



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

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

(11)



1-0025173

(51)⁷ C07D 401/14; A61K 31/435; A61P 29/00; A61P 35/00; C07D 401/04; C07F 9/6596; C07D 409/14; C07D 413/14; C07D 417/14; C07D 471/04; C07F 9/6558; A61F 31/506; C07D 405/14 (13) B

(21) 1-2014-03309

(22) 01/03/2013

(86) PCT/US2013/028622 01/03/2013

(87) WO2013/130976A1 06/09/2013

(30) 61/605,523 01/03/2012 US

(45) 25/08/2020 389

(43) 25/12/2014 321A

(73) 1. ARRAY BIOPHARMA INC. (US)

3200 Walnut Street, Boulder, Colorado 80301, United States of America

2. GENENTECH, INC. (US)

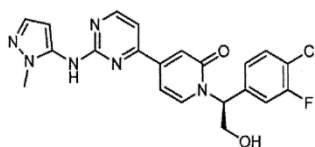
1 DNA Way, South San Francisco, California 94080-4990, United States of America

(72) BLAKE, James F. (US); CHICARELLI, Mark Joseph (US); GARREY, Rustam Ferdinand (US); GAUDINO, John (US); GRINA, Jonas (US); MORENO, David A. (US); MOHR, Peter J. (US); REN, Li. (CA); SCHWARZ, Jacob (US); CHEN, Huifen (US); ROBARGE, Kirk (US); ZHOU, Aihe (US).

(74) Công ty TNHH Quốc tế D & N (D&N INTERNATIONAL CO.,LTD.)

(54) HỢP CHẤT ỨC CHẾ SERIN/THREONIN KINAZA VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức sau hoặc muối dược dụng của nó, mà hữu dụng trong điều trị các bệnh tăng sinh quá mức, chứng đau hoặc bệnh viêm. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất ức chế serin/threonin kinaza và hữu dụng để điều trị bệnh tăng sinh quá mức và bệnh liên quan đến khối u bằng cách ức chế các đường truyền tín hiệu, mà thường hoạt động quá mức hoặc được biểu hiện quá mức ở các mô ung thư. Các hợp chất này là chất ức chế có chọn lọc kinaza được điều hòa bằng tín hiệu ngoại bào (ERK-extracellular-signal regulated kinase). Sáng chế còn đề cập đến được phẩm chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các quá trình bao gồm quá trình sinh trưởng, tiến triển và di căn của khối u được trung gian bởi các đường truyền tín hiệu mà được hoạt hóa ở các tế bào ung thư. Con đường ERK đóng vai trò trung tâm trong việc điều hòa quá trình sinh trưởng của tế bào động vật có vú bằng cách phát lại các tín hiệu ngoại bào từ thụ thể tyrosin kinaza (receptor tyrosine kinase-RTK) trên bề mặt tế bào được liên kết với phối tử, như họ ErbB, thụ thể tyrosin kinaza PDGF, FGF và VEGF. Sự hoạt hóa RTK gây ra một loạt các phản ứng phosphoryl hóa mà bắt đầu bằng sự hoạt hóa Ras. Sự hoạt hóa Ras dẫn đến sự tuyển chọn và hoạt hóa Raf, một serin-threonin kinaza. Sau đó, Raf được hoạt hóa sẽ phosphoryl hóa và hoạt hóa MEK1/2, sau đó, chất này phosphoryl hóa và hoạt hóa ERK1/2. Khi được hoạt hóa, ERK1/2 phosphoryl hóa một số đích cùng chiều tham gia vào vô số các sự kiện trong tế bào, bao gồm những biến đổi của bộ khung tế bào và sự hoạt hóa quá trình phiên mã. Con đường ERK/MAPK là một trong những đường quan trọng nhất đối với quá trình tăng sinh tế bào, và được cho rằng, con đường ERK/MAPK được hoạt hóa thường xuyên ở nhiều khối u. Các gen Ras, là các gen ngược chiều của ERK1/2, bị đột biến ở một số bệnh ung thư, bao gồm khối u đại trực tràng, u melanin, u vú và u tụy. Hoạt tính Ras cao đi kèm với hoạt tính ERK tăng ở nhiều khối u của người. Ngoài ra, các đột biến BRAF, một serin-threonin kinaza của họ Raf, có liên quan đến hoạt tính kinaza tăng. Các đột biến ở BRAF đã được xác định là các u melanin (60%), ung thư tuyến giáp (nhiều hơn 40%) và ung thư đại trực tràng. Những phát hiện này chỉ ra rằng đường truyền tín hiệu ERK1/2 là con đường hấp dẫn cho các liệu pháp điều trị chống ung thư đối với nhiều khối u khác

nhau ở người (Kohno, M. and J. Pouyssegur. “Pharmacological inhibitors of the ERK signaling pathway: application as anticancer drugs.” *Prog. Cell Cycle Res.*_Vol. 5 (2003): pp. 219-224).

Con đường ERK còn được đề cập là đích điều trị bệnh có nhiều triển vọng để điều trị chứng đau và bệnh viêm (Ma, Weiya and Remi Quirion. “The ERK/MAPK pathway, as a target for the treatment of neuropathic pain.” *Expert Opin. Ther. Targets.* 9(4) (2005): pp. 699-713; và Sommer, Claudia and Frank Birklein. “Resolvins and inflammatory pain.” *F1000 Medicine Reports.* 3:19 (2011)).

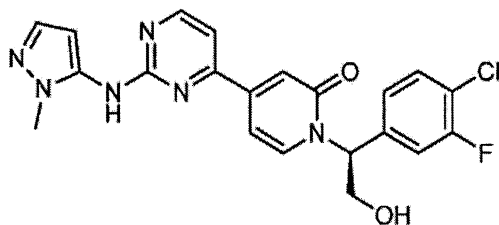
Do đó, các chất phân tử nhỏ ức chế hoạt tính ERK (tức là hoạt tính ERK1 và/hoặc hoạt tính ERK2) sẽ là hữu ích để điều trị nhiều bệnh ung thư khác nhau, như, ví dụ, u melanin, ung thư tụy, ung thư tuyến giáp, ung thư đại trực tràng, ung thư phổi, ung thư vú, và ung thư buồng trứng cũng như điều trị chứng đau và bệnh viêm, như viêm khớp, đau dưới lưng, bệnh viêm ruột, và bệnh thấp khớp. Vai trò như vậy được đề xuất trong sáng chế.

Tài liệu WO 03/099808 mô tả các hợp chất dị vòng khác nhau và việc sử dụng chúng trong điều trị bệnh. WO 2005/123680 mô tả các hợp chất dị vòng khác nhau có hoạt tính làm các chất ức chế serin proteaza và việc sử dụng chúng trong điều trị bệnh. WO 01/42241 mô tả các hợp chất pyridazin được thể có hoạt tính ức chế xytokin và việc sử dụng chúng trong điều trị. WO2010/077275 mô tả các hợp chất xyclohexan-pyridazin làm chất ức chế prostacyclin (PGI₂) và việc sử dụng chúng trong điều trị bệnh. McIntyre et al., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2002 (12), 689-692 mô tả các chất ức chế gốc pyridazin p38 MAPK.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

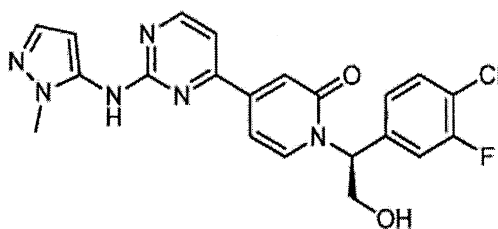
Có nhu cầu liên tục về các tác nhân điều trị bệnh mới mà có thể được sử dụng để điều trị bệnh ung thư và các tình trạng bệnh lý tăng sinh quá mức. Con đường Raf/MEK/ERK là đường truyền tín hiệu quan trọng, mà thường được biểu hiện quá mức và/hoặc hoạt động quá mức ở nhiều khối u ung thư. Việc thiết kế và phát triển các hợp chất được phẩm mới là cần thiết.

Cụ thể hơn, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau:



hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức sau:



hoặc muối được dụng của nó. Theo một phương án khác, được phẩm bao gồm ít nhất một tá được dụng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các khía cạnh của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết theo một số phương án, ví dụ về các phương án này được minh họa trong các công thức kèm theo. Trong khi các phương án được liệt kê sẽ được mô tả, cần phải hiểu rằng các phương án này không nhằm làm giới hạn sáng chế ở các phương án đó. Trái lại, sáng chế được dự tính để bao gồm tất cả các dạng thay thế, cải biến và tương đương, có thể được bao gồm trong phạm vi của sáng chế như được xác định trong yêu cầu bảo hộ kèm theo. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận ra nhiều phương pháp và nguyên liệu tương tự hoặc tương đương với phương pháp và nguyên liệu được mô tả trong sáng chế, có thể được sử dụng trong thực hành sáng chế. Sáng chế không bị giới hạn ở các phương pháp và nguyên liệu được mô tả theo bất kỳ cách nào. Trong trường hợp một hoặc nhiều tài liệu và các nguyên liệu tương tự được đưa vào khác hoặc trái ngược với đơn sáng chế này, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các thuật ngữ được định nghĩa, cách sử dụng thuật ngữ, các kỹ thuật được mô tả hoặc tương tự, thì đơn sáng chế này có quyền kiểm soát.

Định nghĩa

Cụm từ “một” hoặc “một” thực thể như được sử dụng ở đây để chỉ một hoặc nhiều thực thể đó; ví dụ, một hợp chất chỉ một hoặc nhiều hợp chất hoặc ít nhất một hợp chất. Do đó, các thuật ngữ “một” (hoặc “một”), “một hoặc nhiều”, và “ít nhất một” có thể được sử dụng thay đổi nhau trong bản mô tả.

Cụm từ “như được định nghĩa ở đây” chỉ định nghĩa rộng nhất cho mỗi nhóm như được đưa ra trong phần mô tả chi tiết sáng chế hoặc yêu cầu bảo hộ rộng nhất. Trong tất cả các phương án được đưa ra dưới đây, các phần tử thể có thể có mặt trong mỗi phương án, và các phần tử thể này không được định nghĩa một cách rõ ràng, vẫn có định nghĩa rộng nhất được đưa ra trong phần mô tả chi tiết sáng chế.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, bất kể trong cụm từ chuyển tiếp hoặc trong phần yêu cầu bảo hộ, các thuật ngữ “bao gồm” và “bao gồm” có thể được giải thích là có nghĩa không giới hạn. Tức là, các thuật ngữ này có thể được giải thích đồng nghĩa với các cụm từ “có ít nhất” hoặc “bao gồm ít nhất”. Khi được sử dụng trong ngữ cảnh là một quá trình, thuật ngữ “bao gồm” có nghĩa là quá trình này bao gồm ít nhất các bước được đề cập, nhưng có thể bao gồm các bước bổ sung. Khi được sử dụng trong ngữ cảnh là hợp chất hoặc chế phẩm, thuật ngữ “bao gồm” có nghĩa là hợp chất hoặc chế phẩm này bao gồm ít nhất các dấu hiệu hoặc thành phần được đề cập, nhưng cũng có thể bao gồm các dấu hiệu hoặc thành phần bổ sung. Ngoài ra, các từ “bao gồm,” “gồm có,” và “gồm” khi được sử dụng trong bản mô tả này và trong các điểm yêu cầu bảo hộ sau nhằm để chỉ rõ sự có mặt của các dấu hiệu, con số, thành phần hoặc các bước được đề cập, nhưng chúng không giới hạn sự có mặt hoặc bổ sung một hoặc nhiều dấu hiệu, con số, thành phần hoặc các bước khác hoặc các tổ hợp của các yếu tố này.

Thuật ngữ “một cách độc lập” được sử dụng ở đây để chỉ sự biến đổi được áp dụng trong trường hợp bất kỳ mà không có liên quan đến sự có mặt hoặc không có mặt của sự biến đổi có định nghĩa giống hoặc khác trong cùng hợp chất. Do đó, trong hợp chất mà trong đó R” xuất hiện hai lần và được định nghĩa là “cacbon hoặc nitơ độc lập”, thì cả hai R” có thể là cacbon, cả hai R” có thể là nitơ, hoặc một R” có thể là cacbon và R” còn lại có thể là nitơ.

Thuật ngữ “tùy ý” hoặc “một cách tùy ý” như được sử dụng ở đây có nghĩa là

sự kiện hoặc trường hợp được mô tả sau đó có thể, nhưng không nhất thiết xảy ra và sự mô tả đó bao gồm các trường hợp trong đó sự kiện hoặc trường hợp xảy ra và các trường hợp mà trong đó không xảy ra. Ví dụ, “được thể một cách tùy ý” có nghĩa là gốc được thể một cách tùy ý có thể kết hợp hydro hoặc phân tử thể.

Thuật ngữ “khoảng” được sử dụng ở đây để chỉ xấp xỉ, trong khoảng, phỏng chừng, hoặc khoảng chừng. Khi thuật ngữ “khoảng” được sử dụng đi kèm với khoảng số, nó làm thay đổi khoảng đó bằng cách mở rộng giới hạn trên và dưới các giá trị số được đề cập. Nhìn chung, thuật ngữ “khoảng” được sử dụng ở đây để làm thay đổi giá trị số trên và dưới trị số được đề cập theo biến thiên 20%.

Như được sử dụng ở đây, việc đề cập đến khoảng số đối với một biến số nhằm mục đích chuyển tải rằng sáng chế có thể được thực hiện với biến số bằng với trị số bất kỳ trong khoảng đó. Do đó, đối với biến số mà vốn đã riêng biệt, biến số này có thể bằng với giá trị số nguyên bất kỳ trong khoảng số, bao gồm các điểm đầu của khoảng đó. Tương tự, đối với biến số mà vốn đã liên tục, biến số này có thể bằng với trị số thực bất kỳ của khoảng số, bao gồm các điểm đầu của khoảng đó. Ví dụ, biến số mà được mô tả có trị số nằm giữa 0 và 2, có thể là 0, 1 hoặc 2 hoặc các biến số mà vốn đã riêng biệt, và có thể là 0,0, 0,1, 0,01, 0,001, hoặc trị số thực khác bất kỳ cho biến số mà vốn đã riêng biệt.

Các hợp chất theo sáng chế biểu hiện hiện tượng hồ biến. Các hợp chất có hiện tượng hồ biến có thể tồn tại dưới hai hoặc nhiều loại có thể chuyển đổi lẫn nhau. Các chất hồ biến dị biến proton tạo ra từ sự di chuyển của nguyên tử hydro của liên kết cộng hóa trị giữa hai nguyên tử. Các chất hồ biến nhìn chung tồn tại cân bằng và những nỗ lực để phân lập các chất hồ biến riêng rẽ thường tạo ra hỗn hợp có các đặc tính hóa học và vật lý giống với hỗn hợp của các hợp chất. Vị trí của cân bằng phụ thuộc vào tính chất hóa học bên trong phân tử. Ví dụ, trong nhiều aldehyt và keton béo, như axetaldehyt, dạng keto chiếm ưu thế; trong khi trong các phenol, dạng enol chiếm ưu thế. Các chất hồ biến dị biến proton phổ biến bao gồm các chất hồ biến keto/enol ($\text{-C(=O)-CH}_2\text{-} \leftrightarrow \text{-C(-OH)=CH-}$), amit/axit imidic ($\text{-C(=O)-NH-} \leftrightarrow \text{-C(-OH)=N-}$) và amidin ($\text{-C(=NR)-NH-} \leftrightarrow \text{-C(-NHR)=N-}$). Đặc biệt là, hai nhóm sau phổ biến trong vòng heteroaryl và dị vòng, và sáng chế bao gồm tất cả các dạng hồ biến của hợp chất.

Các hợp chất theo sáng chế chứa trung tâm bazơ và các muối cộng axit thích hợp được tạo ra từ axit mà tạo ra các muối không độc. Ví dụ về các muối của axit vô cơ bao gồm các muối hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, clorua, bromua, iodua, sulfat, bisulfat, nitrat, phosphat, và hydro phosphat. Ví dụ về các muối hữu cơ bao gồm axetat, fumarat, pamoat, aspartat, besylat, cacbonat, bicarbonat, camsylat, D và L-lactat, D và L-tartrat, esylat, mesylat, malonat, orotat, gluxseptat, metylsulfat, stearat, glucuronat, 2-napsylat, tosylat, hibenzat, nicotinat, isethionat, malat, maleat, xitrat, gluconat, succinat, sacarat, benzoat, esylat, và pamoat. Để biết tổng quan về các muối này, xem ấn phẩm: Berge, Stephen M., et al. "Pharmaceutical salts." J. Pharm. Sci. Vol. 66, No. 1 (1977): 1-19, và Paulekuhn, G. Steffen, et al. "Trends in Active Pharmaceutical Ingredient Salt Selection based on Analysis of the Orange Book Database." J. Med. Chem. Vol. 50, No. 26 (2007): 6665-6672.

Các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng trong bản mô tả có nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực liên quan đến sáng chế, trừ khi được định nghĩa khác. Việc viện dẫn được đưa vào bản mô tả với các phương pháp và vật liệu khác nhau mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết. Tài liệu tham khảo chuẩn đề cập đến các nguyên lý được học bao gồm ấn phẩm: Hardman, Joel Griffith, et al. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: McGraw-Hill Professional, 2001. Nguyên liệu khởi đầu và các chất phản ứng được sử dụng trong điều chế các hợp chất này nhìn chung là có sẵn từ các nhà cung cấp trên thị trường, như Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), hoặc được điều chế bằng phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực theo các quy trình được đề cập trong các tài liệu tham khảo. Các vật liệu và chất phản ứng và chất tương tự mà các tài liệu tham khảo đề cập được tạo ra trong bản mô tả và các ví dụ sau đây có thể thu được từ các nguồn thương mại, trừ khi có lưu ý khác. Các quy trình tổng hợp chung được mô tả các hiệp ước, như Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis. v. 1-23, New York: Wiley 1967-2006 ed. (cũng có sẵn trên trang web Wiley InterScience®); LaRock, Richard C., Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations. New York: Wiley-VCH, 1999; B. Trost và I. Fleming, eds. Comprehensive Organic Synthesis. v. 1-9, Oxford: Pergamon 1991; A. R. Katritzky và C. W. Rees, eds. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. Oxford: Pergamon 1984; A. R. Katritzky and C. W. Rees,

eds. Comprehensive Heterocyclic Chemistry II. Oxford: Pergamon 1996; và Paquette, Leo A., ed. Organic Reactions. v. 1-40, New York: Wiley & Sons 1991; và là hiểu biết thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” để chỉ các biện pháp chữa bệnh, dự phòng bệnh, làm thuyên giảm hoặc ngăn ngừa bệnh. Lợi ích hoặc hiệu quả lâm sàng mong muốn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở việc làm thuyên giảm các triệu chứng, làm giảm mức độ bệnh, làm ổn định (tức là không làm tồi tệ hơn) tình trạng của bệnh, ngăn cản hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh, làm thuyên giảm hoặc giảm nhẹ tình trạng bệnh, và làm dịu (bất kể một phần hoặc toàn bộ), bất kể phát hiện được hoặc không phát hiện được. “Việc điều trị” có thể còn có nghĩa là kéo dài sự sống so với sự sống mong muốn nếu không nhận được điều trị. Đối tượng cần điều trị bao gồm đối tượng đã mắc tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn, cũng như các đối tượng có khả năng mắc tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn này hoặc đối tượng đã được ngăn ngừa tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn này.

