



(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)



1-0026218

(51)⁷ A61K 31/00; A61K 31/675; A61K 31/685; A61P 31/14; C07H 15/18; C07D 519/00; C07H 1/00; C07H 1/02; C07H 11/00; A61K 31/53; C07D 487/04 (13) B

(21) 1-2017-01640

(22) 29/10/2015

(86) PCT/US2015/057933 29/10/2015

(87) WO 2016/069826 06/05/2016

(30) 62/072,331 29/10/2014 US; 62/105,619 20/01/2015 US

(45) 25/11/2020 392

(43) 25/07/2017 352A

(73) GILEAD SCIENCES, INC. (US)

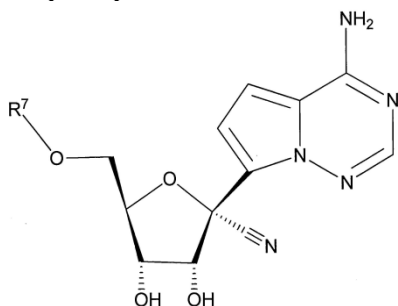
333 Lakeside Drive, Foster City, CA 94404, United States of America

(72) CHUN, Byoung, Kwon (KR); CLARKE, Michael, O'Neil Hanrahan (US); DOERFFLER, Edward (US); HUI, Hon, Chung (US); JORDAN, Robert (US); MACKMAN, Richard, L. (GB); PARRISH, Jay, P. (US); RAY, Adrian, S. (US); SIEGEL, Dustin (US).

(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH NHIỄM VIRUT FILOVIRIDAE VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất hợp chất dùng để điều trị bệnh nhiễm virus *Filoviridae* bằng cách dùng các ribosit, ribosit phosphat và tiền chất của nó, có Công thức IV:



Công thức IV.

và dược phẩm chứa hợp chất này.

Hợp chất và dược phẩm được đề xuất cụ thể để điều trị hiệu quả bệnh nhiễm virus Marburg, virus Ebola và virus Cueva.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các phương pháp và hợp chất để điều trị bệnh nhiễm virus *Filoviridae*, cụ thể là các phương pháp và nucleosit để điều trị virus Ebola, virus Marburg và virus Cueva.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các virus Filo (ví dụ, virus Ebola (EBOV) và virus Marburg (MARV)) nằm trong số các virus phá hủy và gây tử vong nhiều nhất. Chúng gây ra bệnh sốt xuất huyết nặng, thường gây chết người và động vật linh trưởng không phải người (ví dụ, khỉ, vượn gorin, và hắc tinh tinh). Các virus Filo được quan tâm đặc biệt do chúng có thể được sử dụng làm vũ khí sinh học vì chúng có khả năng phát tán dạng sol khí và có thể được vũ trang hóa.

Thời kỳ ủ bệnh khi lây nhiễm virus Filo nằm trong khoảng từ 2 đến 21 ngày. Bệnh khởi phát đột ngột và được đặc trưng bởi các triệu chứng như sốt cao, nhức đầu, đau khớp và cơ, đau họng, mệt mỏi, tiêu chảy, nôn, và đau dạ dày. Các triệu chứng phát ban, mắt đỏ, nấc cục và chảy máu trong và ngoài có thể được gặp ở một số bệnh nhân. Trong một tuần sau khi bị nhiễm virus, phần lớn bệnh nhân bị đau ngực và suy nhiều cơ quan, bị sốc, và tử vong. Một số bệnh nhân cũng bị mù và chảy máu diện rộng trước khi tử vong.

Filoviridae là họ của các virus ARN. Hai thành viên của họ Filoviridae đã được nhận biết: EBOV và MARV. Hai thành viên gây bệnh chính thuộc họ Filoviridae đã được nhận biết: virus Ebola và MARV. Có một biến thể đã nhận biết của MARV và năm loài đã nhận biết của virus ebola: Zaire (tức là virus Ebola, EBOV), Sudan, Tai Forest, Bundibugyo, và Reston. Nguồn gốc chính xác, vị trí, và tập tính tự nhiên của Filoviridae chưa được biết đến. Tuy nhiên, dựa trên các bằng chứng có sẵn và bản chất của các virus tương tự, có giả định rằng Filoviridae động vật ký sinh bệnh (tức là, sinh ra trên động vật) và thường được duy trì ở vật chủ là động vật mà có nguồn gốc từ lục địa châu Phi.

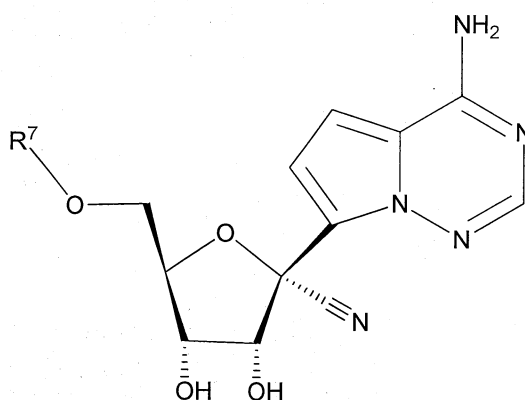
Trong hơn 30 năm, các virus ebola gắn với nhiều giai đoạn bùng phát dịch sốt xuất huyết ở Trung Phi gây ra bệnh nặng ở bệnh nhân bị nhiễm. Tỷ lệ tử vong trong các ổ dịch nằm trong khoảng từ 50% đối với loài virus ebola lưu hành ở Sudan (SEBOV) lên đến 90% đối với loài virus ebola lưu hành ở Zaire (EBOV, ZEBOV) (Sanchez *et al.*, *Filoviridae: Marburg and Ebola Viruses*, trong *Fields Virology* (eds. Knipe, D.M. & Howley, P.M.) 1409-1448 (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia)). Dịch bùng phát muộn trong 2007 là do loài virus ebola mới xuất hiện ở Uganda gây ra, dẫn đến tỷ lệ tử vong khoảng 25% (Towner *et al.*, *PLoS Pathog.*, 4:e1000212 (2008)). ZEBOV cũng tàn sát quần thể loài khỉ hoang dã trong cùng khu vực này ở châu Phi (Walsh *et al.*, *Nature*, 422:611-614 (2003)).

Việc phòng ngừa và điều trị lây nhiễm virus filo, bao gồm các virus ebola (tức là EBOV) đã gặp nhiều thách thức. Thực tế là, chưa có vắc-xin hoặc thể thức điều trị sau khi phơi nhiễm có thể ngăn ngừa hoặc quản lý được sự lây nhiễm EBOV. Bệnh nhân thay vào đó nhận điều trị hỗ trợ, *tức là*, cân bằng chất điện phân và dịch, duy trì oxy huyết áp, và biện pháp điều trị tránh lây nhiễm bậc hai bất kỳ.

Vì vậy, cần các chế phẩm và các phương pháp điều trị sự lây nhiễm EBOV. Sáng chế đáp ứng nhu cầu này và các nhu cầu khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV dùng trong phương pháp điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* ở người với lượng có hiệu quả điều trị:



Công thức IV

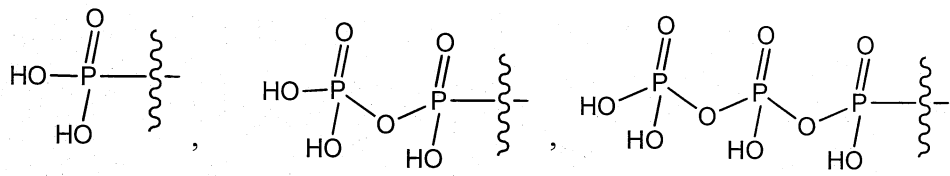
hoặc muối được dụng, hydrat hoặc este, của nó;

trong đó,

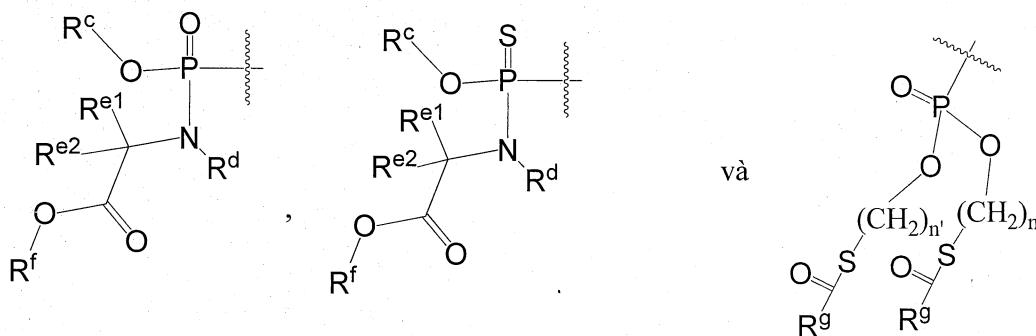
R^7 được chọn từ nhóm bao gồm

- a) H , $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, hoặc $-SO_2NR^{11}R^{12}$;

b)

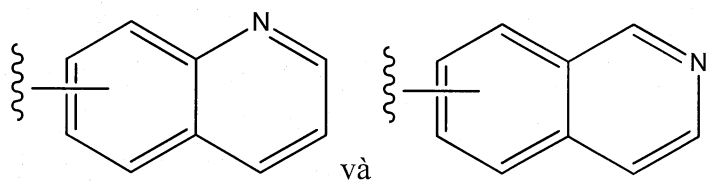


c) nhóm được chọn từ:



trong đó:

R^c được chọn từ nhóm gồm phenyl, 1-naphtyl, 2-naphtyl,



R^d được chọn từ nhóm gồm H hoặc CH_3 ;

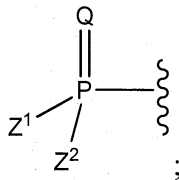
mỗi R^{e1} và R^{e2} độc lập được chọn từ nhóm gồm H , (C_1-C_6) alkyl hoặc benzyl;

R^f được chọn từ nhóm gồm H , (C_1-C_8) alkyl, benzyl, (C_3-C_6) xycloalkyl, và $-CH_2-(C_3-C_6)$ xycloalkyl;

R^g được chọn từ nhóm gồm $(C_1-C_8)alkyl$, $-O-(C_1-C_8)alkyl$, benzyl, $-O-benzyl$, $-CH_2-(C_3-C_6)xyloalkyl$, $-O-CH_2-(C_3-C_6)xyloalkyl$, và CF_3 ; và

n' là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 1, 2, 3, và 4; và

d) nhóm có công thức:



trong đó:

Q được chọn từ nhóm gồm O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, hoặc $N-NR_2$;

Z^1 và Z^2 cùng là $-Q^1(C(R^y)_2)_3Q^1-$;

trong đó

mỗi Q^1 độc lập được chọn từ nhóm gồm O, S, hoặc NR; và

mỗi R^y độc lập được chọn từ nhóm gồm H, F, Cl, Br, I, OH,

R, $-C(=Q^2)R$, $-C(=Q^2)OR$, $-C(=Q^2)N(R)_2$, $-N(R)_2$, -

$^+N(R)_3$, $-SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(OR)$, -

$S(O)_2(OR)$, $-OC(=Q^1)R$, $-OC(=Q^2)OR$, -

$OC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-SC(=Q^2)R$, $-SC(=Q^2)OR$, -

$SC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-N(R)C(=Q^2)R$, $-N(R)C(=Q^2)OR$,

$-N(R)C(=Q^2)N(R)_2$, $-SO_2NR_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, $-OR$,

hoặc Z^3 ; hoặc khi cùng nhau, hai R^y trên cùng

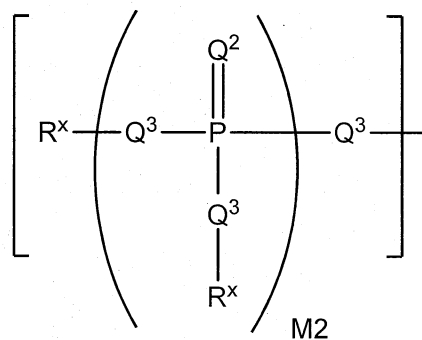
nguyên tử cacbon tạo thành vòng carboxyclic gồm từ

3 đến 7 nguyên tử cacbon;

mỗi Q^2 độc lập là, O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$,

hoặc $N-NR_2$; hoặc

mỗi Z^1 và Z^2 độc lập là nhóm có Công thức Ia:



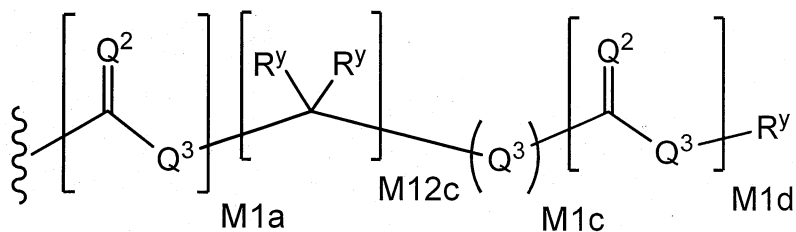
Công thức Ia

trong đó:

mỗi Q^3 độc lập được chọn từ nhóm gồm liên kết, O, CR_2 ,
 NR , $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{OR})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$, $\text{N}-\text{NR}_2$, S, S-S,
 $\text{S}(\text{O})$, hoặc $\text{S}(\text{O})_2$;

M2 là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 0, 1 hoặc 2;

mỗi R^x độc lập là R^y hoặc công thức:



trong đó:

mỗi M1a, M1c, và M1d số nguyên độc lập được
chọn từ nhóm gồm 0 hoặc 1;

M12c là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 0, 1, 2,
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 hoặc 12;

Z^3 là Z^4 hoặc Z^5 ;

Z^4 là R, $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{R}^y$, $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{Z}^5$, $-\text{SO}_2\text{R}^y$, hoặc $-\text{SO}_2\text{Z}^5$;

và

Z^5 là vòng cacbon hoặc dị vòng trong đó Z^5 độc lập
được thế bằng từ 0 đến 3 nhóm R^y ;

mỗi R^{11} hoặc R^{12} độc lập là H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, aryl tùy ý được thế (C_6-C_{20}) , heteroaryl tùy ý được thế, $-C(=O)(C_1-C_8)$ alkyl, $-S(O)_n(C_1-C_8)$ alkyl hoặc (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl; hoặc R^{11} và R^{12} cùng nhau với nitơ mà chúng đều gắn vào tạo thành vòng dị vòng từ 3 đến 7 cạnh trong đó bất kỳ một nguyên tử cacbon của vòng dị vòng này có thể tùy ý được thay thế bởi -O-, -S- hoặc $-NR^a$;

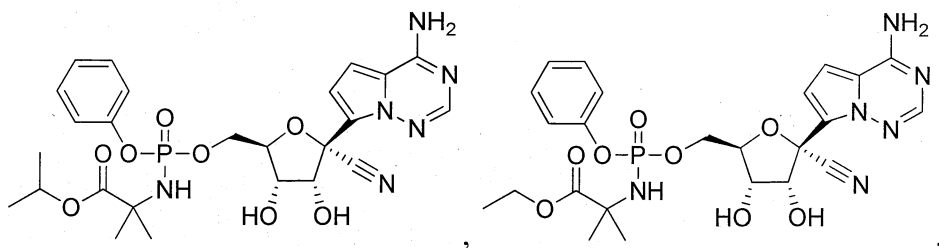
mỗi R^a độc lập được chọn từ nhóm gồm H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(OR)$, $-S(O)_2(OR)$, hoặc $-SO_2NR_2$; trong đó

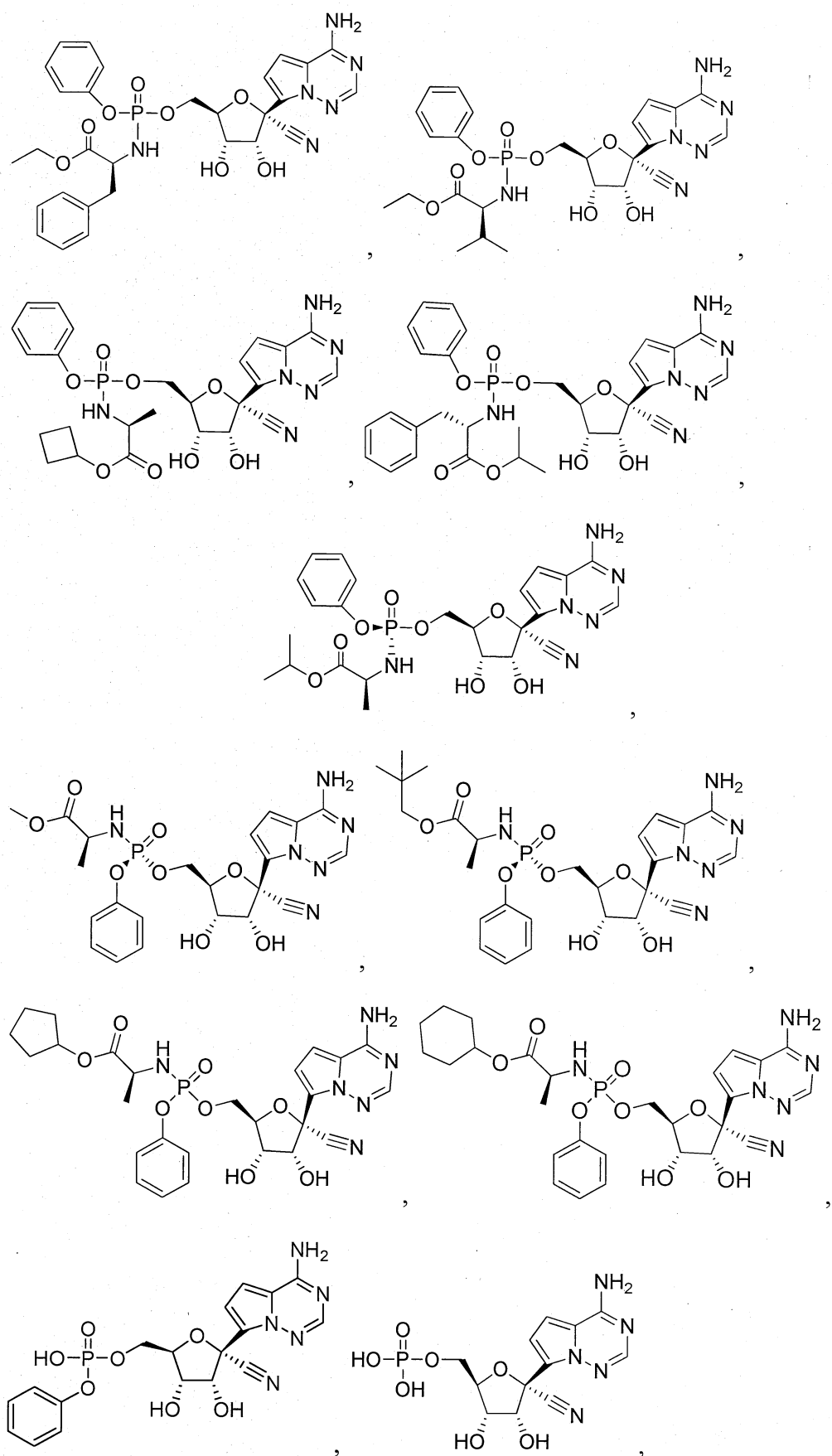
mỗi R độc lập được chọn từ nhóm gồm H, (C_1-C_8) alkyl, alkyl được thế (C_1-C_8) , (C_2-C_8) alkenyl, alkenyl được thế (C_2-C_8) , (C_2-C_8) alkynyl, alkynyl được thế (C_2-C_8) , (C_6-C_{20}) aryl, aryl được thế (C_6-C_{20}) , (C_2-C_{20}) heteroxycyl, heteroxycyl được thế (C_2-C_{20}) , (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl hoặc (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl được thế;

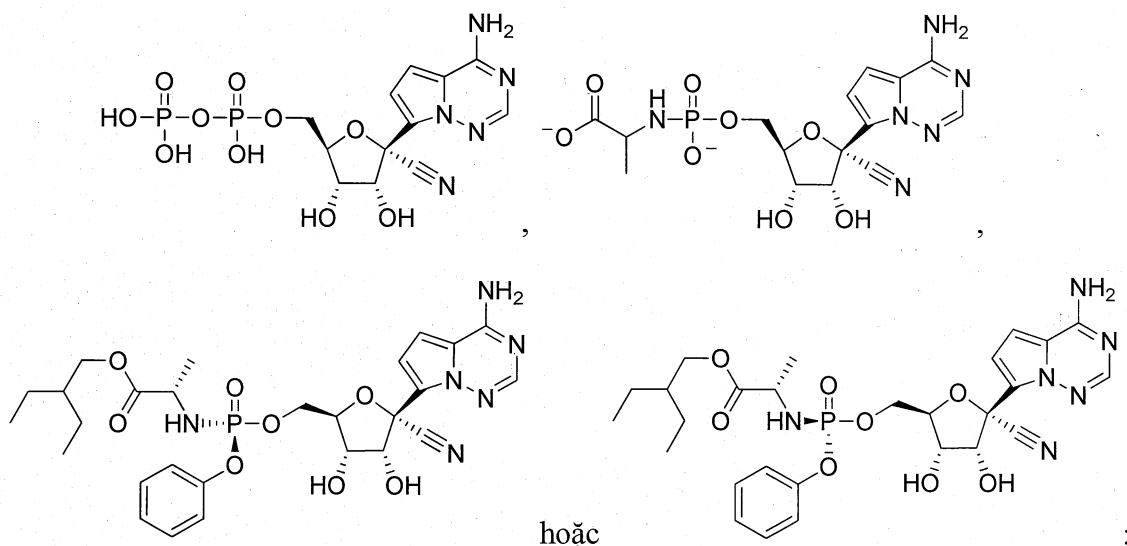
mỗi n là số nguyên độc lập được chọn từ nhóm gồm 0, 1, hoặc 2; và

trong đó mỗi (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl hoặc (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl gồm mỗi R^{11} hoặc R^{12} là, độc lập, tùy ý được thế bởi một hoặc nhiều phần tử thế được chọn từ nhóm gồm halo, hydroxy, CN, N_3 , $N(R^a)_2$ hoặc OR^a ; và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không phải đầu tận cùng của mỗi (C_1-C_8) alkyl này có thể tùy ý được thế bằng -O-, -S- hoặc $-NR^a$.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất là







hoặc muối được dụng, hydrat, hoặc este của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

I. Định nghĩa

Trừ khi được xác định khác, các thuật ngữ và cụm từ sau đây như được sử dụng trong bản mô tả này được dự định có nghĩa sau đây:

Khi các tên thương mại được sử dụng trong bản mô tả này, chủ đơn dự định đề cập độc lập đến sản phẩm có tên thương mại và (các) dược chất có hoạt tính của sản phẩm có tên thương mại này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, "hợp chất theo sáng chế" hoặc "hợp chất có Công thức IV" có nghĩa là hợp chất có Công thức IV hoặc muối được dụng, của nó. Tương tự, liên quan đến chất trung gian có thể tách ra, cụm từ "hợp chất có Công thức (số)" có nghĩa là hợp chất có công thức đó và các muối được dụng của nó.

