối của nó) có mặt.

Khi một hợp chất hoặc các hợp chất có công thức I được đề cập, nó cũng dùng để đề cập đến cả N-oxit của các hợp chất này và/hoặc các tautome của chúng.

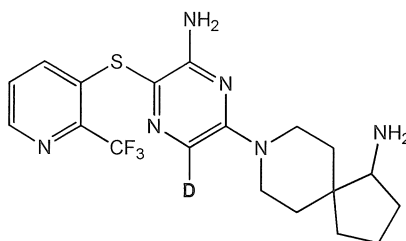
Thuật ngữ “và/hoặc N-oxit của nó, tautome của nó và/hoặc muối (tốt hơn là muối dược dụng) của nó” đặc biệt có ý nghĩa là hợp chất có công thức I có thể có mặt dưới dạng N-oxit hoặc trong hỗn hợp với N-oxit của nó, dưới dạng tautome (ví dụ nhờ vào hiện tượng hồ biến keto-enol, lactam-lactim, axit amit-imidic hoặc enamín-imin) hoặc trong hỗn hợp với tautome của nó (ví dụ gây ra bởi phản ứng tương đương), hoặc dưới dạng muối của hợp chất có công thức I và/hoặc bất kỳ dạng nào trong số các dạng này hoặc hỗn hợp của hai hoặc nhiều hơn các dạng như thế.

Đối với các hợp chất sau đây, nhóm NH₂ gắn vào vòng pyrazin là quan trọng để có hiệu nghiệm. Phân tích cấu trúc tinh thể chỉ ra nhóm NH₂ trong sự tương tác nội phân tử với nhóm cacbonyl chính của gốc E250 của SHP2:

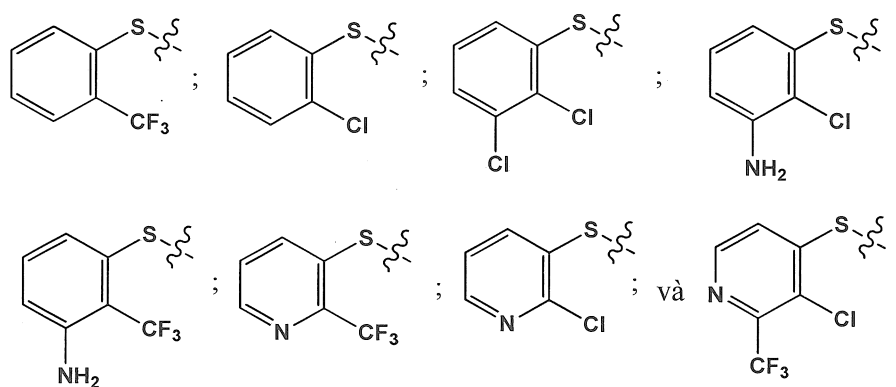
Hợp chất	IC ₅₀ của SHP2
	70nM
	5,7μM

Sáng chế cũng bao gồm tất cả các biến thể đồng vị thích hợp của các hợp chất theo sáng chế, hoặc các muối được dụng của chúng. Biến thể đồng vị của hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó được xác định là một trong đó ít nhất một nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng khối lượng nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử thường được tìm thấy trong tự nhiên. Ví dụ về các đồng vị mà có thể được kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế và các muối được dụng của chúng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các đồng vị của hydro, cacbon, nitơ và oxy chẳng hạn như ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁷O, ¹⁸O, ³⁵S, ¹⁸F, ³⁶Cl và ¹²³I. Các biến thể đồng vị nhất định của các hợp chất theo sáng chế và các muối được dụng của chúng, ví dụ, là các biến thể mà trong đó kết hợp cả đồng vị phóng xạ chẳng hạn như ³H hoặc ¹⁴C, rất hữu ích trong nghiên cứu phân phối được chất và/hoặc mô cơ chất. Trong các ví dụ cụ thể, các đồng vị ³H và ¹⁴C có thể được sử dụng để dễ dàng chế và phát hiện. Trong các ví dụ khác, sự thế bằng các đồng vị chẳng hạn như ²H có thể tạo ra các lợi ích điều trị bệnh nhất định do khả năng ổn định chuyển hóa lớn hơn,

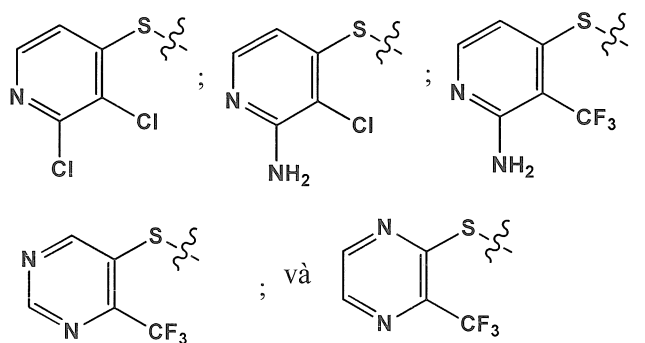
chẳng hạn như tăng chu kỳ bán hủy in vivo hoặc giảm yêu cầu liều lượng. Các biến thể đồng vị của các hợp chất theo sáng chế hoặc các muối dược dụng của chúng nói chung có thể được điều chế bằng các quy trình thông thường sử dụng các biến thể đồng vị thích hợp của các chất phản ứng thích hợp. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng đơteri hóa như được thể hiện dưới đây:



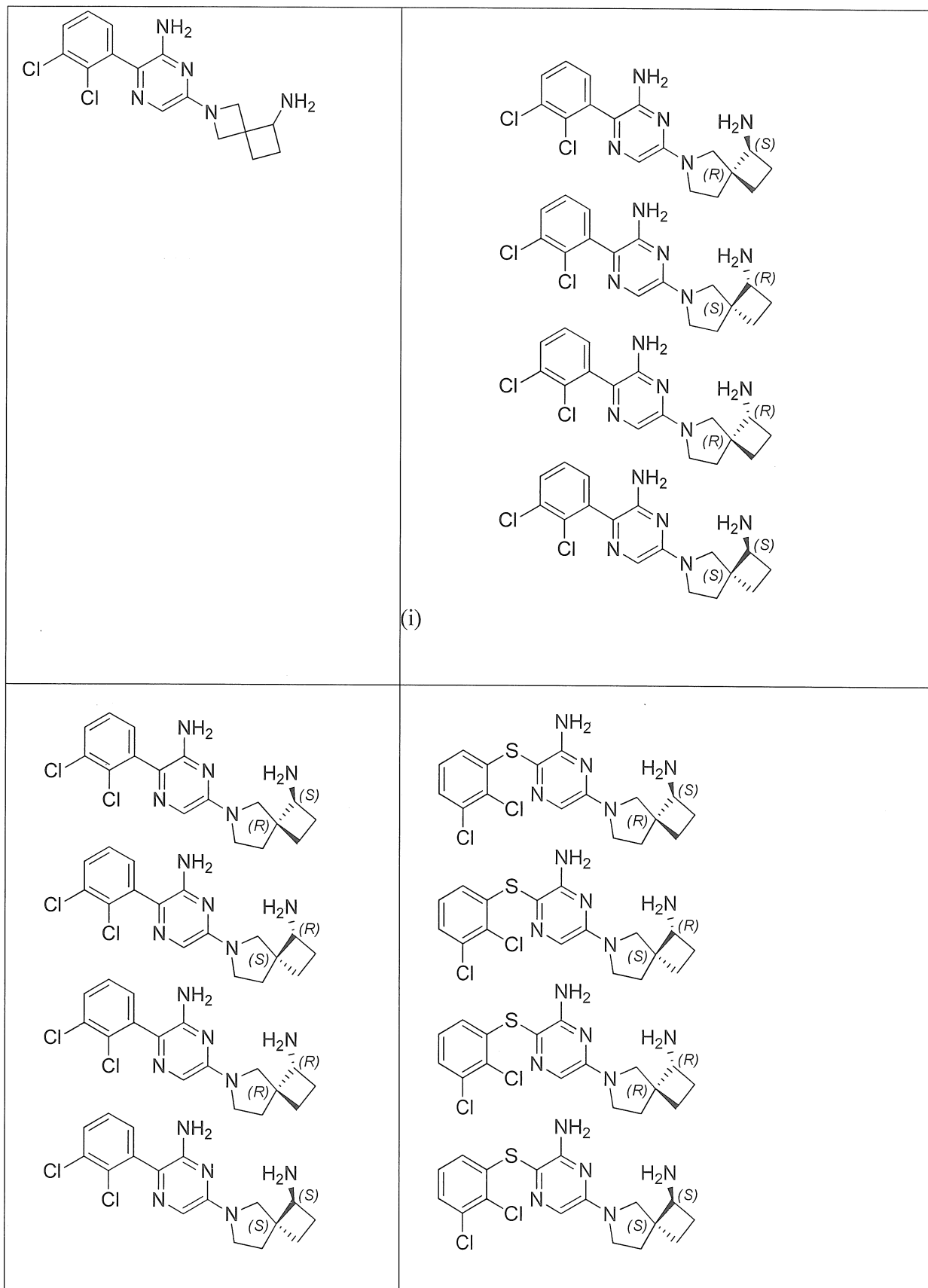
Sáng chế đề cập đến các hợp chất có khả năng ức chế hoạt tính của SHP2. Theo một khía cạnh của sáng chế, đối với các hợp chất có công thức I, $-XR_{1a}$ là $-SR_{1a}$ và được chọn từ:

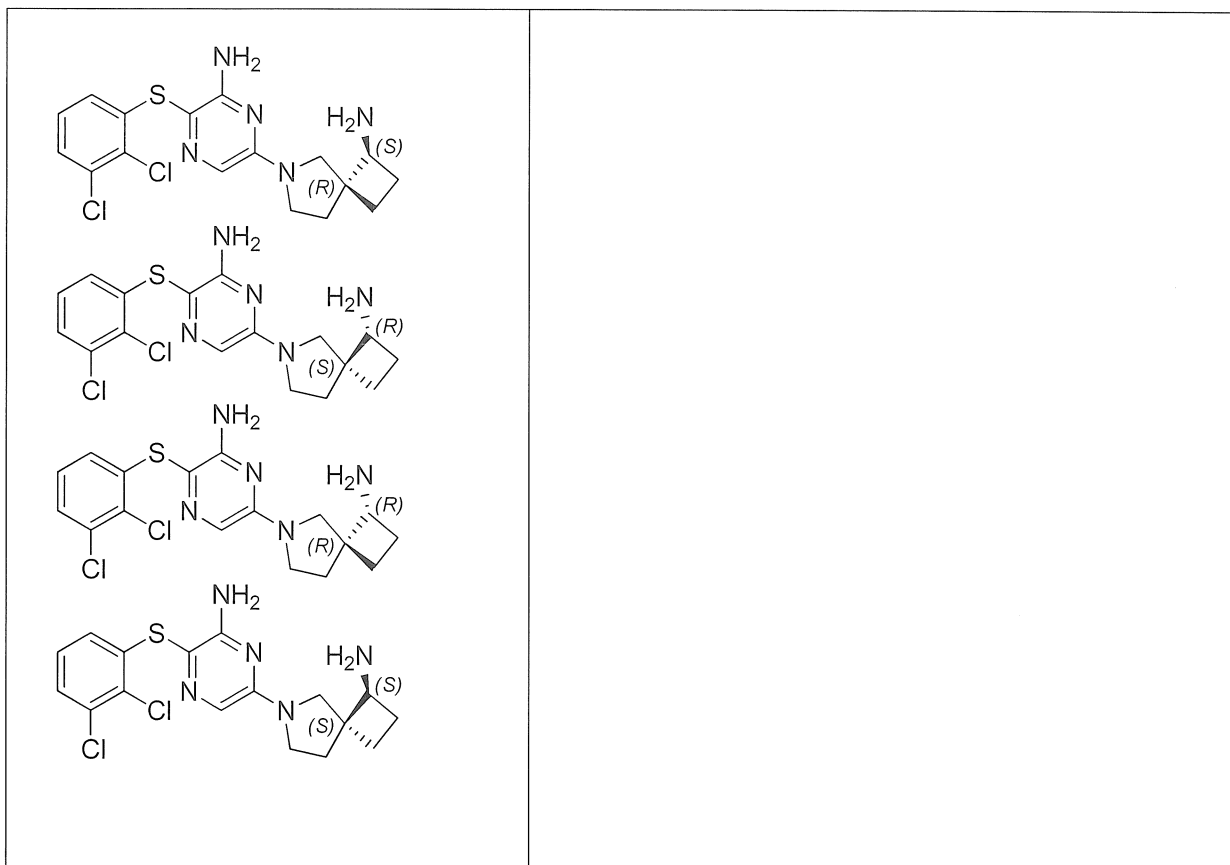


Theo khía cạnh khác của sáng chế, $-XR_{1a}$ là $-SR_{1a}$ và được chọn từ:

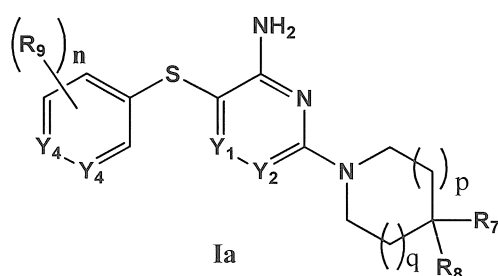


Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:





Theo khía cạnh khác, đối với các hợp chất có công thức I, là các hợp chất có công thức Ia:



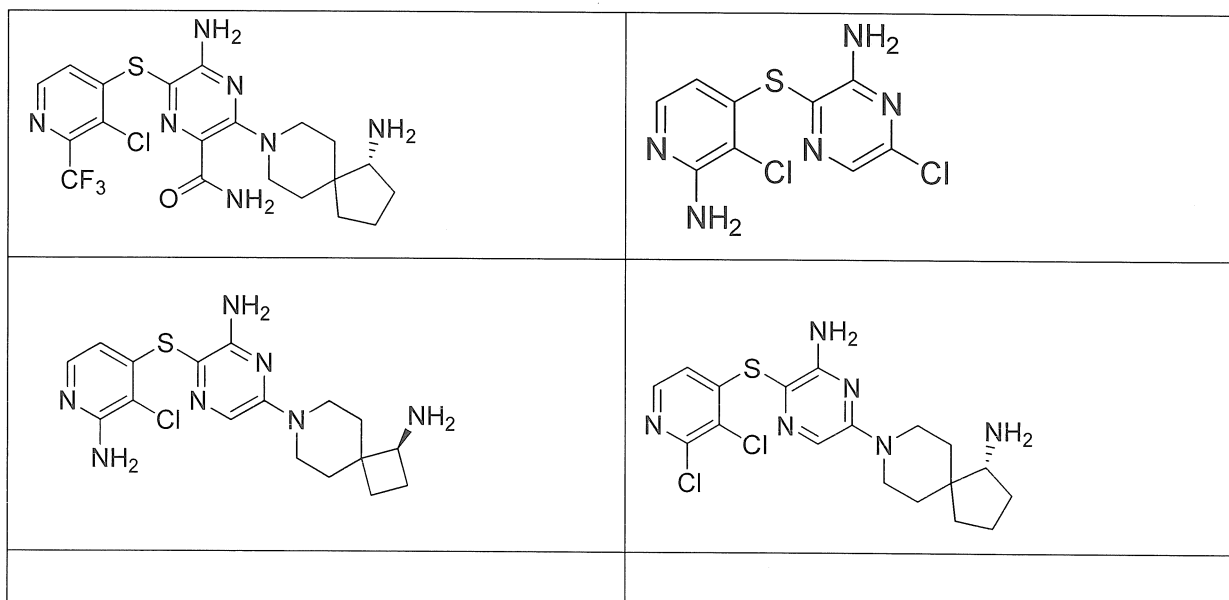
trong đó: n được chọn từ 1, 2, 3 và 4; p được chọn từ 0 và 1; q được chọn từ 0 và 1; Y_1 được chọn từ CH và N; Y_2 được chọn từ CR_6 và N; Y_4 độc lập được chọn từ N, C(O) và CR_9 ; trong đó chỉ một Y_4 là C(O); R_6 được chọn từ hydro, halo, metyl và amino-cacbonyl; R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O) $_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thể hoặc được thể bằng 1

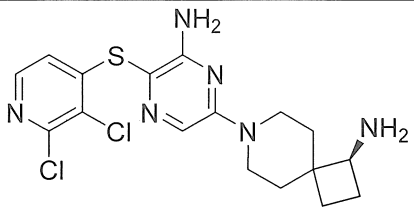
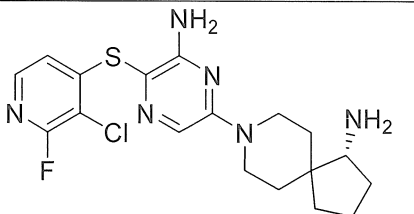
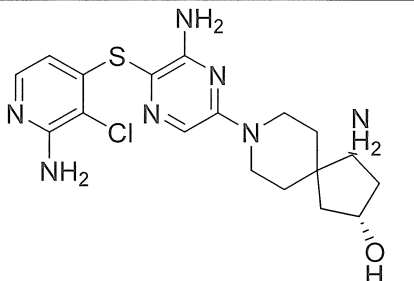
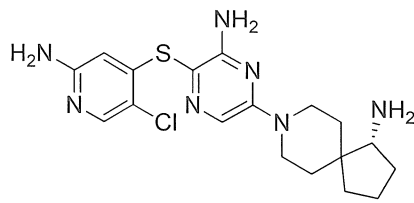
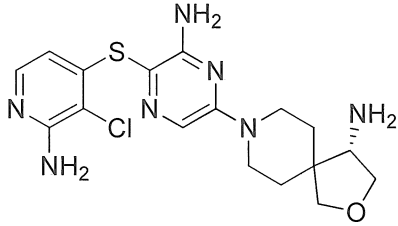
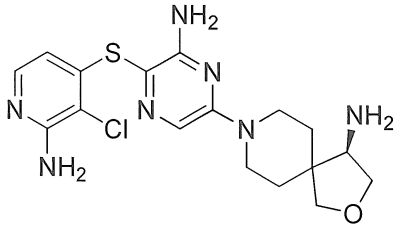
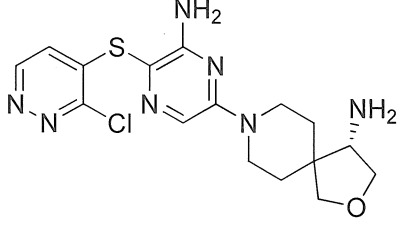
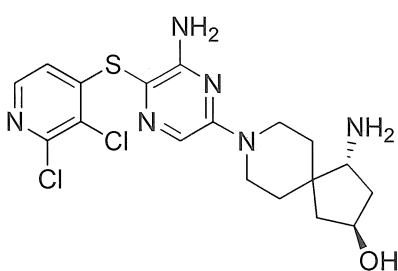
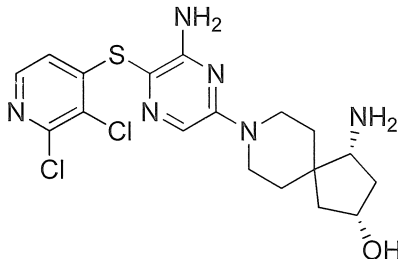
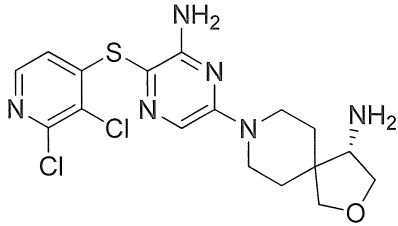
đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, halo, hydroxy, amino-metyl và metyl-amino; hoặc

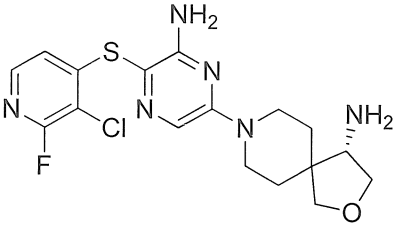
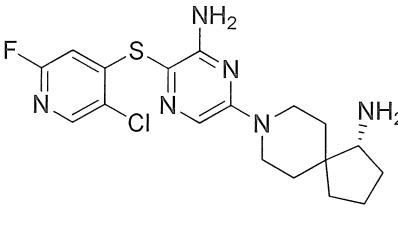
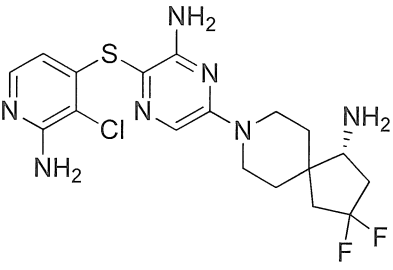
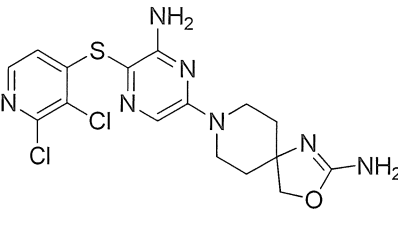
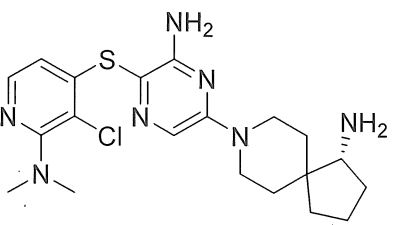
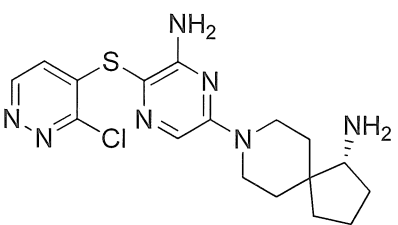
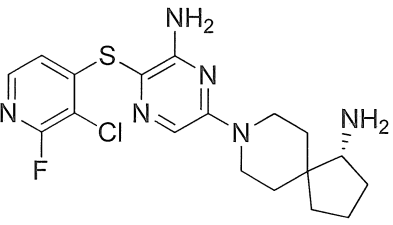
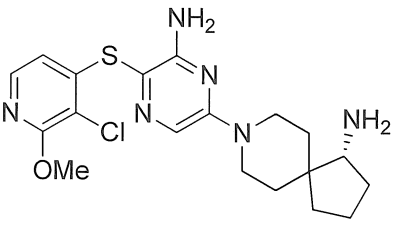
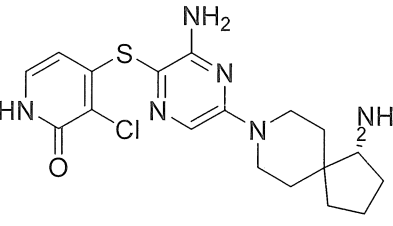
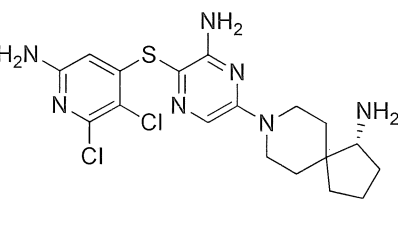
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 5 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 2 nguyên tử khác loại hoặc nhóm được chọn từ N, O, C(O) và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thể bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, metyl, metyl-amino và isobutylryloxy, hoặc R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 6 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó nêu trên được tạo thành bởi R_7 và R_8 vòng no được thể bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl và metyl-amino, hoặc R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 4 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 được thể bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl và metyl-amino;

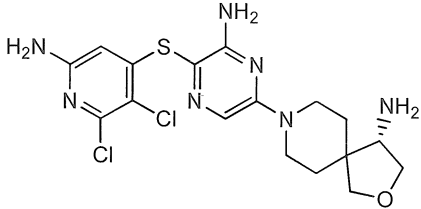
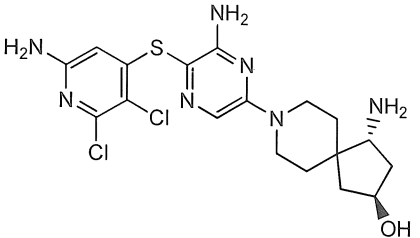
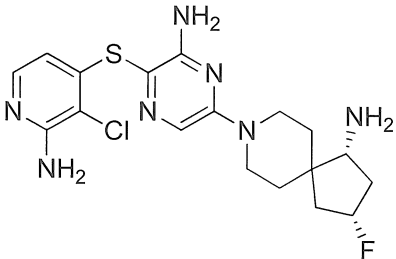
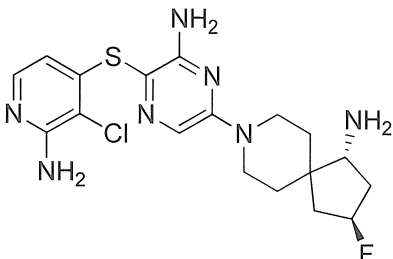
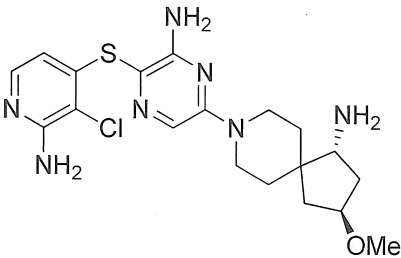
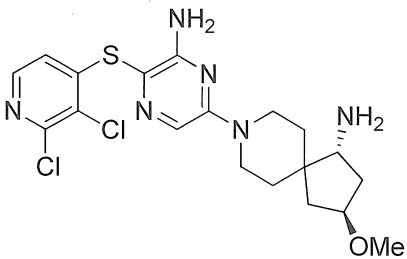
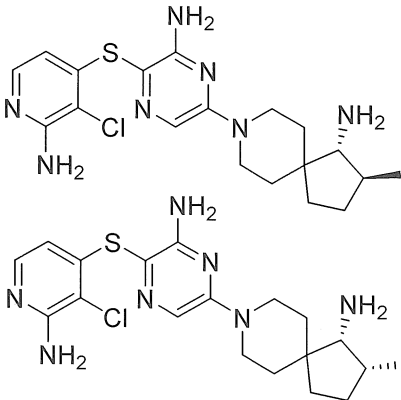
R_9 được chọn từ halo, amino, dimetyl-amino, hydroxy, N_3 , C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thể halo, C_{1-4} alkoxy, $-C(O)OR_{10}$ và $-NHC(O)R_{10}$; R_{10} được chọn từ hydro, phenyl và naphtyl; trong đó phenyl là R_{10} nêu trên không được thể hoặc được thể bằng metoxy; hoặc muối được dụng của nó.

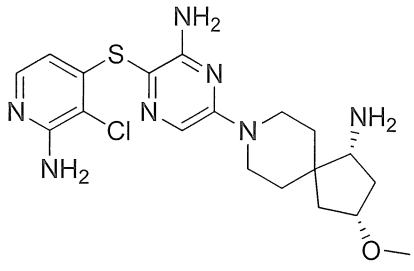
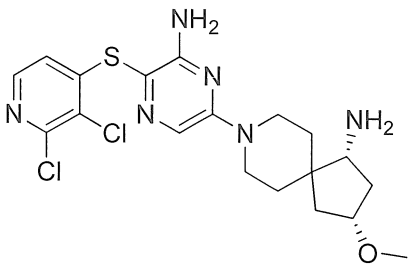
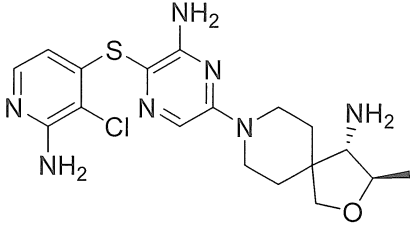
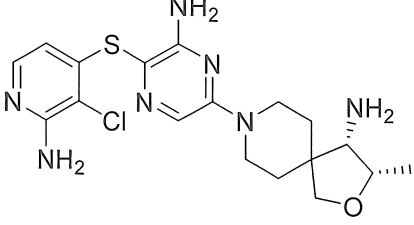
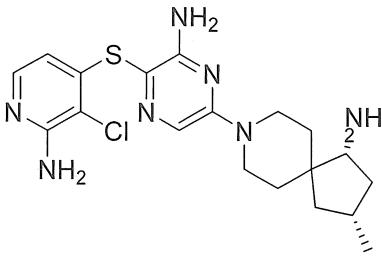
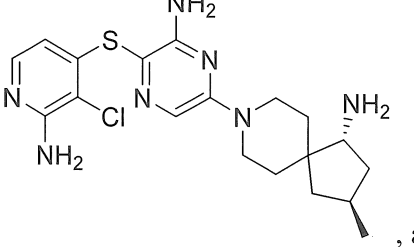
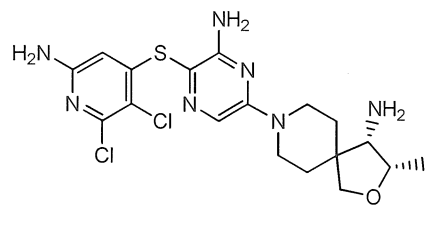
Theo một khía cạnh nữa của sáng chế, các hợp chất, hoặc muối được dụng của chúng, được chọn từ:



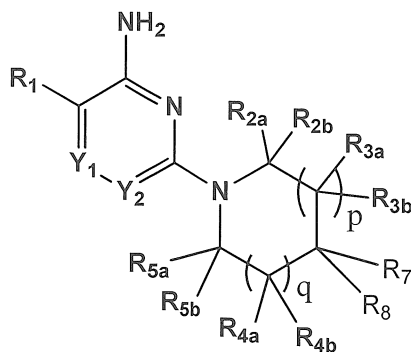
	
	
	
	
	

	
	
	 , and
	

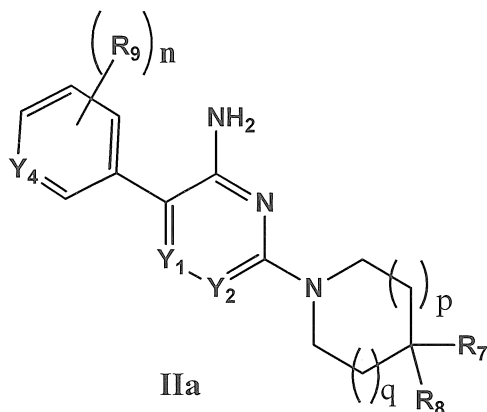
Khía cạnh khác của sáng chế là các hợp chất có công thức II:



II

trong đó: p được chọn từ 0 và 1; q được chọn từ 0 và 1; Y₁ được chọn từ CH và N; Y₂ được chọn từ CR₆ và N; R₁ được chọn từ C₆₋₁₀aryl, C₃₋₈xycloalkyl, C₃₋₈xycloalkenyl và nhóm heteroaryl có 5-9 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S; trong đó aryl hoặc heteroaryl là R_{1a} nêu trên được thế bằng 1 đến 5 nhóm R₉ độc lập được chọn từ halo, amino, hydroxy, N₃, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkyl được thế hydroxy, C₁₋₄alkyl được thế halo và C₁₋₄alkyl được thế amino; R_{2a} và R_{2b} độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{3a} và R_{3b} độc lập được chọn từ halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈xycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino; trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a}, R_{3a}, R_{4a}, R_{5a} và R_{7a} có thể tạo thành vòng không no hoặc không no một phần có 5 đến 6 cạnh; R₆ được chọn từ hydro, halo, xyano, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino-cacbonyl, C₁₋₄alkyl được thế halo, C₁₋₄alkoxy được thế halo, C₁₋₄alkyl được thế hydroxy và C₁₋₄alkyl được thế amino; R₇ và R₈ cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)_m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R₇ và R₈ nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng từ 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, halo, hydroxy, amino-metyl và metyl-amino; hoặc muối được dụng của nó.

Khía cạnh nữa của sáng chế là các hợp chất có công thức IIa:



trong đó: n được chọn từ 1, 2, 3 và 4; p được chọn từ 0 và 1; q được chọn từ 0 và 1;

Y_1 được chọn từ CH và N; Y_2 được chọn từ CR_6 và N; Y_4 được chọn từ N và CR_9 ; R_6 được chọn từ hydro, halo, methyl và amino-cacbonyl;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-methyl và methyl-amino; hoặc

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 5 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-methyl, và methyl-amino, hoặc

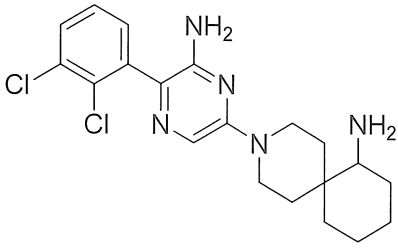
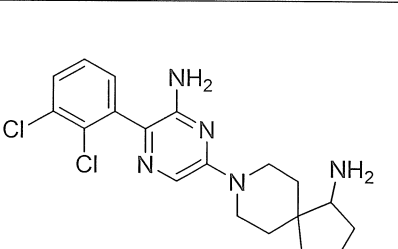
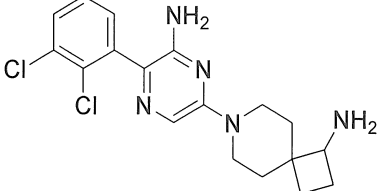
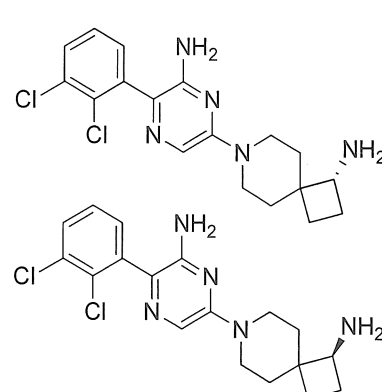
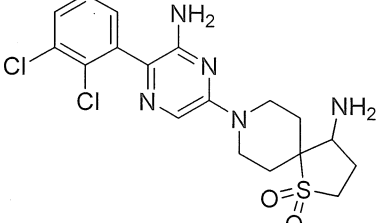
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 6 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-methyl và methyl-amino, hoặc

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 4 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng amino;

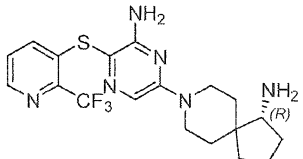
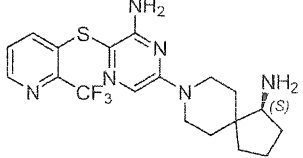
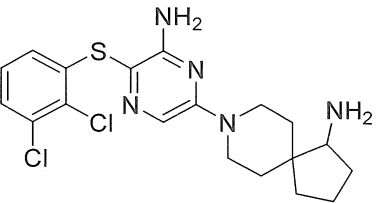
R_9 được chọn từ halo, amino, hydroxy, N_3 , C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy, $-C(O)OR_{10}$ và $-NHC(O)R_{10}$; R_{10} được chọn từ hydro, phenyl và naphtyl;

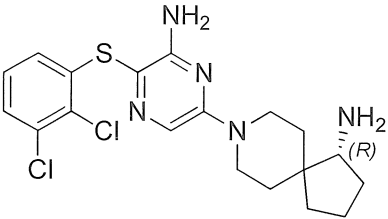
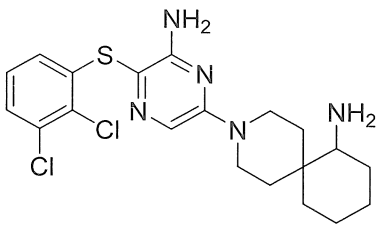
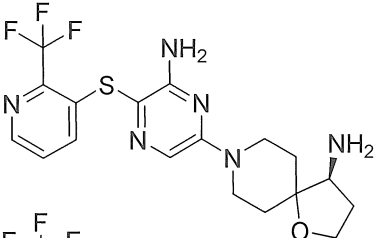
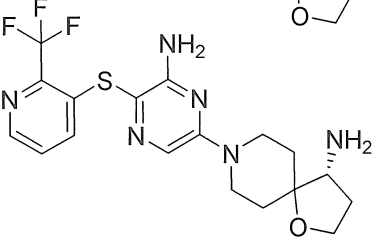
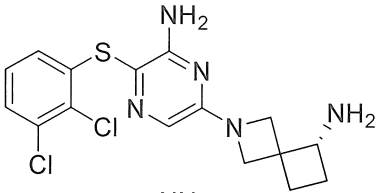
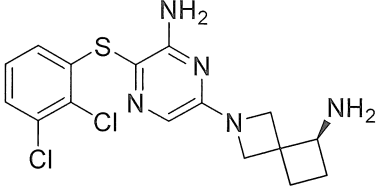
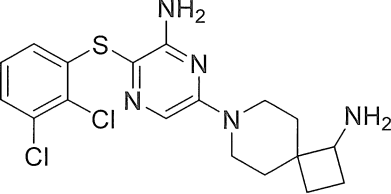
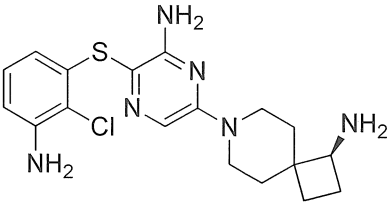
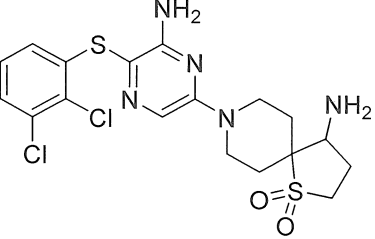
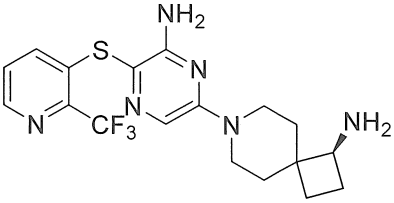
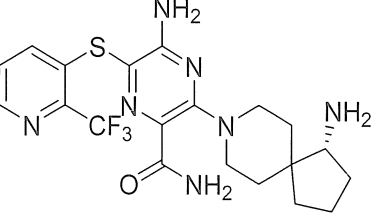
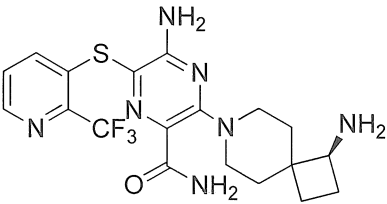
trong đó phenyl là R₁₀ nêu trên không được thế hoặc được thế bằng metoxy; hoặc muối được dụng của chúng.

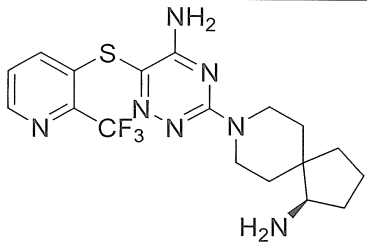
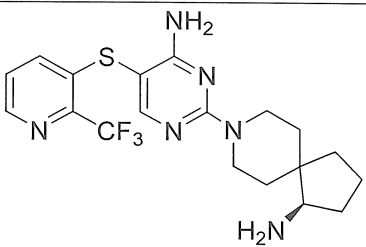
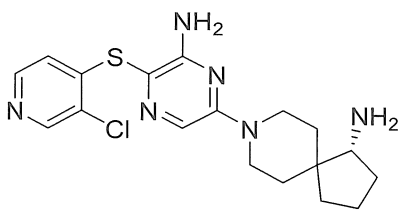
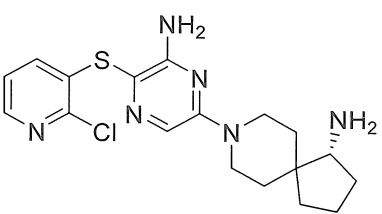
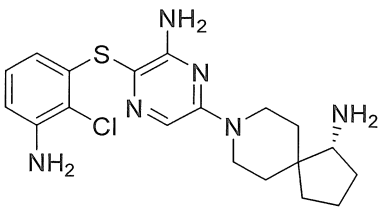
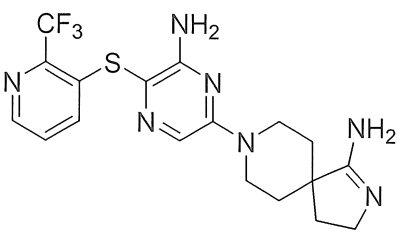
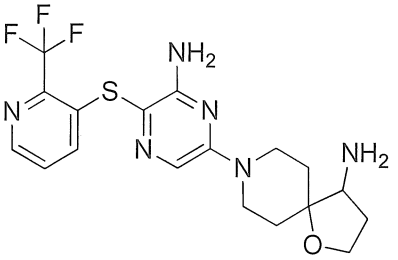
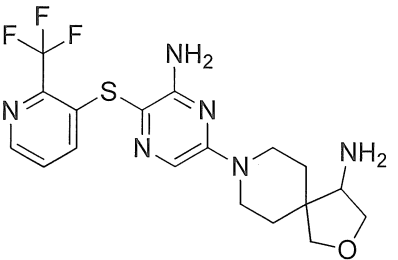
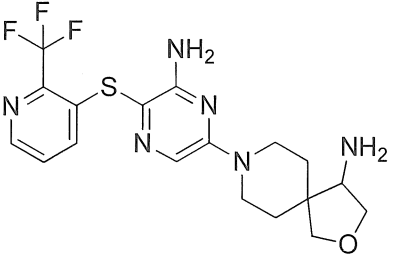
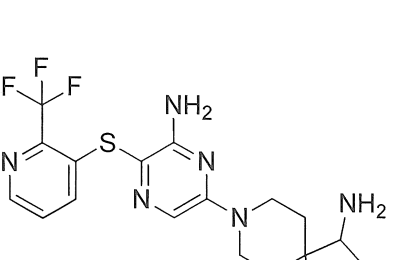
Khía cạnh nữa của sáng chế là hợp chất, hoặc muối được dụng của chúng, được chọn từ:

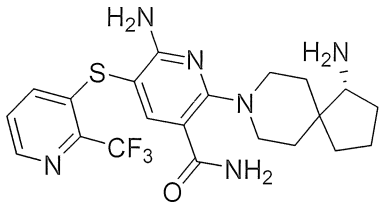
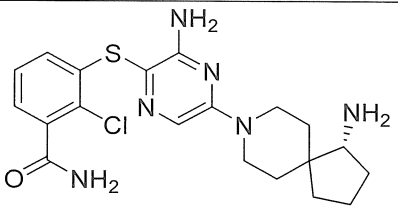
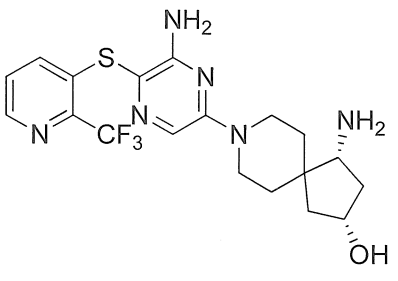
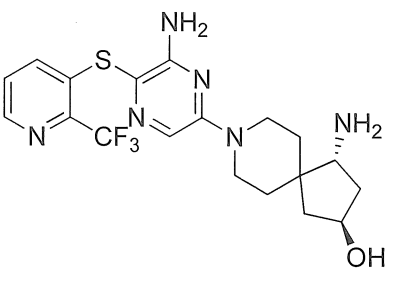
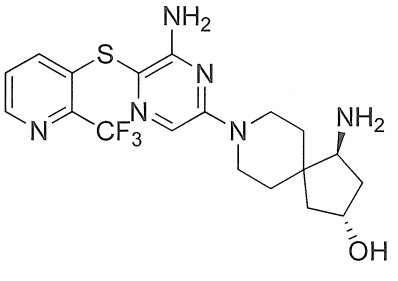
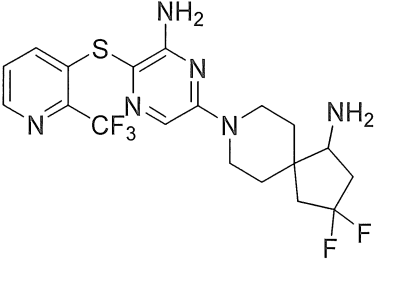
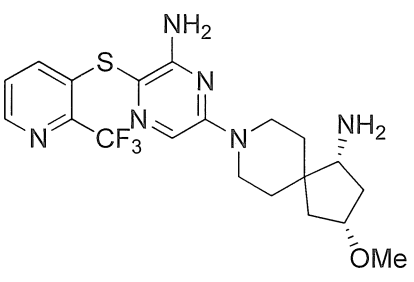
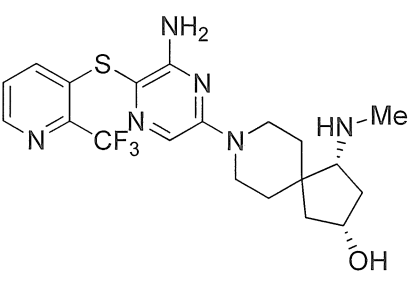
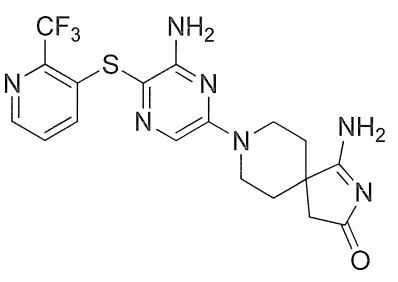
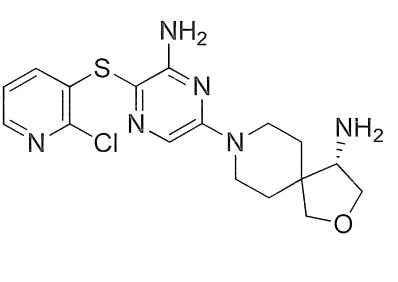
	
	
	

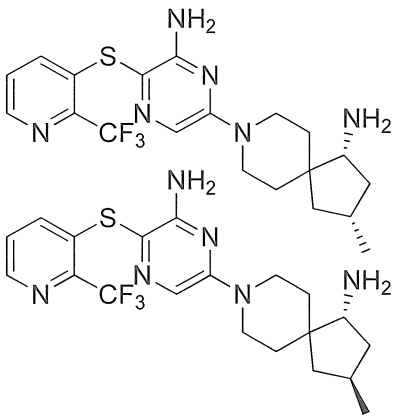
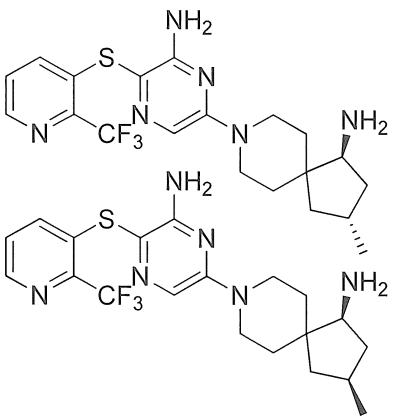
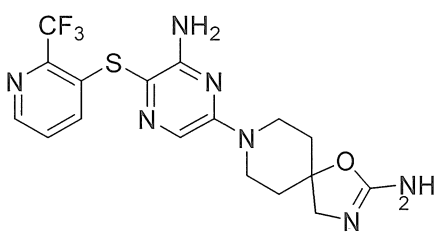
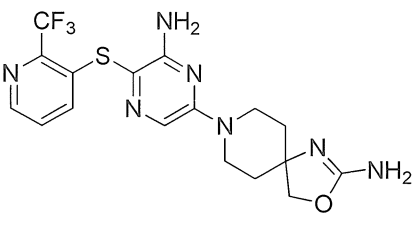
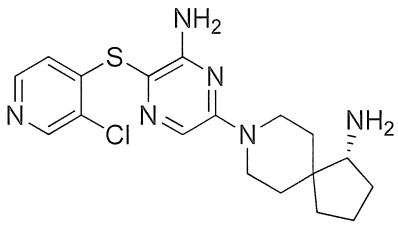
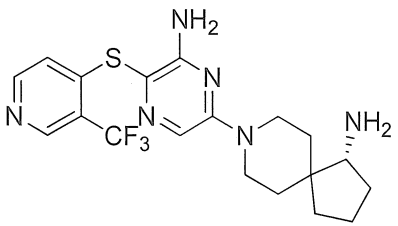
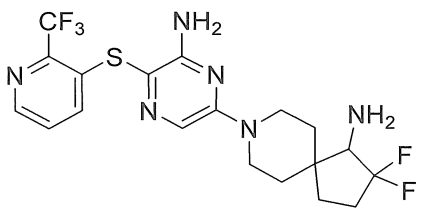
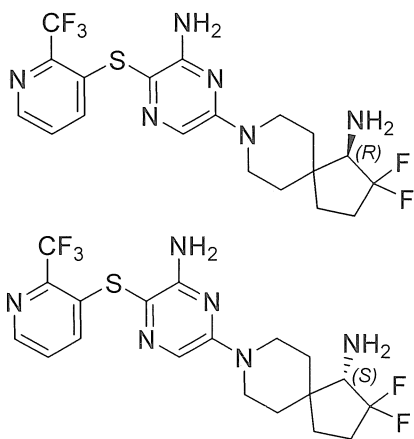
Khía cạnh nữa của sáng chế là hợp chất, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:

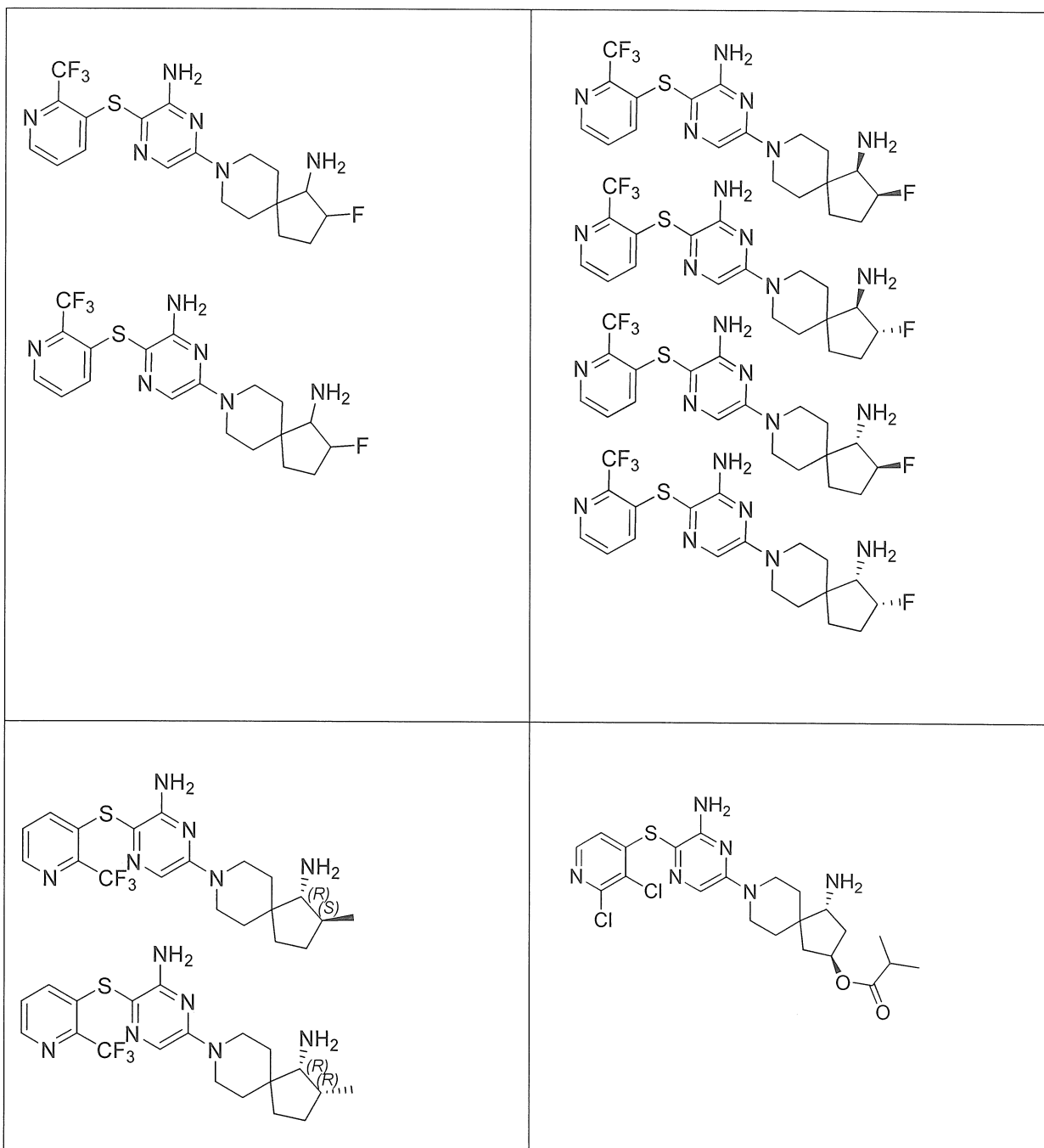
 	
---	--

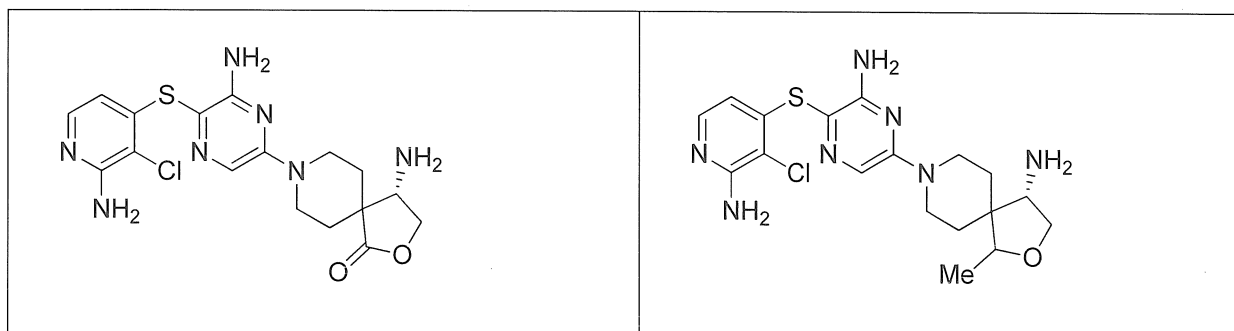
	
	
	
	
	

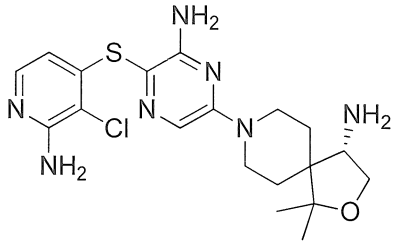
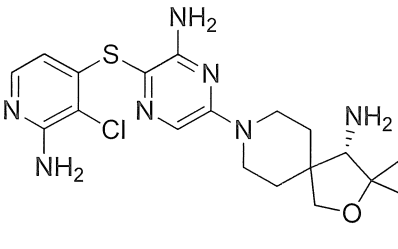
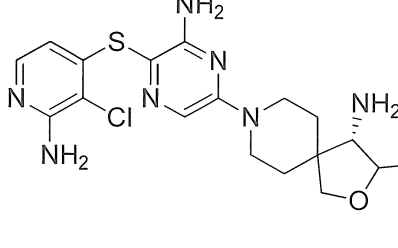
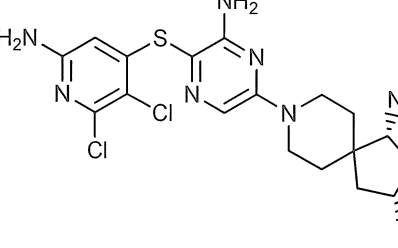
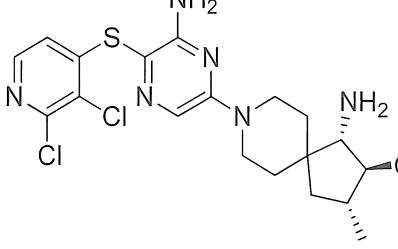
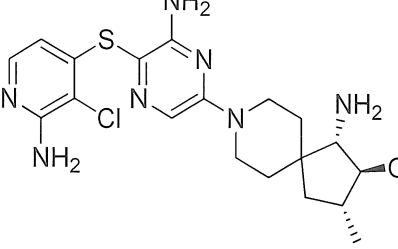
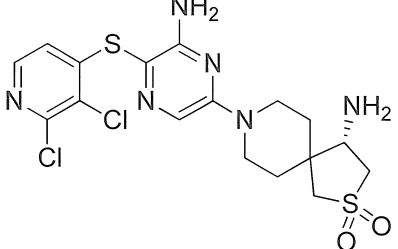
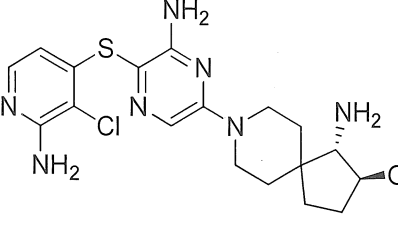
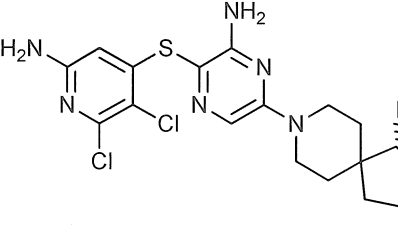
	
	
	
	
	

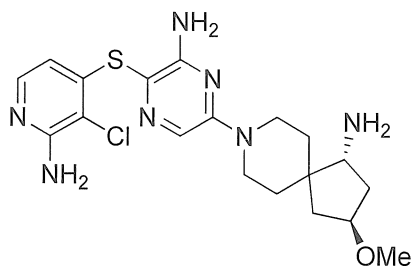


Khí cạnh nữa của sáng chế là hợp chất, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:



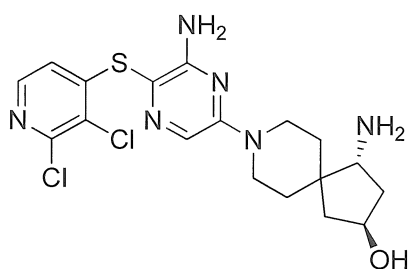
	
	
	
	
	

Khía chọn trực dụng của ếếu là hchọn trực dụng của ếế



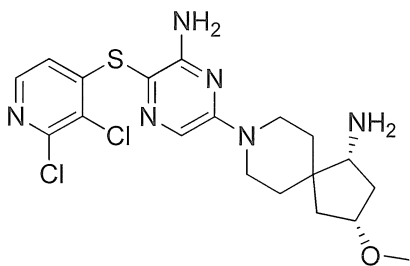
hoặc muối được dụng của nó,

hoặc hợp chất là:



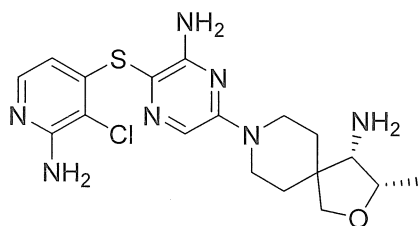
hoặc muối được dụng của nó,

hoặc hợp chất là:



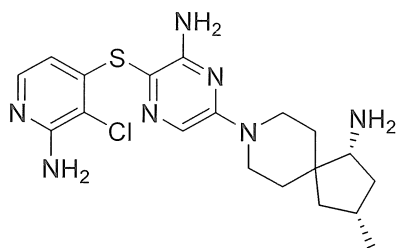
hoặc muối được dụng của nó,

hoặc hợp chất là:



hoặc muối được dụng của nó,

hoặc hợp chất là:



hoặc muối được dụng của nó.

Dược lý và lợi ích:

Src Homolgy-2 phosphatase (SHP2) là protein tyrosin phosphatase được mã hóa bằng gen PTPN11 mà góp phần vào nhiều chức năng tế bào, bao gồm sự tăng sinh, biệt hóa, duy trì chu kỳ tế bào và sự di chuyển của tế bào. SHP2 tham gia quá trình truyền tín hiệu thông qua các con đường protein kinase được hoạt hóa bởi tác nhân phân bào Ras (Ras-mitogen-activated protein kinase), JAK–STAT hoặc phosphoinositol 3-kinase–AKT. SHP2 gây ra hoạt động của Erk1 và Erk2 (Erk1/2, Erk) MAP kinase bởi tyrosin kinase là thụ thể chẳng hạn như ErbB1, ErbB2 và c-Met.

SHP2 có hai miền Src homology 2 đầu N (N-SH2 và C-SH2), một miền xúc tác (PTP), và một đuôi đầu C. Hai miền SH2 kiểm soát vị trí dưới tế bào và sự điều hòa chức năng của SHP2. Phân tử tồn tại ở cấu dạng bất hoạt, ức chế hoạt tính của chính nó thông qua mạng lưới liên kết liên quan đến các gốc từ cả hai miền N-SH2 và PTP. Để đáp ứng với kích thích tố tăng trưởng, SHP2 liên kết với các vị trí được phosphoryl hóa bằng thyroxin cụ thể trên các protein gắn kết chẳng hạn như Gab1 và Gab2 qua các miền SH2 của nó. Điều này gây ra sự thay đổi về cấu dạng mà tạo nên hoạt động của SHP2.

Các đột biến ở PTPN11 được xác định ở một vài bệnh ở người, chẳng hạn như hội chứng Noonan, hội chứng Leopard, bệnh bạch cầu tủy đơn bào ở người trẻ, u nguyên bào thần kinh, u sắc tố, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính và các bệnh ung thư vú, phổi và ruột già. SHP2 là phân tử truyền tín hiệu xuôi dòng quan trọng cho một loạt tyrosin kinase là thụ thể, bao gồm các thụ thể là yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tiểu cầu (PDGF-R), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (FGF-R) và yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF-R). SHP2 cũng là phân tử truyền tín hiệu xuôi dòng trong con đường protein kinase hoạt hóa bởi mitogen dẫn đến sự biến nạp tế bào, của protein kinase được hoạt hóa bởi tác nhân phân bào (MAP) mà có thể dẫn đến biến đổi tế bào,

điều kiện tiên quyết cho sự phát triển của bệnh ung thư. Việc làm câm gen (knock-down) SHP2 ức chế đáng kể sự tăng trưởng tế bào của dòng tế bào ung thư phổi chứa đột biến SHP2 hoặc chuyển vị EML4/ALK cũng như các bệnh ung thư vú và ung thư thực quản bị khuếch đại gen EGFR. SHP2 cũng là dòng dưới bị kích hoạt của gen gây ung thư ở bệnh ung thư biểu mô dạ dày, u lympho tế bào lớn thoái sản và u nguyên bào thần kinh đệm.

Hội chứng Noonan (NS) và hội chứng Leopard (LS) – các đột biến PTPN11 gây ra LS (đa tàn nhang, bất thường truyền dẫn điện tim, tật hai mắt cách xa, hẹp động mạch phổi, cơ quan sinh dục bất thường, chậm tăng trưởng, dị tật thần kinh giác quan) và NS (dị tật bẩm sinh bao gồm dị tật tim, bất thường sọ và mặt và tầm vóc ngắn). Cả hai rối loạn là một phần của họ các rối loạn gen trội trên nhiễm sắc thể thường gây ra bởi đột biến dòng mầm trong các thành phần của con đường protein kinaza hoạt hóa bởi tác nhân phân bào RAS/RAF/MEK/ERK, yêu cầu đối với sự tăng trưởng và biệt hóa tế bào thường. Quy định khác thường của con đường này có tác dụng sâu rộng, đặc biệt đối với sự phát triển tim, gây nên rất nhiều bất thường, bao gồm khiếm khuyết vách ngăn van tim và/hoặc bệnh cơ tim phì đại (HCM). Sự nhiễu loạn con đường truyền tín hiệu MAPK được thiết lập như là trung tâm đối với các rối loạn này và một vài gen ứng cử viên cùng với con đường này được xác định ở người, bao gồm các đột biến ở KRAS, NRAS, SOS1, RAF1, BRAF, MEK1, MEK2, SHOC2, và CBL. Các gen chủ yếu bị đột biến ở NS và LS là PTPN11. Đột biến dòng mầm ở PTPN11 (SHP2) được phát hiện ở ~50% trong số các trường hợp mắc NS và gần như ở tất cả các bệnh nhân mắc LS mà có chung các đặc tính nhất định với NS. Đối với NS, sự thay thế Y62D và Y63C ở protein phần lớn là bất biến và nằm trong số các đột biến phổ biến nhất. Cả hai đột biến này tác động đến cấu dạng không có hoạt tính xúc tác của SHP2 làm nhiễu loạn sự kết nối của phosphatase với các đối tác truyền tín hiệu phosphoryl hóa của nó.

Bệnh bạch cầu tủy đơn bào ở người trẻ (JMML) – các đột biến soma ở PTPN11 (SHP2) xảy ra ở khoảng 35% số bệnh nhân mắc JMML, rối loạn tăng sinh tủy thời thơ ấu (MPD). Các đột biến làm tăng chức năng này thường là các đột biến điểm ở miền N-SH2 hoặc ở miền phosphatase, chúng ngăn chặn sự tự ức chế giữa miền xúc tác và miền N-SH2, tạo nên hoạt tính SHP2.

Bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính – đột biến PTPN11 được xác định ở: ~10% trong số ca bệnh bạch cầu cấp tính ở trẻ em, chẳng hạn như hội chứng rối loạn sinh tủy (MDS); ~7% trong số ca bệnh bạch cầu nguyên bào lympho cấp tính tế bào B (B-ALL); và ~4% trong số ca bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (AML).

Các đột biến bệnh NS và bệnh bạch cầu gây ra các thay đổi trong các amino axit nằm ở bề mặt chung được tạo thành bởi các miền N-SH2 và PTP trong cấu dạng SHP2 tự ức chế, phá vỡ tương tác nội phân tử ức chế, dẫn đến tăng hoạt tính của miền xúc tác.