Cụm từ “lượng có hiệu quả chữa bệnh” hoặc “lượng có hiệu quả” để chỉ lượng của hợp chất được mô tả trong sáng chế mà, khi được dùng cho động vật có vú cần điều trị này, đủ để (i) điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn cụ thể, (ii) làm nhẹ, làm thuyên giảm, hoặc loại bỏ một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn cụ thể, hoặc (iii) ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn cụ thể được mô tả trong sáng chế. Lượng hợp chất mà tương đương với lượng như vậy sẽ phụ thuộc rất lớn vào các yếu tố như hợp chất, tình trạng bệnh lý cụ thể và mức độ trầm trọng của chúng, thể trạng (ví dụ cân nặng) của động vật có vú cần điều trị, nhưng tuy nhiên có thể được xác định một cách thông thường bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Thuật ngữ “bệnh ung thư” và “ung thư” chỉ hoặc mô tả tình trạng sinh lý ở động vật có vú mà thường được đặc trưng bởi sự sinh trưởng bất thường hoặc không kiểm soát được của tế bào. “Khối u” bao gồm một hoặc nhiều tế bào ung thư. Các ví dụ về bệnh ung thư bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở ung thư biểu mô, u lymphô, u nguyên bào, ung thư mô liên kết, và bệnh bạch cầu hoặc lymphô ác tính. Ví dụ cụ thể hơn về các bệnh ung thư này bao gồm ung thư tế bào có vảy (ví dụ ung thư tế bào

biểu mô có vảy), ung thư phổi bao gồm ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư phổi không tế bào nhỏ (“NSCLC”), ung thư biểu mô tuyến ở phổi và ung thư biểu mô tế bào có vảy ở phổi, ung thư màng bụng, ung thư tế bào gan, ung thư dạ dày hoặc bụng bao gồm ung thư dạ dày-ruột, ung thư tụy, u nguyên bào đệm, ung thư cổ tử cung, ung thư buồng trứng, ung thư gan, ung thư bàng quang, ung thư tế bào gan, ung thư vú, ung thư ruột kết, ung thư trực tràng, ung thư đại trực tràng, ung thư biểu mô màng trong tử cung hoặc ung thư biểu mô tử cung, ung thư biểu mô tuyến nước bọt, ung thư thận hoặc ung thư thận, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư gân thận, ung thư tuyến giáp, ung thư biểu mô tế bào gan, ung thư biểu mô hậu môn, ung thư biểu mô dương vật, ung thư da, bao gồm u melanin, cũng như ung thư đầu và cổ.

“Tác nhân hóa trị” là hợp chất hóa học hữu dụng trong điều trị bệnh ung thư. Ví dụ về các tác nhân hóa trị bao gồm erlotinib (TARCEVA®, Genentech/OSI Pharm.), bortezomib (VELCADE®, Millennium Pharm.), fulvestrant (FASLODEX®, AstraZeneca), sunitib (SUTENT®, Pfizer/Sugen), letrozol (FEMARA®, Novartis), imatinib mesylat (GLEEVEC®, Novartis), finasunat (VATALANIB®, Novartis), oxaliplatin (ELOXATIN®, Sanofi), 5-FU (5-flouraxil), leucovorin, Rapamycin (Sirolimus, RAPAMUNE®, Wyeth), Lapatinib (TYKERB®, GSK572016, Glaxo Smith Kline), Lonafamib (SCH 66336), sorafenib (NEXAVAR®, Bayer Labs), gefitinib (IRESSA®, AstraZeneca), AG1478, tác nhân alkyl hóa như thiotepa và CYTOXAN® xyclophosphamid; alkyl sulfonat như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridin như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramit, trietylenthiophosphoramit và trimetylmelamin; axetogenin (cụ thể là bulataxin và bulataxinon); camptothecin (bao gồm chất tổng hợp tương tự topotecan); bryostatin; calystatin; CC-1065 (bao gồm adozelesin, carzelesin và các chất tổng hợp tương tự bizelesin); cryptophycin (cụ thể là cryptophycin 1 và cryptophycin 8); dolastatin; duocarmycin (bao gồm các chất tổng hợp tương tự, KW-2189 và CB1-TM1); eleutherobin; pancratistatin; sarcodictyin; spongistatin; mù tạc nitơ như clorambuxil, clomaphazin, clophosphamid, estramustin, ifosfamid, mecloretamin, mecloretamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenesterin, prednimustin, trofosfamid, mù tạc uraxil; nitroure như carmustin, clozotoxin, fotemustin, lomustin, nimustin, và ranimustin; chất kháng sinh như chất kháng sinh enediyne (ví dụ calicheamixin, đặc

biệt là calicheamixin γ II và calicheamixin ω II (Angew Chem. Intl. Ed. Engl.1994 33:183-186); dynemixin, bao gồm dynemixin A; bisphosphonat, như clodronat; esperamixin; cũng như nhóm mang màu neocarzinostatin và nhóm mang màu kháng sinh protein màu enediyne liên quan), aclaxinomysin, actinomysin, authramysin, azaserin, bleomysin, cactinomysin, carabixin, caminomysin, carzinophilin, chromomycinis, dactinomysin, daunorubixin, detorubixin, 6-diazo-5-oxo-L-norleuxin, ADRIAMYXIN® (doxorubixin), morpholino-doxorubixin, xyanomorpholino-doxorubixin, 2-pyrolino-doxorubixin và deoxydoxorubixin), epirubixin, esorubixin, idarubixin, marxelomysin, mitomysin như mitomysin C, axit mycophenolic, nogalamysin, olivomysin, peplomysin, porfiromysin, puromysin, quelamysin, rodorubixin, streptonigrin, streptozoxin, tubexidin, ubenimex, zinostatin, zorubixin; kháng chất chuyển hóa như methotrexat và 5-flouraxil (5-FU); chất tương tự axit folic như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprin, thioguanin; chất tương tự pyrimidin như anxitabin, azaxitidin, 6-azauridin, carmofur, xytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enoxitabin, floxuridin; androgen như calusteron, dromostanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; kháng thượng thận như aminoglutethimit, mitotan, trilostan; chất làm đầy axit folic như axit frolinic; axeglaton; aldophosphamit glycosit; axit aminolevulinic; eniluraxil; amsacrin; bestrabuxil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolxin; diaziqun; elfomithin; elliptinium axetat; epothilon; etogluxit; gali nitrat; hydroxyurea; lentinan; lonidainin; maytansinoit như maytansin và ansamitoxin; mitoguazon; mitoxantron; mopidamnlol; nitraerin; pentostatin; phenamet; pirarubixin; losoxantron; axit podophylinic; 2-etylhydrazit; procarbazin; phức polysacarit PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxan; rhizoxin; sizofuran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziqun; 2,2',2''-triclortrietylamin; trichothexen (đặc biệt là T-2 toxin, verracurin A, roridin A và anguidin); uretan; vindesin; dacarbazin; manomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gaxytosin; arabinosit ("Ara-C"); xyclophosphamit; thiotepa; taxoit, ví dụ TAXOL (paclitaxel; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), ABRAXANE® (Cremophor-free), albumin-chế phẩm hạt nano được xử lý chứa paclitaxel (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, IL), và TAXOTERE® (doxetaxel, doxetaxel; Sanofi-Aventis); cloranmbuxil; GEMZAR® (gemxitabin); 6-thioguanin; mercaptopurin; methotrexat;

chất tương tự platin như xisplatin và carboplatin; vinblastin; etoposid (VP-16); ifosfamid; mitoxantron; vincristin; NAVELBINE® (vinorelbin); novantron; teniposid; edatrexat; daunomyxin; aminopterin; capecitabin (XELODA®); ibandronat; CPT-11; chất ức chế topoisomeraza RFS 2000; diflometylornithin (DMFO); retinoit như axit retinoic; và muối được dùng, axit và chất dẫn xuất của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên.

Định nghĩa “tác nhân hóa trị” còn bao gồm: (i) tác nhân kháng-hormon mà hoạt động để điều hòa hoặc ức chế hoạt động của hormon trên khối u, như kháng-estrogen và các chất điều biến thụ thể estrogen chọn lọc (SERM), bao gồm, ví dụ, tamoxifen (bao gồm NOLVADEX®; tamoxifen xitrat), raloxifen, droloxifen, 4-hydroxytamoxifen, trioxifen, keoxifen, LY117018, onapriston, và FARESTON® (toremifin xitrat); (ii) chất ức chế aromataza mà ức chế enzym aromataza, điều hòa sự sản sinh estrogen trong tuyến thượng thận, như, ví dụ, 4(5)-Imidazol, aminoglutethimit, MEGASE® (megestrol axetat), AROMASIN® (exemestan; Pfizer), formestanie, fadrozol, RIVISOR® (vorozol), FEMARA® (letrozol; Novartis), và ARIMIDEX® (anastrozol; AstraZeneca); (iii) kháng-androgen, như flutamit, nilutamit, bicalutamit, leuprolit, và goserelin; cũng như troxaxitabin (chất tương tự 1,3-dioxolan nucleosit xytosin); (iv) chất ức chế protein kinaza; (v) chất ức chế lipit kinaza; (vi) oligonucleotit đối nghĩa, cụ thể là các oligonucleotit ức chế sự biểu hiện của các gen trong đường truyền tín hiệu tham gia vào quá trình tăng sinh bất thường của tế bào, như, ví dụ, PKC-alpha, Raf và H-Ras; (vii) ribozym như các chất ức chế sự biểu hiện của VEGF (ví dụ ANGIOZYME®) và các chất ức chế sự biểu hiện của HER2; (viii) vacxin như vacxin liệu pháp gen, ví dụ, ALLOVECTIN®, LEUVECTIN®, và VAXID®; PROLEUKIN®, rIL-2; chất ức chế topoisomeraza 1 như LURTOTECAN®; ABARELIX® rmRH; (ix) tác nhân kháng tạo mạch như bevaxizumab (AVASTIN®, Genentech); và (x) muối được dùng, axit và các chất dẫn xuất của hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất nêu trên.

Cụm từ “được dùng” để chỉ chất hoặc chế phẩm tương thích về mặt hóa học và/hoặc độc học, với các thành phần khác trong dược phẩm, và/hoặc động vật có vú cần được điều trị bằng chất hoặc chế phẩm này.

Cụm từ “muối được dùng,” như được sử dụng ở đây, để chỉ muối vô cơ hoặc

hữu cơ được dụng của hợp chất được mô tả trong sáng chế.

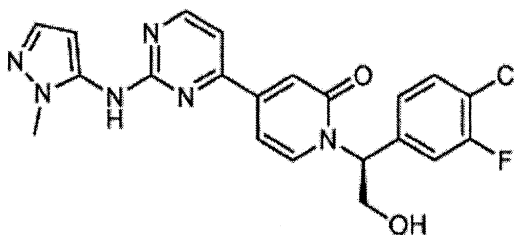
Các hợp chất được mô tả trong sáng chế còn bao gồm các muối khác của các hợp chất này mà không nhất thiết là muối được dụng, và có thể hữu dụng làm các chất trung gian để điều chế và/hoặc tinh chế các hợp chất được mô tả trong sáng chế và/hoặc để tách các chất đồng phân đối ảnh của các hợp chất được mô tả trong sáng chế.

Thuật ngữ “động vật có vú” chỉ động vật có vú máu nóng mà mắc hoặc có nguy cơ phát triển bệnh được mô tả trong sáng chế và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chuột lang, chó, mèo, chuột, chuột nhắt, chuột đồng, và động vật linh trưởng, bao gồm người.

Các chất ức chế ERK

Sáng chế đề xuất các hợp chất, và dược phẩm chứa hợp chất này, mà có thể hữu ích trong điều trị bệnh, tình trạng bệnh lý và/hoặc rối loạn được điều biến bởi ERK.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức sau:



hoặc muối được dụng của nó.

Trong các cấu trúc được thể hiện trong bản mô tả, trong đó hóa học lập thể của nguyên tử bất đối cụ thể bất kỳ không được chỉ rõ, do đó tất cả chất đồng phân lập thể được dự tính và bao gồm là các hợp chất được mô tả trong sáng chế. Trong đó hóa học lập thể được chỉ rõ bằng đường hình nêm đậm hoặc đường nét đứt biểu thị cấu hình cụ thể, do đó chất đồng phân lập thể được chỉ rõ và xác định.

Hơn nữa, cần phải hiểu rằng các hợp chất được mô tả trong sáng chế có thể tồn tại ở dạng không solvat cũng như dạng solvat với các dung môi được dụng, như nước, etanol, và các dung môi tương tự, và được dự tính rằng các hợp chất bao gồm cả các dạng solvat và không solvat.

Tổng hợp các hợp chất

Các hợp chất được mô tả trong sáng chế có thể được tổng hợp bằng các đường tổng hợp bao gồm các quy trình tương tự như các quy trình đã biết rõ trong lĩnh vực hóa học, cụ thể là như được đưa ra trong bản mô tả này và trong phần ví dụ thực hiện sáng chế.

Phương pháp tách

Có thể là thuận lợi để tách riêng các sản phẩm phản ứng với nhau và/hoặc từ nguyên liệu ban đầu. Các sản phẩm mong muốn của mỗi bước hoặc hàng loạt bước được tách và/hoặc tinh chế (sau đây gọi là được tách) đến mức độ đồng nhất mong muốn bằng các kỹ thuật phổ biến trong lĩnh vực. Thông thường, các kỹ thuật tách này bao gồm chiết nhiều pha, kết tinh từ dung môi hoặc hỗn hợp dung môi, chưng cất, thăng hoa, hoặc sắc ký. Sắc ký có thể bao gồm số lượng bất kỳ các phương pháp bao gồm, ví dụ: các phương pháp sắc ký pha đảo và pha thường; sắc ký loại trừ theo kích thước; sắc ký trao đổi ion; phương pháp và thiết bị sắc ký lỏng áp lực cao, trung bình, thấp; sắc ký phân tích quy mô nhỏ; sắc ký tầng chuyển động mô phỏng ("SMB") và sắc ký điều chế lớp mỏng hoặc lớp dày, cũng như các kỹ thuật sắc ký lớp mỏng quy mô nhỏ và sắc ký nhanh. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ áp dụng các phương pháp thích hợp nhất để đạt được sự tách mong muốn.

Các hỗn hợp đồng phân không đối quang có thể được tách thành các chất đồng phân không đối quang riêng rẽ dựa trên sự khác nhau về tính chất hóa lý bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đã biết, như bằng phương pháp sắc ký và/hoặc kết tinh phân đoạn. Các chất đồng phân đối ảnh có thể được tách bằng cách chuyển hóa hỗn hợp đồng phân đối ảnh thành hỗn hợp đồng phân không đối quang bằng phản ứng với hợp chất hoạt quang thích hợp (ví dụ chất hỗ trợ không đối xứng như rượu hoặc axit clorua Mosher không đối xứng), tách các chất đồng phân không đối quang và chuyển hóa (ví dụ thủy phân) các chất đồng phân không đối quang riêng rẽ thành các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết tương ứng. Các chất đồng phân đối ảnh cũng có thể được tách bằng cách sử dụng cột HPLC không đối xứng.

Một chất đồng phân lập thể, ví dụ một chất đồng phân đối ảnh, gần như không chứa chất đồng phân lập thể của nó có thể thu được bằng cách phân giải hỗn hợp triet

quang nhờ sử dụng phương pháp như tạo ra các chất đồng phân không đối quang nhờ sử dụng tác nhân phân giải hoạt quang (Eliel, E. and Wilen, S. Stereochemistry of Organic Compounds. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994; Lochmuller, C. H., et al., "Chromatographic resolution of enantiomers: Selective review." J. Chromatogr. Vol. 113, No. 3 (1975): pp. 283-302). Các hỗn hợp triệt quang của các hợp chất không đối xứng được mô tả trong sáng chế có thể và được phân lập bằng phương pháp thích hợp bất kỳ, bao gồm: (1) tạo các muối ion của chất đồng phân không đối quang với các hợp chất không đối xứng và tách bằng phương pháp kết tinh phân đoạn hoặc các phương pháp khác, (2) tạo các hợp chất đồng phân không đối quang với các chất phản ứng tạo dẫn xuất không đối xứng, tách các chất đồng phân không đối quang, và chuyển hóa thành các chất đồng phân lập thể tinh khiết, và (3) tách trực tiếp các chất đồng phân lập thể gần như tinh khiết hoặc được làm giàu dưới các điều kiện không đối xứng. Xem ấn phẩm: Wainer, Irving W., ed. Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology. New York: Marcel Dekker, Inc., 1993.

Theo phương pháp (1), các muối của chất đồng phân không đối quang có thể được tạo ra bằng cách tạo các bazơ không đối xứng tinh khiết về mặt chất đồng phân đối ảnh như bruxin, quinin, ephedrin, strychnin, α -metyl- β -phenyletylamin (amphetamin), và bazơ tương tự với các hợp chất không đối xứng mang nhóm chức axit, như axit carboxylic và axit sulfonic. Các muối của chất đồng phân không đối quang có thể được tạo ra để tách bằng cách kết tinh phân đoạn hoặc sắc ký ion. Để tách các chất đồng phân quang học của các hợp chất amino, bổ sung axit cacboxylic hoặc sulfonic không đối xứng, như axit camphorsulfonic, axit tartaric, axit mandelic, hoặc axit lactic, có thể dẫn đến sự tạo ra các muối của chất đồng phân không đối quang.

Theo cách khác, bằng phương pháp (2), cơ chất cần được phân giải được cho phản ứng với một chất đồng phân đối ảnh của hợp chất không đối xứng để tạo ra cặp chất đồng phân không đối quang (Eliel, E. and Wilen, S. Stereochemistry of Organic Compounds. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1994, p. 322). Chất đồng phân không đối quang có thể được tạo ra bằng cách cho các hợp chất không đối xứng phản ứng với chất phản ứng tạo dẫn xuất không đối xứng tinh khiết về mặt chất đồng phân đối ảnh, như các chất dẫn xuất menthyl, sau đó tách các chất đồng phân không đối

quang và thủy phân tạo ra chất đồng phân đối ảnh tinh khiết hoặc được làm giàu. Phương pháp xác định độ tinh khiết quang học bao gồm tạo các este không đối xứng, như menthyl este, ví dụ (-) menthyl cloformat với sự có mặt của bazơ, hoặc Mosher este, α -metoxy- α -(triflometyl)phenyl axetat (Jacob III, Peyton. "Resolution of ($\pm$)-5-Bromonornicotine. Synthesis of (*R*)- và (*S*)-Nornicotine of High Enantiomeric Purity." J. Org. Chem._Vol. 47, No. 21 (1982):pp. 4165-4167), của hỗn hợp triệt quang, và phân tích phổ ^1H NMR về sự có mặt của hai chất đồng phân đối ảnh loại đồng phân atropi hoặc chất đồng phân không đối quang. Các chất đồng phân không đối quang ổn định các hợp chất đồng phân atropi có thể được tách và phân lập bằng phương pháp sắc ký thường và sắc ký pha đảo, sau đó dùng các phương pháp tách đồng phân atropi naphthyl-isoquinolin (WO 96/15111).