"Alkyl" là hydrocarbon chứa nguyên tử cacbon thông thường, bậc hai, bậc ba hoặc dạng vòng. Ví dụ, nhóm alkyl có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon (*tức là*, C₁-C₂₀ alkyl), 1 đến 8 nguyên tử cacbon (*tức là*, C₁-C₈ alkyl), hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon (*tức là*, C₁-C₆ alkyl). Các ví dụ về nhóm alkyl thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, methyl (Me, -CH₃), ethyl (Et, -CH₂CH₃), 1-propyl (n-Pr, n-propyl, -CH₂CH₂CH₃), 2-propyl (i-Pr, i-propyl, -CH(CH₃)₂), 1-butyl (n-Bu, n-butyl, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metyl-1-propyl (i-Bu, i-butyl, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butyl (s-Bu, s-butyl, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metyl-2-propyl (t-Bu, t-butyl, -C(CH₃)₃), 1-pentyl (n-

pentyl, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-pentyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-pentyl ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metyl-2-butyl ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metyl-2-butyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metyl-1-butyl ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2-metyl-1-butyl ($-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1-hexyl ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2-hexyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-hexyl ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$), 2-metyl-2-pentyl ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3-metyl-2-pentyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4-metyl-2-pentyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3-metyl-3-pentyl ($-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 2-metyl-3-pentyl ($-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,3-dimetyl-2-butyl ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,3-dimetyl-2-butyl ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$), và octyl ($-(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$).

“Alkoxy” có nghĩa là nhóm có công thức $-\text{O-alkyl}$, trong đó nhóm alkyl, như được định nghĩa ở trên, gắn vào phân tử gốc qua nguyên tử oxi. Phần alkyl của nhóm alkoxy có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alkoxy), 1 đến 12 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alkoxy), hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkoxy). Các ví dụ về nhóm alkoxy thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, metoxy ($-\text{O-CH}_3$ hoặc $-\text{OMe}$), etoxy ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ hoặc $-\text{OEt}$), t-butoxy ($-\text{O-C}(\text{CH}_3)_3$ hoặc $-\text{OtBu}$) và nhóm tương tự.

“Haloalkyl” là nhóm alkyl, như được định nghĩa ở trên, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro của nhóm alkyl được thay thế bằng nguyên tử halogen. Phần alkyl của nhóm haloalkyl có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ haloalkyl), 1 đến 12 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ haloalkyl), hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl). Các ví dụ về nhóm haloalkyl thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CFH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, và nhóm tương tự.

“Alkenyl” là hydrocacbon chứa nguyên tử cacbon thông thường, bậc hai, bậc ba hoặc dạng vòng có ít nhất một vị trí không no, *tức là* liên kết đôi cacbon-cacbon, sp^2 . Ví dụ, nhóm alkenyl có thể có từ 2 đến 20 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_2\text{-C}_{20}$ alkenyl), 2 đến 8 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_2\text{-C}_8$ alkenyl), hoặc 2 đến 6 nguyên tử cacbon (*tức là*, $\text{C}_2\text{-C}_6$ alkenyl). Các ví dụ về nhóm alkenyl thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, etylen hoặc vinyl ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), allyl ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), cyclopentenyl ($-\text{C}_5\text{H}_7$), và 5-hexenyl ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$).

“Alkynyl” là hydrocacbon chứa nguyên tử cacbon thông thường, bậc hai, bậc ba hoặc dạng vòng có ít nhất một vị trí không no, *tức là* liên kết ba cacbon-cacbon, sp . Ví

dụ, nhóm alkynyl có thể có từ 2 đến 20 nguyên tử cacbon (*tức là*, C_2-C_{20} alkynyl), 2 đến 8 nguyên tử cacbon (*tức là*, C_2-C_8 alkyn-), hoặc 2 đến 6 nguyên tử cacbon (*tức là*, C_2-C_6 alkynyl). Các ví dụ về nhóm alkynyl thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, axetylenic ($-C\equiv CH$), propargyl ($-CH_2C\equiv CH$), và nhóm tương tự.

“Alkylen” dùng để chỉ gốc hydrocacbon no, mạch thẳng hoặc phân nhánh hoặc dạng vòng có hai tâm ở gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro khỏi cùng một nguyên tử cacbon hoặc hai nguyên tử cacbon khác nhau của alkan gốc. Ví dụ, nhóm alkylen có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Các gốc alkylen thường bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, metylen ($-CH_2-$), 1,1-etyl ($-CH(CH_3)-$), 1,2-etyl ($-CH_2CH_2-$), 1,1-propyl ($-CH(CH_2CH_3)-$), 1,2-propyl ($-CH_2CH(CH_3)-$), 1,3-propyl ($-CH_2CH_2CH_2-$), 1,4-butyl ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), và nhóm tương tự.

Thuật ngữ “alkenylen” được dùng để chỉ gốc hydrocacbon không no, mạch nhánh hoặc mạch thẳng hoặc mạch vòng có hai tâm ở gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro ra khỏi cùng một nguyên tử cacbon hoặc hai nguyên tử cacbon khác nhau của alken gốc. Ví dụ, và nhóm alkenylen có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Các gốc alkenylen thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: 1,2-etylen ($-CH=CH-$).

Thuật ngữ “alkynylen” được dùng để chỉ gốc hydrocacbon không no, mạch nhánh hoặc mạch thẳng hoặc mạch vòng có hai tâm ở gốc hóa trị một thu được bằng cách loại bỏ hai nguyên tử hydro ra khỏi cùng một nguyên tử cacbon hoặc hai nguyên tử cacbon khác nhau của alkyn gốc. Ví dụ, nhóm alkynylen có thể có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Các gốc alkynylen thường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: axetylen ($-C\equiv C-$), propargyl ($-CH_2C\equiv C-$), và 4-pentynyl ($-CH_2CH_2CH_2C\equiv C-$).

Nói chung, “amino” dùng để chỉ gốc nitơ có thể được xem là dẫn xuất của amoniac, có công thức $-N(X)_2$, trong đó mỗi “X” độc lập là H, alkyl được thế hoặc không được thế, cacboxyclyl được thế hoặc không được thế, heteroxyclyl được thế hoặc không được thế, v.v. Sự lai hóa của nitơ là khoảng sp^3 . Các loại amino không giới hạn bao gồm $-NH_2$, $-N(alkyl)_2$, $-NH(alkyl)$, $-N(cacboxyclyl)_2$, $-NH(cacboxyclyl)$, $-N(heteroxyclyl)_2$, $-NH(heteroxyclyl)$, $-N(aryl)_2$, $-NH(aryl)$, $-N(alkyl)(aryl)$, -

N(alkyl)(heterocyclyl), -N(cacboxyclyl)(heterocyclyl), -N(aryl)(heteroaryl), -N(alkyl)(heteroaryl), v.v. Thuật ngữ “alkylamino” dùng để chỉ nhóm amino được thế bằng ít nhất một nhóm alkyl. Các ví dụ không giới hạn về nhóm amino bao gồm -NH_2 , $\text{-NH(CH}_3\text{)}$, $\text{-N(CH}_3\text{)}_2$, $\text{-NH(CH}_2\text{CH}_3\text{)}$, $\text{-N(CH}_2\text{CH}_3\text{)}_2$, -NH(phenyl) , -N(phenyl)_2 , -NH(benzyl) , -N(benzyl)_2 , v.v. Nói chung, alkylamino được thế dùng để chỉ nhóm alkylamino, như được định nghĩa ở trên, trong đó ít nhất một alkyl được thế, như được định nghĩa trong bản mô tả này, gắn vào nguyên tử amino nitơ. Các ví dụ không giới hạn về alkylamino được thế bao gồm $\text{-NH(alkylen-C(O)-OH)}$, $\text{-NH(alkylen-C(O)-O-alkyl)}$, $\text{-N(alkylen-C(O)-OH)}_2$, $\text{-N(alkylen-C(O)-O-alkyl)}_2$, v.v.

“Aryl” có nghĩa là gốc hydrocacbon thơm thu được bằng cách loại bỏ một nguyên tử hydro khỏi nguyên tử cacbon đơn của hệ vòng thơm gốc. Ví dụ, nhóm aryl có thể có từ 6 đến 20 nguyên tử cacbon, 6 đến 14 nguyên tử cacbon, hoặc 6 đến 10 nguyên tử cacbon. Các nhóm aryl thường bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, gốc thu được từ benzen (ví dụ, phenyl), benzen được thế, naphtalen, antraxen, biphenyl, và nhóm tương tự.

“Arylalkyl” dùng để chỉ gốc alkyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro liên kết với nguyên tử cacbon, điển hình là nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc nguyên tử cacbon sp^3 , được thay thế bằng gốc aryl. Các nhóm arylalkyl điển hình bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, benzyl, 2-phenyletan-1-yl, naphtylmetyl, 2-naphtyletan-1-yl, naphtobenzyl, 2-naphtophenyletan-1-yl và nhóm tương tự. Nhóm arylalkyl có thể chứa từ 7 đến 20 nguyên tử cacbon, ví dụ, phần alkyl nằm trong khoảng từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và phần aryl nằm trong khoảng từ 6 đến 14 nguyên tử cacbon.

“Arylalkenyl” dùng để chỉ gốc alkenyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro liên kết với nguyên tử cacbon, điển hình là nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc nguyên tử cacbon sp^3 , cũng có nguyên tử cacbon sp^2 , được thay thế bằng gốc aryl. Phần aryl của arylalkenyl có thể bao gồm, ví dụ, bất kỳ trong số các nhóm aryl được bộc lộ trong bản mô tả này, và phần alkenyl của arylalkenyl có thể bao gồm, ví dụ, bất kỳ trong số các nhóm alkenyl được bộc lộ trong bản mô tả này. Nhóm arylalkenyl có thể chứa từ 8 đến 20 nguyên tử cacbon, ví dụ, phần alkenyl nằm trong

khoảng từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và phần aryl nằm trong khoảng từ 6 đến 14 nguyên tử cacbon.

“Arylalkynyl” dùng để chỉ gốc alkynyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro liên kết với nguyên tử cacbon, điển hình là nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc nguyên tử cacbon sp^3 , cũng có nguyên tử cacbon sp , được thay thế bằng gốc aryl. Phần aryl của arylalkynyl có thể bao gồm, ví dụ, bất kỳ trong số các nhóm aryl được bộc lộ trong bản mô tả này, và phần alkynyl của arylalkynyl có thể bao gồm, ví dụ, bất kỳ trong số các nhóm alkynyl được bộc lộ trong bản mô tả này. Nhóm arylalkynyl có thể chứa từ 8 đến 20 nguyên tử cacbon, ví dụ, phần alkynyl nằm trong khoảng từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và phần aryl nằm trong khoảng từ 6 đến 14 nguyên tử cacbon.

Thuật ngữ “được thế” tham chiếu đến alkyl, alkylen, aryl, arylalkyl, alkoxy, heteroxyclyl, heteroaryl, cacboxyclyl, v.v., ví dụ, “alkyl được thế”, “alkylen được thế”, “aryl được thế”, “arylalkyl được thế”, “heteroxyclyl được thế”, và “cacboxyclyl được thế” lần lượt có nghĩa là alkyl, alkylen, aryl, arylalkyl, heteroxyclyl, cacboxyclyl, trong đó một hoặc nhiều mỗi nguyên tử hydro độc lập được thay thế bằng phần tử thế không phải là hydro. Các phần tử thế điển hình bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, -X, -R^b, -O⁻, =O, -OR^b, -SR^b, -S⁻, -NR^b₂, -N⁺R^b₃, =NR^b, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NHC(=O)R^b, -OC(=O)R^b, -NHC(=O)NR^b₂, -S(=O)₂⁻, -S(=O)₂OH, -S(=O)₂R^b, -OS(=O)₂OR^b, -S(=O)₂NR^b₂, -S(=O)R^b, -OP(=O)(OR^b)₂, -P(=O)(OR^b)₂, -P(=O)(O⁻)₂, -P(=O)(OH)₂, -P(O)(OR^b)(O⁻), -C(=O)R^b, -C(=O)X, -C(S)R^b, -C(O)OR^b, -C(O)O⁻, -C(S)OR^b, -C(O)SR^b, -C(S)SR^b, -C(O)NR^b₂, -C(S)NR^b₂, -C(=NR^b)NR^b₂, trong đó mỗi X độc lập là halogen: F, Cl, Br, hoặc I; và mỗi R^b độc lập là H, alkyl, aryl, arylalkyl, dị vòng, hoặc nhóm bảo vệ hoặc phần tiền chất. Các nhóm alkylen, alkenylen, và alkynylen cũng có thể được thế tương tự. Nếu không được chỉ ra theo cách khác, khi thuật ngữ “được thế” được sử dụng kết hợp với các nhóm như arylalkyl, mà có hai hoặc nhiều gốc có thể thế, phần tử thế có thể gắn vào phần aryl, phần alkyl, hoặc cả hai.

Thuật ngữ “tiền chất” như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ hợp chất bất kỳ mà khi được dùng với hệ sinh học tạo ra chất thuốc, tức là, chất có hoạt tính, do (các) phản ứng hóa học tức thời, (các) phản ứng hóa học xúc tác enzym, sự quang

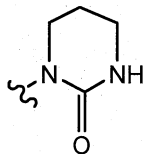
phân, và/hoặc (các) phản ứng hóa học trao đổi chất. Tiền chất vì vậy là dạng tiềm tàng hoặc tương tự sửa đổi đồng hóa trị của hợp chất có hoạt tính chữa bệnh.

Một người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực sẽ nhận ra rằng các phân tử thể và gốc khác của các hợp chất có Công thức IV có thể được lựa chọn để tạo ra hợp chất ổn định thích hợp để tạo ra hợp chất được hiệu có thể được phối trộn thành được phẩm ổn định chấp nhận được. Các hợp chất có Công thức IV có độ ổn định này được dự phòng nằm trong phạm vi của sáng chế.

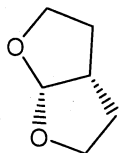
“Heteroalkyl” dùng để chỉ nhóm alkyl trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon đã được thay thế bằng nguyên tử khác loại, như, O, N, hoặc S. Ví dụ, nếu nguyên tử cacbon của nhóm alkyl gắn vào phân tử gốc được thay thế bằng nguyên tử khác loại (ví dụ, O, N, hoặc S) các nhóm heteroalkyl tạo ra, lần lượt, là nhóm alkoxy (ví dụ, $-\text{OCH}_3$, v.v.), amin (ví dụ, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, v.v.), hoặc nhóm thioalkyl (ví dụ, $-\text{SCH}_3$). Nếu nguyên tử cacbon không đầu tận cùng của nhóm alkyl không gắn vào phân tử gốc được thay thế bằng nguyên tử khác loại (ví dụ, O, N, hoặc S) các nhóm heteroalkyl tạo ra, lần lượt, là alkyl ete (ví dụ, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, v.v.), alkyl amin (ví dụ, $-\text{CH}_2\text{NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, v.v.), hoặc thioalkyl ete (ví dụ, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$). Nếu nguyên tử cacbon đầu tận cùng của nhóm alkyl được thay thế bằng nguyên tử khác loại (ví dụ, O, N, hoặc S), các nhóm heteroalkyl tạo ra, lần lượt, là nhóm hydroxyalkyl (e.g., $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$), nhóm aminoalkyl (ví dụ, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$), hoặc nhóm alkyl thiol (ví dụ, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{SH}$). Nhóm heteroalkyl có thể có, ví dụ, từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, 1 đến 10 nguyên tử cacbon, hoặc 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Nhóm $\text{C}_1\text{-C}_6$ heteroalkyl có nghĩa là nhóm heteroalkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

“Dị vòng” hoặc “heterocyclyl” như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm ví dụ và không làm giới hạn như các dị vòng được mô tả trong Paquette, Leo A.; Principles of Modern Heterocyclic Chemistry (W.A. Benjamin, New York, 1968), cụ thể là Chapters 1, 3, 4, 6, 7, và 9; The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Series of Monographs (John Wiley & Sons, New York, 1950 to present), cụ thể là Volumes 13, 14, 16, 19, và 28; và *J. Am. Chem. Soc.* (1960) 82:5566. Theo một phương án cụ thể của sáng chế “dị vòng” bao gồm “vòng cacbon” như được định nghĩa trong bản mô tả này, trong đó một hoặc nhiều (ví dụ 1, 2, 3, hoặc 4) nguyên tử cacbon đã được thay thế bằng nguyên tử khác loại (ví dụ O, N, hoặc S). Các thuật ngữ “dị vòng” hoặc

“heteroxyclyl” bao gồm vòng no, vòng chưa no một phần, và vòng thơm (*tức là*, vòng thơm dị vòng). Các heteroxyclyl được thể bao gồm, ví dụ, vòng dị vòng được thể bằng bất kỳ trong số các phân tử thể được bộc lộ trong bản mô tả này bao gồm các nhóm cacbonyl. Ví dụ không giới hạn về heteroxyclyl được thể cacbonyl là:



Các ví dụ về các dị vòng bao gồm ví dụ và không làm giới hạn như pyridyl, dihydroypyridyl, tetrahydropyridyl (piperidyl), thiazolyl, tetrahydrothiophenyl, sulfur oxidized tetrahydrothiophenyl, pyrimidinyl, furanyl, thienyl, pyrrolyl, pyrazolyl, imidazolyl, tetrazolyl, benzofuranyl, thianaphthalenyl, indolyl, indolenyl, quinolinyl, isoquinolinyl, benzimidazolyl, piperidinyl, 4-piperidonyl, pyrrolidinyl, 2-pyrrolidonyl, pyrrolinyl, tetrahydrofuranyl, tetrahydroquinolinyl, tetrahydroisoquinolinyl, decahydroquinolinyl, octahydroisoquinolinyl, azocinyl, triazinyl, 6H-1,2,5-thiadiazinyl, 2H,6H-1,5,2-dithiazinyl, thienyl, thianthrenyl, pyranyl, isobenzofuranyl, chromenyl, xanthenyl, phenoxathinyl, 2H-pyrrolyl, isothiazolyl, isoxazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, indolizinyl, isoindolyl, 3H-indolyl, 1H-indazolyl, purinyl, 4H-quinolizinyl, phthalazinyl, naphthyridinyl, quinoxalinyl, quinazolinyl, cinnolinyl, pteridinyl, 4aH-carbazolyl, carbazolyl, β -carbolinyl, phenanthridinyl, acridinyl, pyrimidinyl, phenanthrolinyl, phenazinyl, phenothiazinyl, furazanyl, phenoxazinyl, isochromanyl, chromanyl, imidazolidinyl, imidazolyl, pyrazolidinyl, pyrazolyl, piperazinyl, indolyl, isoindolyl, quinuclidinyl, morpholinyl, oxazolidinyl, benzotriazolyl, benzisoxazolyl, oxindolyl, benzoxazolyl, isatinoyl, và bis-tetrahydrofuranyl:



Theo cách ví dụ và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế, các dị vòng liên kết cacbon được liên kết ở vị trí 2, 3, 4, 5, hoặc 6 của pyridin, vị trí 3, 4, 5, hoặc 6 của pyridazin, vị trí 2, 4, 5, hoặc 6 của pyrimidin, vị trí 2, 3, 5, hoặc 6 của pyrazin, vị trí 2, 3, 4, hoặc 5 của furan, tetrahydrofuran, thiofuran, thiophen, pyrrol hoặc tetrahydropyrrol,

vị trí 2, 4, hoặc 5 của oxazol, imidazol hoặc thiazol, vị trí 3, 4, hoặc 5 của isoxazol, pyrazol, hoặc isothiazol, vị trí 2 hoặc 3 của aziridin, vị trí 2, 3, hoặc 4 của azetidin, vị trí 2, 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8 của quinolin hoặc vị trí 1, 3, 4, 5, 6, 7, hoặc 8 của isoquinolin. Thông thường hơn nữa, các dị vòng liên kết cacbon bao gồm 2-pyridyl, 3-pyridyl, 4-pyridyl, 5-pyridyl, 6-pyridyl, 3-pyridazinyl, 4-pyridazinyl, 5-pyridazinyl, 6-pyridazinyl, 2-pyrimidinyl, 4-pyrimidinyl, 5-pyrimidinyl, 6-pyrimidinyl, 2-pyrazinyl, 3-pyrazinyl, 5-pyrazinyl, 6-pyrazinyl, 2-thiazolyl, 4-thiazolyl, hoặc 5-thiazolyl.

Theo cách ví dụ và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế, các dị vòng liên kết nitơ được liên kết ở vị trí 1 của aziridin, azetidin, pyrol, pyrrolidin, 2-pyrolin, 3-pyrolin, imidazol, imidazolidin, 2-imidazolin, 3-imidazolin, pyrazol, pyrazolin, 2-pyrazolin, 3-pyrazolin, piperidin, piperazin, indol, indolin, 1H-indazol, vị trí 2 của isoindol, hoặc isoindolin, vị trí 4 của morpholin, và vị trí 9 của carbazol, hoặc β -carbolin. Thông thường hơn nữa, các dị vòng liên kết nitơ bao gồm 1-aziridyl, 1-azetetyl, 1-pyrollyl, 1-imidazolyl, 1-pyrazolyl, và 1-piperidinyl.