SHP2 hoạt động như là chất điều hòa dương tính trong truyền tín hiệu tyrosin kinaza thụ thể (RTK). Các bệnh ung thư chứa sự thay đổi RTK (EGFR^{amp}, Her2^{amp}, FGFR^{amp}, Met^{amp}, RTK dimer/chức kích hoạt, nghĩa là ALK, BCR/ABL) bao gồm các bệnh ung thư thực quản, vú, phổi, ruột già, dạ dày, thần kinh đệm, đầu và cổ.

Bệnh ung thư thực quản là bệnh thực quản ác tính. Có rất nhiều phân nhóm khác nhau, bệnh ung thư tế bào vảy chính (<50%) và bệnh ung thư tuyến. Có một tỷ lệ cao các biểu hiện RTK ở bệnh ung thư tuyến thực quản và bệnh ung thư tế bào vảy. Chất ức chế SHP2 theo sáng chế, vì vậy, có thể được sử dụng cho các chiến lược điều trị cải tiến.

Bệnh ung thư vú là loại bệnh ung thư chính và là nguyên nhân tử vong hàng đầu ở phụ nữ, trong đó các bệnh nhân trở nên kháng các loại thuốc hiện nay. Có bốn phân nhóm chính trong bệnh ung thư phổi bao gồm luminal A, luminal B, thể Her2, và thể cơ bản/bộ ba âm tính. Bệnh ung thư vú thể bộ ba âm tính (triple negative breast cancer - TNBC) là bệnh ung thư vú tăng triển thiếu liệu pháp điều trị nhắm đích cụ thể. Thụ thể của yếu tố tăng trưởng biểu bì I (EGFR) đã xuất hiện như là mục tiêu hứa hẹn trong TNBC. Sự ức chế Her2 cũng như EGFR thông qua SHP2 có thể là liệu pháp đầy hứa hẹn đối với bệnh ung thư vú.

Bệnh ung thư phổi – NSCLC hiện nay là nguyên nhân chính trong số các ca tử vong liên quan đến bệnh ung thư. Tính toán cho khoảng 85% trong số các bệnh ung thư phổi (chủ yếu là ung thư tuyến và ung thư biểu mô tế bào vảy). Mặc dù hóa trị liệu bằng cách gây độc tế bào vẫn đóng vai trò quan trọng trong điều trị bệnh, phương pháp điều trị nhắm đích dựa trên biến đổi gen chẳng hạn như EGFR và ALK trong các khối u có nhiều khả năng hưởng lợi từ liệu pháp nhắm đích.

Bệnh ung thư ruột già – khoảng 30% đến 50% trong số các khối u trực tràng được biết đến là có *KRAS* đột biến (bất thường), và sự đột biến *BRAF* xảy ra ở 10 đến 15% trong số các bệnh ung thư trực tràng. Đối với một nhóm nhỏ các bệnh nhân có các khối u trực tràng được chứng minh là biểu hiện quá mức EGFR, các bệnh nhân này biểu hiện đáp ứng lâm sàng thuận lợi đối với liệu pháp kháng EGFR.

Bệnh ung thư dạ dày là một trong số các loại bệnh ung thư phổ biến. Sự biểu hiện khác thường của các tyrosin kinaza, như được phản ánh bởi quá trình phosphoryl hóa tyrosin khác thường trong các tế bào ung thư dạ dày, đã được biết đến trong lĩnh vực này. Ba tyrosin kinaza là thụ thể, *c-met* (thụ thể HGF), thụ thể FGF 2, và *erbB2/neu* thường bị khuếch đại trong ung thư biểu mô dạ dày. Vì vậy, sự phá hoại các con đường tín hiệu khác nhau có thể đóng góp vào quá trình tiến triển của các loại bệnh ung thư dạ dày khác nhau.

U nguyên bào thần kinh là khối u nhi của hệ thống thần kinh giao cảm phát triển, chiếm khoảng 8% trong số các bệnh ung thư ở trẻ em. Các biến đổi gen của gen huyết bào kinaza tự ghép (*ALK*) được công nhận là góp phần vào sinh bệnh học u nguyên bào thần kinh.

Ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu và cổ (SCCHN). Mức độ cao của biểu hiện EGFR có mối tương quan với tiên lượng bệnh xấu và sự kháng lại quá trình xạ trị ở hàng loạt các bệnh ung thư, chủ yếu ở bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu và cổ (SCCHN). Ngăn chặn các tín hiệu EGFR gây ức chế kích thích thụ thể, sự tăng sinh tế bào, và giảm xâm lấn và di căn. EGFR, do đó, là mục tiêu chính cho liệu pháp chống ung thư mới ở bệnh SCCHN.

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có khả năng ức chế hoạt tính của SHP2. Sáng chế còn bộc lộ quy trình để điều chế hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa hợp chất này. Khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I, để sử dụng trong điều trị các rối loạn gây ra bởi SHP2 bao gồm bước dùng cho bệnh nhân cần điều trị lượng có hiệu quả điều trị bệnh của hợp chất có công thức I như được xác định trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng như nêu trên, trong đó các rối loạn gây ra bởi SHP2 đã nêu là các bệnh ung thư được chọn từ, nhưng không bị giới hạn ở: JMML; AML; MDS; B-ALL; u nguyên bào thần kinh;

bệnh ung thư thực quản; bệnh ung thư vú; bệnh ung thư phổi; bệnh ung thư ruột già; bệnh ung thư dạ dày, ung thư đầu và cổ, hoặc

trong đó bệnh và rối loạn do hoạt tính của SHP2 gây ra được chọn từ hội chứng Noonan, hội chứng da báo, bệnh bạch cầu tủy bào thiếu niên, u nguyên bào thần kinh, khối u ác tính, ung thư bạch cầu tủy cấp tính, ung thư vú, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư ruột kết, ung thư đầu, u nguyên bào thần kinh, ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu và cổ, ung thư biểu mô tế bào ruột, u lymphô tế bào lớn thoái sản và u nguyên bào thần kinh đệm.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu ích trong điều trị các bệnh hoặc tình trạng khác có liên quan đến hoạt tính khác thường của SHP2. Do đó, như là khía cạnh tiếp theo, sáng chế đề cập đến hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong điều trị rối loạn được chọn từ: NS; LS; JMML; AML; MDS; B-ALL; u nguyên bào thần kinh; bệnh ung thư thực quản; bệnh ung thư vú; bệnh ung thư phổi; bệnh ung thư ruột già; bệnh ung thư dạ dày; bệnh ung thư đầu và cổ.

Chất ức chế SHP2 theo sáng chế có thể được kết hợp một cách hữu ích với hợp chất có hoạt tính dược lý khác, hoặc với hai hoặc nhiều các hợp chất có hoạt tính dược lý khác, đặc biệt là trong điều trị bệnh ung thư. Ví dụ, hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, như được xác định ở trên, có thể được dùng đồng thời, tuần tự hoặc riêng biệt khi kết hợp với một hoặc nhiều chất được chọn từ các chất hóa trị liệu, ví dụ, các chất ức chế phân bào chẳng hạn như taxan, vinca alkaloid, paclitaxel, docetaxel, vincristin, vinblastin, vinorelbin hoặc vinflunin, và các chất chống ung thư khác, ví dụ cisplatin, 5-fluoracil hoặc 5-flu-2-4(1 H,3H)-pyrimidindion (5FU), flutamin hoặc gemcitabin. Do đó, sáng chế đề xuất tổ hợp chất ức chế SHP2 theo sáng chế, và một hoặc nhiều hợp chất có hoạt tính dược, cụ thể, trong đó hợp chất hoặc các hợp chất có hoạt tính dược khác để sử dụng trong điều trị ung thư, và cụ thể hơn là hợp chất hoặc các hợp chất có hoạt tính dược khác được chọn từ vinca alkaloid, paclitaxel, docetaxel, vincristin, vinblastin, vinorelbin, vinflunin, cisplatin, 5-fluoraxil, 5-flu-2-4(1 H,3H)-pyrimidindion (5FU), flutamin và gemcitabin.

Các tổ hợp như vậy có thể đem lại lợi ích đáng kể, bao gồm hoạt tính hiệp đồng, trong điều trị.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó hợp chất đã nêu được dùng ngoài đường tiêu hóa.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó hợp chất đã nêu được dùng theo đường tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, đường miệng, đường phổi, tiêm trong vỏ, tại chỗ hoặc đường mũi.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó hợp chất đã nêu được dùng một cách hệ thống.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó bệnh nhân đã nêu là động vật có vú.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó bệnh nhân đã nêu là loài linh trưởng.

Theo các phương án nhất định, sáng chế đề cập đến hợp chất để sử dụng đã nêu ở trên, trong đó bệnh nhân đã nêu là con người.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I để điều trị rối loạn gây ra bởi SHP2, bao gồm bước: dùng cho bệnh nhân cần điều trị lượng có hiệu quả điều trị của chất hóa trị liệu khi kết hợp với lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I như được xác định trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế.

Dược phẩm

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dược dụng chứa lượng có hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều trong số các hợp chất được mô tả ở trên, được bào chế cùng với một hoặc nhiều chất mang (chất phụ trợ) và/hoặc chất pha loãng dược dụng. Như được mô tả chi tiết dưới đây, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế đặc biệt để dùng ở dạng rắn hoặc lỏng, bao gồm các dược phẩm phù hợp với các đường dùng sau: (1) dùng qua đường miệng, ví dụ, thuốc nước (dung dịch hoặc huyền phù chứa nước hoặc không chứa nước), viên nén, ví dụ, các viên nén nhằm để hấp thụ qua miệng, dưới lưỡi, và toàn thân, tiêm tĩnh mạch nhanh, bột, hạt, bột nhão để dùng cho lưỡi; (2) dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, bằng cách tiêm dưới da, tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm ngoài màng cứng như là, ví dụ, dung dịch hoặc huyền phù vô trùng, hoặc chế phẩm giải phóng bền vững; (3) dùng tại chỗ, ví dụ, như là kem, thuốc mỡ, hoặc miếng băng được giải phóng được kiểm soát hoặc phun lên da; (4) trong âm đạo

hoặc trong trực tràng, ví dụ, như là viên đặt âm đạo, kem hoặc bột; (5) dưới lưỡi; (6) dùng cho mắt; (7) dùng qua da; (8) dùng cho mũi; (9) dùng cho phổi; hoặc (10) tiêm trong vỏ.

Cụm từ "lượng có hiệu quả điều trị" như được sử dụng ở đây nghĩa là lượng của hợp chất, nguyên liệu, hoặc chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế mà có hiệu quả để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn ở ít nhất một tiểu quần thể tế bào ở động vật ở tỷ lệ lợi ích/rủi ro chấp nhận được áp dụng được cho bất kỳ quá trình điều trị y khoa nào.

Cụm từ "dược dụng" được dùng để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm, và/hoặc dạng liều mà, nằm trong phạm vi của sự đánh giá y khoa, thích hợp để sử dụng khi tiếp xúc với các mô của con người và động vật mà không có độc tính, kích thích, phản ứng dị ứng quá mức, hoặc các vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/rủi ro chấp nhận được.

Cụm từ "chất mang dược dụng" như được sử dụng ở đây nghĩa là vật liệu, chế phẩm hoặc chất dẫn thuốc dược dụng, chẳng hạn như chất làm đầy, chất pha loãng, tá dược lỏng hoặc chất rắn hỗ trợ sản xuất (ví dụ, chất làm trơn, talc magie, canxi hoặc kẽm stearat, hoặc axit steric), hoặc vật liệu bao gói dung môi, tham gia vào việc mang hoặc vận chuyển hợp chất đã nêu từ một cơ quan, hoặc phần của cơ thể, đến cơ quan, hoặc phần khác của cơ thể. Mỗi chất mang phải "chấp nhận được" xét trên ý nghĩa tương thích với các thành phần khác của chế phẩm và không gây nguy hại cho bệnh nhân. Một số ví dụ về các vật liệu có thể đóng vai trò làm chất mang dược dụng bao gồm: (1) đường, chẳng hạn như lactoza, glucoza và sucroza; (2) tinh bột, chẳng hạn như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; (3) xenluloza, và các dẫn xuất của nó, chẳng hạn như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; (4) nhựa tragacan dạng bột; (5) mạch nha; (6) gelatin; (7) talc; (8) tá dược, chẳng hạn như bơ ca cao và sáp đàn; (9) dầu, chẳng hạn như dầu lạc, dầu hạt bông, dầu cây rum, dầu vừng, dầu oliu, dầu ngô và dầu đậu nành; (10) glycol, chẳng hạn như propylen glycol; (11) polyol, chẳng hạn như glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; (12) este, chẳng hạn như etyl oleat và etyl laurat; (13) aga; (14) chất đệm, chẳng hạn như magie hydroxit và nhôm hydroxit; (15) axit alginic; (16) nước không chứa pyrogen; (17) nước muối đẳng trương; (18) dung dịch Ringer; (19) rượu etyl; (20) dung dịch đệm pH; (21) polyeste, polycarbonat và/hoặc polyanhydrit; và (22) các chất tương thích không độc khác được sử dụng trong chế phẩm dược.

Như đã nêu trên, các phương án nhất định về các hợp chất này có thể chứa nhóm chức bazơ, chẳng hạn như amino hoặc alkylamino, và do đó, có khả năng tạo thành các muối được dùng với các axit được dùng. Thuật ngữ "muối được dùng" về mặt này, dùng để chỉ các muối cộng axit vô cơ hoặc hữu cơ, tương đối không độc của các hợp chất theo sáng chế. Các muối này có thể được điều chế tại chỗ khi sử dụng chất dẫn thuốc hoặc trong quy trình sản xuất dạng liều, hoặc bằng cách cho hợp chất theo sáng chế đã được làm sạch ở dạng bazơ tự do của nó phản ứng riêng với axit hữu cơ hoặc vô cơ thích hợp, và do đó sự tách muối được tạo thành trong suốt quá trình tinh chế tiếp theo. Các muối điển hình bao gồm muối hydrobromua, hydroclorua, sulfat, bisulfat, phosphat, nitrat, axetat, valerat, oleat, palmitat, stearat, laurat, benzoat, lactat, phosphat, tosylat, xitrat, maleat, fumarat, suxinat, tartrat, naptylat, mesylat, glucoheptonat, lactobionat, và laurylsulphonat và tương tự. (Xem, ví dụ, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.* 66:1-19).

Các muối được dùng của các hợp chất theo sáng chế bao gồm các muối không độc thông thường hoặc các muối amoni bậc bốn của các hợp chất này, ví dụ, từ các axit hữu cơ hoặc vô cơ không độc. Ví dụ, các muối không độc thông thường như vậy bao gồm các muối có nguồn gốc từ các axit vô cơ chẳng hạn như hydroclorua, hydrobromic, sulfuric, sulfamic, phosphoric, nitric, và tương tự; và các muối được điều chế từ các axit hữu cơ chẳng hạn như axetic, propionic, suxinic, glycolic, stearic, lactic, malic, tartaric, xitric, ascorbic, palmitic, maleic, hydroxymaleic, phenylaxetic, glutamic, benzoic, salixylic, sulfanilic, 2-axetoxibenzoic, fumaric, toluensulfonic, metansulfonic, etan disulfonic, oxalic, isothionic, và tương tự.

Trong các trường hợp khác, các hợp chất theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều nhóm chức axit và, do đó, có khả năng tạo thành muối được dùng với các bazơ được dùng. Thuật ngữ "muối được dùng" trong các trường hợp này dùng để chỉ các muối cộng bazơ vô cơ và hữu cơ, tương đối không độc của các hợp chất theo sáng chế. Tương tự, các muối này có thể được điều chế tại chỗ trong quy trình sản xuất sử dụng tá dược lỏng hoặc dạng liều, hoặc bằng cách cho hợp chất đã được làm sạch ở dạng axit tự do của nó phản ứng riêng rẽ với bazơ thích hợp, chẳng hạn như hydroxit, carbonat hoặc bicarbonat hoặc cation kim loại được dùng, với amoniac, hoặc với amin bậc một, bậc hai hoặc bậc ba hữu cơ được dùng. Các muối kim loại kiềm hoặc kiềm thổ tiêu biểu gồm các muối liti, natri, kali, canxi, magie, và nhôm và tương tự. Các

amin hữu cơ tiêu biểu hữu ích cho sự tạo thành các muối cộng bazơ bao gồm etylamin, diethylamin, etylendiamin, etanolamin, dietanolamin, piperazin và tương tự. (Xem, ví dụ, Berge et al., *supra*)

Chất thấm ướt, chất nhũ hóa và chất làm trơn, chẳng hạn như natri lauryl sulfat và magie stearat, cũng như các chất tạo màu, chất giải phóng, chất bao, chất làm ngọt, chất tạo hương và mùi thơm, chất bảo quản và chất chống oxy hóa cũng có thể có mặt trong các chế phẩm này.

Ví dụ về các chất chống oxy hóa được dụng bao gồm: (1) chất chống oxy hóa hòa tan được trong nước, chẳng hạn như axit ascorbic, cystein hydroclorua, natri bisulfat, natri metabisulfite, natri sulfite và tương tự; (2) chất chống oxy hóa hòa tan được trong dầu, chẳng hạn như ascorbyl palmitat, hydroxyanisol butyl hóa (BHA), hydroxytoluen butyl hóa (BHT), lecithin, propyl galat, alpha-tocopherol, và tương tự; và (3) chất chelat hóa kim loại, chẳng hạn như axit citric, axit ethylenediamin tetraacetic (EDTA), sorbitol, axit tartaric, axit phosphoric, và tương tự.

Các chế phẩm theo sáng chế bao gồm các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường miệng, đường mũi, tại chỗ (bao gồm vùng miệng và dưới lưỡi), trực tràng, âm đạo và/hoặc ngoài đường tiêu hóa. Các chế phẩm này có thể thuận lợi là có mặt ở dạng liều và có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực dược. Lượng thành phần hoạt tính mà có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra dạng liều đơn sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị, chế độ áp dụng cụ thể. Lượng thành phần hoạt tính mà có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra dạng liều đơn nói chung sẽ là lượng hợp chất mà tạo ra hiệu quả điều trị. Nói chung, không phải 100%, lượng này sẽ có phạm vi thay đổi từ khoảng 0,1 phần trăm đến khoảng 99 phần trăm thành phần hoạt tính, tốt hơn nếu từ khoảng 5 phần trăm đến khoảng 70 phần trăm, tốt nhất là từ khoảng 10 phần trăm đến khoảng 30 phần trăm.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế chứa tá dược được chọn từ nhóm bao gồm cyclodextrin, xenluloza, liposom, chất tạo mixen, ví dụ, axit mật, và chất mang dạng polyme, ví dụ, polyester và polyanhydrit; và hợp chất theo sáng chế. Theo các phương án nhất định, chế phẩm nêu trên tạo ra hợp chất theo sáng chế khả dụng sinh học khi dùng qua đường miệng.

Phương pháp bào chế các chế phẩm hoặc các dược phẩm này bao gồm bước kết hợp hợp chất theo sáng chế với chất mang và, tùy ý một hoặc nhiều thành phần phụ. Nhìn chung, các chế phẩm được bào chế bằng cách kết hợp thống nhất và mật thiết hợp chất theo sáng chế với chất mang dạng lỏng, hoặc chất mang dạng rắn được chia nhỏ mịn, hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, tạo hình sản phẩm.

Các chế phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng qua đường miệng có thể là ở dạng viên nang, viên nhộng, viên tròn, viên nén, viên hình thoi (sử dụng chất nền có mùi hương, thường là sucroza và acacia hoặc nhựa tragacac), bột, hạt, hoặc dưới dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất lỏng chứa nước hoặc không chứa nước, hoặc dưới dạng nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc nước trong dầu, hoặc dưới dạng cồn ngọt hoặc xi rô, hoặc dưới dạng viên ngậm (sử dụng chất nền trơ, chẳng hạn như gelatin và glyxerin, hoặc sucroza và acacia) và/hoặc dưới dạng nước súc miệng và tương tự, mỗi chế phẩm chứa lượng xác định trước của hợp chất theo sáng chế dưới dạng thành phần hoạt tính. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng như là dạng viên lớn, thuốc tê hoặc bột nhào.

Ở dạng liều rắn theo sáng chế để dùng qua đường miệng (viên nang, viên nén, viên tròn, viên bao đường, bột, hạt, viên ngậm dẹt và tương tự), thành phần hoạt tính được trộn với một hoặc nhiều chất mang được dùng, chẳng hạn như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat, và/hoặc chất bất kỳ sau đây: (1) chất làm đầy hoặc chất kéo dài, chẳng hạn như tinh bột, lactoza, sucroza, glucoza, manitol, và/hoặc axit silicic; (2) chất kết dính, chẳng hạn như, ví dụ, carboxymetylxenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrrolidon, sucroza và/hoặc acacia; (3) chất giữ ẩm, chẳng hạn như glyxerol; (4) chất phân rã, chẳng hạn như aga-aga, canxi carbonat, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột năng, axit alginic, silicat nhất định, và natri carbonat; (5) chất kìm hãm dung dịch, chẳng hạn như parafin; (6) chất thúc đẩy hấp thụ, chẳng hạn như các hợp chất amoni bậc bốn và chất hoạt động bề mặt, chẳng hạn như poloxamer và natri lauryl sulfat; (7) chất thẩm ướt, chẳng hạn như, ví dụ, rượu xetyl, glyxerol monostearat, và chất hoạt động bề mặt không ion; (8) chất hấp thụ, chẳng hạn như cao lanh và đất sét bentonit; (9) chất làm trơn, chẳng hạn như talc, canxi stearat, magie stearat, polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat, kẽm stearat, natri stearat, axit stearic, và các hỗn hợp của chúng; (10) chất tạo màu; và (11) chất giải phóng kiểm soát chẳng hạn như crospovidon hoặc etyl xenluloza. Trong trường hợp của viên nang, viên nén và viên tròn, dược phẩm cũng có

thể chứa chất đậm. Chế phẩm rắn của loại tương tự cũng có thể được sử dụng như là chất làm đầy ở dạng viên nang gelatin mềm và vỏ cứng sử dụng tá dược như là lactoza hoặc đường sữa, cũng như polyetylen glycol khối lượng phân tử lớn và tương tự.

Viên nén có thể được bào chế bằng cách dập thành viên hoặc đúc, tùy ý với một hoặc nhiều thành phần phụ trợ. Viên nén được dập thành viên có thể được bào chế sử dụng chất kết dính (ví dụ, gelatin hoặc hydroxypropylmetyl xenluloza), chất làm trơn, chất pha loãng trợ, chất bảo quản, chất phân rã (ví dụ, tinh bột natri glycolat hoặc natri carboxymetyl xenluloza liên kết chéo), chất có hoạt tính bề mặt hoặc chất phân tán. Viên nén được đúc có thể được sản xuất bằng cách đúc hỗn hợp của các hợp chất đã được tạo bột được làm ẩm bằng chất pha loãng lỏng trợ trong máy thích hợp.

Viên nén, và các dạng liều rắn khác của dược phẩm theo sáng chế, chẳng hạn như viên bao đường, viên nang, viên tròn và hạt, có thể tùy ý được xẻ rãnh hoặc được bào chế có lớp bao phủ và vỏ, chẳng hạn như bao ruột và bao kiểu khác đã được biết rõ trong ngành bào chế dược phẩm. Chúng cũng có thể được bào chế để giải phóng chậm hoặc có kiểm soát thành phần hoạt tính sử dụng trong đó, ví dụ, hydroxypropylmetyl xenluloza theo các tỷ lệ khác nhau để thu được đặc trưng giải phóng mong muốn, chất nền polyme khác, liposom và/hoặc các vi cầu. Chúng có thể được bào chế để giải phóng nhanh, ví dụ, đông khô. Chúng có thể được khử trùng bằng cách, ví dụ, lọc qua bộ lọc giữ lại vi khuẩn, hoặc bằng cách kết hợp các chất khử trùng ở dạng chế phẩm rắn tiệt trùng mà có thể được hòa tan trong nước tiệt trùng, hoặc một số môi trường tiệt trùng khác ngay trước khi sử dụng. Các chế phẩm này có thể tùy ý chứa chất cản quang và có thể là chế phẩm mà chúng giải phóng (các) thành phần hoạt tính chỉ, hoặc ưu tiên, hoặc một phần nhất định của đường tiêu hóa, tùy ý, một cách chậm rãi. Ví dụ về các chế phẩm nhúng mà có thể được sử dụng bao gồm các chất polyme và sáp. Thành phần hoạt tính cũng có thể ở dạng vi đóng gói, nếu thích hợp, với một hoặc nhiều trong số các tá dược được mô tả ở trên.

Dạng liều lỏng để dùng qua đường miệng của các hợp chất theo sáng chế bao gồm nhũ tương, vi nhũ tương, dung dịch, huyền phù, xi rô và cồn ngọt dược dụng. Ngoài thành phần hoạt tính, dạng liều lỏng có thể chứa chất pha loãng trợ được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực này, chẳng hạn như, ví dụ, nước hoặc dung môi khác, chất hòa tan và chất nhũ hóa, chẳng hạn như rượu etyl, rượu isopropyl, etyl carbonat,

ethyl axetat, rượu benzyl, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (cụ thể là, dầu hạt bông, dầu đậu phộng, dầu ngô, dầu mầm, dầu ô liu, dầu thầu dầu và dầu vừng), glyxerol, rượu tetrahydrofuryl, polyetylen glycol và este axit béo của sorbitan, và các hỗn hợp của chúng.

Bên cạnh các chất pha loãng trơ, chế phẩm dùng qua đường miệng cũng có thể bao gồm chất phụ trợ chẳng hạn như chất thấm ướt, chất nhũ hóa và chất tạo huyền phù, chất tạo ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu, chất tạo mùi thơm và chất bảo quản.

Huyền phù, ngoài các hoạt chất, có thể chứa chất tạo huyền phù như là, ví dụ, rượu isostearyl etoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol và sorbitan este, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, aga-aga và nhựa tragacanth, và các hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm bào chế của dược phẩm theo sáng chế để dùng theo đường trực tràng hoặc âm đạo có thể ở dạng viên đạn, mà có thể được bào chế bằng cách trộn một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều tá dược hoặc chất mang không gây kích ứng thích hợp bao gồm, ví dụ, bơ ca cao, polyetylen glycol, sáp đạn hoặc salixylat, và chất ở thể rắn ở nhiệt độ phòng, nhưng ở thể lỏng ở nhiệt độ cơ thể và, vì vậy, sẽ tan chảy trong khoang trực tràng hoặc âm đạo và giải phóng hoạt chất.

Chế phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng cho đường âm đạo còn bao gồm vòng tránh thai, tampon, kem, gel, bột nhão, bột hoặc chế phẩm phun chứa các chất mang như đã biết là thích hợp trong lĩnh vực này.

Dạng liều để dùng tại chỗ hoặc qua da của hợp chất theo sáng chế bao gồm thuốc bột, thuốc xịt, thuốc mỡ, bột nhão, kem, thuốc nước, gel, dung dịch, miếng đắp và thuốc hít. Hoạt chất có thể trong điều kiện vô trùng với chất mang dược dụng, và với chất bảo quản, chất đệm, hoặc chất đẩy bất kỳ mà cần thiết.

Thuốc mỡ, bột nhão, kem và gel có thể chứa, ngoài hoạt chất theo sáng chế, tá dược, chẳng hạn như chất béo động vật và thực vật, dầu, sáp, parafin, tinh bột, nhựa tragacanth, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, axit silicic, talc và kẽm oxit, hoặc hỗn hợp của chúng.

Thuốc bột và thuốc xịt có thể chứa, ngoài hợp chất theo sáng chế, tá dược chẳng hạn như lactoza, talc, axit silicic, nhôm hydroxit, canxi silicat và bột polyamit,

hoặc hỗn hợp của các chất này. Ngoài ra, thuốc xịt có thể chứa thuốc đẩy truyền thống, chẳng hạn như cloflohydrocacbon và hydrocacbon không được thể bay hơi, chẳng hạn như butan và propan.

Miếng đắp thẩm thấu qua da có lợi ích bổ sung là đem lại sự vận chuyển được kiểm soát của hợp chất theo sáng chế đến cơ thể. Dạng liều như vậy có thể được bào chế bằng cách hòa tan hoặc phân tán hợp chất trong môi trường thích hợp. Các chất tăng cường hấp thụ cũng có thể được sử dụng để tăng dòng hợp chất qua da. Tốc độ của dòng hợp chất này có thể được kiểm soát hoặc bằng cách trang bị màng kiểm soát tốc độ hoặc bằng cách phân tán hợp chất trong chất nền polymer hoặc gel.

Các chế phẩm dùng cho mắt, thuốc mỡ mắt, bột, dung dịch và tương tự, cũng được dự liệu là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều dung dịch, dạng phân tán, huyền phù hoặc nhũ tương chứa nước hoặc không chứa nước đẳng trương tiệt trùng được dụng hoặc bột tiệt trùng mà có thể được hoàn nguyên vào dung dịch hoặc dạng phân tán tiệt trùng có thể tiêm được ngay trước khi sử dụng, mà có thể chứa đường, rượu, chất chống oxy hóa, chất đệm, chất kìm hãm vi khuẩn, chất hòa tan mà có thể làm cho chế phẩm đẳng trương với máu của người nhận chủ định hoặc đẳng trương với các chất lơ lửng hoặc chất làm đặc.

Ví dụ về các chất mang chứa nước và không chứa nước thích hợp mà có thể được sử dụng trong dược phẩm theo sáng chế bao gồm nước, etanol, polyol (chẳng hạn như glyxerol, propylen glycol, polyetylen glycol, và tương tự), và các hỗn hợp thích hợp của chúng, dầu thực vật, chẳng hạn như dầu ô liu, và este hữu cơ tiêm được, chẳng hạn như etyl oleat. Trạng thái lỏng thích hợp có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng các vật liệu bao phủ, chẳng hạn như lecithin, bằng sự duy trì kích thước hạt yêu cầu trong trường hợp các dạng phân tán, và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt.

Các chế phẩm này còn có thể chứa chất phụ trợ chẳng hạn như chất bảo quản, chất thấm ướt, chất nhũ hóa và chất phân tán. Sự ngăn chặn hoạt động của vi khuẩn dựa trên các hợp chất đã nêu có thể được đảm bảo bằng cách thêm rất nhiều chất kháng khuẩn và chất khác nắm khác nhau, ví dụ, paraben, clobutanol, axit phenol

sorbic, và tương tự. Nó cũng được mong muốn là bao gồm cả các chất đẳng trương, chẳng hạn như đường, natri clorua, và tương tự vào các chế phẩm này. Ngoài ra, sự hấp thụ kéo dài của dạng dược phẩm tiêm được có thể được mang về bởi sự đưa vào các chất mà trì hoãn sự hấp thụ chẳng hạn như nhôm monostearat và gelatin.

Trong một số trường hợp, để kéo dài tác dụng của dược chất, người ta amonng muốn làm chậm sự hấp thụ của dược chất từ việc tiêm dưới da hoặc tiêm bắp. Việc này có thể được hoàn tất bằng cách sử dụng huyền phù lỏng của vật liệu tinh thể hoặc vô định hình có độ hòa tan trong nước kém. Tốc độ hấp thụ dược chất do đó phụ thuộc vào tốc độ hòa tan mà, lần lượt, phụ thuộc vào kích thước tinh thể và dạng tinh thể. Nói cách khác, sự hấp thụ bị trì hoãn của dạng dược chất được dùng theo đường ngoài tiêu hóa được hoàn tất bằng cách hòa tan hoặc tạo huyền phù dược chất này trong tá dược lỏng chứa dầu.

Dạng mẫu cấy phóng thích chậm dưới da (depot) tiêm được được bào chế bằng cách tạo chất nền vi bao của hợp chất đã nêu trong polyme có thể phân hủy sinh học chẳng hạn như polylactit-polyglycolit. Tùy thuộc vào tỷ lệ của dược chất so với polyme, và bản chất của polymer cụ thể được sử dụng, tốc độ của dược chất giải phóng có thể được kiểm soát. Ví dụ về polyme có thể phân hủy sinh học khác bao gồm poly(ortoeste) và poly(anhydrit). Chế phẩm tiêm được dạng depot cũng được bào chế bằng cách thu giữ dược chất trong liposom hoặc vi nhũ tương mà thích hợp với mô cơ thể.

Khi các hợp chất theo sáng chế được dùng như là dược phẩm, cho người và động vật, chúng có thể được xác định tự bản thân chúng hoặc như là dược phẩm chứa, ví dụ, 0,1 đến 99% (tốt hơn là, 10 đến 30%) thành phần hoạt tính kết hợp với chất mang dược dụng.

Các chế phẩm theo sáng chế có thể được đưa vào theo đường miệng, đường ngoài tiêu hóa, tại chỗ, hoặc đường trực tràng. Chúng đương nhiên được đưa vào ở dạng thích hợp đối với mỗi con đường sử dụng. Ví dụ, chúng được sử dụng ở dạng viên nén hoặc viên nang, bằng cách tiêm, hít, dung dịch làm sạch mắt, thuốc mỡ, thuốc đạn, v.v. được dùng bằng cách tiêm, truyền hoặc hít; dùng tại chỗ bằng thuốc nước hoặc thuốc mỡ; và dùng theo đường trực tràng bằng thuốc đạn. Ưu tiên dùng qua đường miệng.

Cụm từ "dùng ngoài đường tiêu hóa" và "được dùng ngoài đường tiêu hóa" như được sử dụng ở đây nghĩa là các cách dùng khác ngoài dùng theo đường ruột và dùng tại chỗ, thường bằng cách tiêm, và bao gồm, mà không hạn chế ở tiêm và truyền trong tĩnh mạch, trong bắp, trong động mạch, nội tủy mạc, trong vỏ, trong hốc mắt, trong tim, trong da, trong phúc mạc, qua khí quản, dưới da, dưới biểu bì, trong khớp, dưới vỏ, dưới màng nhện, trong cột sống và trong xương ức.

Cụm từ "dùng hệ thống", "được dùng một cách có hệ thống", "dùng ngoại biên" và "được dùng ngoại biên" như được sử dụng ở đây nghĩa là việc dùng hợp chất, được chất hoặc vật liệu khác ngoài cách dùng trực tiếp vào hệ thống thần kinh trung ương, sao cho nó đi vào cơ thể của bệnh nhân và, do đó, dẫn tới quá trình chuyển hóa và các quy trình tương tự khác, ví dụ, dùng dưới da.

Các hợp chất này có thể được dùng cho người và các động vật khác để điều trị bằng đường dùng thích hợp bất kỳ, bao gồm đường miệng, đường mũi, như là bằng, ví dụ, thuốc xịt, đường trực tràng, trong âm đạo, ngoài đường tiêu hóa, trong bể chứa và tại chỗ, như là bằng thuốc bột, thuốc mỡ hoặc thuốc nhỏ, bao gồm vùng miệng và dưới lưỡi.

Bất kể là chọn đường dùng nào, các hợp chất theo sáng chế, có thể được sử dụng ở dạng hydrat thích hợp, và/hoặc được phẩm theo sáng chế, được bào chế thành dạng liều được dùng bằng các phương pháp thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Mức độ liều thực tế của các thành phần hoạt tính trong dược phẩm theo sáng chế có thể được thay đổi để đạt được lượng thành phần hoạt tính có hiệu quả để đạt được đáp ứng điều trị mong muốn đối với bệnh nhân cụ thể, chế phẩm, và cách thức dùng, mà không gây độc cho bệnh nhân.

Mức độ liều được chọn sẽ phụ thuộc vào hàng loạt các yếu tố bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể theo sáng chế được sử dụng, hoặc este, muối hoặc amit của hợp chất, đường dùng, thời gian dùng, tốc độ bài tiết hoặc chuyển hóa của hợp chất cụ thể được sử dụng, tốc độ và mức độ hấp thụ, thời gian điều trị, các dược chất khác, các hợp chất và/hoặc vật liệu được sử dụng kết hợp với hợp chất cụ thể được dùng, độ tuổi, giới tính, cân nặng, tình trạng, sức khỏe tổng quát và tiền sử bệnh của bệnh nhân đang được điều trị, và các yếu tố tương tự đã biết trong lĩnh vực y khoa.

Một bác sĩ hoặc bác sĩ thú y có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể xác định dễ dàng và kê đơn lượng hiệu quả của dược phẩm được yêu cầu. Ví dụ, bác sĩ hoặc bác sĩ thú y này có thể bắt đầu kê liều của hợp chất theo sáng chế được sử dụng trong dược phẩm ở mức thấp hơn yêu cầu để đạt được hiệu quả điều trị mong muốn và tăng liều dần cho đến khi đạt được hiệu quả mong muốn.

Nói chung, liều hằng ngày thích hợp của hợp chất theo sáng chế sẽ là lượng hợp chất mà là liều thấp nhất có hiệu quả để đem lại tác dụng điều trị. Liều hiệu quả như vậy nhìn chung sẽ phụ thuộc vào các yếu tố được mô tả ở trên. Nói chung, liều của hợp chất theo sáng chế để dùng qua đường miệng, tĩnh mạch trong não thất và dưới da cho bệnh nhân, khi được sử dụng để có tác dụng giảm đau được chỉ định, sẽ thay đổi từ khoảng 0,0001 đến khoảng 100mg/kilogram trọng lượng cơ thể/ngày.

Nếu muốn, liều hằng ngày thích hợp của hoạt chất có thể được dùng là hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc nhiều hơn các liều nhỏ được dùng riêng biệt ở các khoảng thời gian trong ngày, một cách tùy ý, ở dạng liều đơn vị. Liều ưu tiên là dùng một lần một ngày.

Trong khi có thể dùng hợp chất theo sáng chế một mình, người ta ưu tiên dùng hợp chất này dưới dạng dược phẩm (ché phẩm).

Các hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế để dùng theo con đường thuận tiện bất kỳ để sử dụng làm thuốc cho người hoặc thú y, theo cách tương tự với các dược phẩm khác.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dược dụng chứa lượng có hiệu quả điều trị của một hoặc nhiều hợp chất đã nêu, như được mô tả ở trên, được bào chế cùng với một hoặc nhiều chất mang dược dụng (chất phụ gia) và/hoặc chất pha loãng. Như được mô tả chi tiết dưới đây, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế đặc biệt để sử dụng ở dạng rắn hoặc lỏng, bao gồm các dược phẩm được ứng dụng theo các cách sau: (1) dùng qua đường miệng, ví dụ, thuốc nước (dung dịch hoặc huyền phù chứa nước hoặc không chứa nước), viên nén, viên thuốc loại to, bột, hạt, bột nhão để dùng cho lưỡi; (2) dùng theo đường ngoài tiêu hóa, ví dụ, bằng cách tiêm dưới da, tiêm bắp hoặc tiêm trong tĩnh mạch injection, ví dụ như, dung dịch hoặc huyền phù tiệt trùng; (3) dùng tại chỗ, ví dụ như kem, thuốc mỡ hoặc thuốc xịt được dùng lên da, phổi, hoặc màng nhầy; hoặc (4) trong âm đạo hoặc trong trực tràng, ví dụ như viên đặt

âm đạo, kem hoặc bột; (5) dưới lưỡi hoặc vùng miệng; (6) vùng mắt; (7) qua da; hoặc (8) đường mũi.

Thuật ngữ "điều trị" còn nhằm bao gồm phương pháp phòng bệnh, trị liệu và chữa trị.

Bệnh nhân nhận sự điều trị này là động vật bất kỳ có nhu cầu, bao gồm loài linh trưởng, cụ thể là loài người, và động vật có vú khác chẳng hạn như ngựa, gia súc, lợn và cừu; và gia cầm và thú cưng nói chung.

Hợp chất theo sáng chế có thể sử dụng độc lập hoặc trong hỗn hợp với chất mang được dụng và cũng có thể được sử dụng liên kết với chất kháng vi khuẩn chẳng hạn như penixilin, xephalosporin, aminoglycosit và glycopeptit. Trị liệu kết hợp, do đó bao gồm sử dụng tuần tự, đồng thời và riêng biệt hoạt chất theo cách mà tác dụng trị liệu của hoạt chất được sử dụng đầu tiên không hoàn toàn bị biến mất khi chất tiếp theo được sử dụng.

Công nghệ vi nhũ hóa có thể cải thiện sự khả dụng sinh học của một số chất có được tính ưa béo (không tan trong nước). Các ví dụ bao gồm trimetrin (Dordunoo, S. K., et al., Drug Development và Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991 và REV 5901 (Sheen, P. C., et al., J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Trong số các công nghệ khác, vi nhũ hóa đem lại sự khả dụng sinh học được tăng cường bằng cách hấp thụ ưu tiên trực tiếp tới hệ bạch huyết thay vì hệ thống tuần hoàn, sau đó đi qua gan, và ngăn cản sự phá hủy các hợp chất trong sự lưu thông gan-ống mật.

Trong khi tất cả các chất mang lưỡng tính thích hợp được cũng được dự liệu, chất mang được ưu tiên hiện nay thường là các chất mà có trạng thái nhìn chung được nhận biết là an toàn (Generally-Recognized-as-Safe - GRAS), và có thể hòa tan cả hợp chất theo sáng chế và vi nhũ hóa nó ở giai đoạn sau đó khi dung dịch đi vào tiếp xúc với pha nước chứa phức hợp (chẳng hạn như pha được tìm thấy ở đường dạ dày-ruột của người). Thường thường, các thành phần amphiphilic mà đáp ứng các yêu cầu này có giá trị HLB (cân bằng ưa nước trên ưa béo) là 2-20, và cấu trúc của chúng chứa gốc béo mạch thẳng trong phạm vi C-6 đến C-20. Các ví dụ là glyxerit béo được polyetylen-glycol hóa và polyetylen glycol.

Các chất mang lưỡng tính sẵn có trên thị trường đặc biệt được dự liệu, bao gồm chuỗi Gelucire, Labrafil, Labrasol, hoặc Lauroglycol (tất cả được sản xuất và phân

phối bởi Gattefosse Corporation, Saint Priest, France), PEG-mono-oleat, PEG-di-oleat, PEG-mono-laurat và di-laurat, Lexithin, Polysorbat 80, v.v (được sản xuất và phân phối bởi một số công ty ở USA và trên toàn thế giới).

Polyme ưa nước thích hợp để sử dụng trong sáng chế là các polyme dễ hòa tan trong nước, có thể được liên kết hóa trị với lipit tạo thành túi chứa, và được dung nạp in vivo mà không có tác dụng độc hại (nghĩa là, tương thích sinh học). Polyme thích hợp bao gồm polyetylen glycol (PEG), polylactic (còn được gọi là polylactit), axit polyglycolic (còn được gọi là polyglycolit), copolyme của axit polylactic-polyglycolic, và rượu polyvinyl. Polyme được ưu tiên là các polyme có khối lượng phân tử từ khoảng 100 hoặc 120 dalton lên tới khoảng 5.000 hoặc 10.000 dalton, và tốt hơn là từ khoảng 300 dalton đến khoảng 5.000. Theo phương án được ưu tiên đặc biệt, polyme là polyetylen glycol có khối lượng phân tử từ khoảng 100 đến khoảng 5.000 dalton, và tốt hơn là có khối lượng phân tử từ khoảng 300 đến khoảng 5.000 dalton. Theo phương án được ưu tiên đặc biệt, polyme là polyetylen glycol 750 dalton (PEG(750)). Polyme cũng có thể được xác định bằng số monomer của chúng; phương án được ưu tiên của sáng chế sử dụng polyme có ít nhất khoảng ba monome, polyme PEG như vậy bao gồm ba monome (xấp xỉ 150 dalton).

Polyme ưa nước khác mà có thể thích hợp để sử dụng trong sáng chế bao gồm polyvinylpyrrolidon, polymetoxazolin, polyetyloxazolin, polyhydroxypropyl metacrylamit, polymetacrylamit, polydimetylacrylamit, và xenluloza được dẫn xuất chẳng hạn như hydroxymetyl xenluloza hoặc hydroxyetyl xenluloza.

Theo các phương án nhất định, chế phẩm theo sáng chế chứa polyme tương thích sinh học được chọn từ nhóm bao gồm polyamit, polycarbonat, polyalkylen, polyme của acrylic và metacrylic este, polyvinyl polyme, polyglycolit, polysiloxan, polyuretan và copolyme của chúng, xenluloza, polypropylen, polyetylen, polystyren, polyme của axit lactic và axit glycolic, polyanhydrit, poly(orto)este, poly(axit butic), poly(axit valeric), poly(lactit-co-caprolacton), polysacarit, protein, axit polyhyaluronic, polyxyanoacrylat, và hỗn hợp pha trộn, hỗn hợp, hoặc copolyme của chúng.

Xyclodextrin là các oligosacarit vòng, bao gồm 6, 7 hoặc 8 đơn vị glucoza, được xác định bởi chữ cái hệ Hy Lạp alpha, beta hoặc gama, tương ứng. Xyclodextrin

có ít hơn sáu đơn vị glucoza không được biết là tồn tại. Các đơn vị glucoza được liên kết bởi các liên kết alpha-1,4-glucosidic. Như là kết quả của cấu trúc dạng ghế của các đơn vị đường, tất cả các nhóm hydroxyl bậc hai (ở C-2, C-3) được đặt trên một phía của vòng, trong khi tất cả các nhóm hydroxyl bậc một ở C-6 nằm ở phía còn lại. Kết quả là, bề mặt ngoài là ưa nước, làm cho cyclodextrin tan được trong nước. Ngược lại, phần trong của cyclodextrin là kỵ nước, vì chúng được xếp cạnh hydro của các nguyên tử C-3 và C-5, và cạnh oxy tương tự như ete. Các chất nền này cho phép sự tạo phức với một loạt các hợp chất tương đối kỵ nước, bao gồm, ví dụ, các hợp chất steroid chẳng hạn như 17.beta.-estradiol (xem, ví dụ, van Uden et al. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38:1-3-113 (1994)). Sự tạo phức xảy ra do tương tác Van der Waals và do sự tạo thành liên kết hydro. Để đánh giá chung về hóa học của cyclodextrin, xem, Wenz, Agnew. *Chem. Int. Ed. Engl.*, 33:803-822 (1994).

Đặc tính lý hóa của dẫn xuất cyclodextrin phụ thuộc chủ yếu vào loại và mức độ thế. Ví dụ, độ hòa tan trong nước thay đổi từ không thể hòa tan (ví dụ, triaxetyl-beta-cyclodextrin) đến hòa tan được 147% (trọng lượng/thể tích) (G-2-beta-cyclodextrin). Ngoài ra, chúng hòa tan được trong nhiều loại dung môi hữu cơ. Đặc tính của cyclodextrin cho phép kiểm soát độ hòa tan của các thành phần chế phẩm khác nhau bằng cách tăng hoặc giảm độ hòa tan của chúng.

Nhiều cyclodextrin và phương pháp điều chế chúng đã được mô tả. Ví dụ, Parmeter (I), et al. (U.S. Pat. No. 3,453,259) và Gramera, et al. (U.S. Pat. No. 3,459,731) đã mô tả cyclodextrin mang điện tử trung hòa. Các dẫn xuất khác bao gồm cyclodextrin chứa các đặc tính cation [Parmeter (II), U.S. Pat. No. 3,453,257], cyclodextrin liên kết chéo không tan được (Solms, U.S. Pat. No. 3,420,788), và cyclodextrin chứa các đặc tính anion [Parmeter (III), U.S. Pat. No. 3,426,011]. Trong số các dẫn xuất cyclodextrin chứa đặc tính anion, axit carboxylic, axit phosphorơ, axit phosphinic, axit phosphonic, axit phosphoric, axit thiophosphonic, axit thiosulphinic, và axit sulfonic đã được nối thêm với cyclodextrin gốc [xem, Parmeter (III), supra]. Hơn nữa, các dẫn xuất sulfoalkyl ete cyclodextrin đã được mô tả bởi Stella, et al. (U.S. Pat. No. 5,134,127).

Liposom bao gồm ít nhất một màng hai lớp lipid kèm theo một khoang bên trong chứa nước. Liposom có thể được đặc trưng bởi loại màng và kích thước. Liposom nhỏ một lớp (SUVs) có màng đơn và thường có đường kính thay đổi trong

khoảng giữa 0,02 và 0,05 μ m; liposom một lớp lớn (LUVS) thường lớn hơn 0,05 μ m. Liposom lớn ít lớp và liposom nhiều lớp có nhiều lớp màng, thường là đồng tâm, và thường lớn hơn 0,1 μ m. Liposom có một số màng không đồng tâm, nghĩa là, một số túi nhỏ hơn được chứa trong túi lớn hơn, còn được gọi là túi có nhiều túi nhỏ.

Một khía cạnh của sáng chế đề cập đến các chế phẩm chứa liposom chứa hợp chất theo sáng chế, trong đó màng liposom được tạo thành để tạo ra liposom có khả năng vận chuyển tăng. Nói cách khác hay ngoài ra, hợp chất theo sáng chế có thể được chứa trong, hoặc được hấp phụ lên trên, hai lớp liposom hoặc liposom. Hợp chất theo sáng chế có thể được tổng hợp với chất hoạt động bề mặt lipid và được mang vào không gian bên trong liposom; trong các trường hợp này, màng liposom được tạo thành để chống lại tác động phá vỡ của sự kết hợp hoạt chất-chất hoạt động bề mặt.

Theo một phương án của sáng chế, lớp kép lipid của liposom chứa lipid được dẫn xuất với polyetylen glycol (PEG), sao cho chuỗi PEG mở rộng từ bề mặt bên trong của hai lớp lipid vào không gian bên trong được bao bởi liposom, và mở rộng từ bề mặt bên ngoài của lớp lipid vào môi trường xung quanh.

Các hoạt chất được chứa trong liposom theo sáng chế là ở dạng đã hòa tan. Sự kết hợp chất hoạt động bề mặt và hoạt chất (chẳng hạn như nhũ tương hoặc mixen chứa hoạt chất quan tâm) có thể được thu giữ bên trong không gian của liposom theo sáng chế. Chất hoạt động bề mặt hoạt động để phân tán và hòa tan hoạt chất, và có thể được chọn từ chất hoạt động bề mặt béo, xycloaliphatic hoặc thơm thích hợp bất kỳ, bao gồm nhưng không giới hạn ở lysophosphatidylcholin (LPCs) tương thích sinh học của việc thay đổi chiều dài chuỗi (ví dụ, từ khoảng C.sub.14 đến khoảng C.sub.20). Lipid được dẫn xuất từ polyme chẳng hạn như PEG-lipid cũng có thể được sử dụng để tạo thành mixen vì chúng sẽ hoạt động để ức chế dung hợp mixen/màng, và vì sự bổ sung polyme vào phân tử hoạt động bề mặt làm giảm CMC của chất hoạt động bề mặt và hỗ trợ việc tạo thành mixen. Được ưu tiên là các chất hoạt động bề mặt chứa CMCs trong phạm vi micromol; chất hoạt động bề mặt CMC cao hơn có thể được sử dụng để điều chế mixen thu được trong liposom của sáng chế, tuy nhiên, monome hoạt động bề mặt mixen có thể gây ảnh hưởng đến sự ổn định lớp kép của liposom và sẽ là yếu tố trong việc thiết kế liposom có độ ổn định mong muốn.

Liposom theo sáng chế có thể được sản xuất theo kỹ thuật bất kỳ trong số hàng loạt các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Xem, ví dụ, bằng sáng chế U.S. số 4,235,871; đơn PCT có số công bố WO 96/14057; New RRC, Liposom: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), các trang 33-104; Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993.

Ví dụ, liposom theo sáng chế có thể được sản xuất bằng cách khuếch tán lipit được dẫn xuất với polymer ưa nước vào liposom được hình thành trước, chẳng hạn như bằng cách cho liposom hình thành trước tiếp xúc với mixen được tạo thành bởi polyme được ghép lipit, ở nồng độ lipit tương ứng với phần trăm phân tử cuối cùng của lipit được dẫn xuất mà được mong muốn trong liposom. Liposom chứa polyme ưa nước cũng có thể được tạo thành bởi sự đồng nhất hóa, hydrat hóa trường lipit, hoặc các kỹ thuật ép đùn, như đã biết trong lĩnh vực này.

Theo một khía cạnh của sáng chế, liposom được sản xuất để có các kích thước gần như đồng nhất trong phạm vi kích thước được chọn. Một phương pháp định cỡ hiệu quả liên quan đến việc ép đùn huyền phù chứa nước của liposom thông qua một chuỗi màng polycarbonat có kích thước lỗ đồng nhất được chọn; kích thước lỗ của màng sẽ gần như tương ứng với kích thước lớn nhất của liposom được tạo ra bằng cách ép đùn qua màng đó. Xem ví dụ, U.S. Pat. No. 4,737,323 (Apr. 12, 1988).

Tính chất giải phóng của chế phẩm theo sáng chế phụ thuộc vào vật liệu bao, nồng độ của dược chất được bao, và sự có mặt của chất điều biến giải phóng. Ví dụ, sự giải phóng có thể được điều khiển để phụ thuộc vào pH, ví dụ, sử dụng lớp phủ nhạy với pH mà chỉ giải phóng ở độ pH thấp, như trong dạ dày, hoặc độ pH cao hơn, như trong ruột. Lớp bao ruột có thể được sử dụng để ngăn giải phóng xảy ra đến tận sau khi đi qua dạ dày. Nhiều lớp phủ hoặc hỗn hợp của xyanamit được bao bằng các vật liệu khác nhau có thể được sử dụng để thu được sự giải phóng ban đầu trong dạ dày, sau đó là sự giải phóng trong ruột. Sự giải phóng cũng có thể được điều khiển do bao gồm cả các muối hoặc các chất tạo lõi, mà có thể làm tăng sự hấp thu nước hoặc giải phóng dược chất bằng sự khuếch tán từ viên nang. Tá dược điều biến độ hòa tan của dược chất cũng có thể được sử dụng để kiểm soát tốc độ giải phóng. Các chất làm tăng cường sự phân hủy chất nền hoặc giải phóng từ chất nền cũng có thể được kết hợp vào. Chúng có thể được thêm vào dược chất, được thêm vào như là pha riêng biệt (nghĩa là, dưới dạng hạt), hoặc có thể được đồng hòa tan trong pha polymer tùy thuộc vào hợp

chất. Trong tất cả các trường hợp lượng này nên nằm trong khoảng 0,1 và ba mươi phần trăm (trọng lượng/trọng lượng polyme). Các loại chất tăng cường phân hủy bao gồm các muối vô cơ chẳng hạn như amoni sulfat và amoni clorua, các axit hữu cơ chẳng hạn như axit xitric, axit benzoic, và axit ascorbic, các bazơ vô cơ chẳng hạn như natri carbonat, kali carbonat, canxi carbonat, kẽm carbonat, và kẽm hydroxit, và các bazơ hữu cơ chẳng hạn như protamin sulfat, spermin, cholin, etanolamin, dietanolamin, và trietanolamin và các chất hoạt động bề mặt chẳng hạn như Tween® và Pluronic®. Chất tạo lõi mà bổ sung vi cấu trúc vào các chất nền (nghĩa là, các hợp chất tan được trong nước chẳng hạn như các muối vô cơ và đường) được thêm vào dưới dạng hạt. Phạm vi nên nằm trong khoảng một và ba mươi phần trăm (trọng lượng/trọng lượng polyme).

Sự hấp thu cũng có thể được điều khiển bằng cách thay đổi thời gian cư trú của các hạt trong ruột. Điều này có thể đạt được, ví dụ, bằng cách bao hạt với polyme dính thuộc niêm mạc, hoặc chọn lọc làm vật liệu bao vỏ. Các ví dụ bao gồm phần lớn các polyme chứa nhóm carboxyl tự do, chẳng hạn như chitosan, xenluloza, và đặc biệt là polyacrylat (như được sử dụng ở đây, polyacrylat dùng để chỉ polyme bao gồm nhóm acrylat và nhóm acrylat được biến đổi chẳng hạn như xyanoacrylat và metacrylat).

Sáng chế đặc biệt đề cập đến hợp chất có công thức I (hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức I) để sử dụng trong điều trị một hoặc nhiều bệnh được đề cập ở đây; trong đó phản ứng với sự điều trị là có lợi như đã chứng minh, ví dụ, bằng cách loại bỏ một phần hoặc hoàn toàn một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh cho đến khi chữa khỏi hoàn toàn hoặc thuyên giảm.

Hợp chất có công thức (I) cũng có thể được sử dụng kết hợp với các hợp chất và các thể tiếp hợp kháng thể-dược chất sau:

Các chất ức chế BCR-ABL: Imatinib (Gleevec®); Inilotinib hydroclorua; Nilotinib (Tasigna®); Dasatinib (BMS-345825); Bosutinib (SKI-606); Ponatinib (AP24534); Bafetinib (INNO406); Danusertib (PHA-739358), AT9283 (CAS 1133385-83-7); Saracatinib (AZD0530); và N-[2-[(1S,4R)-6-[[4-(Xyclobutylamino)-5-(triflometyl)-2-pyrimidinyl]amino]-1,2,3,4-tetrahydronaphtalen-1,4-imin-9-yl]-2-oxoetyl]-axetamit (PF-03814735, CAS 942487-16-3); và LGX818.

Các chất ức chế ALK: PF-2341066 (XALKORI®; crizotinib); 5-clo-N4-(2-(isopropylsulfonyl)phenyl)-N2-(2-metoxi-4-(4-(4-methylpiperazin-1-yl)piperidin-1-yl)phenyl)pyrimidin-2,4-diamin; GSK1838705A; và CH5424802.

Các chất ức chế BRAF: Vemurafenib (PLX4032); và Dabrafenib.

Các chất ức chế FLT3 – sunitinib malat (được bán dưới tên thương mại Sutent® bởi Pfizer); PKC412 (midostaurin); tanutinib, sorafenib, sunitinib, midostaurin, lestaurtinib, KW-2449, quizartinib (AC220) và crenolanib.

Các chất ức chế MEK – trametinib.

Các chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu (VEGF): Bevacizumab (được bán dưới nhãn hiệu Avastin® của hãng Genentech/Roche), axitinib, (N-metyl-2-[[3-[(E)-2-pyridin-2-yletenyl]-1H-indazol-6-yl]sulfanyl]benzamid, cũng được biết đến như là AG013736, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 01/002369), Brivanib Alaninate ((S)-((R)-1-(4-(4-flo-2-metyl-1H-indol-5-yloxy)-5-methylpyrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-6-yloxy)propan-2-yl)2-aminopropanoat, cũng được biết đến như là BMS-582664), motesanib (N-(2,3-dihydro-3,3-dimetyl-1H-indol-6-yl)-2-[(4-pyridinylmetyl)amino]-3-pyridincarboxamid, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 02/066470), pasireotit (cũng được biết đến như là SOM230, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 02/010192), sorafenib (được bán dưới tên thương mại Nexavar®);

Các chất ức chế thụ thể HER2: Trastuzumab (được bán dưới nhãn hiệu Herceptin® của hãng Genentech/Roche), neratinib (cũng được biết đến như là HKI-272, (2E)-N-[4-[[3-clo-4-[(pyridin-2-yl)metoxy]phenyl]amino]-3-xyano-7-etoxyquinolin-6-yl]-4-(dimetylamin)but-2-enamid, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 05/028443), lapatinib hoặc lapatinib ditosylat (được bán dưới nhãn hiệu Tykerb® bởi GlaxoSmithKline); Trastuzumab emtansine (ở Mỹ, ado-trastuzumab emtansine, tên thương mại Kadcyla) – thể liên hợp kháng thể-được chất bao gồm kháng thể đơn dòng trastuzumab (Herceptin) được liên kết với chất gây độc tế bào mertansin (DM1);

Các kháng thể CD20: Rituximab (được bán dưới nhãn hiệu Riuxan® và MabThera® của hãng Genentech/Roche), tositumomab (được bán dưới nhãn hiệu

Bexxar® của hãng GlaxoSmithKline), ofatumumab (được bán dưới nhãn hiệu Arzerra® của hãng GlaxoSmithKline);

Các chất ức chế tyrosin kinaza: Erlotinib hydroclorua (được bán dưới nhãn hiệu Tarceva® của hãng Genentech/Roche), Linifanib (N-[4-(3-amino-1H-indazol-4-yl)phenyl]-N'-(2-fluoro-5-methylphenyl)ure, cũng được biết đến như là ABT 869, sản có từ Genentech), sunitinib malat (được bán dưới tên thương mại Sutent® của hãng Pfizer), bosutinib (4-[(2,4-dichloro-5-methoxyphenyl)amino]-6-methoxy-7-[3-(4-methylpiperazin-1-yl)propoxy]quinolin-3-carbonitril, cũng được biết đến như là SKI-606, và được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 6,780,996), dasatinib (được bán dưới tên thương mại Sprycel® bởi Bristol-Myers Squibb), armala (cũng được biết đến như là pazopanib, được bán dưới tên thương mại Votrient® của hãng GlaxoSmithKline), imatinib và imatinib mesylat (được bán dưới tên thương mại Gilvec® và Gleevec® của hãng Novartis);

Các chất ức chế tổng hợp ADN: Capecitabine (được bán dưới nhãn hiệu Xeloda® của hãng Roche), gemcitabine hydroclorua (được bán dưới nhãn hiệu Gemzar® của hãng Eli Lilly and Company), nelarabine ((2R,3S,4R,5R)-2-(2-amino-6-methoxy-purin-9-yl)-5-(hydroxymethyl)oxolan-3,4-diol, được bán dưới tên thương mại Arranon® và Atriance® của hãng GlaxoSmithKline);

Các chất chống ung thư: oxaliplatin (được bán dưới tên thương mại Eloxatin® của Sanofi-Aventis và được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 4,169,846);

Các chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR): Gefitinib (được bán dưới tên thương mại Iressa®), N-[4-[(3-chloro-4-fluorophenyl)amino]-7-[[[3-(3"-furanyl)oxy]-6-quinazolinyl]-4(dimethylamino)-2-butenamit, được bán dưới tên thương mại Tovok® của hãng Boehringer Ingelheim), cetuximab (được bán dưới tên thương mại Erbitux® của hãng Bristol-Myers Squibb), panitumumab (được bán dưới tên thương mại Vectibix® của hãng Amgen);

Các chất ức chế dime hóa HER: Pertuzumab (được bán dưới nhãn hiệu Omnitarg®, của hãng Genentech);

Các chất điều biến yếu tố kích thích tạo dòng bạch cầu hạt (G-CSF) ở người: Filgrastim (được bán dưới tên thương mại Neupogen® của hãng Amgen);

Các chất điều biến miễn dịch: Afutuzumab (sẵn có từ Roche®), pegfilgrastim (được bán dưới tên thương mại Neulasta® của hãng Amgen), lenalidomide (cũng được biết đến như là CC-5013, được bán dưới tên thương mại Revlimid®), thalidomide (được bán dưới tên thương mại Thalomid®);

Các chất ức chế CD40: Dacetuzumab (cũng được biết đến như là SGN-40 hay huS2C6, sẵn có từ Seattle Genetics, Inc);

Các chất chủ vận thụ thể có khả năng gây chết tế bào theo chương trình sớm (pro-apoptotic receptor agonists - PARAs): Dulanermin (cũng được biết đến như là AMG-951, sẵn có từ hãng Amgen/Genentech);

Các chất đối kháng Hedgehog: 2-clo-N-[4-clo-3-(2-pyridinyl)phenyl]-4-(methylsulfonyl)-benzamid (cũng được biết đến như là GDC-0449, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 06/028958);

Các chất ức chế PI3K: 4-[2-(1H-Indazol-4-yl)-6-[[4-(methylsulfonyl)piperazin-1-yl]methyl]thieno[3,2-d]pyrimidin-4-yl]morpholin (cũng được biết đến như là GDC 0941 và đã được mô tả trong các công bố đơn PCT số WO 09/036082 và WO 09/055730), 2-methyl-2-[4-[3-methyl-2-oxo-8-(quinolin-3-yl)-2,3-dihydroimidazo[4,5-c]quinolin-1-yl]phenyl]propionitril (cũng được biết đến như là BEZ 235 hoặc NVP-BEZ 235, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 06/122806);

Các chất ức chế phospholipaza A2: Anagrelide (được bán dưới tên thương mại Agrylin®);

Các chất ức chế BCL-2: 4-[4-[[2-(4-clophenyl)-5,5-dimethyl-1-xyclohexen-1-yl]methyl]-1-piperazinyl]-N-[[4-[[[(1R)-3-(4-morpholinyl)-1-[(phenylthio)methyl]propyl]amino]-3-[(triflometyl)sulfonyl]phenyl]sulfonyl]benzamid (cũng được biết đến như là ABT-263 và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 09/155386);

Các chất ức chế protein kinaza được hoạt hóa bởi tác nhân phân bào (MEK): XL-518 (số đăng ký Cas 1029872-29-4, sẵn có từ ACC Corp.);

Các chất ức chế aromataza: Exemestane (được bán dưới nhãn hiệu Aromasin® của hãng Pfizer), letrozole (được bán dưới tên thương mại Femara® của hãng Novartis), anastrozole (được bán dưới tên thương mại Arimidex®);

Các chất ức chế Topoisomeraza I: Irinotecan (được bán dưới nhãn hiệu Camptosar® của hãng Pfizer), topotecan hydroclorua (được bán dưới tên thương mại Hycamtin® của hãng GlaxoSmithKline);

Các chất ức chế Topoisomeraza II: etoposide (cũng được biết đến như là VP-16 và Etoposide phosphat, được bán dưới tên thương mại Toposar®, VePesid® và Etopophos®), teniposide (cũng được biết đến như là VM-26, được bán dưới tên thương mại Vumon®);

Các chất ức chế mTOR: Temsirolimus (được bán dưới tên thương mại Torisel® của hãng Pfizer), ridaforolimus (tiền thân là deferolimus, (1R,2R,4S)-4-[(2R)-2-[(1R,9S,12S,15R,16E,18R,19R,21R, 23S,24E,26E,28Z,30S,32S,35R)-1,18-dihydroxy-19,30-dimethoxy-15,17,21,23, 29,35-hexamethyl-2,3,10,14,20-pentaoxo-11,36-dioxa-4-azatrixyclo[30.3.1.0^{4,9}] hexatriaconta-16,24,26,28-tetraen-12-yl]propyl]-2-methoxyxyclohexyl dimethylphosphinat, cũng được biết đến như là AP23573 và MK8669, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 03/064383), everolimus (được bán dưới tên thương mại Afinitor® của hãng Novartis);

Các chất ức chế tái hấp thu trên tế bào hủy xương: monohydrat của axit 1-Hydroxy-2-imidazol-1-yl-phosphonoethyl) phosphonic (được bán dưới tên thương mại Zometa® của hãng Novartis);

Thế liên hợp kháng thể được chất CD33: Gemtuzumab ozogamicin (được bán dưới tên thương mại Mylotarg® của hãng Pfizer/Wyeth);

Thế liên hợp kháng thể được chất CD22: Inotuzumab ozogamicin (cũng được đề cập ở đây là CMC-544 và WAY-207294, sẵn có từ Hangzhou Sage Chemical Co., Ltd.);

Thế liên hợp kháng thể được chất CD20: Ibritumomab tiuxetan (được bán dưới tên thương mại Zevalin®);

Các chất tương tự Somatostatin: octreotide (cũng được biết đến như là octreotide axetat, được bán dưới tên thương mại Sandostatin® và Sandostatin LAR®);

Interleukin-11 (IL-11) tổng hợp: oprelvekin (được bán dưới tên thương mại Neumega® của hãng Pfizer/Wyeth);

Erythropoietin tổng hợp: Darbepoetin alfa (được bán dưới tên thương mại Aranesp® của hãng Amgen);

Các chất ức chế chất hoạt hóa thụ thể đối với yếu tố nhân κ B (RANK): Denosumab (được bán dưới tên thương mại Prolia® của hãng Amgen);

Thrombopoietin mimetic peptibodies: Romiplostim (được bán dưới tên thương mại Nplaf® của hãng Amgen);

Các chất kích thích tăng trưởng tế bào: Palifermin (được bán dưới tên thương mại Kepivance® của hãng Amgen);

Kháng thể kháng thụ thể yếu tố tăng trưởng tương tự Insulin 1 (IGF-1R) antibodies: Figitumumab (cũng được biết đến như là CP-751,871, sẵn có từ ACC Corp), robatumumab (số đăng ký CAS 934235-44-6);

Kháng thể kháng CS1: Elotuzumab (HuLuc63, số đăng ký CAS 915296-00-3);

Kháng thể CD52: Alemtuzumab (được bán dưới tên thương mại Campath®);

Các chất ức chế CTLA-4: Tremelimumab (kháng thể đơn dòng IgG2 sẵn có từ Pfizer, tiền thân là ticilimumab, CP-675,206), ipilimumab (kháng thể CTLA-4, cũng được biết đến như là MDX-010, Số đăng ký CAS 477202-00-9);

Các chất ức chế PD1: Nivolumab (cũng được đề cập đến ở đây là MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538, BMS0936558, số đăng ký CAS: 946414-94-4) đã được bộc lộ trong, ví dụ, US 8,008,449, và có trình tự được bộc lộ ở đây (hoặc trình tự về cơ bản giống hoặc tương tự, ví dụ, trình tự có ít nhất 85%, 90%, 95% giống hoặc lớn hơn trình tự được xác định trong US 8,008,449); Pembrolizumab (cũng được đề cập đến ở đây là Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 hoặc KEYTRUDA), đã được bộc lộ trong, ví dụ, US 8,354,509 và WO 2009/114335, và có trình tự được bộc lộ ở đây (hoặc trình tự về cơ bản giống hoặc tương tự, ví dụ, trình tự có ít nhất 85%, 90%, 95% giống hoặc lớn hơn trình tự được xác định trong US 8,354,509 và WO2009/114335); chất kết dính miễn dịch (ví dụ, chất kết dính miễn dịch chứa ngoại bào hoặc phần liên kết PD-1 của PD-L1 hoặc PD-L2 dung hợp với vùng hằng định (ví dụ, vùng Fc của trình tự immunoglobulin); Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) là kháng thể đơn dòng IgG1k được nhân bản liên kết với PD1 (Pidilizumab và các kháng thể đơn dòng kháng PD-1 được nhân bản khác được bộc lộ trong WO2009/101611); và

AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune), đã được bộc lộ trong WO2010/027827 và WO2011/066342), là thụ thể hòa tan dung hợp Fc PD-L2 mà ngăn chặn sự tương tác giữa PD1 và B7-H1; các chất ức chế PD-1 khác, ví dụ, các kháng thể kháng PD1 đã được bộc lộ trong US 8,609,089, US 2010028330, và/hoặc US 20120114649.