Bằng phương pháp (3), hỗn hợp triệt quang gồm hai chất đồng phân đối ảnh có thể được tách bằng phương pháp sắc ký sử dụng pha tĩnh không đối xứng (Lough, W.J., ed. Chiral Liquid Chromatography. New York: Chapman and Hall, 1989; Okamoto, Yoshio, et al. "Optical resolution of dihydropyridin enantiomers by high-performance liquid chromatography using phenylcarbamate of polysaccharides as a chiral stationary phase." J. of Chromatogr. Vol. 513 (1990): pp. 375-378). Các chất đồng phân đối ảnh được làm giàu hoặc tinh khiết có thể được phân biệt bằng các phương pháp được sử dụng để phân biệt các phân tử không đối xứng khác với các nguyên tử cacbon không đối xứng, như quay quang và lưỡng sắc tuần hoàn.

Đánh giá sinh học

Việc xác định hoạt tính của hoạt tính ERK của hợp chất theo sáng chế là có thể bằng một số phương pháp thăm dò trực tiếp hoặc gián tiếp. Các hợp chất nhất định làm ví dụ được mô tả trong sáng chế được thử nghiệm về thử nghiệm ức chế ERK của chúng (ví dụ sinh học 1). Khoảng hoạt tính liên kết ERK nhỏ hơn 1nM (nanomol) đến khoảng 10 μ M (micromol). Thử nghiệm chức năng trên cơ sở tế bào (ví dụ sinh học 2) được sử dụng để xác định tác dụng của các chất ức chế ERK lên sự truyền tín hiệu xuôi chiều bằng cách thử nghiệm sự phosphoryl hóa P90RSK.

Sử dụng và dược phẩm

Các hợp chất được mô tả trong sáng chế có thể được dùng theo đường thích hợp bất kỳ với tình trạng bệnh lý cần điều trị. Các đường dùng thuốc thích hợp bao

gồm đường miệng, đường tiêm, (bao gồm dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong bì, nội tủy mạc và ngoài màng cứng), qua da, trực tràng, qua mũi, khu trú (bao gồm trong má và dưới lưỡi), âm đạo, trong màng bụng, trong phổi và trong mũi.

Các hợp chất này có thể được dùng ở dạng phân phối thích hợp bất kỳ, ví dụ viên nén, bột, viên nang, dung dịch, thuốc tán, hỗn dịch, sirô, phun xịt, thuốc đạn, gel, nhũ tương, miếng đắp, v.v.. Các chế phẩm này có thể chứa các thành phần thông thường trong bào chế dược phẩm, ví dụ chất pha loãng, chất mang, chất điều chỉnh pH, chất tạo ngọt, tác nhân tạo khối, và các tác nhân có hoạt tính khác. Nếu muốn sử dụng qua đường tiêm, các chế phẩm phải vô trùng và ở dạng dung dịch hoặc hỗn dịch thích hợp để tiêm hoặc truyền.

Chế phẩm dùng khu trú được bào chế bằng cách trộn hợp chất được mô tả trong sáng chế và chất mang, chất pha loãng hoặc tá dược. Các chất mang, chất pha loãng và tá dược thích hợp là đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và được mô tả chi tiết trong, ví dụ ấn phẩm: Ansel, Howard C., et al., *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2004; Gennaro, Alfonso R., et al. *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; và Rowe, Raymond C. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Chicago, Pharmaceutical Press, 2005. Các chế phẩm còn có thể bao gồm một hoặc nhiều chất đệm, chất làm ổn định, chất hoạt động bề mặt, chất làm ẩm, chất bôi trơn, chất nhũ hóa, chất tạo hỗn dịch, chất bảo quản, chất chống oxi hóa, chất làm đục, chất cải thiện tính chảy, các chất hỗ trợ xử lý, chất tạo màu, chất làm ngọt, chất tạo mùi thơm, chất tạo vị, chất pha loãng và các tá dược đã biết khác tạo ra hình thức trình bày tạo nhả cho thuốc (tức là hợp chất được mô tả trong sáng chế hoặc dược phẩm chứa hợp chất này) hoặc hỗ trợ trong quá trình sản xuất sản phẩm dược (tức là thuốc).

Một phương án đề xuất dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó. Phương án khác đề xuất dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của nó, cùng với tá dược dược dụng.

Phương pháp điều trị bằng các hợp chất theo sáng chế

Hợp chất và chế phẩm theo sáng chế có thể hữu dụng trong các phương pháp

điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý. Ví dụ về các bệnh và tình trạng bệnh lý này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các bệnh tăng sinh quá mức, như bệnh ung thư, và chứng đau hoặc các tình trạng bệnh viêm

Theo các phương án nhất định, bệnh tăng sinh quá mức là bệnh ung thư. Theo các phương án nhất định, bệnh ung thư có thể được chọn từ các bệnh ung thư vú, buồng trứng, cổ tử cung, tuyến tiền liệt, tinh hoàn, đường niệu-sinh dục, thực quản, thanh quản, u nguyên bào đệm, u nguyên bào thần kinh, dạ dày, da, u gai sừng, phổi, ung thư biểu mô dạng biểu bì, ung thư biểu mô tế bào lớn, NSCLC, ung thư biểu mô tế bào nhỏ, ung thư biểu mô dạng tuyến phổi, xương, ruột kết, u tuyến, tụy, ung thư biểu mô dạng tuyến, tuyến giáp, ung thư biểu mô dạng nang, ung thư biểu mô không biệt hóa, ung thư biểu mô dạng nhú, u tinh, u melanin, ung thư mô liên kết, ung thư biểu mô bàng quang, ung thư biểu mô gan và ống mật, ung thư biểu mô thận, rối loạn dạng tủy, rối loạn dạng bạch huyết, tế bào lông, khoang má và hầu-họng (miệng), môi, lưỡi, miệng, hầu, ruột non, ruột kết-trực tràng, ruột già, trực tràng, não và hệ thần kinh trung ương, Hodgkin và bệnh bạch cầu.

Theo các phương án nhất định, rối loạn viêm có thể được chọn từ viêm khớp, đau dưới lưng, bệnh viêm ruột, và bệnh thấp khớp.

Điều trị kết hợp

Các hợp chất được mô tả trong sáng chế và các muối được dụng của chúng có thể được sử dụng riêng hoặc kết hợp với các tác nhân chữa bệnh khác để điều trị. Các hợp chất được mô tả trong sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều thuốc bổ sung, ví dụ chất kháng tăng sinh (hoặc kháng ung thư) mà tác động thông qua việc hoạt động trên protein đích khác. Hợp chất thứ hai trong dược phẩm kết hợp hoặc phác đồ dùng liều kết hợp có các hoạt tính bổ trợ cho hợp chất được mô tả trong sáng chế, sao cho chúng không có tác động đối ngược nhau. Các phân tử này có mặt một cách phù hợp trong sự kết hợp với các lượng mà có hiệu quả cho mục đích mong muốn. Các hợp chất này có thể được sử dụng cùng nhau trong một dược phẩm đơn nhất hoặc sử dụng riêng rẽ và, khi được sử dụng riêng rẽ việc sử dụng này có thể xảy ra đồng thời hoặc liên tiếp theo thứ tự bất kỳ. Việc sử dụng liên tiếp này có thể gần hoặc cách xa nhau về mặt thời gian.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được bao gồm nhằm mục đích minh họa sáng chế. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng các ví dụ này không làm giới hạn sáng chế và chỉ có mục đích là đề xuất phương pháp thực hiện sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận ra rằng các phản ứng hóa học được mô tả có thể được làm thích hợp một cách dễ dàng để điều chế một số hợp chất khác được mô tả trong sáng chế, và các phương pháp thay thế để điều chế các hợp chất này được xem là nằm trong phạm vi của sáng chế. Theo cách khác, các phản ứng khác được bộc lộ ở đây hoặc đã biết trong lĩnh vực sẽ được nhận diện là có khả năng để điều chế các hợp chất khác được mô tả trong sáng chế.

Trong các ví dụ được mô tả dưới đây, trừ khi được chỉ định khác tất cả nhiệt độ được đề cập là độ C. Các chất phản ứng được mua từ các nhà cung cấp thương mại như Sigma-Aldrich, Alfa Aesar, hoặc TCI, và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trừ khi có quy định khác.

Các phản ứng được đề cập dưới đây được thực hiện nhìn chung dưới áp suất dương của khí nitơ hoặc argon hoặc với ống sấy khô (trừ khi được đề cập khác) trong các dung môi khan, và các bình phản ứng thường được làm thích hợp bằng các vách ngăn cao su để đưa cơ chất và chất phản ứng vào thông qua bơm tiêm. Các đồ thủy tinh được sấy khô bằng lò và/hoặc được sấy khô bằng nhiệt.

Tiến hành sắc ký cột trên hệ Biotage (Hãng sản xuất: Dyax Corporation) có cột silicagel hoặc trên đạn silic dioxit SepPak (Waters) (trừ khi được đề cập khác). Phổ ^1H NMR được ghi lại trên thiết bị Varian hoạt động ở 400 MHz. Phổ ^1H -NMR thu được là các dung dịch CDCl_3 , CD_3OD , D_2O , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$, C_6D_6 , CD_3CN (được báo cáo với đơn vị ppm), nhờ sử dụng tetrametylsilan (0,00 ppm) hoặc dung môi dư (CDCl_3 : 7,26 ppm; CD_3OD : 3,31 ppm; D_2O : 4,79 ppm; $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 2,50 ppm; $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$: 2,05 ppm; C_6D_6 : 7,16 ppm; CD_3CN : 1,94 ppm) làm chuẩn đối chứng. Nếu có vô số đỉnh được báo cáo, các chữ viết tắt sau được sử dụng: s (mức đơn), d (mức kép), t (mức ba), q (mức bốn), m (mức bội), br (được mở rộng), dd (mức kép của các mức kép), dt (mức kép của mức ba). Các hằng số liên quan, khi được đưa ra, được báo cáo với đơn vị Hertz (Hz).

Ví dụ sinh học 1

Thử nghiệm enzym ERK-2

Các hợp chất được thử nghiệm trong thử nghiệm enzym sử dụng ERK-2 của người (kinaza 1 được hoạt hóa nhờ tác nhân gây phân bào), được biểu hiện bằng cách tái tổ hợp dưới dạng protein dung hợp *n*-đầu tận cùng 6-His trong *E. coli* và tương ứng với các axit amin 8-360. Cơ chất được sử dụng là peptit Omnia phát huỳnh quang S/T17 (Invitrogen of Carlsbad, CA; Cat. KNZ1171C). Các hợp chất thử nghiệm được pha loãng trong dimethylsulfoxit (“DMSO”) trong các độ pha loãng theo thứ tự 3 lần ở các nồng độ cuối 100x. Ngoài hợp chất này, thử nghiệm bao gồm 50 mM HEPES [pH 7,3], 10mM MgCl₂, 1mM DTT, 0,005% Triton-X100, 5nM enzym ERK-2, 6,25μM cơ chất peptit S/T17 và 25μM ATP (tương ứng với K_m quan sát được) cho tổng thể tích phản ứng là 25μL. Thử nghiệm được chạy ở nhiệt độ môi trường trong đĩa polypropylen 384-giếng màu trắng (Nunc, Inc of Naperville, IL; Cat. 267462) thu dữ liệu mỗi 50 giây trong khoảng thời gian 30 phút trên máy đọc đĩa Envision (PerkinElmer, Inc. of Waltham, MA); Kích thích 340 nm/Phát 495 nm. Dữ liệu được thu từ mỗi giếng phù hợp theo đường thẳng và tỷ lệ thu được được sử dụng để tính toán phần trăm của đối chứng. Phần trăm của đối chứng được lập biểu đồ theo nồng độ hợp chất và trị số IC₅₀ được xác định nhờ sử dụng bốn thông số. Bảng 1 bao gồm dữ liệu đại diện cho các hợp chất được bộc lộ ở đây. Trị số IC₅₀ được báo cáo trong bảng 1 có thể là từ một thử nghiệm hoặc là giá trị trung bình của nhiều thử nghiệm.

Ví dụ sinh học 2

Thử nghiệm về sự phosphoryl hóa P90RSK(Ser380) trong tế bào

Sự ức chế quá trình phosphoryl hóa P90RSK(Ser380) được kích thích bởi PMA được xác định bằng thử nghiệm cơ học tế bào *in vitro* sau, thử nghiệm này bao gồm việc ủ tế bào với hợp chất trong 1,5 giờ và định lượng tín hiệu phát huỳnh quang pP90RSK(Ser380) trên các tế bào được cố định và chuẩn hóa đến tín hiệu GAPDH.

Tế bào HepG2 thu được từ ATCC và được sinh trưởng trong DMEM có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò. Tế bào được cấy trải trên đĩa 96 giếng với mật độ 35.000 tế bào/giếng và được để dính qua đêm ở nhiệt độ 37°C/5% CO₂. Sau đó, bổ sung các hợp chất được pha loãng ở nồng độ cuối là 0,5% DMSO. Sau 1,5 giờ ủ hợp chất, tế bào được kích thích bằng cách bổ sung phorbol 12-myristat 13-acetat

("PMA") ở nồng độ cuối là 100ng/mL; sự kích thích bằng PMA là quá trình ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C/5% CO₂. Sau khi kích thích bằng PMA 30 phút, rửa tế bào bằng nước muối đệm phosphat ("PBS") và cố định trong formaldehyt 3,7% trong PBS ở nhiệt độ trong phòng trong 15-20 phút. Tế bào sau đó được rửa một lần nữa trong PBS và sau đó tạo khả năng thấm được trong MeOH 100% ở nhiệt độ trong phòng trong 10-15 phút. Sau khi ủ tạo khả năng thấm được, rửa tế bào trong PBS/0,05% Tween-20, sau đó phong bế trong đệm phong bế Odyssey (LI-COR Biosciences) trong ít nhất 1 giờ. Bổ sung các kháng thể kháng P90RSK (Ser380) được phosphoryl hóa (Cell Signaling #9335, kháng thể đơn dòng của thỏ) và GAPDH (Fitzgerald 10R-G109a, kháng thể đơn dòng của chuột) vào tế bào và ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C. Kháng thể pP90RSK (Ser380) được sử dụng ở độ pha loãng 1:250; GAPDH được sử dụng ở độ pha loãng 1:10.000. Sau khi rửa bằng PBS/0,05% Tween-20, ủ tế bào bằng kháng thể thứ cấp được đánh dấu bằng cách phát huỳnh quang (Kháng-thỏ-Alexa Flour680, Invitrogen Cat#A21109; Kháng-chuột-IRDye800CW, Rockland Inc. Cat#610-131-121) trong 1 giờ. Cả hai kháng thể thứ cấp được sử dụng ở độ pha loãng 1:1000. Sau đó, rửa tế bào và phân tích về sự phát huỳnh quang ở cả hai bước sóng nhờ sử dụng hệ chụp ảnh hồng ngoại Odyssey Infrared Imaging System (LI-COR Biosciences). Tín hiệu P90RSK(Ser380) phosphoryl hóa được chuẩn hóa đến tính hiệu GAPDH. Bảng 1 chứa dữ liệu đại diện cho các hợp chất được bộc lộ ở đây. Trị số IC₅₀ được báo cáo trong bảng 1 có thể là từ một thử nghiệm hoặc là giá trị trung bình của nhiều thử nghiệm.

Bảng 1 bao gồm các ví dụ và ví dụ so sánh được thử nghiệm trong các thử nghiệm nêu trên. Ví dụ 39 là một ví dụ của sáng chế, các ví dụ còn lại dưới đây là các ví dụ so sánh

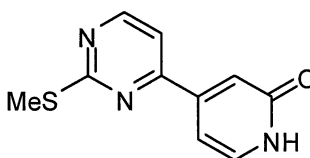
Bảng 1

Ví dụ #	IC ₅₀ (nM) của ví dụ sinh học 1	IC ₅₀ (nM) của ví dụ sinh học 2
Ví dụ 1	3,9	31,9
Ví dụ 2	3,2	59,1
Ví dụ 3	4,0	40,3
Ví dụ 4	3,8	8,5
Ví dụ 11	13,6	295,8

Ví dụ 12	51,8	931,7
Ví dụ 14	15,6	842,5
Ví dụ 20	145,6	>5000
Ví dụ 21	3,0	118,5
Ví dụ 39	3,3	15,5
Ví dụ 42	6,3	74,0
Ví dụ 50	11,5	292,4
Ví dụ 57	35,7	1774,6
Ví dụ 58	13,9	708,2
Ví dụ 60	53,0	1614,5
Ví dụ 65	6,3	67,5
Ví dụ 68	3,3	185,1
Ví dụ 87	3,0	152,6
Ví dụ 102	39,5	>5000
Ví dụ 103	10,4	511,0
Ví dụ 109	15,9	572,0
Ví dụ 120	3,8	86,6
Ví dụ 134	5,5	543,5
Ví dụ 139	13,7	371,8
Ví dụ 157	8,7	46,3
Ví dụ 166	2,9	12,9
Ví dụ 167	3,1	100,1
Ví dụ 172	2,9	12,9
Ví dụ 173	5,7	110,2
Ví dụ 185	3,9	19,6
Ví dụ 209	0,8	6,7
Ví dụ 250	1,6	15,2
Ví dụ 266	2,4	8,6
Ví dụ 270	2,2	22
Ví dụ 289	8,5	20,4
Ví dụ 290	15,8	26,5

Ví dụ 291	12,1	55,9
Ví dụ 293	9,8	16,8
Ví dụ 295	14,5	203,5
Ví dụ 305	4	53
Ví dụ α	249,1	954,7
Ví dụ β	2,6	99,6

Ví dụ chất trung gian A



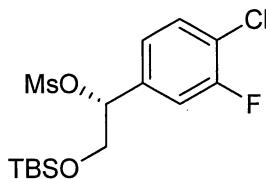
4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Huyền phù chứa 4-bromo-2-(methylthio)pyrimidin (7,00g, 34,1mmol), axit 2-flopyridin-4-ylboronic (5,05g, 35,8mmol), Na_2CO_3 (10,9g, 102mmol) và $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (1,40g, 1,71mmol) trong dioxan/ H_2O (100mL; 1:1) được gia nhiệt đến 85°C dưới bình cầu khí Ar trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ phòng và được cô. Phần cặn được pha loãng bằng etyl axetat (200mL) và nước (100mL). Các lớp được tách, và chiết lớp nước bằng etyl axetat (1X). Các lớp hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thông qua sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (3:1) tạo ra 4-(2-flopyridin-4-yl)-2-(methylthio)pyrimidin (6,83g, 90%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 8,85 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,46 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,11 (m, 1H), 7,96 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 7,92 (s, 1H), 2,62 (s, 3H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 222,1$.