“Heteroxyclylalkyl” dùng để chỉ gốc alkyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro được liên kết với nguyên tử cacbon, thông thường là nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc sp^3 , được thay thế bằng gốc heteroxyclyl (*tức là*, phần heteroxyclyl-alkylen). Các nhóm heteroxyclyl alkyl thường bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở heteroxyclyl-CH₂-, 2-(heteroxyclyl)etan-1-yl, và nhóm tương tự, trong đó phần “heteroxyclyl” bao gồm bất kỳ trong số các nhóm heteroxyclyl được mô tả ở trên, bao gồm các nhóm được mô tả trong Principles of Modern Heterocyclic Chemistry. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực cũng sẽ hiểu rằng nhóm heteroxyclyl có thể gắn vào phần alkyl của heteroxyclyl alkyl bằng liên kết cacbon-cacbon hoặc liên kết cacbon-nguyên tử khác loại, với điều kiện là nhóm tạo ra tính ổn định hóa học. Nhóm heteroxyclyl alkyl chứa từ 3 đến 20 nguyên tử cacbon, *ví dụ*, phần alkyl của nhóm arylalkyl nằm trong khoảng từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon và phần heteroxyclyl nằm trong khoảng từ 2 đến 14 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về heteroxyclylalkyl bao gồm ví dụ và không làm giới hạn các dị vòng chứa lưu huỳnh, oxi, và/hoặc nitơ 5 cạnh như thiazolylmetyl, 2-thiazolyletan-1-yl, imidazolylmetyl, oxazolylmetyl, thiadiazolylmetyl, v.v., các dị vòng chứa lưu huỳnh, oxi, và/hoặc nitơ 6 cạnh như piperidinylmetyl,

piperazinylmetyl, morpholinylmetyl, pyridinylmetyl, pyridizylmetyl, pyrimidylmetyl, pyrazinylmetyl, v.v.

“Heteroxyclylalkenyl” dùng để chỉ gốc alkenyl không vòng trong đó một trong số các nguyên tử hydro được liên kết với nguyên tử cacbon, thông thường nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc sp^3 , cũng có nguyên tử cacbon sp^2 , được thay thế bằng gốc heteroxyclyl (*tức là*, phần heteroxyclyl-alkenylen). Phần heteroxyclyl của nhóm heteroxyclyl alkenyl bao gồm bất kỳ trong số các nhóm heteroxyclyl được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm các nhóm được mô tả trong Principles of Modern Heterocyclic Chemistry, và phần alkenyl của nhóm heteroxyclyl alkenyl bao gồm bất kỳ trong số các nhóm alkenyl được bộc lộ trong bản mô tả này. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực cũng sẽ hiểu rằng nhóm heteroxyclyl có thể gắn vào phần alkenyl của heteroxyclyl alkenyl bằng liên kết cacbon-cacbon hoặc liên kết cacbon-nguyên tử khác loại, với điều kiện là nhóm tạo ra tính ổn định hóa học. Nhóm heteroxyclyl alkenyl chứa từ 4 đến 20 nguyên tử cacbon, *ví dụ*, phần alkenyl của nhóm heteroxyclyl alkenyl nằm trong khoảng từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và phần heteroxyclyl nằm trong khoảng từ 2 đến 14 nguyên tử cacbon.

“Heteroxyclylalkynyl” dùng để chỉ gốc alkynyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro được liên kết với nguyên tử cacbon, thông thường nguyên tử cacbon đầu tận cùng hoặc sp^3 , cũng có nguyên tử cacbon sp , được thay thế bằng gốc heteroxyclyl (*tức là*, phần heteroxyclyl-alkynylen). Phần heteroxyclyl của nhóm heteroxyclyl alkynyl bao gồm bất kỳ trong số các nhóm heteroxyclyl được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm các nhóm được mô tả trong Principles of Modern Heterocyclic Chemistry, và phần alkynyl của nhóm heteroxyclyl alkynyl bao gồm bất kỳ trong số các nhóm alkynyl được bộc lộ trong bản mô tả này. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực cũng sẽ hiểu rằng nhóm heteroxyclyl có thể gắn vào phần alkynyl của heteroxyclyl alkynyl bằng liên kết cacbon-cacbon hoặc liên kết cacbon-nguyên tử khác loại, với điều kiện là nhóm tạo ra tính ổn định hóa học. Nhóm heteroxyclyl alkynyl chứa từ 4 đến 20 nguyên tử cacbon, *ví dụ*, phần alkynyl của nhóm heteroxyclyl alkynyl nằm trong khoảng từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon và phần heteroxyclyl nằm trong khoảng từ 2 đến 14 nguyên tử cacbon.

“Heteroaryl” dùng để chỉ heterocyclyl thơm có ít nhất một nguyên tử khác loại trong vòng. Các ví dụ không giới hạn về nguyên tử khác loại thích hợp có thể được chứa trong vòng thơm bao gồm oxy, lưu huỳnh, và nitơ. Các ví dụ không giới hạn về vòng heteroaryl bao gồm tất cả các vòng thơm liệt kê trong định nghĩa về “heterocyclyl”, bao gồm pyridinyl, pyrrolyl, oxazolyl, indolyl, isoindolyl, purinyl, furanyl, thienyl, benzofuranyl, benzothiophenyl, carbazolyl, imidazolyl, thiazolyl, isoxazolyl, pyrazolyl, isothiazolyl, quinolyl, isoquinolyl, pyridazyl, pyrimidyl, pyrazyl, v.v.

“Vòng cacbon” hoặc “cacboxycyclyl” dùng để chỉ vòng no (tức là, xycloalkyl), chưa no một phần (ví dụ, cycloalkenyl, cycloalkadienyl, v.v.) hoặc thơm có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon là một vòng, 7 đến 12 nguyên tử cacbon là hai vòng, và lên đến khoảng 20 nguyên tử cacbon là nhiều vòng. Các vòng cacbon một vòng có từ 3 đến 7 nguyên tử vòng, thông thường hơn nữa là 5 hoặc 6 nguyên tử vòng. Các vòng cacbon hai vòng có từ 7 đến 12 nguyên tử vòng, ví dụ, được bố trí dưới dạng hệ bixyclo [4,5], [5,5], [5,6] hoặc [6,6], hoặc 9 hoặc 10 nguyên tử vòng được bố trí dưới dạng hệ bixyclo [5,6] hoặc [6,6], hoặc vòng dung hợp ở vị trí spiro. Các ví dụ không giới hạn về các vòng cacbon một vòng bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, 1-cyclopent-1-enyl, 1-cyclopent-2-enyl, 1-cyclopent-3-enyl, xyclohexyl, 1-xyclohex-1-enyl, 1-xyclohex-2-enyl, 1-xyclohex-3-enyl, và phenyl. Các ví dụ không giới hạn về các vòng cacbon bixyclo bao gồm naphtyl, tetrahydronaphtalen, và decalin.

“Cacboxycyclylalkyl” dùng để chỉ gốc alkyl không vòng trong đó một trong các nguyên tử hydro liên kết với nguyên tử cacbon được thay thế bằng gốc cacboxycyclyl như được mô tả trong bản mô tả này. Thông thường, nhưng không giới hạn, các ví dụ về các nhóm cacboxycyclylalkyl bao gồm xyclopropylmetyl, xyclopropyletyl, xyclobutylmetyl, xyclopentylmetyl và xyclohexylmetyl.

“Arylheteroalkyl” dùng để chỉ heteroalkyl như được định nghĩa trong bản mô tả này, trong đó nguyên tử hydro (mà có thể gắn hoặc vào nguyên tử cacbon hoặc nguyên tử khác loại) đã được thay thế bằng nhóm aryl như được định nghĩa trong bản mô tả này. Các nhóm aryl có thể được liên kết với nguyên tử cacbon của nhóm heteroalkyl, hoặc với nguyên tử khác loại của nhóm heteroalkyl, được đề xuất rằng nhóm arylheteroalkyl tạo ra có gốc ổn định hóa học. Ví dụ, nhóm arylheteroalkyl có thể có

công thức chung -alkylen-O-aryl, -alkylen-O-alkylen-aryl, -alkylen-NH-aryl, -alkylen-NH-alkylen-aryl, -alkylen-S-aryl, -alkylen-S-alkylen-aryl, v.v. Ngoài ra, bất kỳ trong số các nhóm alkylen ở công thức chung ở trên có thể còn được thế bằng bất kỳ trong số các phần tử thế được định nghĩa hoặc minh họa bằng ví dụ trong bản mô tả này.

“Heteroarylalkyl” dùng để chỉ nhóm alkyl, như được định nghĩa trong bản mô tả này, trong đó nguyên tử hydro đã được thay thế bằng nhóm heteroaryl như được định nghĩa trong bản mô tả này. Các ví dụ không giới hạn về heteroaryl alkyl bao gồm -CH₂-pyridinyl, -CH₂-pyrrolyl, -CH₂-oxazolyl, -CH₂-indolyl, -CH₂-isoindolyl, -CH₂-purinyl, -CH₂-furanyl, -CH₂-thienyl, -CH₂-benzofuranyl, -CH₂-benzothiophenyl, -CH₂-carbazolyl, -CH₂-imidazolyl, -CH₂-thiazolyl, -CH₂-isoxazolyl, -CH₂-pyrazolyl, -CH₂-isothiazolyl, -CH₂-quinolyl, -CH₂-isoquinolyl, -CH₂-pyridazyl, -CH₂-pyrimidyl, -CH₂-pyrazyl, -CH(CH₃)-pyridinyl, -CH(CH₃)-pyrrolyl, -CH(CH₃)-oxazolyl, -CH(CH₃)-indolyl, -CH(CH₃)-isoindolyl, -CH(CH₃)-purinyl, -CH(CH₃)-furanyl, -CH(CH₃)-thienyl, -CH(CH₃)-benzofuranyl, -CH(CH₃)-benzothiophenyl, -CH(CH₃)-carbazolyl, -CH(CH₃)-imidazolyl, -CH(CH₃)-thiazolyl, -CH(CH₃)-isoxazolyl, -CH(CH₃)-pyrazolyl, -CH(CH₃)-isothiazolyl, -CH(CH₃)-quinolyl, -CH(CH₃)-isoquinolyl, -CH(CH₃)-pyridazyl, -CH(CH₃)-pyrimidyl, -CH(CH₃)-pyrazyl, v.v.

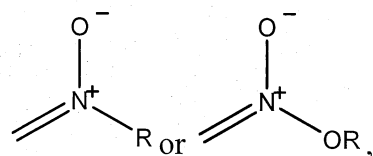
Thuật ngữ “tùy ý được thế” tham chiếu đến gốc cụ thể của hợp chất có Công thức IV (ví dụ, nhóm aryl tùy ý được thế) dùng để chỉ gốc trong đó tất cả các phần tử thế là hydro hoặc trong đó một hoặc nhiều hydro của gốc có thể được thay thế bằng phần tử thế như các phần tử thế được nêu trong định nghĩa về “được thế”.

Thuật ngữ “tùy ý được thay thế” tham chiếu đến gốc cụ thể của hợp chất có Công thức IV (ví dụ, nguyên tử cacbon của (C₁-C₈)alkyl này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S-, hoặc -NR^a-) có nghĩa là một hoặc nhiều nhóm metylen của (C₁-C₈)alkyl có thể được thay thế bằng 0, 1, 2, hoặc nhiều nhóm nhất định (ví dụ, -O-, -S-, hoặc -NR^a-).

Thuật ngữ “(các) nguyên tử cacbon không đầu tận cùng” tham chiếu đến gốc alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylen, alkenylen, hoặc alkynylen dùng để chỉ nguyên tử cacbon trong gốc mà xen vào giữa nguyên tử cacbon thứ nhất của gốc và nguyên tử

cacbon cuối trong gốc. Do đó, ví dụ và không làm giới hạn, trong gốc alkyl - $\text{CH}_2(\text{C}^*)\text{H}_2(\text{C}^*)\text{H}_2\text{CH}_3$ hoặc gốc alkylen - $\text{CH}_2(\text{C}^*)\text{H}_2(\text{C}^*)\text{H}_2\text{CH}_2-$ nguyên tử C^* sẽ được xem là nguyên tử cacbon không đầu tận cùng.

Một số Q và Q¹ thay thế là nitơ oxit như $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$ hoặc $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$. Các nitơ oxit này, như được thể hiện ở đây gắn vào nguyên tử cacbon, cũng có thể được thể hiện bằng cách nạp các nhóm riêng biệt như



lần lượt, và dự định tương đương với các biểu diễn nêu trên nhằm mục đích mô tả sáng chế.

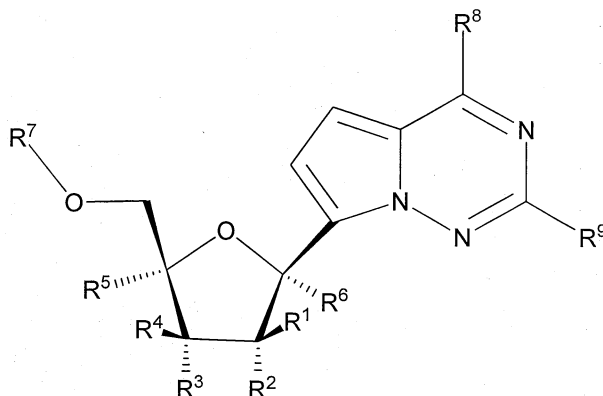
"Chất liên kết" hoặc "liên kết" có nghĩa là gốc hóa học chứa liên kết cộng hóa trị hoặc mạch nguyên tử. Các chất liên kết bao gồm các đơn vị lặp lại của alkyloxy (ví dụ polyetylenoxy, PEG, polymetylenoxy) và alkylamino (ví dụ polyetylenamino, JeffaminTM); và este diacid và amit bao gồm suxinat, suxinamit, diglycolat, malonat, và caproamit.

Các thuật ngữ như "liên kết oxi", "liên kết nitơ", "liên kết cacbon", "liên kết sulfur", hoặc "liên kết phospho" có nghĩa rằng nếu liên kết giữa hai nhóm có thể được tạo thành bằng cách sử dụng nhiều hơn một loại nguyên tử trong gốc, sau đó liên kết tạo thành giữa các gốc thông qua nguyên tử nhất định. Ví dụ, amino axit liên kết nitơ sẽ được liên kết thông qua nguyên tử nitơ của axit amin hơn thông qua nguyên tử oxi hoặc cacbon của amino axit.

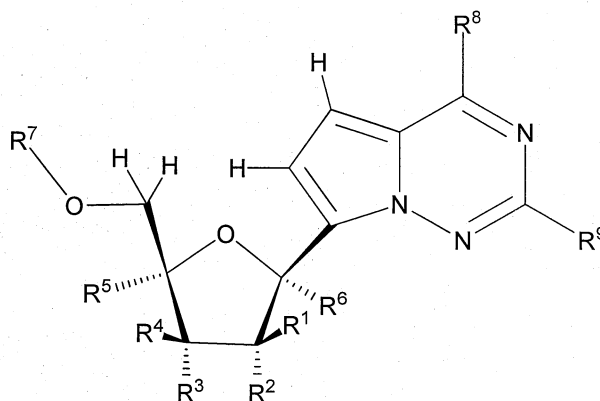
Theo một số phương án của các hợp chất có Công thức IV, một hoặc nhiều Z¹ hoặc Z² độc lập là gốc của α-axit amin este xuất hiện trong tự nhiên liên kết nitơ. Các ví dụ về axit amin xuất hiện trong tự nhiên bao gồm isoleuxin, leuxin, lysin, methionin, phenylalanin, threonin, tryptophan, valin, alanin, asparagin, axit aspartic, cystein, axit glutamic, glutaphút, glyxin, prolin, selenoxystein, serin, tyrosin, arginin, histidin, ornithin và taurin. Các este của các amino axit này chứa bất kỳ trong số được mô tả đối với phần tử thế R, đặc biệt trong đó R là (C₁-C₈)alkyl tùy ý được thế.

Thuật ngữ gốc “purin” hoặc “pyrimidin” bao gồm, nhưng không giới hạn ở, adenin, N⁶-alkylpurin, N⁶-acylpurin (trong đó acyl là C(O)(alkyl, aryl, alkylaryl, hoặc arylalkyl), N⁶-benzylpurin, N⁶-halopurin, N⁶-vinylpurin, N⁶-axetylenic purin, N⁶-acyl purin, N⁶-hydroxyalkyl purin, N⁶-allylaminopurin, N⁶-thioallyl purin, N²-alkylpurins, N²-alkyl-6-thiopurin, thyphút, xytotoxin, 5-fluoroxytotoxin, 5-metylxytotoxin, 6-azapyrimidin, bao gồm 6-azaxytotoxin, 2- và/hoặc 4-mercaptopyrimidin, uracil, 5-halouracil, bao gồm 5-fluorouracil, C⁵-alkylpyrimidin, C⁵-benzylpyrimidin, C⁵-halopyrimidin, C⁵-vinylpyrimidin, C⁵-axetylenic pyrimidin, C⁵-acyl pyrimidin, C⁵-hydroxyalkyl purin, C⁵-amidopyrimidin, C⁵-xyanopyrimidin, C⁵-5-iodopyrimidin, C⁶-iodo-pyrimidin, C⁵-Br-vinyl pyrimidin, C⁶-Br-vinyl pyrimidin, C⁵-nitropyrimidin, C⁵-amino-pyrimidin, N²-alkylpurin, N²-alkyl-6-thiopurin, 5-azacytidinyl, 5-azauracilyl, triazolopyridinyl, imidazolopyridinyl, pyrrolopyrimidinyl, và pyrazolopyrimidinyl. Các gốc purin bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, guanin, adenin, hypoxantin, 2,6-diaminopurin, và 6-chloropurin. Các gốc purin và pyrimidin được liên kết với đường riboza, hoặc chất tương tự của nó, thông qua nguyên tử nitơ của bazơ. Các nhóm chức oxi và nitơ trên gốc có thể được bảo vệ khi cần thiết hoặc mong muốn. Các nhóm bảo vệ thích hợp đã được biết bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực, và bao gồm trimetylsilyl, dimethylhexylsilyl, t-butyldimetylsilyl, và t-butylldiphenylsilyl, trityl, các nhóm alkyl, và các nhóm acyl như acetyl và propionyl, metanesulfonyl, và p-toluensulfonyl.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, nguyên tử cacbon của các hợp chất có Công thức IV được dự định có hóa trị bốn. Theo một số công thức cấu trúc hóa học trong đó nguyên tử cacbon không có đủ số thay đổi gắn để tạo ra hóa trị bốn, cần phân tử thể cacbon còn lại để thu được hóa trị bốn có thể giả định là hydro. Ví dụ,



có nghĩa tương tự như



“Nhóm bảo vệ” dùng để chỉ gốc của hợp chất mà che hoặc biến đổi các tính chất của nhóm chức hoặc các tính chất của hợp chất toàn bộ. Cấu trúc phụ hóa học của nhóm bảo vệ thay đổi rộng rãi. Một chức năng của nhóm bảo vệ là đóng vai trò như là hợp chất trung gian trong quá trình tổng hợp chất thuốc gốc. Các nhóm bảo vệ hóa học và các biện pháp để bảo vệ/bỏ bảo vệ đã được biết trong lĩnh vực. Xem: "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Xanhe (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Cũng xem *Protective Groups in Organic Chemistry*, Peter G. M. Wuts and Theodora W. Xanhe, 4th Ed., 2006. Các nhóm bảo vệ thường được sử dụng để che khả năng phản ứng của một số nhóm chức, để trợ giúp cho hiệu quả của các phản ứng hóa học mong muốn, ví dụ tạo ra và phá vỡ các liên kết hóa học theo kiểu có thứ tự và được kế hoạch. Sự bảo vệ của nhóm chức của hợp chất biến đổi các tính chất vật lý khác ngoài khả năng phản ứng của nhóm chức được bảo vệ, như độ phân cực, tính ưa chất béo (tính không ưa nước), và các tính chất khác mà dụng cụ phân tích chung có thể đo. Chất trung gian được bảo vệ hóa học bản thân chúng có thể có hoạt tính hoặc không có hoạt tính sinh học. “Các nhóm bảo vệ hydroxy” dùng để chỉ các nhóm bảo vệ hữu ích để bảo vệ các nhóm hydroxy (-OH).

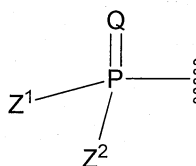
Các hợp chất được bảo vệ cũng có thể thể hiện các tính chất biến đổi, và trong một số trường hợp, tối ưu *in vitro* và *in vivo*, như đường dẫn thông qua màng tế bào và kháng với sự suy giảm hoặc chelat hóa bằng enzym. Với vai trò này, các hợp chất được bảo vệ có tác dụng trị liệu dự định có thể được coi là các tiền chất. Chức năng khác của nhóm bảo vệ là chuyển hóa thuốc gốc thành tiền chất, theo đó thuốc gốc được giải phóng sau khi chuyển hóa tiền chất *in vivo*. Bởi vì các tiền chất có hoạt tính có thể được hấp thụ hữu hiệu hơn thuốc gốc, các tiền chất có thể có hiệu quả *in vivo* lớn hơn thuốc

gốc. Các nhóm bảo vệ được loại bỏ hoặc *in vitro*, trong trường hợp của chất trung gian hóa học, hoặc *in vivo*, trong trường hợp các tiền chất. Với chất trung gian hóa học, không đặc biệt quan trọng là các sản phẩm tạo ra sau khi bỏ bảo vệ, ví dụ rượu, có thể chấp nhận được về mặt sinh lý, mặc dù nói chung có mong muốn hơn nếu các sản phẩm là được phẩm vô hại.

Thuật ngữ "không đối xứng" dùng để chỉ các phân tử có thuộc tính không chồng khít của vật kèm ảnh qua gương, trong khi thuật ngữ "đối xứng" dùng để chỉ các phân tử có thể đặt chồng khít được trên vật kèm ảnh qua gương của chúng.

Thuật ngữ "chất đồng phân lập thể" dùng để chỉ các hợp chất có cấu tạo hóa học đồng nhất, nhưng khác khi liên quan đến việc bố trí của các nguyên tử hoặc nhóm trong không gian.

"Chất đồng phân không đối quang" dùng để chỉ chất đồng phân lập thể có hai hoặc nhiều tâm không đối xứng và các phân tử của chúng không là ảnh qua gương của nhau. Chất đồng phân không đối quang có các tính chất vật lý khác nhau, ví dụ điểm nóng chảy, điểm sôi, các tính chất phổ, hoạt tính phản ứng và các tính chất sinh học. Ví dụ, các hợp chất có Công thức IV có thể có nguyên tử phospho không đối xứng khi R⁷ là



và Z¹ và Z² khác nhau. Khi ít nhất một trong số Z¹ hoặc Z² cũng có tâm không đối xứng, ví dụ với Z¹ hoặc Z² là α -amino axit este xuất hiện trong tự nhiên, không đối xứng, liên kết nitơ, sau đó hợp chất có Công thức IV sẽ tồn tại dưới dạng chất đồng phân không đối quang vì có hai tâm không đối xứng trong phân tử. Tất cả các chất đồng phân không đối quang này và ứng dụng của chúng được mô tả trong bản mô tả này được bao gồm bởi sáng chế. Hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang có thể tách biệt bằng các phương pháp phân tích nội dung cao như sự điện di, kết tinh và/hoặc sắc ký. Chất đồng phân không đối quang có thể có các thuộc tính vật lý khác nhau như, nhưng không giới hạn ở, độ hòa tan, tính ổn định hóa học và tính kết tinh và cũng có

thể có các tính chất sinh học khác nhau như, nhưng không giới hạn ở, độ ổn định bằng enzym, sự hấp thụ và độ ổn định chuyển hóa.