Các chất ức chế PDL1: MSB0010718C (cũng được đề cập đến là A09-246-2; Merck Serono) là kháng thể đơn dòng mà liên kết với PD-L1 và đã được bộc lộ trong, ví dụ, WO 2013/0179174, (và có trình tự về cơ bản giống hoặc tương tự, ví dụ, trình tự có ít nhất 85%, 90%, 95% giống hoặc lớn hơn trình tự được xác định trong WO 2013/0179174); và chất chủ vận liên kết kháng PD-L1 được chọn từ YW243.55.S70, MPDL3280A (Genetech/Roche) là kháng thể đơn dòng tối ưu hóa Fc của người IgG1 mà liên kết với PD-L1 (MDPL3280A và các kháng thể đơn dòng khác ở người liên kết với PD-L1 đã được bộc lộ trong bằng sáng chế Mỹ số: 7,943,743 và công bố đơn sáng chế Mỹ số: 20120039906); MEDI-4736, MSB-0010718C, hoặc MDX-1105 (MDX-1105, cũng được biết đến như là BMS-936559, là kháng thể kháng PD-L1 được mô tả trong WO2007/005874; kháng thể YW243.55.S70 là kháng thể kháng PD-L1 được mô tả trong WO 2010/077634).

Các chất ức chế LAG-3: BMS-986016 (cũng được đề cập đến là BMS986016; Bristol-Myers Squibb) là kháng thể đơn dòng mà liên kết với LAG-3. BMS-986016 và các kháng thể kháng LAG-3 được nhân bản khác đã được bộc lộ trong US 2011/0150892, WO2010/019570, và WO2014/008218.

Các chất chủ vận GITR: các chất chủ vận GITR minh họa bao gồm, ví dụ, protein dung hợp GITR và kháng thể kháng GITR (ví dụ, kháng thể kháng GITR hóa trị hai), chẳng hạn như, kháng thể dung hợp GITR được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số: 6,111,090, bằng sáng chế châu Âu số: 090505B1, bằng sáng chế Mỹ số: 8,586,023, các công bố đơn PCT số: WO 2010/003118 và 2011/090754, hoặc kháng thể kháng GITR đã được mô tả, ví dụ, trong bằng sáng chế Mỹ số: 7,025,962, bằng sáng chế châu Âu số: 1947183B1, bằng sáng chế Mỹ số: 7,812,135, bằng sáng chế Mỹ số: 8,388,967, bằng sáng chế Mỹ số: 8,591,886, bằng sáng chế châu Âu số: EP 1866339, công bố đơn PCT số: WO 2011/028683, công bố đơn PCT số: WO 2013/039954, công bố đơn PCT số: WO2005/007190, công bố đơn PCT số: WO 2007/133822, công bố đơn PCT số: WO2005/055808, công bố đơn PCT số: WO 99/40196, công bố đơn PCT số: WO 2001/03720, công bố đơn PCT số: WO99/20758, công bố đơn PCT số:

WO2006/083289, công bố đơn PCT số: WO 2005/115451, bằng sáng chế Mỹ số: 7,618,632, và công bố đơn PCT số: WO 2011/051726.

Các chất ức chế histon deacetylaza (HDI): Voninostat (được bán dưới tên thương mại Zolinza® của hãng Merck).

Các kháng thể kháng CTLA4 bao gồm Tremelimumab (kháng thể đơn dòng IgG2 sẵn có từ Pfizer, tiền thân là ticilimumab, CP-675,206); và Ipilimumab (kháng thể CTLA-4, cũng được biết đến như là MDX-010, số đăng ký CAS 477202-00-9).

Kháng thể kháng TIM-3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó.

Các chất alkyl hóa: Temozolomide (được bán dưới tên thương mại Temodar® và Temodal® của hãng Schering-Plough/Merck), dactinomycin (cũng được biết đến như là actinomycin-D và được bán dưới tên thương mại Cosmegen®), melphalan (cũng được biết đến như là L-PAM, L-sarcolysin, và phenylalanine mustard, được bán dưới tên thương mại Alkeran®), altretamin (cũng được biết đến như là hexamethylmelamin (HMM), được bán dưới tên thương mại Hexalen®), carmustin (được bán dưới tên thương mại BiCNU®), bendamustine (được bán dưới tên thương mại Treanda®), busulfan (được bán dưới tên thương mại Busulfex® và Myleran®), carboplatin (được bán dưới tên thương mại Paraplatin®), lomustine (cũng được biết đến như là CCNU, được bán dưới tên thương mại CeeNU®), cisplatin (cũng được biết đến như là CDDP, được bán dưới tên thương mại Platinol® và Platinol®-AQ), chlorambucil (được bán dưới tên thương mại Leukeran®), cyclophosphamide (được bán dưới tên thương mại Cytosan® và Neosar®), dacarbazine (cũng được biết đến như là DTIC, DIC và imidazole carboxamide, được bán dưới tên thương mại DTIC-Dome®), altretamin (cũng được biết đến như là hexamethylmelamin (HMM) được bán dưới tên thương mại Hexalen®), ifosfamide (được bán dưới tên thương mại Ifex®), procarbazine (được bán dưới tên thương mại Matulane®), mecloretamine (cũng được biết đến như là nitro mustard, mustine và mecloretamine hydrochloride, được bán dưới tên thương mại Mustargen®), streptozocin (được bán dưới tên thương mại Zanosar®), thiopeta (cũng được biết đến như là thiophosphamide, TESPAs và TSPA, được bán dưới tên thương mại Thioplex®;

Các chất điều chỉnh đáp ứng sinh học: bacillus calmette-guerin (được bán dưới tên thương mại theraCys® và TICE® BCG), denileukin diftitox (được bán dưới tên thương mại Ontak®);

Các chất kháng sinh chống khối u: doxorubicin (được bán dưới tên thương mại Adriamycin® và Rubex®), bleomycin (được bán dưới tên thương mại lenoxane®), daunorubicin (cũng được biết đến như là dauorubicin hydroclorua, daunomycin, và rubidomycin hydroclorua, được bán dưới tên thương mại Cerubidine®), daunorubicin liposomal (daunorubicin xitrat liposom, được bán dưới tên thương mại DaunoXome®), mitoxantron (cũng được biết đến như là DHAD, được bán dưới tên thương mại Novantrone®), epirubicin (được bán dưới tên thương mại Ellence™), idarubicin (được bán dưới tên thương mại Idamycin®, Idamycin PFS®), mitomycin C (được bán dưới tên thương mại Mutamycin®);

Các chất chống hình thành vi quản: Estramustine (được bán dưới tên thương mại Emcyl®);

Các chất ức chế cathepsin K: Odanacatib (cũng được biết đến là MK-0822, N-(1-xyanoxyclopropyl)-4-flo-N²-{(1S)-2,2,2-triflo-1-[4'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]etyl}-L-leucinamit, sẵn có từ Lanzhou Chon Chemicals, ACC Corp., và ChemieTek, và được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 03/075836);

Các chất tương tự Epothilon B: Ixabepilon (được bán dưới tên thương mại Lxemptra® bởi Bristol-Myers Squibb);

Các chất ức chế protein sốc nhiệt (HSP): Tanespimyxin (17-allylamino-17-demetoxygeldanamycin, cũng được biết đến như là KOS-953 và 17-AAG, sẵn có từ SIGMA, và đã được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 4,261,989);

Các chất chủ vận TpoR: Eltrombopag (được bán dưới tên thương mại Promacta® và Revolade® của hãng GlaxoSmithKline);

Các chất chống phân bào: Docetaxel (được bán dưới tên thương mại Taxotere® của hãng Sanofi-Aventis);

Các chất ức chế steroid ở thượng thận: aminoglutethimide (được bán dưới tên thương mại Cytadren®);

Các chất kháng androgen: Nilutamit (được bán dưới tên thương mại Nilandron® và Anandron®), bicalutamit (được bán dưới tên thương mại Casodex®), flutamit (được bán dưới tên thương mại Fulexin™);

Các chất androgen: Fluoxymeston (được bán dưới tên thương mại Halotestin®);

Các chất ức chế proteasom: Bortezomib (được bán dưới tên thương mại Velcade®);

Các chất ức chế CDK1: Alvocidib (cũng được biết đến như là flovopirdol hoặc HMR-1275, 2-(2-clophenyl)-5,7-dihydroxy-8-[(3S,4R)-3-hydroxy-1-metyl-4-piperidinyl]-4-chromenon, và đã được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 5,621,002);

Các chất chủ vận thụ thể hormon giải phóng gonadotropin (GnRH): Leuprolide hoặc leuprolide axetat (được bán dưới tên thương mại Viadure® của hãng Bayer AG, Eligard® của hãng Sanofi-Aventis và Lupron® của hãng Abbott Lab);

Các chất chống ung thư nhóm Taxane: Cabazitaxel (1-hydroxy-7β,10β-dimetoxy-9-oxo-5β,20-epoxytax-11-en-2α,4,13α-triyl-4-axetat-2-benzoat-13-[(2R,3S)-3-{[(tert-butoxy)cacbonyl]amino}-2-hydroxy-3-phenylpropanoat), larotaxel ((2α,3ξ,4α,5β,7α,10β,13α)-4,10-bis(axetyloxy)-13-({(2R,3S)-3-[(tert-butoxycacbonyl)amino]-2-hydroxy-3-phenylpropanoyl}oxy)-1-hydroxy-9-oxo-5,20-epoxy-7,19-xyclotax-11-en-2-yl benzoat);

Các chất chủ vận thụ thể 5HT1a: Xaliproden (cũng được biết đến như là SR57746, 1-[2-(2-naphtyl)etyl]-4-[3-(triflometyl)phenyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin, và đã được mô tả trong bằng sáng chế Mỹ số 5,266,573);

Vaccin HPC: Cervarix® được bán bởi GlaxoSmithKline, Gardasil® được bán bởi Merck;

Các chất chelat hóa sắt: Deferasinox (được bán dưới tên thương mại Exjade® bởi Novartis);

Các chất chống chuyển hóa: Claribine (2-clodeoxyadenosin, được bán dưới tên thương mại leustatin®), 5-flouraxil (được bán dưới tên thương mại Adrucil®), 6-thioguanin (được bán dưới tên thương mại Purinethol®), pemetrexed (được bán dưới tên thương mại Alimta®), cytarabine (cũng được biết đến như là arabinosylcytosine

(Ara-C), được bán dưới tên thương mại Cytosar-U®), cytarabine liposomal (cũng được biết đến như là Liposomal Ara-C, được bán dưới tên thương mại DepoCyt™), decitabine (được bán dưới tên thương mại Dacogen®), hydroxyure (được bán dưới tên thương mại Hydrea®, Droxia™ và Mylocel™), fludarabine (được bán dưới tên thương mại Fludara®), floxuridine (được bán dưới tên thương mại FUDR®), cladribine (cũng được biết đến như là 2-clodeoxyadenosine (2-CdA) được bán dưới tên thương mại Leustatin™), metotrexat (cũng được biết đến như là ametopterin, metotrexat sodim (MTX), được bán dưới tên thương mại Rheumatrex® và Trexall™), pentostatin (được bán dưới tên thương mại Nipent®);

Bisphosphonat: Pamidronat (được bán dưới tên thương mại Aredia®), axit zoledronic (được bán dưới tên thương mại Zometa®);

Các chất khử methyl hóa: 5-azaxitidin (được bán dưới tên thương mại Vidaza®), decitabin (được bán dưới tên thương mại Dacogen®);

Alkaloit thực vật: Paclitaxel được liên kết với protein (được bán dưới tên thương mại Abraxane®), vinblastine (cũng được biết đến như là vinblastine sulfat, vincaleukoblastine và VLB, được bán dưới tên thương mại Alkaban-AQ® và Velban®), vincristine (cũng được biết đến như là vincristine sulfat, LCR, và VCR, được bán dưới tên thương mại Oncovin® và Vincasar Pfs®), vinorelbine (được bán dưới tên thương mại Navelbine®), paclitaxel (được bán dưới tên thương mại Taxol và Onxal™);

Retinoit: Alitretinoin (được bán dưới tên thương mại Panretin®), tretinoin (axit all-trans retinoic, cũng được biết đến như là ATRA, được bán dưới tên thương mại Vesanoid®), Isotretinoin (axit 13-cis-retinoic, được bán dưới tên thương mại Accutane®, Amnesteem®, Claravis®, Clarus®, Decutan®, Isotan®, Izotech®, Oratane®, Isotret®, và Sotret®), bexaroten (được bán dưới tên thương mại Targretin®);

Glucocorticosteroid: Hydrocortison (cũng được biết đến như là cortison, hydrocortison natri suxinat, hydrocortison natri phosphat, và được bán dưới tên thương mại Ala-Cort®, Hydrocortison Phosphat, Solu-Cortef®, Hydrocort Axetat® và Lanacort®), dexametazon ((8S,9R,10S,11S,13S,14S,16R,17R)-9-flu-11,17-dihydroxy-17-(2-hydroxyaxetyl)-10,13,16-trimetyl-6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-dodecahydro-

3H-xyclopenta[a]phenanthren-3-on), prednisolon (được bán dưới tên thương mại Delta-Cortel®, Orapred®, Pediapred® và Prelone®), prednison (được bán dưới tên thương mại Deltason®, Liquid Red®, Meticorten® và Orasone®), metylprednisolon (cũng được biết đến như là 6-metylprednisolon, metylprednisolon axetat, metylprednisolon natri suxinat, được bán dưới tên thương mại Duralone®, Medralone®, Medrol®, M-Prednisol® và Solu-Medrol®);

Xytokin: interleukin-2 (cũng được biết đến như là aldesleukin và IL-2, được bán dưới tên thương mại Proleukin®), interleukin-11 (cũng được biết đến như là oprevelkin, được bán dưới tên thương mại Neumega®), alpha interferon alfa (cũng được biết đến như là IFN-alpha, được bán dưới tên thương mại Intron® A, và Roferon-A®);

Chất giảm điều hòa thụ thể estrogen: Fulvestrant (được bán dưới tên thương mại Faslodex®);

Chất chống estrogen: tamoxifen (được bán dưới tên thương mại Novaldex®);

Toremifen (được bán dưới tên thương mại Fareston®);

Chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (SERMs): Raloxifen (được bán dưới tên thương mại Evista®);

Chất chủ vận hormon giải phóng hormon kích thích thể vàng (LHRH): Gozarelin (được bán dưới tên thương mại Zoladex®);

Progesteron: megestrol (cũng được biết đến như là megestrol axetat, được bán dưới tên thương mại Megace®);

Các chất gây độc tế bào khác: Arsen trioxit (được bán dưới tên thương mại Trisenox®), asparaginaza (cũng được biết đến như là L-asparaginaza, Erwinia L-asparaginaza, được bán dưới tên thương mại Elspar® và Kidrolase®);

Hợp chất có công thức (I) cũng có thể được sử dụng kết hợp với các liệu pháp điều trị phụ trợ sau đây:

Thuốc chống buồn nôn: chất chủ vận thụ thể NK-1: Casopitant (được bán dưới tên thương mại Rezonix® và Zunriza® bởi GlaxoSmithKline); và

Các chất bảo vệ tế bào: Amifostin (được bán dưới tên thương mại Ethyol®), leucovorin (cũng được biết đến như là canxi leucovorin, yếu tố citrovorum factor và axit folinic).

Các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch: Theo một phương án, các liệu pháp kết hợp được bộc lộ ở đây bao gồm chất ức chế của phân tử ức chế của phân tử kiểm soát miễn dịch. Thuật ngữ "điểm kiểm soát miễn dịch" dùng để chỉ nhóm các phân tử trên bề mặt tế bào của các tế bào T là CD4 và CD8. Các phân tử này có thể đóng vai trò hiệu quả như là "phân tử hãm" để điều chỉnh giảm hoặc ức chế đáp ứng đột biến chống khối u. Các phân tử kiểm soát đột biến bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Các chất đã được lập trình 1 (PD-1), kháng nguyên của tế bào bạch huyết T gây độc tế bào 4 (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40, và LAG3, mà trực tiếp ức chế các tế bào miễn dịch, các chất miễn dịch mà có thể hoạt động như là các chất ức chế kiểm soát miễn dịch hữu ích trong các phương pháp theo sáng chế, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các chất ức chế PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 và/hoặc TGFR beta. Sự ức chế phân tử ức chế có thể được thực hiện bằng sự ức chế ở cấp độ DNA, RNA hoặc protein. Theo các phương án, axit nucleic ức chế (ví dụ, dsRNA, siRNA hoặc shRNA), có thể được sử dụng để ức chế sự biểu hiện của phân tử ức chế. Theo các phương án khác, chất ức chế của tín hiệu ức chế là, polypeptit ví dụ, phối tử hòa tan, hoặc kháng thể hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, mà liên kết với phân tử ức chế.

Theo các phương án nhất định, các phân tử kháng PD-1 được mô tả ở đây được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều các chất ức chế PD-1, PD-L1 và/hoặc PD-L2 khác đã biết trong lĩnh vực này. Chất chủ vận có thể là kháng thể, mảnh liên kết kháng nguyên của nó, chất kết dính miễn dịch, protein dung hợp, hoặc oligopeptit.

Theo các phương án nhất định, các liệu pháp kết hợp được bộc lộ ở đây bao gồm chất điều biến phân tử đồng kích thích hoặc phân tử ức chế, ví dụ, phối tử hoặc thụ thể đồng ức chế.

Theo một phương án, chất điều biến đồng kích thích, ví dụ, chất chủ vận, của phân tử đồng kích thích được lựa chọn từ chất chủ vận (ví dụ, kháng thể chủ vận hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, hoặc chất dung hợp hòa tan) của phối tử OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137),

GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 hoặc CD83.

Theo phương án khác, các liệu pháp kết hợp được bộc lộ ở đây bao gồm phân tử đồng kích thích, ví dụ, chất chủ vận liên kết với tín hiệu dương mà bao gồm miền đồng kích thích CD28, CD27, ICOS và GITR.

Theo một phương án, phân tử kháng thể kháng PD-1 được sử dụng sau khi điều trị, ví dụ, sau khi điều trị u sắc tố, bằng kháng thể kháng CTLA4 (ví dụ, ipilimumab) chứa hoặc không chứa chất ức chế BRAF (ví dụ, vemurafenib hoặc dabrafenib). Liều minh họa mà có thể sử dụng bao gồm liều phân tử kháng thể kháng PD-1 khoảng 1 đến 10mg/kg, ví dụ, 3mg/kg, và liều kháng thể kháng CTLA-4, ví dụ, ipilimumab, khoảng 3mg/kg.

Theo phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng TIM-3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo các phương án khác nữa, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 và kháng thể kháng TIM-3, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng. Sự kết hợp các kháng thể được trích dẫn lại ở đây có thể được sử dụng riêng biệt, ví dụ, như là các kháng thể riêng biệt, hoặc liên kết, ví dụ, như là phân tử kháng thể đặc hiệu kép hoặc đặc hiệu ba. Theo một phương án, kháng thể đặc hiệu kép mà bao gồm phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 và kháng thể kháng TIM-3 hoặc kháng LAG-3, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó, được sử dụng. Theo các phương án nhất định, sự kết hợp các kháng thể được trích dẫn ở đây được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, ví dụ, bệnh ung thư như được mô tả ở đây (ví dụ, khối u rắn). Hiệu quả của các sự kết hợp nêu trên có thể được kiểm nghiệm ở các mẫu động vật đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các mẫu động vật để kiểm nghiệm tác dụng hiệp đồng của kháng PD-1 và kháng LAG-3 đã được mô tả, ví dụ, trong Woo *et al.* (2012) *Cancer Res.* 72(4):917-27).

Theo một số phương án, liệu pháp kết hợp được bộc lộ ở đây (ví dụ, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1, một mình hoặc kết hợp với chất điều biến miễn dịch khác (ví dụ, phân tử kháng thể kháng LAG-3, hoặc kháng TIM-3). Theo một

phương án, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo phương án khác, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng TIM-3 hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của nó. Theo các phương án khác nữa, phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 được sử dụng kết hợp với kháng thể kháng LAG-3 và kháng thể kháng TIM-3, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng. Sự kết hợp các kháng thể được trích dẫn ở đây có thể được sử dụng riêng biệt, ví dụ, như là các kháng thể riêng biệt, hoặc liên kết, ví dụ, như là phân tử kháng thể đặc hiệu kép hoặc đặc hiệu ba. Theo một phương án, kháng thể đặc hiệu kép mà bao gồm phân tử kháng thể kháng PD-1 hoặc PD-L1 và kháng thể kháng TIM-3 hoặc kháng LAG-3, hoặc mảnh liên kết kháng nguyên của chúng, được sử dụng. Theo các phương án nhất định, sự kết hợp các kháng thể được trích dẫn ở đây được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, ví dụ, bệnh ung thư như được mô tả ở đây (ví dụ, khối u rắn). Hiệu quả của sự kết hợp nêu trên có thể được kiểm nghiệm trên các mẫu động vật đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, các mẫu động vật để kiểm nghiệm tác dụng hiệp đồng của kháng PD-1 và kháng LAG-3 đã được mô tả, ví dụ, trong Woo *et al.* (2012) *Cancer Res.* 72(4):917-27).²⁴

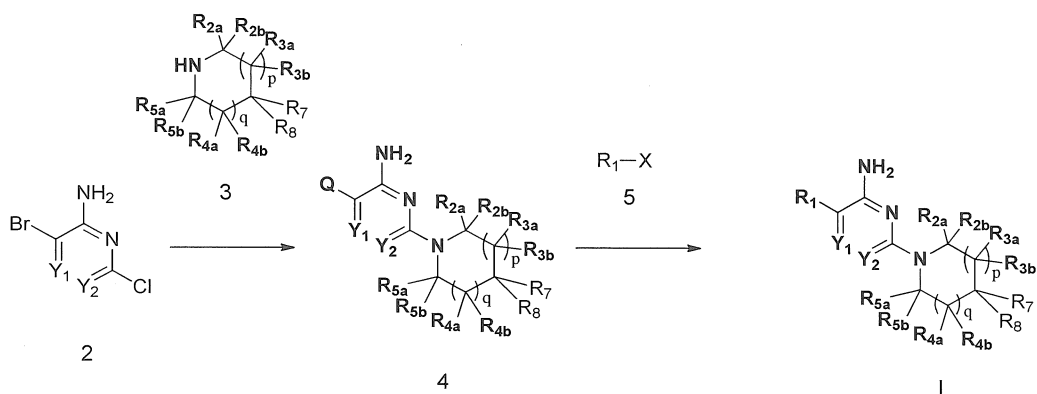
Theo các phương án nhất định, phân tử kháng thể ở dạng phân tử kháng thể đặc hiệu kép hoặc đa đặc hiệu. Theo một phương án, phân tử kháng thể đặc hiệu kép có liên kết đặc hiệu đầu tiên với PD-1 hoặc PD-L1 và liên kết đặc hiệu thứ hai, ví dụ, liên kết đặc hiệu thứ hai với TIM-3, LAG-3, hoặc PD-L2. Theo một phương án, phân tử kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 hoặc PD-L1 và TIM-3. Theo phương án khác, phân tử kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 hoặc PD-L1 và LAG-3. Theo phương án khác, phân tử kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 hoặc PD-L1. Theo phương án khác nữa, phân tử kháng thể đặc hiệu kép liên kết với PD-1 và PD-L2. Theo phương án khác, phân tử kháng thể đặc hiệu kép liên kết với TIM-3 và LAG-3. Sự kết hợp bất kỳ của các phân tử nêu trên có thể được thực hiện trong phân tử kháng thể đa đặc hiệu, ví dụ, kháng thể đặc hiệu ba mà bao gồm liên kết đặc hiệu đầu tiên với PD-1 hoặc PD-L1, và các liên kết đặc hai và ba đến hai hoặc nhiều trong số: TIM-3, LAG-3, hoặc PD-L2.

Quy trình điều chế các hợp chất theo sáng chế

Sáng chế cũng bộc lộ các quy trình để điều chế các hợp chất theo sáng chế. Trong các phản ứng được mô tả, có thể là cần thiết phải bảo vệ các nhóm chức phản ứng, ví dụ các nhóm hydroxy, amino, imino, thio hoặc carboxy, trong đó chúng được mong muốn có trong sản phẩm cuối cùng, để tránh sự tham gia không mong muốn trong các phản ứng. Các nhóm bảo vệ thông thường có thể được sử dụng phù hợp với thực hành tiêu chuẩn, ví dụ, xem T.W. Greene và P. G. M. Wuts trong “Protective Groups in Organic Chemistry”, John Wiley và Sons, 1991.

Các hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng cách tiến hành như trong sơ đồ phản ứng I sau đây:

Sơ đồ phản ứng I:



trong đó p, q, Y₁, Y₂, R_{2a}, R_{2b}, R_{3a}, R_{3b}, R_{4a}, R_{4b}, R_{5a}, R_{5b}, R₇ và R₈ là như được xác định đối với công thức I trong phần Bản chất kỹ thuật của sáng chế, Q là halogen (như brom) hoặc thiol, boronat hoặc stanat mà phản ứng với halogen trên hợp chất 5, và X là nhóm phản ứng mà phản ứng với Q (chẳng hạn như boronat, stanat, rượu, thiol, halogen, và tương tự). Hợp chất 4 có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất 2 phản ứng với hợp chất 3 thông qua phản ứng trong điều kiện axit hoặc bazơ thích hợp khi có mặt hoặc không có mặt kim loại chuyển tiếp trong điều kiện nhiệt độ môi trường xung quanh, hoặc trong điều kiện nhiệt hoặc vi sóng. Theo cách khác, halogen của hợp chất 2 có thể được thay thế bằng các halogen hoặc các nhóm hoạt động thích hợp khác chẳng hạn như triflat, mesylat, tosylat, nonaflat, boronat, organostanan, organosilyl, organozinc, liti, magie, và tương tự.

Hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất 4 phản ứng với đối tác bắt cặp phù hợp (ví dụ hợp chất 5) tùy thuộc vào X. Ví dụ, hợp chất 5

được biểu diễn trong sơ đồ phản ứng I dưới dạng nhóm phenyl được thể được liên kết thông qua X. Theo cách khác, hợp chất 5 có thể là rượu aryl, aryl-thio, aryl-boronat, aryl-stanat, rượu heteroaryl, aryl-thiol, heteroaryl-thiol, aryl-boronat, aryl-stanan, olefin, hoặc các aryl kim loại hoặc heteroaryl kim loại khác, và tương tự. Các đối tác bắt cặp cũng có thể được thể. Phản ứng này có thể được thực hiện trong điều kiện axit hoặc bazơ thích hợp, khi có mặt hoặc không có mặt kim loại chuyển tiếp chẳng hạn như paladi, trong điều kiện nhiệt độ môi trường xung quanh, hoặc trong điều kiện nhiệt hoặc vi sóng. Các halogen hoặc nhóm hoạt động thích hợp khác (ví dụ, triflat, mesylat, tosylat, và nonaflat) có thể được sử dụng ở vị trí của Br đối với các biến đổi này.

Theo cách khác, các đối tác bắt cặp có thể được đảo ngược và hợp chất 2 có thể được dẫn xuất thành stanat, boronat, organo-kẽm, organo-liti, organo-magie, organo-silic, organo-cuprat và được bắt cặp với aryl-halogenua, heteroaryl-halogenua, olefin thích hợp hoặc nhóm chức phản ứng thích hợp (ví dụ, triflat, mesylat, tosylat và Nonaflat), và tương tự.

Các phản ứng này có thể được thực hiện theo thứ tự đã mô tả hoặc theo thứ tự ngược lại, trong các điều kiện dung môi, nhiệt độ, áp suất, và trong điều kiện khí quyển thích hợp. Các phản ứng có thể được thực hiện trong điều kiện axit, bazơ, và hoặc kim loại chuyển tiếp.

Ví dụ chi tiết về sự tổng hợp các hợp chất có công thức I có thể được tìm thấy trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Quy trình bổ sung để điều chế các hợp chất theo sáng chế

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng muối cộng axit được dùng bằng cách cho dạng bazơ tự do của hợp chất phản ứng với axit vô cơ hoặc hữu cơ được dùng. Theo cách khác, muối cộng bazơ được dùng của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách cho dạng axit tự do của hợp chất phản ứng với bazơ vô cơ hoặc hữu cơ được dùng.

Các hợp chất có công thức I cũng có thể được thay đổi bằng cách thêm vào các chức năng phù hợp để tăng cường đặc tính sinh học chọn lọc. Sự thay đổi loại này đã được biết đến trong lĩnh vực này và bao gồm các thay đổi mà làm tăng sự thâm nhập vào hệ thống sinh học cho trước (ví dụ máu, hệ bạch huyết, hệ thần kinh trung ương,

trình hoàn), tăng sự khả dụng sinh học, tăng khả năng hòa tan để cho phép sử dụng ngoài đường tiêu hóa (ví dụ tiêm, truyền), thay đổi chuyển hóa và/hoặc thay đổi tốc độ bài tiết. Ví dụ về loại thay đổi này bao gồm nhưng không giới hạn ở quá trình este hóa, ví dụ với polyetylen glycol, dẫn xuất với pivaloyloxy hoặc các phần tử thế axit béo, sự chuyển đổi thành carbamat, hydroxyl hóa các vòng thơm và sự thế nguyên tử khác loại trong các vòng thơm. Trong trường hợp bất kỳ các hợp chất có công thức I, và/hoặc N-oxit, tautome và/hoặc muối (ưu tiên là muối dược dụng) của chúng được đề cập, việc này bao gồm cả công thức đã thay đổi như thế, đồng thời nghĩa là ưu tiên các phân tử có công thức I, N-oxit của chúng, tautome của chúng và/hoặc muối của chúng.

Theo cách khác, các dạng muối của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế sử dụng muối của các vật liệu ban đầu hoặc các chất trung gian. Khi xem xét mối quan hệ gần gũi giữa các hợp chất mới có công thức I ở dạng tự do và ở dạng muối của chúng, bao gồm các muối mà có thể được sử dụng làm chất trung gian, ví dụ trong quá trình tinh chế hoặc xác định các hợp chất mới, bất kỳ sự tham chiếu nào đến các hợp chất hoặc hợp chất có công thức I trên đây và dưới đây được hiểu là đề cập đến hợp chất ở dạng tự do và/hoặc cũng đề cập đến một hoặc nhiều muối của chúng, một cách thích hợp và thiết thực, cũng như đề cập đến một hoặc nhiều solvat, ví dụ hydrat.

Các muối được tạo thành, ví dụ, như là các muối cộng axit, tốt hơn là với các axit hữu cơ hoặc vô cơ, từ các hợp chất có công thức I chứa nitơ nguyên tử gốc, đặc biệt là các muối dược dụng. Các axit vô cơ thích hợp là, ví dụ, axit halogen, chẳng hạn như axit clohydric, axit sulfuric, hoặc axit phosphoric. Các axit hữu cơ thích hợp là, ví dụ, axit carboxylic, phosphonic, sulfonic hoặc sulfamic, ví dụ axit axetic, axit propionic, axit octanoic, axit decanoic, axit dodecanoic, axit glycolic, axit lactic, axit fumaric, axit succinic, axit malonic, axit adipic, axit pimelic, axit suberic, axit azelaic, axit malic, axit tartaric, axit citric, amino axit, chẳng hạn như axit glutamic hoặc axit aspartic, axit maleic, axit hydroxymaleic, axit methylmaleic, axit cyclohexanecarboxylic, axit adamantanecarboxylic, axit benzoic, axit salicylic, axit 4-aminosalicylic, axit phthalic, axit phenylacetic, axit mandelic, axit cinamic, axit metan- hoặc etan-sulfonic, axit 2-hydroxyetan-sulfonic, axit etan-1,2-disulfonic, axit benzenesulfonic, axit 4-toluensulfonic, axit 2-naphthalenesulfonic, axit 1,5-naphthalen-disulfonic, axit 2- hoặc 3-methylbenzenesulfonic, axit metylsulfuric, axit etylsulfuric, axit dodecylsulfuric, axit

N-xyclohexylsulfamic, axit N-metyl-, N-etyl- hoặc N-propyl-sulfamic, axit protonic hữu cơ khác, chẳng hạn như axit ascorbic.

Nhằm mục đích phân lập hoặc tinh chế có thể sử dụng các muối không được dùng, ví dụ picrat hoặc perchlorat. Nhằm mục đích điều trị, chỉ sử dụng các muối được dùng hoặc các hợp chất tự do (trong trường hợp có khả năng áp dụng dạng chế phẩm được), và vì vậy đây là các dạng được ưu tiên.

Các dạng axit tự do hoặc bazơ tự do của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế từ muối cộng bazơ hoặc muối cộng axit, tương ứng. Ví dụ hợp chất theo sáng chế ở dạng muối cộng axit có thể được chuyển đổi thành bazơ tự do tương ứng bằng cách xử lý với bazơ thích hợp (ví dụ, dung dịch amoni hydroxit, natri hydroxit, và tương tự). Hợp chất theo sáng chế ở dạng muối cộng bazơ có thể được chuyển đổi thành axit tự do tương ứng bằng cách xử lý với axit thích hợp (ví dụ, axit clohydric, v.v.).

Các hợp chất theo sáng chế ở dạng không được oxy hóa có thể được điều chế từ N-oxit của các hợp chất theo sáng chế bằng cách xử lý với chất khử (ví dụ, lưu huỳnh, lưu huỳnh dioxit, triphenyl phosphin, liti bohydrua, natri bohydrua, phosphorus trichlorua, tribromua, hoặc tương tự) trong dung môi hữu cơ trơ thích hợp (ví dụ axetonitril, etanol, dioxan chứa nước, hoặc tương tự) ở 0 đến 80°C.

Các dẫn xuất tiền dược chất của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này (ví dụ, để chi tiết thêm, xem Saulnier et al., (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 4, p. 1985). Ví dụ, các tiền thuốc thích hợp có thể được điều chế cho hợp chất theo sáng chế không được dẫn xuất phản ứng với chất carbamyl hóa thích hợp (ví dụ, 1,1-acyloxyalkylcarbanocloridat, para-nitrophenyl carbonat, hoặc tương tự).

Các dẫn xuất được bảo vệ của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Mô tả chi tiết các kỹ thuật có khả năng áp dụng đối với sự tạo thành các nhóm bảo vệ và sự loại bỏ của chúng có thể được tìm thấy trong T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3rd edition, John Wiley and Sons, Inc., 1999.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế một cách thuận lợi, hoặc được tạo thành trong suốt quy trình theo sáng chế, dưới dạng solvat (ví dụ, hydrat). Hydrat của các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế một cách thuận lợi bằng cách kết tinh lại từ hỗn hợp dung môi chứa nước/hữu cơ, sử dụng các dung môi hữu cơ chẳng hạn như dioxin, tetrahydrofuran hoặc metanol.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng các chất đồng phân lập thể độc lập của chúng bằng cách cho hỗn hợp raxemic của hợp chất phản ứng với chất phân giải hoạt quang để tạo ra một cặp các hợp chất đồng phân không đối quang, tách riêng các chất đồng phân không đối quang và thu hồi các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết quang học. Trong khi sự phân giải các chất đồng phân đối ảnh có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các dẫn xuất đồng phân không đối quang cộng hóa trị của các hợp chất theo sáng chế, ưu tiên các phức có khả năng phân ly (ví dụ, các muối đồng phân không đối quang tinh thể). Chất đồng phân không đối quang có các đặc tính vật lý phân biệt (ví dụ, điểm nóng chảy, điểm sôi, độ hòa tan, khả năng phản ứng, v.v.) và có thể tách ra dễ dàng bằng cách tận dụng các điểm không giống nhau này. Các chất đồng phân không đối quang có thể được phân tách bằng phương pháp sắc ký, hoặc tốt hơn là, bằng các kỹ thuật tách/phân giải dựa trên sự khác biệt về độ hòa tan. Chất đồng phân đối ảnh hoạt quang sau đó được thu hồi, cùng với chất phân giải, bằng các phương pháp thực hành bất kỳ mà sẽ không gây ra quá trình raxemic hóa. Mô tả chi tiết hơn của các kỹ thuật có khả năng áp dụng đối với quá trình phân giải của các chất đồng phân lập thể của các hợp chất từ hỗn hợp racemic của chúng có thể được tìm thấy ở Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.

Tóm lại, các hợp chất có công thức I có thể được điều chế bằng quy trình, bao gồm:

- (a) quy trình theo sơ đồ phản ứng I; và
- (b) chuyển đổi tùy ý hợp chất theo sáng chế thành muối được dụng;
- (c) chuyển đổi tùy ý dạng muối của hợp chất theo sáng chế thành dạng không phải muối;
- (d) chuyển đổi tùy ý dạng không được oxy hóa của hợp chất theo sáng chế thành N-oxit được dụng;

(e) chuyển đổi tùy ý dạng N-oxit của hợp chất theo sáng chế thành dạng không được oxy hóa của nó;

(f) phân giải tùy ý chất đồng phân riêng biệt của hợp chất theo sáng chế từ hỗn hợp các chất đồng phân;

(g) chuyển đổi tùy ý hợp chất không được dẫn xuất theo sáng chế thành dẫn xuất tiền thuốc được dụng; và

(h) chuyển đổi tùy ý dẫn xuất tiền thuốc của hợp chất theo sáng chế to thành dạng không được dẫn xuất của nó.

Ở một chừng mực nào đó quá trình sản xuất các vật liệu ban đầu không được mô tả cụ thể, các hợp chất đã được biết hoặc có thể được điều chế tương tự với các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này hoặc như là được bộc lộ trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận ra rằng sự thay đổi ở trên chỉ là đại diện cho các phương pháp điều chế các hợp chất theo sáng chế, và các phương pháp đã biết khác có thể được sử dụng tương tự.

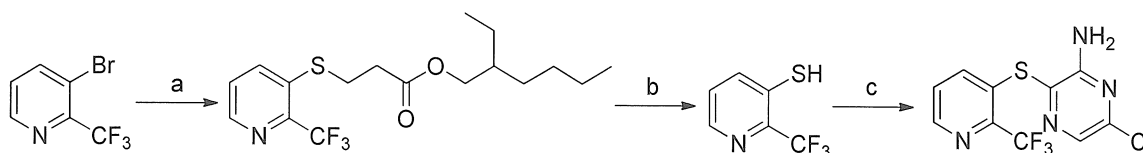
Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ và các chất trung gian sau nhằm mục đích minh họa sáng chế mà không giới hạn phạm vi của nó. Một số chữ viết tắt được sử dụng trong các ví dụ là như sau: axit axetic (AcOH); trietylamin (TEA); tetrahydrofuran (THF); chứa nước (aq.); atmosphe (atm.); 2,2'-bis-diphenylphosphanyl-[1,1']binaphtalenyl (BINAP); 4-dimetylaminopyridin (DMAP); *tert*-butoxycacbonyl (Boc); 1,1-cacbonylidiimidazol (CDI); di-*tert*-butyl dicarbonat (BOC₂O); benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimetylaminophosphoni hexaflophosphat (BOP); diclometan (DCM); dietyl ete (Et₂O); axit p-toluen sulfonic (PTSA); etyl axetat (EtOAc); etanol (EtOH); liti bis(trimetylsilyl)amit (LHMDS); diisopropyl azodicarboxylat (DIAD); *N,N*-diisopropyl-etylamin (DIEA hoặc DIPEA); *N,N*-dimetylformamit (DMF); dimetyl sulfoxit (DMSO); diphenylphosphoryl azit (DPPA); (nhiều) giờ (h); 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU); Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC); liti nhôm hydrua (LAH); sắc ký lỏng liên kết với khối phổ (LCMS); liti diisopropylamit (LDA); metanol (MeOH); mililit(s) (mL); (nhiều) phút (min); vi sóng

(MW); *n*-butylliti (*n*-BuLi); 1,1-bis(diphenylphosphino)-feroxendiclopaladi (II) ($\text{PdCl}_2(\text{dppf})$); tris(dibenzylideneaxeton)dipaladi (0) ($\text{Pd}_2(\text{dba})_3$); diclobis(triphenylphosphin)paladi (II) ($\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$); nhiệt độ phòng (RT); axit trifloaxetic (TFA); tetrahydrofuran (THF); sắc ký lớp mỏng (TLC); thời gian hồi lưu (t_R); & 4,5-bis(diphenylphosphino)-9,9-dimetylxanthen (Xantophos).

Chất trung gian 1

6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin



Bước a: Thêm 2-ethylhexyl-3-mercaptopropanoat (1,1mL, 4,87mmol) vào dung dịch chứa 3-bromo-2-(triflometyl)pyridin (1,0g, 4,42mmol), XantPhos (256mg, 0,442mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (203mg, 0,221mmol) trong dioxan (12mL) (ở RT và trong điều kiện N_2) sau đó thêm DIPEA (1,55mL, 8,85mmol). Khuấy dung dịch tạo thành trong lò phản ứng vi sóng trong 1h ở 110°C . Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (25mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 30%) để tạo ra 2-ethylhexyl 3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)propanoat (1,41g, 3,88mmol). MS m/z 364,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

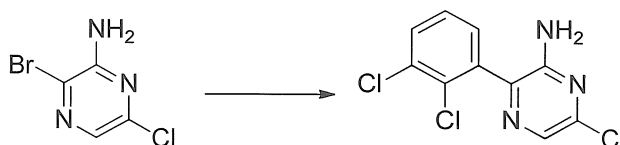
Bước b: Thêm kali *tert*-butoxit (1M trong THF, 8,25ml, 8,25mmol) vào dung dịch 2-ethylhexyl 3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)propanoat (1,0g, 2,75mmol) trong THF (8mL) ở -78°C và trong điều kiện N_2 . Sau khi khuấy mạnh ở -78°C trong 20min, dập tắt phản ứng bằng K_2CO_3 aq (2M, 500 μL) và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Đổ phần cặn tạo thành vào phễu tách chứa K_2CO_3 aq (2M, 30mL) và chiết bằng Et_2O (2 x 20mL). Axit hóa pha chứa nước bằng HCl 6M cho đến khi độ pH = 4 và chiết huyền phù đục tạo thành bằng CHCl_3 :IPA (9:1; 3 x 20 mL) để tạo ra 2-(triflometyl)pyridin-3-thiol (380mg, 2,12mmol). MS m/z 180,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Bước c: Thêm DIPEA (556 μL , 3,18mmol) vào dung dịch chứa 2-(triflometyl)pyridin-3-thiol (285mg, 1,591mmol), 3-bromo-6-clopyrazin-2-amin

(414mg, 1,988mmol), XantPhos (101Mg, 0,175mmol), và $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (72,8mg, 0,08mmol) trong dioxan (2ML) (ở RT và trong điều kiện N_2). Khuấy dung dịch tạo thành trong lò phản ứng vi sóng trong 1,5h ở 130°C . Sau khi làm nguội đến RT, pha loãng phản ứng bằng EtOAc và lọc qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (25mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 30%) để tạo ra 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (1,41g, 3,88mmol). ^1H NMR (400MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 8,64 (dd, $J=4,55, 1,26$ Hz, 1 H), 7,90 (s, 1 H), 7,82 (dd, $J=8,08, 0,76$ Hz, 1 H), 7,46 (dd, $J=8,08, 4,80$ Hz, 1 H); ^{19}F NMR (376MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm -64,34 (s, 1 F). MS m/z 307,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 2

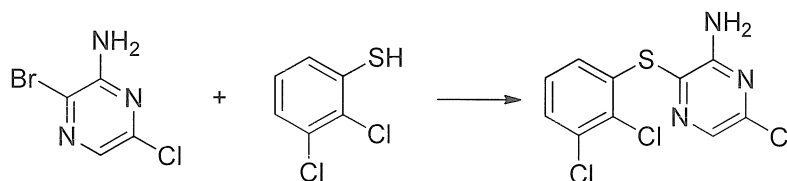
6-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)-3-(2,3-diclophenyl)pyrazin-2-amin



Khuấy huyền phù gồm 3-bromo-6-clopyrazin-2-amin (1,2g, 5,76Mmol), axit (2,3-diclophenyl)boronic (1,1g, 5,76Mmol), kali phosphat (3,67g, 17,27mmol), và sản phẩm cộng $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{DCM}$ (235mg, 0,288mmol) trong $\text{MeCN}:\text{H}_2\text{O}$ (9:1, 15mL, đã khử khí) trong lò phản ứng vi sóng trong 4h ở 120°C . Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (25mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 30%) để tạo ra 6-(4-amino-4-metylpiperidin-1-yl)-3-(2,3-diclophenyl)pyrazin-2-amin (633mg, 2,306Mmol). MS m/z 276,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 3

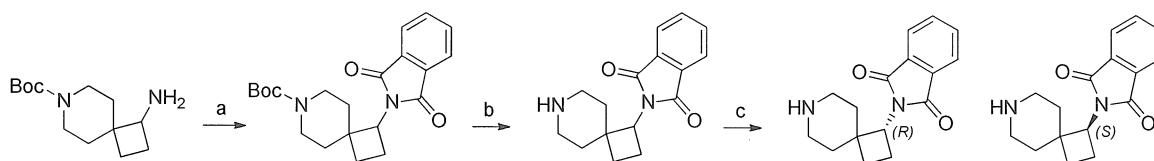
6-clo-3-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-amin



Khuấy hỗn hợp gồm 3-bromo-6-clopyrazin-2-amin (5,0g, 23,99mmol), 2,3-diclobenzenethiol (6,44g, 36,0mmol), đồng(I)iodua (914mg, 4,80mmol), kali phosphat (10,18g, 48,0mmol), và 1,10-phenanthrolin (1,73mg, 9,59mmol) trong dioxan (50mL, đã khử khí) trong 16h ở 85°C. Sau khi làm nguội đến RT, pha loãng phản ứng bằng EtOAc, và lọc qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (50mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient DCM/toluen 0 đến 25%) để tạo ra 6-clo-3-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-amin (3,7g, 12,07mmol). MS m/z 306,0 (M+H)⁺.

Chất trung gian 4

(*R*) và (*S*)-2-(7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)isoindolin-1,3-dion



Bước a: Khuấy huyền phù gồm *tert*-butyl 1-amino-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (250mg, 1,04mmol), anhydrit phtalic (193mg, 1,3mmol), rây phân tử hoạt tính (3angstrom, 250mg), và DIPEA (545μL, 3,12Mmol) trong toluen (4mL) trong 16h ở 105°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc hỗn hợp qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (10mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 5 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl 1-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (233mg, 0,629mmol). MS m/z 370,4 (M+H)⁺.

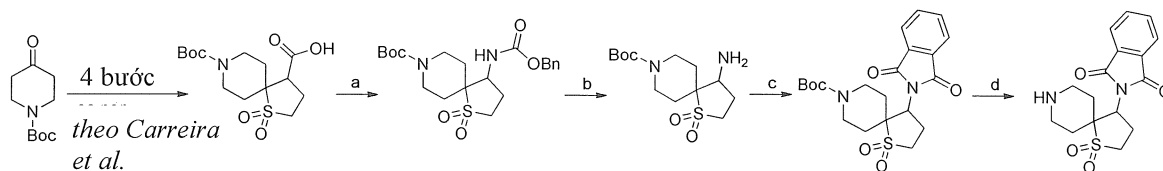
Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 1-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (233mg, 0,629mmol) và HCl (4M trong dioxan, 800μL, 3,21Mmol) trong dioxan (5mL) trong 16h ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trên rotavap để tạo ra muối HCl của hợp chất nêu trong đề mục (195mg, 0,636Mmol). MS m/z 270,3 (M+H)⁺.

Bước c: Thực hiện tinh chế SFC không đối xứng trong các điều kiện sau; cột: Xenluloza LUX-2 21x250mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: MeOH 50% và NH₄OH

10mM trong CO₂, quá trình dò: 220nm UV có được hai đỉnh R_t (P1)= 3,6min (chất đồng phân đối ảnh *R*); R_t (P2)= 7,4min (chất đồng phân đối ảnh *S*).

Chất trung gian 5

2-(1,1-dioxido-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion



Bước a: Khuấy dung dịch chứa axit 8-(*tert*-butoxycacbonyl)-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-4-carboxylic 1,1-dioxit (được điều chế từ *tert*-butyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat theo 4 bước như đã mô tả trong Carreira et al., *Org Lett.*, 2011, 13, 6134-6136; 2,00g, 6,00mmol), diphenyl phosphorazidat (2,0g, 7,26mmol), và Et₃N (1,0mL, 7,26mmol) trong toluen (37mL) trong 1,5h ở 115°C. Thêm rượu benzyl (1,50mL, 14,52mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, đổ hỗn hợp phản ứng vào phễu tách chứa NaHCO₃ sat. aq. (30mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 20 mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 10 đến 90%) để tạo ra *tert*-butyl 4-(((benzyloxy)cacbonyl)amino)-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit (1,57g, 3,58mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS *m/z* 339,4 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy mạnh huyền phù gồm *tert*-butyl 4-(((benzyloxy)cacbonyl)amino)-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit (570mg, 1,30mmol) và Pd/C (10% trên than hoạt tính, 138mg) trong THF (8mL) trong điều kiện khí quyển H₂ trong 16h. Lọc phản ứng qua nút Xelit sau đó rửa EtOAc (20mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-amino-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit, chất này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

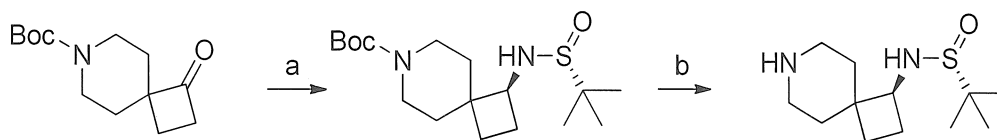
Bước c: Khuấy mạnh huyền phù gồm *tert*-butyl 4-amino-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit (415mg, 1,363mmol), anhydrit phtalic (252mg, 1,704mmol), và rây phân tử hoạt tính (3angstrom, 500mg) trong toluen (7mL)

trong 16h ở 115°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc hỗn hợp qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (10ml), và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 10%) để tạo ra *tert*-butyl 4-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit (385mg, 0,886Mmol) dưới dạng bột màu trắng. MS m/z 433,1 (M-H)⁻.

Bước d: Khuấy dung dịch gồm *tert*-butyl 4-(1,3-dioxoisindolin-2-yl)-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat 1,1-dioxit (385mg, 0,886Mmol) và HCl (4M trong dioxan, 2,22ml, 8,86mmol) trong dioxan (4mL) trong 16h ở RT. Pha loãng hỗn hợp bằng dioxan (20mL) và lọc để tạo ra 2-(1,1-dioxido-1-thia-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isindolin-1,3-dion (muối HCl, 328mg, 0,884Mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 335,4 (M+H)⁺.

Chất trung gian 6

(*R*)-2-metyl-*N*-((*S*)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)propan-2-sulfinamit

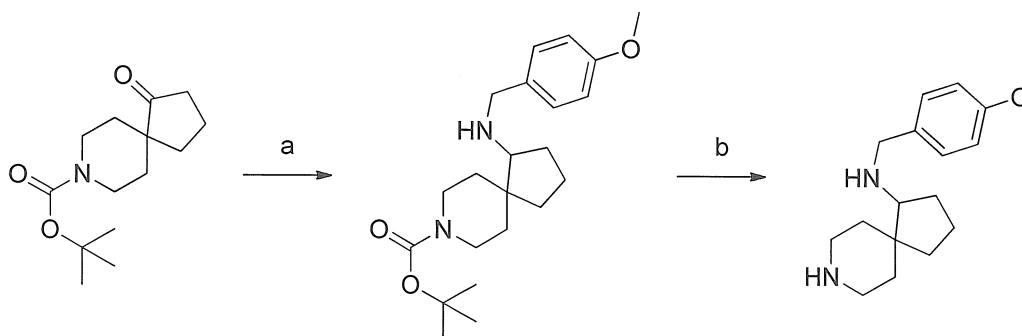


Bước a: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 1-oxo-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (5,24g, 21,9mmol), titan(IV) isopropoxit (16,2mL, 54,7mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (3,45g, 28,5mmol) trong THF (99mL) trong 12h ở 65°C. Sau khi làm lạnh đến -78°C, thêm MeOH (9,9mL) sau đó thêm liti bohydrua (1,43g, 65,7mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở -78°C trong 3h và ở RT trong 1h. Thêm từ từ MeOH để dập tắt phần dư bohydrua sau đó thêm nước muối. Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua Xelit. Chiết hỗn hợp chứa nước bằng EtOAc (3 x 20mL). Sấy khô các pha hữu cơ trên MgSO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 50% để tạo ra (*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (4,79g, 13,90mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 345,3 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa (*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-7-azaspiro[3.5]nonan-7-carboxylat (0,4g, 1,16mmol) và TFA (450 μ L, 5,81Mmol) trong DCM (3,5mL) trong 30min ở 40°C. Thêm Na₂CO₃ sat. aq. đến khi độ pH = 11 và chiết hỗn hợp chứa nước bằng DCM (3 x 15mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-2-metyl-*N*-((*S*)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)propan-2-sulfonamit (237mg, 0,97mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS *m/z* 245,5 (M+H)⁺.

Chất trung gian 7

N-(4-metoxibenzy)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Thêm natri xyanobohydrua (2,23g, 35,5mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,8g, 7,11Mmol), và (4-metoxyphenyl)metanamin (1,07g, 7,82Mmol) trong DCE (7mL) trong các phần và khuấy ở RT trong 65h. Pha loãng hỗn hợp bằng dung dịch natri bicarbonat chứa nước bão hòa (10mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 20mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối rồi cô đặc. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien MeOH/DCM 0 đến 2%, được điều chỉnh bằng Et₃N 0,25%, sau đó gradien EtOAc/heptan là 0 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 1-((4-metoxybenzyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,1g, 2,94mmol) dưới dạng sáp không màu. MS *m/z* 375,3 (M+H)⁺.

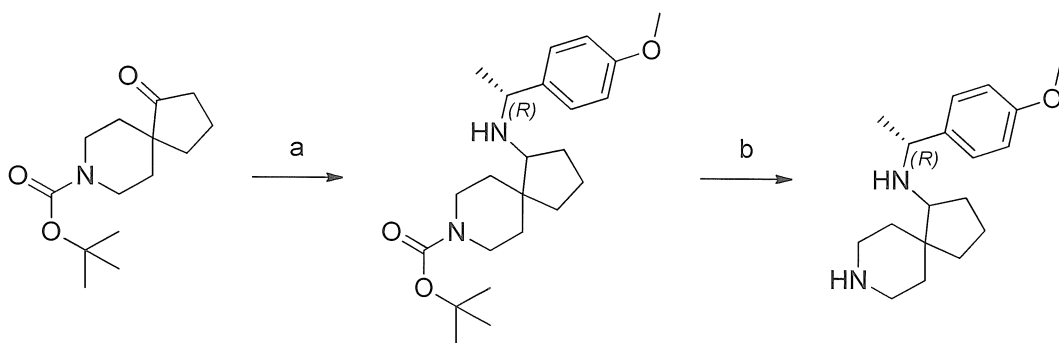
Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 1-((4-metoxybenzyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,1g, 2,94Mmol) và TFA (2mL) trong DCM (2mL) trong 15min ở 0°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng phần cặn tạo thành bằng NaHCO₃ chứa nước (10mL) và chiết bằng EtOAc (4 x 10mL)

để tạo ra *N*-(4-metoxybenzyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (0,8g, 2,92mmol) là dầu không màu. MS m/z 275,2 (M+H)⁺.

Thu được *N*-(4-metoxybenzyl)-3-azaspiro[5.5]undecan-7-amin sau quy trình trên bắt đầu từ *tert*-butyl 7-oxo-3-azaspiro[5.5]undecan-3-carboxylat.

Chất trung gian 8

N-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



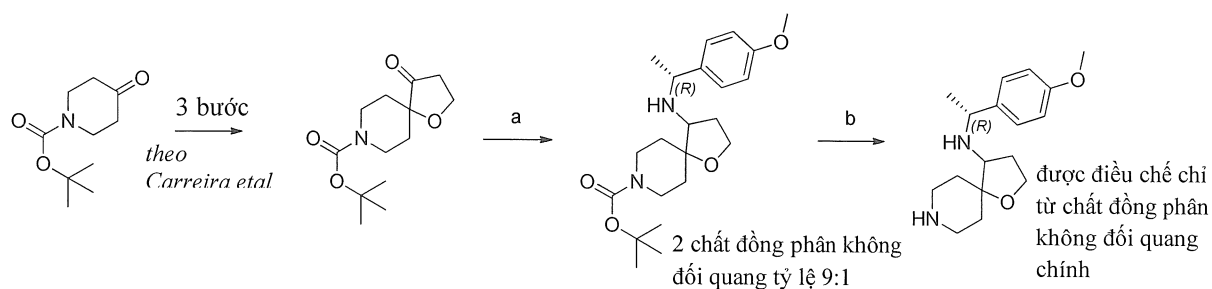
Bước a: Thêm natri xyanobohydrua vào dung dịch chứa *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,15g, 4,54Mmol), và (*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etanamin (961Mg, 6,36Mmol) trong DCE (3mL) trong các phần và khuấy trong 16h ở RT. Pha loãng hỗn hợp bằng dung dịch natri bicarbonat chứa nước bão hòa (5mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 10mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối rồi cô đặc. Tinh chế phần cặn tạo thành chứa hỗn hợp 9:1 các chất đồng phân không đối quang bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 20%) để tạo ra *tert*-butyl 1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (chất đồng phân không đối quang chính; 431mg, 1,11mmol) tinh khiết. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,18-7,24 (m, 2 H), 6,81-6,86 (m, 2 H), 3,76 (d, *J*=13,64 Hz, 1 H), 3,72 (s, 3 H), 3,64-3,70 (m, 2 H), 2,65-2,92 (m, 2 H), 2,05-2,14 (m, 1 H), 1,80-1,91 (m, 1 H), 1,65-1,75 (m, 1 H), 1,42-1,60 (m, 4 H), 1,40 (s, 9 H), 1,28-1,35 (m, 1 H), 1,20 (d, *J*=6,57 Hz, 3 H), 1,09-1,17 (m, 2 H), 0,80 (d, *J*=11,37 Hz, 1 H). MS m/z 389,6 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm TFA (2ml) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (chất đồng phân không đối quang chính; 431mg, 1,11Mmol) trong DCM (2ML) và khuấy trong 10min ở RT. Cô đặc phản ứng bằng cách thêm tiếp DCM, sau đó pha loãng bằng NaHCO₃ chứa

nước bão hòa và chiết bằng DCM (3 x 20mL). Rửa các chất hữu cơ bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc để tạo ra *N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin. ^1H NMR (400 MHz, $\text{METANOL-}d_4$) δ 7,25 (d, $J=8,6$ Hz, 2 H), 6,87 (d, $J=8,7$ Hz, 2 H), 3,85-3,78 (m, 1 H), 3,78 (s, 3 H), 3,35 (m, 1 H), 3,28 (m, 1 H), 3,03 (m, 2 H), 2,63 (dd, $J=9,6, 7,3$ Hz, 1 H), 2,06-1,85 (m, 2 H), 1,83-1,69 (m, 2 H), 1,62 (m, 1 H), 1,54-1,38 (m, 4 H), 1,33 (d, $J=6,6$ Hz, 3 H), 1,31-1,23 (m, 1 H). MS m/z 289,5 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 9

N-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-1-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin



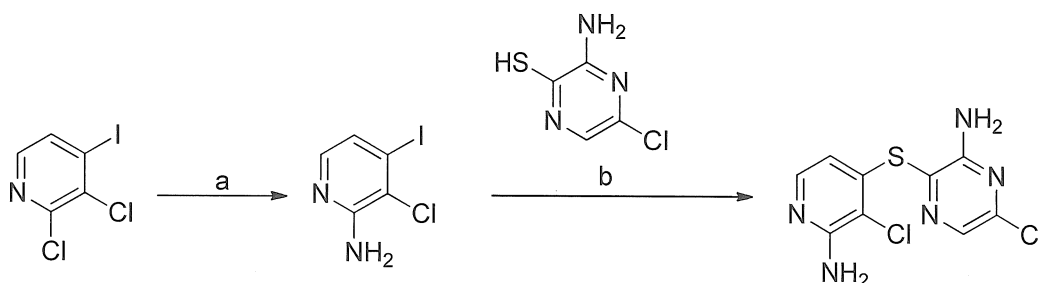
Bước a: Thêm natri xyanobohydrua vào dung dịch chứa *tert*-butyl 4-oxo-1-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (được điều chế từ *tert*-butyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat theo 3 bước như được mô tả trong Carreira et al., *Org Lett.*, 2013, 15, 4766-4769; 200mg, 0,78mmol), và (*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etanamin (474mg, 3,13mmol) trong DCE (1ML) trong các phần (393mg, 3,13mmol). Khuấy phản ứng tạo thành trong 16h ở RT. Thêm liti bohhydrua (34mg, 1,6mmol) và khuấy hỗn hợp trong 30min ở RT. Pha loãng hỗn hợp này bằng MeOH (2ml) và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm (hai lần). Thêm NaHCO_3 sat. aq. (5mL) và chiết hỗn hợp bằng DCM (3 x 20mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế hỗn hợp 9:1 tạo thành của các chất đồng phân không đối quang bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl 4-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-1-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (65mg, 0,17mmol) tinh khiết không đối quang. Chất đồng phân không đối quang chính: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 7,15 (d, $J=8,6$ Hz, 2 H), 6,79 (d, $J=8,6$ Hz, 2 H), 3,96-3,76 (m, 2 H), 3,77-3,66 (m, 5 H), 3,60 (t, $J=8,1$ Hz, 1 H), 2,98 (m, 2 H), 2,76 (t, $J=7,8$ Hz, 1 H), 1,95 (m, 1 H), 1,67-1,41 (m, 4

H), 1,40 (s, 9 H), 1,33 (d, $J=3,1$ Hz, 1 H), 1,21 (d, $J=6,5$ Hz, 3 H), 1,08-0,92 (m, 1 H). MS m/z 391,6 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 4-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)ethyl)amino)-1-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (chất đồng phân không đối quang chính, 65mg, 0,17mmol) và TFA (2mL) trong DCM (2mL) trong 10 min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, pha loãng bằng NaHCO₃ sat. aq. (5mL), và chiết bằng DCM (3 x 20mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)ethyl)-1-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (40mg, 0,13mmol) được sử dụng mà không tinh chế thêm. MS m/z 291,5 (M+H)⁺.