Bước B: Huyền phù chứa 4-(2-flopyridin-4-yl)-2-(methylthio)pyrimidin (6,83g, 30,9mmol) trong HCl 2N (100mL) được gia nhiệt đến hồi lưu trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát đến nhiệt độ phòng và được đặt trong bình nước đá. PH được điều chỉnh đến khoảng 7 bằng NaOH 2N (khoảng 100mL). Thu các chất rắn tạo thành bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô tạo ra 4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (5,07g) dưới dạng chất rắn. Vật liệu này được đặt trong ống hình trụ của dụng cụ Soxhlet và được gắn vào bình 1L được nạp etyl axetat (500mL). Vật liệu này được chiết liên tục trong 3 ngày. Kết tủa màu trắng thu được từ lớp etyl axetat được thu bằng cách lọc (3,3g, hiệu suất 49%). ^1H NMR (400 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 11,85

(br, s, 1H), 8,75 (d, J=5,0 Hz, 1H), 7,79 (d, J=5,0 Hz, 1H), 7,54 (d, J=7,0 Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 6,86 (d, J=7,0 Hz, 1H), 2,58 (s, 3H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 220,0$.

Ví dụ chất trung gian B



(*R*)-2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat

Bước A: Bổ sung từng phần natri hydrua (8,549g, 213,7mmol, huyền phù 60% trong dầu khoáng) vào dung dịch lạnh (0°C) chứa 4-clo-3-flobenzaldehyt (26,07g, 164,4mmol) và metyltriphenylphosphoni bromua (70,48g, 197,3mmol) trong THF (400mL). Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Loại chất rắn bằng cách lọc, và rửa bã lọc bằng ete. Cô dịch lọc (bình chứa nước khoảng 20°C), và phần cặn được huyền phù trong hexan và khuấy trong 30 phút. Loại chất rắn (chủ yếu là PPh_3O) bằng cách lọc, và rửa bã lọc bằng hexan. Cô dịch lọc, và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (25:1) tạo ra 1-clo-2-flo-4-vinylbenzen (12,1g, 47%) dưới dạng dầu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,33 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,10 (m, 1H), 6,63 (m, 1H), 5,74 (d, J=17,4 Hz, 1H), 5,32 (d, J=10,8 Hz, 1H).

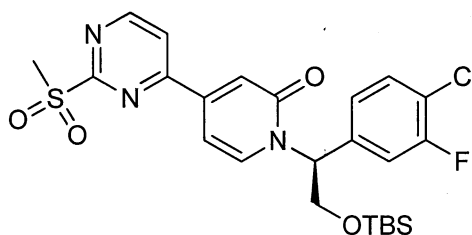
Bước B: Bổ sung 1-clo-2-flo-4-vinylbenzen (12,1g, 77,3mmol) vào dung dịch lạnh (0°C) chứa AD-hỗn hợp- β (108g, 139mmol) trong *t*-BuOH/ H_2O (600 mL; 1:1), và hỗn hợp này được để ấm đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Ngày tiếp theo, phản ứng được đặt trong bình nước đá và được dừng bằng Na_2SO_3 rắn (114g). Khuấy hỗn hợp trong 1 giờ và sau đó chiết bằng etyl axetat (3 X 500mL). Các chất hữu cơ kết hợp được làm khô, lọc và cô tạo ra (*R*)-1-(4-clo-3-flophenyl)etan-1,2-diol dưới dạng dầu. Sản phẩm thô được sử dụng trong bước C mà không cần tinh chế.

Bước C: Bổ sung imidazol (13,1g, 193mmol) vào dung dịch lạnh (0°C) chứa (*R*)-1-(4-clo-3-flophenyl)etan-1,2-diol (14,7g, 77,1mmol) trong DCM (100mL), sau đó bổ sung TBSCl (12,8g, 84,8mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 1 giờ và sau đó dừng bằng nước (50mL). Các lớp được tách, và các lớp hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thông qua sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat

(100:1) tạo ra (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etanol (11,0g, 47% over two bướcs), ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,36 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,08 (m, 1H), 4,71 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,49 (m, 1H), 2,96 (d, $J=2,6$ Hz, 1H), 0,90 (s, 9H), 0,07 (s, 3H), 0,06 (s, 3H).

Bước D: Trietylamin (2,09mL, 15,0mmol) được bổ sung vào dung dịch lạnh (0°C) chứa (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etanol (3,05g, 10,0mmol) trong DCM (100mL), theo sau là metansulfonyl clorua (0,929mL, 12,0mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0°C trong 30 phút và sau đó được dừng bằng nước (50mL). Các lớp được tách, và rửa lớp hữu cơ bằng NaHCO_3 bão hòa, làm khô, lọc và cô tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế sản phẩm thô thông qua sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (25:1) tạo ra (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (3,80g, 99%) dưới dạng dầu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,42 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,12 (m, 1H), 5,50 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 2,98 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,05 (s, 3H), 0,04 (s, 3H).

Ví dụ chất trung gian C



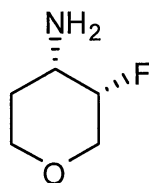
(*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Bổ sung 1,0M KHMDS (5,09mL, 5,09mmol) dưới dạng dung dịch trong THF vào huyền phù lạnh (0°C) chứa 4-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,93g, 4,24mmol) trong THF (20mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 10 phút trước khi bổ sung (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (2,44g, 6,36mmol) dưới dạng dung dịch trong THF (5mL). Gia nhiệt phản ứng đến hồi lưu trong 30 giờ và sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng và cô. Đưa phần cặn vào etyl axetat (200mL) và rửa bằng nước. Các lớp hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thông qua sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (4:1) tạo ra (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (1,35g, 63%) dưới

dạng chất rắn. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,66 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 7,43 (m, 2H), 7,34 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 7,32-7,28 (m, 2H), 7,16 (m, 1H), 6,85 (m, 1H), 6,24 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,23 (m, 1H), 2,65 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,03 (s, 3H), -0,03 (s, 3H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 506,1, 508,1$.

Bước B: Bổ sung *m*CPBA (7,1g, 29mmol) vào dung dịch lạnh (0°C) chứa (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (5,8g, 11mmol) trong DCM (100mL), và khuấy hỗn hợp trong 2 giờ. Rửa hỗn hợp phản ứng bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bão hòa (1X), NaHCO_3 (1X), làm khô, lọc, và cho bay hơi. Tinh chế sản phẩm thô thông qua sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (1:1) tạo ra (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (5,5g, 89%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,06 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 7,91 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 7,55 (d, $J=7,4$ Hz, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,32 (d, $J=2,4$ Hz, 1H), 7,27 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 6,93 (m, 1H), 6,22 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,45 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,03 (s, 3H), -0,03 (s, 3H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 538,1, 540,0$.

Ví dụ chất trung gian D



(3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin

Bước A: 1-Clometyl-4-flo-1,4-diazoniabixyclo[2.2.2]octan *bis*-tetraflororat (147g, 414mmol; Selectfluor®) được đặt trong axetonitril/nước (800mL; 1:1) trong bình đáy tròn 3L và làm lạnh đến 0°C . Sau đó, bổ sung nhỏ giọt dung dịch axetonitril (“ACN”) được khuấy kỹ (120mL) chứa 4-metoxi-3,6-dihydro-2*H*-pyran (45,0g, 394mmol). Khuấy phản ứng trong 30 phút trong bình nước đá, và sau đó bỏ bình ra. Khuấy phản ứng thêm 1 giờ nước. Sau đó bổ sung NaCl rắn (200g) vào phản ứng, cùng với DCM (300mL). Sau đó, bổ sung từ từ dung dịch Na_2CO_3 bão hòa đến khi pH bằng 10. Sau đó, rót phản ứng vào phễu tách 4L và chiết vào DCM (3X). Sau đó, đặt lớp nước vào thiết bị chiết lỏng-lỏng liên tục với DCM và gia nhiệt đến 58°C trong 18 giờ. Sau đó làm khô các lớp hữu cơ kết hợp (MgSO_4), lọc và cô ở 20°C trên thiết bị

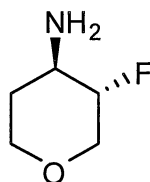
bay hơi kiểu quay tạo ra sản phẩm thô. Tinh chế bằng sắc ký cột (500:3-500:5 DCM:MeOH) cho ra sản phẩm 3-flodihydro-2*H*-pyran-4(3*H*)-on (30g, hiệu suất 64,4%).

Bước B: 3-Flodihydro-2*H*-pyran-4(3*H*)-on (30g, 254mmol) được đặt trong 1,2-dicloetan ("DCE") (800mL) và làm lạnh đến 0°C. Bổ sung phenylmetanamin (29,8mL, 267mmol), và khuấy hỗn hợp trong 10 phút. Sau đó, bổ sung NaBH(OAc)₃ (75,4g, 356mmol), và sau đó bổ sung nhỏ giọt axit axetic (14,5mL, 254mmol; d 1,049). Khuấy phản ứng trong 2 giờ, sau đó đổ vào NaOH 1M và chiết bằng DCM. Các phân đoạn hữu cơ kết hợp được làm khô (MgSO₄), lọc, và cô tạo ra sản phẩm thô, sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột pha đảo (0-40% ACN trong nước tạo ra sản phẩm cis triệt quang (3*S*,4*S*)- và (3*R*,4*R*)-*N*-benzyl-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (39g, hiệu suất 73,4%).

Bước C: Các chất đồng phân đối ảnh được tách bằng sắc ký trên cột Chiralpak IC, 5x25cm rửa giải bằng IPA 10% (0,1% NH₄OH)/90% CO₂ với tốc độ dòng 300 mL/phút và nhiệt độ 40°C. Áp suất sau là 100 Bar.

Bước D: (3*S*,4*S*)-*N*-Benzyl-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (3,7g, 18mmol) được đặt trong MeOH (40mL) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung Pd/C (3,8g, 1,8mmol), khuấy trong môi trường khí H₂ trong 18 giờ, lọc, rửa bằng MeOH, và cô tạo ra sản phẩm (3*S*,4*S*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (2,1g, hiệu suất 100%). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 4,58-4,44 (m, 1H), 4,19-4,09 (m, 1H), 4,05-3,95 (m, 1H), 3,56-3,38 (m, 2H), 2,96-2,84 (m, 1H), 1,88-1,77 (m, 1H), 1,72-1,65 (m, 1H).

Ví dụ chất trung gian E



(3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin

Bước A: 3-Flodihydro-2*H*-pyran-4(3*H*)-on (34,58g, 292,8mmol) được đặt trong THF (350mL) và làm lạnh đến -78°C. Sau đó, bổ sung nhỏ giọt L-Selectride® (307,4mL, 307,4mmol), và khuấy phản ứng trong 30 phút. Sau đó bổ sung MeOH

(35,58mL, 878,4mmol) và NaOH 1N (878,4mL, 878,4mmol), và phản ứng được để ấm đến 0°C. Sau đó, cẩn thận bổ sung từng giọt H₂O₂ (99,59mL, 1464mmol), và khuấy phản ứng thêm 30 phút. Sau đó, bổ sung dung dịch nước muối bão hòa (50mL), và cô phản ứng để loại THF và sau đó pha loãng bằng DCM (500mL). Sau đó, chuyển phản ứng vào thiết bị chiết liên tục lỏng-lỏng, gia nhiệt đến 58°C trong 24 giờ. Phân đoạn hữu cơ sau đó được tách, làm khô (MgSO₄), và cô tạo ra sản phẩm thô, tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột (5:1-3:1 DCM/etyl axetat) tạo ra sản phẩm *cis* triệt quang (3*R*,4*S*)- và (3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-ol (21g, hiệu suất 60,2%).

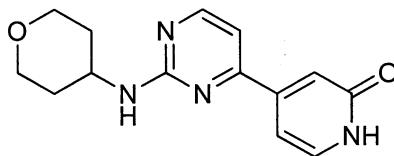
Bước B: (3*R*,4*S*)- và (3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-ol (15,0g, 125mmol) triệt quang, isoindolin-1,3-dion (20,2g, 137mmol) và 2-(diphenylphosphino)pyridin (42,7g, 162mmol) được đặt trong THF (550mL) ở 0°C. Bổ sung (*E*)-Di-*tert*-butyl diazen-1,2-dicarboxylat (37,4g, 162mmol), và sau đó làm ấm phản ứng đến nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Bổ sung HCl (156mL, 624mmol; 4M trong dioxan), và khuấy phản ứng trong 2 giờ và sau đó cô đến khô. Hòa tan phần cặn thu được trong ete và rửa bằng 4M HCl (6X). Chất rắn mà không hòa tan trong ete được đặt sang một bên để tinh chế sau (mẻ 1). Sau đó làm khô các chất hữu cơ (MgSO₄), lọc và cô. Tạo huyền phù vật liệu thô trong THF và lọc, tạo ra sản phẩm rắn (mẻ 2). Tiếp theo, cô dịch lọc, sau đó tạo huyền phù trong DCM và lọc. Loại bỏ chất rắn. Dịch lọc này được kết hợp với hai mẻ chất rắn đầu tiên (các mẻ 1 và 2), được cô và tinh chế bằng sắc ký 500:2-500:5 DCM/MeOH tạo ra sản phẩm triệt quang 2-((3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)isoindolin-1,3-dion và 2-((3*R*,4*S*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)isoindolin-1,3-dion (14g, hiệu suất 45,0%).

Bước C: Tách các chất đồng phân đối ảnh bằng sắc ký trên cột Chiralpak IA, 5x25cm rửa giải bằng 10% MeOH/DCM(1:1)/90% CO₂ với tốc độ dòng 300 mL/phút và nhiệt độ 40°C. Áp suất sau là 100 Bar.

Bước D: 2-((3*S*,4*R*)-3-Flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)isoindolin-1,3-dion (8,4g, 34mmol) được đặt trong THF/MeOH (160mL; 1:1). Sau đó, bổ sung hydrazin monohydrat (17g, 337mmol). Khuấy phản ứng ở 50°C trong 6 giờ, làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ, lọc, rửa bằng THF và cô tạo ra sản phẩm thô, tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột (500:20-500:25 DCM/MeOH) tạo ra sản phẩm (3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (4,0g, hiệu suất 100%), ¹H NMR (400MHz, CDCl₃)

δ 4,28-4,04 (m, 2H), 3,94-3,85 (m, 1H), 3,45-3,35 (m, 1H), 3,30-3,20 (m, 1H), 3,05-2,92 (m, 1H), 1,97-1,88 (m, 1H), 1,58-1,48 (m, 1H).

Ví dụ chất trung gian F



4-(2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on

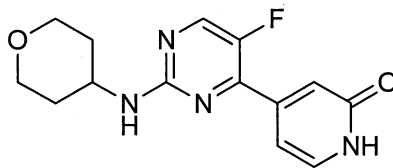
Bước A: Bổ sung natri cacbonat (4,91g, 46,3mmol) vào axit 2-flopyridin-4-ylboronic (2,61g, 18,5mmol) và 2,4-diclopyrimidin (77,2 mL, 15,4mmol) trong dioxan/nước (77mL, 4:1), và huyền phù này được làm sạch bằng khí argon. Bổ sung $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{DCM}$ (0,630g, 0,772mmol) vào hỗn hợp, và gia nhiệt hỗn hợp đến 80°C trong môi trường khí argon. Sau 3 giờ, pha loãng hỗn hợp phản ứng với nước, và thu chất rắn tạo thành bằng cách lọc trong chân không cho ra 2-clo-4-(2-flopyridin-4-yl)pyrimidin (3,12g, 14,9mmol, hiệu suất 96,4%) với lượng tạp chất ít.

Bước B: Bổ sung *N*-Etyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (0,496mL, 2,86mmol) vào tetrahydro-2H-pyran-4-amin (0,265g, 2,62mmol) và 2-clo-4-(2-flopyridin-4-yl)pyrimidin (0,50g, 2,39mmol) trong 2-butanol (2mL) trong ống kín (lọ dùng cho lò vi sóng). Bịt kín lọ và gia nhiệt đến 100°C trong bể dầu qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cho bay hơi, và phần cặn màu tối được xử lý bằng etyl axetat (“EtOAc”) và nước, lọc qua đệm Celite®, và các lớp được tách. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc và cho bay hơi tạo ra thủy tinh (0,56g). Chất này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 2:1 EtOAc/hexan. Các phân đoạn 28-82 chứa 4-(2-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,32g, 1,17mmol, hiệu suất 48,9%).

Bước C: Bổ sung HCl 1M (35mL) vào 4-(2-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,32g, 1,2mmol). Gia nhiệt hỗn hợp đến hồi lưu. Hỗn hợp phản ứng được làm mát được trung hòa bằng NaHCO_3 rắn. Thu chất rắn tạo thành bằng cách lọc trong chân không, rửa trong bình bằng EtOAc/MeOH, cho bay hơi và làm khô tạo ra 4-(2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on (0,30g, 1,1mmol, hiệu suất 94%). ^1H NMR (400MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 11,74 (br s, 1H), 8,40 (d, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,11 (d, 1H), 6,99 (br s, 1H), 6,85-6,76

(m, 1H), 4,04-3,92 (m, 1H), 3,92-3,85 (m, 2H), 3,45-3,36 (m, 2H), 1,90-1,81 (m, 2H), 1,59-1,48 (m, 2H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 273,1$.

Ví dụ chất trung gian G



4-(5-flo-2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on

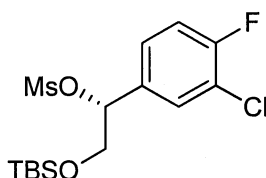
Bước A: Bổ sung natri cacbonat (1,3g, 13mmol) vào axit 2-flopyridin-4-ylboronic (0,71g, 5,0mmol) và 2,4-diclo-5-flopyrimidin (0,70g, 4,2mmol) trong dioxan/nước (17mL, 4:1), và hỗn hợp được sục khí nitơ. Bổ sung $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{DCM}$ (0,17g, 0,21mmol) vào hỗn hợp, và lọ kín được gia nhiệt đến 80°C . Sau 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát được chia tách giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc, và cho bay hơi tạo ra sản phẩm thô (1,7g) dưới dạng dầu. Sản phẩm thô được hấp phụ trên silicagel và chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 2:1 hexan/EtOAc. Các phân đoạn 14-17 chứa 2-clo-5-flo-4-(2-flopyridin-4-yl)pyrimidin (0,82g, 3,6mmol, hiệu suất 86%).