"Chất đồng phân đối ảnh" đề cập đến hai chất đồng phân lập thể của hợp chất mà là ảnh qua gương không chồng khít của nhau.

Bổ nghĩa "khoảng" được sử dụng liên quan đến lượng bao gồm giá trị đã nêu và có nghĩa điều khiển bởi ngữ cảnh (ví dụ, bao gồm độ mắc lỗi kết hợp với kết quả đo lượng cụ thể).

Thuật ngữ "điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, nếu không được chỉ ra theo cách khác, có nghĩa là đối chiều, giảm bớt, ức chế quá trình, hoặc ngăn cản rối loạn hoặc tình trạng bệnh mà ứng dụng thuật ngữ này, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn hoặc tình trạng bệnh này. Thuật ngữ "điều trị", như được sử dụng trong bản mô tả này, dùng để chỉ hoạt động điều trị, như "điều trị" được định nghĩa ngay ở trên.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu điều trị bệnh", như được sử dụng trong bản mô tả này, là lượng của hợp chất có Công thức IV có trong chế phẩm được mô tả trong bản mô tả này cần để thu được mức mong muốn của thuốc trong các chất tiết và mô của đường thở và phổi, hoặc cách khác, trong dòng máu của một đối tượng được điều trị để đáp ứng sinh lý hoặc tác dụng sinh học mong muốn khi chế phẩm này được cấp theo cách sử dụng đã chọn. Lượng chính xác sẽ phụ thuộc dựa trên nhiều yếu tố, ví dụ hợp chất cụ thể có Công thức IV, hoạt tính cụ thể của chế phẩm, thiết bị phân phối được sử dụng, các đặc tính vật lý của chế phẩm, ứng dụng dự định của nó, cũng như xem xét bệnh nhân như mức độ nghiêm trọng của trạng thái bệnh, sự hợp tác của bệnh nhân, v.v., và có thể rõ ràng được xác định bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực trên cơ sở thông tin thu được trong bản mô tả này.

Thuật ngữ "dung dịch muối thông thường" có nghĩa là dung dịch nước chứa 0,9% (trọng lượng/thể tích) NaCl.

Thuật ngữ "dung dịch muối ưu trương" có nghĩa là dung dịch nước chứa trên 0,9% (trọng lượng/thể tích) NaCl. Ví dụ, dung dịch muối ưu trương 3% sẽ chứa 3% (trọng lượng/thể tích) NaCl.

“Hình thành hỗn hợp phản ứng” dùng để chỉ quy trình đưa vào tiếp xúc ít nhất hai loài sao cho chúng trộn lẫn với nhau và có thể phản ứng. Có thể được đánh giá cao, tuy nhiên, sản phẩm phản ứng thu được có thể được tạo ra trực tiếp từ phản ứng giữa chất phản ứng được bổ sung hoặc từ hợp chất trung gian từ một hoặc nhiều chất phản ứng bổ sung có thể được tạo ra trong hỗn hợp phản ứng.

“Chất ghép nối” dùng để chỉ chất có khả năng ghép nối hai hợp chất khác biệt. Chất ghép nối có thể là xúc tác hoặc hệ số tỷ lệ. Ví dụ, các chất ghép nối có thể là chất ghép nối trên cơ sở lithi hoặc chất ghép nối trên cơ sở magie như chất phản ứng Grignard. Các chất ghép nối làm ví dụ bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, $n\text{-BuLi}$, MgCl_2 , $i\text{PrMgCl}$, $t\text{BuMgCl}$, PhMgCl hoặc hỗn hợp của nó.

“Silan” dùng để chỉ nhóm chứa silic có công thức SiR_4 , trong đó mỗi nhóm R có thể là alkyl, alkenyl, xycloalkyl, phenyl, hoặc các nhóm chứa silic khác. Khi silan được liên kết với hợp chất khác, silan được coi là “silyl” và có công thức $-\text{SiR}_3$.

“Halo-silan” dùng để chỉ silan có ít nhất một nhóm halogen liên kết với nguyên tử silic. Halo-silan đại diện có công thức Halo-SiR_3 , trong đó mỗi nhóm R có thể là alkyl, alkenyl, xycloalkyl, phenyl, hoặc các nhóm chứa silic khác. Các halo-silan cụ thể bao gồm $\text{Cl-Si(CH}_3)_3$, và $\text{Cl-Si(CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Si(CH}_3)_2\text{-Cl}$.

“Gốc không ái nhân” dùng để chỉ chất cho electron, gốc Lewis, như gốc nitơ bao gồm triethylaphút, diisopropyletyl aphút, N,N -dietylanilin, pyridin, 2,6-lutidin, 2,4,6-collidin, 4-dimetylamino pyridin, và quinuclidin.

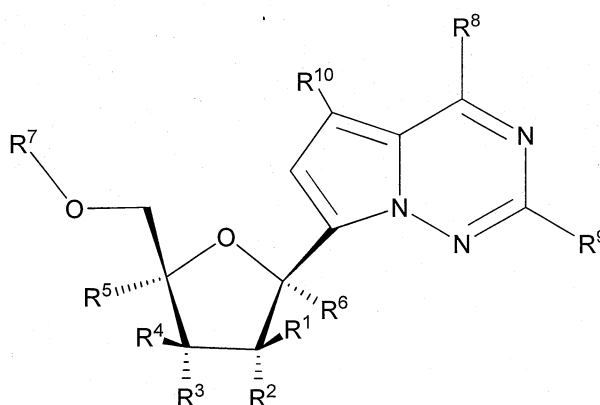
“Nhóm rời chuyển” dùng để chỉ các nhóm duy trì cặp electron liên kết trong quá trình liên kết dị ly. Ví dụ, nhóm rời chuyển rõ ràng bị dịch chuyển trong phản ứng dịch chuyển ái nhân. Các nhóm rời chuyển thích hợp bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, clorua, bromua, mesylat, tosylat, triflat, 4-nitrobenzensulfonat, 4-chlorobenzensulfonat, 4-nitrophenoxy, pentafluorophenoxy, v.v. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực sẽ nhận ra các nhóm rời chuyển khác hữu ích theo sáng chế.

“Chất bảo vệ” dùng để chỉ chất bất kỳ có khả năng loại bỏ nhóm bảo vệ. Chất bảo vệ sẽ phụ thuộc vào loại nhóm bảo vệ được sử dụng. Các chất bảo vệ đại diện đã biết trong lĩnh vực và có thể được tìm thấy trong *Protective Groups in Organic Chemistry*, Peter G. M. Wuts and Theodora W. Xanhe, 4th Ed., 2006.

II. Các hợp chất theo sáng chế

Việc tham khảo sẽ được thực hiện chi tiết đến một số phương án theo sáng chế, ví dụ về chúng được minh họa trong phần mô tả, các cấu trúc và công thức kèm theo. Trong khi sáng chế sẽ được mô tả kết hợp với các phương án được liệt kê, sẽ được hiểu rằng chúng không phải để giới hạn sáng chế với các phương án đó. Ngược lại, sáng chế dự định bao gồm tất cả các lựa chọn thay thế, sửa đổi, và tương đương, có thể nằm trong phạm vi của sáng chế.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* ở người cần điều trị bao gồm bước dùng lượng có hiệu quả điều trị hợp chất có Công thức I:



Công thức I

hoặc muối được dùng, hydrat hoặc este, của nó;

trong đó:

mỗi R^1 là H hoặc halogen;

mỗi R^2 , R^3 , R^4 hoặc R^5 độc lập là H, OR^a , $N(R^a)_2$, N_3 , CN, NO_2 , $S(O)_nR^a$, halogen, (C_1-C_8) alkyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, alkyl được thế (C_1-C_8) , (C_2-C_8) alkenyl, alkenyl được thế (C_2-C_8) , (C_2-C_8) alkynyl hoặc alkynyl được thế (C_2-C_8) ;

trong đó

mỗi R^a độc lập là H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, aryl (C_1-C_8) alkyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(OR)$, $-S(O)_2(OR)$, hoặc $-SO_2NR_2$;

mỗi R độc lập là H, (C₁-C₈) alkyl, alkyl được thế (C₁-C₈), (C₂-C₈)alkenyl, alkenyl được thế (C₂-C₈), (C₂-C₈) alkynyl, alkynyl được thế (C₂-C₈), C₆-C₂₀ aryl, aryl được thế C₆-C₂₀, C₂-C₂₀ heteroxyclyl, heteroxyclyl được thế C₂-C₂₀, arylalkyl hoặc arylalkyl được thế;

hoặc bất kỳ hai R², R³, R⁴ hoặc R⁵ trên nguyên tử cacbon gần kề khi cùng với nhau là -O(CO)O- hoặc khi cùng với nguyên tử cacbon vòng mà chúng gắn vào tạo thành liên kết đôi;

R⁶ là OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), -SO₂NR¹¹R¹², halogen, (C₁-C₈)alkyl, (C₄-C₈)cacboxyclylalkyl, alkyl được thế (C₁-C₈), (C₂-C₈)alkenyl, alkenyl được thế (C₂-C₈), (C₂-C₈)alkynyl, alkynyl được thế (C₂-C₈), hoặc aryl(C₁-C₈)alkyl;

trong đó

mỗi R¹¹ hoặc R¹² độc lập là H, (C₁-C₈)alkyl, (C₂-C₈)alkenyl, (C₂-C₈)alkynyl, (C₄-C₈)cacboxyclylalkyl, aryl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, -C(=O)(C₁-C₈)alkyl, -S(O)_n(C₁-C₈)alkyl hoặc aryl(C₁-C₈)alkyl; hoặc R¹¹ và R¹² cùng với nitơ mà cả hai gắn vào tạo thành vòng dị vòng từ 3 đến 7 cạnh trong đó bất kỳ một nguyên tử cacbon của vòng dị vòng này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc -NR^a-;

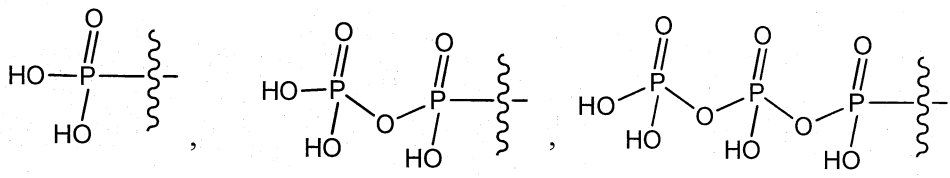
mỗi n độc lập là 0, 1, hoặc 2;

R⁷ được chọn từ nhóm bao gồm

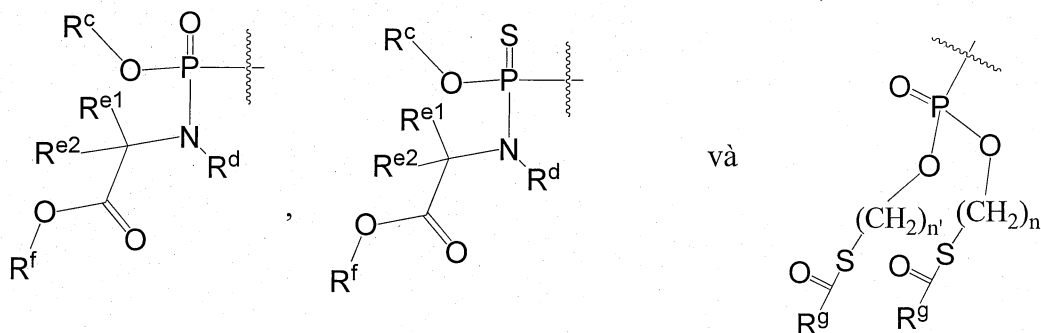
a) H, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), hoặc -SO₂NR¹¹R¹²,

trong đó mỗi (C₁-C₈)alkyl, (C₂-C₈)alkenyl, (C₂-C₈)alkynyl hoặc aryl(C₁-C₈)alkyl của mỗi R¹¹ hoặc R¹², độc lập, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều halo, hydroxy, CN, N₃, N(R^a)₂ hoặc OR^a; và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đầu tận cùng của mỗi (C₁-C₈)alkyl này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc -NR^a-, và

b)

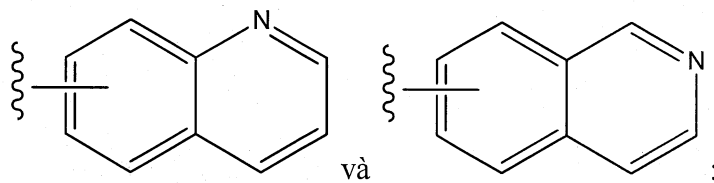


c) nhóm được chọn từ:



trong đó:

R^c được chọn từ phenyl, 1-naphtyl, 2-naphtyl,



R^d là H hoặc CH_3 ;

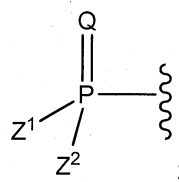
mỗi $\text{R}^{\text{e}1}$ và $\text{R}^{\text{e}2}$ độc lập là H, C_1 - C_6 alkyl hoặc benzyl;

R^f được chọn từ H, C_1 - C_8 alkyl, benzyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, và $-\text{CH}_2$ - C_3 - C_6 xycloalkyl;

R^g được chọn từ C_1 - C_8 alkyl, $-\text{O}-\text{C}_1$ - C_8 alkyl, benzyl, $-\text{O}$ -benzyl, $-\text{CH}_2$ - C_3 - C_6 xycloalkyl, $-\text{O}-\text{CH}_2$ - C_3 - C_6 xycloalkyl, và CF_3 ; và

n' được chọn từ 1, 2, 3, và 4; và

d) nhóm gồm công thức:



trong đó

Q là O, S, NR, $^+N(O)(R)$, N(OR), $^+N(O)(OR)$, hoặc N-NR₂;

Z¹ và Z², khi cùng với nhau, là $-Q^1(C(R^y)_2)_3Q^1-$;

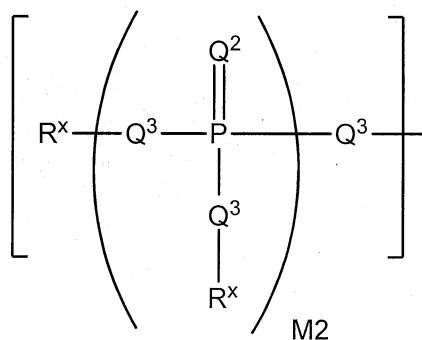
trong đó

mỗi Q¹ độc lập là O, S, hoặc NR; và

mỗi R^y độc lập là H, F, Cl, Br, I, OH, R, -C(=Q²)R, -C(=Q²)OR, -C(=Q²)N(R)₂, -N(R)₂, $^+N(R)_3$, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -OC(=Q¹)R, -OC(=Q²)OR, -OC(=Q²)(N(R)₂), -SC(=Q²)R, -SC(=Q²)OR, -SC(=Q²)(N(R)₂), -N(R)C(=Q²)R, -N(R)C(=Q²)OR, -N(R)C(=Q²)N(R)₂, -SO₂NR₂, -CN, -N₃, -NO₂, -OR, hoặc Z³; hoặc khi cùng với nhau, hai R^y trên cùng nguyên tử cacbon tạo thành vòng cacbon có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon;

mỗi Q² độc lập là, O, S, NR, $^+N(O)(R)$, N(OR), $^+N(O)(OR)$, hoặc N-NR₂; hoặc

mỗi Z¹ và Z², độc lập, là nhóm có Công thức Ia:



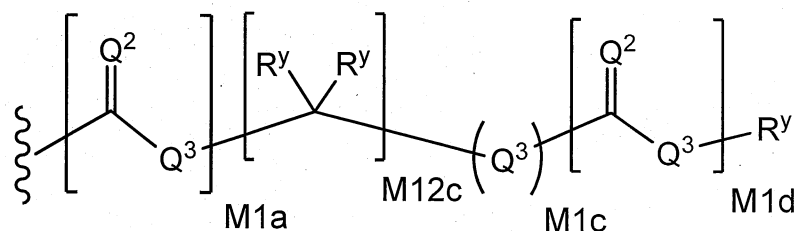
Công thức Ia

trong đó:

mỗi Q³ độc lập là liên kết, O, CR₂, NR, $^+N(O)(R)$, N(OR), $^+N(O)(OR)$, N-NR₂, S, S-S, S(O), hoặc S(O)₂;

M2 là 0, 1 hoặc 2;

mỗi R^x độc lập là R^y hoặc công thức:



trong đó:

mỗi M1a, M1c, và M1d độc lập là 0 hoặc 1;

M12c là 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 hoặc 12;

Z³ là Z⁴ hoặc Z⁵;

Z⁴ là R, -C(Q²)R^y, -C(Q²)Z⁵, -SO₂R^y, hoặc -SO₂Z⁵; và

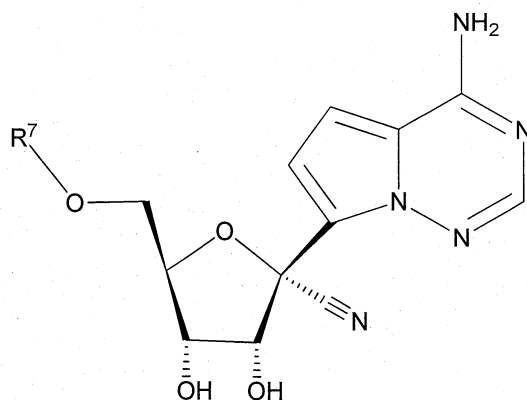
Z⁵ là vòng cacbon hoặc dị vòng trong đó Z⁵ độc lập được thế bằng 0 đến 3 nhóm R^y;

mỗi R⁸ là halogen, NR¹¹R¹², N(R¹¹)OR¹¹, NR¹¹NR¹¹R¹², N₃, NO, NO₂, CHO, CN, -CH(=NR¹¹), -CH=NNHR¹¹, -CH=N(OR¹¹), -CH(OR¹¹)₂, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=S)NR¹¹R¹², -C(=O)OR¹¹, (C₁-C₈)alkyl, (C₂-C₈)alkenyl, (C₂-C₈)alkynyl, (C₄-C₈)caboxycylalkyl, aryl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, -C(=O)(C₁-C₈)alkyl, -S(O)_n(C₁-C₈)alkyl, aryl(C₁-C₈)alkyl, OR¹¹ hoặc SR¹¹;

mỗi R⁹ hoặc R¹⁰ độc lập là H, halogen, NR¹¹R¹², N(R¹¹)OR¹¹, NR¹¹NR¹¹R¹², N₃, NO, NO₂, CHO, CN, -CH(=NR¹¹), -CH=NNHR¹¹, -CH=N(OR¹¹), -CH(OR¹¹)₂, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=S)NR¹¹R¹², -C(=O)OR¹¹, R¹¹, OR¹¹ hoặc SR¹¹; và

trong đó mỗi (C₁-C₈)alkyl, (C₂-C₈)alkenyl, (C₂-C₈)alkynyl hoặc aryl(C₁-C₈)alkyl của mỗi R², R³, R⁵, hoặc R⁶, độc lập, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều halo, hydroxy, CN, N₃, N(R^a)₂ hoặc OR^a; và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đầu tận cùng của mỗi (C₁-C₈)alkyl này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc -NR^a-.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV:

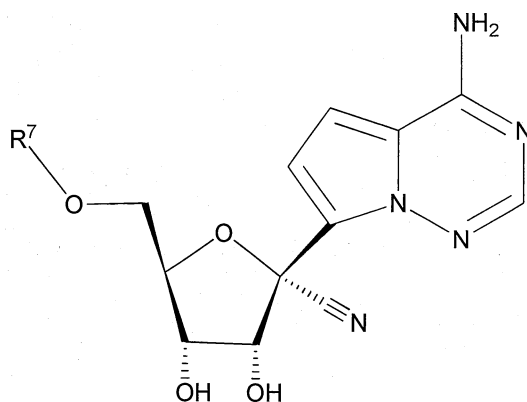


Công thức IV

hoặc muối được dụng, hydrat hoặc este, của nó;

trong đó R^7 như được định nghĩa ở trên đối với Công thức I.