Chất trung gian 10

3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin



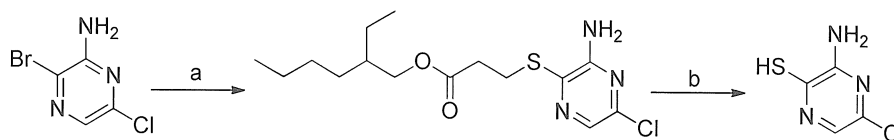
Bước a: Biến đổi 2,3-diclo-4-iodopyridin sẵn có trên thị trường thành 3-clo-4-iodopyridin-2-amin bằng quy trình như được mô tả trong Marie et al., *Molecules*, 2012, 17,10683-10707.

Bước b: Thêm DIPEA (324μL, 1,856Mmol) vào dung dịch chứa 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (100mg, 0,619mmol), 3-clo-4-iodopyridin-2-amin (315mg, 1,238mmol), XantPhos (35,8mg, 0,062Mmol), và Pd₂(dba)₃ (28,3mg, 0,03mmol) trong dioxan (3mL) (ở RT và trong điều kiện N₂). Khuấy dung dịch tạo thành trong lò phản ứng vi sóng trong 2,5h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, pha loãng phản ứng bằng EtOAc và lọc qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (10mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 5%) để tạo ra 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (1,41g, 3,88mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,88 (s, 1 H),

7,68 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H), 6,06 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H), 1,35-1,43 (m, 2 H). MS m/z 288,2 (M+H)⁺.

Chất trung gian 11

3-amino-5-clopyrazin-2-thiol

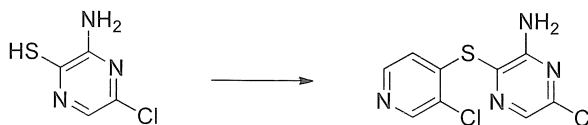


Bước a: Phun nitơ vào dung dịch chứa 3-bromo-6-clopyrazin-2-amin (4,95g, 23,74mmol) trong dioxan (119mL) trong 10min. Sau đó, thêm 2-ethylhexyl 3-mercaptopropanoat (3,79mL, 24,92Mmol), Xantphos (1,37g, 2,37mmol), Pd₂(dba)₃ (1,08g, 1,19mmol), và DIPEA (8,29mL, 47,5mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 105°C trong 24h và lọc hỗn hợp phản ứng qua Xelit rồi cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-40%) để thu được 2-ethylhexyl 3-((3-amino-5-clopyrazin-2-yl)thio)propanoat (6,24g, 18,04mmol) dưới dạng dầu màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, CLOFORM-*d*) δ ppm 7,82 (s, 1 H), 4,93 (br, s, 2 H), 4,14-3,96 (m, 2 H), 3,47 (t, $J=6,9$ Hz, 2 H), 2,78 (t, $J=6,9$ Hz, 2 H), 1,67-1,51 (m, 1 H), 1,44-1,20 (m, 8 H), 0,90 (t, $J=7,4$ Hz, 6 H). MS m/z 346,0 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm kali *tert*-butoxit (1M trong THF, 19,95mL, 19,95mmol) vào dung dịch chứa 2-ethylhexyl 3-((3-amino-5-clopyrazin-2-yl)thio)propanoat (2,3g, 6,65mmol) trong THF (33mL) ở -78°C, và khuấy hỗn hợp tạo thành ở -78°C trong 1h. Thêm MeOH (20mL) và cô đặc hỗn hợp tạo thành. Hòa tan phần thô trong MeOH, lọc, và tinh chế bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradient 5-20%, axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) để thu được 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (muối TFA: 1,3g, 4,72mmol) dưới dạng chất rắn màu vàng. MS m/z 162,0 (M+H)⁺.

Chất trung gian 12

6-clo-3-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin



Phun nitơ vào dung dịch 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (muối TFA: 0,158g, 0,978mmol) trong dioxan (4,9mL) trong 10min. Sau đó, thêm 3-clo-4-iodopyridin (0,468g, 1,955mmol), Xantphos (0,057g, 0,098mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,045g, 0,049mmol), và DIPEA (0,512ML, 2,93mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 105°C trong 10h, lọc qua Xelit và cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-40%; heptan chứa 2% Et_3N) để thu được 6-clo-3-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (75mg, 0,274mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 8,46 (s, 1 H), 8,22 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 7,96 (s, 1 H), 6,68 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 5,17 (br, s., 2 H). MS m/z 273,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 13

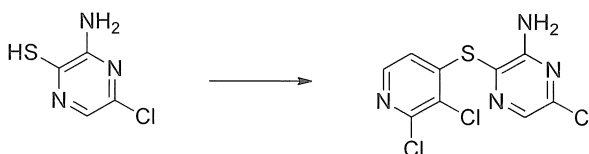
6-clo-3-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin



Phun nitơ vào dung dịch chứa 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (muối TFA: 0,2g, 1,238mmol) trong dioxan (6,2mL) trong 10min. Sau đó, thêm 2-clo-3-iodopyridin (0,593g, 2,475mmol), Xantphos (0,072g, 0,124Mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,057g, 0,062Mmol), và DIPEA (0,65mL, 3,71Mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 105°C trong 10h, lọc qua Xelit và cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-40%, chứa 2% Et_3N) để thu được 6-clo-3-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (95mg, 0,348mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 8,28-8,38 (m, 1 H), 7,91 (s, 1 H), 7,51-7,59 (m, 1 H), 7,22 (dd, $J=7,9, 4,6$ Hz, 1 H), 5,25 (br, s., 2 H). MS m/z 273,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 14

6-clo-3-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin

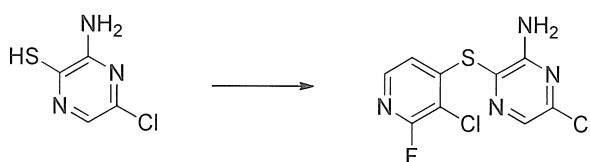


Khử khí dung dịch chứa 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (muối TFA: 0,50g, 1,814mmol) trong dioxan (90mL) bằng nitơ trong 10min. Sau đó, thêm 2,3-diclo-4-

iodopyridin (0,099g, 3,63mmol), Xantphos (0,105g, 0,181mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,083g, 0,091mmol), và DIPEA (0,95mL, 5,44mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 105°C trong 10h, lọc qua Xelit và cô đặc. Tinh chế phân thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/DCM 0-10%). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8,13 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 7,30 (br, s, 2 H), 6,83 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H). MS m/z 306,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 15

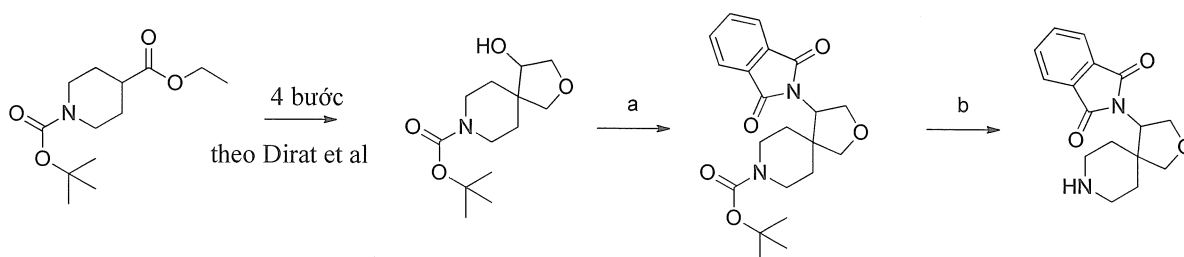
6-clo-3-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin



Phun nitơ vào dung dịch 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (muối TFA: 50mg, 0,181mmol) trong dioxan (1,8mL) trong 10min. Sau đó, thêm 3-clo-2-flo-4-iodopyridin (0,140g, 0,544mmol), Xantphos (11Mg, 0,018mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (8mg, 0,009mmol), và DIPEA (95 μL , 0,544mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 100°C trong 10h, lọc qua Xelit, rồi cô đặc. Tinh chế phân thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%; heptan chứa 2% Et_3N) để thu được 6-clo-3-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (41mg, 0,137mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOFORM}-d$) δ ppm 8,06 (s, 1 H), 7,91 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 6,63 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 5,30 (br. s, 2 H). MS m/z 291,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 17

2-(2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion



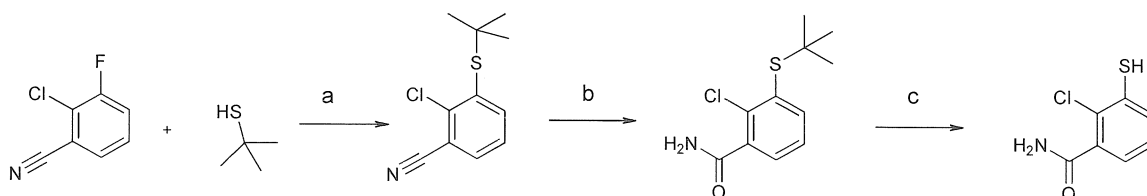
Sau các quy trình của Dirat et al., đơn quốc tế PCT số 20044078750, 16 tháng 9 năm 2004, điều chế *tert*-butyl 4-hydroxy-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat. ^1H NMR (400 MHz, Cloform-*d*) δ 4,13 (dd, $J=10,1, 4,6$ Hz, 1 H), 4,03 (dd, $J=4,6, 2,0$ Hz, 1 H), 3,78–3,71 (m, 2 H), 3,69 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H), 3,67–3,58 (m, 2 H), 3,29 (m, 1 H), 3,16 (m, 1 H), 1,78 (m, 2 H), 1,58 (m, 1 H), 1,50 (m, 2 H), 1,47 (s, 9 H). MS m/z 258,1 (M-H) $^+$ từ 1-*tert*-butyl 4-etyl piperidin-1,4-dicarboxylat trong bốn bước, sau đó chuyển đổi thành 2-(2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion trong hai bước như sau.

Bước a: Thêm diisopropylazadicarboxylat (0,374mL, 1,78mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 4-hydroxy-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (306mg, 1,19mmol), phtalimit (262mg, 1,78mmol) và triphenylphosphin (468mg, 1,78mmol) trong THF (10mL) và khuấy 16h. Cô đặc và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silica (gradien etyl axetat/heptan 0 đến 50%) thu được raxemic *tert*-butyl 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (190mg, 0,49mmol). ^1H NMR (400 MHz, Cloroform-*d*) δ 7,88 (dd, $J=5,4, 3,0$ Hz, 2 H), 7,77 (dd, $J=5,5, 3,0$ Hz, 2 H), 4,65 (dd, $J=8,7, 5,6$ Hz, 1 H), 4,40 (dd, $J=9,5, 5,6$ Hz, 1 H), 4,26 (t, $J=9,0$ Hz, 1 H), 4,08 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H), 3,98 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H), 3,84 (m, 1 H), 3,58 (m, 1 H), 3,20 (m, 1 H), 2,94 (m, 1 H), 1,73 (m, 2 H), 1,56 (s, 9 H), 1,42–1,36 (m, 2 H).

Bước b: Thêm axit trifloaxetic (1mL) vào dung dịch chứa raxemic *tert*-butyl 4-(1,3-dioxoisoindolin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (190mg, 0,49mmol) trong diclometan (3mL). Cô đặc bằng cách thêm tiếp diclometan, sau đó thêm axetonitril để thu được 2-(2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion là muối TFA (định lượng). MS m/z 287,0 (M+H) $^+$. Sử dụng mà không phân tích đặc điểm thêm.

Chất trung gian 18

2-clo-3-mercaptobenzamit



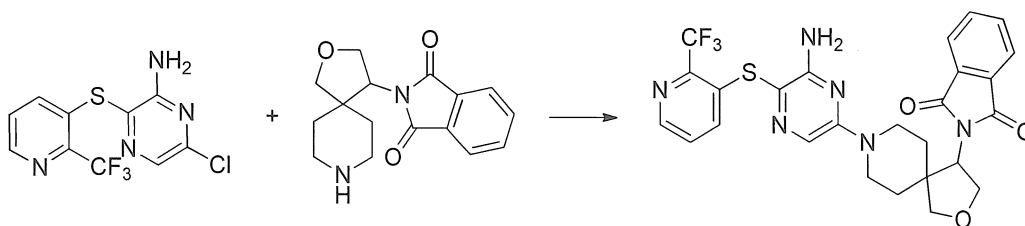
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm 2-clo-3-flobenzonitril (3,15g, 20,25mmol), 2-methylpropan-2-thiol (2,283mL, 20,25mmol) và Cs_2CO_3 (6,598g, 20,25mmol) trong DMF (100mL) trong 48h ở 22°C. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước (200mL) và EtOAc (300mL). Rửa lớp EtOAc bằng nước (3 x 300 mL), nước muối (3 x 100 mL), sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien: 45 đến 70% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM), để tạo ra 3-(*tert*-butylthio)-2-clobenzonitril (1,33g, 5,89mmol). MS m/z 226,1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Bước b: Chiếu xạ hỗn hợp gồm 3-(*tert*-butylthio)-2-clobenzonitril (217mg, 0,961mmol) và NaOH (1N, 2,88mL, 2,88mmol) trong MeOH (11mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 35min ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, cô đặc phản ứng và hòa tan trong MeOH. Lọc chất rắn ra và cô đặc phần dịch lọc đến gần như khô và tinh chế bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien: 25 đến 50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM), để tạo ra 3-(*tert*-butylthio)-2-clobenzamit (93,6mg, 0,384mmol). MS m/z 244 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm 3-(*tert*-butylthio)-2-clobenzamit (190mg, 0,779mmol) và HCl đậm đặc (2,36mL, 78mmol) trong 45min ở 85°C. Sau khi làm nguội đến RT, cô đặc phản ứng đến khô để tạo ra 2-clo-3-mercaptobenzamit thô (muối HCl: 156mg, 0,651mmol). MS m/z 188 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Chất trung gian 19

2-(8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion

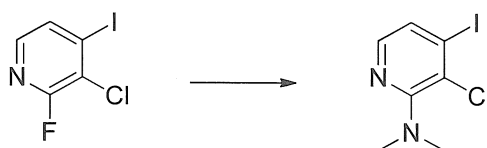


Ghép cặp muối TFA 2-(2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion với 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (151mg, 0,492mmol) sử dụng các quy trình thông thường đã mô tả ở trên. Pha loãng bằng DCM và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silica (gradien etyl axetat/heptan 0 đến 60%) để thu được 2-

(8-(6-amino-5-((2-(triflormethyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dione (0,140g, 0,178mmol). MS m/z 557,1 (M+H)⁺. Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: OJ-H 21x250mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 45% và NH₄OH 5mM trong CO₂, quá trình dò: khối lượng được kích hoạt để thu được chất đồng phân đối ảnh đơn đỉnh 1 (P1), R_t: 2,77min. MS m/z 557,1 (M+H)⁺, và đỉnh 2 (P2), R_t: 3,91min. MS m/z 557,2 (M+H)⁺. Sự khử bảo vệ phthalimit được thực hiện trên mỗi chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ mà không phân tích đặc điểm thêm.

Chất trung gian 20

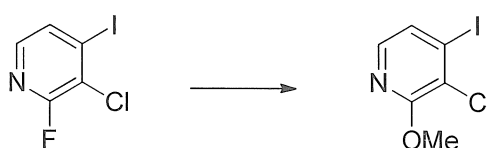
3-clo-4-iodo-*N,N*-dimethylpyridin-2-amin



Khuấy dung dịch chứa 3-clo-2-flo-4-iodopyridin (0,26g, 1,01mmol) và dimethylamin (2M trong THF, 1,5mL, 3,03mmol) trong DMSO (3,4mL) trong 2h ở 70°C. Sau khi làm nguội đến RT, thêm nước và chiết hỗn hợp chứa nước bằng EtOAc. Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 3-clo-4-iodo-*N,N*-dimethylpyridin-2-amin (0,26g, 0,922mmol) dưới dạng dầu không màu. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 7,75 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 7,33 (d, *J*=5,0 Hz, 1 H), 3,00 (s, 6 H). MS m/z 282,9 (M+H)⁺.

Chất trung gian 21

3-clo-4-iodo-2-metoxypyridin



Khuấy dung dịch 3-clo-2-flo-4-iodopyridin (150mg, 0,571mmol) và NaOMe (0,5M trong MeOH, 3,4mL, 1,71mmol) trong DMSO (1,9mL) trong 1h ở 70°C. Sau khi làm nguội đến RT, thêm nước và chiết hỗn hợp chứa nước bằng EtOAc. Rửa các

pha hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 3-clo-4-iodo-2-metoxypyridin (123mg, 0,456mmol) dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,81 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 7,55 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 3,92 (s, 3 H). MS m/z 269,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Chất trung gian 22

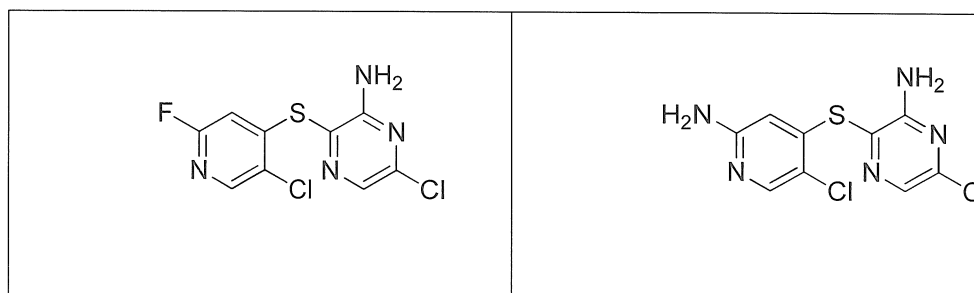
6-clo-3-((3-(triflometyl)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin

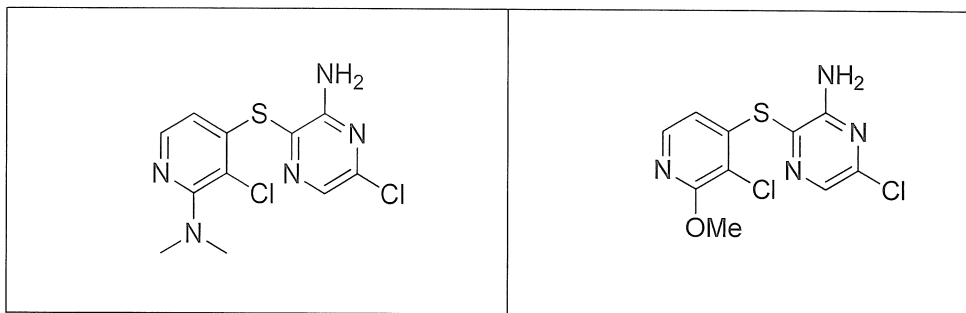


Khuấy hỗn hợp gồm 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (750mg, 4,09mmol), 4-bromo-3-(triflometyl)pyridin (1,63g, 5,31mmol), Xantphos (236mg, 0,409mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (187mg, 0,204mmol), và DIPEA (2,14mL, 12,26mmol) trong dioxan (đã khử khí, 50mL) trong 16h ở 100°C . Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (25mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/DCM 0 đến 40%) để tạo ra 6-clo-3-((3-(triflometyl)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (722mg, 2,35mmol) dưới dạng chất rắn màu vàng sáng. MS m/z 307,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Các hợp chất sau đây được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng iodo- hoặc bromo-pyridyl và thiolat tương ứng.

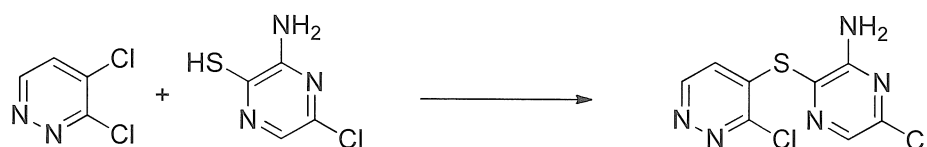
Bảng 1





Chất trung gian 23

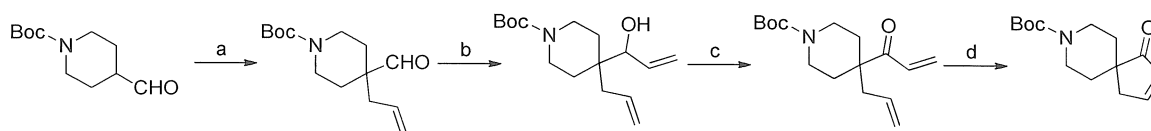
6-clo-3-((3-clopyridazin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin



Khuấy hỗn hợp gồm 3-amino-5-clopyrazin-2-thiol (100mg, 0,545mmol), 3,4-diclopyridazin (81mg, 0,545mmol), và DIPEA (0,142mL, 0,817mmol) trong MeCN (5,5mL) trong 12h ở 50°C. Sau khi làm nguội đến RT, thu lấy kết tủa bằng quá trình lọc chân không để tạo ra 6-clo-3-((3-clopyridazin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (101mg, 0,368mmol) dưới dạng chất rắn màu nâu. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,90 (d, $J=5,4$ Hz, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 7,31 (s, 2 H), 7,15 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H). MS m/z 274,1 (M+H) $^+$.

Chất trung gian 24

tert-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 4-formylpiperidin-1-carboxylat (35,0g, 164mmol), liti *tert*-butoxyt (15,77g, 197mmol), và allylbromua (11,54mL, 189mmol) trong DMF (328mL) trong 1h ở 0°C. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH₄Cl sat. aq:H₂O (1:1, 500mL) và chiết bằng Et₂O (5 x 50 mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế

phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 25%) để tạo ra *tert*-butyl 4-allyl-4-formylpiperidin-1-carboxylat (24g, 95mmol) dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 9,52 (s, 1 H), 5,53-5,76 (m, 1 H), 4,96-5,19 (m, 2 H), 3,80 (br, s., 2 H), 2,97 (t, $J=11,49$ Hz, 2 H), 2,26 (d, $J=7,33$ Hz, 2 H), 1,95 (dt, $J=13,71$, 3,13 Hz, 2 H), 1,38-1,58 (m, 11 H).

Bước b: Thêm vinyl magie bromua (1M trong THF, 118mL, 118mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 4-allyl-4-formylpiperidin-1-carboxylat (24g, 95mmol) trong THF (300mL) (ở -78°C và trong điều kiện N_2). Từ từ làm ấm dung dịch tạo thành lên đến RT trong vòng 1h. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH_4Cl sat. aq (250mL) và chiết bằng EtOAc (4 x 50mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO_4 , lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-allyl-4-(1-hydroxyallyl)piperidin-1-carboxylat (26,7g, 95mmol) dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 9,52 (s, 1 H), 5,56-5,75 (m, 1 H), 5,05-5,18 (m, 2 H), 3,80 (br, s., 2 H), 2,97 (t, $J=11,49$ Hz, 2 H), 2,26 (d, $J=7,33$ Hz, 2 H), 1,96 (dt, $J=13,83$, 3,06 Hz, 2 H), 1,49-1,60 (m, 2 H), 1,41-1,49 (m, 9 H). Sử dụng hợp chất này trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

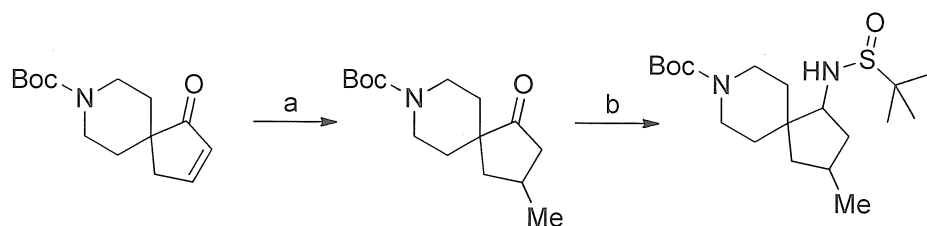
Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 4-allyl-4-(1-hydroxyallyl)piperidin-1-carboxylat (26,7g, 95mmol) và Dess-Martin periodinan (44,3g, 105mmol) trong DCM (380mL) trong 1h ở RT. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NaHCO_3 sat. aq: Na_2SO_3 (1:1, 300mL) và chiết bằng DCM (4 x 50 mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO_4 , lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu trắng. Tạo huyền phù chất rắn này trong heptan (250ml) và nghiền bằng sóng âm trong 5min. Lọc huyền phù màu trắng qua miếng đệm Xelit và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-acryloyl-4-allylpiperidin-1-carboxylat (26,5g, 95mmol) dưới dạng dầu màu vàng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{CLOROFORM-}d$) δ ppm 6,81 (dd, $J=16,93$, 10,36 Hz, 1 H), 6,40 (dd, $J=16,80$, 1,89 Hz, 1 H), 5,71 (dd, $J=10,36$, 2,02 Hz, 1 H), 5,46-5,66 (m, 1 H), 4,91-5,14 (m, 2 H), 3,78 (br, s., 2 H), 2,96 (br, s., 2 H), 2,25-2,39 (m, 2 H), 1,97-2,15 (m, 2 H), 1,37-1,57 (m, 11 H). Sử dụng hợp chất này trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước d: Thêm chất xúc tác Grubbs II (2,02g, 2,38mmol) trong toluen (đã khử khí, 100mL) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 4-acryloyl-4-allylpiperidin-1-carboxylat (26,5g, 95mmol) trong toluen (đã khử khí, 850mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong

45min ở 85°C. Loại bỏ phần dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (20,76g, 83mmol) dưới dạng chất rắn màu nâu. Khuấy dung dịch chứa hợp chất này và DDQ (565mg, 2,49mmol) trong toluen (540mL) trong 15min ở RT. Lọc dung dịch màu đỏ tươi tạo thành qua miếng đệm Xelit. Thêm than hoạt tính (200g) và khuấy huyền phù tạo thành trong 2h ở RT. Lọc hỗn hợp qua miếng đệm Xelit và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (15,6g, 62,3mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-d) δ ppm 7,63-7,74 (m, 1 H), 6,20 (dt, *J*=5,81, 2,15 Hz, 1 H), 3,99-4,25 (m, 2 H), 2,92 (t, *J*=11,62 Hz, 2 H), 2,63 (s, 2 H), 1,72-1,86 (m, 2 H), 1,49 (s, 9 H), 1,29 (d, *J*=12,88 Hz, 2 H).

Chất trung gian 25

tert-butyl 1-(1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



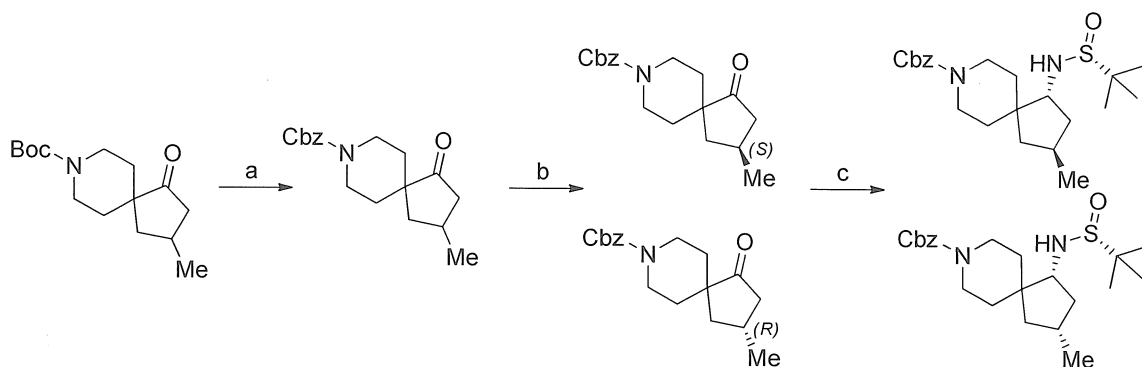
Bước a: Thêm MeLi (1,6M trong THF, 31,3mL, 50,1mmol) vào huyền phù gồm *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (4,2g, 16,71mmol) và CuI (6,37g, 33,4mmol) trong Et₂O (100mL) (ở 0°C và trong điều kiện N₂). Sau khi khuấy trong 90min ở 0°C, đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH₄Cl sat. aq và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (4,23g, 15,82mmol) dưới dạng dầu không màu. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-d) δ ppm 3,89-4,00 (m, 1 H), 3,83 (d, *J*=13,39 Hz, 1 H), 3,11 (ddd, *J*=13,64, 10,36, 3,28 Hz, 1 H), 2,99 (ddd, *J*=13,58, 10,42,

3,54 Hz, 1 H), 2,47-2,59 (m, 1 H), 2,19-2,36 (m, 2 H), 1,74-1,97 (m, 2 H), 1,50-1,65 (m, 2 H), 1,48 (s, 9 H), 1,33-1,44 (m, 2 H), 1,17 (d, $J=6,32$ Hz, 3 H).

Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (502mg, 1,878mmol), titan(IV) etoxit (1,57mL, 7,51mmol), và 2-metylpropan-2-sulfinamit (455mg, 3,76mmol) trong THF (12,5mL) trong 16h ở 65°C. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm MeOH (3mL) sau đó thêm liti bohydrua (123mg, 5,63mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 0°C trong 1h. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư bohydrua sau đó thêm EtOAc (30mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 75%) để tạo ra *tert*-butyl 1-(1,1-dimetyletsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (463mg, 1,243mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Chất trung gian 26a/b

(1*R*,3*S*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat & (1*R*,3*R*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (4,23g, 15,82mmol) và TFA (17mL) trong DCM (80mL) trong 30min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy hỗn hợp gồm phần cặn tạo thành, DIPEA (13,82mL, 79mmol), và benzyl cloformat (3,39mL, 23,73mmol) trong DCM (80mL) trong 16h ở RT. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH₄Cl sat. aq và chiết bằng DCM (3 x 25mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng

phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (4,58g, 15,20mmol) dưới dạng dầu màu vàng sáng. MS m/z 302,2 ($M+H$)⁺.

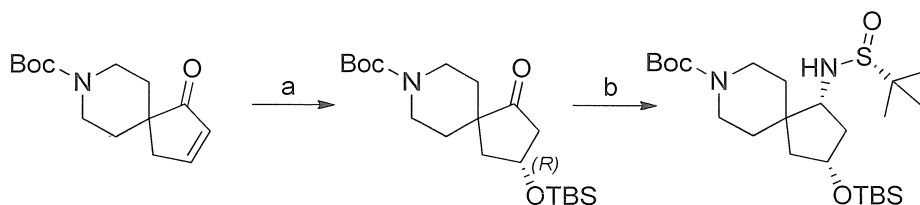
Bước b: Tinh chế tiếp benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (4,58g, 15,20mmol) bằng phương pháp SFC không đối xứng như sau: cột: IA 21 x 250 mm, lưu lượng: 70g/min, pha động: 45% (9:1 EtOH:MeCN) trong CO₂, quá trình dò: 220nm UV tạo ra (*R*)-benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,02g, 6,70mmol), R_t : 2,0min; và (*S*)-benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,11g, 7,0mmol), R_t : 3,6min.

Bước c: Khuấy dung dịch chứa (*R*)-benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,02g, 6,70mmol), titan(IV) etoxit (5,62mL, 26,8mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (1,625g, 13,4mmol) trong THF (67mL) trong 16h ở 65°C. Sau khi làm lạnh đến -78°C, thêm MeOH (12mL) sau đó thêm liti bohydrua (0,438g, 20,11mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở -78°C đến RT. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư bohydrua sau đó bổ sung EtOAc (100mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 5 đến 90%) để tạo ra (1*R*,3*R*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,94g, 4,77mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 407,3 ($M+H$)⁺.

Bước c (từ chất đồng phân đối ảnh): Quy trình tương tự được tiếp nối bắt đầu từ (*S*)-benzyl 3-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat để tạo ra (1*R*,3*S*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat.

Chất trung gian 27

(1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm CuCl (142mg, 1,432mmol), (*S*)-TolBINAP (972mg, 1,432mmol), và natri *tert*-butoxit (138mg, 1,432mmol) trong THF (60mL) trong 30min ở RT. Thêm B₂pin₂ (13,34g, 52,5mmol) trong THF (20mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 10min ở RT. Thêm *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]dec-2-en-8-carboxylat (12,0g, 47,7mmol) trong THF (50mL) sau đó thêm MeOH (3,9mL, 95mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở RT. Thêm H₂O (150mL) sau đó thêm natri perborat (36,7g, 239mmol) và khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 1h ở RT. Lọc huyền phù màu xanh tạo thành qua miếng đệm Xelit, đổ vào phễu tách chứa NaHCO₃ sat. aq: Na₂SO₃ sat. aq (1:1, 300mL) và chiết bằng EtOAc (4 x 40 mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl 3-hydroxy-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat thô. Quá trình xác định chất đồng phân đối ảnh của hỗn hợp này cho thấy 90% *ee* (*R*_t(*S*): 1,59min, *R*_t(*R*): 1,80 min; SFC không đối xứng; cột: IA 4.6 x 100 mm, lưu lượng: 70g/min, pha động: MeOH 5-55% trong CO₂, quá trình dò: 220 nm UV).

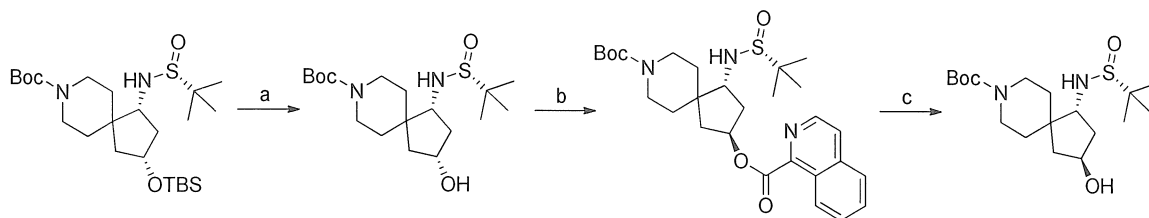
Khuấy hỗn hợp gồm (*R*)-*tert*-butyl 3-hydroxy-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat thô (thoại 47,7mmol), imidazol (4,87g, 71,6mmol), và TBSCl (8,99g, 59,6mmol) trong DMF (120mL) trong 16h ở RT. Đổ hỗn hợp phản ứng vào phễu tách chứa NH₄Cl sat. aq:H₂O (1:1, 250ml) và chiết bằng Et₂O (5 x 50 mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 30%) để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (13,115g, 34,2mmol) dưới dạng dầu không màu mà hóa rắn khi đứng yên.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (8g, 20,86mmol), titan(IV) etoxit (17,49mL, 83,0mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (5,06g, 41,7mmol) trong THF (100mL) trong 16h ở 65°C. Sau khi làm lạnh đến -78°C, thêm MeOH (15mL) sau đó thêm liti bohydrua (1,363g, 62,6mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở -78°C. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư bohydrua sau đó bổ sung EtOAc (100mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 3-

((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (5,3g, 10,84mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 489,3 ($M+H$)⁺.

Chất trung gian 28

(1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (3,84g, 7,86mmol) và TBAF (1M trong THF; 8,64mL, 8,64mmol) trong THF (40mL) trong 30min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 10%) để tạo ra (1*R*, 3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,94g, 7,86mmol). MS m/z 375,3 ($M+H$)⁺.

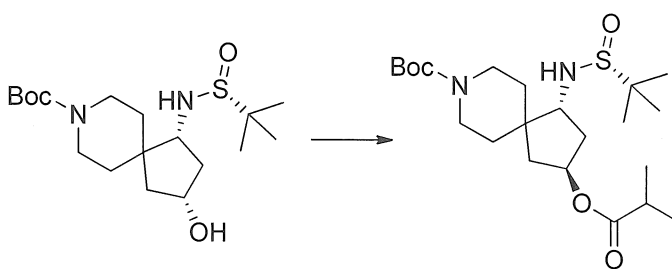
Bước b: Thêm DIAD (3,1mL, 16,02mmol) vào dung dịch chứa (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (3,0g, 8,01mmol), triphenylphosphin (4,2g, 16,02mmol), và axit isoquinolin-1-carboxylic (4,16g, 24,03mmol) trong THF (80mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 1h ở RT. Pha loãng phản ứng bằng EtOAc (50mL), lọc qua miếng đệm Xelit, đổ vào phễu tách chứa NaHCO₃ sat. aq và chiết bằng EtOAc (3 x 25mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 4%) để tạo ra (2*S*,4*R*)-8-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-2-yl isoquinolin-1-carboxylat (3,65g, 6,89mmol) dưới dạng chất rắn màu cam. MS m/z 530,3 ($M+H$)⁺.

Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm (2*S*,4*R*)-8-(*tert*-butoxycarbonyl)-4-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-2-yl isoquinolin-1-carboxylat (3,65g, 6,89mmol) và liti hydroxit (2,95g, 68,9mmol) trong THF:H₂O (1:1, 70mL) trong 2h ở

RT. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH_4Cl sat. aq và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO_4 , lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 10%) để tạo ra (1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,35g, 6,27mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 275,2 ($\text{M}+\text{H}-\text{Boc}$)⁺.

Chất trung gian 29

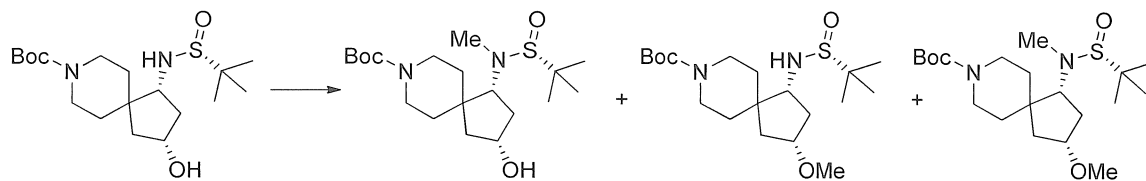
(1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-(isobutyryloxy)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat)



Thêm DIAD (208μL, 1,068mmol) vào dung dịch chứa (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (200mg, 0,534mmol), triphenylphosphin (280mg, 1,068mmol), và axit isobutyric (146μL, 1,602mmol) trong THF (5mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở RT. Pha loãng phản ứng bằng EtOAc (50mL), lọc qua miếng đệm Xelit, đổ vào phễu tách chứa NaHCO_3 sat. aq, và chiết bằng EtOAc (3 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO_4 , lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 7%) để tạo ra (1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-(isobutyryloxy)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (237mg, 0,534mmol). MS m/z 345,3 ($\text{M}+\text{H}-\text{Boc}$)⁺.

Chất trung gian 30a/b/c

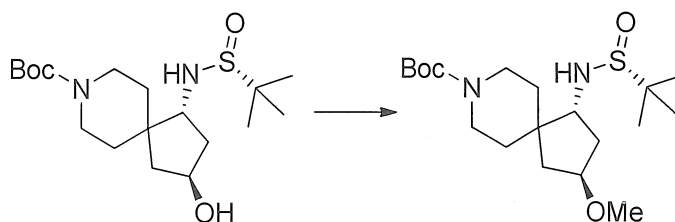
(1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-*N*,2-dimethylpropan-2-ylsulfonamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat, (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-methoxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat, & (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-*N*,2-dimethylpropan-2-ylsulfonamido)-3-methoxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Khuấy hỗn hợp gồm (1R,3R)-*tert*-butyl 1-((R)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (142mg, 0,378mmol) và NaH (phân tán 60% trong dầu khoáng, 19mg, 0,473mmol) trong THF trong 20min ở 0°C. Thêm iodometan (47μL, 0,756Mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 4h ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (1R,3R)-*tert*-butyl 1-((R)-N,2-dimethylpropan-2-ylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (15,0mg, 0,039mmol). MS *m/z* 289,2 (M+H-Boc)⁺; (1R,3R)-*tert*-butyl 1-((R)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-methoxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat. MS *m/z* 289,2 (M+H-Boc)⁺; và (1R,3R)-*tert*-butyl 1-((R)-N,2-dimethylpropan-2-ylsulfinamido)-3-methoxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat. MS *m/z* 303,2 (M+H-Boc)⁺.

Chất trung gian 31

(1R,3S)-*tert*-butyl 1-((R)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-methoxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat

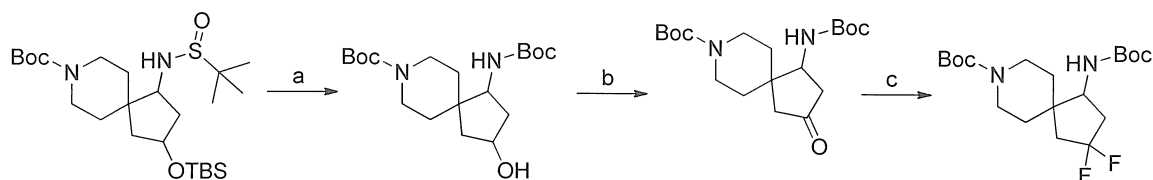


Khuấy (được bảo vệ khỏi ánh sáng) hỗn hợp gồm (1R,3S)-*tert*-butyl 1-((R)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (500mg, 1,335mmol), bạc (I) oxit (340mg, 1,468mmol), và iodometan (250μL, 4,0mmol) trong DCM (5mL) trong 24h ở RT và 24h ở 45°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc hỗn hợp qua miếng đệm Xelit, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien MeOH/DCM 0 đến

5%) để tạo ra (1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metoxi-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (248mg, 0,638mmol). MS m/z 289,2 ($M+H-Boc$)⁺.

Chất trung gian 32

racemic tert-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3,3-diflo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-(1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (365mg, 0,746mmol) và HCl (4M trong dioxan, 1,86mL, 7,46mmol) trong MeOH (4mL) trong 1h ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu trắng. MS m/z 171,1 ($M+H$)⁺. Khuấy hỗn hợp gồm phần cặn này, DIPEA (2,6mL, 14,92mmol), và Boc₂O (407mg, 1,865mMol) trong THF (15mL) trong 16h ở RT. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NH₄Cl sat. aq và chiết bằng Et₂O (5 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 10 đến 80%) để tạo ra *tert*-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (275mg, 0,742mmol). MS m/z 271,3 ($M+H-Boc$)⁺.

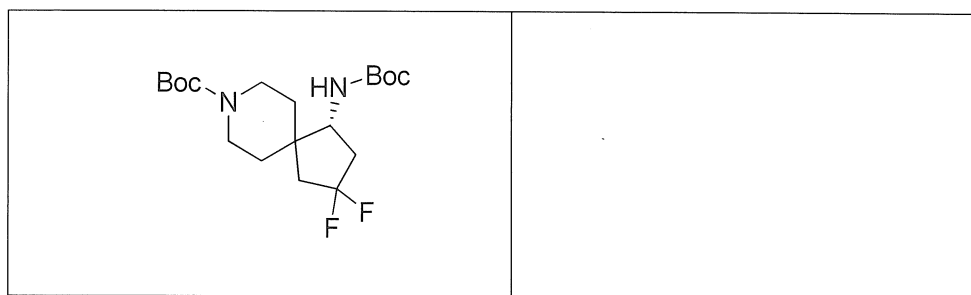
Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (275mg, 0,742mmol) và Dess-Martin periodinan (472mg, 1,113mmol) trong DCM (7,5mL) trong 2h ở 0°C. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NaHCO₃ sat. aq và chiết bằng DCM (3 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 5 đến 75%) để tạo ra *tert*-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (135mg, 0,366mmol). ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 4,57 (d, $J=9,09$ Hz, 1 H), 4,16 (d, $J=8,08$ Hz, 1 H), 3,89-4,08 (m, 2 H), 2,77-2,93 (m, 2 H), 2,71 (dd, $J=18,95, 8,08$ Hz, 1 H), 2,50 (d, $J=18,19$ Hz, 1

H), 2,07-2,24 (m, 2 H), 1,76 (td, $J=12,82$, 4,67 Hz, 1 H), 1,58-1,70 (m, 1 H), 1,42-1,53 (m, 18 H), 1,25-1,38 (m, 1 H).

Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (95mg, 0,258mmol) và DeoxoFlo (190 μ L, 1,031Mmol) trong DCM (1ml) trong 48h ở 50°C. Đổ hỗn hợp vào phễu tách chứa NaHCO₃ sat. aq /đá và chiết bằng EtOAc (3 x 5mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 30%) để tạo ra *tert*-butyl 1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-3,3-diflo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (52mg, 0,133mmol). ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 4,55 (d, $J=9,35$ Hz, 1 H), 3,78-4,02 (m, 3 H), 2,64-2,86 (m, 2 H), 2,38-2,59 (m, 1 H), 2,10-2,32 (m, 1 H), 1,79-2,10 (m, 2 H), 1,58 (qd, $J=12,72$, 3,79 Hz, 1 H), 1,27-1,52 (m, 21 H).

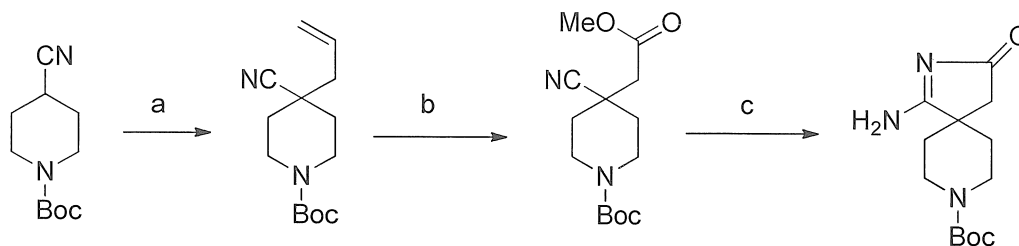
Các hợp chất sau đây được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat tinh khiết không đối xứng làm vật liệu ban đầu.

Bảng 2



Chất trung gian 33

1-amino-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-3-on



Bước a: Làm lạnh dung dịch chứa diisopropylamin (0,320mL, 2,245mmol) trong THF (4mL) đến -78°C và xử lý bằng *n*-butylliti (1,3mL, 2,080mmol) sau đó khuấy trong 5min ở -78°C và làm ấm lên đến 0°C tạo ra dung dịch chứa LDA để sử dụng sau đó. Thêm từng giọt dung dịch chứa LDA (2,8mL) đã điều chế vào dung dịch -78°C chứa *tert*-butyl 4-xyanopiperidin-1-carboxylat (153mg, 0,728mmol) trong THF (10mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 10min ở -78°C , sau đó trong 10min ở -10°C . Làm lạnh lại phản ứng xuống -78°C và thêm từng giọt dung dịch chứa allyl-Br (80 μL , 0,924mmol) trong THF (2mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng tạo thành trong 1h ở RT và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Chiết phần nước bằng EtOAc, rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 4-allyl-4-xyanopiperidin-1-carboxylat (40mg, 0,16mmol) dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 5,99-5,70 (m, 1 H), 5,23 (q, $J=1,1$ Hz, 1 H), 5,20 (dtd, $J=3,3, 2,1, 1,1$ Hz, 1 H), 3,96 (d, $J=13,7$ Hz, 2 H), 2,86 (s, 2 H), 2,36 (dt, $J=7,5, 1,3$ Hz, 2 H), 1,84 (dq, $J=13,7, 2,6$ Hz, 2 H), 1,40 (s, 11 H).

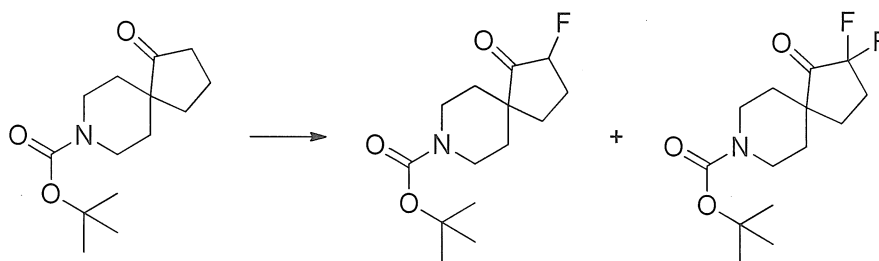
Bước b: Sục khí dung dịch chứa *tert*-butyl 4-allyl-4-xyanopiperidin-1-carboxylat (22mg, 0,088mmol) trong DCM (1,5mL) và NaOH (2,5M trong MeOH, 0,176mL, 0,439mmol) bằng ozon (máy sục khí khuếch tán) ở -78°C trong 30min. Làm sạch hỗn hợp phản ứng bằng oxy sau đó phân chia giữa nước và DCM. Phân chia các pha, thu lấy pha hữu cơ và chiết pha nước bằng DCM (2 x 5mL). Cô đặc các pha hữu cơ kết hợp trong điều kiện áp suất giảm. Hấp thụ phần cặn tạo thành trong MeOH và khuấy trong 24h ở 65°C . Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 70%) để tạo ra *tert*-butyl 4-xyano-4-(2-methoxy-2-oxoethyl)piperidin-1-carboxylat (21mg, 0,074mmol) dưới dạng dầu không màu. ^1H

NMR (400 MHz, CLOROFORM- d) δ ppm 4,14 (s, 2 H), 3,75 (s, 3 H), 3,08 (t, $J=12,9$ Hz, 2 H), 2,62 (s, 2 H), 2,15-2,02 (m, 2 H), 1,59-1,48 (m, 2 H), 1,46 (s, 9 H). TLC (50% EtOAc/heptan (w/ KMnO₄ được nhuộm màu), $R_f = 0,5$).

Bước c: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 4-xyano-4-(2-metoxi-2-oxoetyl)piperidin-1-carboxylat (287mg, 1,017mmol) và NH₃ (7N trong MeOH, 3,0mL, 21,00mmol) trong MeOH (5mL) trong ống bịt kín trong 48h ở 120°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra chất rắn màu trắng. Nghiền nhỏ chất rắn này bằng EtOAc và lọc để tạo ra *tert*-butyl 1-amino-3-oxo-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-8-carboxylat (157mg, 0,587mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,44 (s, 1 H), 8,02 (s, 1 H), 3,98 (d, $J=13,3$ Hz, 2 H), 2,71 (s, 2 H), 2,34 (s, 2 H), 1,81 (td, $J=12,9, 4,6$ Hz, 2 H), 1,49-1,30 (m, 11 H). MS m/z 268 (M+H)⁺.

Chất trung gian 34a/b

racemic tert-butyl 2-flo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat & *tert*-butyl 2,2-diflo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat

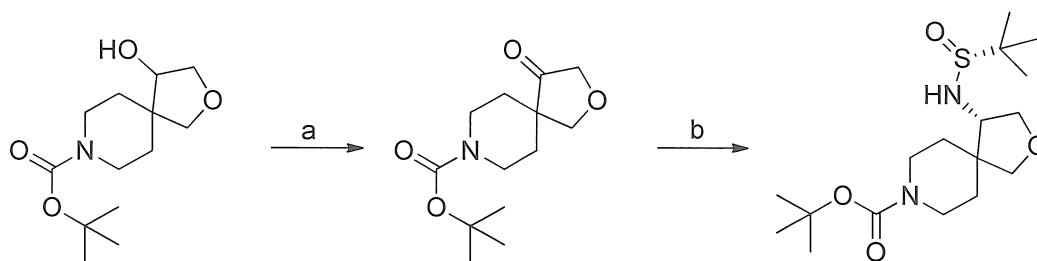


Thêm dung dịch chứa *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,0g, 7,89mmol) trong THF (5mL) vào dung dịch -78°C chứa NaHMDS (1M trong THF, 8,68mL, 8,68mmol). Sau khi khuấy trong 30min ở nhiệt độ này, thêm dung dịch chứa *N*-flobenzensulfonamit (2,49g, 7,89mmol) trong THF (10mL). Sau khi khuấy 3h ở -78°C, nó được pha loãng bằng NaHCO₃ sat. aq (100mL) và chiết bằng DCM (3 x 100 mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 25%) để tạo ra *racemic tert*-butyl 2-flo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (351mg, 1,29mmol). MS m/z 272,1 (M+H)⁺ và diflo keton mà đồng rửa giải với vật liệu ban đầu. Các phần đồng rửa giải kết hợp của

diflo keton/vật liệu ban đầu được tinh chế lại bằng phương pháp sắc ký silica (gradien MeOH/DCM 0 đến 5%) để tạo ra *tert*-butyl 2,2-diflo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (573mg, 1,98mmol). MS m/z 290,1 (M+H)⁺.

Chất trung gian 35

(*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



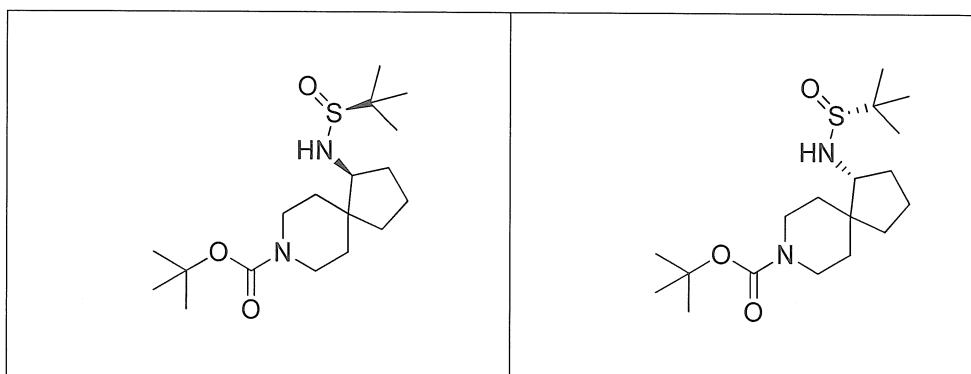
Bước a: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 4-hydroxy-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (544mg, 2,11mmol) và Dess-Martin periodinan (1,39g, 3,17mmol) trong DCM (10mL) trong 2h ở 0°C. Thêm NaHCO₃ sat. aq: Na₂S₂O₃ sat. aq (1:1, 10mL), tách pha hữu cơ và chiết pha chứa nước bằng DCM (3 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (470mg, 1,84mmol) dưới dạng dầu không màu mà được kết tinh khi đứng yên. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 4,08 (s, 2 H), 4,05 (s, 2 H), 3,88 (dt, *J* = 13,7, 4,9 Hz, 2 H), 3,12 (ddd, *J* = 13,6, 9,8, 3,6 Hz, 2 H), 1,75 (ddd, *J* = 13,9, 9,7, 4,2 Hz, 2 H), 1,58-1,51 (m, 2 H), 1,48 (s, 9 H). MS m/z 256,2 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (220mg, 0,86mmol), titan(IV) etoxit (725μL, 3,45mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (209mg, 1,72mmol) trong THF (4mL) trong 1h ở 90°C. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm liti bohydrua (23mg, 1,06mmol). Sau khi khuấy trong 30min, dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách thêm MeOH. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng phần cặn tạo thành bằng nước muối và chiết bằng EtOAc (4 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc, loại bỏ các

chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra (*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (170mg, 0,47mmol). MS m/z 361,1 ($M+H$)⁺.

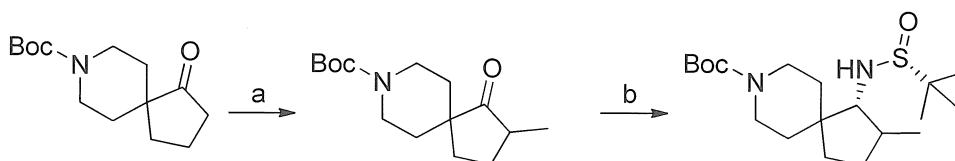
Các hợp chất sau đây được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng keton và sulfonamit tương ứng.

Bảng 3



Chất trung gian 36

(1*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-2-methyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat

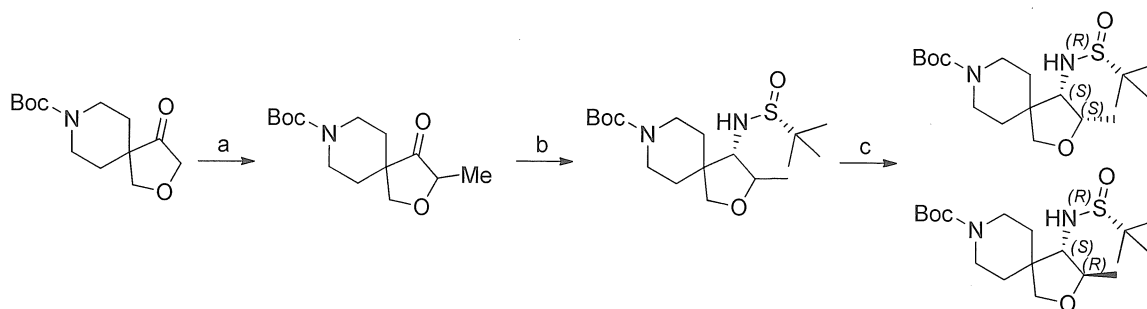


Bước a: Thêm LiHMDS (1M trong THF, 8,68mL, 8,68mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (2,2g, 8,68mmol) trong THF (24mL) ở 0-5°C. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 30min ở nhiệt độ này, thêm iodometan (0,543mL, 8,68mmol). Làm ấm hỗn hợp tạo thành đến RT và khuấy trong 2h. Pha loãng hỗn hợp phản ứng tạo thành bằng EtOAc và dập tắt bằng NaHCO₃ sat. aq. Rửa pha hữu cơ bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế dầu màu nâu tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 25%) để tạo ra *tert*-butyl 2-methyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (1,3g, 4,86mmol). MS m/z 268,1. ($M+H$)⁺.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 2-metyl-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (267mg, 0,999mmol), titan(IV) etoxit (837 μ L, 3,99mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (242mg, 1,997mmol) trong THF (10mL) trong 24h ở 85°C. Sau khi làm lạnh đến -78°C, thêm MeOH (12ml) sau đó thêm liti bohydrua (65,3mg, 3,00mmol). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở -78°C đến RT trong 16h. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư sau đó bổ sung EtOAc (100mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 60% (chứa 0,25% Et₃N)) để tạo ra (*1R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (92mg, 0,247mmol). MS *m/z* 373,1 (M+H)⁺.

Chất trung gian 37a/b

(*3S,4S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat & (*3R,4S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



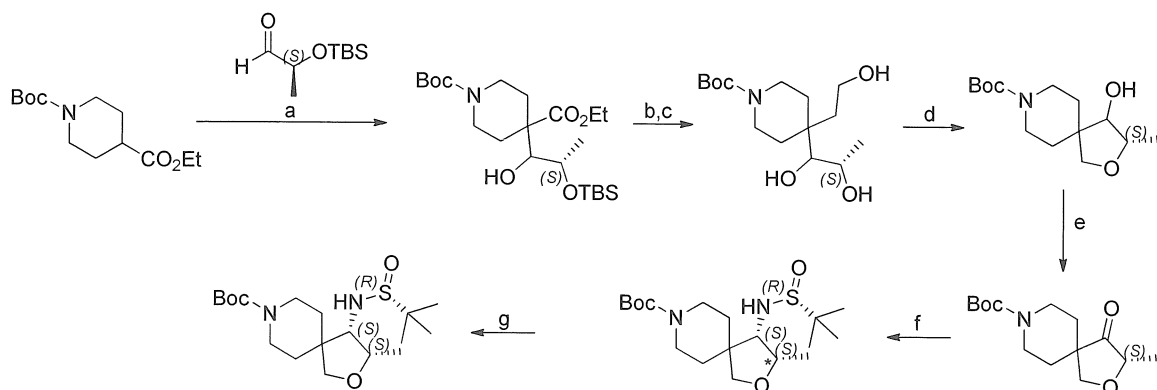
Bước a: Thêm LiHMDS (1M trong THF, 9,67mL, 9,67mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8- (2,47g, 9,67mmol) trong THF (24mL) ở -78°C. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 30min ở nhiệt độ này, thêm iodometan (0,605mL, 9,67mmol) trong THF (10mL). Làm ấm hỗn hợp tạo thành đến RT và khuấy trong 1h. Pha loãng hỗn hợp phản ứng tạo thành bằng EtOAc và dập tắt bằng NaHCO₃ sat. aq. Rửa pha hữu cơ bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế dầu màu nâu tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 20%) để tạo ra *tert*-butyl 3-metyl-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (318mg, 1,181mmol). MS *m/z* 270,2. (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 3-metyl-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (318mg, 1,181mmol), titan(IV) etoxit (990 μ L, 4,72mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (286mg, 2,361mmol) trong THF (4mL) trong 90min ở 90°C. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm اللي bohydrua (65,3mg, 3,00mmol) trong một phần và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở RT. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư sau đó bổ sung EtOAc (25mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit. Rửa pha hữu cơ bằng NaHCO₃ sat. aq, nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra (4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (88mg, 0,235mmol). MS *m/z* 375,2 (M+H)⁺.

Bước c: Tách các chất đồng phân không đối quang bằng phương pháp SFC không đối xứng như sau: cột: LUXC4 30 x 250 mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 20% trong CO₂, quá trình dò: 210nm tạo ra (3*R*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat, R_t= 4,0min; và (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat, R_t= 4,55min.

Chất trung gian 38

(3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Hỗn hợp đồng phân không đối quang 95:5

Bước a: Thêm từng giọt *n*BuLi (2,5M trong hexan, 64,1mL, 160mmol) vào dung dịch -10°C chứa diisopropylamin (23,4mL, 166mmol) trong THF (220mL). Sau

khi khuấy trong 30min ở nhiệt độ này, thêm từng giọt 1-*tert*-butyl 4-ethyl piperidin-1,4-dicarboxylat (27,5g, 107mmol) trong THF (50mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 30min ở 0°C. Thêm (*S*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)propanal (20,47mL, 102mmol) và khuấy hỗn hợp trong 1h ở 0°C và 1h ở RT. Pha loãng phản ứng bằng NaHCO₃ sat. aq:H₂O (1:4, 125mL), thêm EtOAc (50mL), và phân chia các pha. Chiết tiếp pha nước bằng EtOAc (3 x 100mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ phần dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn tạo thành được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 346,4 (M+H-Boc)⁺.

Bước b: Thêm từng phần LiBH₄ (7,0g, 321mmol) vào dung dịch chứa 1-*tert*-butyl 4-ethyl 4-((2*S*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxypropyl)piperidin-1,4-dicarboxylat (95g, 214mmol) thô trong THF (600mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở RT. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm NaHCO₃ sat. aq:H₂O (1:2, 150mL) và khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành cho đến khi không quan sát thấy bọt khí nữa. Thêm EtOAc (100mL), lọc hỗn hợp, phân chia các pha, và chiết tiếp pha chứa nước bằng EtOAc (3 x 50mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *tert*-butyl 4-((2*S*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxypropyl)-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-carboxylat (64,8g, 161mmol) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước c: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 4-((2*S*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)-1-hydroxypropyl)-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-carboxylat (64,8g, 161mmol) và TBAF (1M trong THF, 242mL, 242mmol) trong THF (500mL) trong 2h ở RT. Thêm NaHCO₃ sat. aq:H₂O (1:2, 150mL), phân chia các pha, và chiết tiếp pha chứa nước bằng EtOAc (3 x 100mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 20 đến 100%) để tạo ra *tert*-butyl 4-((2*S*)-1,2-dihydroxypropyl)-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-carboxylat (39,25g, 136mmol) dưới dạng dầu không màu bán rắn.