Bước B: Bổ sung *N*-Etyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (0,459mL, 2,64mmol) và tetrahydro-2H-pyran-4-amin (0,196g, 1,93mmol) vào 2-clo-5-flo-4-(2-flopyridin-4-yl)pyrimidin (0,40g, 1,76mmol) trong dimetylaxetamit ("DMA")(2mL) trong lọ dùng cho lò vi sóng. Gia nhiệt hỗn hợp đến 120°C trong 30 phút trong vi sóng. Hỗn hợp phản ứng được phân chia giữa EtOAc và nước. EtOAc được rửa bằng nước, nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc, và cho bay hơi tạo ra sản phẩm thô (0,52g) dưới dạng dầu. Sản phẩm thô được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với hỗn hợp dung môi EtOAc/hexan tỉ lệ 2:1. Các phân đoạn 14-26 chứa 5-flo-4-(2-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,26g, 0,890mmol, hiệu suất 50,6%).

Bước C: Bổ sung HCl 1M (15mL) vào 5-flo-4-(2-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,26g, 0,89mmol). Gia nhiệt huyền phù đến hồi lưu. Sau 2,5 giờ, trung hòa huyền phù bằng NaHCO_3 , và thu chất rắn bằng cách lọc trong chân không. Chất rắn này được tạo huyền phù trong MeOH và cho bay hơi tạo ra 4-(5-flo-2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-

on (0,25g, 0,86mmol, hiệu suất 97%). ^1H NMR (400MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) δ 11,80 (br s, 1H), 8,48 (d, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 6,83 (br s, 1H), 6,65-6,61 (m, 1H), 3,90-3,84 (m, 3H), 3,43-3,36 (m, 2H), 1,88-1,81 (m, 2H), 1,57-1,46 (m, 2H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 291,1$.

Ví dụ chất trung gian H



(*R*)-2-((*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etyl metansulfonat

Bước A: Bổ sung nhỏ giọt isopropylmagie clorua 2M trong THF (91,6mL, 183mmol) vào etyl 2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)axetat (10,0g, 45,8mmol) và *N,O*-dimethylhydroxylamin hydroclorua (9,38g, 96,2mmol) trong THF (500mL) được làm lạnh trong nước đá. Khuấy hỗn hợp trong 4,5 giờ để ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước NH_4Cl và cô đến 1/3 thể tích. Phần cặn được pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc, và cho bay hơi cho ra 2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-*N*-metoxy-*N*-metylaxetamit (8,51g, 36,5mmol, hiệu suất 79,6%) dưới dạng dầu.

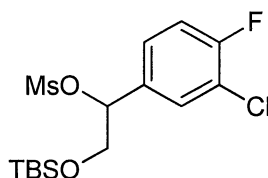
Bước B: Bổ sung nhỏ giọt 0,5M (3-clo-4-flophenyl)magie bromua trong THF (27,4mL, 13,7mmol) vào 2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-*N*-metoxy-*N*-metylaxetamit (2,00g, 8,57mmol) trong THF (20mL) được làm lạnh trong nước đá. Hỗn hợp trở nên đục sau khi bổ sung khoảng một nửa chất phản ứng Grignard. Khuấy hỗn hợp trong bình nước đá trong 2 giờ, dừng bằng dung dịch nước NH_4Cl bão hòa, và cô để loại THF. Phần còn lại chứa nước được chiết bằng 2 phần DCM. Các lớp DCM được làm khô trên MgSO_4 , lọc, và cho bay hơi để tạo ra sản phẩm thô (3,62g) dưới dạng dầu. Đưa sản phẩm thô này vào hexan và tinh chế trên đệm silicagel với hexan cho đến khi sản phẩm bắt đầu rửa giải, sau đó đưa vào hexan/EtOAc tỉ lệ 15:1. Các phân đoạn chứa sản phẩm tạo ra 2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etanon (2,28g, 7,53mmol, hiệu suất 87,9%) dưới dạng dầu.

Bước C: Bổ sung phức dietylanilin-bo (1,34mL, 7,53mmol) vào 1,0M (*R*)-1-metyl-3,3-diphenylhexahydropyrol[1,2-*c*][1,3,2] oxazaborol trong toluen (0,753mL,

0,753mmol) trong MTBE (45mL). Gia nhiệt hỗn hợp đến 40°C trong 15 phút (dung dịch trở nên mờ), sau đó bổ sung nhỏ giọt dung dịch chứa 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etanon (2,28g, 7,53mmol) trong MTBE (25mL) vào hỗn hợp ở nhiệt độ 40°C. Hỗn hợp thu được được gia nhiệt ở 40°C trong 30 phút, làm mát, và xử lý bằng MeOH (3mL) được bổ sung nhỏ giọt. Xử lý dung dịch thu được bằng HCl 1M (10mL), pha loãng bằng nước, và chiết bằng 2 phần DCM. DCM được làm khô trên MgSO₄, lọc, và cho bay hơi tạo ra sản phẩm thô dưới dạng dầu. Sản phẩm thô được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với hỗn hợp dung môi hexan/EtOAc tỉ lệ 50:1 cho 48 phân đoạn, sau đó với hexan/EtOAc tỉ lệ 15:1 cho 36 phân đoạn. Các phân đoạn 40-68 chứa (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etanol (2,60g, 8,53mmol, hiệu suất 113%) dưới dạng dầu với ít tạp chất.

Bước D: Bổ sung triethylamin (0,480mL, 3,44mmol) vào (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etanol (0,70g, 2,30mmol) trong DCM (10mL) được làm mát trong đá lạnh, và sau đó bổ sung metansulfonyl clorua (0,213mL, 2,76mmol) vào. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM, rửa bằng dung dịch NaHCO₃ chứa nước, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được hợp chất (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etyl metansulfonat (0,87g, 2,27mmol, hiệu suất 98,9%) dưới dạng dầu. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7,47-7,44 (m, 1H), 7,29-7,24 (m, 1H), 7,16 (t, 1H), 5,51-5,47 (m, 1H), 3,94-3,89 (m, 1H), 3,81-3,76 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 0,88 (s, 9H), 0,04 (d, 6H).

Ví dụ chất trung gian I



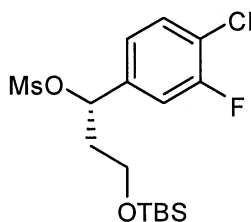
2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-(3-clo-4-flophenyl)etyl metansulfonat

Bước A: Dung dịch của hợp chất 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)axetaldehyt (2,00g, 10,3mmol) trong THF khô (40mL) được đặt trong chậu đá lạnh, và bổ sung hợp chất (4-clo-3-flophenyl)magie bromua (24,8mL, 12,4mmol) vào từng giọt bằng xylanh. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 1 giờ và sau đó

thận trọng dừng phản ứng bằng cách bổ sung từng giọt nước. Hỗn hợp phản ứng được cô, và phần cặn được tách lớp giữa EtOAc và NH₄Cl bão hòa trong nước. Các chất hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/EtOAc (20:1) để thu được hợp chất 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etanol (2,92g, 9,58mmol, hiệu suất 92,8%) dưới dạng dầu.

Bước B: Trietylamin ("TEA") (0,741mL, 5,31mmol; d. 0,726) được bổ sung vào dung dịch lạnh (0°C) của hợp chất 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etanol (1,08g, 3,54mmol) trong DCM (10mL), tiếp theo bổ sung metansulfonyl clorua (0,329mL, 4,25mmol) vào. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DCM, và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, làm khô, lọc và cô để thu được hợp chất 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (1,30g, 3,39mmol, hiệu suất 95,8%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,33 (m, 1H), 7,18 (m, 1H), 7,10 (m, 1H), 6,63 (m, 1H), 5,74 (d, 1H), 5,32 (d, 1H).

Ví dụ chất trung gian J



(*S*)-3-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)propyl metansulfonat

Bước A: 4-clo-3-flobenzaldehyt (15,0g, 94,6mmol) được kết hợp với axit malonic (10,8g, 104mmol) và pyridin (11,5mL, 142mmol). Hỗn hợp này được làm nóng đến 50°C và khuấy trong thời gian một giờ. Sau đó nó được làm nóng đến 100°C và khuấy trong thời gian 16 giờ. Đá lạnh (100g) và bổ sung dung dịch HCl 6M (25mL) vào, và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian một giờ. Chất kết tủa được lọc, rửa bằng nước và làm khô trong chân không để thu được hợp chất axit (E)-3-(4-clo-3-flophenyl)acrylic (17,6g, 87,7mmol, hiệu suất 92,7%) dưới dạng chất rắn.

Bước B: Axit (E)-3-(4-clo-3-flophenyl)acrylic (17,3g, 86,24mmol) được tạo huyền phù trong etanol (200mL), và bổ sung dung dịch clotrimetylsilan (24,00mL, 189,7mmol) vào. Sau đó, hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 20 giờ và làm bay

hoi, để thu được hợp chất (*E*)-ethyl 3-(4-clo-3-flophenyl)acrylat (19,65g, 85,94mmol, hiệu suất 99,65%) dưới dạng dầu, chất này hóa rắn sau đó.

Bước C: (*E*)-Ethyl 3-(4-clo-3-flophenyl)acrylat (18,3g, 80,0mmol) được kết hợp với toluen (200mL) và làm lạnh đến -78°C. Sau đó bổ sung diisobutyl nhôm hydrua ("DIBAL-H") (100g, 176mmol) (25% trong toluen) vào trong suốt một giờ. Sau đó phản ứng này được khuấy và làm ấm đến nhiệt độ môi trường trong 2 giờ. Sau khi khuấy thêm một giờ nữa, phản ứng này được làm nguội bằng đá lạnh (200g), và bổ sung từ từ dung dịch HCl 6M (100mL) vào. Lốp nước được tách và chiết một lần bằng etylaxetat. Các chất hữu cơ gom lại được rửa bằng nước muối, làm khô và làm bay hơi để thu được chất rắn dạng sáp, được nghiền với hexan để thu được hợp chất (*E*)-3-(4-clo-3-flophenyl)prop-2-en-1-ol (14,0g, 75,0mmol, hiệu suất 93,7%) dưới dạng chất rắn.

Bước D: Diisopropyl D-tartrat (1,690mL, 8,038mmol) được hòa tan trong diclometan (500mL) và làm lạnh đến -20°C. Rây phân tử 4Å dạng bột được hoạt hóa (3g), titan IV) isopropoxit(1,570mL, 5,359mmol) và sau đó bổ sung *tert*-butyl hydroperoxit (19,49mL, 107,2mmol; trong decan) vào và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ -20°C. (*E*)-3-(4-clo-3-flophenyl)prop-2-en-1-ol (10,0g, 53,59mmol) được hòa tan trong diclometan (25mL) và xử lý bằng rây phân tử 4Å (1,0g) trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp này được bổ sung vào hỗn hợp ban đầu trong vòng 20 phút và tiếp tục khuấy trong 3 giờ nữa ở nhiệt độ -20°C. Sau đó hỗn hợp phản ứng này được làm nguội bằng cách bổ sung hỗn hợp của dung dịch NaCl bão hòa (3mL) và dung dịch NaOH 50% khối lượng/thể tích (3mL). Ete được bổ sung (100mL), và hỗn hợp này được để ấm lên đến nhiệt độ 10°C. Sau khi khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ này, bổ sung MsSO₄ (5g) và Celite® (2g) vào và hỗn hợp này được khuấy thêm 15 phút nữa. Sau đó, hỗn hợp này được để lắng và lọc qua đệm Celite®, rửa bằng ete. Sau đó các dung môi được làm bay hơi, và chất rắn thu được được nghiền với hexan để thu được hợp chất ((2*R*,3*R*)-3-(4-clo-3-flophenyl)oxiran-2-yl)metanol (10,55g, 52,07mmol, hiệu suất 97,17%) dưới dạng chất rắn.

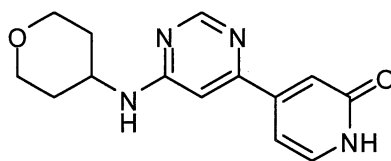
Bước E: Hòa tan hợp chất ((2*R*,3*R*)-3-(4-clo-3-flophenyl)oxiran-2-yl)metanol (10,55g, 52,07mmol) trong 1,2-dimetoxyetan (150mL) và làm lạnh đến 0°C. Bổ sung từng giọt natri bis (2-metohyetoxy) nhôm hydrua ("Red-Al") (17,46mL, 57,28mmol)

vào. Hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng ete (250mL) và làm nguội bằng dung dịch HCl (20mL, dung dịch HCl 6M + 60mL nước). Sau khi khuấy trong 30 phút, pha chứa nước được tách và chiết hai lần bằng etyl axetat. Các chất hữu cơ gom lại được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , và làm bay hơi để thu được hợp chất (*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)propan-1,3-diol (10,5g, 51,31mmol, hiệu suất 98,55%) dưới dạng dầu sệt.

Bước F: Hòa tan hợp chất (*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)propan-1,3-diol (10,5g, 51,3mmol) trong diclometan (200mL), và bổ sung imidazol (8,73g, 128mmol) vào. Sau đó, hỗn hợp này được làm lạnh đến 0°C , và bổ sung *tert*-butyldimetylsilyl clorua (9,67g, 64,1mmol) vào. Hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 1 giờ, pha loãng bằng diclometan đến thể tích 250mL và rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat, làm khô và làm bay hơi. Tinh chế bằng sắc ký trên silicagel, rửa giải bằng 5 đến 10% etyl axetat/hexan để thu được hợp chất (*S*)-3-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)propan-1-ol (8,40g, 26,3mmol, hiệu suất 51,3% yield) dưới dạng dầu.

Bước G: (*S*)-3-(*tert*-Butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)propan-1-ol (0,600g, 1,88mmol) được hòa tan trong diclometan (10mL) và làm lạnh đến 0°C . Bổ sung TEA (0,393mL, 2,82mmol; d. 0,726) vào, tiếp theo bổ sung cloanhydrit của axit metansulfonic (0,175mL, 2,26mmol), và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp này được pha loãng bằng diclometan đến thể tích 100mL, rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat, làm khô và làm bay hơi để thu được hợp chất (*S*)-3-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)propyl metansulfonat (0,74g, 1,86mmol, hiệu suất 99,1%) dưới dạng dầu.

Ví dụ chất trung gian K



4-(6-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

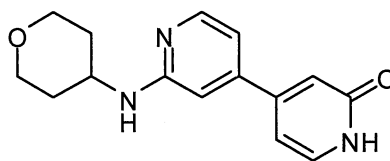
Bước A: 4,6-Diclopyrimidin (3,06g, 20,5mmol) được hòa tan trong dimetylformamit ("DMF") (20mL) và bổ sung Cs_2CO_3 (10,0g, 30,8mmol) vào. Tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (1,87g, 18,5mmol) kết hợp với DMF (5mL) được bổ sung từng giọt. Quan sát thấy sự tỏa nhiệt nhẹ. Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường

trong thời gian 2 giờ, đỉnh sản phẩm được thấy trong LC/MS. Tiếp tục khuấy qua đêm. Sau đó, hỗn hợp này được pha loãng bằng etylaxetat (250mL) và rửa 4 lần bằng nước, nước muối, làm khô và làm bay hơi để thu được hợp chất 6-clo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4-amin (2,86g, 13,4mmol, hiệu suất 65,2%) dưới dạng chất rắn.

Bước B: Natri cacbonat (4,24g, 40,0mmol) được bổ sung vào axit 2-flopyridin-4-ylboronic (2,26g, 16,0mmol) và 6-clo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4-amin (2,85g, 13,3mmol) trong 4:1 dioxan/nước (100mL), và dịch huyền phù này được sục khí argon. Bổ sung PdCl₂(dppf)*DCM (0,545g, 0,667mmol) vào, và hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ 80°C trong bầu khí nitơ. Sau khi khuấy trong 6 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát, pha loãng bằng nước và chiết bằng etylaxetat hai lần. Phần chiết được rửa bằng nước, nước muối, làm khô và làm bay hơi. Tinh chế bằng sắc ký trên silicagel, rửa giải bằng 50-70% etylaxetat/hexan để thu được hợp chất 6-(2-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4-amin (2,50g, 9,11mmol, hiệu suất 68,3%) dưới dạng chất rắn.

Bước C: 6-(2-Flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-4-amin (2,50g, 9,11mmol) được hòa tan trong dung dịch HCl 1M (50mL) và làm nóng đến nhiệt độ 90°C. Hỗn hợp này được khuấy qua đêm, làm nguội và trung hòa bằng dung dịch NaOH 1M (50mL). Hỗn hợp sệt thu được được làm lạnh đến 5°C, và lọc chất rắn ra, rửa bằng nước đá lạnh và làm khô trong chân không để thu được hợp chất 4-(6-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (2,46g, 9,03mmol, hiệu suất 99,1%) dưới dạng chất rắn.

Ví dụ chất trung gian L



4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

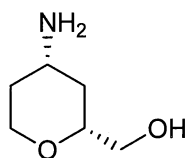
Bước A: 4-Bromo-2-flopyridin (1,38g, 7,84mmol) được hòa tan trong DMSO (20mL), và bổ sung (tetrahydro-pyran-4-yl)amin (0,912g, 9,02mmol) vào, tiếp theo bằng xesi cacbonat (5,11g, 15,7mmol). Hỗn hợp này được làm nóng đến 90°C và khuấy trong 3 giờ. Sau khi làm nguội, hỗn hợp này được pha loãng bằng etylaxetat

(200mL) và rửa bằng nước (5 X), nước muối, làm khô và làm bay hơi để thu được hợp chất 4-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyridin-2-amin (1,12g, 4,36mmol, hiệu suất 55,5%) dưới dạng dầu.

Bước B: Natri cacbonat (0,989g, 9,33mmol) được bổ sung vào axit 2-flopyridin-4-ylboronic (0,570g, 4,04mmol) và 4-bromo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyridin-2-amin (0,80g, 3,11mmol) trong 4:1 dioxan/nước (25mL), và dịch huyền phù này được sục khí nitơ. Bổ sung PdCl₂(dppf)*DCM (0,127g, 0,156mmol) vào, và hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ 80°C trong bầu khí nitơ. Sau khi khuấy trong 6 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm mát, pha loãng bằng nước và chiết bằng etylaxetat (2 X). Phần chiết được rửa bằng nước, nước muối, làm khô và làm bay hơi. Tinh chế bằng sắc ký trên silicagel, rửa giải bằng 50-70% etyl axetat/hexan để thu được hợp chất 2'-flo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-4,4'-bipyridin-2-amin (0,64g, 2,34mmol, hiệu suất 75,3%) dưới dạng chất rắn.

Bước C: 2'-Flo-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)-4,4'-bipyridin-2-amin (0,64g, 2,3mmol) được kết hợp với dung dịch HCl 1M (25mL, 25mmol) và làm nóng đến nhiệt độ 95°C trong thời gian 3 giờ. Sau khi nguội, hỗn hợp này được trung hòa (pH 7-8) bằng dung dịch NaOH 1M (25mL). Hỗn hợp sệt thu được được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và lọc. Các chất rắn được rửa bằng nước và làm khô để thu được hợp chất 4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyridin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,62g, 2,3mmol, hiệu suất 98%) dưới dạng chất rắn.