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* ở người cần điều trị bao gồm bước dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có Công thức IV:



Công thức IV

hoặc muối được dụng hoặc este, của nó;

trong đó:

R^7 được chọn từ nhóm gồm

a) H , $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, hoặc $-SO_2NR^{11}R^{12}$,

trong đó

mỗi R^{11} hoặc R^{12} độc lập là H , $(C_1-C_8)alkyl$, $(C_2-C_8)alkenyl$, $(C_2-C_8)alkynyl$, $(C_4-C_8)cacboxycylalkyl$, aryl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, $-C(=O)(C_1-$

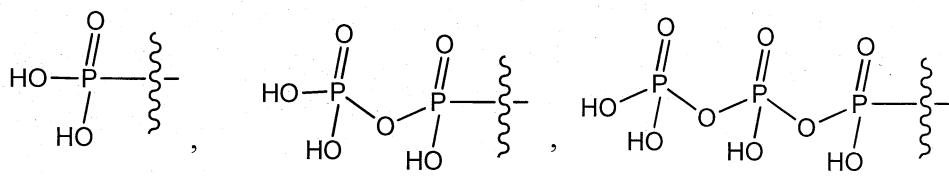
C_8)alkyl, $-S(O)_n(C_1-C_8)$ alkyl hoặc aryl(C_1-C_8)alkyl; hoặc R^{11} và R^{12} cùng với nitơ mà cả hai gắn vào tạo thành vòng dị vòng từ 3 đến 7 cạnh trong đó bất kỳ một nguyên tử cacbon của vòng dị vòng này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc $-NR^a$;

mỗi R^a độc lập là H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, aryl(C_1-C_8)alkyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(OR)$, $-S(O)_2(OR)$, hoặc $-SO_2NR_2$;

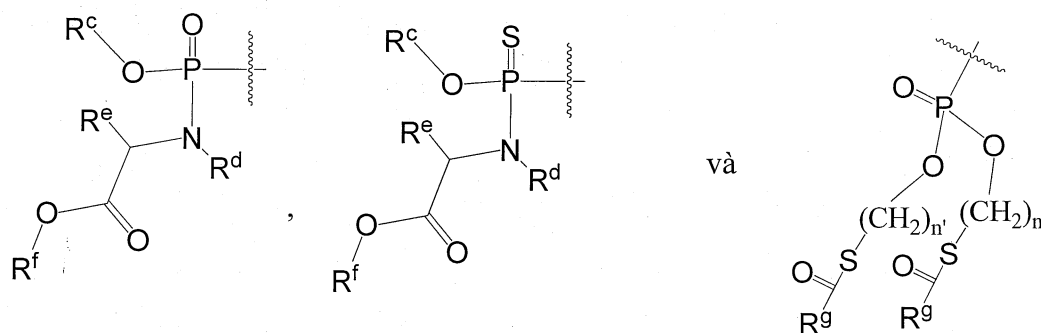
trong đó mỗi R độc lập là H, (C_1-C_8) alkyl, alkyl được thế (C_1-C_8) , (C_2-C_8) alkenyl, alkenyl được thế (C_2-C_8) , (C_2-C_8) alkynyl, alkynyl được thế (C_2-C_8) , C_6-C_{20} aryl, aryl được thế C_6-C_{20} , C_2-C_{20} heterocyclyl, heterocyclyl được thế C_2-C_{20} , arylalkyl hoặc arylalkyl được thế; và

trong đó mỗi (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl hoặc aryl(C_1-C_8)alkyl của mỗi R^{11} hoặc R^{12} , độc lập, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều halo, hydroxy, CN, N_3 , $N(R^a)_2$ hoặc OR^a ; và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đầu tận cùng của mỗi (C_1-C_8) alkyl này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc $-NR^a$, và

b)

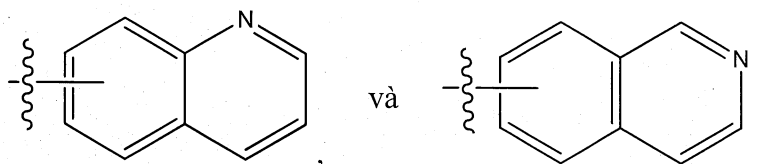


c) nhóm được chọn từ:



trong đó:

R^c được chọn từ phenyl, 1-naphtyl, 2-naphtyl,



R^d là H hoặc CH_3 ;

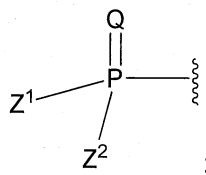
R^e là H hoặc $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl;

R^f được chọn từ H, $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl, benzyl, $\text{C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, và $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl;

R^g được chọn từ $\text{C}_1\text{-C}_8$ alkyl, $-\text{O-C}_1\text{-C}_8$ alkyl, benzyl, $-\text{O-benzyl}$, $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, $-\text{O-CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, và CF_3 ; và

n' được chọn từ 1, 2, 3, và 4; và

d) nhóm có công thức:



trong đó

Q là O, S, NR, $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{OR})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$, hoặc N-NR_2 ;

Z^1 và Z^2 , khi cùng với nhau, là $-\text{Q}^1(\text{C}(\text{R}^y)_2)_3\text{Q}^1-$;

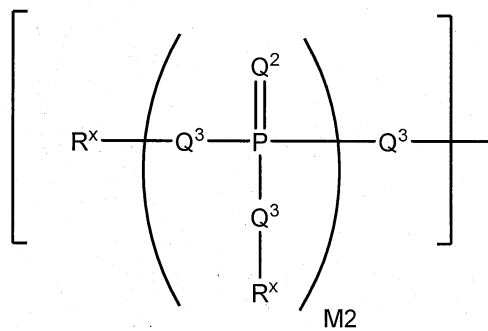
trong đó

mỗi Q^1 độc lập là O, S, hoặc NR; và

mỗi R^y độc lập là H, F, Cl, Br, I, OH, R, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{N}(\text{R})_2$, $^+\text{N}(\text{R})_3$, $-\text{SR}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})(\text{OR})$, $-\text{S}(\text{O})_2(\text{OR})$, $-\text{OC}(=\text{Q}^1)\text{R}$, $-\text{OC}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{OC}(=\text{Q}^2)(\text{N}(\text{R})_2)$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)(\text{N}(\text{R})_2)$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{Q}^2)\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{SO}_2\text{NR}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{N}_3$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OR}$, hoặc Z^3 ; hoặc khi cùng với nhau, hai R^y trên cùng nguyên tử cacbon tạo thành vòng cacbon có từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon;

mỗi Q^2 độc lập là, O, S, NR, $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{OR})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$, hoặc N-NR_2 ; hoặc

mỗi Z^1 và Z^2 , độc lập, là nhóm có công thức Ia:



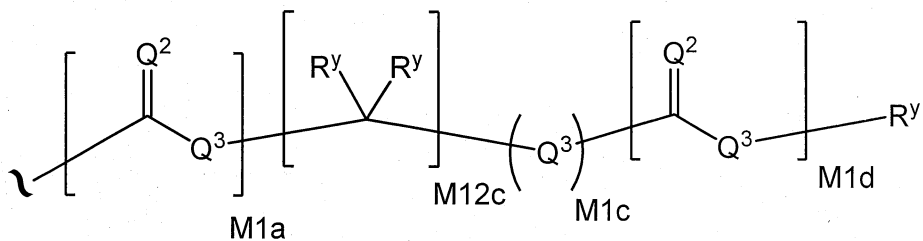
Công thức Ia

trong đó:

mỗi Q^3 độc lập là liên kết, O, CR_2 , NR, $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{OR})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$, $\text{N}-\text{NR}_2$, S, S-S, S(O), hoặc S(O)₂;

M2 là 0, 1 hoặc 2;

mỗi R^x độc lập là R^y hoặc công thức:



trong đó:

mỗi M1a, M1c, và M1d độc lập là 0 hoặc 1;

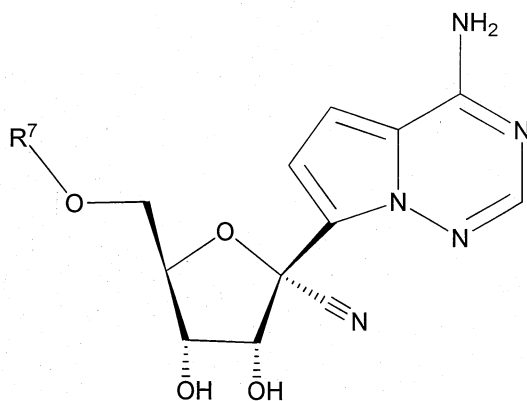
M12c là 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 hoặc 12;

Z^3 là Z^4 hoặc Z^5 ;

Z^4 là R, $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{R}^y$, $-\text{C}(\text{Q}^2)\text{Z}^5$, $-\text{SO}_2\text{R}^y$, hoặc $-\text{SO}_2\text{Z}^5$; và

Z^5 là vòng cacbon hoặc dị vòng trong đó Z^5 độc lập được thế bằng 0 đến 3 nhóm R^y .

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* ở người cần điều trị bao gồm bước dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có Công thức IV:



Công thức IV

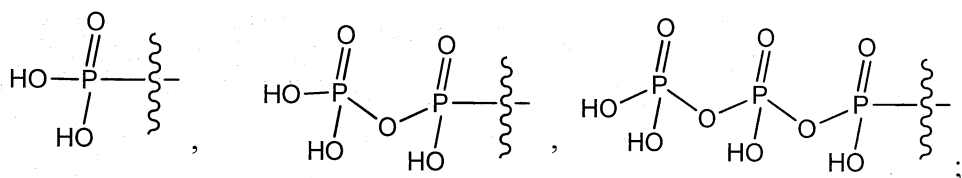
hoặc muối được dụng, hydrat hoặc este, của nó;

trong đó,

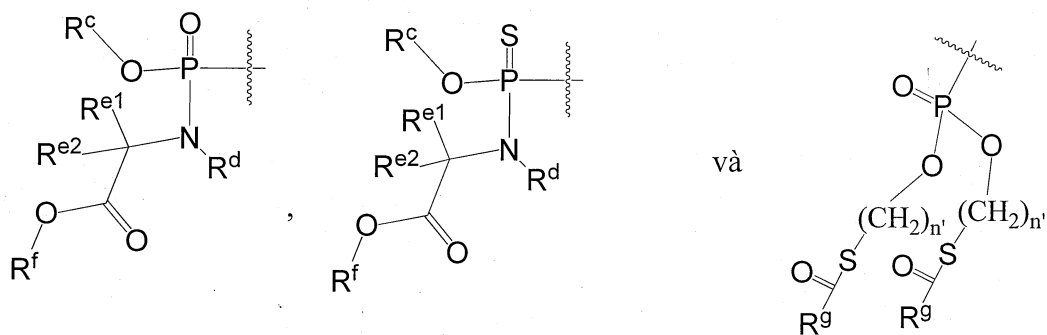
R^7 được chọn từ nhóm bao gồm

a) H , $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^{11}R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, hoặc $-SO_2NR^{11}R^{12}$;

b)

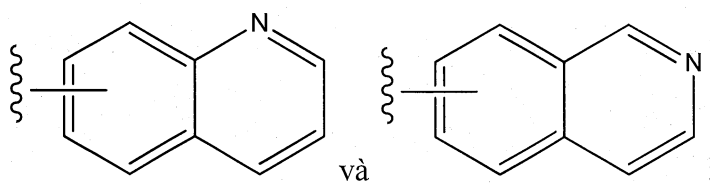


c) nhóm được chọn từ:



trong đó:

R^c được chọn từ nhóm gồm phenyl, 1-naphtyl, 2-naphtyl,



R^d được chọn từ nhóm gồm H hoặc CH_3 ;

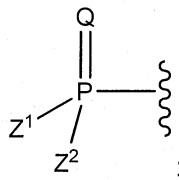
mỗi R^{e1} và R^{e2} độc lập được chọn từ nhóm gồm H, $(\text{C}_1\text{--C}_6)\text{alkyl}$ hoặc benzyl;

R^f được chọn từ nhóm gồm H, $(\text{C}_1\text{--C}_8)\text{alkyl}$, benzyl, $(\text{C}_3\text{--C}_6)\text{xycloalkyl}$, và $-\text{CH}_2\text{--}(\text{C}_3\text{--C}_6)\text{xycloalkyl}$;

R^g được chọn từ nhóm gồm $(\text{C}_1\text{--C}_8)\text{alkyl}$, $-\text{O--}(\text{C}_1\text{--C}_8)\text{alkyl}$, benzyl, $-\text{O--benzyl}$, $-\text{CH}_2\text{--}(\text{C}_3\text{--C}_6)\text{xycloalkyl}$, $-\text{O--CH}_2\text{--}(\text{C}_3\text{--C}_6)\text{xycloalkyl}$, và CF_3 ; và

n' là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 1, 2, 3, và 4; và

d) nhóm có công thức:



trong đó:

Q được chọn từ nhóm gồm O, S, NR, $^+\text{N}(\text{O})(\text{R})$, $\text{N}(\text{OR})$, $^+\text{N}(\text{O})(\text{OR})$, hoặc N--NR_2 ;

Z^1 và Z^2 , khi cùng với nhau, là $-\text{Q}^1(\text{C}(\text{R}^y)_2)_3\text{Q}^1-$;

trong đó

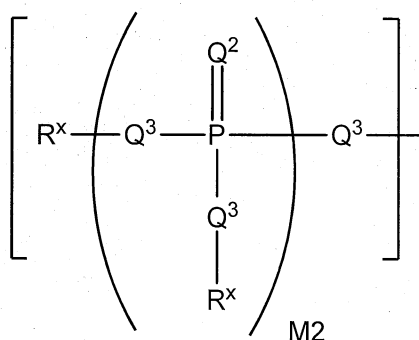
mỗi Q^1 độc lập được chọn từ nhóm gồm O, S, hoặc NR; và

mỗi R^y độc lập được chọn từ nhóm gồm H, F, Cl, Br, I, OH, R, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{C}(=\text{Q}^2)\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{N}(\text{R})_2$, $^+\text{N}(\text{R})_3$, $-\text{SR}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$, $-\text{S}(\text{O})(\text{OR})$, $-\text{S}(\text{O})_2(\text{OR})$, $-\text{OC}(=\text{Q}^1)\text{R}$, $-\text{OC}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, $-\text{OC}(=\text{Q}^2)(\text{N}(\text{R})_2)$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)\text{R}$, $-\text{SC}(=\text{Q}^2)\text{OR}$, -

$SC(=Q^2)(N(R)_2)$, $-N(R)C(=Q^2)R$, $-N(R)C(=Q^2)OR$,
 $-N(R)C(=Q^2)N(R)_2$, $-SO_2NR_2$, $-CN$, $-N_3$, $-NO_2$, $-OR$,
 hoặc Z^3 ; hoặc khi cùng với nhau, hai R^y trên cùng
 nguyên tử cacbon tạo thành vòng cacbon gồm từ 3
 đến 7 nguyên tử cacbon;

mỗi Q^2 độc lập là, O , S , NR , $^+N(O)(R)$, $N(OR)$,
 $^+N(O)(OR)$, hoặc $N-NR_2$; hoặc

mỗi Z^1 và Z^2 , độc lập, là nhóm có công thức Ia:



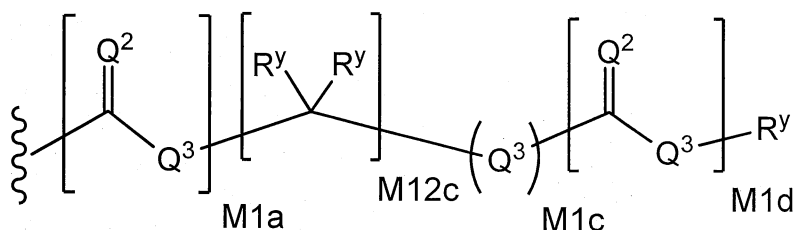
Công thức Ia

trong đó:

mỗi Q^3 độc lập được chọn từ nhóm gồm liên kết, O , CR_2 ,
 NR , $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, $N-NR_2$, S , $S-S$,
 $S(O)$, hoặc $S(O)_2$;

$M2$ là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 0, 1 hoặc 2;

mỗi R^x độc lập là R^y hoặc công thức:



trong đó:

mỗi $M1a$, $M1c$, và $M1d$ là số nguyên độc lập được
 chọn từ nhóm gồm 0 hoặc 1;

M12c là số nguyên được chọn từ nhóm gồm 0, 1, 2,
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 hoặc 12;

Z^3 là Z^4 hoặc Z^5 ;

Z^4 là R, $-C(Q^2)R^y$, $-C(Q^2)Z^5$, $-SO_2R^y$, hoặc $-SO_2Z^5$;

và

Z^5 là vòng cacbon hoặc dị vòng trong đó Z^5 độc lập
được thế bằng 0 đến 3 nhóm R^y ;

mỗi R^{11} hoặc R^{12} độc lập là H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, aryl tùy ý được thế (C_6-C_{20}) , heteroaryl tùy ý được thế, $-C(=O)(C_1-C_8)$ alkyl, $-S(O)_n(C_1-C_8)$ alkyl hoặc (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl; hoặc R^{11} và R^{12} cùng với nitơ mà cả hai gắn vào tạo thành vòng dị vòng có từ 3 đến 7 cạnh trong đó bất kỳ một nguyên tử cacbon của vòng dị vòng này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc $-NR^a$;

mỗi R^a độc lập được chọn từ nhóm gồm H, (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl, (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl, (C_4-C_8) carboxycylalkyl, $-C(=O)R$, $-C(=O)OR$, $-C(=O)NR_2$, $-C(=O)SR$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)(OR)$, $-S(O)_2(OR)$, hoặc $-SO_2NR_2$; trong đó

mỗi R độc lập được chọn từ nhóm gồm H, (C_1-C_8) alkyl, alkyl được thế (C_1-C_8) , (C_2-C_8) alkenyl, alkenyl được thế (C_2-C_8) , (C_2-C_8) alkynyl, alkynyl được thế (C_2-C_8) , (C_6-C_{20}) aryl, aryl được thế (C_6-C_{20}) , (C_2-C_{20}) heteroxycyl, heteroxycyl được thế (C_2-C_{20}) , (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl hoặc được thế (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl;

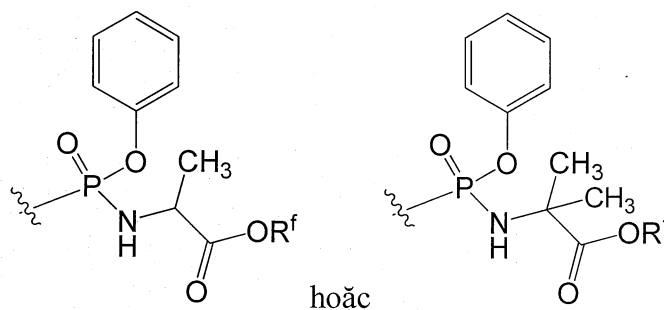
mỗi n là số nguyên độc lập được chọn từ nhóm gồm 0, 1, hoặc 2; và

trong đó mỗi (C_1-C_8) alkyl, (C_2-C_8) alkenyl, (C_2-C_8) alkynyl hoặc (C_6-C_{20}) aryl (C_1-C_8) alkyl của mỗi R^{11} hoặc R^{12} , độc lập, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phân tử thế được chọn từ nhóm gồm halo, hydroxy, CN, N_3 , $N(R^a)_2$ hoặc OR^a ; và trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đầu tận cùng của mỗi (C_1-C_8) alkyl này có thể tùy ý được thay thế bằng -O-, -S- hoặc $-NR^a$.

Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 có thể là H. Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 được chọn từ nhóm gồm a), b), hoặc c) như được định nghĩa đối với Công thức IV.

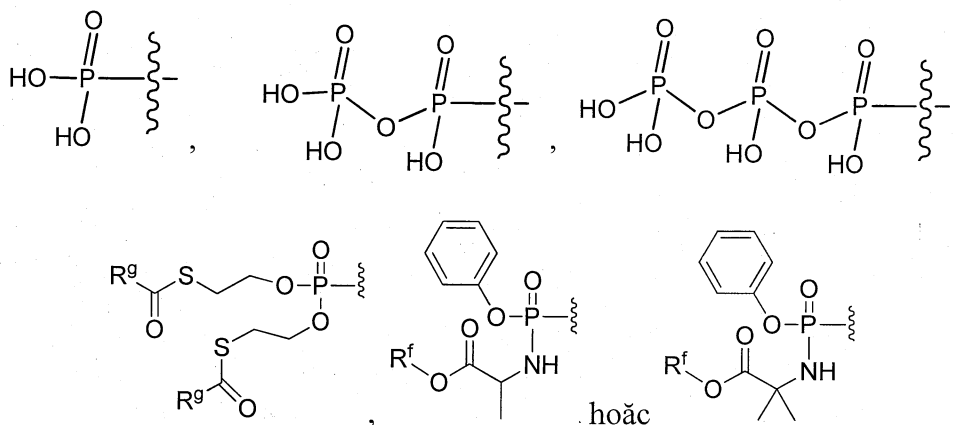
Theo một số phương án, mỗi R^{e1} và R^{e2} có thể độc lập được chọn từ nhóm gồm H, C_1 - C_6 alkyl hoặc benzyl. Theo một số phương án, R^{e1} có thể là H, C_1 - C_6 alkyl hoặc benzyl, và R^{e2} có thể là H hoặc C_1 - C_6 alkyl. Theo một số phương án, mỗi R^{e1} và R^{e2} có thể độc lập là H hoặc C_1 - C_6 alkyl. Theo một số phương án, mỗi R^{e1} và R^{e2} có thể độc lập là H hoặc benzyl. Theo một số phương án, R^{e1} có thể là H, metyl hoặc benzyl, và R^{e2} có thể là H hoặc metyl. Theo một số phương án, R^{e1} có thể là H hoặc metyl, và R^{e2} có thể là H hoặc metyl. Theo một số phương án, R^{e1} có thể là metyl, và R^{e2} có thể là H hoặc metyl. Theo một số phương án, R^{e1} có thể là H hoặc benzyl, và R^{e2} có thể là H hoặc metyl.

Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 là



trong đó R^f được chọn từ nhóm gồm H, C_1 - C_8 alkyl, benzyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, và $-CH_2$ - C_3 - C_6 xycloalkyl. Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^f là C_1 - C_8 alkyl.

Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 là

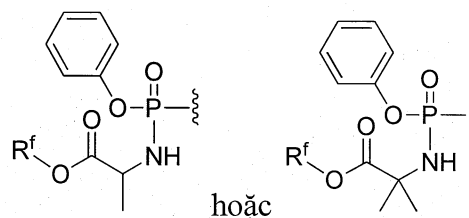


trong đó

R^f được chọn từ nhóm gồm H, C_1 - C_8 alkyl, benzyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, và $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl; và

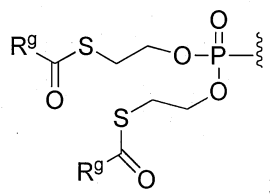
R^g được chọn từ nhóm gồm C_1 - C_8 alkyl, $-\text{O-}C_1\text{-C}_8$ alkyl, benzyl, $-\text{O-benzyl}$, $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, $-\text{O-CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, và CF_3 .

Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 là



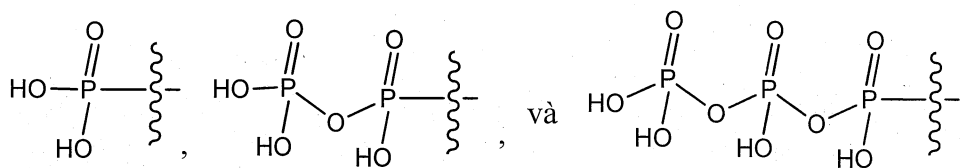
trong đó R^f được chọn từ nhóm gồm H, C_1 - C_8 alkyl, benzyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, và $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl. Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^f là C_1 - C_8 alkyl. Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^f là C_1 - C_6 alkyl.

Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 là:

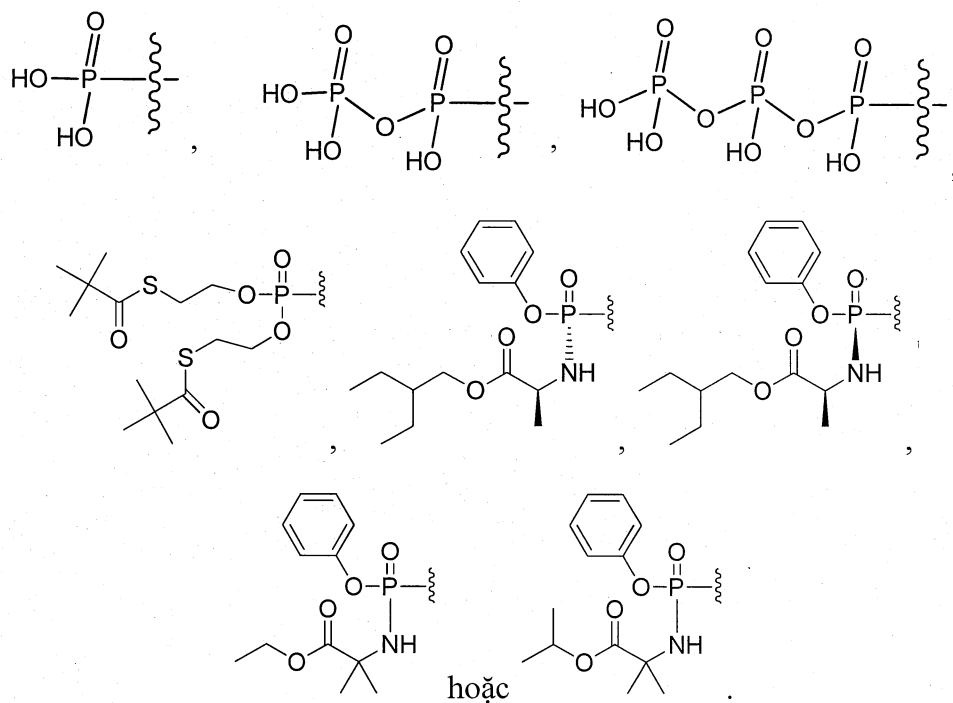


trong đó R^g được chọn từ nhóm gồm C_1 - C_8 alkyl, $-\text{O-}C_1\text{-C}_8$ alkyl, benzyl, $-\text{O-benzyl}$, $-\text{CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, $-\text{O-CH}_2\text{-C}_3\text{-C}_6$ xycloalkyl, và CF_3 . Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^f là C_1 - C_8 alkyl. Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^f là C_1 - C_6 alkyl.

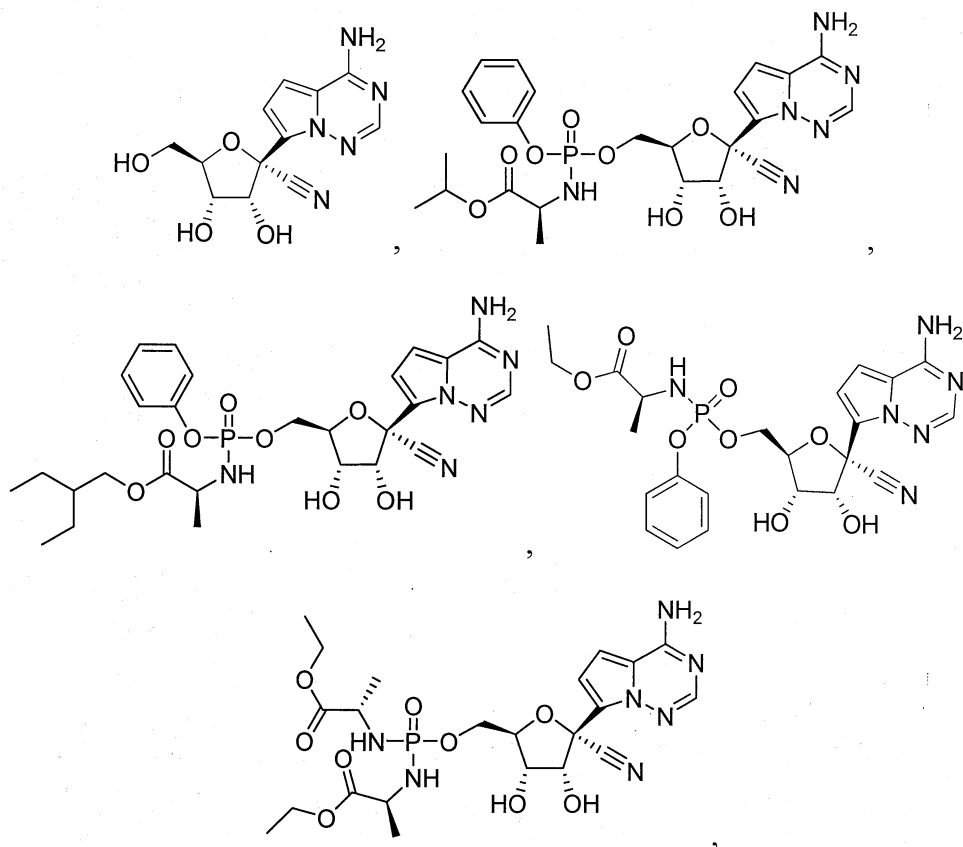
Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 được chọn từ nhóm gồm:

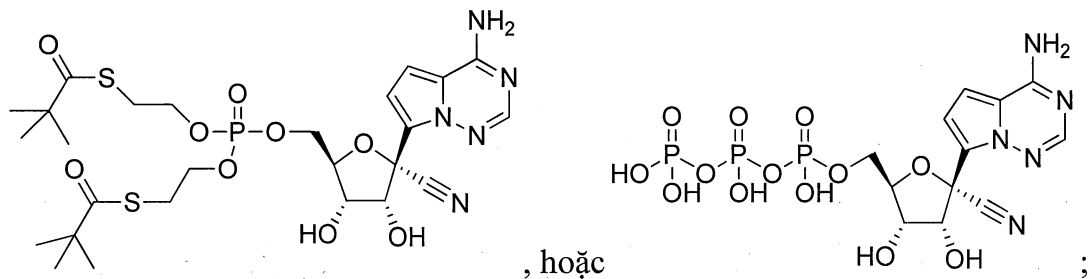


Theo phương án khác của hợp chất có Công thức IV, R^7 là



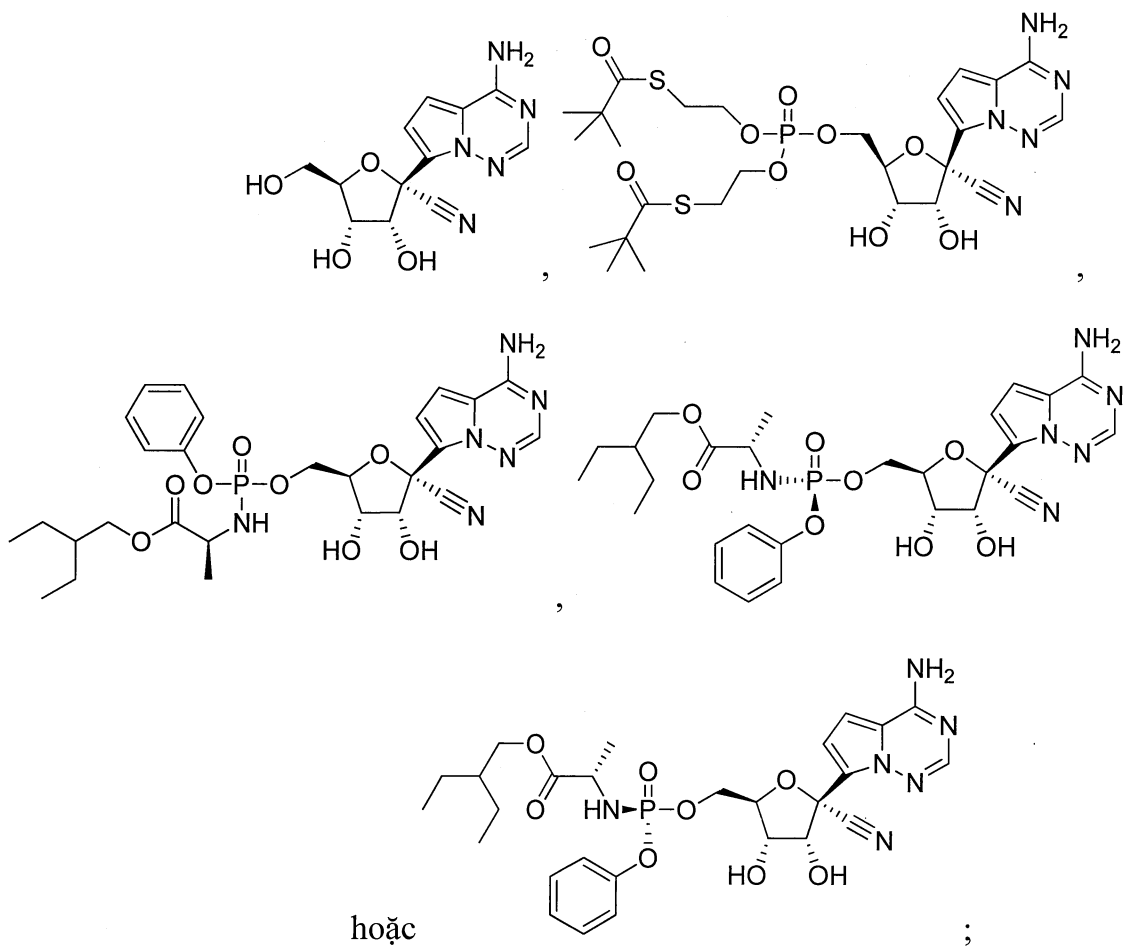
Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV là:





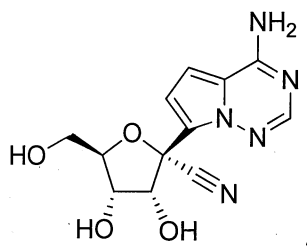
hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

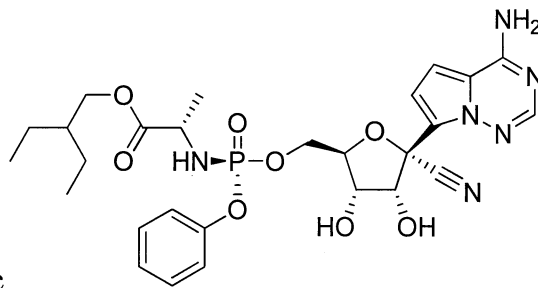
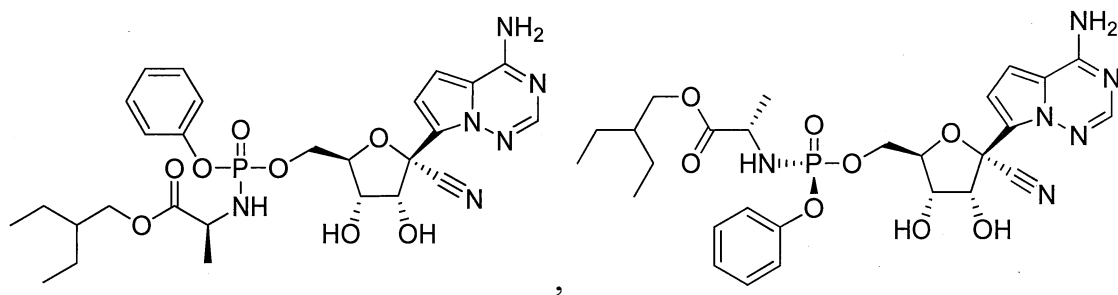
Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV là:



hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV là:



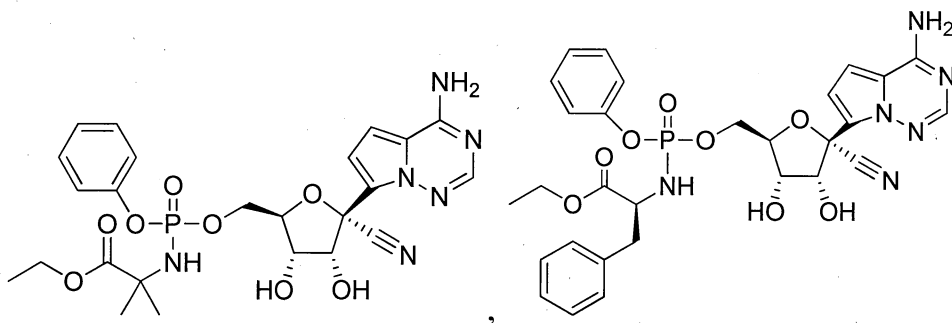
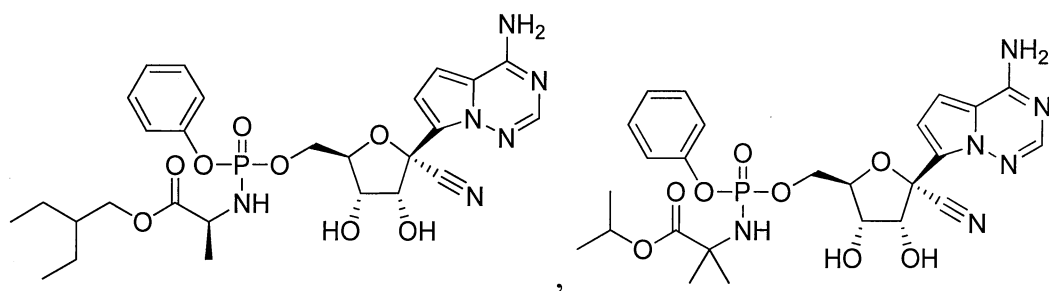
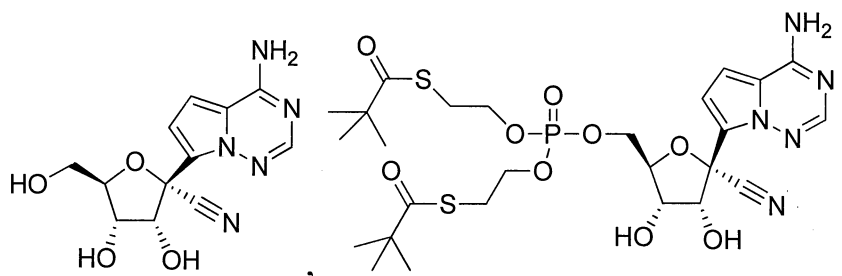


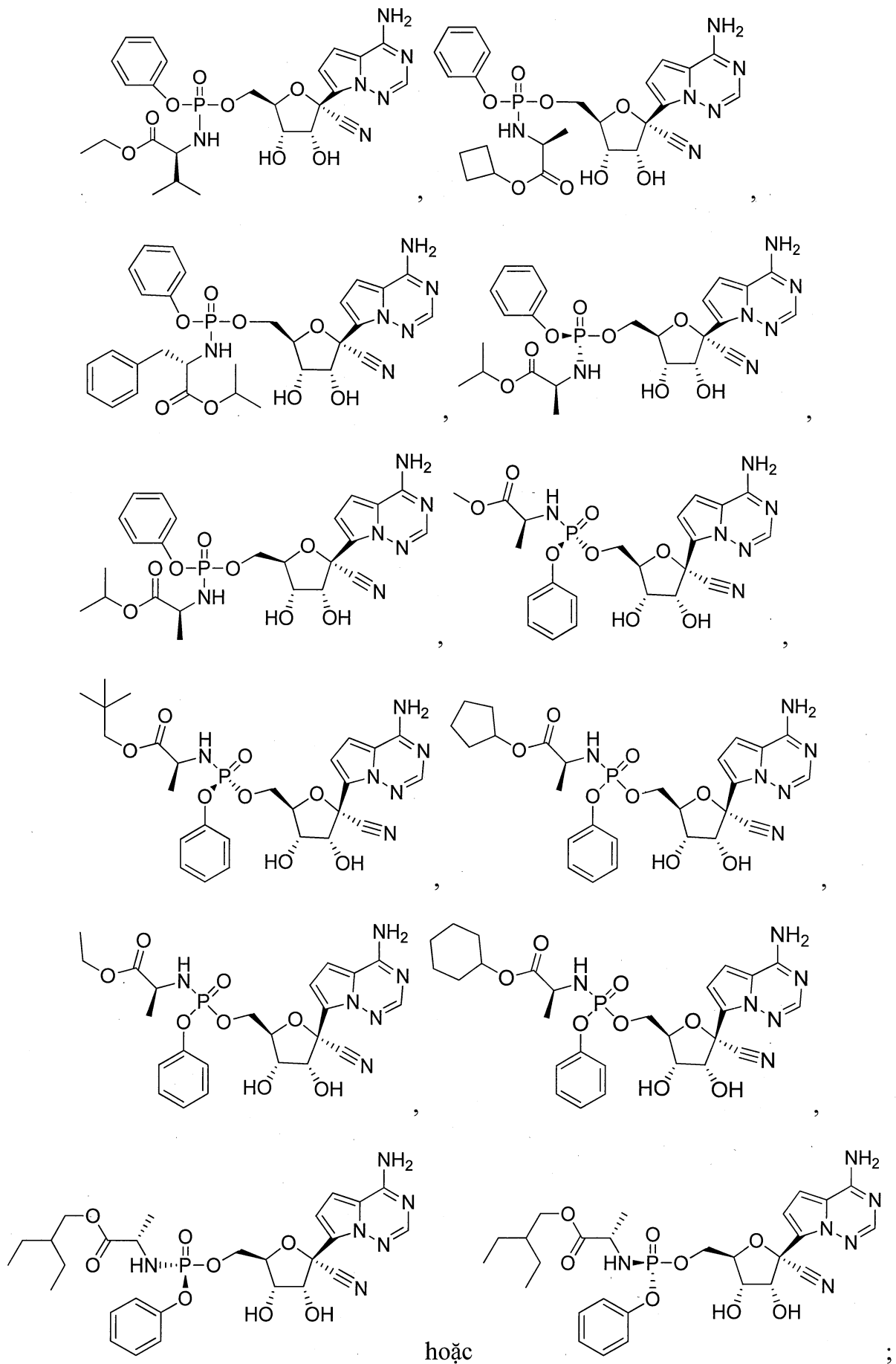
hoặc

;

hoặc muối được dụng, hydrat, hoặc este của nó.

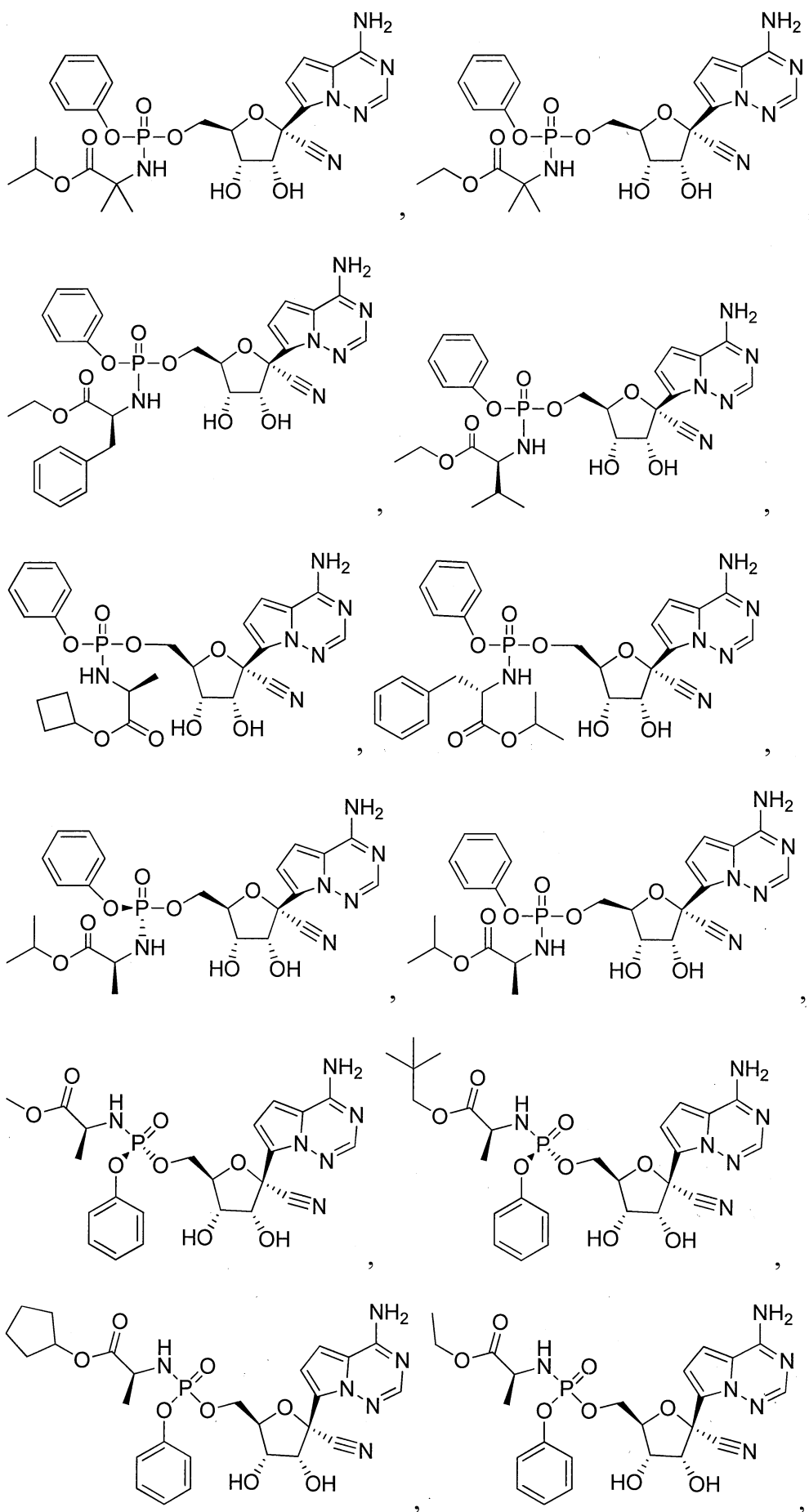
Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có Công thức IV là