Bước d: Thêm từng giọt dung dịch chứa *tert*-butyl 4-((2*S*)-1,2-dihydroxypropyl)-4-(2-hydroxyetyl)piperidin-1-carboxylat (35,06g, 121mmol) và TsCl (23,10g, 121mmol) trong THF (200mL) vào huyền phù 0°C của NaH (10,60g,

424mmol) trong THF (600mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 1h ở 0°C. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq (~5mL) ở -20°C và khuấy mạnh phản ứng đến khi không còn quan sát thấy bọt khí. Ở điểm này, thêm NH₄Cl sat. aq (100mL) sau đó thêm nước muối (100mL) và chiết hỗn hợp bằng EtOAc (3 x 100mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc, và loại bỏ phần dung môi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (3*S*)-*tert*-butyl 4-hydroxy-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (32,19g, 119mmol) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 171,1(M-Boc)⁺.

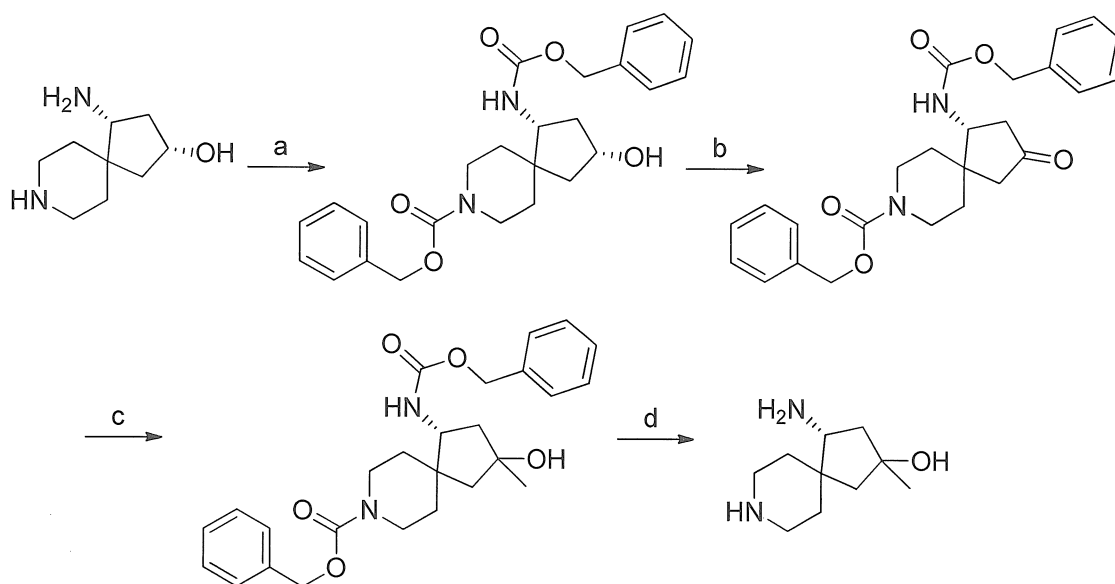
Bước e: Khuấy dung dịch chứa (3*S*)-*tert*-butyl 4-hydroxy-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (32,19g, 119mmol) và Dess-Martin periodinan (67,4g, 154mmol) trong DCM (300mL) trong 2h ở 0°C. Sau khi làm ấm đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra (3*S*)-*tert*-butyl 3-metyl-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (27,68g, 92mmol) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 4,09 (d, *J*=9,60 Hz, 1 H), 3,66-3,86 (m, 4 H), 3,03 (ddd, *J*=13,77, 9,73, 3,79 Hz, 1 H), 2,90 (ddd, *J*=13,64, 10,23, 3,41 Hz, 1 H), 1,68 (ddd, *J*=13,83, 9,92, 4,29 Hz, 1 H), 1,41-1,59 (m, 2 H), 1,30-1,40 (m, 10 H), 1,20-1,25 (m, 3 H).

Bước f: Khuấy dung dịch chứa (3*S*)-*tert*-butyl 3-metyl-4-oxo-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (22,52g, 84mmol), titan(IV) etoxit (70,1ml, 334mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (21g, 173mmol) trong THF (300mL) trong 21h ở 90°C. Sau khi làm lạnh đến -4°C, thêm MeOH (30mL), sau đó thêm từng giọt (duy trì nhiệt độ phản ứng dưới 2°C) liti bohydrua (1,82g, 84mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 1h ở -4°C. Thêm từ từ NH₄Cl sat. aq để dập tắt lượng dư bohydrua (kiểu gelatin được tạo thành) sau đó bổ sung EtOAc (500mL). Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 15min ở RT và sau đó lọc qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (500mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat là hỗn hợp đồng phân không đối quang 95:5 (đồng phân không đối quang nhỏ (3*R*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat).

Bước g: Tách các chất đồng phân không đối quang bằng phương pháp SFC không đối xứng như sau: cột: LC-4 30 x 250 mm, lưu lượng: 100g/min, pha động: MeOH 30% trong CO₂, quá trình dò: 225nm, R_t: 0,95min (đồng phân không đối quang phụ R_t: 0,55min) tạo ra (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (19g, 50,68mmol). MS *m/z* 375,2.

Chất trung gian 39

(4*R*)-4-amino-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-2-ol



Bước a: Khuấy mạnh hỗn hợp gồm muối (2*R*,4*R*)-4-amino-8-azaspiro[4.5]decan-2-ol dihydroclorua (623mg, 2,56mmol), Na₂CO₃ (1357mg, 12,80mmol), và CbzCl (1048mg, 6,14mmol) trong H₂O (5mL) trong 30min ở RT. Thêm THF (0,5mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 18h ở RT. Pha loãng hỗn hợp bằng nước và DCM. Chiết pha chứa nước đã tách bằng DCM (2 x 10mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra (1*R*,3*R*)-benzyl 1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (940mg, 2,14mmol) dưới dạng bột màu trắng. MS *m/z* 439,3 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*R*)-benzyl 1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (440mg, 1,003mmol) và Dess-Martin periodinan (638mg, 1,505mmol) trong DCM (6ml) trong 1h ở 0°C và trong 18h ở RT.

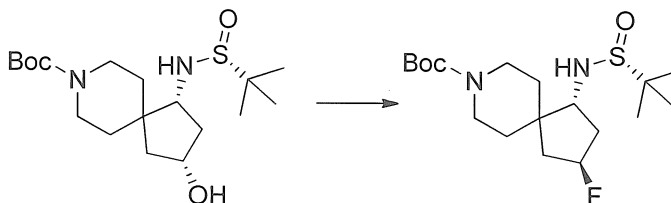
Pha loãng hỗn hợp phản ứng tạo thành bằng NaHCO_3 sat. aq: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sat. aq (1:1, 25mL). Chiết pha chứa nước đã phân tách bằng DCM (3 x 15mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên MgSO_4 , và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 70%) để tạo ra (*R*)-benzyl 1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (415mg, 0,951mmol) dưới dạng bột màu trắng. MS m/z 437,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Bước c: Thêm từng giọt (*R*)-benzyl 1-(((benzyloxy)carbonyl)amino)-3-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (415mg, 0,951mmol) trong THF (5mL) vào dung dịch chứa MeLi (1,2M trong THF, 2,61mL, 3,13mmol) trong THF (15mL) ở -30 đến -40°C. Khuấy hỗn hợp tạo thành trong 20min ở -30 đến -40°C. Pha loãng hỗn hợp bằng NaHSO_4 (dung dịch 10% trong H_2O), pha loãng bằng EtOAc, và được làm ấm lên đến RT trong điều kiện khuấy mạnh. Pha loãng hỗn hợp bằng NaHCO_3 sat. aq và chiết pha chứa nước đã phân tách bằng EtOAc (1 x 15mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy mạnh dung dịch chứa phần cặn tạo thành (313mg), Na_2CO_3 (498mg, 4,70mmol), và CbzCl (295mg, 1,729mmol) trong nước (10mL) và THF (1ml) trong 3 ngày ở RT. Pha loãng hỗn hợp bằng EtOAc và chiết pha chứa nước đã phân tách bằng EtOAc (3 x 15mL). Cô đặc các pha hữu cơ kết hợp trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra hai chất đồng phân không đối quang: chất đồng phân không đối quang A (112mg, 0,25mmol) là chất bán rắn không màu, MS m/z 453,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺ và chất đồng phân không đối quang B (45mg, 0,010mmol) là bột/chất rắn màu trắng, MS m/z 453,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Bước d: Khuấy mạnh hỗn hợp gồm chất đồng phân không đối quang A (50mg, 0,11mmol) và Pd/C (10% theo trọng lượng; 12mg, 0,011mmol) trong MeOH (8mL) trong điều kiện khí quyển hydro trong 2h. Thêm Xelit và lọc hỗn hợp qua miếng đệm Xelit sau đó rửa DCM. Cô đặc phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*4R*)-4-amino-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-2-ol dưới dạng chất rắn không màu được sử dụng mà không tinh chế thêm. MS m/z 185,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Chất trung gian 40

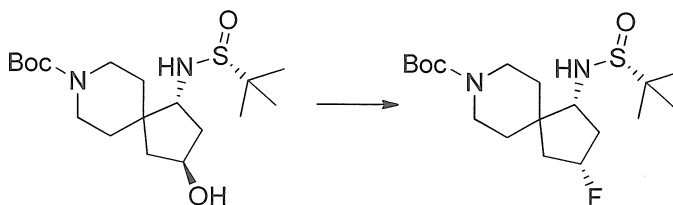
(1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-fluoro-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat



Khuấy hỗn hợp (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (400mg, 1,068mmol) và DAST (1M trong DCM, 1,87mL, 1,87mmol) trong DCM (8,5mL) trong 90min ở 0°C. Dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách thêm NaHCO₃ sat. aq (5mL). Sau khi khuấy trong 10min ở 0°C, phân chia các pha và phân tán pha chứa nước DCM (2 x 5mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-fluoro-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 277,2 (M+H-Boc)⁺.

Chất trung gian 41

(1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-fluoro-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat

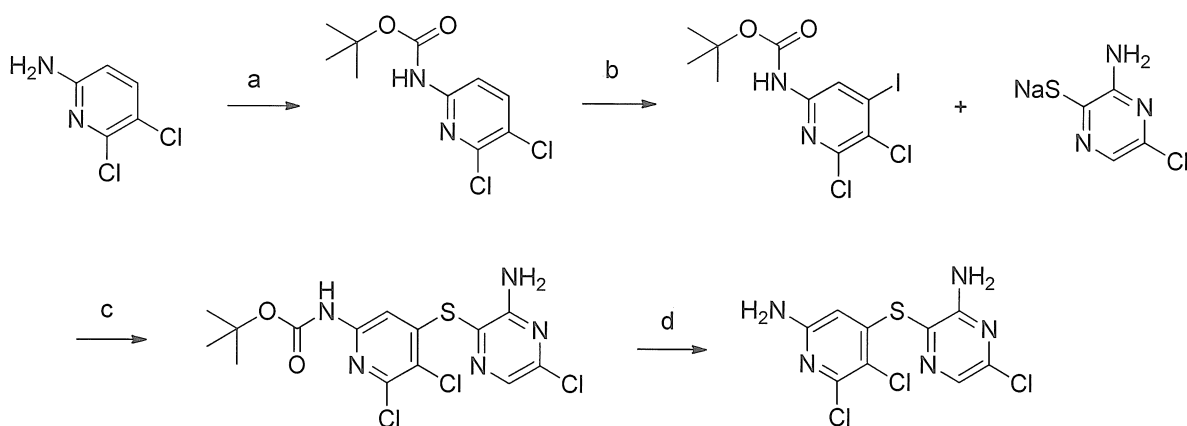


Khuấy hỗn hợp (1*R*,3*S*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfinamido)-3-hydroxy-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (200mg, 0,534Mmol) và DAST (1M trong DCM, 934μL, 0,934Mmol) trong DCM (5mL) trong 90min ở 0°C. Dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách thêm NaHCO₃ sat. aq (5mL). Sau khi khuấy trong 10min ở RT, phân chia các pha và phân tán pha chứa nước bằng DCM (2 x 5mL). Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp

suất giảm để tạo ra (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-flu-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 277,2 ($M+H-Boc$)⁺.

Chất trung gian 42

3-((6-amino-2,3-diclopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin



Bước a: Thêm LiHMDS (1M trong THF, 7,96ml, 7,96mmol) vào dung dịch chứa 5,6-diclopyridin-2-amin (590mg, 3,62mmol) trong THF (5mL) ở 0°C. Khuấy phản ứng trong 10min ở 0°C sau đó thêm dung dịch chứa Boc₂O (869mg, 3,98mmol) trong THF (5mL) vào hỗn hợp phản ứng. Khuấy dung dịch tạo thành trong 15min ở 0°C sau đó hấp thụ đến khi độ pH = 4 bằng cách thêm HCl 1M. Pha loãng dung dịch bằng EtOAc, rửa bằng NaHCO₃ sat. aq, nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl (5,6-diclopyridin-2-yl)carbamate (790mg, 3,00mmol). ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 7,86 (d, *J*=8,7 Hz, 1 H), 7,70 (d, *J*=8,7 Hz, 1 H), 7,20 (br s, 1 H), 1,51 (s, 9 H). MS m/z 232,9 ($M+H-tBu$)⁺.

Bước b: Thêm *n*-BuLi (2,5M trong hexan, 2,83mL, 7,07mmol) vào dung dịch chứa diisopropylamin (1ml, 7,07mmol) trong THF (5mL) ở -78°C và khuấy dung dịch tạo thành trong 1h ở nhiệt độ này. Thêm *tert*-butyl (5,6-diclopyridin-2-yl)carbamate (930mg, 3,53mmol) trong THF (5mL) ở -78°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ này trong 2h, thêm iot (987mg, 3,89mmol) trong THF (5mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong

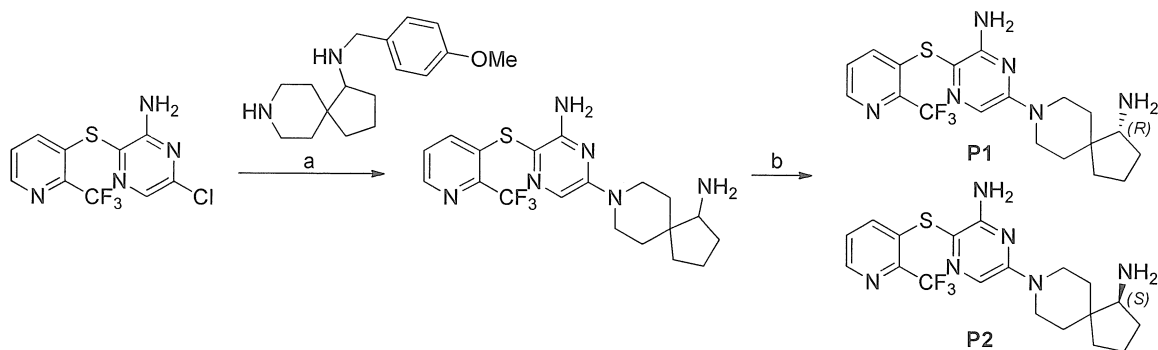
30min ở -78°C. Sau khi làm ấm đến RT, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng nước và chiết bằng EtOAc (2 x 50mL). Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng Na₂S₂O₃ sat. aq, nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl (5,6-diclo-4-iodopyridin-2-yl)carbamate (813mg, 2,09mmol). ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-d) δ ppm 8,45 (s, 1 H), 7,12 (s, 1 H), 1,52 (s, 9 H). MS *m/z* 332,9 (M+H-*t*Bu)⁺.

Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl (5,6-diclo-4-iodopyridin-2-yl)carbamate (610mg, 1,57mmol), natri 3-amino-5-clopyrazin-2-thiolat (302mg, 1,65mmol), Pd₂(dba)₃ (72mg, 0,08mmol), Xantphos (91mg, 0,16mmol), và DIPEA (0,55mL, 3,14mmol) trong dioxan (7,8mL) trong 8h ở 110°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc hỗn hợp phản ứng qua miếng đệm Xelit và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 40%) để tạo ra *tert*-butyl (4-((3-amino-5-clopyrazin-2-yl)thio)-5,6-diclopyridin-2-yl)carbamate (470mg, 1,11mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ ppm 10,24 (s, 1 H), 7,96 (s, 1 H), 7,31 (br s, 2 H), 7,16 (s, 1 H), 1,38 (s, 9 H). MS *m/z* 321,9 (M+H-Boc)⁺.

Bước d: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl (4-((3-amino-5-clopyrazin-2-yl)thio)-5,6-diclopyridin-2-yl)carbamate (470mg, 1,11mmol) và HCl (4M trong dioxan, 5,56mL, 22,24mmol) trong 1h ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 3-((6-amino-2,3-diclopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin dihydroclorua (411mg, 1,04mmol) được sử dụng mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 324,0 (M+H)⁺.

Ví dụ 1

(*S*) và (*R*) 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin

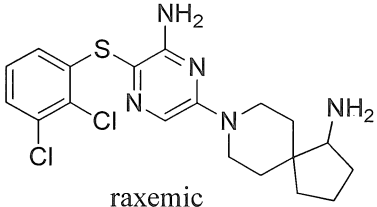
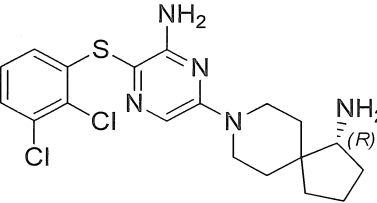


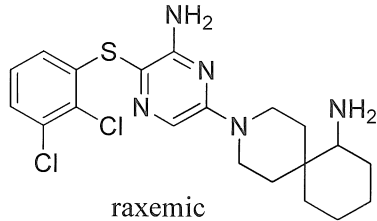
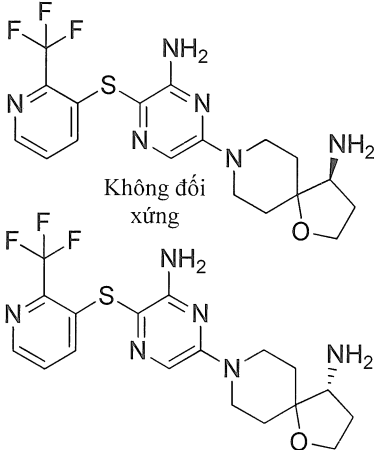
Bước a: Khuấy dung dịch chứa 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (200mg, 0,652mmol) và N-(4-metoxibenzy)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (358mg, 1,304mmol) trong DIPEA (3mL) trong 60h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan phần cặn tạo thành trong TFA (3mL) và khuấy dung dịch trong lò phản ứng vi sóng trong 1h ở 160°C và trong 15min ở 180°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (73mg, 0,482mmol; 83% tinh khiết dựa trên HRMS). Tinh chế tiếp 19mg của hợp chất này bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) để tạo ra hợp chất nêu trong đề mục tinh khiết (9,5mg). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,29 (dd, *J*=4,42, 1,39 Hz, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 7,19-7,41 (m, 2 H), 4,06-4,26 (m, 2 H), 2,89-3,14 (m, 2 H), 2,71 (t, *J*=7,33 Hz, 1 H), 1,86-2,00 (m, 1 H), 1,73-1,84 (m, 1 H), 1,43-1,72 (m, 5 H), 1,27-1,42 (m, 2 H), 1,17-1,27 (m, 1 H). ¹⁹F NMR (376MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm -66,45 (s). HRMS được tính cho C₁₉H₂₄N₆F₃S (M+H)⁺ 425,1735, được phát hiện là 425,1753. IC₅₀ là 0,023μM.

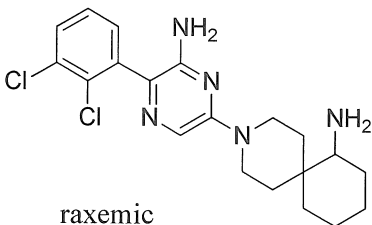
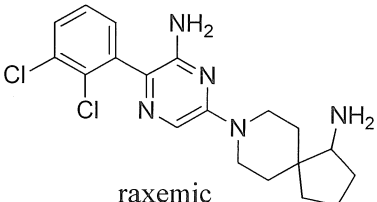
Bước b: Quá trình tinh chế SFC không đối xứng của hợp chất nêu trong đề mục ở trên được thực hiện như sau; cột: ID 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: MeOH 35% và NH₄OH 10mM trong CO₂, quá trình dò: 270nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)= 4,9min; IC₅₀ là 0,011μM và R_t (P2)= 6,4min; IC₅₀ là 0,167μM.

Các hợp chất sau có công thức I, như được xác định trong bảng 4, được tạo ra bằng cách sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng dẫn xuất tiopyrazin-2-amin và amin được bảo vệ tương ứng.

Bảng 4

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
2	 racemic	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7,62 (s, 1 H), 7,39 (d, <i>J</i> =7,83 Hz, 1 H), 7,22 (t, <i>J</i> =8,08 Hz, 1 H), 6,57 (d, <i>J</i> =7,83 Hz, 1 H), 6,13 (s, 2 H), 4,03-4,21 (m, 2 H), 2,96-3,13 (m, 2 H), 2,63-2,72 (m, 1 H), 1,73-1,89 (m, 2 H), 1,48-1,69 (m, 3 H), 1,13-1,40 (m, 5 H). HRMS được tính cho C ₁₉ H ₂₄ Cl ₂ N ₅ S (M+H) ⁺ 424,1129, được phát hiện 424,1131.	0,025
3	 (<i>R</i>)	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7,63 (s, 1 H), 7,39 (d, <i>J</i> =8,08 Hz, 1 H), 7,22 (t, <i>J</i> =7,96 Hz, 1 H), 6,58 (d, <i>J</i> =8,08 Hz, 1 H), 6,13 (s, 2 H), 4,06-4,21 (m, 2 H), 2,96-3,13 (m, 2 H), 2,71 (t, <i>J</i> =7,45 Hz, 1 H), 1,71-1,93 (m, 2 H), 1,45-1,64	0,010

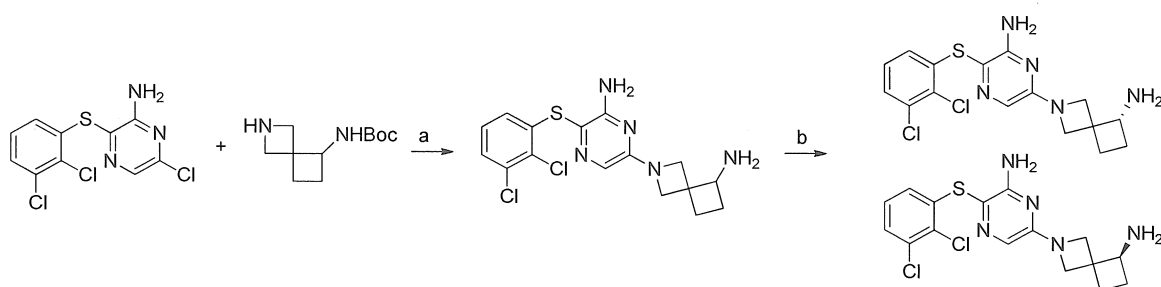
		(m, 3 H), 1,13-1,42 (m, 5 H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{24}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 424,1129, được tính cho 424,1129.	
4	 racemic	1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,59 (s, 1 H), 7,39 (dd, $J=8,08$, 1,26 Hz, 1 H), 7,18-7,25 (m, 1 H), 6,57 (dd, $J=8,08$, 1,52 Hz, 1 H), 6,11 (s, 2 H), 3,94-4,05 (m, 2 H), 3,07-3,21 (m, 2 H), 2,40 (d, $J=4,55$ Hz, 1 H), 1,81-2,00 (m, 2 H), 1,13-1,67 (m, 9 H), 0,96-1,07 (m, 1 H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}Cl_2N_5S$ $(M+H)^+$ 438,1286, được phát hiện 438,1283.	0,032
5	 Không đối xứng	1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 8,35 (dd, $J=4,5$, 1,5 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,42 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 7,24-7,15 (m, 1 H), 4,77 (s, 2 H), 4,13 (m, 2 H), 3,90 (m, 1 H), 3,78 (m, 1 H), 3,28-3,17 (m, 2 H), 3,06 (t, $J=6,9$ Hz, 1 H), 2,27 (2, 1 H), 1,74-1,63 (m, 1 H), 1,63-	0,349

		1,54 (m, 3 H), 1,53-1,46 (m, 1 H), 1,21 (br. s, 2 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{22}F_3N_6OS$ (M+H) ⁺ 427,1528, được phát hiện 427,1526.	
6	 raxemic	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7,61 (dd, <i>J</i> =7,96, 1,39 Hz, 1 H), 7,43-7,48 (m, 1 H), 7,35-7,42 (m, 1 H), 7,27-7,33 (m, 1 H), 5,57 (br, s, 2 H), 3,94 (dd, <i>J</i> =12,76, 5,18 Hz, 2 H), 3,00-3,14 (m, 2 H), 2,40 (d, <i>J</i> =4,55 Hz, 1 H), 1,79-1,99 (m, 2 H), 1,15-1,66 (m, 9 H), 0,96-1,07 (m, 1 H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}Cl_2N_5$ (M+H) ⁺ 406,1565, được phát hiện 406,1563	0,074
7	 raxemic	¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7,61 (dd, <i>J</i> =7,96, 1,64 Hz, 1 H), 7,48 (s, 1 H), 7,35-7,42 (m, 1 H), 7,28-7,33 (m, 1 H), 5,53-5,63 (m, 2 H), 4,01-4,13 (m, 2 H), 2,99 (qd, <i>J</i> =12,38, 2,78 Hz, 2 H), 1,71-1,91 (m, 2 H), 1,47-1,66 (m, 4 H),	0,073

		1,13-1,40 (m, 5 H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{24}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 392,1409, được phát hiện 392,1417.	
--	--	---	--

Ví dụ 8

(*R*) và (*S*)-2-(6-amino-5-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-2-azaspiro[3.3]heptan-5-amin

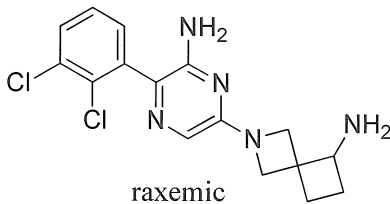


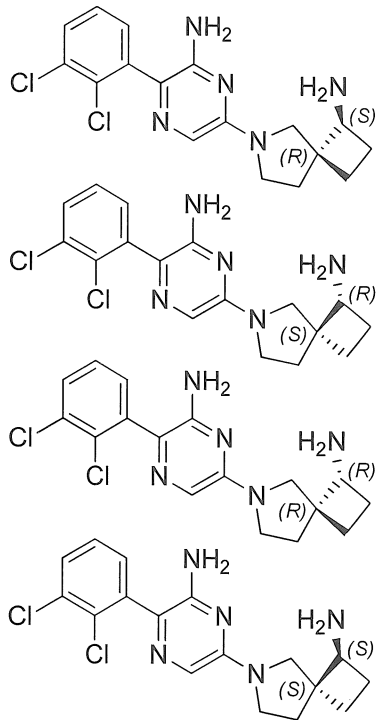
Bước a: Khuấy dung dịch chứa 6-clo-3-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-amin (140mg, 0,457mmol) và *tert*-butyl 2-azaspiro[3.3]heptan-5-ylcarbamate (muối HCl, 125mg, 0,502mmol) trong DIPEA (1ml) trong 24h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan phần cặn tạo thành trong DCM (5mL), thêm TFA (0,5mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 30min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra 2-(6-amino-5-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-2-azaspiro[3.3]heptan-5-amin (75mg, 0,186mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,31 (dd, *J*=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 7,18 (s, 1 H), 7,11 (t, *J*=8,03 Hz, 1 H), 6,60 (dd, *J*=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 4,45 (d, *J*=8,78 Hz, 1 H), 4,03 (d, *J*=9,03 Hz, 1 H), 3,96 (d, *J*=9,03 Hz, 1 H), 3,90 (d, *J*=8,78 Hz, 1 H), 3,34-3,39 (partially overlapped with solvent, m, 1 H), 2,12-2,25 (m, 1 H), 1,90-2,11 (m, 2 H), 1,52-1,67 (m, 1 H). HRMS được tính cho C₁₆H₁₈Cl₂N₅S $(M+H)^+$ 382,0660, được phát hiện 382,0585. IC₅₀ là 5,36μM.

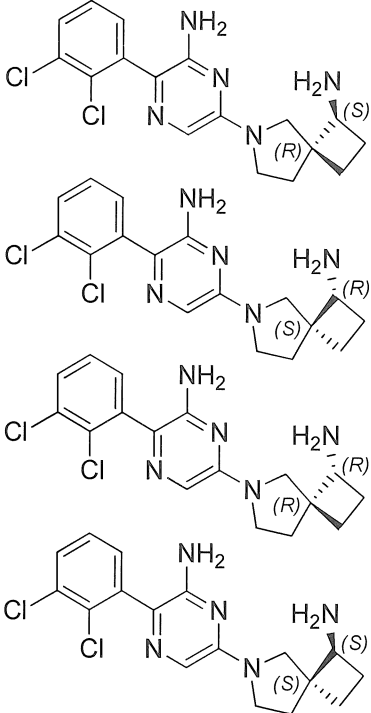
Bước b: Tinh chế thêm 2-(6-amino-5-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-2-azaspiro[3.3]heptan-5-amin (53,9mg, 0,141Mmol) bằng phương pháp SFC không đối xứng; cột: OJ-H 21x250 mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 26% và NH₄OH 10mM trong CO₂, quá trình dò: 269nm UV thu được một chất đồng phân đối ảnh R_t (P1)= 3,7min; IC₅₀ là 17,49μM và R_t (P2)= 4,7min.; IC₅₀ là 3,31μM.

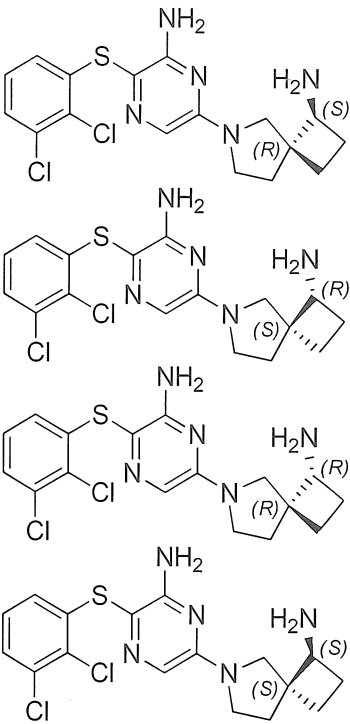
Các hợp chất sau có công thức I, như được xác định trong bảng 5, được điều chế bằng cách sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng dẫn xuất pyrazin-2-amin và amin được bảo vệ tương ứng.

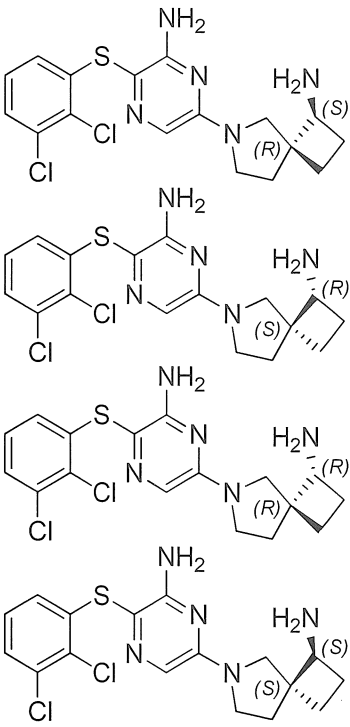
Bảng 5

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
9		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,50 (dd, <i>J</i> =7,91, 1,63 Hz, 1 H), 7,29 (t, <i>J</i> =7,91 Hz, 1 H), 7,21 (dd, <i>J</i> =7,65, 1,63 Hz, 1 H), 6,98 (s, 1 H), 4,29 (d, <i>J</i> =8,53 Hz, 1 H), 3,89 (d, <i>J</i> =8,53 Hz, 1 H), 3,82 (d, <i>J</i> =8,53 Hz, 1 H), 3,76 (d, <i>J</i> =8,78 Hz, 1 H), 3,27 (trùng một phần với dung môi, t, <i>J</i> =8,41 Hz, 1 H), 2,03-2,16 (m, 1 H), 1,92-2,03 (m, 1 H), 1,82-1,92 (m, 1 H), 1,45-1,61 (m, 1 H). HRMS được tính cho C ₁₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₅ (M+H) ⁺ 350,0939, được phát hiện 350,0876.	1,106

10a & 10b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: Xenluloza LUX-2 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: MeOH 45% và NH₄OH 10mM trong CO₂, quá trình dò: 354nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)=3,3min, R_t (P2)=5,6Min. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-<i>d</i>₄) δ ppm 7,61 (dd, <i>J</i>=7,78, 1,76 Hz, 1 H), 7,40 (t, <i>J</i>=7,78 Hz, 1 H), 7,35 (dd, <i>J</i>=7,53, 1,76 Hz, 1 H), 7,22 (s, 1 H), 3,80 (d, <i>J</i>=10,79 Hz, 1 H), 3,35-3,61 (m, 4 H), 2,18-2,36 (m, 1 H), 2,05-2,18 (m, 1 H), 1,95-2,05 (m, 1 H), 1,66-1,90 (m, 3 H). HRMS được tính cho C₁₇H₂₀Cl₂N₅ (M+H)⁺ 364,1096, được phát hiện 364,1078.	P1= 0,548 P2= 0,189
--------------	---	---	--------------------------------

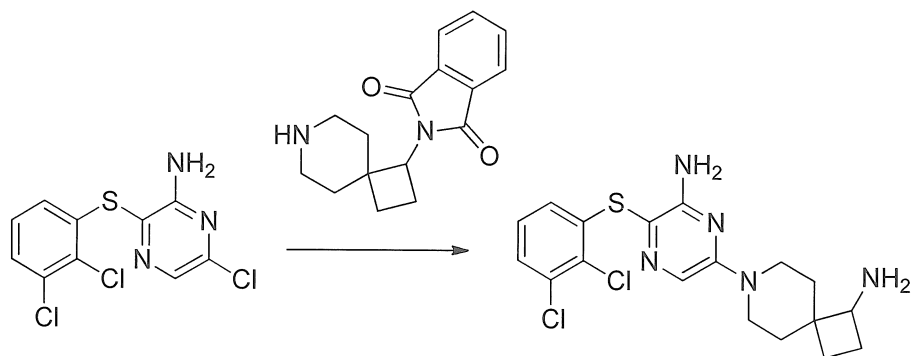
11a & 11b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: AD-H 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: MeOH 50% và NH₄OH 10mM trong CO₂, quá trình dò: 354nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)=2,2Min, R_t (P2)=3,6Min. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-<i>d</i>₄) δ ppm 7.48 (dd, <i>J</i>=7,78, 1,76 Hz, 1 H), 7,28 (t, <i>J</i>=7,78 Hz, 1 H), 7,22 (dd, <i>J</i>=7,53, 1,76 Hz, 1 H), 7,04 (s, 1 H), 3,55 (br, s., 1 H), 3,28-3,42 (m, 4 H), 2,05-2,20 (m, 2 H), 1,79-1,89 (m, 1 H), 1,60-1,73 (m, 3 H). HRMS được tính cho C₁₇H₂₀Cl₂N₅ (M+H)⁺ 364,1096, được phát hiện 364,1082.	P1= 0,365 P2= 0,145
--------------------------	---	--	--------------------------------

12a & 12b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: AS-H 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: IPA 40% và diethylamin 0,2% trong CO₂, quá trình dò: 354nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)=2,0min, R_t (P2)=3,1Min. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-<i>d</i>₄) δ ppm 7,23 (s, 1 H), 7,18 (dd, <i>J</i>=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 6,93-7,05 (m, 1 H), 6,50 (dd, <i>J</i>=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 3,70 (d, <i>J</i>=11,04 Hz, 1 H), 3,24-3,51 (m, 3 H), 2,07-2,24 (m, 1 H), 1,94-2,07 (m, 1 H), 1,89 (d, <i>J</i>=5,77 Hz, 1 H), 1,54-1,82 (m, 4 H). HRMS được tính cho C₁₇H₂₀Cl₂N₅S (M+H)⁺ 396,0816, được phát hiện 396,0798.	P1= 5,787 P2= 3,933
--------------	---	---	--------------------------------

13a & 13b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: AS-H 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: IPA 45% và diethylamin 0,2% trong CO₂, quá trình dò: 354nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)=2,1Min, R_t (P2)=3,5 min. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-<i>d</i>₄) δ ppm 7,27-7,32 (m, 2 H), 7,11 (t, <i>J</i>=7,91 Hz, 1 H), 6,60 (dd, <i>J</i>=8,16, 1,38 Hz, 1 H), 3,64-3,76 (m, 1 H), 3,39-3,57 (m, 4 H), 2,14-2,32 (m, 2 H), 1,88-2,04 (m, 2 H), 1,68-1,88 (m, 2 H). HRMS được tính cho C₁₇H₂₀Cl₂N₅S (M+H)⁺ 396,0816, được phát hiện 396,0799.	P1= 0,354 P2= 1,510
--------------------------	---	---	--------------------------------

Ví dụ 14

7-(6-amino-5-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-amin

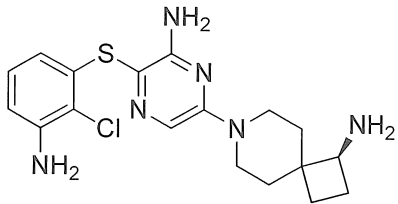
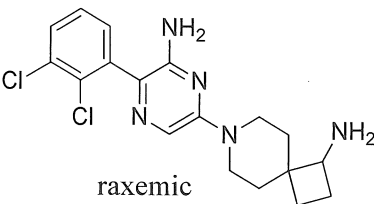


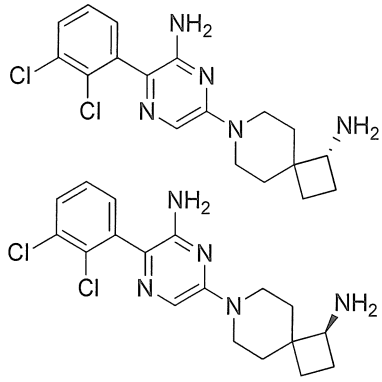
Khuấy dung dịch chứa 6-clo-3-((2,3-diclophenyl)thio)pyrazin-2-amin (140mg, 0,457mmol) và 2-(7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)isoindolin-1,3-dion (muối HCl, 154mg, 0,502mmol) trong DIPEA (1mL) trong 16h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy dung dịch chứa phần cặn tạo thành và hydrazin hydrat (29μL, 0,602mmol) trong THF:MeOH (1:1, 1mL) trong 16h ở 55°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 35-60% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra hợp chất nêu trong đề mục (78mg, 0,502mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,59 (s, 1 H), 7,31 (dd, *J*=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 7,12 (t, *J*=8,03 Hz, 1 H), 6,62 (dd, *J*=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 4,37 (d, *J*=13,55 Hz, 1 H), 4,26 (d, *J*=13,55 Hz, 1 H), 3,24-3,30 (partially overlapped with solvent, m, 1 H), 3,07-3,20 (m, 1 H), 2,92 3,06 (m, 1 H), 2,26-2,39 (m, 1 H), 1,87-2,07 (m, 2 H), 1,57-1,87(m, 4 H), 1,34-1,42 (m, 1 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₂Cl₂N₅S (M+H)⁺ 410,0973, được phát hiện 410,1018; (raxemic). IC₅₀ là 0,056μM.

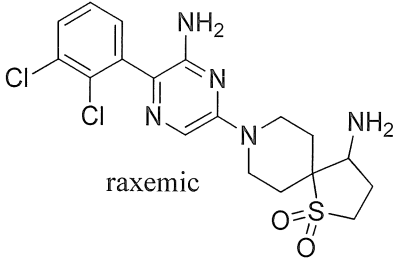
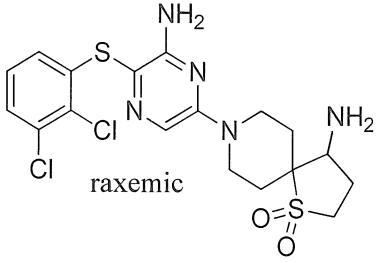
Quá trình tinh chế SFC không đối xứng của hợp chất nêu trong đề mục ở trên được thực hiện như sau; cột: AD-H 21x250 mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 46% và NH₄OH 10mM trong CO₂, quá trình dò: 274nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)= 4,0min và R_t (P2)= 5,5 min. (P1 (*S*-chất đồng phân đối ảnh (được xác định bằng tia X)); IC₅₀ là 0,019μM; (P2 (*R*-chất đồng phân đối ảnh)); IC₅₀ là 0,414μM.

Các hợp chất sau có công thức I, như được xác định trong bảng 6, được điều chế bằng cách sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng dẫn xuất pyrazin-2-amin và phthalamit-amin được bảo vệ tương ứng.

Bảng 6

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
15		¹ H NMR (400MHz, METANOL-d ₄) δ ppm 7,53 (s, 1H), 6,86 (t, J=8,0 Hz, 1 H), 6,62 (dd, J=1,3, 8,1 Hz, 1 H), 6,02 (dd, J=1,3, 7,8 Hz, 1 H), 4,37-4,10 (m, 2 H), 3,21-2,92 (m, 3 H), 2,32-2,18 (m, 1 H), 1,92-1,62 (m, 5 H), 1,61-1,49 (m, 2H). HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₄ ClN ₆ S (M+H) ⁺ 391,1472, được phát hiện 391,1486.	0,016
16	 racemic	¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 7,61 (dd, J=8,03, 1,51 Hz, 1 H), 7,49 (s, 1 H), 7,38 (t, J=7,78 Hz, 1 H), 7,30 (dd, J=7,53, 1,51 Hz, 1 H), 5,63 (s, 2 H), 4,03-4,19 (m, 1 H), 3,89-4,03 (m, 1 H), 3,34 (s, 2 H), 3,05 (ddd, J=13,55, 8,53, 5,52 Hz, 1 H), 2,86-2,99 (m, 2 H), 2,00-2,14 (m, 1 H), 1,47-1,71 (m, 5 H), 1,28-1,47 (m, 2 H).	0,145

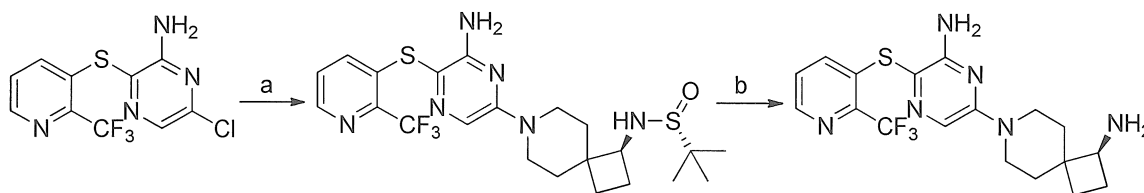
		HRMS được tính cho $C_{18}H_{22}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 378,1252, được phát hiện 378,1217.	
17a & 17b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: AD-H 21x250 mm, lưu lượng: 75g/min, pha động: IPA 45% và NH_4OH 10mM trong CO_2, quá trình dò: 354nm UV thu được chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)=3,4min, R_t (P2)=4,6min. 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm 7,61 (dd, $J=8,03$, 1,51 Hz, 1 H), 7,49 (s, 1 H), 7,38 (t, $J=7,78$ Hz, 1 H), 7,30 (dd, $J=7,53$, 1,51 Hz, 1 H), 5,63 (s, 2 H), 4,03-4,19 (m, 1 H), 3,89-4,03 (m, 1 H), 3,34 (s, 2 H), 3,05 (ddd, $J=13,55$, 8,53, 5,52 Hz, 1 H), 2,86-2,99 (m, 2 H), 2,00-2,14 (m, 1 H), 1,47-1,71 (m, 5 H), 1,28-1,47 (m, 2 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{22}Cl_2N_5$ $(M+H)^+$ 378,1252, được	P1= 0,120 P2= 0,445

		phát hiện 378,1245.	
18	 Chemical structure of compound 18: A pyrimidine ring with an amino group at position 6 and a 2-chlorophenyl group at position 2. The pyrimidine is connected via its 4-position to a spirocyclic system consisting of a piperidine ring and a cyclopentane ring, with a sulfonamide group (-SO₂NH₂) attached to the cyclopentane ring. The label "raxemic" is present below the pyrimidine ring.	¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,53 (dd, <i>J</i> =8,08, 1,77 Hz, 1 H) 7,41 (s, 1 H) 7,31 (t, <i>J</i> =7,83 Hz, 1 H) 7,23 (dd, <i>J</i> =7,71, 1,64 Hz, 1 H) 4,18 (m, 2 H), 3,73 (t, <i>J</i> =7,20 Hz, 1 H) 3,44-3,61 (m, 2 H) 3,26-3,44 (m, 2 H) 2,54 (dddd, <i>J</i> =13,99, 9,32, 6,88, 4,42 Hz, 1 H) 2,03-2,29 (m, 3 H) 1,86-2,01 (m, 1 H) 1,68-1,86 (m, 1 H). HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₂ Cl ₂ N ₅ O ₂ S (M+H) ⁺ 442,0871, được phát hiện 442,0848.	3,552
19	 Chemical structure of compound 19: A pyrimidine ring with an amino group at position 6 and a 2-chlorophenyl group at position 2. The pyrimidine is connected via its 4-position to a spirocyclic system consisting of a piperidine ring and a cyclopentane ring, with a sulfonamide group (-SO₂NH₂) attached to the cyclopentane ring. The label "raxemic" is present below the pyrimidine ring.	¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,52 (s, 1 H) 7,21 (dd, <i>J</i> =8,08, 1,52 Hz, 1 H) 7,01 (t, <i>J</i> =7,96 Hz, 1 H) 6,55 (dd, <i>J</i> =8,08, 1,26 Hz, 1 H) 4,11-4,29 (m, 2 H) 3,73 (t, <i>J</i> =7,20 Hz, 1 H) 3,52 (dtd, <i>J</i> =13,93, 10,97, 10,97, 2,78 Hz, 2 H) 3,34-3,44 (m, 1 H) 3,25-3,34 (m, 1 H) 2,55 (dddd, <i>J</i> =13,93, 9,38,	4,094

		6,88, 4,42 Hz, 1 H) 2,04-2,28 (m, 3 H) 1,85-2,00 (m, 1 H) 1,68-1,85 (m, 1 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{22}Cl_2N_5O_2S_2$ $(M+H)^+$ 474,0592, được phát hiện 474,0569.	
--	--	---	--

Ví dụ 20

(*S*)-7-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-amin



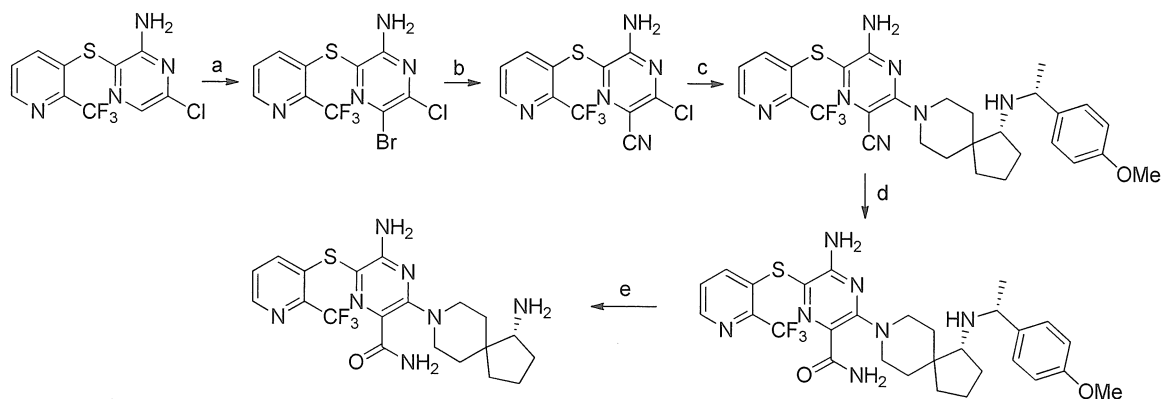
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (230mg, 0,750mmol) và (*R*)-2-metyl-*N*-((*S*)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)propan-2-sulfinamit (238mg, 0,975mmol) trong DIPEA (3,7mL) trong 10h ở 105°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 5 đến 70%) để tạo ra (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (172mg, 0,334mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. MS m/z 515,2 $(M+H)^+$.

Bước b: Khuấy dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (142mg, 0,376mmol) và HCl (4M trong dioxan, 414μL, 1,66mmol) trong DCM (1,4mL) trong 20min ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, thêm HCl (1M trong H₂O) và chiết hỗn hợp chứa nước tạo thành bằng DCM. Bazơ hóa pha chứa nước bằng NH₄OH (28% trong H₂O) đến khi độ pH = 12 và chiết bằng DCM (3 x 20mL). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên MgSO₄, lọc và

loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*S*)-7-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-amin (93mg, 0,227mmol). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,40-8,53 (m, 1 H), 7,61-7,69 (m, 1 H), 7,55 (dd, $J=8,0, 4,5$ Hz, 1 H), 7,29 (d, $J=8,0$ Hz, 1 H), 6,19 (s, 2 H), 4,11-4,24 (m, 1 H), 3,99-4,06 (m, 1 H), 3,06-3,20 (m, 2 H), 2,90-3,06 (m, 2 H), 1,50-1,74 (m, 4 H), 1,33-1,49 (m, 2 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 411,1566, được phát hiện 411,1579. IC_{50} là 0,038 μM .

Ví dụ 21

(*S*)-5-amino-3-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit



Bước a: Thêm NBS (745mg, 4,19mmol) vào dung dịch chứa 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (1,2g, 2,119mmol) trong DCM (30mL) ở 0°C trong một phần. Khuấy mạnh hỗn hợp tạo thành trong 30min ở 0°C và trong 1h ở RT. Dập tắt dung dịch sạch bằng nước và chiết bằng DCM. Tiếp đó, rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô đặc. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra 5-bromo-6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (938mg, 2,51mmol). MS m/z 387,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm 5-bromo-6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (750mg, 1,945mmol) và đồng(I) xyanua (348mg, 3,89mmol) trong DMF (7mL) trong 14h ở 120°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa MeOH (50mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien

EtOAc/heptan 0 đến 100%) để thu được 5-amino-3-clo-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carbonitril (301mg, 0,907mmol). MS m/z 332,3 (M+H)⁺.

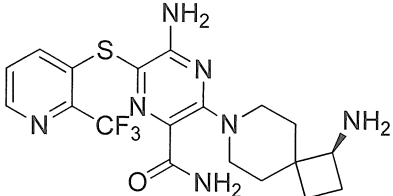
Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm 5-amino-3-clo-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carbonitril (52mg, 0,157mmol) và (*S*)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (90mg, 0,314mmol) trong DIPEA (0,246mL) trong 1h ở 135°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 100%) để thu được 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carbonitril (77mg, 0,132mmol). MS m/z 584,5 (M+H)⁺.

Bước d: Khuấy hỗn hợp gồm 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carbonitril (77mg, 0,132mmol) và NaOH (1M trong H₂O, 1,451mL, 1,451mmol) trong MeOH (3,5mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 35min ở 110°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit (79mg, 0,132mmol) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 602,5 (M+H)⁺.

Bước e: Khuấy dung dịch chứa 5-amino-3-((*S*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit (79mg, 0,132mmol) trong TFA (1,2mL, 15,76mmol) trong lò phản ứng vi sóng ở 100°C đến khi không còn vật liệu ban đầu (3h, theo dõi bằng LCMS). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (*S*)-5-amino-3-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit (18,8mg, 0,039mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,43 (dd, *J*=4,5, 1,4 Hz, 1 H), 7,57 (dd, *J*=8,1, 1,3 Hz, 1 H), 7,46 (dd, *J*=8,2, 4,5 Hz, 1 H), 3,92-3,88 (m, 2 H), 3,20-3,08 (m, 2 H), 2,77 (t, *J*=7,4 Hz, 1 H), 2,04-1,96 (m, 1 H), 1,829-1,82 (m, 1 H), 1,78-1,61 (m, 4 H), 1,53 (ddd, *J*=12,3, 9,2, 5,7 Hz, 1 H), 1,43 (ddd, *J*=9,8, 4,9, 2,0 Hz, 1 H), 1,39-1,32 (m, 1 H), 1,30-1,23 (m, 1 H). HRMS được tính cho C₂₀H₂₅F₃N₇OS (M+H)⁺ 468,1715, được phát hiện 468,1761; IC₅₀ là 0,010μM.

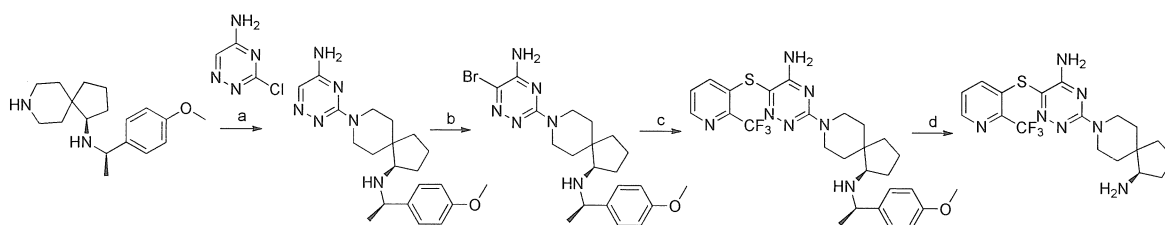
Các hợp chất sau có công thức I, như được xác định trong bảng 7, được điều chế bằng cách sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng amin và phương pháp khử bảo vệ amin tương ứng.

Bảng 7

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
22		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,33 (dd, <i>J</i> =1,3, 4,5 Hz, 1 H), 7,50-7,43 (m, 1 H), 7,36 (dd, <i>J</i> =4,5, 8,1 Hz, 1 H), 3,92-3,81 (m, 1 H), 3,81-3,69 (m, 1 H), 3,11-3,00 (m, 1 H), 3,00-2,86 (m, 2 H), 2,18-2,06 (m, 1 H), 1,76-1,52 (m, 5 H), 1,48-1,36 (m, 2 H). HRMS được tính cho C ₁₉ H ₂₃ F ₃ N ₇ OS (M+H) ⁺ 454,1673, được phát hiện 454,1645	0,053

Ví dụ 23

(*S*)-8-(5-amino-6-((2-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)thio)-1,2,4-triazin-3-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Chiếu xạ hỗn hợp gồm 3-clo-1,2,4-triazin-5-amin (70mg, 0,536mmol), (*S*)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (247mg, 0,644mmol), và *N*-metylmorpholin (177 μ L, 1,609mmol) trong MeCN (1mL) và NMP (0,1mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 45min ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, phân cận tạo thành được tinh chế trực tiếp bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 5%) để thu được (*S*)-8-(5-amino-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 383,5 ($M+H$)⁺.

Bước b: Thêm NBS (97mg, 0,543mmol) vào dung dịch chứa (*S*)-8-(5-amino-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (194mg, 0,507mmol) trong DCM (8mL), ở 0°C, trong một phần. Sau khi khuấy trong 20min ở 0°C, dập tắt dung dịch sạch bằng một vài giọt Na₂CO₃ aq. và chiết bằng DCM. Sấy khô lớp hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra (*S*)-8-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (77,9mg, 0,169mmol). MS m/z 463,4 ($M+H$)⁺.

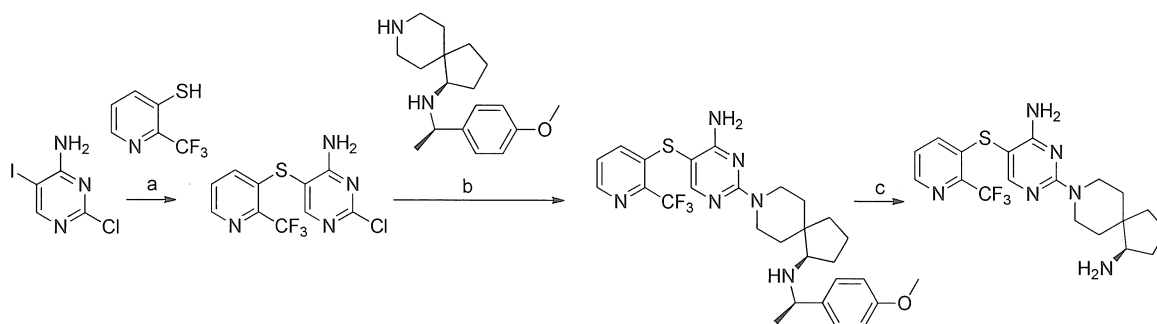
Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm (*S*)-8-(5-amino-6-bromo-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (54,1mg, 0,117mmol), 2-(triflometyl)pyridin-3-thiol (21mg, 0,117mmol), XantPhos (7,46mg, 0,013mmol), Pd₂(dba)₃ (5,37mg, 0,0058mmol), và DIPEA (0,041mL, 0,234mmol) trong dioxan (1mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 1,5h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (10mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (65mg, 0,116mmol). MS m/z 560,5 ($M+H$)⁺.

Bước d: Khuấy dung dịch chứa (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)-1,2,4-triazin-3-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (65mg, 0,116mmol) trong TFA (1,253mL, 16,26mmol) ở 100°C đến khi không còn vật liệu ban đầu (1,5h, quan sát bằng LC/MS), loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, pha loãng phân cận tạo thành bằng nước, và chiết bằng Et₂O (3 x 10mL). Bazơ hóa lớp chứa nước đến độ pH = 12 sử dụng NH₄OH (28% trong nước),

và chiết bằng DCM (3 x 10mL). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM) để tạo ra (*S*)-8-(5-amino-6-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)-1,2,4-triazin-3-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (14,5mg, 0,032mmol). ^1H NMR (400 MHz, $\text{METANOL-}d_4$) δ ppm 8,50-8,45 (m, 1 H), 7,60-7,54 (m, 1 H), 7,53-7,46 (m, 1 H), 4,64-4,50 (m, 2 H), 3,22-3,09 (m, 2 H), 2,88 (t, $J=7,3$ Hz, 1 H), 2,11-2,00 (m, 1 H), 1,94-1,86 (m, 1 H), 1,84-1,74 (m, 1 H), 1,74-1,63 (m, 3 H), 1,59-1,46 (m, 2 H), 1,45-1,39 (m, 1 H), 1,39-1,31 (m, 1 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 426,1688, được phát hiện 426,1667. IC_{50} là 0,290 μM .

Ví dụ 24

(*S*)-8-(4-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm 2-(triflometyl)pyridin-3-thiol (150mg, 0,837mmol), 2-clo-5-iodopyrimidin-4-amin (267mg, 1,047mmol), XantPhos (53,3mg, 0,092mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (38,3mg, 0,042mmol), và DIPEA (0,292mL, 1,674mmol) trong dioxan (1ml) trong lò phản ứng vi sóng trong 1,5h ở 130°C . Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (10mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 2-clo-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-4-amin (141mg, 0,460mmol). MS m/z 307,4 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

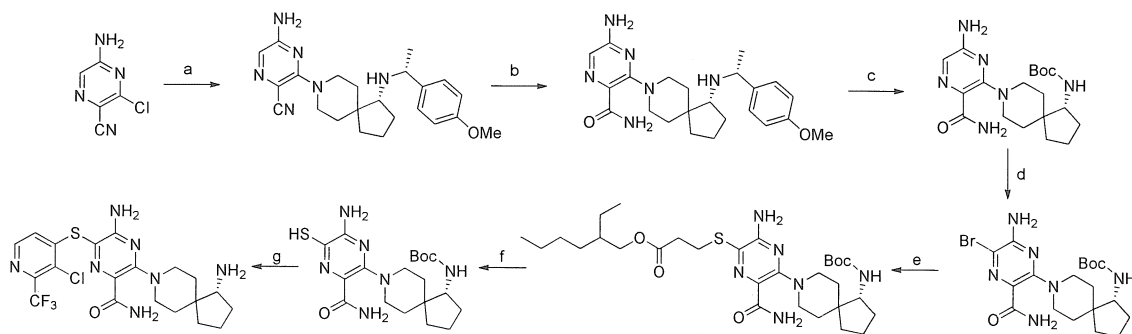
Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm 2-clo-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-4-amin (70mg, 0,228mmol) và (*S*)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (105mg, 0,274mmol) trong DIPEA (0,359mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 1,5h ở 135°C . Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay

hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*S*)-8-(4-amino-5-((2-(triflormetyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-2-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (128mg, 0,228mmol). MS m/z 559,5 ($M+H$)⁺.

Bước c: Khuấy dung dịch chứa (*S*)-8-(4-amino-5-((2-(triflormetyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-2-yl)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxypheyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (128mg, 0,229mmol) trong TFA (2,471ml, 32,1mmol) ở 100°C đến khi không còn vật liệu ban đầu (1,5h, theo dõi bằng LCMS), loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, pha loãng phần cặn tạo thành bằng nước, và sau đó chiết bằng Et₂O (3 x 10mL). Bazơ hóa lớp chứa nước đến độ pH = 12 sử dụng NH₄OH (28% trong nước), và chiết bằng DCM (3 x 10mL). Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 35-60% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM), để tạo ra (*S*)-8-(4-amino-5-((2-(triflormetyl)pyridin-3-yl)thio)pyrimidin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (32mg, 0,072mmol). ¹H NMR (400MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,41-8,35 (m, 1 H), 8,00 (s, 1 H), 7,47-7,43 (m, 2 H), 4,66-4,45 (m, 2 H), 3,18-3,06 (m, 2 H), 2,81 (t, *J*=7,3 Hz, 1 H), 2,09-1,97 (m, 1 H), 1,94-1,86 (m, 1 H), 1,81-1,72 (m, 1 H), 1,69-1,62 (m, 2 H), 1,59-1,53 (m, 2 H), 1,49-1,44 (m, 1 H), 1,40-1,35 (m, 1 H), 1,33-1,25 (m, 1 H). HRMS được tính cho C₁₉H₂₄F₃N₆S ($M+H$)⁺ 425,1735, được phát hiện 425,1741; IC₅₀ là 2,78μM.

Ví dụ 25

(*R*)-5-amino-3-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((3-clo-2-(triflormetyl)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit



Bước a: Khuấy dung dịch chứa 5-amino-3-clopyrazin-2-carbonitril (1,55g, 10,0mmol) và (*R*)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (2,88g, 10,0mmol) trong DIPEA (10 μ L) và NMP (5mL) trong 16h ở 110°C. Sau khi làm nguội đến RT, đổ hỗn hợp phản ứng vào phễu tách chứa NaHCO₃ aq. và chiết bằng EtOAc. Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 5%) để tạo ra 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-carbonitril (2,74g, 6,74mmol). MS *m/z* 407,3 (M+H)⁺.

Bước b: (Chú ý: Tiến hành phản ứng này theo 4 mẻ, mỗi mẻ 500mg). Khuấy dung dịch chứa 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-carbonitril (500mg, 1,23mmol) trong MeOH (8mL) và NaOH (2,5M trong H₂O, 5mL, 12,3mmol) trong lò phản ứng vi sóng trong 90min ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, tinh chế hỗn hợp tạo thành bằng phương pháp HPLC (gradient axetonitril/nước 35-60%, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-carboxamit (160mg/phản ứng, 640mg tổng cộng, 1,51mmol). MS *m/z* 425,3 (M+H)⁺.

Bước c: Khuấy dung dịch chứa 5-amino-3-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-carboxamit (615mg, 1,45mmol) trong TFA (11ml) trong 1h ở 100°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy dung dịch chứa phần cặn tạo thành, DIPEA (1,2ml, 6,89mmol), và Boc₂O (330mg, 1,516mmol) trong DCM (15mL) trong 2h ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 1 đến 10%) để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoylpyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (538mg, 1,378mmol). MS *m/z* 391,0 (M+H)⁺.

Bước d: Khuấy dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoylpyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (538mg, 1,378mmol), và NBS (270mg, 1,516mmol) trong DCM (5mL) trong 20min ở 0°C. Dập tắt hỗn hợp phản ứng bằng MeOH (2ml) và khuấy trong 20min ở RT. Đổ hỗn hợp tạo thành vào phễu tách chứa NaHCO₃ aq. và chiết bằng DCM. Sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên MgSO₄, lọc và

loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-5-bromo-3-carbamoylpyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (627mg, 1,336mmol). MS m/z 471,2 (M+H)⁺.

Bước e: Thêm 2-ethylhexyl-3-mercaptopropanoate (334μL, 1,469mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-5-bromo-3-carbamoylpyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (627mg, 1,336mmol), XantPhos (77mg, 0,134mmol), và Pd₂(dba)₃ (61,2mg, 0,067mmol) trong dioxan (3mL) (ở RT và trong điều kiện N₂) sau đó thêm DIPEA (467μL, 2,67mmol). Khuấy dung dịch tạo thành trong lò phản ứng vi sóng trong 1h ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (5mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phân cực tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 10%) để tạo ra 2-ethylhexyl 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-carbamoylpyrazin-2-yl)thio)propanoate (574mg, 0,946mmol). MS m/z 607,4 (M+H)⁺.