Ví dụ chất trung gian M



cis-(4-aminotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)metanol

Bước A: Dung dịch của hợp chất ZnCl (0,63g, 4,6mmol) trong THF khan (15mL) được bổ sung vào dung dịch của hợp chất 1-metoxi-3-(trimetylsilyloxy)-1,3-butadien (7,94g, 46,0mmol) và etyl glyoxalat (7,05g, 69,0mmol) trong toluen (30mL) ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong 30 phút, bổ sung nước (30mL) và TFA (2mL) vào, và hỗn hợp này được khuấy mạnh trong 20 phút. Sau khi cô, phần cặn được tách lớp giữa EtOAc (200mL) và nước (100mL). Lớp hữu cơ tách được được

rửa bằng nước muối, làm khô trên natri sulfat, và cô để thu được etyl este của axit 4-oxo-3,4-dihydro-2H-pyran-2-carboxylic (8,0g, hiệu suất 100%) dưới dạng dầu, được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,40 (d, $J = 1,0$ Hz, 1H), 5,48 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 5,02 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,26 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 2,85 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 1,32 (t, $J = 7,5$ Hz 3H); LCMS (ESI) m/z : 171 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước B: Hỗn hợp của etyl este của axit 4-oxo-3,4-dihydro-2H-pyran-2-carboxylic (8,0g, 46mmol) và Pd/C (10%, 0,20g) trong etyl axetat (70mL) được khuấy trong bầu khí hydro (1 atm) trong 4 giờ. Hỗn hợp này được lọc qua đệm Celite®. Dịch lọc được cô, và phần còn lại được tinh chế bằng cột silicagel nhờ sử dụng 30% EtOAc trong ete dầu mỏ để thu được etyl este của axit 4-oxo-tetrahydro-pyran-2-carboxylic (2,62g, hiệu suất 33%) dưới dạng dầu. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 4,40 (m, 1H), 4,23-4,31 (m, 3H), 3,79 (m, 1H), 2,61–2,74 (m, 3H), 2,40 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H), 1,31 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

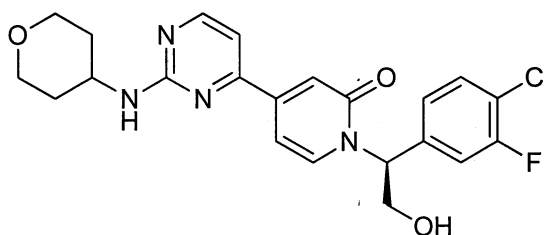
Bước C: $\text{Ti}(\text{O}i\text{-Pr})_4$ (4,26g, 15,0mol) được bổ sung vào dung dịch được khuấy của etyl 4-oxo-tetrahydro-2H-pyran-2-carboxylat (1,8g, 10mol) trong THF và CH_3OH (v/v= 3:1, 100mL). Sau khi khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 1 giờ, bổ sung $\text{NaBH}(\text{CH}_3\text{COO})_3$ (4,22g, 20,0mol) vào ở nhiệt độ -20°C . Hỗn hợp phản ứng sau đó được giữ trong tủ lạnh ở nhiệt độ -20°C qua đêm. Etyl axetat (100mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, tiếp theo là bổ sung nước muối (2mL) từ từ. Sau khi khuấy trong thời gian 30 phút, lọc chất rắn ra, và dịch lọc được cô để thu được sản phẩm thô, mà được tinh chế bằng cột silicagel nhờ sử dụng 1% metanol trong etyl axetat để thu được hợp chất *cis*-etyl 4-(benzylamino)-tetrahydro-2H-pyran-2-carboxylat (1,4g, hiệu suất 51%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,34-7,28 (m, 5H), 4,23 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H), 4,17 (m, 1H), 3,94 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H), 3,84 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 2,29 (d, $J = 10,0$ Hz, 2H), 1,86 (d, $J = 14,5$ Hz, 2H), 1,37 (m, 1H), 1,29 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H); LCMS (ESI) m/z : 264,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước D: Bổ sung LiAlH_4 (1,0g, 26 mol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch được khuấy của *cis*-etyl 4-(benzylamino)-tetrahydro-2H-pyran-2-carboxylat (1,3g, 5,0mol) trong THF khan (50mL). Sau khi khuấy trong thời gian 1 giờ, phản ứng được dừng bằng cách bổ sung từ từ lần lượt nước (1mL), 15% NaOH (1mL), và nước (3mL).

Muối vô cơ được lọc ra và dịch lọc được pha loãng bằng EtOAc (50mL), làm khô và cô để thu được hợp chất *cis*-4-(benzylamino)-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)metanol (1,1g, hiệu suất 100%). LCMS (ESI) *m/z*: 222,3 [M+H]⁺.

Bước E: Hỗn hợp của *cis*-4-(benzylamino)-(tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)metanol (1,1g, 5,0mol) và Pd/C (10%, 0,10g) trong metanol (20mL) được khuấy trong bầu khí hydro (1 atm) trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp thu được được lọc qua đệm Celite®. Dịch lọc được cô để thu được hợp chất *cis*-(4-aminotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl)metanol (500 mg, hiệu suất 77%). LCMS (ESI) *m/z*: 132,2 [M+H]⁺.

Ví dụ 1



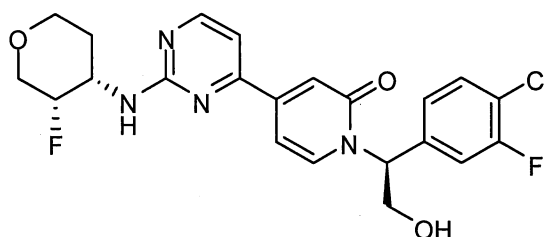
(*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Dịch huyền phù của (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (5,77g, 10,7mmol) và tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (2,17g, 21,4mmol) trong *sec*-BuOH (30mL) được làm nóng đến 120°C trong thời gian 4 giờ trong ống bịt kín. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và cô. Hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on thô được sử dụng mà không cần tinh chế trong bước B. *m/z* (APCI-pos) M+1 = 559,2, 560,2.

Bước B: Dung dịch của hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (6,00g, 10,7mmol) trong THF (20mL) được xử lý bằng tetrabutyl amoni florua (12,9mL, 12,9mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô, và phần còn lại được kết hợp với etyl axetat và nước. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (1X). Các chất hữu cơ gom lại được làm khô, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bản phẩm thô được tinh chế, rửa giải bằng etyl axetat để thu được hợp

chất (S)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((tetrahydro-2H-pyran-4-ylamino)))pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on dưới dạng chất rắn (4,14g, 87%; lượng dư đồng phân đối ảnh 96% (“e.e.”) bằng HPLC không đối xứng (kỹ thuật không đối xứng, cột OJ-H, 4,6mm X 250mm, 5u, 30% etanol/70% hexan, 1mL/phút)). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (d, J=5,0 Hz, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,20 (m, 2H), 7,10 (d, J=8,2 Hz, 1H), 6,88 (d, J=5,0 Hz, 1H), 6,78 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 5,16 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,31 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,00 (m, 2H), 3,55 (m, 2H), 2,74 (br, s, 1H), 2,06 (m, 2H), 1,58 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 445,1, 447,0.

Ví dụ 2



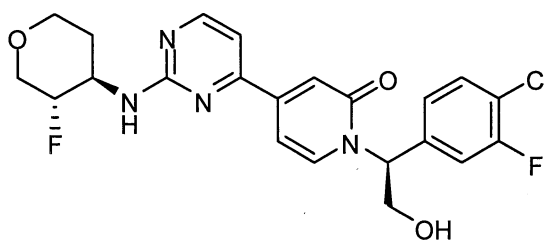
1-((S)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((3S,4S)-3-flotetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on

Bước A: Hỗn hợp của (3S,4S)-3-flotetrahydro-2H-pyran-4-amin (2,8g, 24mmol), *N*-etyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (2,9g, 22mmol) và (S)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on (8,0g, 15mmol) trong *sec*-BuOH (25mL) được cho vào ống bít kín và làm nóng đến nhiệt độ 120°C trong thời gian 68 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và cô. Hợp chất 1-((S)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((3S,4S)-3-flotetrahydro-2H-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on thô được sử dụng trong bước B mà không cần tinh chế. *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 577,2, 579,2.

Bước B: Dung dịch 4,0M của hydro clorua (18,6mL, 74,5mmol) trong dioxan được bổ sung từ từ vào dung dịch lạnh (0°C) của 1-((S)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((3S,4S)-3-flotetrahydro-2H-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on (8,6g, 14,9mmol) trong MeOH (40mL), và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, và phần còn lại được cho vào dung dịch NaHCO₃ bão hòa và chiết bằng etyl axetat (2X). Lốp hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột, rửa giải

bằng hexan/ethyl axetat (1:4) để thu được hợp chất 1-((*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on dưới dạng chất rắn (4,58g, 66%; 97% e.e. bằng HPLC không đối xứng (kỹ thuật không đối xứng, cột OD-H, 4,6mm X 250mm, 5u, 30% etanol/70% hexan, 1mL/phút)). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (d, J=5,0 Hz, 1H), 7,41 (m, 2H), 7,21-7,09 (m, 3H), 6,89 (d, J=5,0 Hz, 1H), 6,76 (d, J=7,0 Hz, 1H), 6,20 (m, 1H), 5,55 (d, J=8,2 Hz, 1H), 4,75 (d, J=50 Hz, 1H), 4,38-4,18 (m, 4H), 4,05 (m, 1H), 3,69-3,53 (m, 2H), 3,12 (br, s, 1H), 2,08-1,84 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 463,1, 465,0.

Ví dụ 3



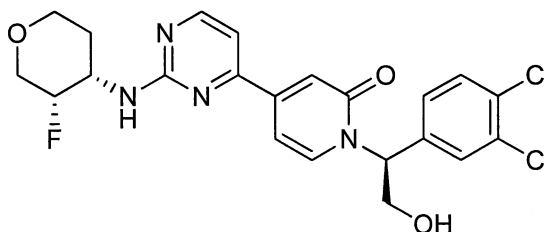
1-((*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-Butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ 2, bước A, thay hợp chất (3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin cho hợp chất (3*S*,4*S*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-amin. *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 577,2, 579,2.

Bước B: Hợp chất 1-((*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (56%, 2 bước; 96% e.e. bằng HPLC không đối xứng (kỹ thuật không đối xứng, cột OJ-H, 4,6mm X 250mm, 5u, 20% etanol/80% hexan, 1mL/phút)) được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ 2, bước B, thay thế hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(((3*S*,4*R*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on cho hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((3*S*,4*S*)-3-flotetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,39 (d, J=5,0 Hz, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,21-7,09 (m, 3H), 6,91 (d, J=5,2 Hz, 1H), 6,79 (m, 1H), 6,19 (m, 1H), 5,34 (d,

$J=7,8$ Hz, 1H), 4,61-4,42 (m, 1H), 4,38-4,26 (m, 3H), 4,10 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,61-3,51 (m, 2H), 3,05 (br, s, 1H), 2,33 (m, 1H), 1,63 (m, 1H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 463,1, 465,1$.

Ví dụ 4

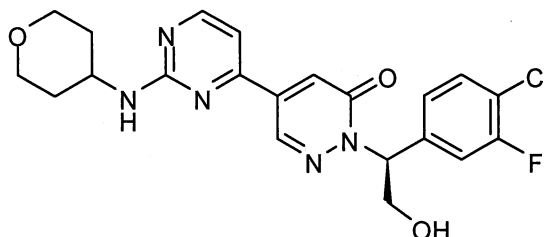


1-((*S*)-1-(3,4-dichlorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-Butyldimetylsilyloxy)-1-(3,4-dichlorophenyl)ethyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ 2, bước A, thay thế hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3,4-dichlorophenyl)ethyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on cho hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)ethyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on. m/z (APCI-pos) $M+1 = 593,1, 595,2$.

Bước B: Hợp chất 1-((*S*)-1-(3,4-Dichlorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (74%, 2 bước; 98% e.e. bằng HPLC không đối xứng (kỹ thuật không đối xứng, cột OD-H, 4,6mm X 250mm, 5u, 30% etanol/70% hexan, 1mL/phút)) được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ 2, bước B, thay thế hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(3,4-dichlorophenyl)ethyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on cho hợp chất 1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)ethyl)-4-(2-(((3*S*,4*S*)-3-fluorotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,39 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 7,50-7,38 (m, 3H), 7,24-7,15 (m, 2H), 6,91 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 6,77 (m, 1H), 6,19 (m, 1H), 5,53 (d, $J=8,6$ Hz, 1H), 4,75 (d, $J=49$ Hz, 1H), 4,40-4,18 (m, 4H), 4,10 (m, 1H), 3,70-3,54 (m, 2H), 2,65 (br, s, 1H), 2,08-01,88 (m, 2H); m/z (APCI-pos) $M+1 = 479,0, 481,0$.

Ví dụ 11



(*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on

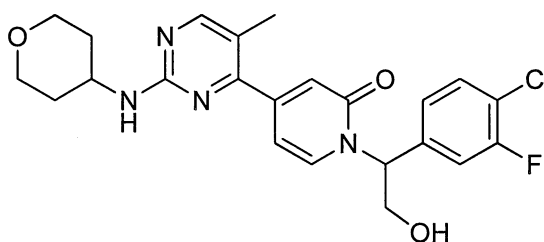
Bước A: Bổ sung dung dịch KO^t-Bu 1,0M (2,64mL, 2,64mmol) trong THF và tetrabutylamoni iotua (0,0749g, 0,203mmol) vào dung dịch của hợp chất 5-iodopyridazin-3(2*H*)-on (0,45g, 2,03mmol) trong THF (10mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút trước khi bổ sung hợp chất (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (1,16g, 3,04mmol) dưới dạng dung dịch trong THF (10mL). Phản ứng được làm nóng đến khi hồi lưu trong thời gian 90 giờ, sau đó làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và cô. Phần còn lại được cho vào etyl axetat và rửa bằng nước (2X). Các chất hữu cơ được làm khô, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (25:1) để thu được hợp chất (*S*)-2-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-5-iodopyridazin-3(2*H*)-on (0,65g, 63%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,98 (d, J=2,0 Hz, 1H), 7,45 (d, J=2,2 Hz, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 6,09 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 0,81 (s, 9H), 0,01 (s, 3H), -0,01 (s, 3H).

Bước B: Dung dịch của hợp chất (*S*)-2-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-5-iodopyridazin-3(2*H*)-on (0,402g, 0,790mmol), 2-(metylthio)-4-(tributylstannyl)pyrimidin (0,361g, 0,869mmol), đồng (I) iotua (0,0150g, 0,0790mmol) và PdCl₂(PPh₃)₂ (0,0555g, 0,0790mmol) trong NMP (4mL) được làm nóng đến 120°C trong bầu khí Ar trong thời gian 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và pha loãng bằng etyl axetat (200mL). Các chất hữu cơ được rửa bằng nước muối (3 X 50mL), làm khô, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột, rửa giải bằng hexan/etyl axetat (1:1) để thu được hợp chất (*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on (0,25g, 79%). *m/z* (APCI-pos) M+1 = 393,0, 395,0.

Bước C: (*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on (58%) được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ chất trung gian C, bước B, thay thế hợp chất (*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on cho hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on. *m/z* (APCI-pos) $M+1 = 425,0, 427,0$.

Bước D: (*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on (78%) được điều chế theo quy trình chung trong ví dụ 1, bước A, thay thế hợp chất (*S*)-2-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridazin-3(2*H*)-on cho hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 8,68 (d, $J=2,2$ Hz, 1H), 8,41 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J=2,2$ Hz, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 7,15 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 6,18 (m, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,06-3,97 (m, 4H), 3,56 (m, 2H), 2,00 (m, 2H), 1,62 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) $M+1 = 446,1, 448,1$.

Ví dụ 12



1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(5-metyl-2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Bổ sung natri cacbonat (0,575g, 5,43mmol) vào axit 2-flopyridin-4-ylboronic (0,306g, 2,17mmol) và 2,4-điclo-5-metylpyrimidin (0,212mL, 1,81mmol) trong dioxan/nước (10mL; 4:1), và dịch huyền phù này được sục khí nitơ. Bổ sung PdCl_2 (dppf)*DCM (0,0739g, 0,0905mmol) vào, và lọ được bịt kín và làm nóng ở nhiệt độ 80°C. Sau 3 giờ, hỗn hợp phản ứng nguội được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,50g) dưới dạng chất rắn. Sản phẩm thô này được hấp phụ trên

silicagel và sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 1:1 hexan/EtOAc. Các phân đoạn 16 đến 34 chứa hợp chất 2-clo-4-(2-flopyridin-4-yl)-5-metylpyrimidin (0,22g, 0,984mmol, hiệu suất 54,4%) với tạp chất nhỏ.

Bước B: Bổ sung tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (0,109g, 1,08mmol) và *N*-etyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (0,258mL, 1,48mmol) vào 2-clo-4-(2-flopyridin-4-yl)-5-metylpyrimidin (0,22g, 0,984mmol) trong DMA (2mL). Hỗn hợp này được làm nóng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 180°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước, nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,28g) dưới dạng màng. Sản phẩm thô này được sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với EtOAc. Các phân đoạn 17 đến 32 chứa 4-(2-flopyridin-4-yl)-5-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,158g, 0,548mmol, hiệu suất 55,7%) dưới dạng chất rắn.

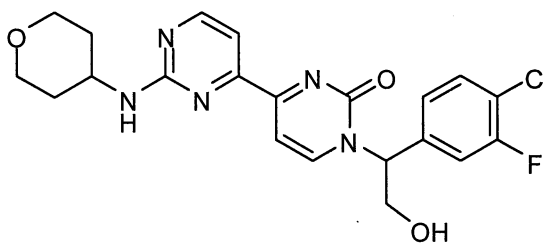
Bước C: Bổ sung dung dịch HCl 1M (10mL) vào hợp chất 4-(2-flopyridin-4-yl)-5-metyl-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,158g, 0,548mmol). Hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ hồi lưu. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng nguội được trung hòa bằng NaHCO₃ rắn. Chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc chân không và làm khô để thu được hợp chất 4-(5-metyl-2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,126g, 0,440mmol, hiệu suất 80,3%) dưới dạng chất rắn.

Bước D: Bổ sung 0,55g PS-triphenylphosphin 1,99mmol/g (0,289g, 1,10mmol) vào 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etanol (0,268g, 0,880mmol) trong DCM (15mL) được làm mát trong đá lạnh. (*E*)-Diisopropyl diazen-1,2-dicarboxylat (0,216mL, 1,10mmol) được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp này. Sau 10 phút để hỗn hợp phản ứng ấm lên đến nhiệt độ môi trường, bổ sung dịch huyền phù của hợp chất 4-(5-metyl-2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,126g, 0,440mmol) trong DCM (5mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 4 giờ, bổ sung thêm 1 đương lượng DIAD nữa, và hỗn hợp này được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc và làm bay hơi. Phần cặn được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,64g) dưới dạng dầu. Sản phẩm thô này được sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 2:1 EtOAc/hexan. Các phân đoạn 60 đến

84 chứa hợp chất 1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(5-metyl-2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,033g, 0,0576mmol, hiệu suất 13,1%) dưới dạng thủy tinh.