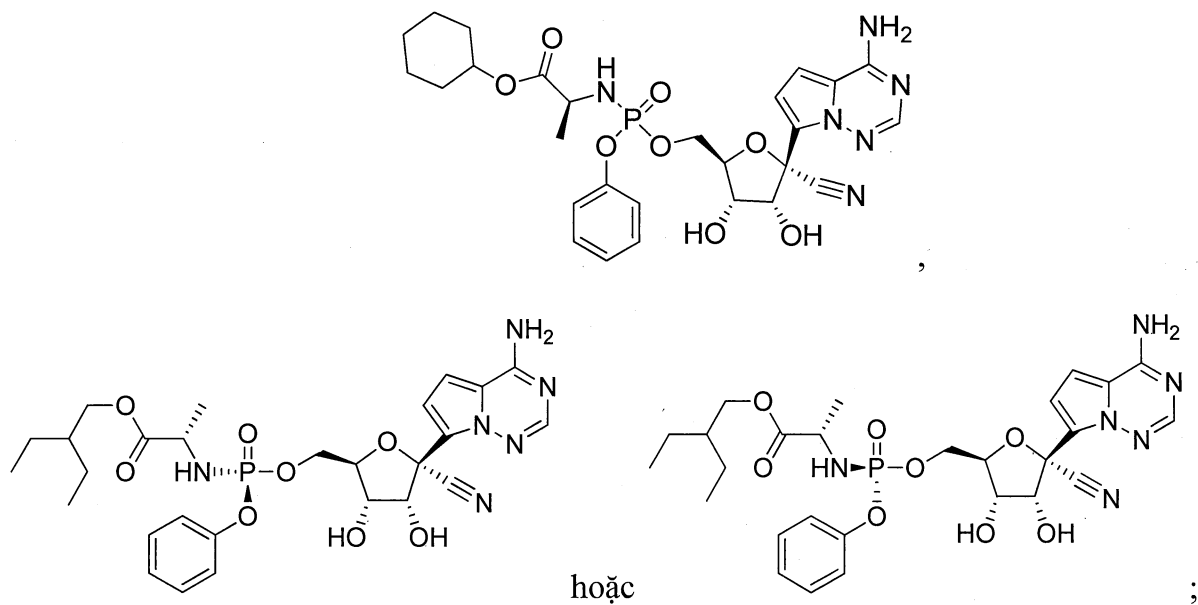




hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

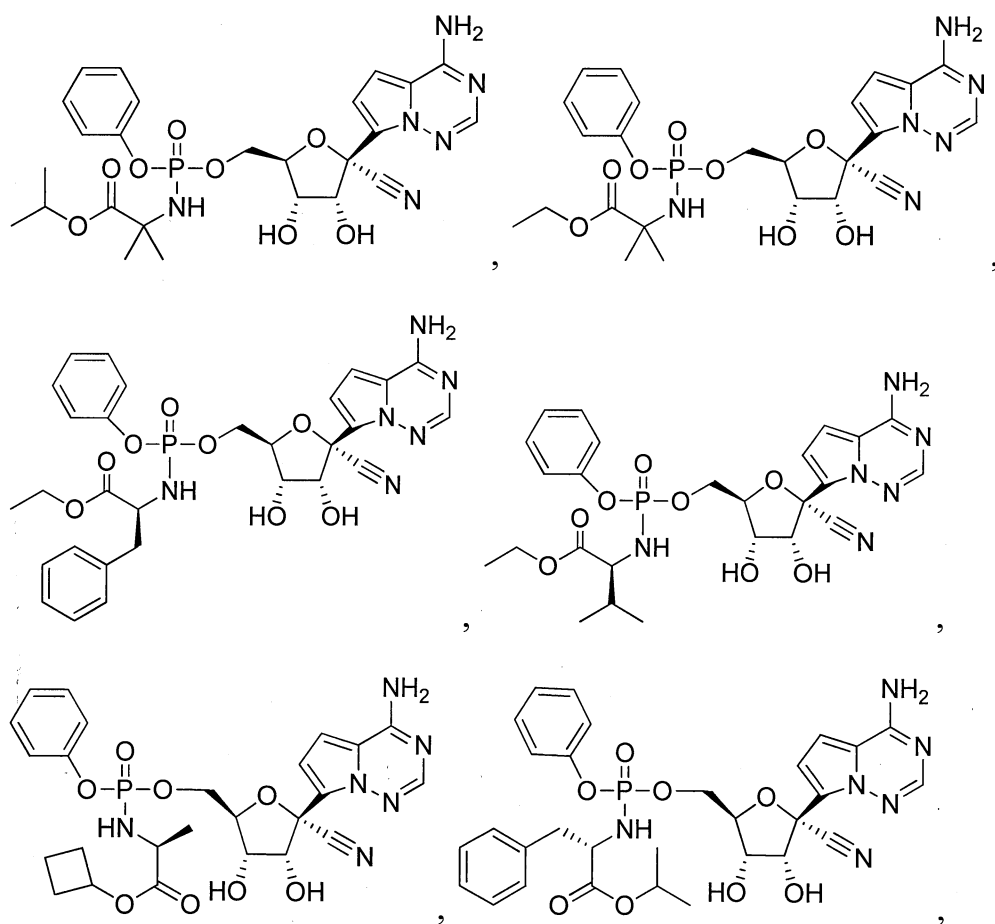
Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất là

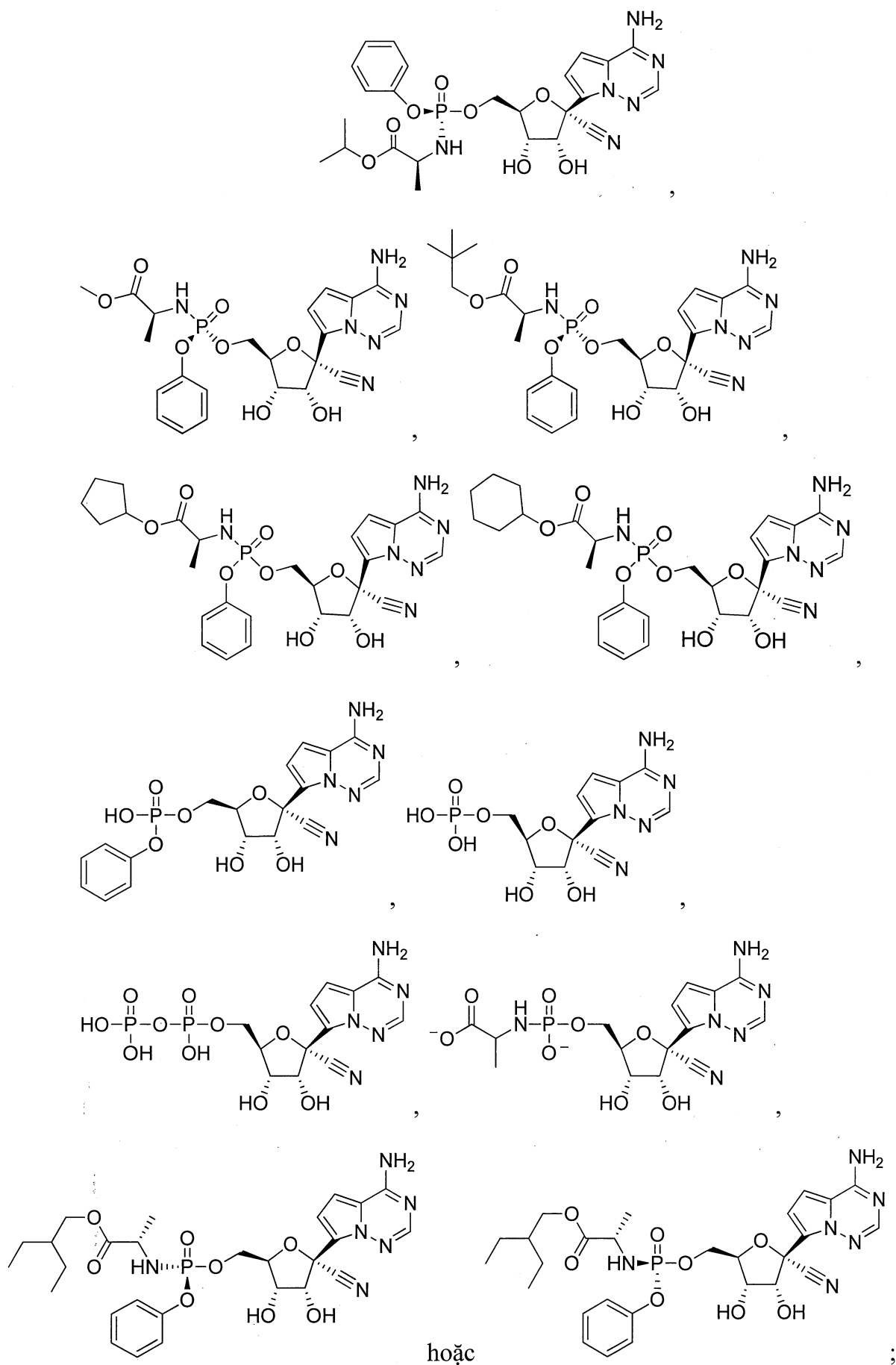




hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

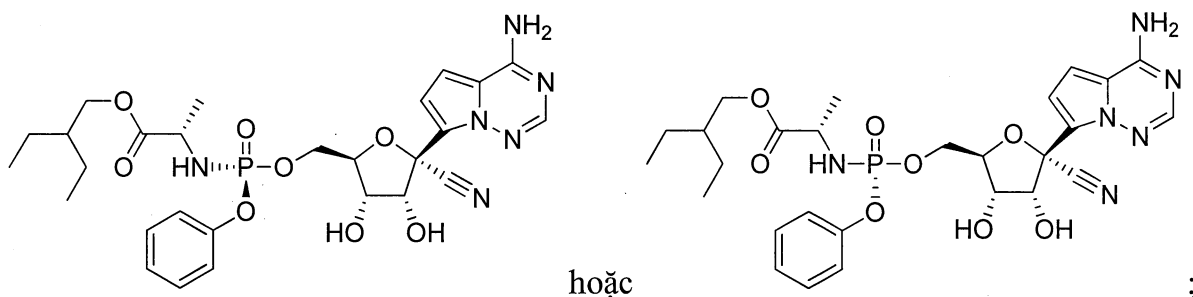
Theo phương án khác, sáng chế có hợp chất là





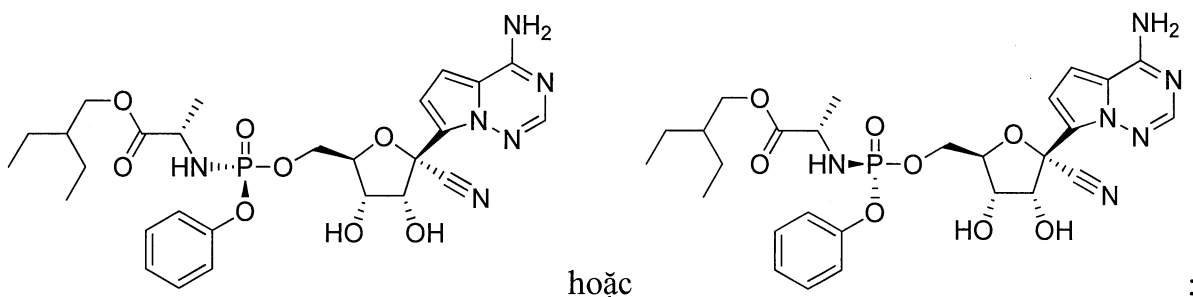
hoặc muối được dùng, hydrat, hoặc este của nó.

Theo phương án khác, sáng chế có hợp chất là



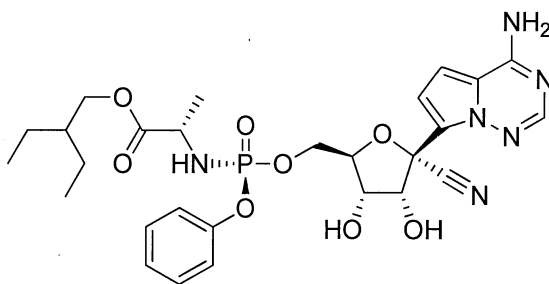
hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

Theo phương án khác, sáng chế có hợp chất là



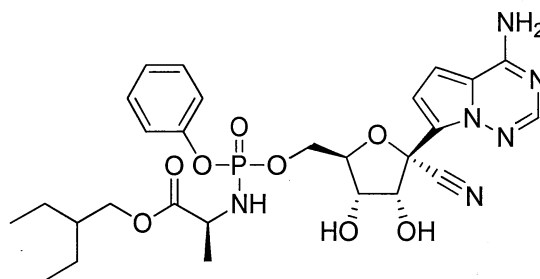
hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

Theo phương án khác, sáng chế có hợp chất là

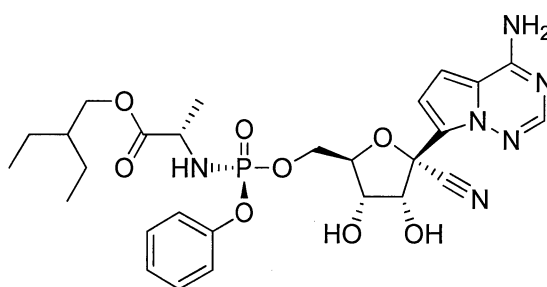


hoặc muối được dụng hoặc este của nó.

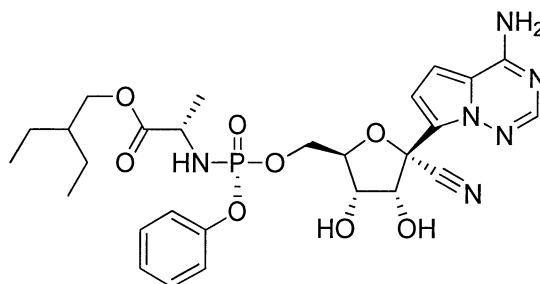
Tên của các hợp chất theo sáng chế được cung cấp sử dụng ACD/Name software for naming chemical compounds (Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canada). Các hợp chất hoặc gốc khác có thể được đặt tên bằng tên chung hoặc các tên theo hệ hoặc không theo hệ. Việc đặt tên và đánh số của các hợp chất theo sáng chế được minh họa bằng hợp chất đại diện có Công thức IV:



được đặt tên (2S)-2-ethylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphorylamino)propanoat. Các hợp chất khác theo sáng chế bao gồm:

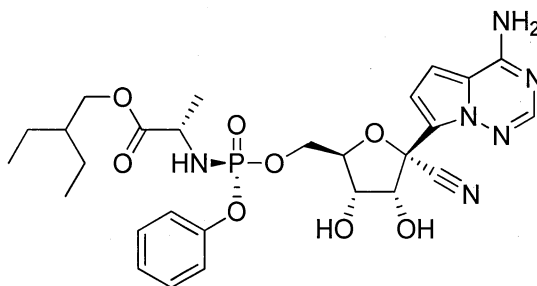


được đặt tên (S)-2-ethylbutyl 2-((((S)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat, và



được đặt tên (S)-2-ethylbutyl 2-((((R)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat.

(S)-2-ethylbutyl 2-((((R)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat cũng có thể được minh họa dưới dạng



Tham chiếu bất kỳ đến các hợp chất theo sáng chế được mô tả trong bản mô tả này cũng bao gồm tham chiếu đến muối được chấp nhận về mặt sinh lý của nó. Các ví dụ về muối được chấp nhận về mặt sinh lý của các hợp chất theo sáng chế bao gồm các muối thu được từ bazơ thích hợp, chẳng hạn như kim loại kiềm hoặc kiềm thổ (ví dụ, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{+2} và Mg^{+2}), amoni và NR_4^+ (trong đó R được định nghĩa trong bản mô tả này). Muối được chấp nhận về mặt sinh lý của nguyên tử nitơ hoặc nhóm amino bao gồm (a) muối cộng axit được tạo thành bằng các axit vô cơ, ví dụ, axit clohidric, axit hydrobromic, axit sulfuric, các axit sulfamic, axit phosphoric, axit nitric và các chất tương tự; (b) muối được tạo thành bằng axit hữu cơ như, ví dụ, axit axetic, axit oxalic, axit tartaric, axit succinic, axit maleic, axit fumaric, axit gluconic, axit xitric, axit malic, axit ascorbic, axit benzoic, axit isetionnic, axit lactobionic, axit tannic, axit palmitic, axit alginic, axit polyglutamic, axit naphtalensulfonic, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit benzensulfonic, axit naphtalendisulfonic, axit polygalacturonic, axit malonic, axit sulfosalicylic, axit glycolic, 2-hydroxy-3-naphtat, pamoat, axit salicylic, axit stearic, axit phthalic, axit mandelic, axit lactic, axit etansulfonic, lysin, arginin, axit glutamic, glyxin, serin, threonin, alanin, isoleuxin, leuxin và các chất tương tự; và (c) muối được tạo thành từ anion nguyên tố ví dụ, clo, brom và iốt. Muối được chấp nhận về mặt sinh lý của hợp chất có nhóm hydroxy bao gồm anion của hợp chất này kết hợp với cation thích hợp như Na^+ và NR_4^+ .

Hợp chất có Công thức IV và các muối được dụng của nó có thể tồn tại dưới dạng đa hình hoặc giả hình khác nhau. Như được sử dụng trong bản mô tả này, đa hình tinh thể có nghĩa là khả năng của hợp chất dạng tinh thể tồn tại ở các cấu trúc tinh thể khác nhau. Hiện tượng đa hình tinh thể có thể là kết quả của các khác biệt về khít kín tinh thể (hiện tượng đa hình khít kín) hoặc khác biệt về khít kín giữa các cấu hình riêng khác nhau của cùng phân tử (hiện tượng đa hình cấu hình riêng). Như được sử dụng trong bản mô tả này, hiện tượng đa hình giả tinh thể có nghĩa là khả năng của hydrat

hoặc solvat của hợp chất tồn tại ở các cấu trúc tinh thể khác nhau. Các chất đa hình giả theo sáng chế có thể tồn tại do các khác biệt về khít kín tinh thể (hiện tượng đa hình giả khít kín) hoặc do khác biệt về khít kín giữa các cấu hình riêng khác nhau của cùng phân tử (hiện tượng đa hình giả cấu hình riêng). Sáng chế bao gồm tất cả đa hình và đa hình giả của hợp chất có Công thức IV và các muối được dụng của chúng.

Hợp chất có Công thức IV và các muối được dụng của nó cũng có thể tồn tại dưới dạng chất rắn vô định hình. Như được sử dụng trong bản mô tả này, chất rắn vô định hình là chất rắn trong đó không có thứ tự dài hạn về các vị trí của nguyên tử trong chất rắn. Định nghĩa này áp dụng tốt khi kích thước tinh thể là hai nanomet hoặc nhỏ hơn. Các chất phụ gia, bao gồm dung môi, có thể được sử dụng để tạo ra dạng vô định hình theo sáng chế. Sáng chế bao gồm tất cả các dạng vô định hình của hợp chất có công thức IV và các muối được dụng của chúng.

Để sử dụng trị liệu, muối của các hoạt chất của hợp chất theo sáng chế sẽ chấp nhận được về mặt sinh lý, tức là chúng sẽ là muối thu được từ axit hoặc bazơ chấp nhận được về mặt sinh lý. Tuy nhiên, muối của các axit hoặc bazơ không chấp nhận được về mặt sinh lý cũng có thể sử dụng, ví dụ, trong quy trình điều chế hoặc tinh chế hợp chất chấp nhận được về mặt sinh lý. Tất cả các muối, bất kể thu được từ axit hoặc bazơ chấp nhận được về mặt sinh lý hoặc không, nằm trong phạm vi của sáng chế.

Cuối cùng, chế phẩm trong bản mô tả này bao gồm các hợp chất theo sáng chế ở dạng không ion hóa của chúng, cũng như ion lưỡng tính, và kết hợp với lượng hệ số tỷ lượng của nước dưới dạng hydrat.

Cần lưu ý rằng tất cả các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và hỗn hợp raxemic, tautome, các chất đa hình, đa hình giả của các hợp chất trong phạm vi có công thức IV và các muối được dụng của nó được chấp nhận bởi sáng chế. Tất cả hỗn hợp của các chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân không đối quang này nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế, được minh họa bằng công thức IV có thể có tâm không đối xứng, ví dụ nguyên tử cacbon hoặc phospho không đối xứng. Các hợp chất theo sáng chế vì vậy bao gồm hỗn hợp raxemic của tất cả các chất đồng phân lập thể, bao gồm các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và chất đồng phân cản quang. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng phân

quang học được bổ sung hoặc phân giải ở bất kỳ hoặc tất cả nguyên tử bất đối xứng, không đối xứng. Nói cách khác, tâm không đối xứng biểu kiến từ miêu tả được đề xuất dưới dạng các chất đồng phân hoặc hỗn hợp raxemic không đối xứng. Cả hai hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang, cũng như các chất đồng phân quang học riêng biệt được phân lập hoặc được tổng hợp, gần như không có các vật kèm chất đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang của chúng, tất cả nằm trong phạm vi của sáng chế. Các hỗn hợp raxemic được tách riêng thành các chất đồng phân riêng biệt, gần như tinh khiết về mặt quang học của chúng thông qua phương pháp đã biết như, ví dụ, tách các muối đồng phân không đối quang được tạo thành bằng phụ gia có hoạt tính quang học, ví dụ, các axit hoặc bazơ tiếp theo là chuyển đổi trở lại các hoạt chất quang học. Trong hầu hết trường hợp, chất đồng phân quang học mong muốn được tổng hợp bằng các phản ứng lập thể đặc thù, bắt đầu với chất đồng phân lập thể thích hợp của vật liệu ban đầu mong muốn.