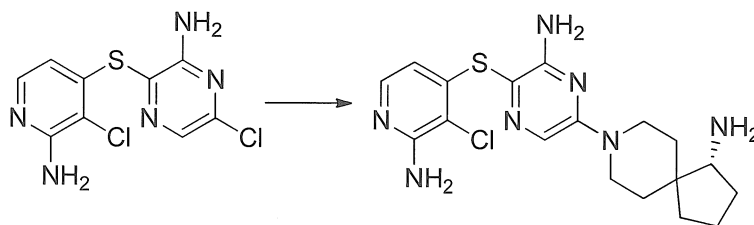
Bước f: Thêm kali *tert*-butoxide (1M trong THF, 2,84mL, 2,84mmol) vào dung dịch chứa 2-ethylhexyl 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*tert*-butoxycarbonyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-carbamoylpyrazin-2-yl)thio)propanoate (574mg, 0,946mmol) trong THF (3mL) (ở -78°C và trong điều kiện N₂). Sau khi khuấy mạnh ở -78°C trong 10min, dập tắt phản ứng bằng K₂CO₃ aq. (2M, 500μL) và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cực tạo thành bằng phương pháp HPLC (gradient acetonitril/nước 15 đến 40%, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-mercaptopyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (280mg, 0,663mmol). MS m/z 423,4 (M+H)⁺.

Bước g: Thêm DIPEA (110μL, 0,625mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-mercaptopyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (88mg, 0,208mmol), 3-clo-4-iodo-2-(triflometyl)pyridin (80mg, 0,260mmol), XantPhos (12,1mg, 0,021mmol), và Pd₂(dba)₃ (9,6mg, 0,01mmol) trong dioxan (0,5mL) (ở RT và trong điều kiện N₂). Khuấy dung dịch tạo thành trong lò phản ứng vi sóng trong 1h ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, pha loãng phản ứng bằng EtOAc và lọc qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (5mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và sấy khô trong điều kiện chân không. Khuấy dung dịch chứa phân cực tạo thành trong DCM (1ml) và TFA (400μL) trong 10min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi

trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM) để tạo ra (R)-5-amino-3-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-6-((3-clo-2-(triflometyl)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-carboxamit (60mg, 0,120mmol). ^1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8,18 (d, $J=5,05$ Hz, 1 H), 6,85 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 3,87 (t, $J=13,89$ Hz, 2 H), 2,98-3,14 (m, 2 H), 2,72 (t, $J=7,33$ Hz, 1 H), 1,86-2,02 (m, 1 H), 1,73-1,81 (m, 1 H), 1,43-1,72 (m, 5 H), 1,17-1,41 (m, 3 H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ ppm -67,22 (s, 1F). HRMS được tính cho $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_7\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 502,1404, được phát hiện 502,1398. IC_{50} là 0,058 μM

Ví dụ 26

(R)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin

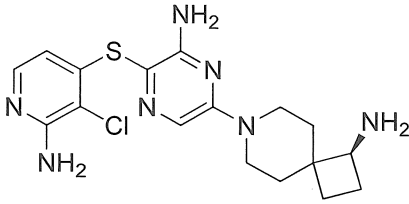


Khuấy hỗn hợp gồm 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (67mg, 0,233mmol) và (R)-2-metyl-N-((R)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (120mg, 0,465mmol) trong DIPEA (2ml) trong 5h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy dung dịch chứa phần cặn tạo thành trong dioxan (5mL) và HCl (4M trong dioxan, 1ml) trong 1h ở 40°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 25-50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM). Phần cặn tạo thành được tinh chế tiếp bằng phương pháp SFC (Prinxeton DEAP 20x150mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 20-40% trong CO_2 trong vòng 5,7min, quá trình thu được kích hoạt khối lượng, nhiệt độ lò 40°C, đối áp 120bar) để tạo ra (R)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (23mg, 0,057mmol). ^1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,50-7,64 (m, 2 H), 5,91 (d, $J=5,77$ Hz, 1 H), 4,26 (t, $J=13,18$ Hz, 2 H), 3,03-3,20 (m, 2 H), 2,79 (t, $J=7,53$ Hz, 1 H), 1,95-2,11 (m, 1 H),

1,83-1,95 (m, 1 H), 1,52-1,82 (m, 5 H), 1,37-1,52 (m, 2 H), 1,32 (dd, $J=13,30$, 2,01 Hz, 1 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{25}ClN_7S$ ($M+H$)⁺ 406,1581, được phát hiện 406,1576. IC_{50} là 0,014 μ M.

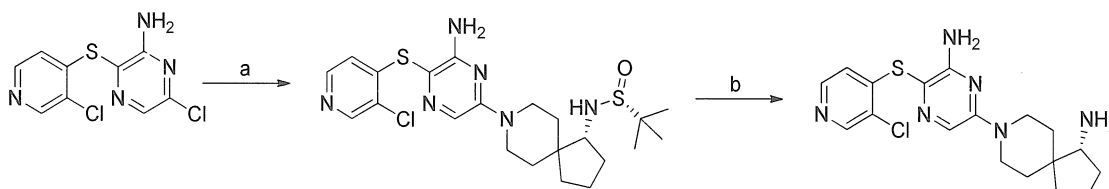
Các hợp chất sau đây được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng amin được bảo vệ tương ứng.

Bảng 8

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC_{50} (μ M)
27		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,50-7,64 (m, 2 H), 5,90 (d, $J=5,52$ Hz, 1 H), 4,30 (d, $J=13,55$ Hz, 1 H), 4,19 (d, $J=13,55$ Hz, 1 H), 2,94-3,19 (m, 3 H), 2,15-2,29 (m, 1 H), 1,60-1,89 (m, 5 H), 1,47-1,60 (m, 2 H). HRMS được tính cho $C_{17}H_{23}ClN_7S$ ($M+H$) ⁺ 392,1424, được phát hiện 392,1434.	0,042

Ví dụ 28

(*R*)-8-(6-amino-5-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin

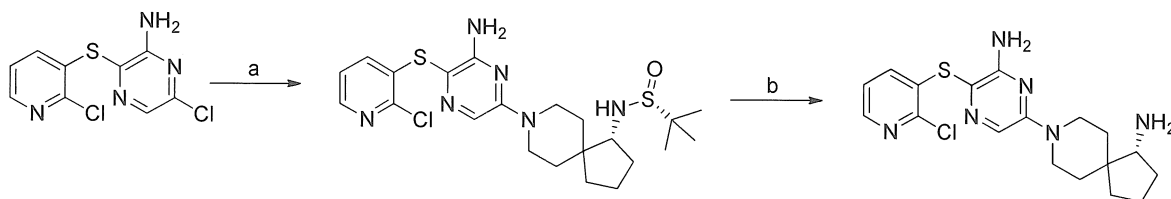


Bước a: Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (65mg, 0,252mmol) vào huyền phù của 6-clo-3-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (53mg, 0,194mmol) trong DIPEA (2ml). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0-50%; EtOAc chứa 10% MeOH, heptan chứa 2% Et₃N) để thu được (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (40mg, 0,081mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. MS *m/z* 495,0 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 101μL, 0,404mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (40mg, 0,081mmol) trong DCM (0,8mL), và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Thêm dung dịch chứa nước chứa HCl (2M, 2ml) và chiết hỗn hợp tạo thành bằng DCM (2x). Bazơ hóa hỗn hợp chứa nước bằng amoni hydroxit (28% trong nước) cho đến khi độ pH = 12 và chiết bằng DCM (3x). Kết hợp các lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối, sấy khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc để thu được (*R*)-8-(6-amino-5-((3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (24mg, 0,061mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,49 (s, 1 H), 8,25 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 7,66 (s, 1 H), 6,56 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 6,24 (s, 2 H), 4,07-4,26 (m, 2 H), 2,98-3,13 (m, 2 H), 2,70 (t, *J*=7,4 Hz, 1 H), 1,11-1,94 (m, 10 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₄ClN₆S (M+H)⁺ 391,1472, được phát hiện 391,1480. IC₅₀ là 0,023μM

Ví dụ 29

(*R*)-8-(6-amino-5-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



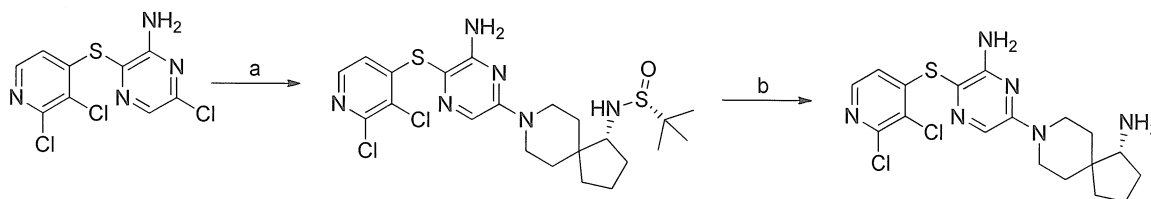
Bước a: Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (105mg, 0,405mmol) vào huyền phù của 6-clo-3-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (85mg, 0,311mmol) trong DIPEA (1,6mL). Khuấy hỗn hợp tạo

thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0-50%; EtOAc chứa 10% MeOH, heptan chứa 2% Et₃N) để thu được (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (40mg, 0,081mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δ ppm 8,15 (dd, *J*=4,5, 1,8 Hz, 1 H), 7,64 (s, 1 H), 7,01-7,18 (m, 2 H), 4,87 (br, s, 2 H), 4,24 (s, 2 H), 3,29-3,45 (m, 1 H), 3,20 (d, *J*=5,8 Hz, 1 H) 2,98-3,13 (m, 2 H), 1,98-2,21 (m, 1 H), 1,36-1,94 (m, 9 H), 1,22 (s, 9 H). MS *m/z* 495,0 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 167μL, 0,667mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (66mg, 0,133mmol) trong DCM (2ml), và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Thêm dung dịch chứa nước chứa HCl (2M, 2ml) và chiết hỗn hợp tạo thành bằng DCM (2x). Bazơ hóa hỗn hợp chứa nước bằng amoni hydroxit (28% trong nước) cho đến khi độ pH = 12 và chiết bằng DCM (3x). Kết hợp các lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối, sấy khô bằng Na₂SO₄, lọc và cô đặc để thu được (*R*)-8-(6-amino-5-((2-clopyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (24mg, 0,062mmol) là chất rắn màu nâu vàng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,01 (dd, *J*=4,8, 1,8 Hz, 1 H), 7,43-7,52 (m, 1 H), 7,12 (dd, *J*=7,9, 4,6 Hz, 1 H), 7,00 (dd, *J*=7,9, 1,6 Hz, 1 H), 4,11-4,26 (m, 2 H), 2,96-3,10 (m, 2 H), 2,67-2,81 (m, 1 H), 1,06-2,05 (m, 10 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₄ClN₆S (M+H)⁺ 391,1472, được phát hiện 391,1470. IC₅₀ là 0,015μM.

Ví dụ 30

(*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



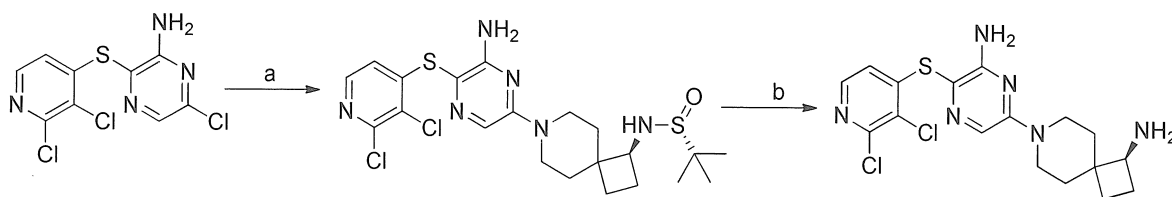
Bước a: Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (37mg, 0,144mmol) vào huyền phù 6-clo-3-((2,3-diclopyridin-4-

yl)thio)pyrazin-2-amin (34mg, 0,111mmol) trong DIPEA (0,55mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Tinh chế phân thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-50%; EtOAc chứa 10% MeOH, heptan chứa 2% Et₃N) để thu được (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (33mg, 0,062mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORM-*d*) δppm 8,02 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 7,66 (s, 1 H), 6,60 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 4,82 (s, 2 H), 4,21-4,34 (m, 2 H), 3,34-3,42 (m, 1 H), 3,20 (d, *J*=5,8 Hz, 1 H), 2,99-3,15 (m, 2 H), 2,08-2,21 (m, 1 H), 1,26-1,97 (m, 9 H), 1,23 (s, 9 H). MS *m/z* 529,1 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 47μL, 0,189mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (20mg, 0,038mmol) trong DCM (0,38mL), và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và hòa tan trong MeOH. Tinh chế phân thô bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradient 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để thu được (*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (7mg, 0,016mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,91-8,04 (m, 1 H), 7,52-7,65 (m, 1 H), 6,61 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 4,29 (t, *J*=14,2 Hz, 2 H), 3,06-3,22 (m, 2 H), 2,88 (t, *J*=7,4 Hz, 1 H), 1,21-2,17 (m, 10 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₃Cl₂N₆S (M+H)⁺ 425,1082, được phát hiện 425,1095. IC₅₀ là 0,003μM.

Ví dụ 31

(*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-amin



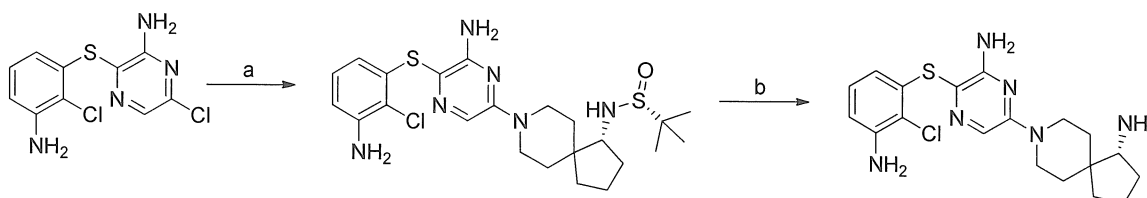
Bước a: Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (86mg, 0,351mmol) vào huyền phù 6-clo-3-((2,3-diclopyridin-4-

yl)thio)pyrazin-2-amin (54mg, 0,176mmol) trong DIPEA (1,8mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-50%; EtOAc chứa 10% MeOH, heptan chứa 2% Et₃N) để thu được (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (52mg, 0,102mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. MS *m/z* 514,9 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 47μL, 0,189mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (20mg, 0,039mmol) trong DCM (0,38mL), và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và hòa tan trong MeOH. Tinh chế phần thô bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradient 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để thu được (*S*)-7-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-7-azaspiro[3.5]nonan-1-amin (7mg, 0,017mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,89 (d, *J*=5,5 Hz, 1 H), 7,50 (s, 1 H), 6,51 (d, *J*=5,5 Hz, 1 H), 3,94-4,31 (m, 2 H), 2,76-3,11 (m, 3 H), 2,06-2,24 (m, 1 H), 1,36-1,82 (m, 7 H). HRMS được tính cho C₁₇H₂₁Cl₂N₆S (M+H)⁺ 411,0925, được phát hiện 411,0938. IC₅₀ là 0,028μM.

Ví dụ 32

(*R*)-8-(6-amino-5-((2,3-diclopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



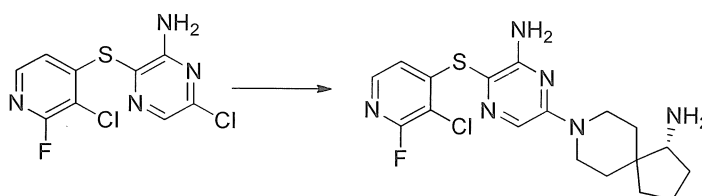
Bước a: Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (70mg, 0,272Mmol) vào huyền phù 3-((3-amino-2-clophenyl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (60mg, 0,209mmol) trong DIPEA (1,5mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Tinh chế phần thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0-50%; heptan chứa 2% Et₃N) để thu được (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((3-amino-2-clophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-

metylpropan-2-sulfinamit (31mg, 0,061mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt. MS m/z 509,0 (M+H)⁺.

Bước b: Thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 76 μ L, 0,304mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((3-amino-2-clophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (31mg, 0,061mmol) trong DCM (0,6mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Thêm dung dịch chứa nước chứa HCl (2M, 2ml) và chiết hỗn hợp tạo thành bằng DCM (2x). Bazơ hóa hỗn hợp chứa nước bằng amoni hydroxit (28% trong nước) cho đến khi độ pH = 12 và chiết bằng DCM (3x). Kết hợp các lớp hữu cơ, rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc để thu được (*R*)-8-(6-amino-5-((3-amino-2-clophenyl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (18mg, 0,042mmol) dưới dạng chất rắn màu vàng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,40 (s, 1 H), 6,73 (t, $J=8,0$ Hz, 1 H), 6,50 (dd, $J=8,1, 1,3$ Hz, 1 H), 5,90 (dd, $J=7,8, 1,3$ Hz, 1 H), 4,02-4,18 (m, 2 H), 3,21 (dt, $J=3,2, 1,5$ hz, 1 H), 2,98 (d, $J=11,4$ Hz, 2 H), 2,67 (t, $J=7,5$ Hz, 1 H), 1,04-2,02 (m, 10 H). HRMS được tính cho C₁₉H₂₆ClN₆S (M+H)⁺ 405,1628, được phát hiện 405,1639. IC₅₀ là 0,011 μ M.

Ví dụ 33

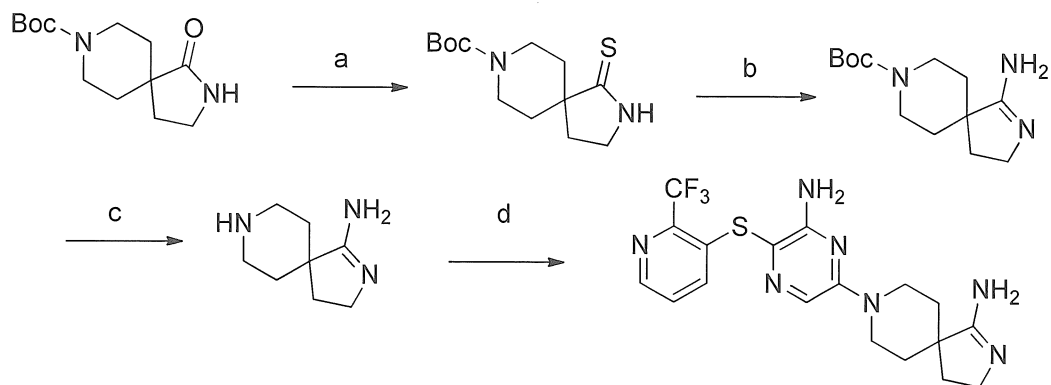
(*R*)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Thêm (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (71Mg, 0,0275mMol) vào huyền phù 6-clo-3-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (40mg, 0,137mmol) trong DIPEA (0,7mL). Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 90°C trong 10h và sau đó cô đặc. Hòa tan phần thô trong DCM (0,7mL), thêm dung dịch chứa HCl (4M trong dioxan, 34 μ L, 0,137mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành ở 40°C trong 1h. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và tinh chế phần thô bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15 đến 40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) để thu được (*R*)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-

azaspiro[4.5]decan-1-amin (muối TFA: 17mg, 0,042mmol). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,94 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 7,79 (br, s, 3 H), 7,69 (br, s, 1 H), 6,51 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 6,34 (br, s, 2 H), 4,12-4,32 (m, 2 H), 2,99-3,24 (m, 3 H), 2,00-2,12 (m, 1 H), 1,30-1,90 (m, 9 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{ClFN}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 409,1377, được phát hiện 409,1385. IC_{50} là 0,005 μM .

Ví dụ 34



Bước a: Thêm phosphorus pentasulfit (110mg, 0,495mmol) vào dung dịch RT chứa *tert*-butyl 2-oxo-1,8-diazaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (300mg, 1,180mmol) trong diclometan (3mL) sau đó thêm hexametyldisiloxan (2,256ml, 10,62mmol). Khuấy phản ứng trong 3h ở RT sau đó pha loãng bằng EtOAc và lọc qua Xelit. Cô đặc phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 80%) tạo ra *tert*-butyl 1-thio-2,8-diazaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (0,290g, 1,07mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10,39 (s, 1 H), 3,66 (dt, $J=13,6, 4,9$ Hz, 2 H), 3,09 (s, 2 H), 2,78 (t, $J=7,8$ Hz, 2 H), 1,95 (t, $J=7,8$ Hz, 2 H), 1,57 (dd, $J=6,6, 4,8$ Hz, 4 H), 1,39 (s, 9 H). MS m/z 271 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước b: Thêm từng giọt iodometan (0,231ml, 3,70mmol) vào dung dịch chứa 1-thio-2,8-diazaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (100mg, 0,370mmol) trong THF (3mL). Khuấy dung dịch tạo thành ở RT trong 16h. Trong suốt quá trình phản ứng hỗn hợp dần dần trở thành màu vàng và tạo thành chất kết tủa màu vàng sáng sau khi khuấy trong thời gian phản ứng được phân bổ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và sấy khô trong điều kiện chân không tạo ra chất rắn màu vàng. Hấp thu chất rắn màu vàng trong MeOH (2ML) và xử lý bằng amoniac 7M trong metanol (3mL) sau đó làm nóng trong

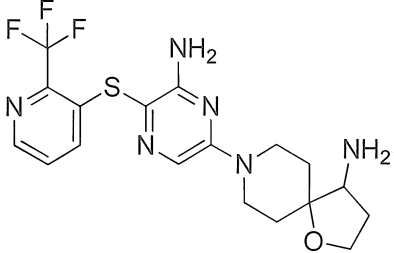
ống bịt kín đến 100°C trong 8h. Làm nguội phản ứng đến RT và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm tạo ra chất rắn, nghiền chất rắn này bằng sóng âm với axetonitril và lọc. Cô đặc phần dịch lọc và tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký silica (gradient MeOH/DCM 0 đến 30%) tạo ra *tert*-butyl 1-amino-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-8-carboxylat (87mg, 0,343mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,38 (s, 1 H), 8,81 (d, *J*=25,2 Hz, 2 H), 3,98 (s, 2 H), 3,55 (t, *J*=7,0 Hz, 2 H), 2,82 (s, 2 H), 2,12 (t, *J*=7,1 Hz, 2 H), 1,74 (td, *J*=12,9, 4,7 Hz, 2 H), 1,57 (d, *J*=12,7 Hz, 2H), 1,41 (s, 9 H). MS *m/z* 254 (M+H)⁺.

Bước c: Thêm HCl trong dioxan (4M, 0,500mL, 2,0mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl 1-amino-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-8-carboxylat (86mg, 0,339mmol) trong DCM (3mL) ở RT và khuấy phản ứng trong 16h. Cô đặc hỗn hợp phản ứng và nghiền nhỏ phần cặn từ axetonitril và lọc tạo ra 2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-1-amin (57,7mg, 0,254mmol) là chất rắn màu nâu vàng. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,64 (s, 1 H), 9,39-9,23 (m, 1 H), 9,15 (s, 1 H), 9,07 (s, 1 H), 8,70 (d, *J*=12,5 Hz, 1 H), 3,54 (t, *J*=6,9 Hz, 2 H), 3,32 (d, *J*=13,3 Hz, 2 H), 3,05-2,88 (m, 2 H), 2,18 (t, *J*=6,9 Hz, 2 H), 2,01 (td, *J*=13,7, 4,3 Hz, 2 H), 1,80 (d, *J*=13,8 Hz, 2 H). MS *m/z* 154 (M+H)⁺.

Bước d: Thêm DIPEA (1,4mL, 8,02mmol) vào huyền phù 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (250mg, 0,815mmol) và 2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-1-amin (210mg, 1,371mmol) trong *N*-metyl-2-pyrrolidinon (4mL) và làm nóng phản ứng đến 140°C trong 16h. Làm nguội hỗn hợp phản ứng sẫm màu tạo thành đến RT và pha loãng bằng EtOAc và nước. Phân chia các lớp và loại bỏ lớp hữu cơ. Chiết lớp chứa nước bằng hỗn hợp isopropanol 20%/cloroform (2 x 30 mL), sấy khô các chất hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc. Tinh chế phần cặn thô sử dụng phương pháp HPLC điều chế (rửa giải gradient, 5 đến 40% ACN trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) và đông khô các phần chung tạo ra 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-1-amin (muối TFA: 61,4mg, 0,082mmol). Kết hợp các phần còn lại và trung hòa bằng cách khuấy mạnh trong 10min với NaHCO₃ bão hòa 50%. Chiết dung dịch tạo thành bằng hỗn hợp isopropanol 20% /cloroform (3 x 30mL), sấy khô các chất hữu cơ kết hợp trên Na₂SO₄, lọc và cô đặc tạo ra 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,8-diazaspiro[4.5]dec-1-en-1-amin (22mg, 0,052mmol) như là bazơ tự do. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,46 (d, *J*=4,4 Hz, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 7,55 (dd, *J*=8,2,

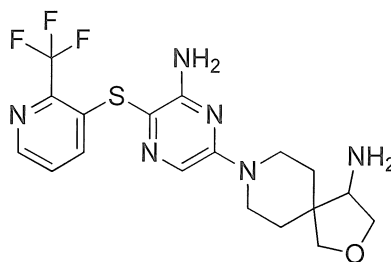
4,5 Hz, 1 H), 7,31 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 6,19 (s, 2 H), 5,74 (s, 2 H), 4,40 (d, $J=13,4$ Hz, 2 H), 3,43 - 3,34 (m, 2 H), 2,90 (t, $J=12,2$ Hz, 2 H), 1,97-1,89 (m, 2 H), 1,83 (td, $J=13,0$, 4,1 Hz, 2 H), 1,36 (d, $J=12,9$ Hz, 2 H). MS m/z 424,1541 (M+H)⁺. IC₅₀ là 0,032 μ M.

Hợp chất sau được điều chế sử dụng amin ở trên và ghép cặp sử dụng các quy trình thông thường đã mô tả ở đây.

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μ M)
35		¹ H NMR (400 MHz, CLOROFORM-d) δ 8,35 (dd, $J=4,5$, 1,5hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,42 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 7,24–7,15 (m, 1 H), 4,77 (s, 2 H), 4,13 (m, 2 H), 3,90 (m, 1 H), 3,78 (m, 1 H), 3,28–3,17 (m, 2 H), 3,06 (t, $J=6,9$ Hz, 1 H), 2,27 (2, 1 H), 1,74–1,63 (m, 1 H), 1,63–1,54 (m, 3 H), 1,53–1,46 (m, 1 H), 1,21 (br. s, 2 H). HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₂ F ₃ N ₆ OS (M+H) ⁺ 427,1528, được phát hiện 427,1526.	0,232

Ví dụ 36

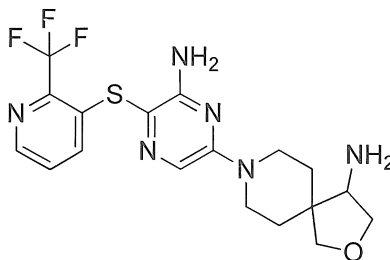
racemic-8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin



Hòa tan *racemic*-2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion (40mg, 0,072mmol) trong ethanol (1ml) trong lọ vi sóng hình nón 5mL, thêm hydrazin hydrat (0,070mL, 1,44mmol), bịt nút và làm nóng trên bình hạt nhôm 90°C trong 2h. Huyền phù được lọc chân không qua màng PTFE 0,45µm và rửa bằng ethanol. Tinh chế HPLC (rửa giải gradien 15 đến 40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%), sau đó pha loãng bằng EtOAc và rửa bằng bicarbonat sat. aq, sau đó bằng nước muối. Cô đặc, pha loãng bằng 1ml DCM và thêm HCl (100µL, 4M trong dioxan) để thu được kết tủa. Cô đặc để thu được 8-(6-amino-5-((2-(trifluoromethyl) pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (muối HCl: 1mg, 0,002mmol). ¹H NMR (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 8,43–8,39 (m, 1 H), 7,65 (s, 1 H), 7,46–7,39 (m, 2 H), 4,35–4,14 (m, 2 H), 3,98 (d, *J*=9,2 Hz, 1 H), 3,90 (d, *J*=9,2 Hz, 1 H), 3,58 (d, *J*=5,3 Hz, 1 H), 3,29–3,12 (m, 3 H), 1,76 (m, 4 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₂F₃N₆OS (M+H)⁺ 427,1528, được phát hiện 427,1537. IC₅₀ là 0,07µM.

Ví dụ 37

(*R*) và (*S*) - 8-(6-amino-5-((2-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin

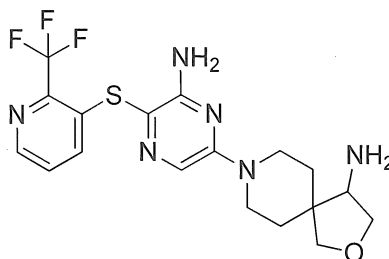


Hòa tan chất đồng phân đối ảnh đơn P1, 2-(8-(6-amino-5-((2-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-

yl)isoindolin-1,3-dion (49mg, 0,088mmol) trong ethanol (1ml) trong lọ vi sóng 5ml hình nón, thêm hydrazin hydrat (0,080mL, 1,65mmol), bịt nút và làm nóng trên bình hạt nhôm 90°C trong 2h. Lọc chân không huyền phù qua màng PTFE 0,45µm và rửa bằng ethanol. Quá trình tinh chế HPLC (rửa giải gradient 15 đến 40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) đã dẫn đến sự phân lập 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (13mg, 0,029mmol). HPLC phân tích không đối xứng: LC-3 4,6x100mm, 5µm, pha động: MeOH 45% chứa amoniac 10mM, 5mL/min, chất đồng phân đối ảnh đơn đỉnh 1 (P1), R_t: 0,88min, >99% chất đồng phân đối ảnh đơn. ¹H NMR (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 8,39 (dd, *J*=4,3, 1,6 Hz, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 7,41 (m, 2 H), 4,21–4,07 (m, 3 H), 3,86 (d, *J*=8,7 Hz, 1 H), 3,79 (d, *J*=8,7 Hz, 1 H), 3,51 (dd, *J*=9,0, 5,2 Hz, 1 H), 3,24 (m, 2 H), 3,15 (m, 1 H), 1,73 (m, 2 H), 1,59 (m, 1,8 Hz, 2 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₂F₃N₆OS (M+H)⁺ 427,1528, được phát hiện 427,1542. IC₅₀ là 0,025µM.

Ví dụ 38

(*R*) và (*S*) - 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin

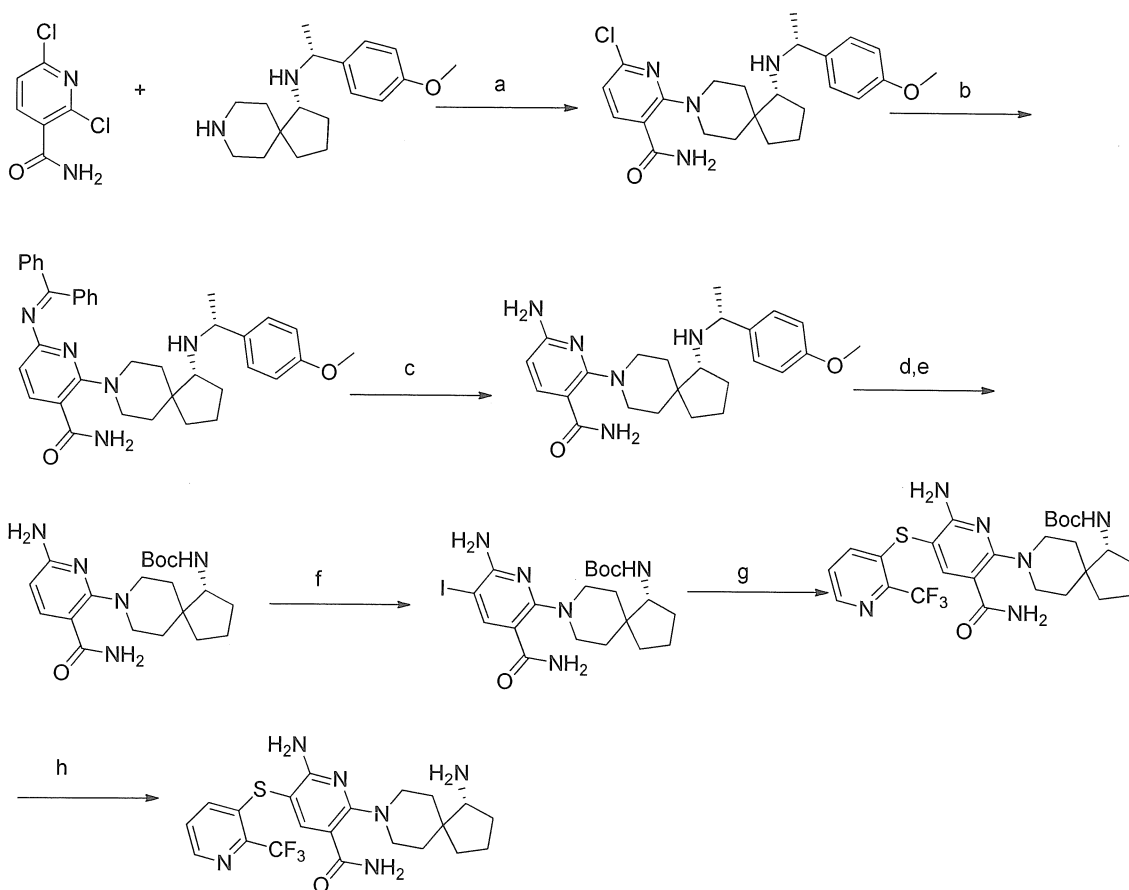


Hòa tan chất đồng phân đối ảnh đơn P2, 2-(8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-yl)isoindolin-1,3-dion (42mg, 0,075mmol) trong ethanol (1ml) trong lọ vi sóng 5ml hình nón, thêm hydrazin hydrat (0,080mL, 1,65mmol), bịt nút và làm nóng trên bình hạt nhôm 90°C trong 2h. Lọc chân không huyền phù qua màng PTFE 0,45µm và rửa bằng ethanol. Quá trình tinh chế HPLC (rửa giải gradient 15 đến 40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) dẫn đến sự phân lập 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (13mg, 0,029mmol). HPLC phân tích không đối xứng: LC-3 4,6x100mm, 5µm, pha

động: MeOH 45% chứa amoniac 10mM, 5mL/min, chất đồng phân đối ảnh đơn đỉnh 2 (P2), R_t : 1,33min, >99% chất đồng phân đối ảnh đơn. ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,39 (dd, $J=4,3$, 1,6 Hz, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 7,41 (m, 2 H), 4,21–4,07 (m, 3 H), 3,86 (d, $J=8,6$ Hz, 1 H), 3,79 (d, $J=8,8$ Hz, 1 H), 3,50 (dd, $J=9,0$, 5,2 Hz, 1 H), 3,24 (m, 2 H), 3,15 (m, 1 H), 1,80–1,67 (m, 2 H), 1,64–1,50 (m, 2 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 427,1528, được phát hiện 427,1536. IC_{50} là 0,983 μM .

Ví dụ 39

(*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)nicotinamit



Bước a: Thêm *N*-metyl morpholin (1,14mL, 10,40mmol) và (*R*)-*N*-((*R*)-1-(4-metoxyphenyl)etyl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (1g, 3,47mmol) vào dung dịch chứa 2,6-diclopyridin-3-carboxamit (0,728g, 3,81mmol) trong 1-metyl pyrrolidinon (7mL). Làm nóng hỗn hợp tạo thành đến 100°C trong điều kiện hồi lưu trong 24h. Pha loãng hỗn hợp phản ứng tạo thành bằng etyl axetat, xử lý bằng cô đặc natri bicarbonat và lọc. Tách lớp hữu cơ, sấy khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm.

Tinh chế dầu màu đỏ sẫm tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient etyl axetat/heptan 0 đến 50% chứa 0,25% triethylamin) để tạo ra 6-clo-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (0,998g, 2,25mmol). ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 7,81 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H), 7,26 (d, $J=8,6$ Hz, 2 H), 6,86 (m, 3 H), 3,82 (m, 1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,75–3,63 (m, 2 H), 3,03 (m, 2 H), 2,59 (m, 1 H), 2,01–1,92 (m, 1 H), 1,88–1,52 (m, 5 H), 1,51–1,36 (m, 3 H), 1,32 (d, $J=6,5$ Hz, 3 H), 1,25 (m, 2 H). MS m/z 442,9 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước b: Thêm $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (97mg, 0,169mmol), và (oxybis(2,1-phenylen))bis(diphenylphosphin) (103mg, 0,191mmol) vào dung dịch chứa 6-clo-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (242mg, 0,546mmol), trong toluen (11mL). Phun nitơ vào hỗn hợp phản ứng, và thêm benzophenon imin (0,11ml, 0,656mmol) và kali *tert*-butoxit (0,710mL, 1M trong tetrahydrofuran, 0,710mmol) trong điều kiện nitơ. Làm nóng hỗn hợp phản ứng đến 80°C trong 2h, và làm nguội hỗn hợp đến RT, lọc qua miếng đệm Xelit, và rửa bằng etyl axetat. Cô đặc phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký silica (gradient etyl axetat/heptan 0 đến 50%) để tạo ra 6-(((diphenylmetylen)amino)-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (250mg, 0,425mMol). MS m/z 588,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước c: Thêm HCl (2M, 0,1ml, 0,200mmol) vào huyền phù 6-(((diphenylmetylen)amino)-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (130mg, 0,221mmol) trong THF (6ml), và khuấy dung dịch tạo thành ở RT trong 30min. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn bằng phương pháp sắc ký silica (gradient etyl axetat/heptan 0 đến 50%, chứa 0,25% triethylamin) để tạo ra 6-amino-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (43mg, 0,102mmol). MS m/z 424,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước d: Làm nóng dung dịch chứa 6-amino-2-((*R*)-1-(((*R*)-1-(4-metoxyphe-nyl)etyl)amino)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit (199mg, 0,470mmol) trong axit trifloaxetic (3mL) đến 100°C trong 30min. Cô đặc hỗn hợp trong điều kiện áp suất giảm và sử dụng phần cặn trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit. MS m/z 290,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Bước e: Thêm triethylamin (0,196mL, 1,410mmol) và di-*tert*-butyl dicarbonat (113mg, 0,517mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)nicotinamit trong diclometan (2mL) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 2h ở RT. Cô đặc hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phân cận bằng phương pháp sắc ký silica (gradient etyl axetat/heptan 0 đến 50%, chứa 0,25% triethylamin) để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl(8-(6-amino-3-carbamoylpyridin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (147mg, 0,377mmol). ¹H NMR (400 MHz, Metanol-*d*₄) δ 7,88 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H), 6,19 (d, *J*=8,5 Hz, 1 H), 3,66 (t, *J*=7,7 Hz, 1 H), 3,27–3,15 (m, 2 H), 2,98 (t, *J*=12,4 Hz, 2 H), 2,05–1,94 (m, 1 H), 1,86–1,46 (m, 8 H), 1,45 (s, 9 H), 1,41 (d, *J*=6,0 Hz, 1 H). MS *m/z* 390,3 (M+H)⁺.

Bước f: Thêm *N*-iodosuxinimit (86mg, 0,384mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoylpyridin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (136mg, 0,349mmol) trong diclometan (5mL), làm lạnh trên bề đá. Khuấy hỗn hợp tạo thành ở 5°C trong 2h. Dập tắt phản ứng bằng cách thêm 2ml metanol, và làm ấm hỗn hợp lên đến RT. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Chiết sản phẩm thô bằng diclometan và rửa bằng nước muối. Sấy khô lớp hữu cơ trên natri sulfat, lọc và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-iodopyridin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (170mg, 0,330mmol) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 516,1 (M+H)⁺.

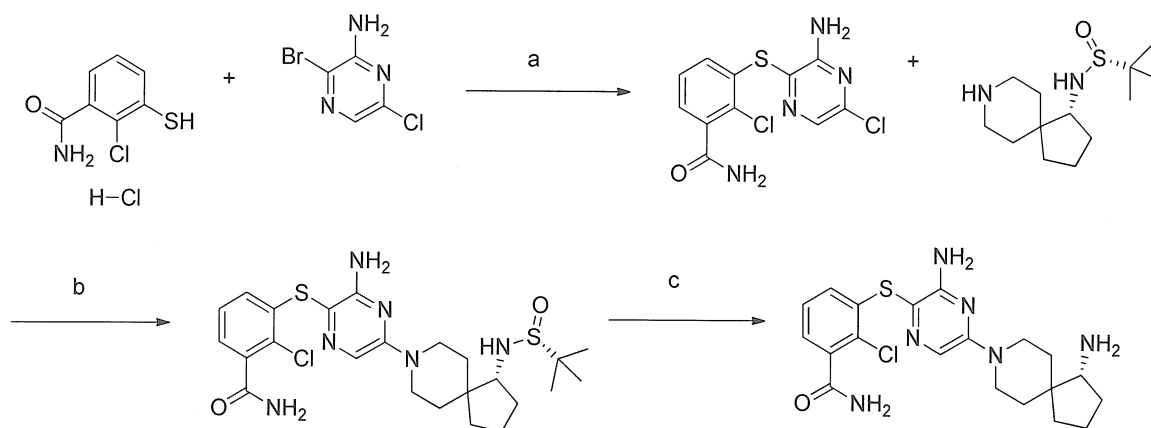
Bước g: Thêm Pd₂(dba)₃ (31,4mg, 0,034mmol), (9,9-dimethyl-9*H*-xanthen-4,5-diyl)bis(diphenylphosphin) (39,7mg, 0,069mmol), 2-(triflometyl)pyridin-3-thiol (67,7mg, 0,378mmol), và *N,N*-diisopropyletylamin (0,120mL, 0,687mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-iodopyridin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (177mg, 0,343mmol) trong dioxan (10mL). Làm nóng hỗn hợp tạo thành đến 120°C trong 2h, sau đó làm nguội đến RT. Pha loãng hỗn hợp phản ứng tạo thành bằng etyl axetat và lọc qua miếng đệm Xelit ngắn. Cô đặc phần dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silica (gradient etyl axetat/heptan 0 đến 50%, chứa 0,25% triethylamin) để tạo ra (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyridin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (115mg, 0,203mmol). MS *m/z* 567,2 (M+H)⁺.

Bước h: Thêm axit trifloaxetic (2ml, 26mmol) vào dung dịch chứa (*R*)-*tert*-butyl (8-(6-amino-3-carbamoyl-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyridin-2-yl)-8-

azaspiro[4.5]decan-1-yl)carbamate (110mL, 0,194mmol) trong diclometan (2ml) và khuấy hỗn hợp tạo thành ở RT trong 1h. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế phần cặn bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien: 35 đến 60% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM) để tạo ra (*R*)-6-amino-2-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)nicotinamit (40mg, 0,084Mmol). ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,38 (dd, $J=4,1, 1,9$ Hz, 1 H), 7,93 (s, 1 H), 7,56-7,31 (m, 2 H), 3,77-3,55 (m, 2 H), 3,16-2,98 (m, 2 H), 2,82 (t, $J=7,4$ Hz, 1 H), 2,03 (m, 1 H), 1,94-1,60 (m, 5 H), 1,60-1,20 (m, 4 H). ^{19}F NMR (376MHz, Metanol- d_4) δ -66,48. HRMS được tính cho $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{F}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 467,1841, được phát hiện 467,1837. IC_{50} là 0,118 μM .

Ví dụ 40

(*R*)-3-((3-amino-5-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit



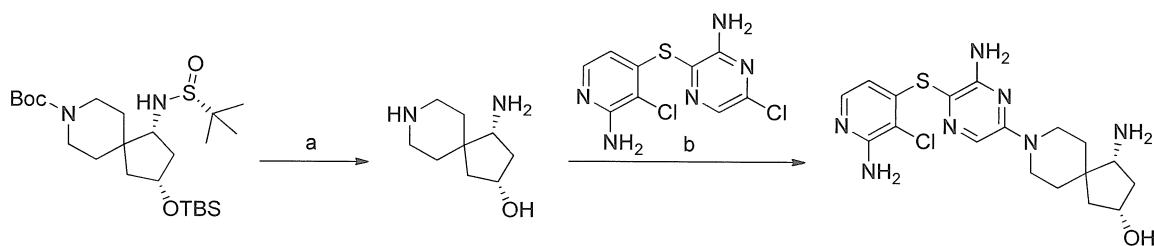
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm 2-clo-3-mercaptobenzamit (muối HCl, 145mg, 0,647mmol), 3-bromo-6-clopyrazin-2-amin (299mg, 1,436Mmol), đồng (I) iodua (49,3mg, 0,259mmol), kali phosphat (412Mg, 1,941Mmol), và 1,10-phenanthrolin (58,3mg, 0,324Mmol) trong dioxan (5mL, đã khử khí) trong lò phản ứng vi sóng trong 4h ở 130°C. Sau khi làm nguội đến RT, lọc phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa EtOAc (50mL). Cô đặc các dịch lọc kết hợp và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien EtOAc/heptan 0 đến 100%) để thu được 3-((3-amino-5-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit (140mg, 0,444mmol). MS m/z 315,0 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm 3-((3-amino-5-clopyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit (130mg, 0,412mmol) và (*R*)-2-metyl-*N*-((*R*)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (139mg, 0,536mmol) trong DIPEA (0,648mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 14h ở 95°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien MeOH/DCM chứa 0,25% TEA 0 đến 100%) để thu được 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit (65mg, 0,121mmol). MS m/z 537,2 ($M+H$)⁺.

Bước c: Hòa tan 3-((3-amino-5-((*R*)-1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit (65mg, 0,121mmol) trong HCl/dioxan (4M, 0,121mL, 0,484mmol) và khuấy ở 22°C đến khi không còn vật liệu ban đầu (1h, theo dõi bằng LCMS). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien: 25 đến 50% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM), để tạo ra *R*-3-((3-amino-5-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-2-clobenzamit (25,5mg, 0,058mmol). ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,90 (s, 1 H), 7,63 (s, 1 H), 7,62 (br, s, 1 H), 7,28-7,18 (m, 1 H), 7,18-7,09 (m, 1 H), 6,64 (dd, *J*=1,6, 7,9 Hz, 1 H), 6,08 (s, 2 H), 4,18-4,07 (m, 2 H), 3,12-2,95 (m, 2 H), 2,74-2,64 (m, 1 H), 1,91-1,73 (m, 2 H), 1,66-1,47 (m, 4 H), 1,39-1,14 (m, 4 H). HRMS được tính cho C₂₀H₂₆ClN₆OS ($M+H$)⁺ 433,1577, được phát hiện 433,1598; IC₅₀ là 0,016μM.

Ví dụ 41

(2*R*,4*R*)-4-amino-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-2-ol



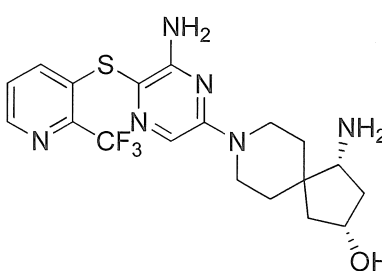
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*R*)-*tert*-butyl 3-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (100mg, 0,205mmol) và HCl (4M trong dioxan, 510μL, 2,05mmol) trong MeOH (1mL) trong

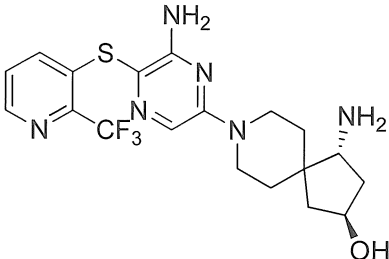
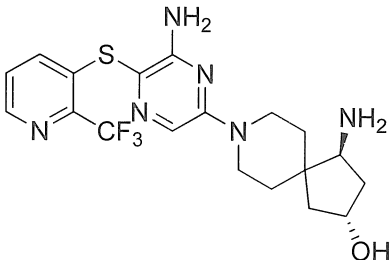
1h ở 40°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và làm khô phần cặn màu trắng tạo thành trong điều kiện chân không trong 1h. MS m/z 171,1 (M+H)⁺.

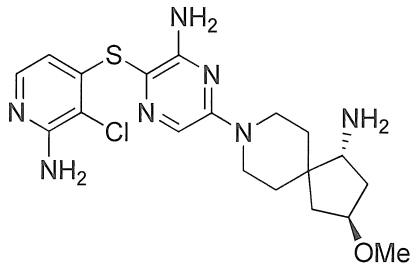
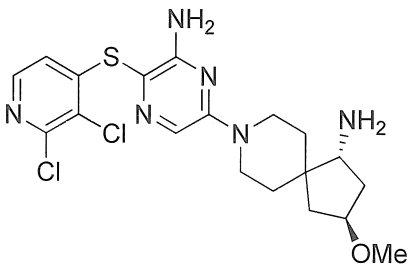
Bước b: Khuấy mạnh hỗn hợp gồm phần cặn này và 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (65mg, 0,226mmol) trong DIPEA:NMP (2:1; 1,5mL) trong 40h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần thô tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 7,5-20% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế tiếp phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (2*R*,4*R*)-4-amino-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-2-ol (44mg, 0,102mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,51-7,64 (m, 2 H), 5,92 (d, *J*=5,56 Hz, 1 H), 4,16-4,39 (m, 3 H), 3,00-3,21 (m, 2 H), 2,80 (dd, *J*=8,08, 7,07Hz, 1 H), 2,33 (dt, *J*=13,45, 6,79 Hz, 1 H), 1,95 (dd, *J*=13,89, 7,58 Hz, 1 H), 1,83 (dd, *J*=14,02, 4,17 Hz, 1 H), 1,61-1,74 (m, 3 H), 1,56 (ddd, *J*=13,39, 8,08, 5,81 Hz, 1 H), 1,30 (d, *J*=13,14 Hz, 1 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₅ClN₇OS (M+H)⁺ 422,1557, được phát hiện 422,1569. IC₅₀ là 0,007μM.

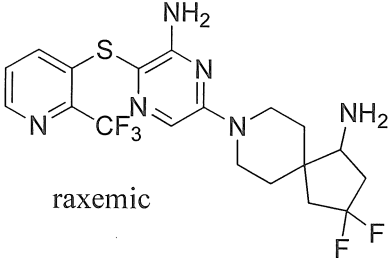
Các hợp chất sau của bảng 9 được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng amin được bảo vệ và chất trung gian clo-pyrazin tương ứng.

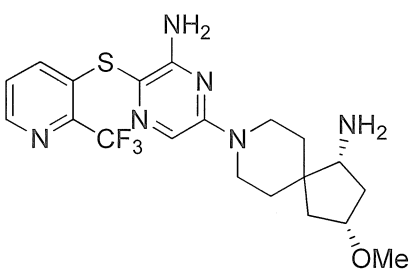
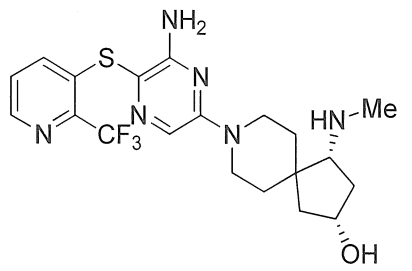
Bảng 9

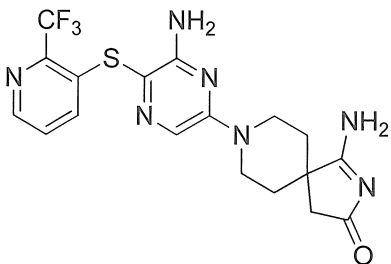
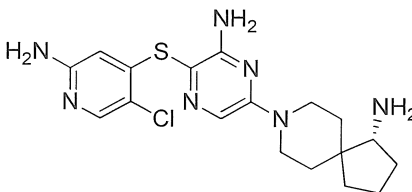
Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
42		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,39 (dd, <i>J</i> =4,42, 1,39 Hz, 1 H), 7,59 (s, 1 H), 7,22-7,50 (m, 2 H), 4,20-4,38 (m, 3 H), 2,97-3,22 (m, 2 H), 2,84 (t, <i>J</i> =7,45 Hz, 1 H), 2,34 (dt, <i>J</i> =13,39, 6,69 Hz, 1 H), 1,89-2,07 (m, 1 H), 1,78-	0,007

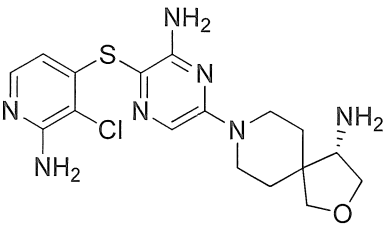
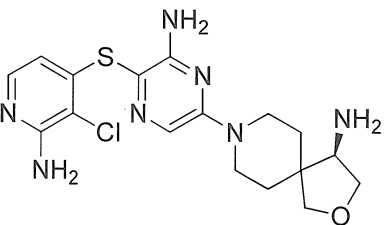
		1,89 (m, 1 H), 1,51-1,75 (m, 4 H), 1,32 (d, $J=12,88$ Hz, 1 H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ ppm -66,48. HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 441,1684, được phát hiện 441,1657.	
43		^1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8,34-8,47 (m, 1 H), 7,59 (s, 1 H), 7,32-7,49 (m, 2 H), 4,34 (td, $J=6,69, 3,28$ Hz, 3 H), 2,96-3,18 (m, 3 H), 2,28 (dd, $J=14,15, 7,07$ Hz, 1 H), 1,99 (ddd, $J=13,58, 6,88, 2,53$ Hz, 1 H), 1,68-1,87(m, 2 H), 1,52-1,62 (m, 2 H), 1,49 (dd, $J=13,26, 2,15$ Hz, 1 H), 1,24-1,41 (m, 1 H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ ppm -66,48. HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 441,1684, được phát hiện 441,1651.	0,006
44		^1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8,39 (dd, $J=4,42, 1,39$ Hz, 1 H), 7,59 (s, 1 H), 7,30-7,50 (m, 2 H), 4,15-4,42 (m, 3 H), 2,98-3,21 (m, 2 H), 2,83 (t, $J=7,45$ Hz, 1	0,135

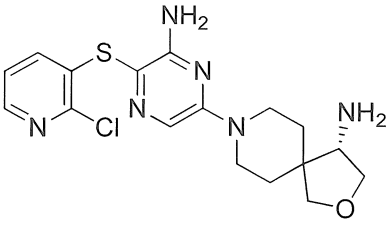
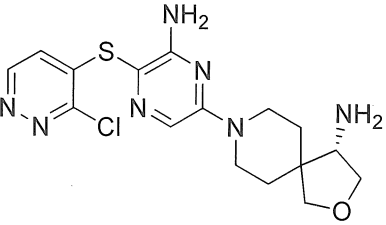
		H), 2,34 (dt, $J=13,45$, 6,79 Hz, 1 H), 1,89-2,04 (m, 1 H), 1,76-1,89 (m, 1 H), 1,51-1,76 (m, 4 H), 1,32 (d, $J=12,88$ Hz, 1 H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL-d_4) δ ppm -66,48. HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{F}_3\text{N}_6\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 441,1684, được phát hiện 441,1721.	
45		^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,48-7,67 (m, 2 H), 5,92 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H), 4,21-4,38 (m, 2 H), 3,92 (dt, $J=7,07$, 3,54 Hz, 1 H), 3,28 (s, 3 H), 2,94-3,18 (m, 3 H), 2,25 (dd, $J=14,02$, 7,20 Hz, 1 H), 2,07 (ddd, $J=13,77$, 6,95, 2,53 Hz, 1 H), 1,68-1,83 (m, 2 H), 1,51-1,68 (m, 2 H), 1,42 (dd, $J=13,14$, 2,27 Hz, 1 H), 1,28-1,38 (m, 1 H), 1,08-1,20 (m, 2 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 436,1686, được phát hiện 436,1666.	0,044
46		^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,99 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 6,61 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 4,24-4,42 (m, 2 H), 3,92 (tt, $J=6,88$,	0,038

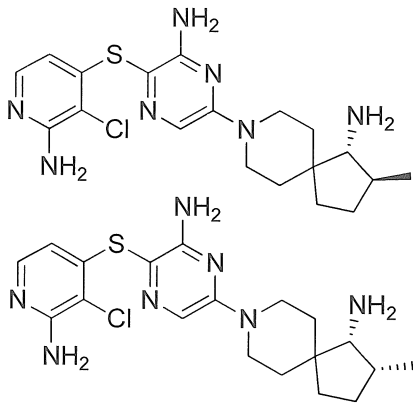
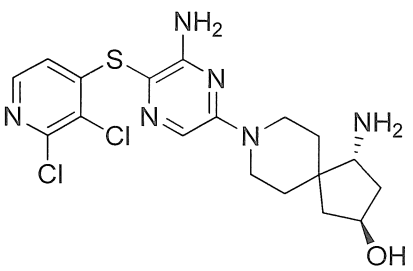
		3,35 Hz, 1 H), 3,28 (s, 3 H), 3,03-3,18 (m, 2 H), 3,00 (dd, $J=8,72, 7,20$ Hz, 1 H), 2,25 (dd, $J=14,15, 7,33$ Hz, 1 H), 2,08 (ddd, $J=13,83, 6,88, 2,53$ Hz, 1 H), 1,68-1,82 (m, 2 H), 1,51-1,68 (m, 2 H), 1,44 (dd, $J=13,14, 2,27$ Hz, 1 H), 1,29-1,40 (m, 1 H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{25}Cl_2N_6OS$ $(M+H)^+$ 455,1188, được phát hiện 455,1166.	
47	 raxemic	1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8,39 (dd, $J=4,29, 1,26$ Hz, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 7,30-7,51 (m, 2 H), 4,20-4,44 (m, 2 H), 2,94-3,20 (m, 3 H), 2,35-2,61 (m, 2 H), 1,94-2,20 (m, 2 H), 1,81 (td, $J=12,69, 4,17$ Hz, 1 H), 1,69 (td, $J=12,69, 3,92$ Hz, 1 H), 1,48-1,59 (m, 1 H), 1,44 (dd, $J=13,39, 2,27$ Hz, 1 H), ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ ppm -66,46, -84,76, -85,11. HRMS được tính cho $C_{19}H_{22}F_5N_6S$ $(M+H)^+$ 461,1547, được phát hiện 461,1548.	0,021

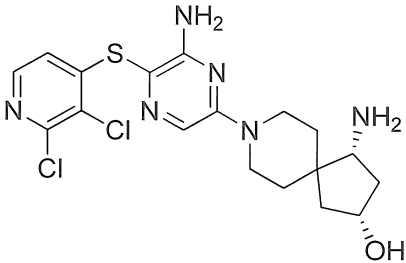
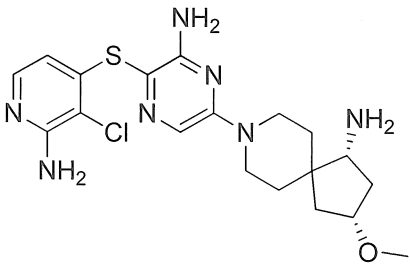
48		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,38 (dd, <i>J</i> =4,29, 1,26 Hz, 1 H), 7,54-7,63 (m, 1 H), 7,31-7,49 (m, 2 H), 4,15-4,38 (m, 2 H), 3,81-3,96 (m, 1 H), 3,27-3,29 (m, 3 H), 3,02-3,19 (m, 2 H), 2,82 (t, <i>J</i> =7,58 Hz, 1 H), 2,34 (dt, <i>J</i> =13,71, 6,92 Hz, 1 H), 1,93-2,06 (m, 1 H), 1,75-1,93 (m, 1 H), 1,50-1,75 (m, 4 H), 1,24-1,39 (m, 1 H). ¹⁹ F NMR (376MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm -66,43. HRMS được tính cho C ₂₀ H ₂₆ F ₃ N ₆ OS (M+H) ⁺ 455,1841, được phát hiện 455,1801.	0,009
49		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,38 (dd, <i>J</i> =4,29, 1,26 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,35-7,46 (m, 2 H), 4,21-4,40 (m, 3 H), 2,97-3,17 (m, 2 H), 2,56 (dd, <i>J</i> =9,22, 6,44 Hz, 1 H), 2,34-2,46 (m, 4 H), 1,91-2,05 (m, 1 H), 1,74-1,91 (m, 2 H), 1,68 (dd, <i>J</i> =7,83, 3,79 Hz, 2 H), 1,56 (ddd, <i>J</i> =12,82, 9,16, 6,57 Hz, 1 H), 1,34 (d, <i>J</i> =13,39 Hz, 1 H). ¹⁹ F NMR (376MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm -66,46. HRMS được tính	0,234

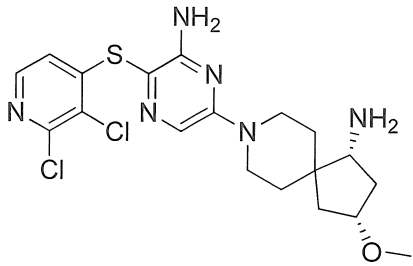
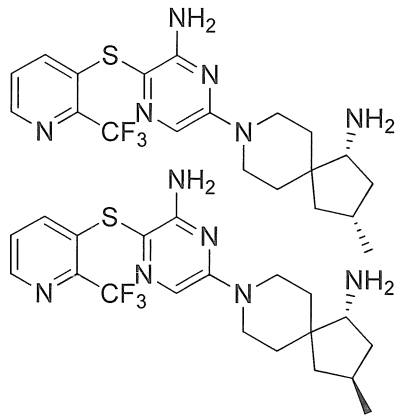
		cho $C_{20}H_{26}F_3N_6OS$ $(M+H)^+$ 455,1841, được phát hiện 455,1861.	
50		1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,47 (dd, $J=4,4$, 1,4 Hz, 1 H), 8,43 (s, 1 H), 8,03 (s, 1 H), 7,70 (s, 1 H), 7,56 (dd, $J=8,2$, 4,6 Hz, 1 H), 7,31 (d, $J=8,1$ Hz, 1 H), 6,23 (s, 2 H), 4,44 (d, $J=13,5$ Hz, 2 H), 2,97-2,80 (m, 2 H), 2,46 (s, 2 H), 1,94 (td, $J=13,1$, 4,3 Hz, 2 H), 1,48 (d, $J=12,6$ Hz, 2H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{19}F_3N_7OS$ $(M+H)^+$ 438,1318, được phát hiện 438,1418.	0,610
51		1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,76 (s, 1 H), 7,60 (s, 1 H), 5,90 (s, 1 H), 4,27 (t, $J=13,01$ Hz, 2 H), 3,08-3,21 (m, 2 H), 2,83 (t, $J=7,45$ Hz, 1 H), 1,99-2,11 (m, 1 H), 1,29-1,96 (m, 9 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{25}ClN_7S$ $(M+H)^+$ 406,1581, được phát hiện 406,1595.	0,010

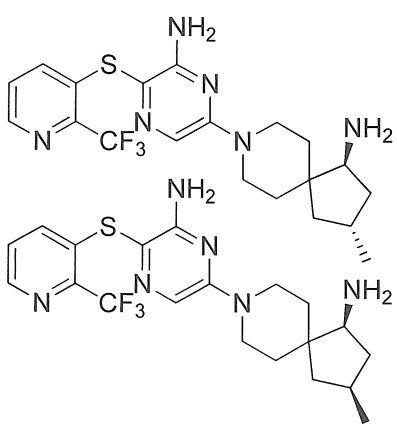
52		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ 7,64-7,59 (m, 2 H), 6,14 (dd, <i>J</i> =6,5, 2,2 Hz, 1 H), 4,36-4,21 (m, 2 H), 4,18 (dd, <i>J</i> =10,6, 5,6 Hz, 1 H), 3,97 (d, <i>J</i> =9,2 Hz, 1 H), 3,90 (d, <i>J</i> =9,2 Hz, 1 H), 3,84 (dd, <i>J</i> =10,7, 2,8 Hz, 1 H), 3,58 (dd, <i>J</i> =5,6, 2,8 Hz, 1 H), 3,28-3,11 (m, 2 H), 1,85-1,71 (m, 4 H). HRMS được tính cho C ₁₇ H ₂₃ ClN ₇ OS (M+H) ⁺ 408,1373, được phát hiện 408,1475.	0,007
53		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ 7,65-7,57 (m, 2 H), 6,14 (dd, <i>J</i> =6,5, 2,2 Hz, 1 H), 4,34-4,21 (m, 2 H), 4,18 (dd, <i>J</i> =10,6, 5,6 Hz, 1 H), 3,97 (d, <i>J</i> =9,2 Hz, 1 H), 3,90 (d, <i>J</i> =9,2 Hz, 1 H), 3,84 (dd, <i>J</i> =10,7, 2,8 Hz, 1 H), 3,58 (dd, <i>J</i> =5,6, 2,8 Hz, 1 H), 3,27-3,09 (m, 2 H), 1,85-1,71 (m, 4 H). HRMS được tính cho C ₁₇ H ₂₃ ClN ₇ OS (M+H) ⁺ 408,1373, được phát hiện 408,1474.	0,298