Bước E: Bổ sung dung dịch tetrabutylamoni florua 1M trong THF (0,173mL, 0,173mmol) vào hợp chất 1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(5-metyl-2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,033g, 0,0576mmol) trong THF (3mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần cặn được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,0394g) dưới dạng chất rắn. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với 10:1 EtOAc/MeOH. Các phân đoạn 7 đến 12 chứa hợp chất 1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(5-metyl-2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,0206g, 0,0449mmol, hiệu suất 78,0%) dưới dạng thủy tinh. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8,21 (s, 1H), 7,82 (d, 1H), 7,50-7,46 (m, 1H), 7,35-7,31 (m, 1H), 7,21-7,18 (m, 1H), 6,72 (d, 1H), 6,59 (dd, 1H), 4,32-4,26 (m, 1H), 4,22-4,17 (m, 1H), 4,12-4,07 (m, 1H), 4,00-3,92 (m, 2H), 3,54-3,47 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,99-1,93 (m, 2H), 1,62-1,52 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 459,1.

Ví dụ 14



1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on

Bước A: Bổ sung hợp chất 1,1-dimetoxy-*N,N*-dimetylmethanamin (9,87mL, 74,3mmol) vào 1-(2-(metylthio)pyrimidin-4-yl)etanon (0,50g, 2,97mmol). Hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đến một nửa thể tích và xử lý bằng Et₂O. Chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc chân không để thu được hợp chất (*E*)-3-(dimetylamino)-1-(2-(metylthio)pyrimidin-4-

yl)prop-2-en-1-on mong muốn (0,46g, 2,06mmol, hiệu suất 69,3%).

Bước B: Hỗn hợp rắn được khuấy kỹ của hợp chất (*E*)-3-(dimethylamino)-1-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)prop-2-en-1-on (0,206g, 0,923mmol), urea (1,11g, 18,5mmol), và 60% natri hydrua (0,0922g, 2,31mmol) được làm nóng trong chậu cát được làm nóng trước đến nhiệt độ 140°C trong thời gian 3 phút cho đến khi tan hoàn toàn và sau đó thêm 2 phút dưới dạng tan. Hỗn hợp phản ứng nguội được xử lý bằng nước. Dung dịch được axit hóa đến pH 3 bằng dung dịch HCl 1M, và chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc chân không để thu được sản phẩm thô (0,082g). Sản phẩm thô này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 10:1 DCM/MeOH. Các phân đoạn 16 đến 48 chứa hợp chất 4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on mong muốn (0,04g, 0,182mmol, hiệu suất 19,7%) dưới dạng chất rắn.

Bước C: Bổ sung hợp chất kali 2-metylpropan-2-olat (0,026g, 0,24mmol) và tetrabutylamoni iodua (0,0067g, 0,018mmol) vào 4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on (0,040g, 0,18mmol) được huyền phù trong THF (4mL) được làm mát trong đá lạnh. Sau 10 phút, bổ sung dung dịch của hợp chất 2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (0,10g, 0,27mmol) trong THF (1mL) vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và sau đó làm nóng ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 2 ngày. Do phản ứng chưa hoàn thành, nguyên liệu được chuyển vào lọ vi sóng và làm nóng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 130°C trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần còn lại được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với 1:1 hexan/EtOAc. Các phân đoạn 8 đến 13 chứa hợp chất 1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on mong muốn (0,030g, 0,059mmol, hiệu suất 33%) dưới dạng màng.

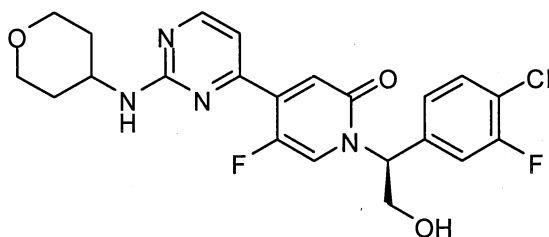
Bước D: Bổ sung axit 3-clobenzoperoxoic (0,0306g, 0,177mmol) vào hợp chất 1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(methylthio)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on (0,030g, 0,0592mmol) trong DCM (5mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau 2 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi. Phần còn lại được cho vào EtOAc, rửa hai lần bằng hỗn hợp của dung dịch Na₂S₂O₃ bão hòa trong nước và dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước, nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được hợp chất 1-(2-(*tert*-

butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on (0,0349g, 0,0647mmol, hiệu suất 109%).

Bước E: Bổ sung tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (0,0327g, 0,324mmol) vào 1-(2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on (0,0349g, 0,0647mmol) trong THF (5mL). Hỗn hợp này được làm nóng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 1 giờ và sau đó ở nhiệt độ 130°C trong thời gian 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần còn lại được tách lớp giữa EtOAc và nước. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (30,2mg) dưới dạng màng. Sản phẩm thô này được sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với 2:1 EtOAc/hexan. Các phân đoạn 23 đến 34 chứa hợp chất 1-(2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0048g, 0,00857mmol, hiệu suất 13,2%) dưới dạng màng.

Bước F: Bổ sung dung dịch tetrabutylamoni florua 1M trong THF (0,026mL, 0,026mmol) vào 1-(2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on (0,0048g, 0,0086mmol) trong THF (2mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần cặn được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (2,8 mg) dưới dạng màng. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký trên đĩa sắc ký lớp mỏng điều chế ("TLC"), rửa giải bằng 10:1 DCM/MeOH. Băng chính chứa hợp chất 1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl)pyrimidin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0006g, 0,0013mmol, hiệu suất 16%). *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 446,1.

Ví dụ 20



(*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-5-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Bổ sung natri cacbonat (1,6g, 15mmol) vào axit 5-flo-2-metoxypyridin-4-ylboronic (1,0g, 6,0mmol) và 2,4-diclopyrimidin (0,75g, 5,0mmol) trong 4:1 dioxan/nước (25mL), và dịch huyền phù này được sục khí argon. Bổ sung $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{DCM}$ (0,21g, 0,25mmol) vào và hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ 80°C trong bầu khí argon qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước, và chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc chân không, rửa bằng nước, và làm khô để thu được hợp chất 2-clo-4-(5-flo-2-metoxypyridin-4-yl)pyrimidin mong muốn (1,2g, 5,0mmol, hiệu suất 99%) dưới dạng chất rắn.

Bước B: Bổ sung tetrahydro-2H-pyran-4-amin (0,101g, 1,00mmol) và *N*-ethyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (0,188mL, 1,08mmol) vào 2-clo-4-(5-flo-2-metoxypyridin-4-yl)pyrimidin (0,20g, 0,835mmol) hòa tan trong 2-butanol (5mL) trong lọ. Lọ được bịt kín và làm nóng ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Hỗn hợp này được làm bay hơi, và phần màu tối còn lại được tách lớp giữa EtOAc và nước. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO_4 , lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,25g) dưới dạng dầu. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 50g với 2:1 EtOAc/hexan. Các phân đoạn 22 đến 48 chứa hợp chất 4-(5-flo-2-metoxypyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin mong muốn (0,0992g, 0,326mmol, hiệu suất 39,1%) dưới dạng chất rắn.

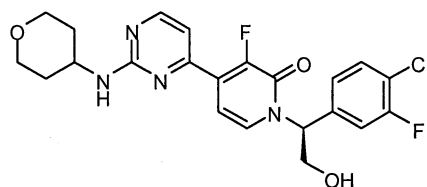
Bước C: Bổ sung từng giọt iodotrimethylsilan (0,186mL, 1,30mmol) vào dung dịch của hợp chất 4-(5-flo-2-metoxypyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2H-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,0992g, 0,3260mmol) trong axetonitril (6mL) trong lọ ở nhiệt độ trong phòng. Lọ bịt kín được làm nóng ở nhiệt độ 80°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng MeOH (khoảng 2mL) và một ít dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước. Hỗn hợp này được cô, và phần chứa nước còn lại được xử lý từng giọt bằng dung dịch HCl 1M cho đến khi kết tủa màu nâu được tạo ra (pH 2). Sản phẩm này được chiết bằng 2 phần rượu isopropylic 10% ("IPA") trong DCM. Các chất hữu cơ gom lại được làm khô trên MgSO_4 , lọc, và làm bay hơi để thu được hợp chất 5-flo-4-(2-((tetrahydro-2H-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1H)-on (0,0293g, 0,1009mmol, hiệu suất 30,96%) dưới dạng chất rắn.

Bước D: Bổ sung tetrabutylamoni iđua (0,00186g, 0,00505mmol) và dung dịch kali 2-metylpropan-2-olat 1M trong THF (0,121mL, 0,121mmol) vào 5-flo-4-(2-

((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,0293g, 0,101mmol) trong THF (3mL). Sau khi khuấy 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, bổ sung dung dịch của hợp chất (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (0,0541g, 0,141mmol) trong THF (2mL) vào. Hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ hồi lưu trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được tách lớp giữa nước và EtOAc. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,12g) dưới dạng màng. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột Sep-pack 1g với 1:1 hexan/EtOAc. Các phân đoạn 8-16 chứa hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-5-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0036g, 0,00624mmol, hiệu suất 6,18%).

Bước E: Bổ sung dung dịch tetrabutylamoni florua 1M trong THF (0,019mL, 0,019mmol) vào (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-5-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,0036g, 0,0062mmol) trong THF (1mL). Sau 10 phút, hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần cặn được tách lớp giữa EtOAc và dung dịch NaCl loãng. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,0092g) dưới dạng màng. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột silica Sep-pack 1g với 10:1 EtOAc/MeOH. Các phân đoạn 2 đến 4 chứa hợp chất (*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0018g, 0,0039mmol, hiệu suất 62%) dưới dạng màng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,38 (d, 1H), 7,46-7,42 (m, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 7,14-7,11 (m, 1H), 6,93-6,90 (m, 1H), 6,20-6,12 (m, 1H), 5,22-5,19 (m, 1H), 4,31 (d, 2H), 4,15-4,09 (m, 2H), 4,03-3,97 (m, 2H), 3,60-3,53 (m, 2H), 2,09-2,03 (m, 2H), 1,63-1,55 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 463,1.

Ví dụ 21



(*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Natri cacbonat (2,13g, 20,1mmol) được bổ sung vào axit 2-clo-3-flopyridin-4-ylboronic (1,41g, 8,05mmol) và 2,4-diclopyrimidin (1,0g, 6,71mmol) trong 4:1 dioxan/nước (50mL), và hỗn hợp này được phun khí argon. PdCl₂ (dppf)*DCM (0,274g, 0,336mmol) được bổ sung, và hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ 80°C trong bầu khí argon. Sau 4,5 giờ, bổ sung thêm axit boronic (khoảng 0,2g) và tiếp tục làm nóng trong tổng thời gian là 8,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước, và chất rắn thu được được thu gom bằng cách lọc chân không để thu được hợp chất 2-clo-4-(2-clo-3-flopyridin-4-yl)pyrimidin mong muốn (1,18g, 4,84mmol, hiệu suất 72,0%) với tạp chất nhỏ.

Bước B: *N*-Etyl-*N*-isopropylpropan-2-amin (0,185mL, 1,07mmol) và tetrahydro-2*H*-pyran-4-amin (0,0912g, 0,901mmol) được bổ sung vào 2-clo-4-(2-clo-3-flopyridin-4-yl)pyrimidin (0,200g, 0,819mmol) trong 2-butanol (7mL) trong lọ. Lọ được bịt kín và làm nóng ở nhiệt độ 80°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần cặn được tách lớp giữa EtOAc và nước. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,25g) dưới dạng màng. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với EtOAc. Các phân đoạn 8 đến 13 chứa hợp chất 4-(2-clo-3-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin mong muốn (0,08g, 0,259mmol, hiệu suất 31,6%) dưới dạng chất rắn.

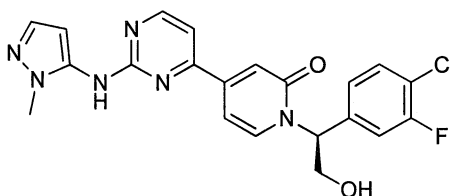
Bước C: 4-(2-Clo-3-flopyridin-4-yl)-*N*-(tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)pyrimidin-2-amin (0,08g, 0,259mmol) và dung dịch HCl 1M (3,89mL, 3,89mmol) được bổ sung vào lọ dùng cho lò vi sóng. Lọ này được làm nóng trong lò vi sóng ở nhiệt độ 140°C ở mỗi giai đoạn 2 giờ trong tổng thời gian là 10 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước, và hợp chất 3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0565g, 0,195mmol, hiệu suất 75,1%) được thu gom bằng cách lọc chân không.

Bước D: Dung dịch KHMDS 1M trong THF (0,234mL, 0,234mmol) được bổ sung vào 3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,0565g, 0,195mmol) được huyền phù trong 2-metyltetrahydrofuran (5mL) được làm mát trong đá lạnh. Hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, dung dịch của hợp chất (*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-

clo-3-flophenyl)etyl metansulfonat (0,112g, 0,292mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (2mL) được bổ sung, và hỗn hợp này được làm nóng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80 đến 90°C trong thời gian 2 ngày. Hỗn hợp phản ứng nguội được làm bay hơi. Phần còn lại được xử lý bằng dung dịch NaCl loãng và EtOAc, lọc loại bỏ các chất rắn, và các lớp được tách. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,09g) dưới dạng màng. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với 2:1 EtOAc/hexan. Các phân đoạn 12 đến 16 chứa hợp chất (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on mong muốn (0,02g, 0,0347mmol, hiệu suất 17,8%) dưới dạng thủy tinh.

Bước E: Dung dịch tetrabutylamoni florua 1M trong THF (0,10mL, 0,10mmol) được bổ sung vào (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,02g, 0,035mmol) trong THF (5mL). Sau 30 phút, hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi, và phần cặn được tách lớp giữa EtOAc và dung dịch NaCl loãng. EtOAc được rửa bằng nước muối, làm khô trên MgSO₄, lọc, và làm bay hơi để thu được sản phẩm thô (0,02g) dưới dạng màng. Sản phẩm này được chạy sắc ký trên cột Biotage SNAP 10g với EtOAc. Các phân đoạn 23 đến 33 chứa hợp chất (*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-3-flo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on mong muốn (0,0018g, 0,0039mmol, hiệu suất 11%) dưới dạng màng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,41 (d, 1H), 7,45-7,40 (m, 1H), 7,24-7,18 (m, 2H), 7,14-7,10 (m, 2H), 6,81-6,77 (m, 1H), 6,23-6,20 (m, 1H), 5,14-5,12 (m, 1H), 4,34-4,31 (m, 2H), 4,15-4,04 (m, 2H), 4,03-3,97 (m, 2H), 3,58-3,51 (m, 2H), 2,09-2,03 (m, 2H), 1,63-1,53 (m, 2H); *m/z* (APCI-pos) *M*+1 = 463,1.

Ví dụ 39

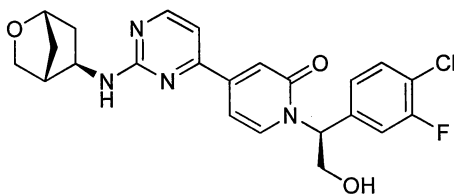


(*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: (*S*)-1-(2-((*tert*-Butyldimetylsiloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (47mg, 0,087mmol), 2-metyl pyrazol-3-amin (0,175mmol, 2,0 đương lượng) và DMF khan (3,0mL) được bổ sung vào bình tam giác đáy tròn 25mL có gắn đũa khuấy. Bình này được đậy nút cao su và sục khí nitơ. Trong bầu khí nitơ, natri hydrua (8,5mg, 60% phân tán trong dầu khoáng) được bổ sung làm một lần. Bình được sục khí nitơ, đậy nắp và khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Tiến trình phản ứng được theo dõi bằng LCMS, và sau 30 phút, nguyên liệu ban đầu được tiêu thụ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng cách bổ sung nước (0,5mL) và etyl axetat (15mL). Các chất chứa trong bình tam giác đáy tròn này được chuyển lên phễu tách 125mL, và bình phản ứng được rửa vài lần etyl axetat khác. Hợp chất (*S*)-1-(2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on thô được tách lớp giữa etyl axetat và nước (80 mL/30mL). Lớp etyl axetat được rửa một lần bằng nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc và cô để thu được hợp chất (*S*)-1-(2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on thô. Sản phẩm thô này được sử dụng trực tiếp cho bước khử bảo vệ.

Bước B: Hợp chất (*S*)-1-(2-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on thô (48mg) được hòa tan trong etyl axetat (4mL) và xử lý từng giọt chậm (trong 2 phút) bằng dung dịch etyl axetat (1,0mL, đã được bão hòa bằng khí HCl). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 phút, sau thời gian đó LCMS cho thấy tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được cô thành cặn dầu và tinh chế bằng RP HPLC điều chế để thu được hợp chất (*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((1-metyl-1*H*-pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (20,8 mg, hiệu suất 54,6%) dưới dạng bột khô lạnh. ¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ 9,58 (s, 1H), 8,60 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H), 7,91 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,58 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,52-7,41 (m, 2H), 7,37 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,14 (dd, *J* = 10,7,5,1 Hz 2H), 6,86 (dd, *J* = 7,3, 1,8 Hz, 1H), 6,27 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 5,97 (dd, *J* = 7,7, 5,7 Hz, 1H), 5,31 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,10-3,95 (m, 1H), 3,69 (s, 3H); LCMS *m/z* 441 (M+H)+.

Ví dụ 42



4-(2-(((1*S*,4*R*,5*R*)-2-oxabicyclo[2,2,1]heptan-5-ylamino)pyrimidin-4-yl)-1-((*S*)-1-(4-chloro-3-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl)pyridin-2(1*H*)-on

Bước A: Diphenylphosphoryl azit (“DPPA”) (0,97g, 3,5mmol) và triethylamin (384mg, 3,80mmol) được bổ sung vào dung dịch của axit 3-oxo-2-oxabicyclo[2,2,1]heptan-5-carboxylic (0,50g, 3,2mmol; được điều chế theo công bố WO2008/092955) trong toluen khô (5,0mL). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong bầu khí nitơ. Sau khi bổ sung phenylmetanol (354mg, 3,50mmol) vào, hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 130°C trong 2 giờ nữa. Sau khi làm nguội bằng nước (1mL), hỗn hợp này được pha loãng bằng ethyl axetat (300mL), rửa bằng nước muối bão hòa (3 X 50mL), làm khô trên natri sulfat khan, và sau đó cô. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký trên silicagel rửa giải bằng ete dầu mỏ/ethyl axetat (4:1) để thu được hợp chất benzyl 3-oxo-2-oxa-bicyclo[2,2,1]heptan-5-ylcarbamate (600 mg, hiệu suất 72%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,80–7,74 (m, 1H), 7,39–7,31 (m, 5H), 5,08–5,00 (m, 3H), 3,87 (s, 1H), 2,78 (s, 1H), 2,24–2,15 (m, 1H), 2,14 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 1,97 (t, J = 20,5 Hz, 1H), 1,71 (d, J = 14,0 Hz, 1H).