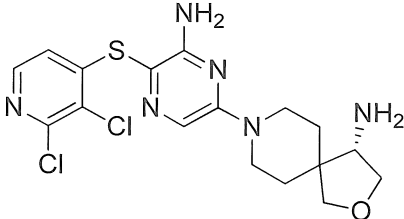
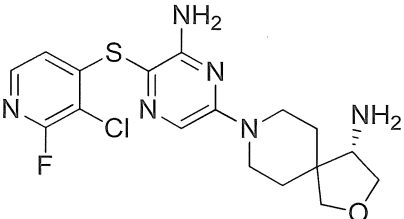
54		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ 8,10 (dd, <i>J</i> =4,7, 1,8 Hz, 1 H), 7,58 (s, 1 H), 7,21 (dd, <i>J</i> =7,9, 4,7 Hz, 1 H), 7,11 (dd, <i>J</i> =7,9, 1,7 Hz, 1 H), 4,22-4,07 (m, 3 H), 3,86 (d, <i>J</i> =8,6 Hz, 1 H), 3,79 (d, <i>J</i> =8,7 Hz, 1 H), 3,50 (dd, <i>J</i> =9,0, 5,2 Hz, 1 H), 3,28-3,11 (m, 3 H), 1,82-1,65 (m, 2 H), 1,65-1,50 (m, 2 H). HRMS được tính cho C ₁₇ H ₂₂ ClN ₆ OS (M+H) ⁺ 393,1264, được phát hiện 393,1278.	0,010
55		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ 8,86 (d, <i>J</i> =5,3 Hz, 1 H), 7,68 (s, 1 H), 6,83 (d, <i>J</i> =5,4 Hz, 1 H), 6,34 (s, 2 H), 4,11-3,90 (m, 3 H), 3,65 (dd, <i>J</i> =46,4, 8,4 Hz, 2 H), 3,27-3,16 (m, 3 H), 3,05 (t, <i>J</i> =6,2 Hz, 1 H), 1,73-1,49 (m, 3 H), 1,47-1,35 (m, 2 H). HRMS được tính cho C ₁₆ H ₂₁ ClN ₇ OS (M+H) ⁺ 394,1217, được phát hiện 394,0713.	0,073

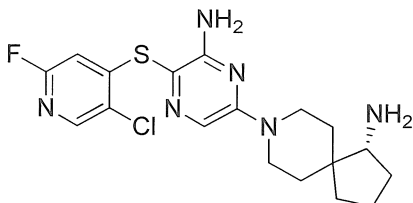
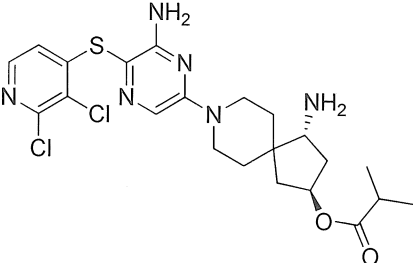
56	 Hỗn hợp chất đồng phân không đối quang 2:1	<i>Chất đồng phân không đối quang chính:</i> ^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7,68-7,48 (m, 2 H), 5,92 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 4,21-4,04 (m, 2 H), 3,28-3,10 (m, 2 H), 2,79 (d, $J=5,9$ Hz, 1 H), 2,44-2,23 (m, 1 H), 1,94-1,40 (m, 8 H), 1,01 (d, $J=7,0$ Hz, 3 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 420,1737, được phát hiện 420,1748. <i>Chất đồng phân không đối quang phụ:</i> ^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ 7,66-7,49 (m, 2 H), 5,92 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 4,36 (t, $J=12,0$ Hz, 2 H), 3,16-2,90 (m, 2 H), 2,17 (d, $J=10,0$ Hz, 1 H), 1,94-1,53 (m, 6 H), 1,37-1,27 (m, 3 H), 1,08 (d, $J=6,5$ Hz, 3 H). HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 420,1737, được phát hiện 420,1748.	0,009
57		^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,99 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H), 7,61 (s, 1 H), 6,61 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 4,36 (dt, $J=6,63, 3,38$ Hz, 3 H), 2,99-3,19 (m, 3 H), 2,28 (dd, $J=14,02, 6,95$ Hz, 1 H), 1,95-	0,003

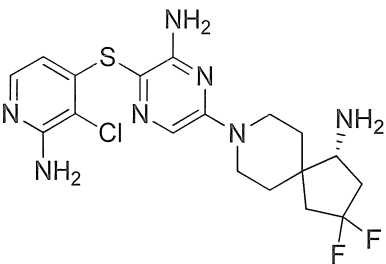
		2,08 (m, 1 H), 1,72-1,90 (m, 2 H), 1,44-1,68 (m, 3 H), 1,36 (d, $J=11,12$ Hz, 1 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{23}Cl_2N_6OS$ (M+H) ⁺ 441,1031, được phát hiện 441,0937.	
58		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,99 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 7,61 (s, 1 H), 6,61 (d, $J=5,31$ Hz, 1 H), 4,23-4,39 (m, 3 H), 3,01-3,22 (m, 2 H), 2,85 (t, $J=7,33$ Hz, 1 H), 2,34 (dt, $J=13,39$, 6,69 Hz, 1 H), 1,97 (dd, $J=14,15$, 7,33 Hz, 1 H), 1,85 (dd, $J=14,02$, 3,92 Hz, 1 H), 1,50-1,74 (m, 4 H), 1,33 (d, $J=13,64$ Hz, 1 H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{23}Cl_2N_6OS$ 441,1031 (M+H) ⁺ , được phát hiện 441,1020.	0,004
59		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,51-7,64 (m, 2 H) 5,91 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H) 4,19-4,37 (m, 2 H) 3,83-3,96 (m, 1 H) 3,28 (s, 3 H) 3,01-3,20 (m, 2 H) 2,80 (t, $J=7,58$ Hz, 1 H) 2,34 (dt, $J=13,71$, 6,92 Hz, 1 H) 1,94-2,04 (m, 1 H) 1,78-1,90 (m, 1	0,010

		H) 1,53-1,75 (m, 4 H) 1,30 (d, $J=13,39$ Hz, 1 H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 436,1686, được phát hiện 436,1663.	
60		1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,51-7,64 (m, 2 H) 5,91 (d, $J=5,56$ Hz, 1 H) 4,19-4,37 (m, 2 H) 3,83-3,96 (m, 1 H) 3,28 (s, 3 H) 3,01-3,20 (m, 2 H) 2,80 (t, $J=7,58$ Hz, 1 H) 2,34 (dt, $J=13,71, 6,92$ Hz, 1 H) 1,94-2,04 (m, 1 H) 1,78-1,90 (m, 1 H) 1,53-1,75 (m, 4 H) 1,30 (d, $J=13,39$ Hz, 1 H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 436,1188, được phát hiện 455,1234.	0,004
61		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: ADH 21 x 250 mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: IPA 30% và NH_4OH 5mM trong CO_2 , quá trình dò: 260nm UV có được hai đỉnh R_t (Đỉnh 1)= 3,5min. NMR là hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang (như được mô tả). Chất đồng phân không đối quang chính: 1H NMR (400 MHz,	0,007

		METANOL-d_4) δ ppm 8,38 (dd, $J=4,42$, 1,39 Hz, 1 H), 7,51-7,66 (m, 1 H), 7,33-7,48 (m, 2 H), 4,14-4,38 (m, 2 H), 2,95-3,21 (m, 2 H), 2,72-2,95 (m, 1 H), 2,19-2,34 (m, 1 H), 1,86-2,19 (m, 1 H), 1,52-1,81 (m, 3 H), 1,24-1,48 (m, 3 H), 0,93-1,20 (m, 4 H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 439,1892, được phát hiện 439,1897.	
62		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau; cột: ADH 21 x 250 mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: IPA 30% và NH_4OH 5mM trong CO_2, quá trình dò: 260nm UV có được hai đỉnh R_t(Đỉnh 2)= 4,5min. NMR là hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang (như đã mô tả). Chất đồng phân không đối quang chính: 1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8,38 (dd, $J=4,55$, 1,26 Hz, 1 H), 7,54-7,66 (m, 1 H), 7,32-7,49 (m, 2 H), 4,15-4,39 (m, 2 H), 2,98-3,19 (m, 2 H), 2,76-2,98 (m, 1 H), 2,19-2,31 (m, 1 H), 1,91-2,14 (m, 1 H), 1,52-1,81 (m, 3 H), 1,26-1,49 (m, 3 H),	0,100

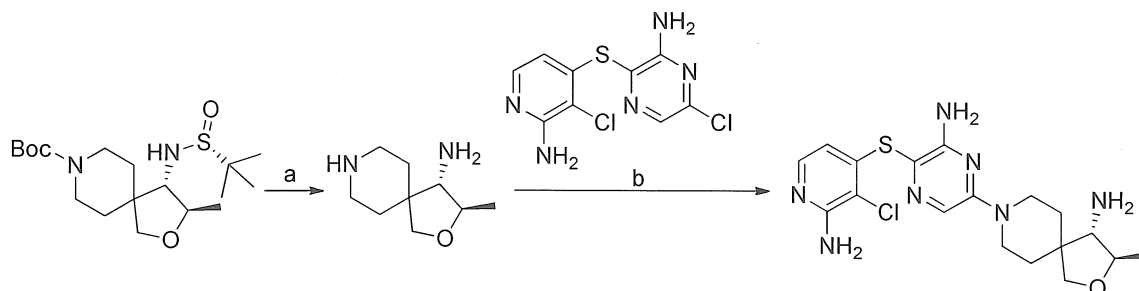
		0,99-1,21 (m, 4 H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 439,1892, được phát hiện 439,1927.	
63		1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,10 (d, $J=5,3$ Hz, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 6,52-6,62 (m, 1 H), 6,32 (br, s, 2 H), 3,97-4,11 (m, 2 H), 3,95 (dd, $J=8,5$, 6,5 Hz, 1 H), 3,71 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H), 3,59 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H), 3,29 (dd, $J=8,5$, 5,8 Hz, 1 H), 3,15-3,25 (m, 2 H), 3,04 (t, $J=6,1$ Hz, 1 H), 1,51-1,70 (m, 4 H), 1,35-1,46 (m, 2 H). HRMS được tính cho $C_{17}H_{21}Cl_2N_6OS$ $(M+H)^+$ 427,3513, được phát hiện 427,0852.	0,007
64		1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 7,93 (d, $J=5,0$ Hz, 1 H), 7,67 (s, 1 H), 6,52 (d, $J=5,5$ Hz, 1 H), 6,32 (s, 2 H), 3,97-4,10 (m, 2 H), 3,95 (dd, $J=8,5$, 6,8 Hz, 1 H), 3,71 (d, $J=8,5$ Hz, 1 H), 3,60 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H), 3,30 (dd, $J=8,5$, 5,8 Hz, 1 H), 3,20 (ddd, $J=13,4$, 10,5, 3,0 Hz, 2 H), 3,05 (t, $J=6,1$ Hz, 1 H), 1,52-1,70 (m, 2 H), 1,41 (td, $J=8,8$, 4,6 Hz, 2 H). HRMS được tính cho $C_{17}H_{21}ClFN_6OS$	0,013

		(M+H) ⁺ 411,1170, được phát hiện 411,1165.	
65		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,09 (s, 1 H), 7,62 (s, 1 H), 6,21 (d, <i>J</i> =1,8 Hz, 1 H), 4,30 (t, <i>J</i> =13,5 Hz, 2 H), 3,22-3,07 (m, 2 H), 2,82 (br s, 1 H), 2,09-1,98 (m, 1 H), 1,95-1,86 (m, 1 H), 1,83-1,55 (m, 5 H), 1,52-1,28 (m, 3 H). HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₃ ClFN ₆ S (M+H) ⁺ 409,1377, được phát hiện 409,1369.	0,310
66		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,99 (d, <i>J</i> =5,52 Hz, 1 H), 7,61 (s, 1 H), 6,61 (d, <i>J</i> =5,27 Hz, 1 H), 5,19 (td, <i>J</i> =6,84, 3,39 Hz, 1 H), 4,20-4,44 (m, 2 H), 2,96-3,19 (m, 3 H), 2,52 (quin, <i>J</i> =6,96 Hz, 1 H), 2,38 (dd, <i>J</i> =14,56, 7,28 Hz, 1 H), 1,98-2,11 (m, 1 H), 1,86-1,98 (m, 1 H), 1,72-1,86 (m, 1 H), 1,54-1,72 (m, 2 H), 1,33-1,51 (m, 2 H), 1,05-1,18 (m, 6 H). HRMS được tính cho C ₂₂ H ₂₉ Cl ₂ N ₆ O ₂ S (M+H) ⁺ 511,1450, được phát hiện 511,1453.	0,065

67		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,53-7,64 (m, 2 H), 5,91 (d, <i>J</i> =5,56 Hz, 1 H), 4,24-4,43 (m, 2 H), 2,95-3,18 (m, 3 H), 2,36-2,61 (m, 2 H), 1,95-2,19 (m, 2 H), 1,81 (td, <i>J</i> =12,76, 4,29 Hz, 1 H), 1,69 (td, <i>J</i> =12,69, 3,92 Hz, 1 H), 1,54 (dd, <i>J</i> =13,26, 2,15 Hz, 1 H), 1,43 (dd, <i>J</i> =13,39, 2,53 Hz, 1 H). ¹⁹ F NMR (376MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm -84,69, -85,07. HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₃ ClF ₂ N ₇ O ₂ S (M+H) ⁺ 442,1392, được phát hiện 442,1443.	0,010
----	---	---	-------

Ví dụ 68

(3*R*,4*S*)-8-((6-amino-5-((2-amino-3-chloropyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin



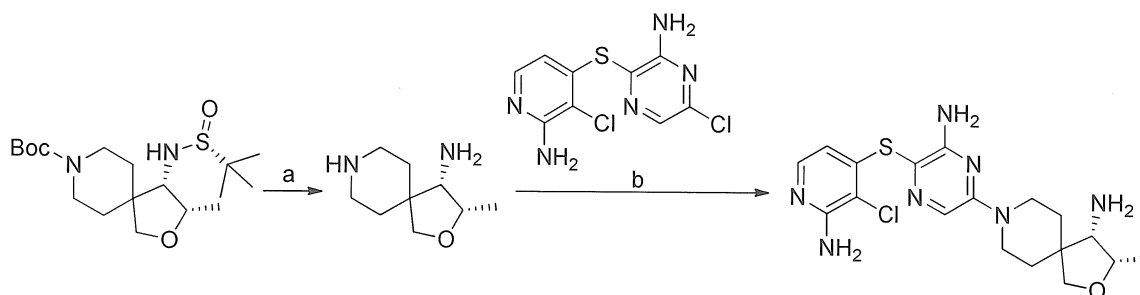
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm (3*R*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimethylethylsulfonamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (53mg, 0,142mmol) và HCl (4M trong dioxan, 354μL, 1,415mmol) trong MeOH (5mL) trong 1h ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất

giảm để tạo ra (3*R*,4*S*)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 171,1 ($M+H$)⁺.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (3*R*,4*S*)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin crude, 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (35,5mg, 0,123mmol), và DIPEA (193μL, 1,11mmol) trong DMSO (600μL) trong 16h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (3*R*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (13mg, 0,030mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,72-7,51 (m, 2 H), 5,92 (d, *J*=5,5 Hz, 1 H), 4,31 (m, 2 H), 4,01-3,78 (m, 2 H), 3,58 (dq, *J*=8,1, 6,0 Hz, 1 H), 3,04 (m, 2 H), 2,48 (d, *J*=8,1 Hz, 1 H), 1,75 (m, 2 H), 1,61-1,47 (m, 2 H), 1,31 (d, *J*=6,1 Hz, 3 H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₅ClN₇OS ($M+H$)⁺ 422,1530, được phát hiện 422,1505. IC₅₀ là 0,010μM.

Ví dụ 69

(3*S*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin



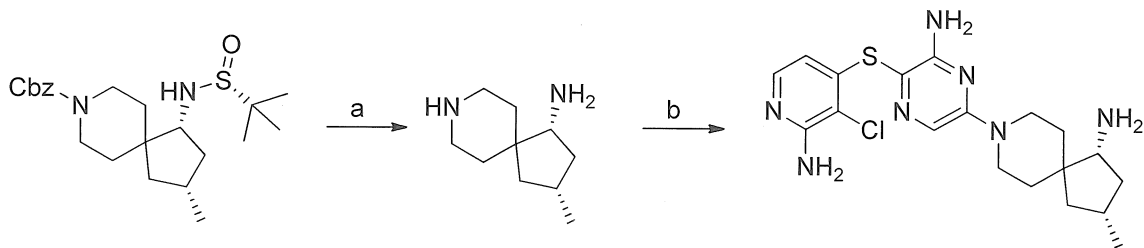
Bước a: Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm (3*S*,4*S*)-*tert*-butyl 4-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (51mg, 0,36mmol) và HCl (4M trong dioxan, 340μL, 1,362mmol) trong MeOH (5mL) trong 1h ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (3*S*,4*S*)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 171,1 ($M+H$)⁺.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (3*S*,4*S*)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin thô, 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (35,5mg,

0,123mmol), và DIPEA (193 μ L, 1,11mmol) trong DMSO (600 μ L) trong 16h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (3*S*,4*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-2-oxa-8-azaspiro[4.5]decan-4-amin (11mg, 0,026mmol). ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,67-7,47 (m, 2H), 5,91 (d, *J*=5,5Hz, 1H), 4,22 (qd, *J*=6,4, 4,8Hz, 1H), 4,03 (ddt, *J*=13,5, 8,9, 4,7Hz, 2H), 3,86 (d, *J*=8,7Hz, 1H), 3,71 (d, *J*=8,7Hz, 1H), 3,37 (td, *J*=9,9, 4,9Hz, 1H), 3,29-3,23 (m, 1H), 3,00 (d, *J*=5,0Hz, 1H) 1,91-1,56 (m, 4H), 1,21 (d, *J*=6,4Hz, 3H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₅ClN₇OS (M+H)⁺ 422,1530, được phát hiện 422,1514. IC₅₀ là 0,010 μ M.

Ví dụ 70

(1*R*,3*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



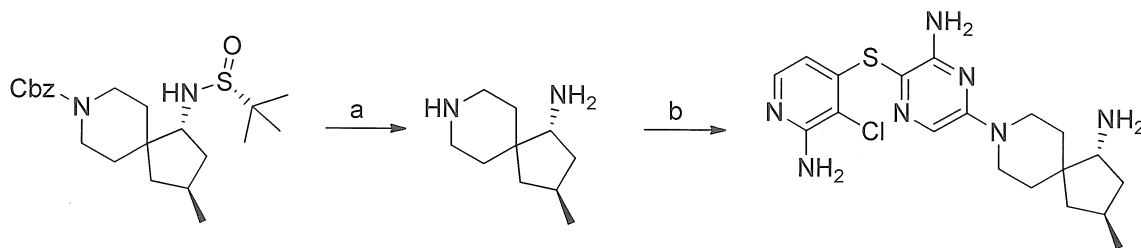
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*R*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (100mg, 0,246mmol) và HCl (4M trong dioxan, 1,5mL, 6,5mmol) trong MeOH (1,5mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 14h ở 140°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (1*R*,3*R*)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS *m/z* 169,2 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*R*)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin thô (thoer 0,246mmol) và 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (70,9mg, 0,246mmol) trong DIPEA (1mL) và DMSO (0,5mL) trong 2h ở 130°C. Sau

khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH_4OH 5mM) để tạo ra (1*R*,3*R*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (23mg, 0,055mmol). ^1H NMR (400MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,51-7,64 (m, 2H), 5,91 (d, $J=5,31\text{Hz}$, 1H), 4,18-4,37 (m, 2H), 3,02-3,18 (m, 2H), 2,82 (dd, $J=9,60, 6,32\text{Hz}$, 1H), 2,09-2,20 (m, 1H), 2,00-2,09 (m, 1H), 1,91-2,00 (m, 1H), 1,58-1,74 (m, 2H), 1,24-1,48 (m, 3H), 1,09-1,20 (m, 1H), 1,01-1,09 (m, 3H). HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{ClN}_7\text{S}$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 420,1737, được phát hiện 420,1719. IC_{50} là 0,005 μM .

Ví dụ 71

(1*R*,3*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin

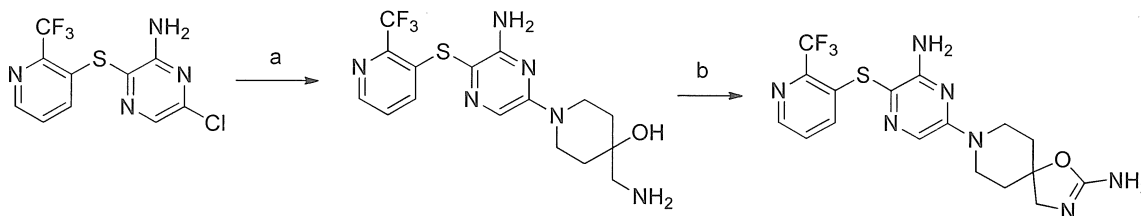


Bước a: Khuấy mạnh huyền phù (1*R*,3*S*)-benzyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfonamido)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (600mg, 1,476mmol) và $\text{Pd}(\text{OH})_2$ (104mg, 0,148mmol) trong EtOAc:THF (1:2, 75mL) trong điều kiện khí quyển H_2 trong 48h. Lọc hỗn hợp phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa bằng MeOH (50mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Khuấy dung dịch chứa phần cặn tạo thành và HCl (4M trong dioxan, 1,0mL, 4,0mmol) trong 2h ở 45°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Lắc huyền phù của phần cặn tạo thành và Pd/C (10% trong than hoạt tính, 200mg) trong MeOH (20mL) trong 2h trong điều kiện khí quyển H_2 60psi. Lọc hỗn hợp phản ứng qua miếng đệm Xelit sau đó rửa bằng MeOH (50mL). Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để thu được (1*R*,3*S*)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. MS m/z 169,1 $(\text{M}+\text{H})^+$.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (1*R*,3*S*)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin thô (0,729mmol) và 3-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)-6-clopyrazin-2-amin (150mg, 0,521mmol) trong DIPEA (3,2mL) và DMA (6mL) trong 14h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 10-30% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) để tạo ra chất rắn thô. Chất rắn thô này được tinh chế tiếp bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (1*R*,3*S*)-8-(6-amino-5-((2-amino-3-clopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-3-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (80mg, 0,189mmol). ¹H NMR (400MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,65-7,49 (m, 2H), 5,91 (d, *J*=5,5Hz, 1H), 4,30 (ddt, *J*=12,4, 9,7, 3,6Hz, 2H), 3,34 (s, 1H), 3,19-2,95 (m, 1H), 2,92-2,80 (m, 1H), 2,34-2,16 (m, 2H), 1,85-1,49 (m, 4H), 1,41 (dq, *J*=13,5, 2,7Hz, 1H), 1,30 (dq, *J*=13,5, 2,6Hz, 1H), 1,13-0,92 (m, 4H). HRMS được tính cho C₁₉H₂₇ClN₇S (M+H)⁺ 420,1737, được phát hiện 420,1716. IC₅₀ là 0,005μM.

Ví dụ 72

8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-2-en-2-amin



Bước a: Khuấy dung dịch chứa 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (70mg, 0,304mmol), *tert*-butyl ((4-hydroxypiperidin-4-yl)metyl)carbamát (103mg, 0,336mmol), và DIPEA (2,0mL, 11,45mmol) trong NMP (1mL) trong 3h ở 120°C. Sau khi làm nguội đến RT, pha loãng phản ứng bằng EtOAc, rửa pha hữu cơ bằng nước, nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄, và loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra cặn dầu màu nâu. Hấp thụ cặn này trong DCM (5mL) và thêm HCl (4M trong dioxan; 760μL, 3,04mmol) thành hai phần (một

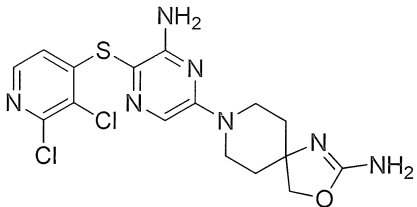
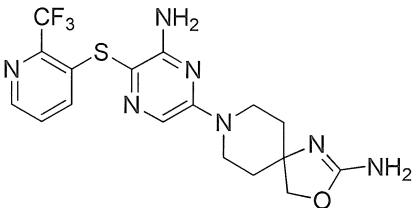
nửa ở lúc bắt đầu phản ứng và nửa còn lại sau 3h). Khuấy phản ứng trong tổng thời gian là 4h. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và nghiền nhỏ phần cặn tạo thành với MeCN để tạo ra chất rắn màu nâu. Phần thô tạo thành được tinh chế tạo huyền phù trong MeOH 5%/DCM và thêm NaHCO₃ chứa nước bão hòa. Tách các lớp tạo thành và chiết lại lớp nước bằng MeOH 5%/DCM. Cô đặc các pha hữu cơ gom được trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 1-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-4-(aminometyl)piperidin-4-ol (65mg, 0,149mmol) dạng chất rắn màu trắng nâu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,47 (dd, *J*=4,6, 1,4Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,55 (dd, *J*=8,3, 4,5Hz, 1H) 7,32 (dd, *J*=8,3, 1,4Hz, 1H), 4,04 (dt, *J*=13,8, 4,2Hz, 2H), 3,38-3,28 (m, 2H), 2,83 (s, 2H), 1,70-1,48 (m, 4H). MS *m/z* 401,2 (M+H)⁺.

Bước b: Tiếp theo xử lý dung dịch chứa 1-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-4-(aminometyl)piperidin-4-ol (65mg, 0,162mmol) trong EtOH (3mL) bằng xyanogen bromua (0,54mL, 1,623mmol) sau đó là NaHCO₃ (68,2mg, 0,812mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 16h ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-1-oxa-3,8-diazaspiro[4.5]dec-2-en-2-amin (12,5Mg, 0,029mmol). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8,46 (dd, *J*=4,5, 1,4Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,55 (dd, *J*=8,3, 4,6Hz, 1H), 7,31 (dd, *J*=8,2, 1,5hz, 1H), 6,22 (s, 2H), 5,78 (s, 2H), 3,94-3,73 (m, 2H), 3,64-3,45 (m, 2H), 3,36 (s, 2H), 1,88-1,56 (m, 4H). HRMS được tính cho C₁₇H₁₉F₃N₇OS (M+H)⁺ 426,1318, được phát hiện 426,1296. IC₅₀ là 0,193μM.

Các hợp chất sau ở bảng 10 được tổng hợp bằng cách sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng amin được bảo vệ và chất trung gian clo-pyrazin tương ứng.

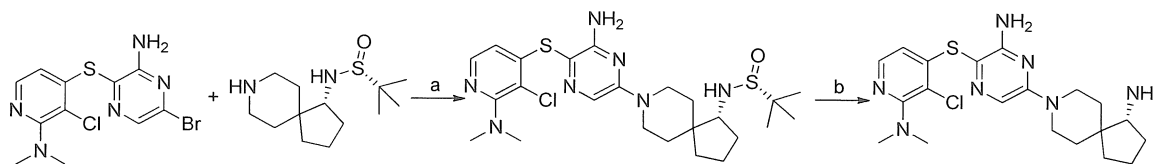
Bảng 10

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
-------	----------	----------------	--------------------------

73		¹ H NMR (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,10 (d, <i>J</i> =5,2 Hz, 1 H), 7,69 (s, 1 H), 6,57 (d, <i>J</i> =5,3 Hz, 1 H), 6,30 (s, 2 H), 4,06 (s, 2 H), 3,79-3,60 (m, 4 H), 1,75-1,52 (m, 4 H). HRMS được tính cho C ₁₆ H ₁₈ Cl ₂ N ₇ OS (M+H) ⁺ 426,0665, được phát hiện 426,0628.	0,020
74		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,40 (dd, <i>J</i> =4,3, 1,7 Hz, 1 H), 7,64 (s, 1 H), 7,52-7,30 (m, 2 H), 4,72 (s, 2 H), 4,00 (dt, <i>J</i> =14,2, 5,1 Hz, 2 H), 3,54 (ddd, <i>J</i> =13,5, 8,7, 3,8 Hz, 2 H), 1,97 (dtq, <i>J</i> =17,6, 8,6, 4,1 Hz, 4 H). HRMS được tính cho C ₁₇ H ₁₉ F ₃ N ₇ OS (M+H) ⁺ 426,1318, được phát hiện 426,1344.	0,056

Ví dụ 75

(R)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-(dimethylamino)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin

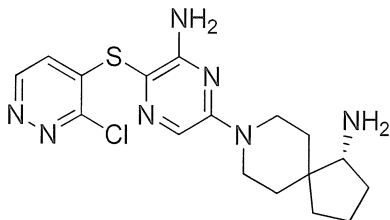
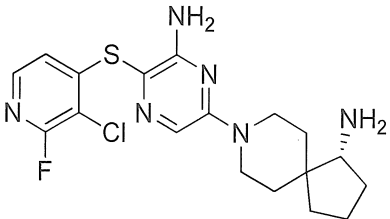
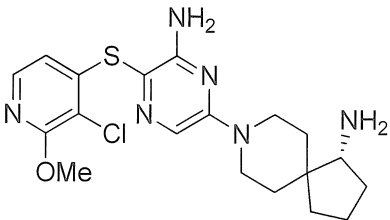


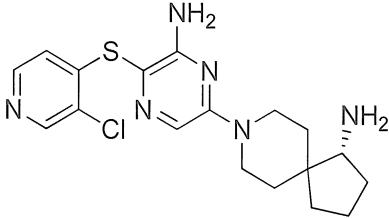
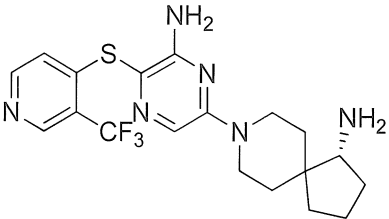
Bước a: Khuấy hỗn hợp gồm 6-bromo-3-((3-clo-2-(dimethylamino)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-amin (124mg, 0,392mmol) và (R)-2-metyl-N-((R)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (111mg, 0,431mmol) trong DIPEA (2,6mL) trong 10h ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc 0 đến 10% (chứa 10% MeOH)/heptan (chứa 25 Et₃N)) để tạo ra (R)-N-((R)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-(dimethylamino)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (75mg, 0,139mmol). MS *m/z* 538,3 (M+H)⁺.

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (R)-N-((R)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-(dimethylamino)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (75mg, 0,139mmol) và HCl (4M trong dioxan, 174μL, 0,697mmol) trong DCM (2mL) trong 30min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradient 35-60% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (R)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-(dimethylamino)pyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (28mg, 0,064mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,85-7,92 (m, 1H), 7,63 (s, 1H), 6,16 (br. s, 2H), 6,04-6,10 (m, 1H), 4,06-4,23 (m, 2H), 2,97-3,15 (m, 2H), 2,87 (s, 6H), 2,64-2,73 (m, 1H), 1,11-1,97 (m, 10H). HRMS được tính cho C₂₀H₂₉ClN₇S (M+H)⁺ 434,1894, được phát hiện 434,1883. IC₅₀ là 0,010μM.

Các hợp chất sau của bảng 11 được tổng hợp sử dụng các quy trình ở trên hoặc các điều chỉnh theo các quy trình ở trên sử dụng amin được bảo vệ và chất trung gian clo-pyrazin tương ứng.

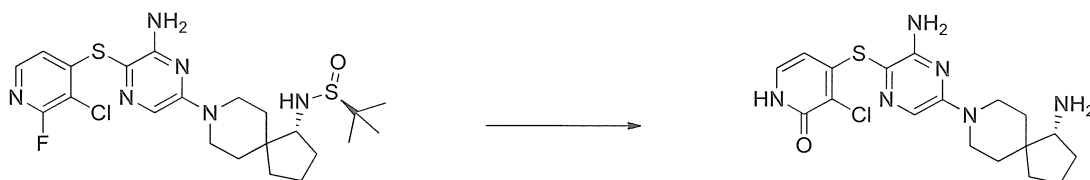
Bảng 11

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μ M)
76		¹ H NMR (400MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 8,79 (d, <i>J</i> =5,3Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 6,76 (d, <i>J</i> =5,5Hz, 1H), 6,24 (s, 2H), 4,09 (m, 2H), 3,00 (m, 3H), 2,65 (t, <i>J</i> =7,4Hz, 1H), 1,76 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,37-1,05 (m, 5H). HRMS được tính cho C ₁₇ H ₂₃ ClN ₇ S (M+H) ⁺ 392,1424, được phát hiện 392,0977.	0,078
77		Muối TFA. ¹ H NMR (400MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 7,94 (d, <i>J</i> =5,3Hz, 1H), 7,79 (br. s., 3H), 7,69 (br. s., 1H), 6,51 (d, <i>J</i> =5,5Hz, 1H), 6,34 (br. s., 2H), 4,12-4,32 (m, 2H), 2,99-3,24 (m, 3H), 2,00-2,12 (m, 1H), 1,30-1,90 (m, 9H). HRMS được tính cho C ₁₈ H ₂₃ ClFN ₆ S (M+H) ⁺ 409,1377, được phát hiện 409,1385.	0,005
78		¹ H NMR (400 MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 7,70-7,87 (m, 1H), 7,52-7,64 (m, 1H), 6,22 (d, <i>J</i> =5,5Hz, 1H), 4,27 (t, <i>J</i> =13,7Hz, 2H), 3,97 (br. s., 3H), 3,03-3,20 (m, 2H), 2,82 (t, <i>J</i> =7,5Hz, 1H), 1,98-	0,015

		2,18 (m, 1H), 1,24-1,96 (m, 9H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{26}ClN_6OS$ $(M+H)^+$ 421,1577, được phát hiện 421,1594.	
79		1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,49 (s, 1H), 8,25 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 6,56 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 6,24 (s, 2H), 4,07-4,26 (m, 2H), 2,98-3,13 (m, 2H), 2,70 (t, $J=7,4$ Hz, 1H), 1,11-1,94 (m, 10H). HRMS được tính cho $C_{18}H_{24}ClN_6S$ $(M+H)^+$ 391,1472, được phát hiện 391,1480.	0,023
80		1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,77 (s, 1H), 8,52 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 6,77 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 6,23 (br. s, 2H), 4,18 (t, $J=11,8$ Hz, 2H), 2,97-3,16 (m, 2H), 2,72 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 1,09-1,97 (m, 10H). HRMS được tính cho $C_{19}H_{24}F_3N_6S$ $(M+H)^+$ 425,1735, được phát hiện 425,1727.	0,042

Ví dụ 81

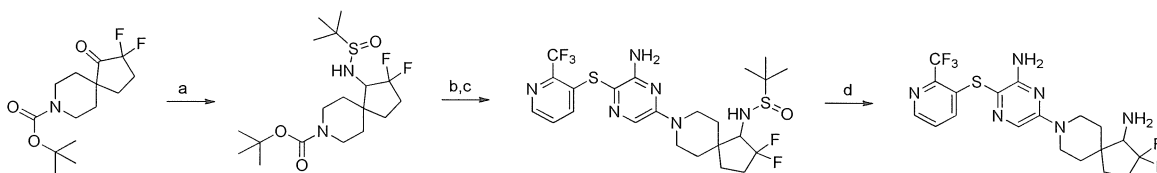
(*R*)-4-((3-amino-5-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-3-clopyridin-2(1*H*)-on



Khuấy hỗn hợp gồm (*S*)-*N*-((*R*)-8-(6-amino-5-((3-clo-2-flopyridin-4-yl)thio)pyrazin-2-yl)-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (17mg, 0,033mmol), liti hydroxit (2mg, 0,040mmol), và nước (0,07mL) trong DMSO (0,3mL) trong lò phản ứng vi sóng trong 45 phút ở 90°C. Sau khi làm nguội đến RT, thêm MeOH (0,5mL) sau đó là HCl (4M trong dioxan, 2,0 mL, 8,0mmol) và khuấy hỗn hợp tạo thành trong 1h ở 40°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 15-40% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh NH₄OH 5mM) để tạo ra (*R*)-4-((3-amino-5-(1-amino-8-azaspiro[4.5]decan-8-yl)pyrazin-2-yl)thio)-3-clopyridin-2(1*H*)on (5mg, 0,012mmol) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 7,53-7,61 (m, 1H), 7,19 (d, *J*=7,1Hz, 1H), 5,72 (d, *J*=7,1Hz, 1H), 4,26 (t, *J*=13,1Hz, 2H), 3,06-3,20 (m, 2H), 2,81 (t, *J*=7,5Hz, 1H), 1,27-2,11 (m, 10H). HRMS được tính cho C₁₈H₂₄ClN₆OS (M+H)⁺ 407,1448, được phát hiện 407,1433. IC₅₀ là 0,020μM.

Ví dụ 82

raxemic- 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-diflo-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 2,2-diflo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (220mg, 0,76mmol), *raxemic* 2-metylpropan-2-sulfinamit (184mg, 1,52mmol), và titan(IV) etoxit (0,640mL, 3,0mmol) trong THF (4mL) trong 30min ở 90°C. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm liti bohýdrua (33mg, 1,5mmol) trong một phần. Sau khi khuấy trong 30min, dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách thêm MeOH. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng phần cặn tạo thành bằng nước muối, chiết bằng EtOAc (4 x 10mL), sấy khô các pha hữu cơ kết hợp

trên Na₂SO₄, lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 10 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 1-(1,1-dimethylethylsulfinamido)-2,2-difluo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat dạng bột màu trắng (190mg, 0,48mmol). MS *m/z* 395,2 (M+H)⁺.

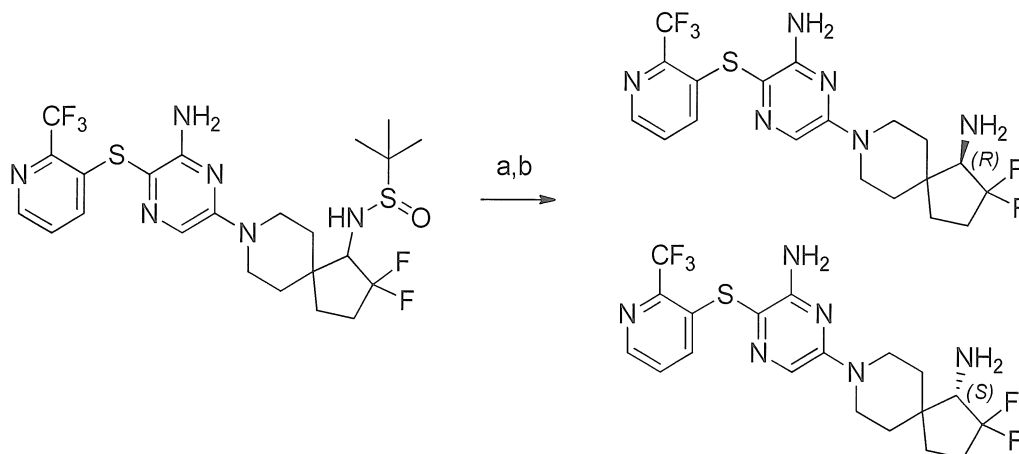
Bước b: Khuấy dung dịch chứa *tert*-butyl 1-(1,1-dimethylethylsulfinamido)-2,2-difluo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (190mg, 0,48mmol) và TFA (1mL) trong DCM (4mL) trong 20min ở 0°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra *N*-(2,2-difluo-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-methylpropan-2-sulfinamit được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước c: Khuấy dung dịch chứa *N*-(2,2-difluo-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-methylpropan-2-sulfinamit (thoại 0,48mmol) và 6-clo-3-((2-(trifluo metyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (148mg, 0,480mmol) trong DIPEA (0,8mL) trong 1h ở 100°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 100%) để tạo ra *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-difluo-8-azaspiro [4.5]decan-1-yl)-2-methylpropan-2-sulfinamit (174mg, 0,28mmol) dạng bột màu cam. Một phần nguyên liệu được đưa vào bước d, phần nguyên liệu còn lại được tách bằng phương pháp sắc ký (xem Ví dụ 83).

Bước d: Khuấy dung dịch *N*-(8-(6-amino-5-((2-(trifluometyl) pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-difluo-8-azaspiro [4.5]decan-1-yl)-2-methylpropan-2-sulfinamit (54mg, 0,096mmol) và HCl (4M trong dioxan, 0,239mL, 0,96mmol) trong DCM (1mL) trong 30min ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Nghiền nhỏ phần cặn này với MeCN để tạo ra *racemic*-8-(6-amino-5-((2-(trifluometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-difluo-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin (muối HCl, 38mg, 0,075mMol) dạng bột màu nâu vàng nhạt. ¹H NMR (400MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,52-8,38 (m, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,50-7,43 (m, 2H), 4,44 (dd, *J*=21,0, 14,2Hz, 2H), 3,67 (dd, *J*=15,1, 11,2Hz, 1H), 3,23-3,08 (m, 2H), 2,47-2,34 (m, 2H), 2,27 (dt, *J*=14,6, 7,4Hz, 1H), 2,01-1,88 (m, 2H), 1,75-1,54 (m, 3H). HRMS được tính cho C₁₉H₂₂F₅N₆S (M+H)⁺ 461,1547, được phát hiện 461,1540. IC₅₀ là 0,380μM.

Ví dụ 83a/b

(*R*) và (*S*)-8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-diflo-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: *N*-(8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2,2-diflo-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (100 mg, 0.177 mmol) was further purified bằng phương pháp SFC không đối xứng như sau: cột: WHO-1 21 x 250 mm, lưu lượng: 80 g/min, pha động: 45% MeOH và 5mM NH₄OH trong CO₂, detection: mass triggered thu được một chất đồng phân đối ảnh *R_t* (chất đồng phân đối ảnh *R*): 2.6Min (44Mg, 0.078 mmol) và *R_t* (chất đồng phân đối ảnh *S*): 5.8 min (41Mg, 0.073 mmol).

Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm chất đồng phân đối ảnh tinh khiết và HCl (4M trong dioxan, 200μL, 0,8mmol) trong DCM (2mL) trong 1h ở 40°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và nghiền nhỏ phần cặn tạo thành với MeCN để tạo ra hợp chất nêu trong đề mục dạng các muối HCl:

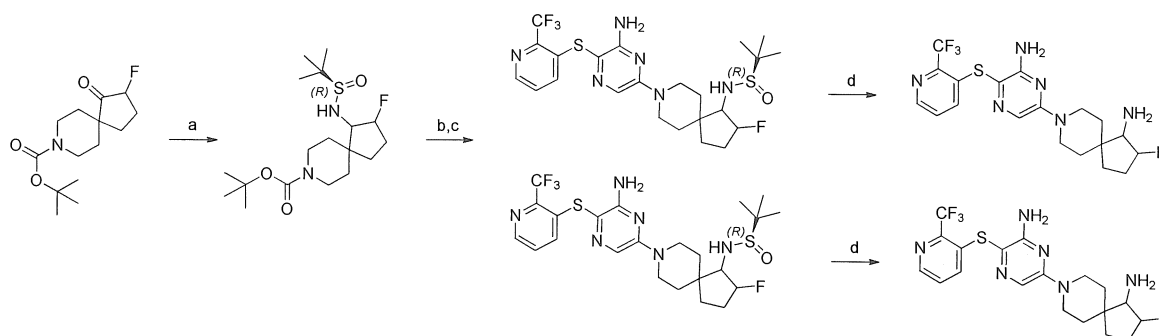
Chất đồng phân đối ảnh (*R*): ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,46 (dd, *J*=3,7, 2,3Hz, 1H), 7,73 (s, 1H), 7,53-7,45 (m, 2H), 4,52-4,36 (m, 2H), 3,68 (dd, *J*=15,0, 11,2Hz, 1H), 3,24-3,09 (m, 2H), 2,47-2,34 (m, 2H), 2,32-2,21 (m, 1H), 2,05-1,90 (m, 2H), 1,74-1,55 (m, 3H). ¹⁹F NMR (376MHz, METANOL-*d*₄) δ -66,19, -98,51 (d, *J*=234,5 Hz), -101,83 (d, *J*=234,6 Hz). HRMS được tính cho C₁₉H₂₂F₅N₆S (M+H)⁺ 461,1547, được phát hiện 461,1540. IC₅₀ là 0,882μM.

Chất đồng phân đối ảnh (*S*): ¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 8,50-8,41 (m, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,47 (m, 2H), 4,52-4,35 (m, 2H), 3,67 (dd, *J*=15,1, 11,2Hz,

1H), 3,24-3,05 (m, 2H), 2,49-2,32 (m, 2H), 2,31-2,19 (m, 1H), 2,02-1,88 (m, 2H), 1,73-1,51 (m, 3H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ -66,24, -98,47 (d, $J=234,4$ Hz), -101,77 (d, $J=234,6\text{Hz}$). HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{F}_5\text{N}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 461,1547, được phát hiện 461,1541. IC_{50} là 0,306 μM .

Ví dụ 84

8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-flo-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Khuấy dung dịch chứa *racemic tert*-butyl 2-flo-1-oxo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (78mg, 0,28mmol), titan(IV) etoxit (235 μL , 1,1mmol), và (*R*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (68mg, 0,56mmol) trong THF (1,5mL) trong 1h ở 90°C. Sau khi làm lạnh đến 0°C, thêm liti bohydrua (12mg, 0,56mmol) trong một phần. Sau khi khuấy trong 30min, dập tắt hỗn hợp phản ứng này bằng cách thêm MeOH. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Pha loãng phần cặn tạo thành bằng nước muối, chiết bằng EtOAc (4 x 10mL), sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên Na_2SO_4 , lọc, và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradient EtOAc/heptan 0 đến 50%) để tạo ra *tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-2-flo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (64mg, 0,17 mmol). MS m/z 377,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

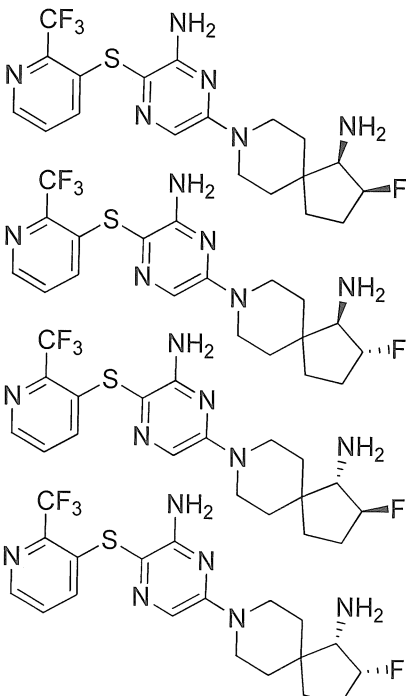
Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm *tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-2-flo-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (64mg, 0,17mmol) và TFA (1ML) trong DCM (4mL) trong 10min ở 0°C. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và phần cặn tạo thành được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm cặn trước đó và 6-clo-3-((2-(triflo metyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (51mg, 0,17mmol) trong DIPEA (0,3mL) trong 2h ở 100°C.

Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân cận tạo thành bằng phương pháp sắc ký silica (gradien MeOH/DCM (chứa 0,25% Et₃N) 0 đến 10%) để tạo ra *N*-(8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-fluoro-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit (41mg, 0,075mmol). MS *m/z* 547,2 (M+H)⁺ dạng hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang. Thực hiện quá trình tinh chế thêm sử dụng phương pháp SFC không đối xứng như sau: cột: ID 21 x 250 mm, lưu lượng: 80 g/min, pha động: iPrOH 45% và NH₄OH 10mM trong CO₂, dò: khối lượng được kích hoạt để tạo ra chất đồng phân đối ảnh đơn R_t (P1)= 2,7min (17mg, 0,031mmol) và R_t (*enant*-P1)= 4,4min (17mg, 0,031mmol).

Bước d: Khuấy dung dịch của mỗi đồng phân tinh khiết và HCl (4M trong dioxan, 100μL, 0,4mmol) trong DCM (0,1mL) trong 1h ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và nghiền nhỏ phân cận tạo thành với MeCN để tạo ra hợp chất nêu trong đề mục dạng các muối HCl.

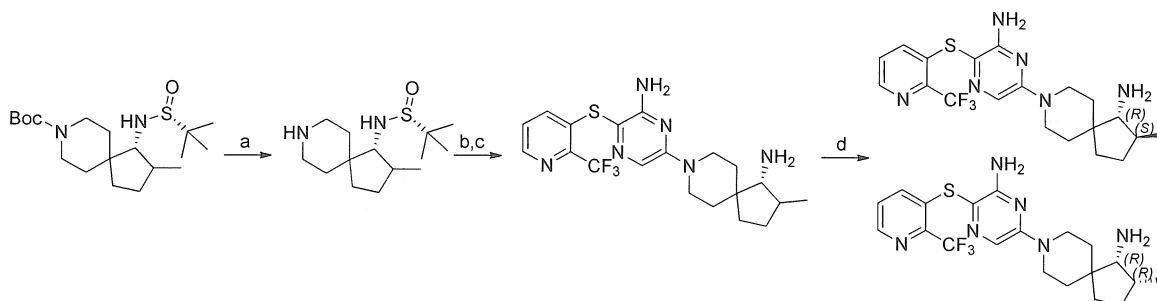
Bảng 12

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
85		HCl muối. P1: ¹ H NMR (400MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ ppm 8,45 (dd, <i>J</i> =3,7, 2,3Hz, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,51-7,43 (m, 2H), 5,31-5,08 (m, 1H), 4,46 (t, <i>J</i> =15,0Hz, 2H), 3,36 (d, <i>J</i> =4,2Hz, 1H), 3,20-3,06 (m, 2H), 2,28-2,06 (m, 3H), 1,96-1,82 (m, 2H), 1,74-1,50 (m, 3H). ¹⁹ F NMR (376MHz, METANOL- <i>d</i> ₄) δ -65,01, -66,44. HRMS được tính cho C ₁₉ H ₂₃ F ₄ N ₆ S (M+H) ⁺	P1= 0,100 <i>enant</i> -P1= 0,113

		443,1641, được phát hiện 443,1642. Muối HCl. <i>enant</i>-P1: ^1H NMR (400MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8,48-8,44 (m, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,51-7,42 (m, 2H), 5,30-5,10 (m, 1H), 4,47 (t, $J=15,1\text{Hz}$, 2H), 3,37-3,34 (m, 1H), 3,21-3,06 (m, 2H), 2,28-2,08 (m, 3H), 1,95-1,82 (m, 2H), 1,76-1,47 (m, 3H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL-d_4) δ -65,01, -66,42. HRMS được tính cho $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_6\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 443,1641, được phát hiện 443,1633.	
--	--	--	--

Ví dụ 86a/b

(1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin



Bước a: Khuấy dung dịch chứa (1*R*)-*tert*-butyl 1-((*R*)-1,1-dimetyletylsulfinamido)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-8-carboxylat (32mg, 0,086mmol) và TFA (0,2mL, 2,60mmol) trong DCM (2mL) trong 30min ở RT. Loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-2-metyl-*N*-((1*R*)-2-

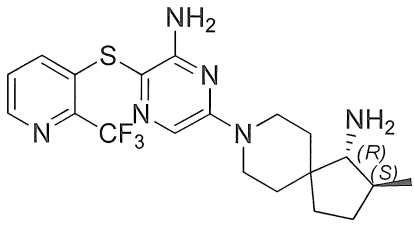
metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit. MS m/z 273,0 ($M+H$)⁺. Sử dụng sản phẩm thô trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

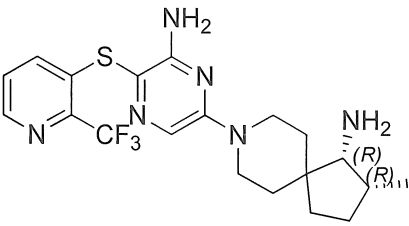
Bước b: Khuấy hỗn hợp gồm (*R*)-2-metyl-*N*-((1*R*)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)propan-2-sulfinamit (23mg, 0,084mmol), 6-clo-3-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-amin (23mg, 0,075mmol), và NMP (0,1mL) trong DIPEA (1mL) trong 6h ở 115°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra (*R*)-*N*-((1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit dạng dầu màu đen, sử dụng dầu này trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

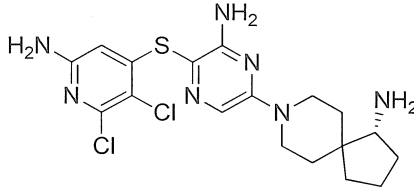
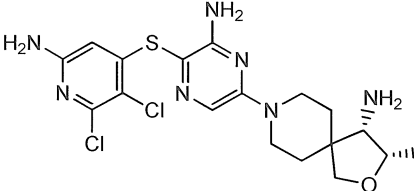
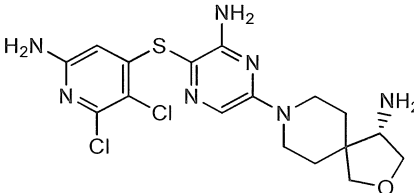
Bước c: Khuấy hỗn hợp gồm (*R*)-*N*-((1*R*)-8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-yl)-2-metylpropan-2-sulfinamit và HCl (4M trong dioxan, 84μL, 0,338mmol) trong DCM (2mL) trong 1h ở 40°C. Sau khi làm nguội đến RT, loại bỏ các chất bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn tạo thành bằng phương pháp HPLC (rửa giải gradien 35-60% axetonitril trong nước, chất điều chỉnh TFA 0,1%) để tạo ra muối TFA 8-(6-amino-5-((2-(triflometyl)pyridin-3-yl)thio)pyrazin-2-yl)-2-metyl-8-azaspiro[4.5]decan-1-amin. HRMS được tính cho C₂₀H₂₆F₃N₆S 439,1892 ($M+H$)⁺, được phát hiện 439,1872. IC₅₀ là 0,0010μM.

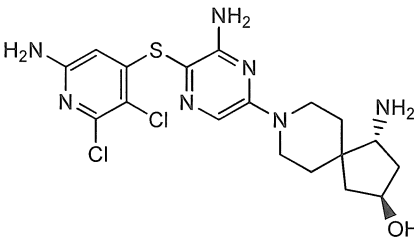
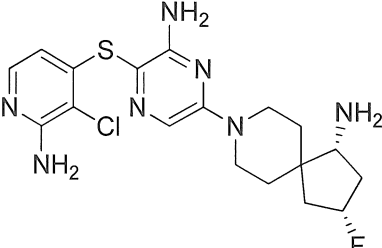
Bước d: Phân tách không đối xứng (xem chi tiết ở bảng 13).

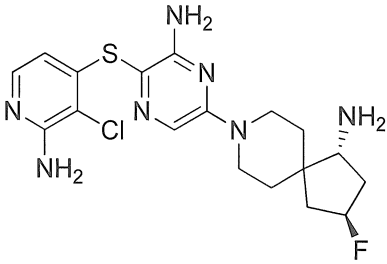
Bảng 13

Ví dụ	Hợp chất	Mô tả đặc điểm	IC ₅₀ (μM)
86a		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau: cột: ADH 21 x 250mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 30% và NH ₄ OH 5mM trong CO ₂ , dò: UV 270nm để thu được chất đồng phân đơn R _t (P1)= 3,3min. ¹ H NMR	0,010

		(400MHz, METANOL- d_4) δ ppm 8,39 (dd, $J=4,4$, 1,6Hz, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,47-7,35 (m, 2H), 4,46-4,31 (m, 2H), 3,15-2,95 (m, 2H), 2,44 (d, $J=9,5$ Hz, 1H), 2,02-1,67 (m, 5H), 1,61-1,36 (m, 4H), 1,12 (d, $J=6,3$ Hz, 3H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ 439,1892 ($M+H$) ⁺ , được phát hiện 439,1900.	
86b		Quá trình tinh chế SFC không đối xứng được thực hiện như sau: cột: ADH 21 x 250mm, lưu lượng: 80g/min, pha động: MeOH 30% và NH_4OH 5mM trong CO_2, dò: UV 270nm để thu được đồng phân đơn $R_t(P2)= 4,3$min. 1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 8,38 (dd, $J=4,4$, 1,6Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,49-7,31 (m, 2H), 4,19-4,00 (m, 2H), 3,29-3,12 (m, 2H), 2,80 (d, $J=5,9$Hz, 1H), 2,38-2,24 (m, 1H), 1,91-1,47 (m, 8H), 1,01 (d, $J=7,0$Hz, 3H). HRMS được tính cho $C_{20}H_{26}F_3N_6S$ 439,1892 ($M+H$)⁺, được phát hiện 439,1880.	0,010

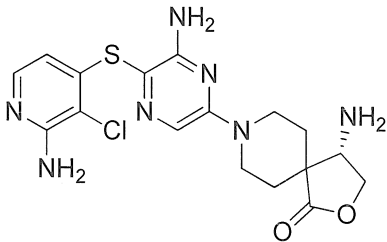
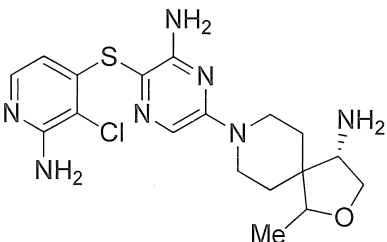
87		Muối TFA. ^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,59 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 4,41-4,22 (m, 2H), 3,24 (t, $J=6,8\text{Hz}$, 1H), 3,21-3,08 (m, 2H), 2,29-2,16 (m, 1H), 1,97-1,79 (m, 4H), 1,78-1,65 (m, 2H), 1,65-1,48 (m, 3H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{S}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 440,1191, được phát hiện 440,1169.	0,0093
88		Muối TFA. ^1H NMR (400MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,60 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 4,37-4,19 (m, 3H), 3,98 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 1H), 3,88 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 1H), 3,42 (d, $J=4,0\text{Hz}$, 1H), 3,13 (dddd, $J=26,3, 14,0, 11,0, 3,2\text{Hz}$, 2H), 1,92-1,74 (m, 3H), 1,73-1,63 (m, 1H), 1,31 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 3H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{OS}$ ($\text{M}+\text{H}$)$^+$ 456,1140, được phát hiện 456,1118.	0,004
89		Muối TFA. ^1H NMR (400 MHz, METANOL-d_4) δ ppm 7,61 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 4,35-4,14 (m, 3H), 3,98 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 1H), 3,89 (d, $J=9,2\text{Hz}$, 1H), 3,82 (dd, $J=10,7, 2,6\text{Hz}$, 1H), 3,57 (dd, $J=5,3, 2,5\text{Hz}$, 1H),	0,0118

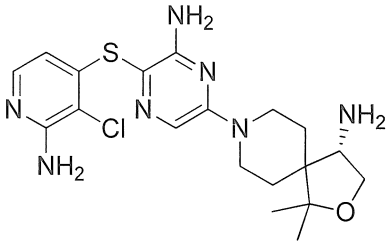
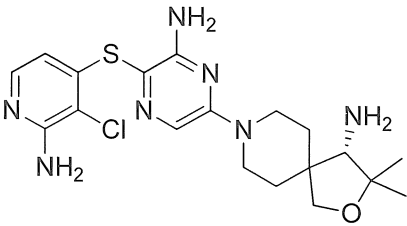
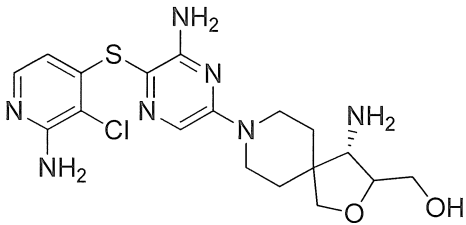
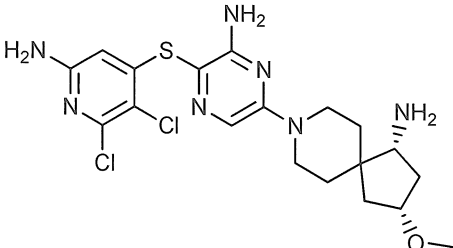
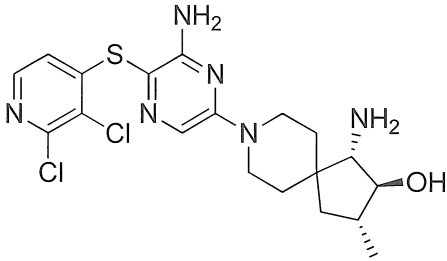
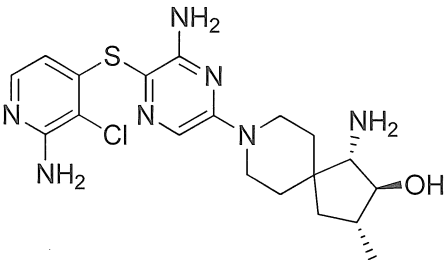
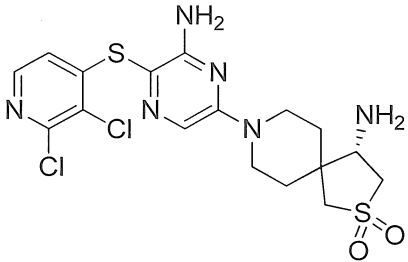
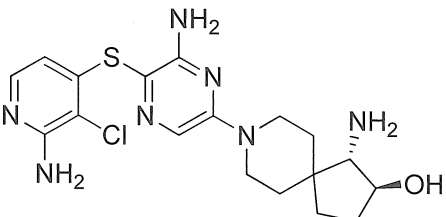
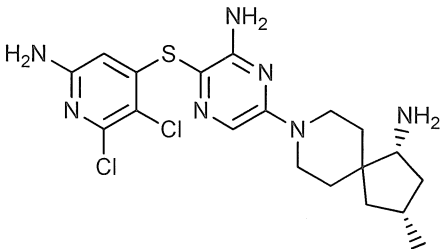
		3,23 (ddd, $J=14,1, 8,8, 5,5\text{Hz}$, 1H), 3,14 (ddd, $J=13,8, 10,7, 3,3\text{Hz}$, 1H), 1,86-1,63 (m, 4H). HRMS được tính cho $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{OS}$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 442,0984, được phát hiện 442,0961.	
90		Muối TFA. ^1H NMR (400MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,60 (s, 1H), 5,77 (s, 1H), 4,51-4,32 (m, 3H), 3,47 (dd, $J=9,3, 7,2\text{Hz}$, 1H), 3,13-2,94 (m, 2H), 2,28-2,11 (m, 2H), 2,01 (ddd, $J=13,8, 9,5, 6,0\text{Hz}$, 1H), 1,92-1,78 (m, 2H), 1,70 (d, $J=13,2\text{Hz}$, 1H), 1,55-1,47 (m, 2H). HRMS được tính cho $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{OS}$ $(\text{M}+\text{H})^+$ 456,1140, được phát hiện 456,1111.	0,004
91		^1H NMR (400MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,52-7,64 (m, 2H), 5,92 (d, $J=5,56\text{Hz}$, 1H), 5,13 (td, $J=56,0, 6,69\text{Hz}$, 1H), 4,21-4,42 (m, 2H), 3,00-3,22 (m, 2H), 2,83 (t, $J=7,71\text{Hz}$, 1H), 2,37-2,58 (m, 1H), 2,16-2,37 (m, 1H), 1,62-1,92 (m, 5H), 1,21-1,36 (m, 1H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ	0,008

		ppm -162,81. HRMS được tính cho $C_{18}H_{24}ClFN_7S$ $(M+H)^+$ 424,1486, được phát hiện 424,1491.	
92		1H NMR (400 MHz, METANOL- d_4) δ ppm 7,50-7,65 (m, 2H), 5,92 (d, $J=5,56$ Hz, 1H), 5,13 (dt, $J=5,56$ Hz, 5,94Hz, 1H) 4,21-4,40 (m, 2H), 2,97-3,19 (m, 3H), 2,13-2,35 (m, 2H), 1,70-2,00 (m, 3H), 1,62 (td, $J=12,63$, 4,29Hz, 1H), 1,47 (dd, $J=13,26$, 2,40Hz, 1H), 1,33 (dd, $J=13,39$, 2,27Hz, 1H). ^{19}F NMR (376MHz, METANOL- d_4) δ ppm -166,11. HRMS được tính cho $C_{18}H_{24}ClFN_7S$ $(M+H)^+$ 424,1486, được phát hiện 424,1486.	0,010

Các ví dụ sau của Bảng 14 có thể được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp trên và nguyên liệu ban đầu thích hợp:

Bảng 14

	
---	--

Các thử nghiệm

Các hợp chất theo sáng chế được đánh giá về khả năng ức chế chọn lọc hoạt tính SHP2 của chúng. Các đặc tính ức chế của các hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây có thể được chứng minh bằng cách kiểm tra một thử nghiệm bất kỳ trong số các thử nghiệm sau đây.

Thử nghiệm ức chế dị lập thể SHP2

SHP2 được hoạt hóa dị lập thể qua liên kết peptit được bis-tyrosyl-phosphoryl hóa với miền Src Homology 2 (SH2) của nó. Bước hoạt hóa tiếp theo dẫn đến việc giải phóng bề mặt trung gian tự động ức chế của SHP2, mà tiếp đến dẫn đến hoạt tính SHP2 protein tyrosin phosphatase (PTP) và có sẵn nhận biết cơ chất và chất xúc tác phản ứng. Hoạt tính xúc tác của SHP2 được quan sát bằng cách sử dụng cơ chất thay thế DiFMUP trong định dạng thử nghiệm huỳnh quang nhanh.

Cụ thể hơn là, các phản ứng phosphatase được thực hiện ở nhiệt độ phòng trong đĩa polystyren đen 384 giếng, đĩa đáy tròn, mặt bích thấp, bề mặt không gắn kết (Corning, Cat# 3575) sử dụng thể tích phản ứng cuối cùng là 25 μ L và điều kiện chất đệm thử nghiệm sau đây: HEPES 60mM, pH 7,2, NaCl 75mM, KCl 75mM, EDTA 1mM, P-20 0,05%, DTT 5mM.

Sự ức chế SHP2 bằng các hợp chất theo sáng chế (nồng độ biến đổi từ 0,003 – 100 μ M) được quan sát bằng cách sử dụng thử nghiệm trong đó ủ SHP2 0,5nM với peptit IRS1_pY1172(dPEG8)pY1222 (trình tự: H2N-LN(pY)IDLDLV(dPEG8)LST(pY)ASINFQK-amit) 0,5 μ M. Sau khi ủ 30-60 phút ở 25°C, thêm cơ chất thay thế DiFMUP (Invitrogen, cat# D6567) vào phản ứng và ủ ở 25°C trong 30 phút. Sau đó làm ngừng phản ứng bằng cách thêm 5 μ L dung dịch chứa bpV(Phen) (Enzo Life Sciences cat# ALX-270-204) 160 μ M. Tín hiệu huỳnh quang được quan sát bằng cách sử dụng máy đọc vi đĩa (Envision, Perki-Elmer) sử dụng bước sóng kích thích và phát xạ lần lượt là 340nm và 450nm. Đường cong đáp ứng liều lượng chất ức chế được phân tích bằng cách sử dụng đường hồi quy IC₅₀ chuẩn hóa khớp với đường chuẩn dựa trên đối chứng. Các kết quả IC₅₀ cho các hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong các ví dụ và bảng 1-7 ở trên.

Thử nghiệm tế bào p-ERK

Thử nghiệm tế bào p-ERK sử dụng Kit AlphaScreen® SureFire™ Phospho-ERK 1/2 (PerkinElmer): tế bào KYSE-520 (30.000 tế bào/giếng) được cấy trong đĩa cấy 96 giếng qua đêm và xử lý bằng các chất ức chế Shp2 ở nồng độ là 20, 6,6, 2,2, 0,74, 0,24, 0,08, 0,027 μ M trong 2 giờ ở 37°C. Kết thúc việc ủ bằng cách thêm 30 μ L chất đệm phân giải (PerkinElmer) được cung cấp với kit thử nghiệm kinaza điều hòa tín hiệu phospho ngoại bào (pERK) SureFire (PerkinElmer). Các mẫu được xử lý theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tín hiệu huỳnh quang từ pERK được đo hai lần bằng cách sử dụng máy đọc 2101Multilabel (Perkin Elmer Envision). Phần trăm ức chế được chuẩn hóa bằng tổng tín hiệu ERK và so sánh với đối chứng chất dẫn thuốc DMSO.

Thử nghiệm sự tạo thành khuẩn lạc và thử nghiệm tăng sinh tế bào

Các tế bào KYSE-520 (1500 tế bào/giếng) được cấy vào đĩa 24 giếng trong 300 μ L môi trường (RPMI-1640 chứa FBS 10%, Lonza). Đối với xử lý dược chất, các hợp chất theo sáng chế ở các nồng độ khác nhau (20, 10, 5, 2,5, 1,25 μ M) được thêm vào 24 giờ và 5 ngày sau khi cấy tế bào. Ở ngày 11, khuẩn lạc được nhuộm bằng violet tinh thể 0,2% (MP Biomedicals) và sau đó hòa tan trong axit axetic 20% để định lượng bằng cách sử dụng máy đọc Spectramax (Thermo Scientific). Trong thử nghiệm tăng sinh tế bào, các tế bào (1500 tế bào/giếng) được cấy vào đĩa 96 giếng trong 100 μ L môi trường (RPMI-1640 chứa FBS 10%, Lonza). Ở ngày 6, thêm 50 μ L chất phản ứng Celltiter-Glo (Promega), và tín hiệu phát quang được xác định theo hướng dẫn của nhà cung cấp (Promega).

R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} xycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} xycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

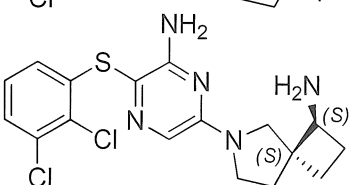
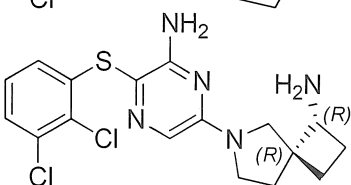
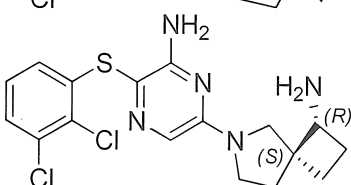
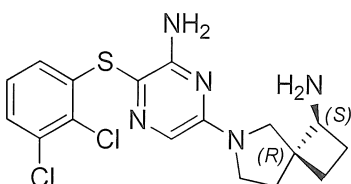
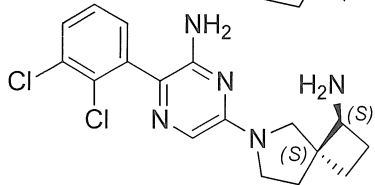
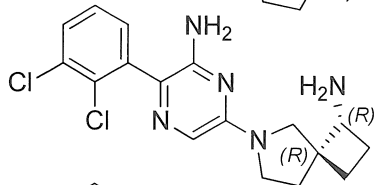
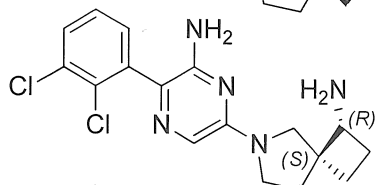
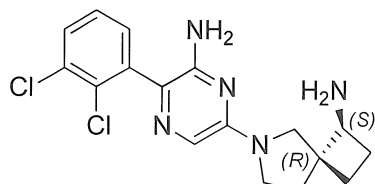
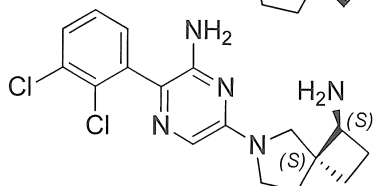
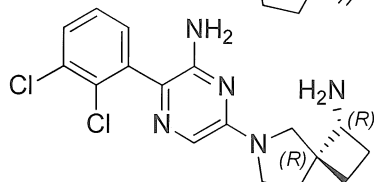
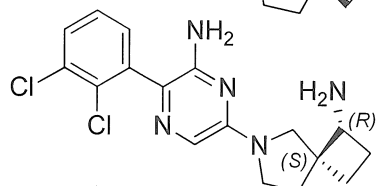
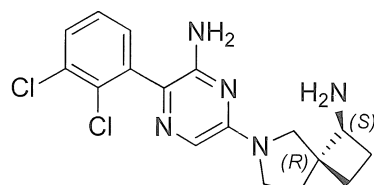
trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a} , R_{2b} , R_{3a} , R_{3b} , R_{4a} , R_{4b} , R_{5a} , R_{5b} và R_7 có thể tạo thành vòng không no hoặc no một phần có 5 đến 6 cạnh;

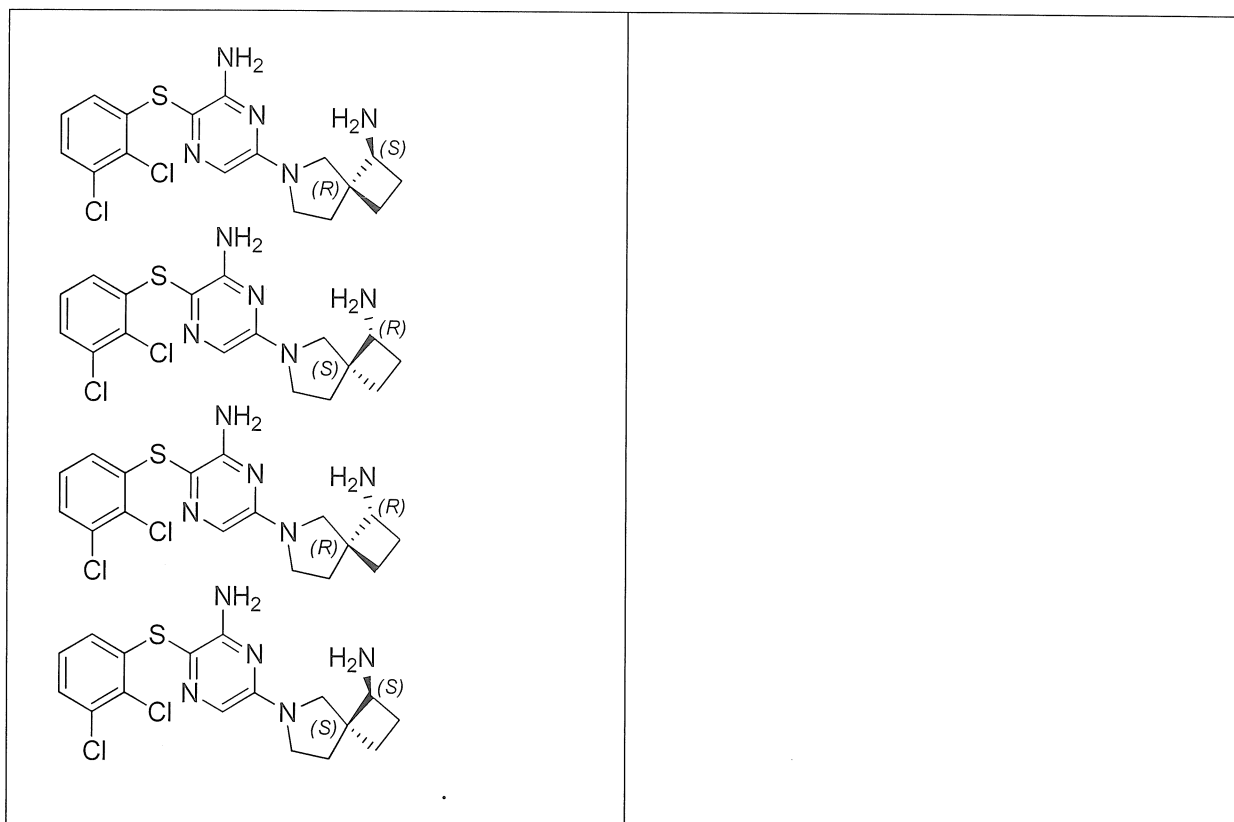
R_6 được chọn từ hydro, halo, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino-cacbonyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy được thế halo, C_{1-4} alkyl được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkyl được thế amino, $-S(O)_{1-2}R_{6a}$, $-C(S)R_{6a}$, $-C(O)NR_{6a}R_{6b}$, $-C(NH)NR_{6a}R_{6b}$ và $-NR_{6a}C(O)R_{6b}$; trong đó R_{6a} và R_{6b} độc lập được chọn từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 3 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S(O) $_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2;

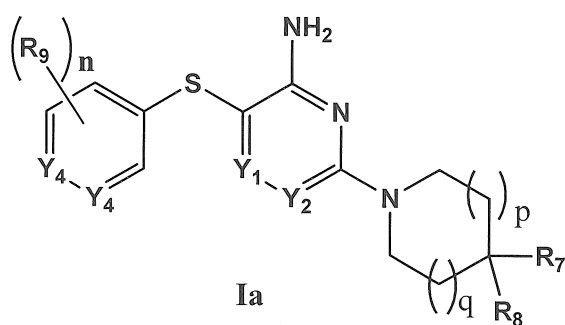
trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, metyl, metyl-amino và isobutyryloxy; hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất có công thức I theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó được chọn từ:





3. Hợp chất có công thức Ia:



trong đó:

n được chọn từ 1, 2, 3 và 4;

p được chọn từ 0 và 1;

q được chọn từ 0 và 1;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CR_6 và N; mỗi

Y_4 độc lập được chọn từ N, C(O) và CR_9 ; trong đó chỉ một Y_4 là C(O);

R_6 được chọn từ hydro, halo, methyl và amino-cacbonyl;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, halo, hydroxy, amino-metyl và metyl-amino; hoặc

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 5 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 2 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, O, C(O) và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng 1 đến 3 nhóm được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, metyl, metyl-amino và isobutylryloxy, hoặc

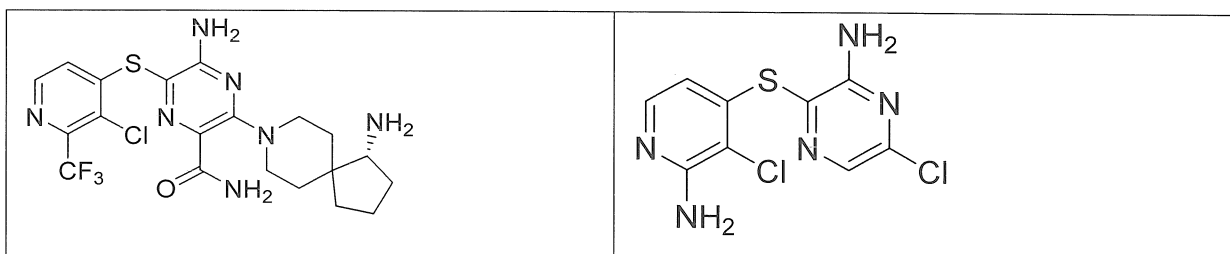
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 6 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl và metyl-amino, hoặc

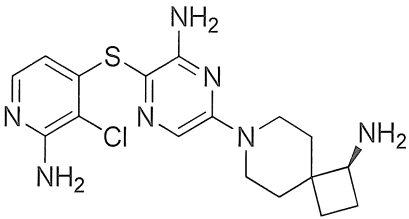
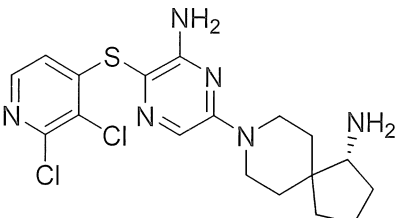
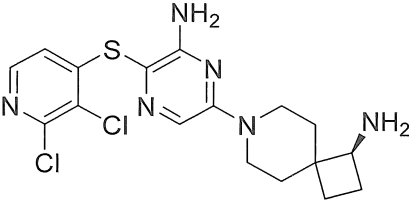
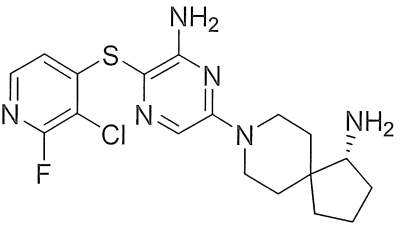
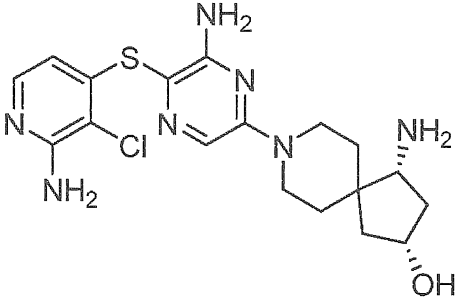
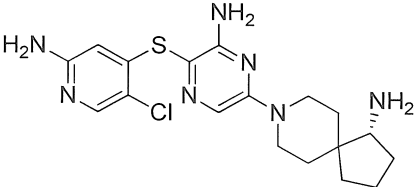
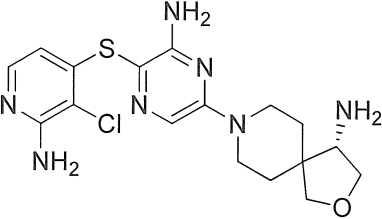
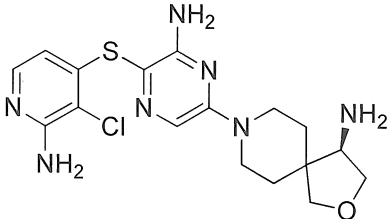
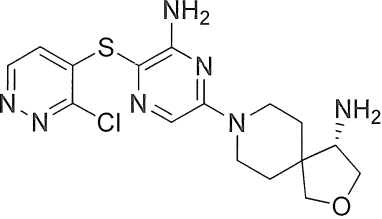
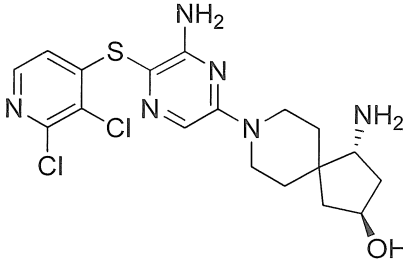
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 4 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl and metyl-amino;

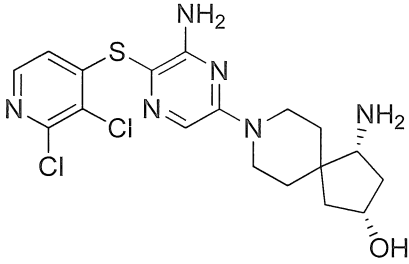
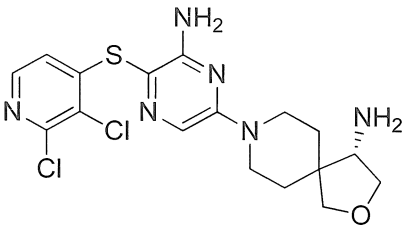
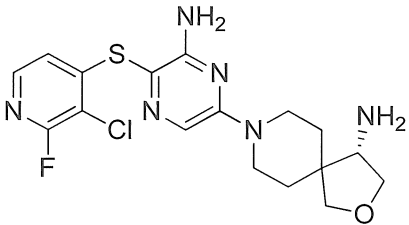
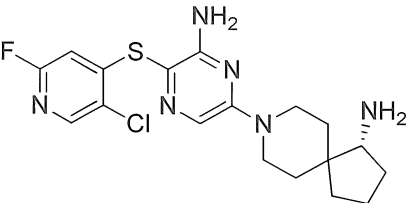
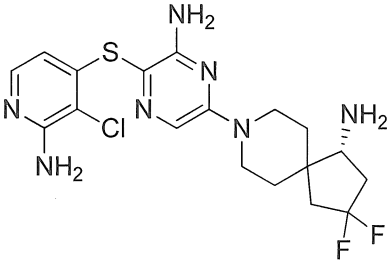
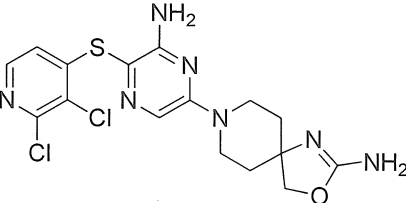
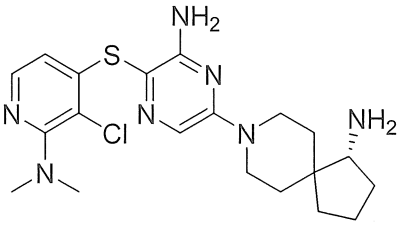
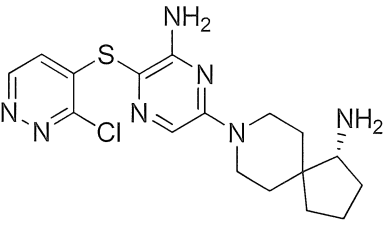
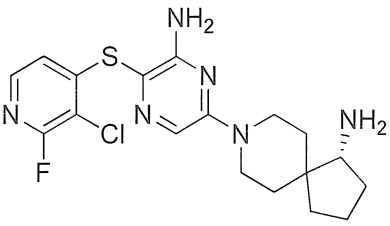
R_9 được chọn từ halo, amino, hydroxy, N_3 , dimetyl-amino, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy, $-C(O)OR_{10}$ và $-NHC(O)R_{10}$;

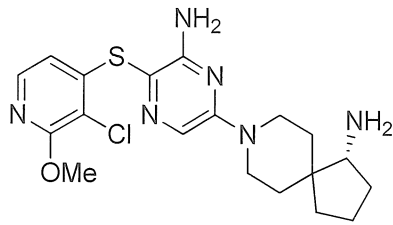
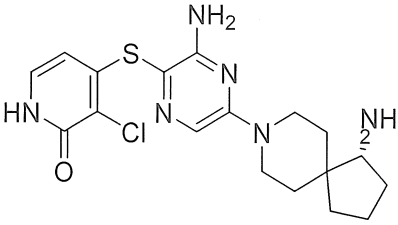
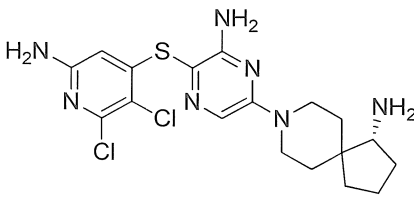
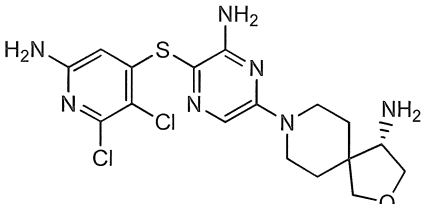
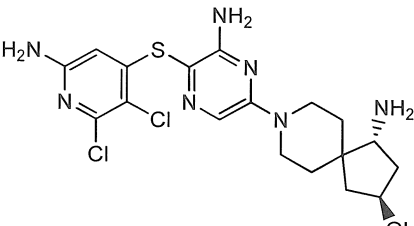
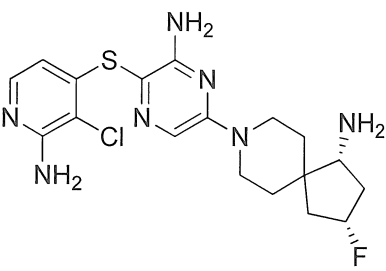
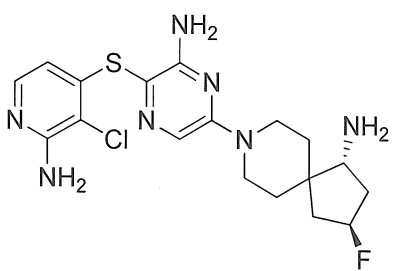
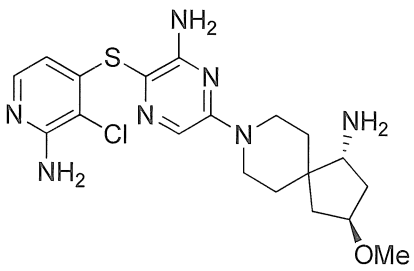
R_{10} được chọn từ hydro, phenyl và naphtyl; trong đó phenyl là R_{10} đã nêu không được thế hoặc được thế bằng metoxy; hoặc muối được dụng của nó.

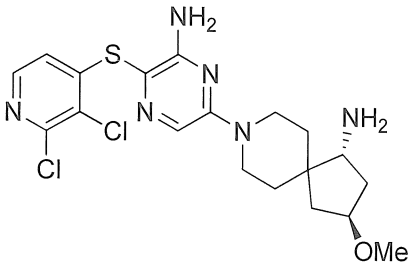
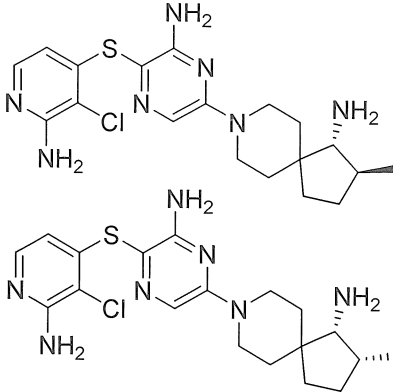
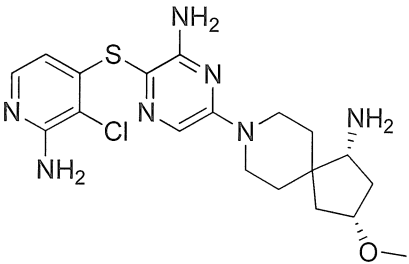
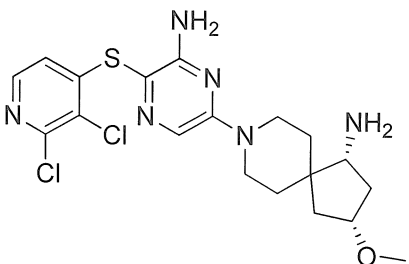
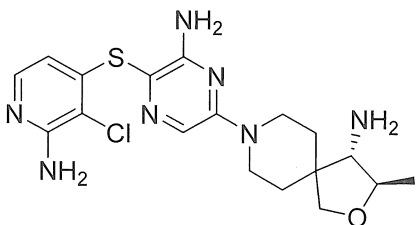
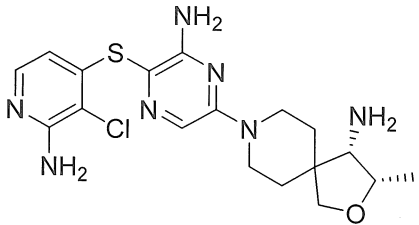
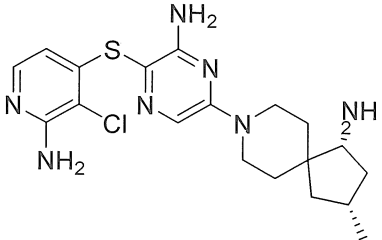
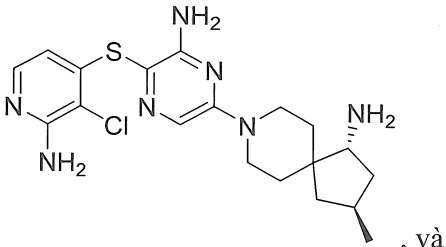
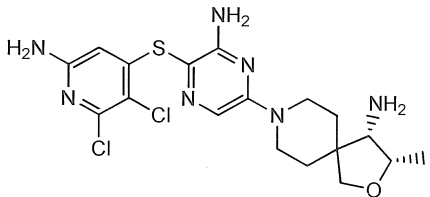
4. Hợp chất theo điểm 3, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:



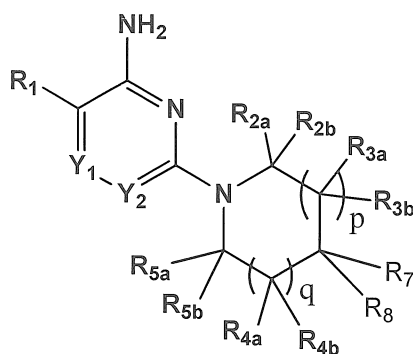
	
	
	
	
	

	
	
	
	 , và
	

5. Hợp chất theo điểm 1 có công thức II:



II

trong đó:

p được chọn từ 0 và 1;

q được chọn từ 0 và 1;

Y₁ được chọn từ CH và N;

Y₂ được chọn từ CR₆ và N;

R₁ được chọn từ C₆₋₁₀aryl, C₃₋₈cycloalkyl, C₃₋₈cycloalkenyl và nhóm heteroaryl có 5-9 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S; trong đó aryl hoặc heteroaryl là R_{1a} đã nêu được thế bằng 1 đến 5 nhóm R₉ độc lập được chọn từ halo, amino, hydroxy, N₃, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkyl được thế bằng hydroxy, C₁₋₄alkyl được thế halo, và C₁₋₄alkyl được thế bằng amino;

R_{2a} và R_{2b} độc lập được chọn từ hydro, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈cycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino;

R_{3a} và R_{3b} độc lập được chọn từ halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈cycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino;

R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈cycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino;

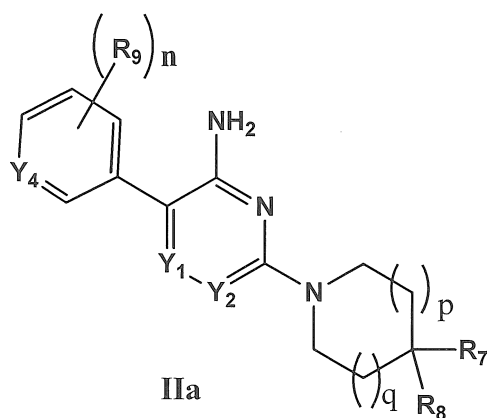
R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, C₁₋₄alkyl, C₁₋₄alkoxy, amino, hydroxy, C₃₋₈cycloalkyl và C₁₋₄alkyl-amino;

trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a}, R_{3a}, R₄, R₅, R_{6a} và R_{7a} có thể tạo thành vòng không no hoặc không no một phần có 5 đến 6 cạnh;

R_6 được chọn từ hydro, halo, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino-cacbonyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy được thế halo, C_{1-4} alkyl được thế bằng hydroxy và C_{1-4} alkyl được thế amino;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, halo, hydroxy, amino-metyl và metyl-amino; hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất có công thức IIa:



trong đó:

n được chọn từ 1, 2, 3 và 4;

p được chọn từ 0 và 1;

q được chọn từ 0 và 1;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CR_6 và N;

Y_4 được chọn từ N và CR_9 ;

R_6 được chọn từ hydro, halo, metyl và amino-cacbonyl;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no

được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng một nhóm được chọn từ amino, amino-metyl và metyl-amino; hoặc

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 5 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O) $_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl, và metyl-amino, hoặc

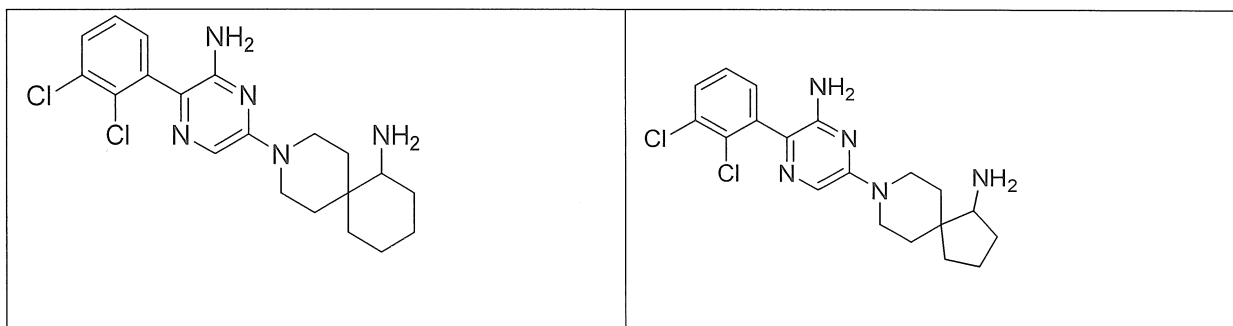
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 6 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O) $_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên được thế bằng nhóm được chọn từ amino, amino-metyl và metyl-amino, hoặc

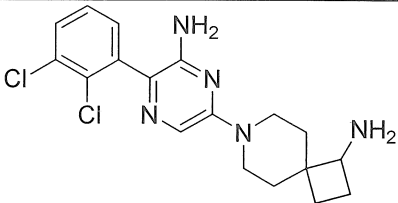
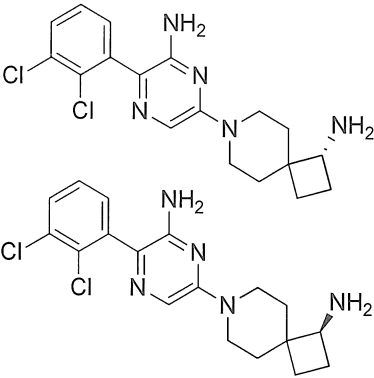
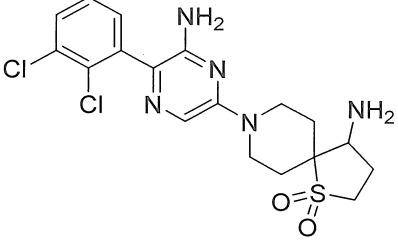
R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no có 4 cạnh mà có thể tùy ý chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S(O) $_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2; trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 được thế bằng amino;

R_9 được chọn từ halo, amino, hydroxy, N_3 , C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy, $-C(O)OR_{10}$ và $-NHC(O)R_{10}$;

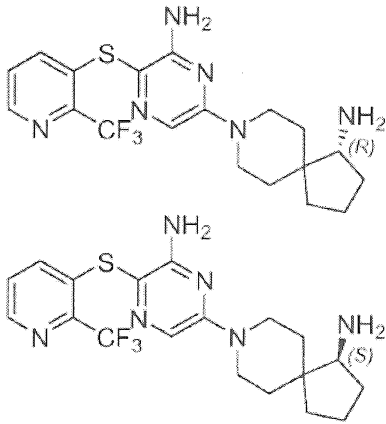
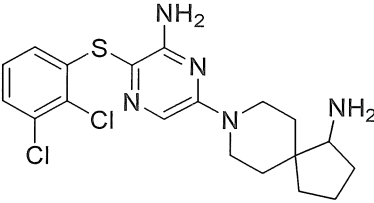
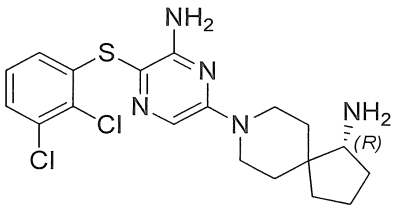
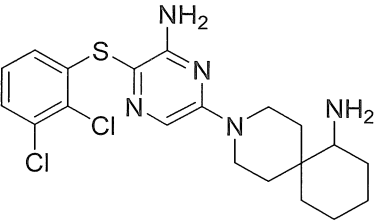
R_{10} được chọn từ hydro, phenyl và naphtyl; trong đó phenyl là R_{10} đã nêu không được thế hoặc được thế bằng metoxy; hoặc muối được dụng của nó.

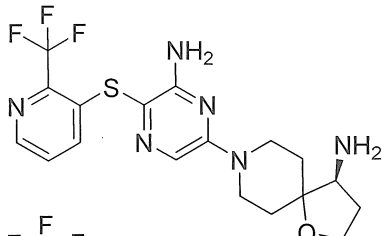
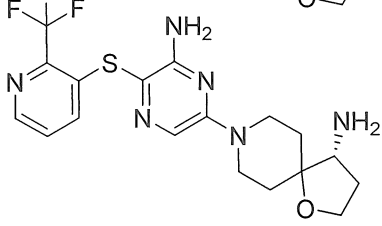
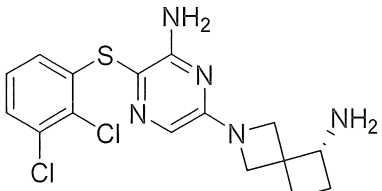
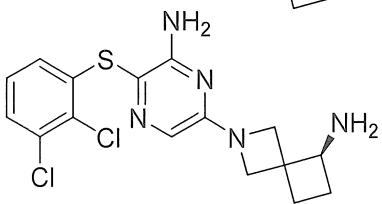
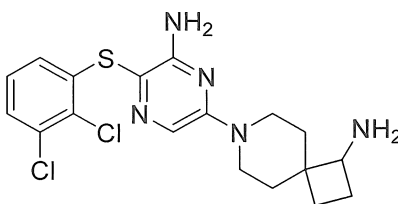
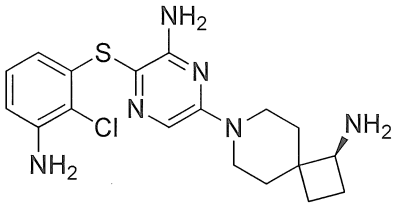
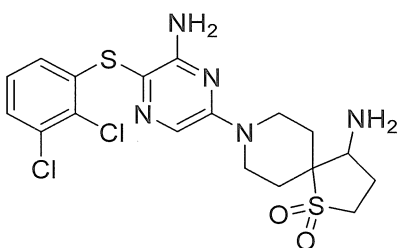
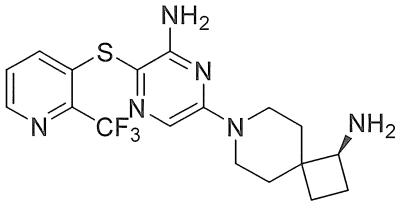
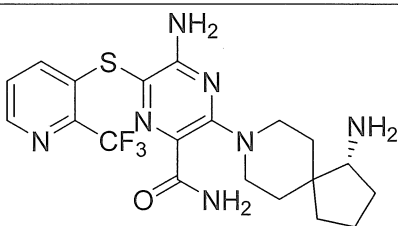
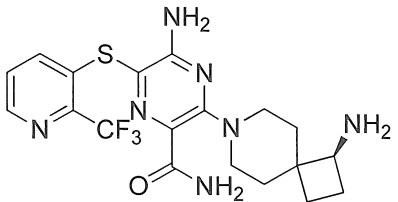
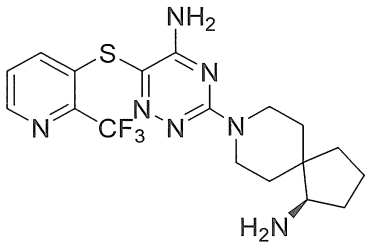
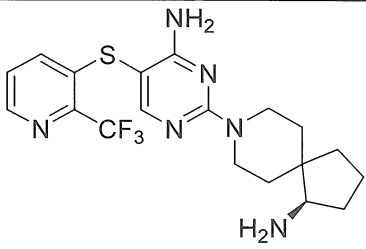
7. Hợp chất theo điểm 6, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ:

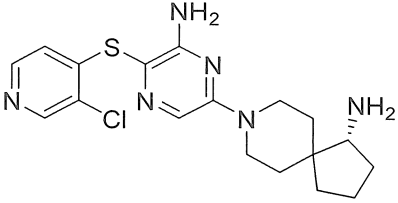
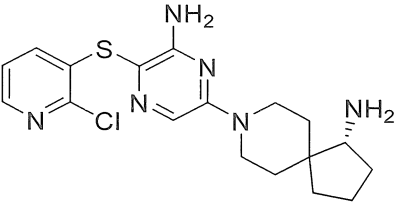
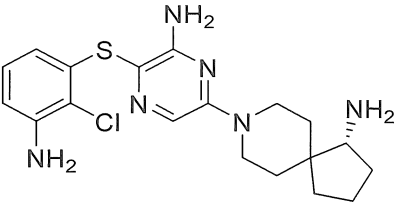
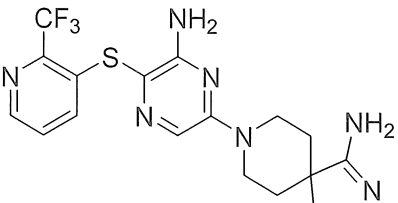
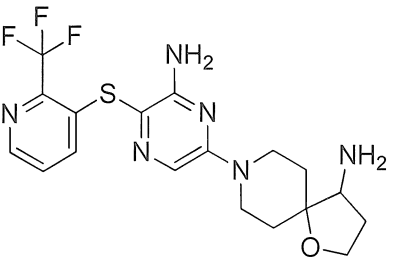
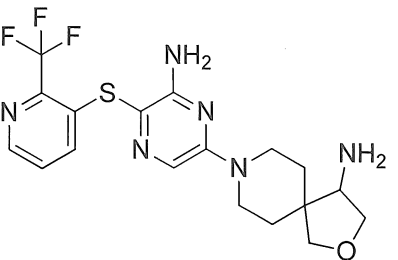
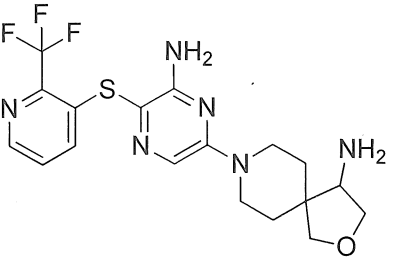
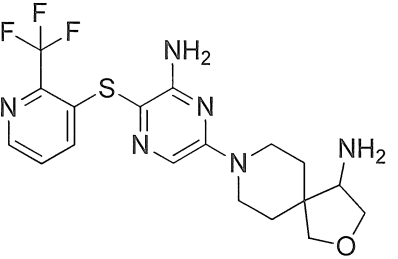
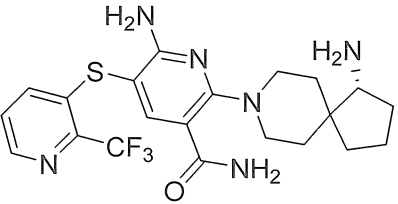
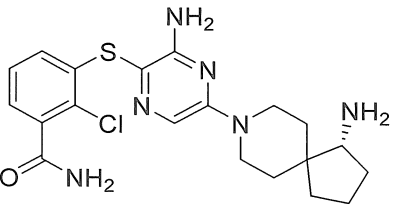


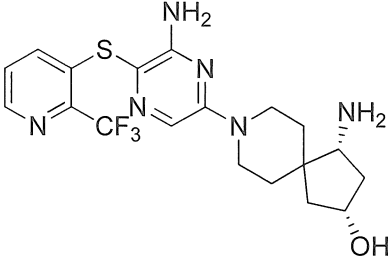
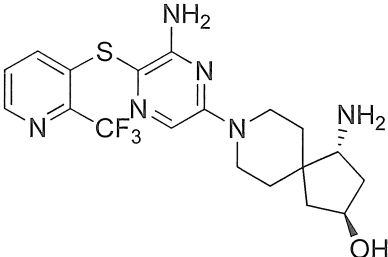
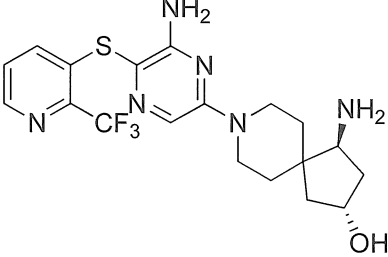
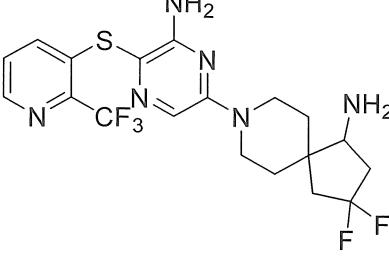
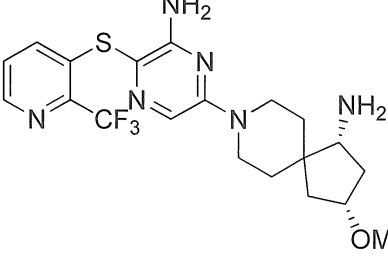
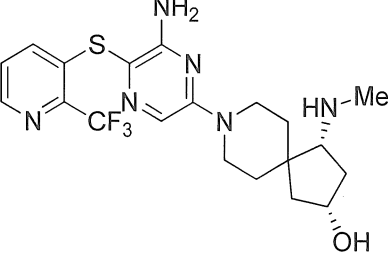
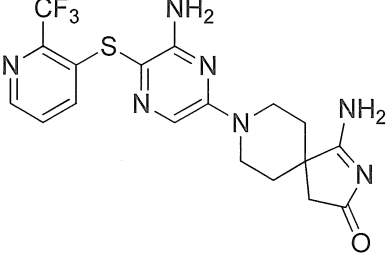
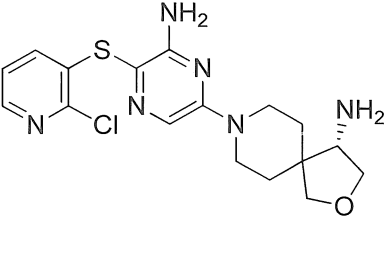
	
	

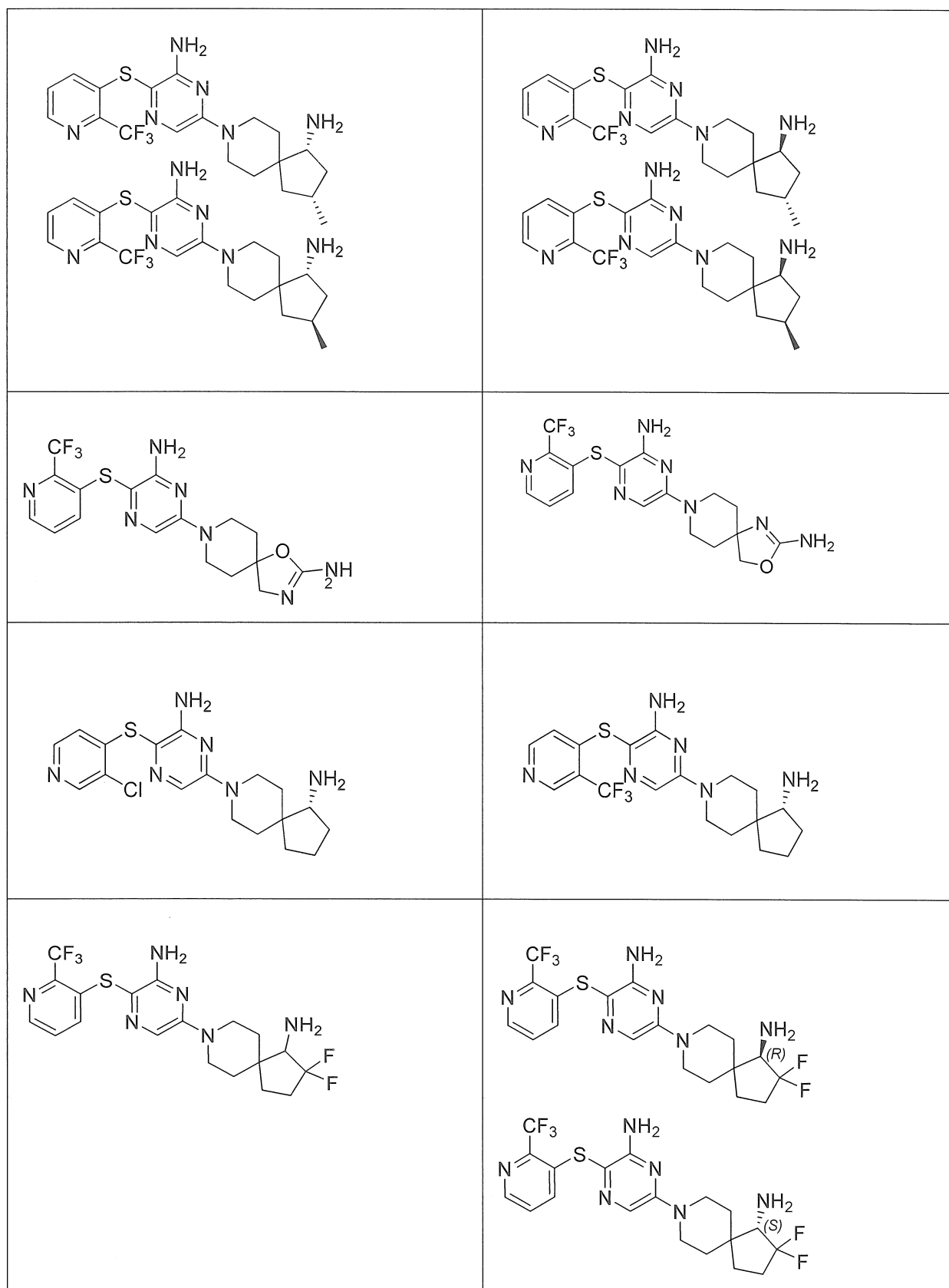
8. Hợp chất được chọn từ:

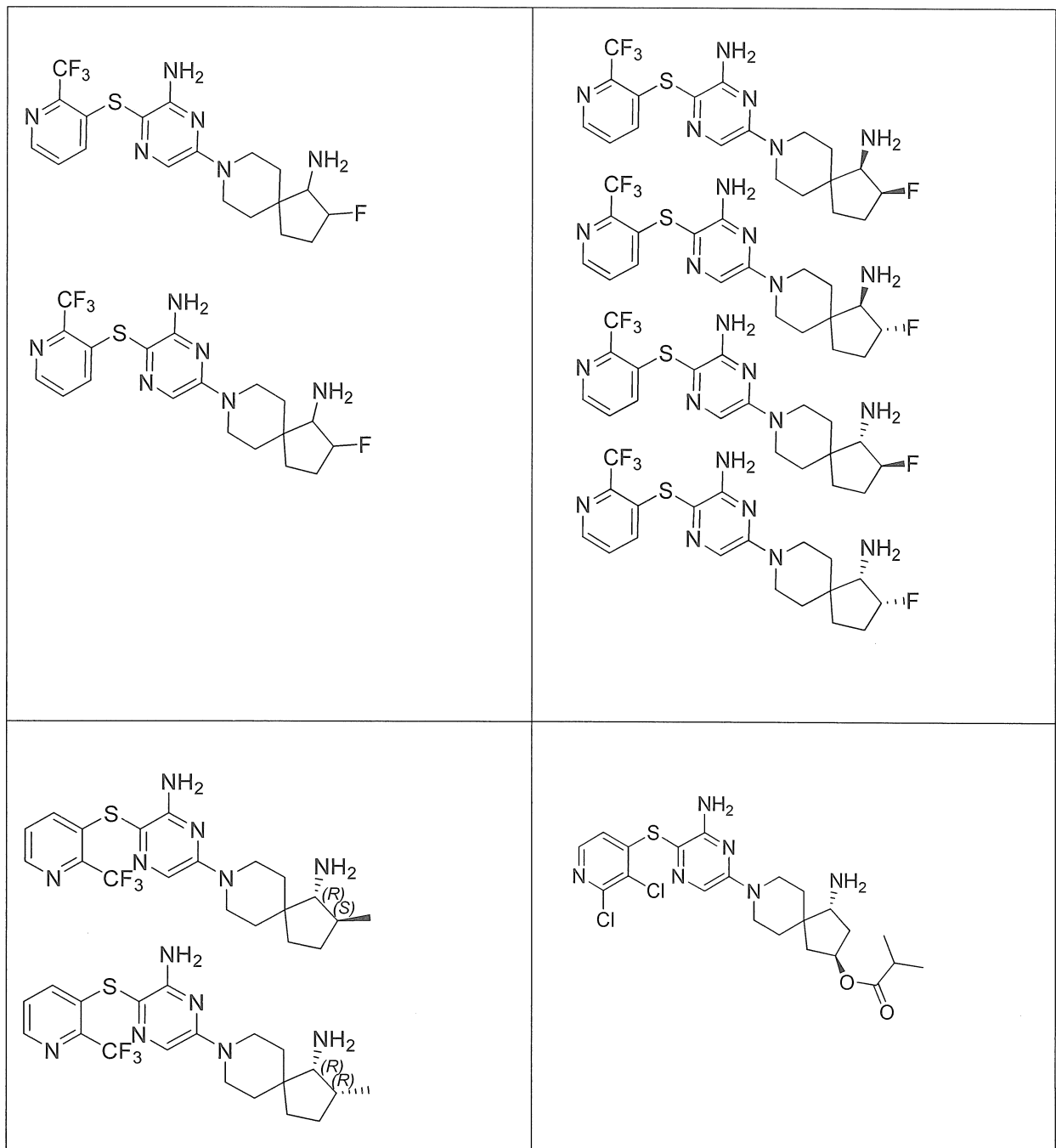
	
	

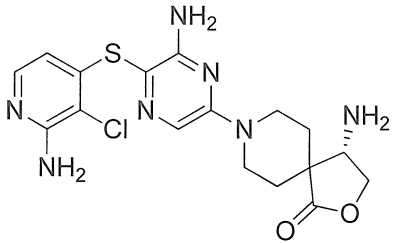
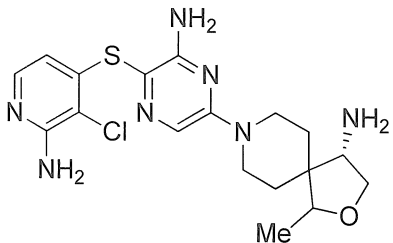
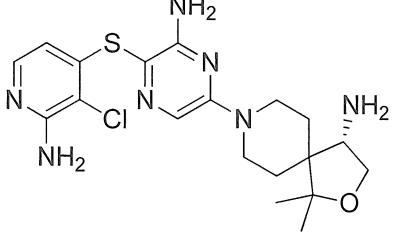
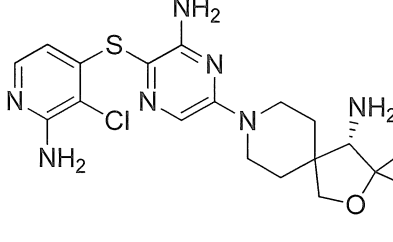
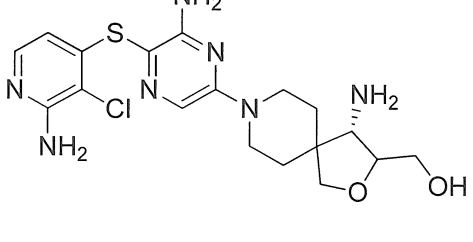
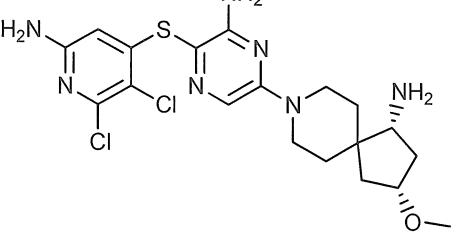
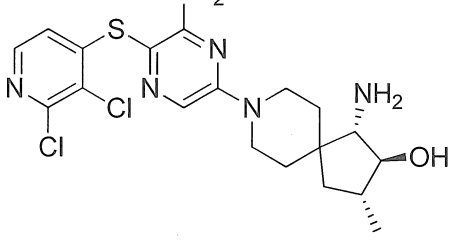
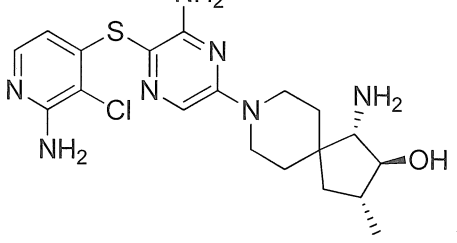
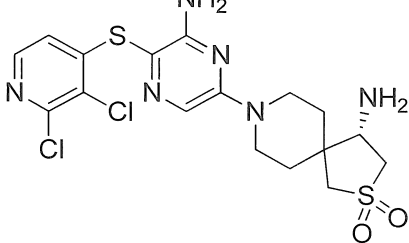
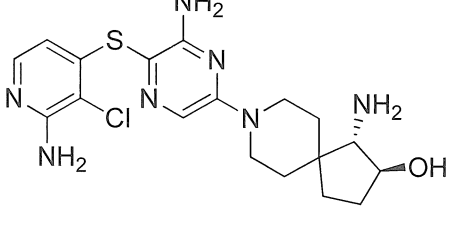
	
	
	
	

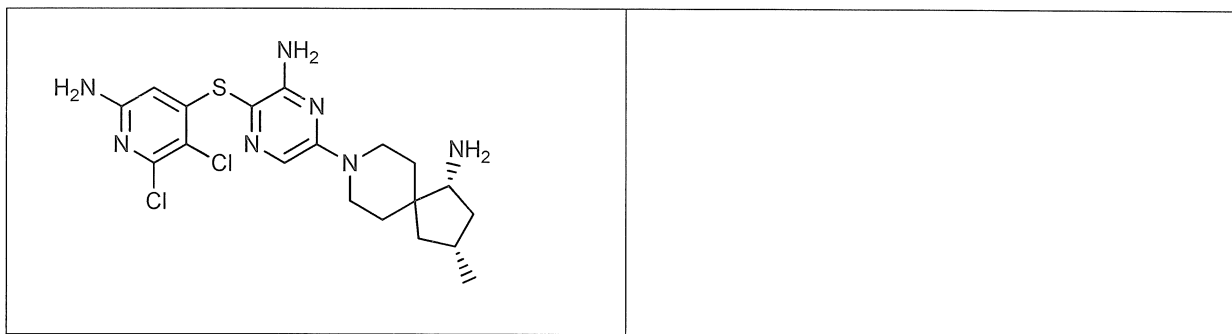




hoặc muối dược dụng của chúng.

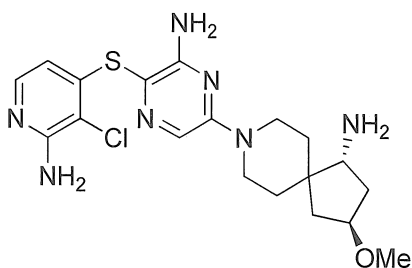
9. Hợp chất được chọn từ:



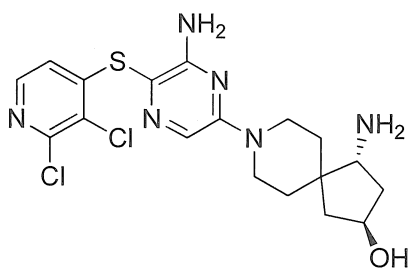
hoặc muối được dùng của chúng.

10. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là:



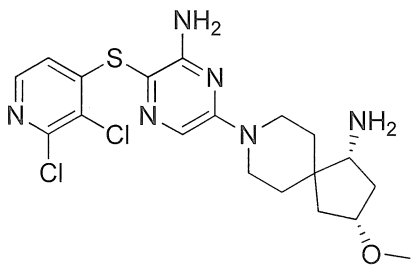
hoặc muối được dùng của nó.

11. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là:



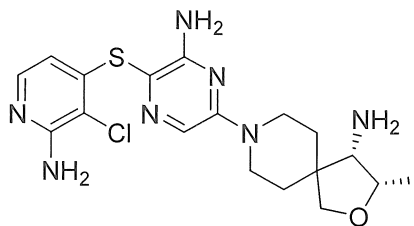
hoặc muối được dùng của nó.

12. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là:



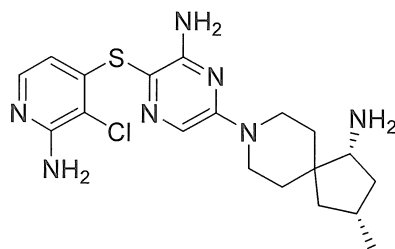
hoặc muối dược dụng của nó.

13. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối dược dụng của nó.

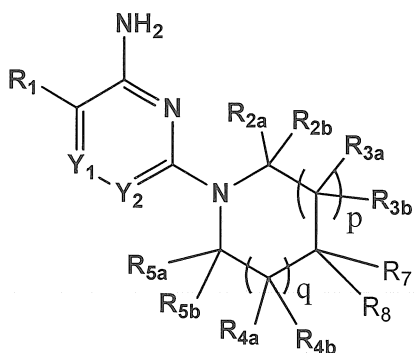
14. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là:



hoặc muối dược dụng của nó.

15. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một chất mang dược dụng.

16. Hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

p được chọn từ 0 và 1;

q được chọn từ 0 và 1;

Y₁ được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CR_6 và N;

R_1 là $-XR_{1a}$; trong đó R_{1a} được chọn từ $C_{6-10}aryl$, $C_{3-8}xycloalkyl$, $C_{3-8}xycloalkenyl$ và nhóm heteroaryl có 5-9 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S; trong đó aryl hoặc heteroaryl là R_{1a} đã nêu được thế bằng 1 đến 5 nhóm R_9 độc lập được chọn từ halo, amino, hydroxy, N_3 , $C_{1-4}alkyl$, dimethyl-amino, $C_{1-4}alkyl$ được thế bằng hydroxy, $C_{1-4}alkyl$ được thế halo và $C_{1-4}alkyl$ được thế amino, và X được chọn từ liên kết, $S(O)_m$, O, C(O), COR_{11} , $CR_{10a}R_{10b}$, NR_{11} ; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2;

mỗi R_{10a} và R_{10b} độc lập được chọn từ halo và $C_{1-4}alkyl$; và R_{11} được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$;

R_{2a} và R_{2b} độc lập được chọn từ hydro, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, amino, hydroxy, $C_{3-8}xycloalkyl$ và $C_{1-4}alkyl$ -amino;

R_{3a} và R_{3b} độc lập được chọn từ halo, cacbonyl, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, amino, hydroxy, $C_{3-8}xycloalkyl$ và $C_{1-4}alkyl$ -amino;

R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, amino, hydroxy, $C_{3-8}xycloalkyl$ và $C_{1-4}alkyl$ -amino;

R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, amino, hydroxy, $C_{3-8}xycloalkyl$ và $C_{1-4}alkyl$ -amino;

trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a} , R_{2b} , R_{3a} , R_{3b} , R_{4a} , R_{4b} , R_{5a} , R_{5b} và R_7 có thể tạo thành vòng không no hoặc no một phần có 5 đến 6 cạnh;

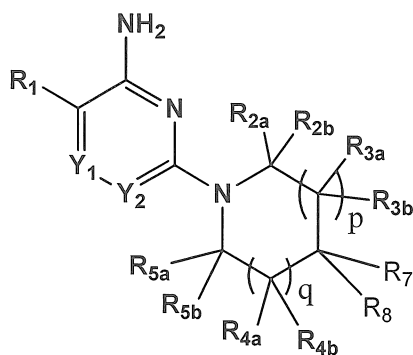
R_6 được chọn từ hydro, halo, xyano, $C_{1-4}alkyl$, $C_{1-4}alkoxy$, amino-cacbonyl, $C_{1-4}alkyl$ được thế halo, $C_{1-4}alkoxy$ được thế halo, $C_{1-4}alkyl$ được thế bằng hydroxy, $C_{1-4}alkyl$ được thế amino, $-S(O)_{1-2}R_{6a}$, $-C(S)R_{6a}$, $-C(O)NR_{6a}R_{6b}$, $-C(NH)NR_{6a}R_{6b}$ và $-NR_{6a}C(O)R_{6b}$; trong đó R_{6a} và R_{6b} độc lập được chọn từ hydro và $C_{1-4}alkyl$;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 3 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và $S(O)_m$; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2;

trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, methyl, methyl-amino và isobutyryloxy; hoặc muối được dụng của nó;

trong đó hợp chất đã nêu để điều trị bệnh hoặc rối loạn do hoạt tính của SHP2 gây ra.

17. Hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

p được chọn từ 0 và 1;

q được chọn từ 0 và 1;

Y_1 được chọn từ CH và N;

Y_2 được chọn từ CR_6 và N;

R_1 là $-XR_{1a}$; trong đó R_{1a} được chọn từ C_{6-10} aryl, C_{3-8} cycloalkyl, C_{3-8} cycloalkenyl và nhóm heteroaryl có 5-9 cạnh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S; trong đó aryl hoặc heteroaryl là R_{1a} đã nêu được thế bằng 1 đến 5 nhóm R_9 độc lập được chọn từ halo, amino, hydroxy, N_3 , C_{1-4} alkyl, dimethyl-amino, C_{1-4} alkyl được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkyl được thế halo và C_{1-4} alkyl được thế amino, và X được chọn từ liên kết, $S(O)_m$, O, C(O), COR_{11} , $CR_{10a}R_{10b}$, NR_{11} ; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2;

mỗi R_{10a} và R_{10b} độc lập được chọn từ halo và C_{1-4} alkyl; và R_{11} được chọn từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_{2a} và R_{2b} độc lập được chọn từ hydro, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} cycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

R_{3a} và R_{3b} độc lập được chọn từ halo, cacbonyl, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} xycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

R_{4a} và R_{4b} độc lập được chọn từ hydro, halo, cacbonyl, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} xycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

R_{5a} và R_{5b} độc lập được chọn từ hydro, cacbonyl, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino, hydroxy, C_{3-8} xycloalkyl và C_{1-4} alkyl-amino;

trong đó hai nhóm bất kỳ được chọn từ R_{2a} , R_{2b} , R_{3a} , R_{3b} , R_{4a} , R_{4b} , R_{5a} , R_{5b} và R_7 có thể tạo thành vòng không no hoặc no một phần có 5 đến 6 cạnh;

R_6 được chọn từ hydro, halo, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, amino-cacbonyl, C_{1-4} alkyl được thế halo, C_{1-4} alkoxy được thế halo, C_{1-4} alkyl được thế bằng hydroxy, C_{1-4} alkyl được thế amino, $-S(O)_{1-2}R_{6a}$, $-C(S)R_{6a}$, $-C(O)NR_{6a}R_{6b}$, $-C(NH)NR_{6a}R_{6b}$ và $-NR_{6a}C(O)R_{6b}$; trong đó R_{6a} và R_{6b} độc lập được chọn từ hydro và C_{1-4} alkyl;

R_7 và R_8 cùng với nguyên tử cacbon mà chúng cùng gắn vào tạo thành vòng no hoặc không no một phần có 3 đến 7 cạnh mà có thể tùy ý chứa 1 đến 3 nguyên tử khác loại hoặc nhóm độc lập được chọn từ N, C(O), O và S(O)m; trong đó m được chọn từ 0, 1 và 2;

trong đó vòng no được tạo thành bởi R_7 và R_8 nêu trên có thể không được thế hoặc được thế bằng 1 đến 3 nhóm độc lập được chọn từ amino, hydroxy, metoxy, halo, metyl, metyl-amino và isobutyryloxy; hoặc muối được dụng của nó;

trong đó hợp chất đã nêu để điều trị bệnh hoặc rối loạn do hoạt tính của SHP2 gây ra,

và bệnh và rối loạn do hoạt tính của SHP2 gây ra được chọn từ hội chứng Noonan, hội chứng da báo, bệnh bạch cầu tủy bào thiếu niên, u nguyên bào thần kinh, khối u ác tính, ung thư bạch cầu tủy cấp tính, ung thư vú, ung thư thực quản, ung thư phổi, ung thư ruột kết, ung thư đầu, u nguyên bào thần kinh, ung thư biểu mô tế bào vảy vùng đầu và cổ, ung thư biểu mô tế bào ruột, u lymphô tế bào lớn thoái sản và u nguyên bào thần kinh đệm.

18. Tổ hợp chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, và một hoặc nhiều hợp chất có hoạt tính được khác, trong đó hợp chất hoặc các hợp chất có hoạt tính được khác này được chọn từ vinca alkaloit, paclitaxel, docetaxel, vincristin,

vinblastin, vinorelbin, vinflunin, cisplatin, 5-flouraxil, 5-flo-2-4(1 H,3H)-pyrimidindion (5FU), flutamit và gemxitabin.

19. Tổ hợp chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 14, và một hoặc nhiều hợp chất có hoạt tính được khác, trong đó hợp chất hoặc các hợp chất có hoạt tính được khác này để sử dụng trong điều trị ung thư.