Bước B: NaBH₄ (0,580g, 15,2mmol) được bổ sung vào dung dịch của hợp chất benzyl 3-oxo-2-oxa-bicyclo[2,2,1]heptan-5-ylcarbamate (1,0g, 3,8mmol) và CaCl₂ (0,85g, 7,6mmol) trong etanol (50mL) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 12 giờ, hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng dung dịch HCl đậm đặc. Các chất dễ bay hơi được loại bỏ, và phần còn lại được chiết bằng CHCl₃ (3 X 100mL), rửa bằng nước (50mL) và nước muối (50mL), làm khô trên natri sulfat khan và cô. Phần còn lại được kết tinh lại từ ete dầu mỏ để thu được hợp chất benzyl 4-hydroxy-2-(hydroxymethyl)cyclopentylcarbamate (750 mg, hiệu suất 75%) dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (500 MHz, (CD₃)₂SO) δ 7,38–7,31 (m, 5H), 7,25 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 4,99 (s, 2H), 4,53 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,48 (t, J = 10 Hz, 1H), 4,09 (d, J = 4 Hz, 1H), 3,73 (t, J = 15,5 Hz, 1H), 3,46–3,43 (m, 1H), 3,31–3,28 (m, 1H), 1,99 (d, J = 7 Hz, 1H), 1,80–

1,74 (m, 2H), 1,57 (t, $J = 12,5$ Hz, 1H), 1,26 (s, 1H).

Bước C: Dung dịch của hợp chất TsCl (290mg, 1,52mmol) trong toluen khô (3,0mL) được bổ sung từng giọt vào dung dịch của hợp chất benzyl 4-hydroxy-2-(hydroxymetyl)xyclopentylcarbamate (100mg, 0,380mmol) và pyridin khô (3,0mL) trong toluen khô (6,0mL) ở nhiệt độ 0°C . Sau đó, hỗn hợp này được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 2 ngày. Hỗn hợp phản ứng được làm nóng đến nhiệt độ 120°C và khuấy thêm 16 giờ. Sau khi cô, phần còn lại được tinh chế bằng Combi-flash pha ngược (NH_4HCO_3 0,3%/CH₃CN) để thu được hợp chất benzyl 2-oxa-bixyclo[2,2,1]heptan-5-ylcarbamate dưới dạng chất rắn (58 mg, hiệu suất 62%). ^1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7,37–7,31 (m, 5H), 5,09 (s, 2H), 4,33 (s, 1H), 3,73 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H), 3,63–3,61 (m, 1H), 3,48 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,53 (s, 1H), 2,07–2,04 (m, 1H), 1,72 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 1,61 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 1,42 (d, $J = 14,0$ Hz, 1H).

Bước D: Hỗn hợp của benzyl 2-oxa-bixyclo[2,2,1]heptan-5-ylcarbamate (0,50g, 2,0mmol) và Pd/C (10%, 50 mg) trong metanol (20mL) được khuấy trong bầu khí hydro (1 atm) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến pH quanh 4 bằng dung dịch HCl 1M trong metanol. Hỗn hợp này được lọc qua Celite® và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất 2-oxa-bixyclo[2,2,1]heptan-5-amin hydroclorua (300 mg, hiệu suất 100%) dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 4,43 (s, 1H), 3,72–3,70 (m, 1H), 3,54 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,50–3,48 (m, 1H), 2,76 (s, 1H), 2,20–2,15 (m, 1H), 1,96 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 1,78 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 1,61 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H).

Bước E: Lọ dùng cho lò vi sóng được nạp (*S*)-1-(2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(metylsulfonyl)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (100mg, 0,190mmol), 2-oxa-bixyclo[2,2,1]heptan-5-amin hydroclorua (53mg, 0,47mmol), TEA (0,50mmol, 50mg) và *s*-butanol (3,0mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 130°C trong bức xạ vi sóng trong thời gian 3 giờ. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp này được cô để thu được hợp chất 4-(2-(2-oxabixyclo[2,2,1]heptan-5-ylamino)pyrimidin-4-yl)-1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimetylsilyloxy)-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)pyridin-2(1*H*)-on dưới dạng dầu, mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS (ESI) m/z : 571,3 [M+H]⁺.

Bước F: Hợp chất 4-(2-(2-oxabixyclo[2,2,1]heptan-5-ylamino)pyrimidin-4-yl)-

1-((*S*)-2-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)-1-(4-*clo*-3-flophenyl)ethyl)pyridin-2(1*H*)-on thô được hòa tan trong dung dịch của hợp chất HCl trong metanol (5mL, 1M). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ, hỗn hợp phản ứng sau đó được điều chỉnh đến pH quanh 8 bằng dung dịch Na₂CO₃ bão hòa. Hỗn hợp thu được được chiết bằng ethyl axetat (3 X 20mL). Các lớp hữu cơ gom lại được làm khô trên Na₂SO₄ và cô. Phần còn lại được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được hợp chất 4-(2-(2-oxabicyclo[2,2,1]heptan-5-ylamino)pyrimidin-4-yl)-1-((*S*)-1-(4-*clo*-3-flophenyl)-2-hydroxyethyl)pyridin-2(1*H*)-on (23 mg, hiệu suất 29%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8,42 (d, J = 5,0 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,51 (t, J = 16 Hz, 1H), 7,35-7,33 (m, 1H), 7,29 (s, 1H), 7,20 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 7,08-7,06 (m, 1H), 6,15-6,13 (m, 1H), 4,40 (s, 1H), 4,32-4,28 (m, 1H), 4,22-4,19 (m, 1H), 4,09-4,07 (m, 1H), 3,71-3,69 (m, 1H), 3,61 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 2,69 (s, 1H), 2,19 (t, J = 12,0 Hz, 1H), 1,86 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 1,66 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 1,58 (d, J = 14,0 Hz, 1H); LCMS (ESI) *m/z*: 571,3 [M+H]⁺.

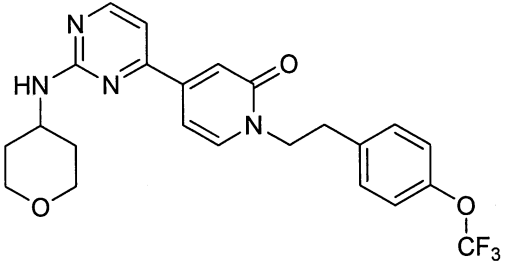
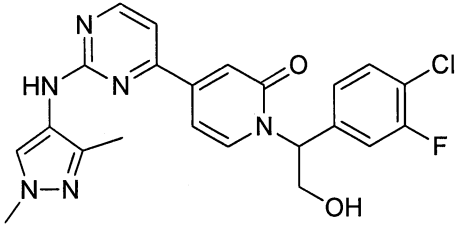
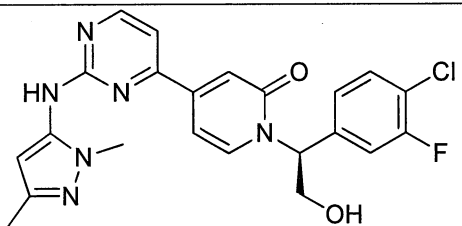
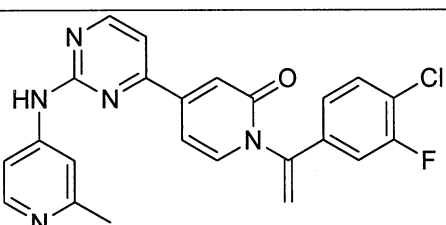
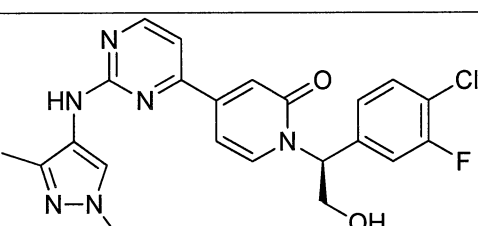
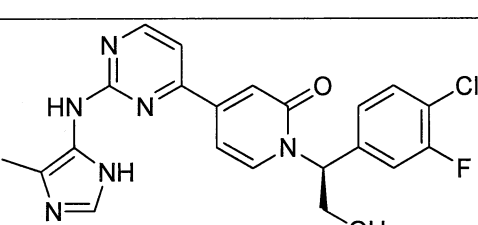
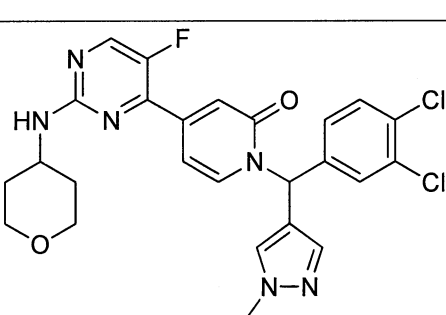
Các hợp chất sau đây trong bảng 2 được điều chế các quy trình nêu trên nhờ sử dụng các nguyên liệu ban đầu và chất trung gian thích hợp.

Bảng 2

Số ví dụ	Cấu trúc	Tên	MS
50		1-((<i>S</i>)-1-(3- <i>flo</i> -4-metoxyphephenyl)((<i>R</i>)-pyrrolidin-2-yl)metyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 480,2, 482,2
57		(<i>S</i>)-1-(1-(3- <i>clo</i> phenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 427,1,

			429,1
58		1-(1-(3-chlophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((<i>S</i>)-1-hydroxypropan-2-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 401,1, 403,1
60		1-(1-(3-clo-4-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((<i>S</i>)-1-hydroxypropan-2-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 419,1, 421,1
65		1-(((<i>S</i>)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-(((<i>R</i>)-1-hydroxy-3-metoxipropan-2-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 449,1, 451,1
68		(<i>S</i>)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-6-metyl-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 459,1, 461,1
87		1-(2-hydroxy-1- <i>m</i> -tolyletyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 407,1

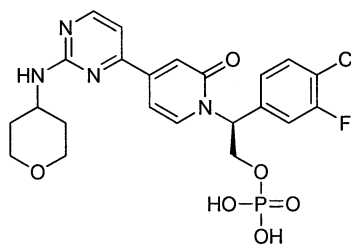
102		1-((4-clo-3-flophenyl)((<i>S</i>)-pyrolidin-2-yl)metyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 484,1, 485,1
103		(<i>S</i>)-1-(1-(3,5-diflophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 429,1
109		(<i>S</i>)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(6-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	<i>m/z</i> (APCI-pos) M+1 = 445,0
120		1-(1-(3-clo-5-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	445,1
134		1-(1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-(((<i>S</i>)-1-hydroxybutan-2-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	417,1
139		1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl)-4-(2-((2-ethylpyrimidin-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	467,2

157		4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-1-(4-(trifluoromethoxy)phenyl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	461,2
166		1-(1-(4-chloro-3-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-((1,3-dimethyl-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	455,1
167		(<i>S</i>)-1-(1-(4-chloro-3-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-((1,3-dimethyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	455,13
172		1-(1-(4-chloro-3-fluorophenyl)vinyl)-4-(2-((2-methylpyridin-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	434,1
173		(<i>S</i>)-1-(1-(4-chloro-3-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-((1-ethyl-3-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	469,1
185		(<i>S</i>)-1-(1-(4-chloro-3-fluorophenyl)-2-hydroxyethyl)-4-(2-((4-methyl-1 <i>H</i> -imidazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	441,1
209		1-((3,4-dichlorophenyl)(1-methyl-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl)methyl)-4-(5-fluoro-2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	531

250		1-(((6-clo-1 <i>H</i> -indol-2-yl)metyl)-4-(2- ((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4- yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin- 2(1 <i>H</i>)-on	436,1
266		1-(((4-flo-1 <i>H</i> -indol-2-yl)metyl)-4-(2- ((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4- yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin- 2(1 <i>H</i>)-on	420,1
270		(<i>S</i>)-metyl 4-((4-(1-(1-(4-clo-3- flophenyl)-2-hydroxyetyl)-2-oxo-1,2- dihydropyridin-4-yl)pyrimidin-2- yl)amino)picolinat	496,1
289		1-(((4-flo-1 <i>H</i> -indol-6-yl)metyl)-4-(2- ((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4- yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin- 2(1 <i>H</i>)-on	420,0
290		(<i>S</i>)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4- (2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4- yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin- 1(2 <i>H</i>)-yl)etyl 2-amino-2- metylpropanoat	530,2
291		(<i>S</i>)-1-(1-(5-flo-1 <i>H</i> -indol-2-yl)-2- hydroxyetyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> - pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4- yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	450,2

293		(S)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(4-(2-((1-metyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)-2-oxopyridin-1(2 <i>H</i>)-yl)etyl axetat	483,1
295		1-(1-(4-clo-3-flophenyl)vinyl)-4-(2-((1-etyl-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	437,1
305		(S)-1-(2-amino-1-(4-clo-3-flophenyl)etyl)-4-(2-((tetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1 <i>H</i>)-on	444,2

Ví dụ α



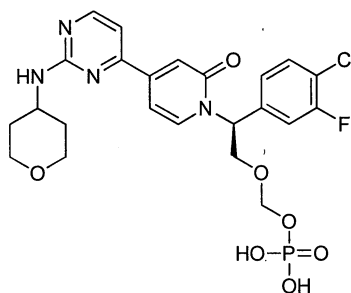
(S)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etyl dihydro phosphat

Bước A: Hợp chất 1-[(1*S*)-1-(4-clo-3-flo-phenyl)-2-hydroxy-etyl]-4-[2-(tetrahydropyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl]pyridin-2-on (0,62g, 1,39mmol) được chuyển vào bình tam giác đáy tròn 100 mL khô trong THF (50mL). Xesi cacbonat (2,26g, 6,93mmol) được bổ sung. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 phút trước khi bổ sung dibenzylphosphoryl clorua (0,91g, 3,05mmol) trong toluen vào. Hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được pha loãng bằng etyl axetat và rửa bằng nước (2 X 30mL), dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 X 30mL) và nước muối (2 X 30mL), và sau đó làm khô trên natri sulfat. Dung môi được loại bỏ để còn lại dầu. Dầu này được tinh chế bằng CombiFlash (cột 24g; 0 đến 5% metanol/DCM trong suốt 15 phút). LCMS

xác định sản phẩm là hợp chất (*S*)-dibenzyl 2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etyl) phosphat (978 mg). ($M+1 = 705$).

Bước B: 5% Pd/C (0,15g) được bổ sung vào (*S*)-dibenzyl 2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etyl) phosphat (978 mg) trong bầu khí nitơ. MeOH (8mL) được bổ sung, và hỗn hợp này được sục khí hydro. Hỗn hợp được để trong bầu khí hydro qua đêm. Hỗn hợp được lọc qua Celite®, và dung môi được loại bỏ để lại chất rắn. Chất rắn được tinh chế bằng HPLC để thu được hợp chất (*S*)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etyl dihydro phosphat (3,8 mg). MS = 525,0.

Ví dụ β



(*S*)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etoxy)metyl dihydro phosphat

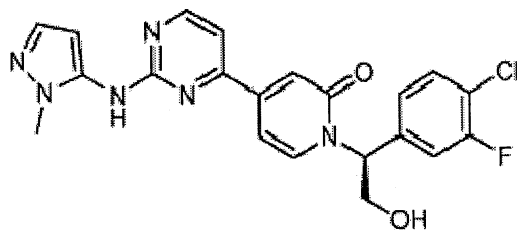
Bước A: Natri hydrua (44 mg, 1,10mmol) được bổ sung vào hợp chất 1-[(1*S*)-1-(4-clo-3-flophenyl)-2-hydroxyetyl]-4-[2-(tetrahydropyran-4-ylamino)pyrimidin-4-yl]pyridin-2-on (0,49g, 1,10mmol) trong DMF (10mL) ở nhiệt độ 0°C, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C. Trong lọ khác, natri iodua (0,17g, 1,10mmol) và clodimetyl sulfua (0,11g, 1,10mmol) được chuyển vào, sau đó bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được làm nguội thận trọng bằng nước trước khi pha loãng bằng etyl axetat. Tách các pha. Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa, nước, và tiếp theo bằng nước muối. Hỗn hợp này được làm khô trên natri sulfat trước khi loại bỏ dung môi để lại dầu. Dầu này được tinh chế bằng CombiFlash (cột 24g, 0-10% MeOH/DCM trong vòng 20 phút) để thu được hợp chất (*S*)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-((metylthio)metoxy)etyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-

yl)pyridin-2(1*H*)-on (555 mg) dưới dạng chất rắn ($M+1 = 506$).

Bước B: Axit phosphoric (0,40g, 3,98mmol), rây phân tử 4Å (5g) và *N*-iodosuccinimit (0,46g, 1,99mmol) được bổ sung vào hợp chất (S)-1-(1-(4-clo-3-flophenyl)-2-((metylthio)metoxy)etyl)-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-2(1*H*)-on (0,50 g, 1,00mmol) trong DMF (5mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp này được làm nguội bằng natri thiosulfat. Natri cacbonat được bổ sung vào đưa pH về 10, và loại bỏ dung môi. Chất thu được được tinh chế bằng HPLC để thu được hợp chất (S)-2-(4-clo-3-flophenyl)-2-(2-oxo-4-(2-((tetrahydro-2*H*-pyran-4-yl)amino)pyrimidin-4-yl)pyridin-1(2*H*)-yl)etoxy)metyl dihydro phosphat (13 mg). $M+1 = 555,1$.

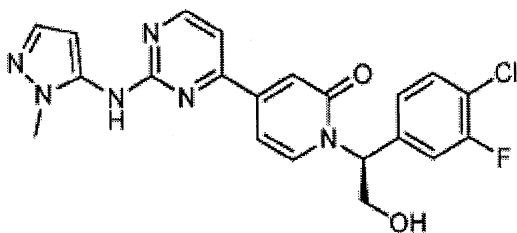
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức sau:

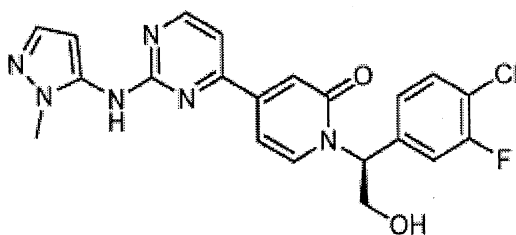


hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức sau:

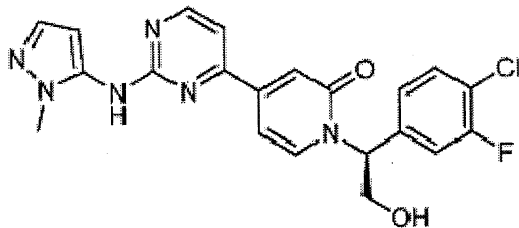


3. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức sau:



hoặc muối được dụng của nó.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó dược phẩm này chứa hợp chất có công thức sau:



5. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó dược phẩm này bao gồm ít nhất một tá dược được dụng.

6. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó dược phẩm này bao gồm ít nhất một tá dược được dụng.