Các định nghĩa hóa học lập thể và công ước được sử dụng trong bản mô tả này nói chung theo S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; và Eliel, E. and Wilen, S., Stereochemistry of Hữu cơ Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York. Nhiều hợp chất hữu cơ tồn tại ở dạng có hoạt tính quang học, tức là, chúng có khả năng xoay mặt phẳng của ánh sáng phân cực phẳng. Trong việc mô tả hợp chất có hoạt tính quang học, các tiền tố D và L hoặc R và S được sử dụng để biểu thị cấu hình tuyệt đối của phân tử về (các) tâm không đối xứng của nó. Các tiền tố d và l, D và L, hoặc (+) và (-) được sử dụng để chỉ ra dấu hiệu xoay vòng của ánh sáng phân cực phẳng bằng hợp chất, với S, (-), hoặc l nghĩa là hợp chất quay trái trong khi hợp chất bắt đầu với R, (+), hoặc d có tính quay phải. Đối với cấu trúc hóa học đã cho, các chất đồng phân lập thể này tương tự ngoại trừ chúng là ảnh qua gương của nhau. Chất đồng phân lập thể cụ thể cũng có thể được coi là chất đồng phân đối ảnh, và hỗn hợp các chất đồng phân này thường gọi là hỗn hợp chất đồng phân đối ảnh. Hỗn hợp 50:50 của các chất đồng phân đối ảnh được coi là hỗn hợp raxemic hoặc raxemat, có thể xảy ra khi không có sự lựa chọn hoặc tính lập thể đặc thù trong phản ứng hoặc quy trình hóa học. Các thuật ngữ "hỗn hợp raxemic" và "raxemat" đề cập đến hỗn hợp đẳng mol của hai loài chất đồng phân đối ảnh, không có hoạt tính quang học.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể tồn tại dưới dạng các chất đồng phân lẫn biến ở một số trường hợp. Mặc dù chỉ một cấu trúc cộng hưởng chuyển vị có thể được miêu tả, tất cả dạng này được dự phòng nằm trong phạm vi của sáng chế. Ví dụ, chất lẫn biến ene-amin có thể tồn tại đối với các hệ purin, pyrimidin, imidazol, guanidin, amidin, và tetrazol và tất cả các dạng lẫn biến có thể của nó nằm trong phạm vi của sáng chế.

Bất kỳ công thức hoặc cấu trúc đã cho trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất công thức IV, cũng dự định đại diện cho các dạng không đánh dấu cũng như dạng đánh dấu chất đồng vị của các hợp chất. Các hợp chất đánh dấu chất đồng vị có cấu trúc được miêu tả bởi các công thức đã cho trong bản mô tả này ngoại trừ việc một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối lượng được lựa chọn. Các ví dụ về các chất đồng vị có thể được kết hợp vào hợp chất theo sáng chế bao gồm các chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxi, phospho, flo và clo, như, nhưng không giới hạn ở ^2H (dơteri, D), ^3H (triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl và ^{125}I . Các hợp chất đánh dấu chất đồng vị khác nhau theo sáng chế, ví dụ hợp chất mà đồng vị phóng xạ như ^3H , ^{13}C và ^{14}C được kết hợp vào. Các hợp chất đánh dấu chất đồng vị có thể hữu ích trong các nghiên cứu chuyển hóa, các nghiên cứu động lực phản ứng, phương pháp phát hiện hoặc hình ảnh, chẳng hạn như chụp cắt lớp phát xạ positron (PET) hoặc máy chụp cắt lớp đơn photon (SPECT) bao gồm xét nghiệm phân phối thuốc hoặc chất nền hoặc trong điều trị phóng xạ cho bệnh nhân.

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất có công thức IV trong đó từ 1 đến n hydro gắn vào nguyên tử cacbon được thay thế bằng dơteri, trong đó n là số hydro trong phân tử. Các hợp chất này thể hiện kháng mạnh với chuyển hóa và vì vậy hữu ích để tăng thời gian bán hủy của bất kỳ hợp chất có công thức IV khi được cấp cho động vật có vú, đặc biệt là người. Xem, ví dụ, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism", Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Các hợp chất này được tổng hợp bằng các biện pháp đã biết trong lĩnh vực, ví dụ bằng cách sử dụng các vật liệu ban đầu trong đó một hoặc nhiều hydro đã được thay thế bằng dơteri.

Các hợp chất trị liệu được thể hoặc đánh dấu dơteri theo sáng chế có thể đã cải thiện các tính chất DMPK (chuyển hóa thuốc và dược động học), liên quan đến phân phối, chuyển hóa và bài tiết (ADME). Sự thay thế bằng các chất đồng vị nặng hơn như

doteri có thể cung cấp một số cải tiến trị liệu tạo ra từ độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, ví dụ chu kỳ bán rã in vivo cao, yêu cầu về liều lượng giảm và / hoặc cải tiến về chỉ số trị liệu. Hợp chất đánh dấu ^{18}F có thể hữu ích đối với các nghiên cứu PET hoặc SPECT. Các hợp chất đánh dấu chất đồng vị theo sáng chế và tiền chất của nó nói chung có thể được điều chế bằng cách thực hiện các phương pháp được trình bày ở các sơ đồ hoặc ở các ví dụ và quy trình điều chế được mô tả dưới đây bằng cách thế chất phản ứng đánh dấu chất đồng vị rõ ràng có thể cho chất phản ứng đánh dấu không phải chất đồng vị. Sẽ được hiểu là doteri trong ngữ cảnh này được xem như là phần tử thế trong hợp chất có công thức IV.

Hàm lượng của chất đồng vị nặng hơn này, đặc biệt là doteri, có thể được định nghĩa bởi yếu tố bổ sung đồng vị. Trong các hợp chất theo sáng chế nguyên tử bất kỳ không đặc biệt được chỉ định là đồng vị cụ thể có nghĩa là đại diện cho bất kỳ đồng vị ổn định của nguyên tử đó. Trừ khi được nêu khác, khi vị trí được chỉ định cụ thể là "H" hoặc "hydro", vị trí này được hiểu là có hydro ở chế phẩm đồng vị phong phú tự nhiên của nó. Do đó, trong các hợp chất theo sáng chế nguyên tử bất kỳ đặc biệt được chỉ định là doteri (D) có nghĩa là đại diện doteri.

Bất cứ khi nào hợp chất được mô tả trong bản mô tả này được thế bằng nhiều hơn một nhóm, ví dụ, "R" hoặc "R¹", sau đó nó sẽ được hiểu rằng các nhóm này có thể giống nhau hoặc khác nhau, tức là, mỗi nhóm được lựa chọn độc lập. Đường lượn sóng, ~~~~~, cho biết vị trí liên kết cộng hóa trị đính kèm vào các cấu trúc con liên kề, các nhóm, gốc, hoặc nguyên tử.

Phần tử thế được lựa chọn bao gồm các hợp chất có công thức IV có độ đệ quy. Trong ngữ cảnh này, "phần tử thế đệ quy" có nghĩa là phần tử thế có thể nêu ví dụ khác của chính nó. Vì bản chất đệ quy của các phần tử thế này, về mặt lý thuyết, số lớn các hợp chất có thể có theo phương án đã cho bất kỳ. Ví dụ, R^x bao gồm R^y phần tử thế. R^y có thể là R. R có thể là Z³. Z³ có thể là Z⁴ và Z⁴ có thể là R hoặc bao gồm các phần tử thế bao gồm R^y. Ngoài ra, Z³ có thể là Z⁵ mà có thể chứa các phần tử thế bao gồm R^y. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực hóa được hiểu rằng tổng số phần tử thế này được giới hạn hợp lý bởi các tính chất mong muốn của hợp chất dự định. Các tính chất này bao gồm, ví dụ và không làm giới hạn, các tính chất vật lý như khối lượng phân

tử, độ hòa tan hoặc log P, các tính chất áp dụng như hoạt tính chống lại mục tiêu dự định, và các tính chất thiết thực như dễ tổng hợp.

Ví dụ và không làm giới hạn, Z^3 và R^y là phần tử thể đệ quy theo một số phương án. Thông thường, mỗi phần tử thể đệ quy có thể xuất hiện độc lập 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, hoặc 0, lần theo phương án đã cho. Thông thường hơn, mỗi phần tử thể đệ quy có thể xuất hiện độc lập 12 lần hoặc ít hơn theo phương án đã cho. Thông thường hơn nữa, mỗi phần tử thể đệ quy có thể xuất hiện độc lập 3 lần hoặc ít hơn theo phương án đã cho. Ví dụ, Z^3 sẽ xuất hiện từ 0 đến 8 lần, R^y sẽ xuất hiện từ 0 đến 6 lần theo phương án đã cho. Thông thường hơn nữa, Z^3 sẽ xuất hiện từ 0 đến 6 lần và R^y sẽ xuất hiện từ 0 đến 4 lần theo phương án đã cho.

Các phần tử thể đệ quy là khía cạnh dự định theo sáng chế. Người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực hóa được hiểu tính linh hoạt của các phần tử thể này. Với độ mà các phần tử thể đệ quy có mặt theo phương án của sáng chế, tổng số sẽ được xác định như được nêu ra ở trên.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo các phương pháp được mô tả trong Patent Mỹ số 8.008.264 và Đơn Mỹ số US 2012/0027752.

A. Các chất chuyển hóa của hợp chất theo sáng chế

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là các sản phẩm chuyển hóa *in vivo* của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này, trong phạm vi các sản phẩm này mới và không bị rò rỉ trên tình trạng kỹ thuật. Các sản phẩm này ví dụ có thể tạo ra từ quá trình oxy hóa, giảm, thủy phân, amit hóa, este hóa và tương tự của hợp chất được cấp, chủ yếu là do các quy trình bằng enzym. Vì vậy, sáng chế bao gồm các hợp chất mới và không rõ ràng được tạo ra bằng quy trình bao gồm việc cho hợp chất theo sáng chế tiếp xúc với động vật có vú trong một khoảng thời gian đủ để tạo ra sản phẩm chuyển hóa của nó. Các sản phẩm này thông thường được xác định bằng cách điều chế hợp chất được đánh dấu phóng xạ (ví dụ ^{14}C hoặc ^3H) theo sáng chế, dùng nó không qua đường miệng với liều có thể phát hiện được (ví dụ trên khoảng 0,5 mg/kg) cho động vật chẳng hạn như chuột *rattus*, chuột, lợn guinea, khỉ, hoặc cho con người, cho phép đủ thời gian để chuyển hóa xảy ra (thông thường khoảng 30 giây đến 30 giờ) và phân lập các sản

phẩm chuyển đổi của nó từ nước tiểu, máu hoặc các mẫu sinh học khác. Các sản phẩm này dễ dàng được phân lập vì chúng được đánh dấu (các sản phẩm khác được phân lập bằng cách sử dụng kháng thể có khả năng liên kết epitop sống sót trong chất chuyển hóa). Các cấu trúc chất chuyển hóa được xác định Theo cách thông thường, ví dụ bằng phân tích MS hoặc NMR. Nói chung, phân tích các chất chuyển hóa Được thực hiện giống như các nghiên cứu chuyển hóa thuốc thông thường đã biết bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực. Các sản phẩm chuyển đổi, miễn là chúng không được tìm thấy khác *in vivo*, hữu ích trong các xét nghiệm chẩn đoán cho liều lượng trị liệu của các hợp chất theo sáng chế ngay cả khi chúng không có hoạt tính kháng Filoviridae của riêng chúng.

Công thức và các phương pháp xác định độ ổn định của các hợp chất trong các chất tiết dạ dày-ruột thay thế đã biết. Các hợp chất được định nghĩa trong bản mô tả này là ổn định trong đường tiêu hóa nơi có ít hơn khoảng 50 phần trăm mol của các nhóm bảo vệ được bảo vệ trong nước tiểu đại tràng hoặc nước dạ dày thay thế khi ủ trong 1 giờ ở 37°C. Đơn giản vì các hợp chất ổn định với đường tiêu hóa không có nghĩa là chúng không thể bị thủy phân *in vivo*. Các tiền chất theo sáng chế thông thường sẽ ổn định ở hệ tiêu hóa nhưng có thể gần như bị thủy phân thành thuốc gốc trong lumen tiêu hóa, gan hoặc bộ phận chuyển hóa khác, hoặc trong tế bào nói chung.

III. Dược phẩm

Hợp chất theo sáng chế được phối trộn với các chất mang và tá dược quy ước, sẽ được lựa chọn phù hợp với thực tiễn thông thường. Viên nén sẽ chứa các tá dược, chất chảy, chất trám, chất kết dính và các chất tương tự. Chế phẩm nước được điều chế ở dạng vô trùng, và khi dự định để phân phối bằng cách khác với dùng qua đường miệng nói chung sẽ đẳng trương. Tất cả chế phẩm sẽ tùy ý chứa các tá dược như các tá dược nêu trong "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986). Tá dược bao gồm axit ascorbic và các chất chống oxy hoá khác, chất tạo chelat như EDTA, carbohydrat như dextran, hydroxyalkylcelluloza, hydroxyalkylmethylcelluloza, axit stearic và tương tự. Độ pH của chế phẩm nằm trong khoảng từ khoảng 3 đến khoảng 11, nhưng thường là khoảng 7 đến 10. Theo một số phương án, độ pH của chế phẩm nằm trong khoảng từ khoảng 2 đến khoảng 5, nhưng thường là khoảng 3 đến khoảng 4. Theo một số phương

án, pH của chế phẩm nằm trong khoảng từ khoảng 2 đến khoảng 10, nhưng thường là khoảng 3,5 đến khoảng 8,5.

Trong khi các hoạt chất có thể sử dụng một mình, có thể tốt hơn là có chúng dưới dạng dược phẩm. Các chế phẩm, cả cho thú y và cho người sử dụng, theo sáng chế chứa ít nhất một hoạt chất, như được định nghĩa ở trên, cùng với một hoặc nhiều chất mang chấp nhận được do và tùy ý các chất trị liệu khác, đặc biệt các chất trị liệu bổ sung như đã thảo luận trong bản mô tả này. (Các) chất mang phải "chấp nhận được" theo nghĩa là tương thích với các chất khác của chế phẩm và vô hại về mặt sinh lý cho người nhận nó.

Các chế phẩm bao gồm chế phẩm thích hợp đối với các con đường sử dụng nói trên. Các chế phẩm có thể thuận tiện có mặt ở dạng liều đơn và có thể được điều chế bằng bất kỳ phương pháp đã biết trong lĩnh vực dược. Các phương pháp và chế phẩm nói chung được tìm thấy trong Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Các phương pháp này bao gồm bước đưa vào liên kết hoạt chất với chất mang tạo thành một hoặc nhiều chất phụ trợ. Nói chung các chế phẩm được điều chế bằng cách đưa vào đều đặn và trực tiếp liên kết hoạt chất với các chất mang dạng lỏng hoặc các chất mang dạng rắn phân nhỏ tinh vi hoặc cả hai, và sau đó, nếu cần, định hình sản phẩm.

Các chế phẩm theo sáng chế thích hợp sử dụng qua đường miệng có thể tồn tại dưới dạng các đơn vị rời như viên nang, viên nhện hoặc viên nén mỗi viên chứa lượng được xác định trước của hoạt chất; dưới dạng bột hoặc hạt; dưới dạng dung dịch hoặc huyền phù trong chất lỏng nước hoặc không phải nước; hoặc dưới dạng nhũ tương lỏng dầu trong nước hoặc nhũ tương lỏng nước trong dầu. Hoạt chất cũng có thể được dùng dưới dạng liều nhanh, chất điện giải hoặc hồ bột.

Viên nén được tạo ra bằng cách ép hoặc đúc, tùy ý bằng một hoặc nhiều chất phụ trợ. Viên nén ép có thể được điều chế bằng cách nén trong máy thích hợp hoạt chất ở dạng lỏng tự do như bột hoặc hạt, tùy ý trộn với chất kết dính, chất bôi trơn, chất pha loãng trợ, chất bảo quản, hoạt chất bề mặt hoặc chất gây phân tán. Viên nén đúc có thể được tạo ra bằng cách đúc trong máy thích hợp hỗn hợp của hoạt chất đã tạo bột làm ướt với chất làm loãng lỏng trợ. Các viên nén có thể tùy ý được phủ hoặc ghi và tùy ý được phối trộn để thu được hoạt chất giải phóng từ từ hoặc được kiểm soát.

Đối với lây nhiễm của mắt hoặc các mô ngoài khác ví dụ miệng và da, các chế phẩm tốt hơn là được áp dụng dưới dạng thuốc mỡ tại chỗ hoặc kem chứa (các) hoạt chất với lượng nằm trong khoảng, ví dụ, 0,075 đến 20% trọng lượng/trọng lượng (bao gồm (các) hoạt chất nằm trong khoảng từ 0,1% đến 20% theo từng bước 0,1% trọng lượng/trọng lượng như 0,6% trọng lượng/trọng lượng, 0,7% trọng lượng/trọng lượng, v.v.), tốt hơn là từ 0,2 đến 15% trọng lượng/trọng lượng và tốt nhất là từ 0,5 đến 10% trọng lượng/trọng lượng. Khi được phối trộn trong thuốc mỡ, các hoạt chất có thể được sử dụng với hoặc parafinic hoặc thuốc mỡ trộn lẫn được nước. Theo cách khác, các hoạt chất này có thể được phối trộn trong kem với kem nền dầu trong nước.

Nếu muốn, pha nước của kem nền có thể bao gồm, ví dụ, ít nhất 30% trọng lượng/trọng lượng của rượu polyhydric, tức là rượu có hai hoặc nhiều nhóm hydroxyl như propylen glycol, butan 1,3-diol, mannitol, sorbitol, glyxerol và polyetylen glycol (bao gồm PEG 400) và hỗn hợp của nó. Các chế phẩm tại chỗ có thể theo mong muốn bao gồm hợp chất tăng cường việc hấp thụ hay thâm nhập của hoạt chất thông qua da hoặc các vùng bị ảnh hưởng khác. Ví dụ về các chất tăng cường thâm nhập da bao gồm dimetyl sulphoxit và các chất tương tự có liên quan.

Pha dầu của nhũ tương theo sáng chế có thể được cấu thành từ các chất đã biết theo cách đã biết. Trong khi pha có thể đơn giản chứa chất nhũ tương (mặt khác được biết dưới dạng thuốc lợi tiểu), nó chứa theo mong muốn hỗn hợp của ít nhất một chất nhũ tương với chất béo hoặc dầu hoặc với cả chất béo và dầu. Tốt hơn là, chất nhũ tương kích thích được bao gồm cùng với chất nhũ tương béo hoạt động như chất làm ổn định. Cũng được ưu tiên bao gồm cả dầu và chất béo. (Các) chất nhũ tương cùng với hoặc không có (các) chất làm ổn định tạo nên cái gọi là sáp nhũ tương, và sáp cùng với dầu và chất béo tạo thành loại thuốc mỡ nhũ tương tạo ra pha phân tán dầu của chế phẩm kem.

Các thuốc lợi tiểu và chất làm ổn định nhũ tương thích hợp để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm Tween® 60, Span® 80, rượu xetostearyl, rượu benzyl, rượu myristyl, glyxeryl mono stearat và natri lauryl sulfat. Các thuốc lợi tiểu và chất làm ổn định nhũ tương khác thích hợp để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế bao gồm Tween® 80.

Sự lựa chọn các dầu hoặc chất béo thích hợp với chế phẩm trên cơ sở đạt được các tính chất mỹ phẩm mong muốn. Kem tốt hơn nên là sản phẩm không nhờn, không nhuộm và rửa được với tính nhất quán thích hợp để tránh rò rỉ từ ống hoặc các vật chứa khác. Các este mạch thẳng hoặc nhánh, mono- hoặc dibasic alkyl như di-isoadipat, isoxetyl stearat, propylen glycol dieste của các axit béo ở dừa, isopropyl myristat, dexyl oleat, isopropyl palmitat, butyl stearat, 2-ethylhexyl palmitat hoặc hỗn hợp của các este mạch nhánh đã biết như Crodamol CAP có thể được sử dụng, ba este cuối được ưu tiên. Chúng có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp dựa vào các tính chất yêu cầu. Theo cách khác, các lipid điểm nóng chảy cao như paraffin mềm trắng và / hoặc parafin lỏng hoặc các dầu khoáng khác được sử dụng.

Dược phẩm theo sáng chế chứa hỗn hợp theo sáng chế với một hoặc nhiều chất mang được dụng hoặc tá dược và tùy ý các chất điều trị bệnh khác. Dược phẩm chứa hoạt chất có thể ở dạng bất kỳ thích hợp với phương pháp dự định cho dùng. Khi được sử dụng ví dụ để dùng qua đường miệng, viên nén, viên ngậm dẹp, viên ngậm, huyền phù nước hoặc dầu, bột hoặc hạt phân tán, nhũ tương, viên nang cứng hoặc mềm, xi rô hoặc còn ngọt có thể được điều chế. Chế phẩm dự định dùng qua đường miệng có thể được điều chế theo phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực sản xuất dược phẩm và chế phẩm này có thể chứa một hoặc nhiều chất bao gồm chất làm ngọt, chất tạo hương vị, chất tạo màu và chất bảo quản, để thu được chế phẩm ngon miệng. Viên nén chứa hoạt chất trộn với tá dược được dụng không độc thích hợp cho viên nén chấp nhận được. Các tá dược này, ví dụ, có thể là chất pha loãng trợ, như canxi hoặc natri cacbonat, lactoza, canxi hoặc natri phosphat; các chất tạo hạt và tan rã, như tinh bột ngô, hoặc axit alginic; các chất liên kết, như tinh bột, gelatin hoặc acacia; và chất bôi trơn, như magie stearat, axit stearic hoặc bột talc. Viên nén có thể không được phủ hoặc có thể phủ bằng phương pháp đã biết bao gồm đóng gói vi chất để trì hoãn sự phân hủy và hấp phụ trong đường tiêu hóa và do đó thu được hoạt tính bền vững trong khoảng thời gian dài hơn. Ví dụ, vật liệu trì hoãn thời gian như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat riêng hoặc với sáp có thể được sử dụng.

Các chế phẩm sử dụng qua đường miệng cũng có thể được thể hiện dưới dạng viên nang gelatin cứng trong đó hoạt chất được trộn với chất pha loãng rắn trợ, ví dụ canxi phosphat hoặc cao lanh, hoặc dưới dạng viên nang gelatin mềm trong đó hoạt

chất được trộn với nước hoặc môi trường dầu, như dầu đậu phộng, paraffin lỏng hoặc dầu ô liu.

Các huyền phù nước theo sáng chế chứa các vật liệu có hoạt tính trộn với tá được thích hợp để sản xuất các huyền phù nước. Các tá được này bao gồm chất tạo huyền phù, như natri carboxymethylcelluloza, methylcelluloza, hydroxypropyl methylcelluloza, natri alginat, polyvinylpyrrolidon, gôm cây dương hoàng kỳ và gôm acacia, và chất phân tán hoặc tạo ẩm như phosphatit xuất hiện trong tự nhiên (ví dụ, lexithin), sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với axit béo (ví dụ, polyoxyetylen stearat), sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài (ví dụ, heptadecaetylenoxycetanol), sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần thu được từ axit béo và hexitol anhydrit (ví dụ, polyoxyetylen sorbitan monooleat). Các ví dụ không giới hạn khác về các chất tạo huyền phù bao gồm Captisol® (sulfobutyl ete beta-cyclodextrin, SBE- β -CD). Huyền phù nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản như etyl hoặc n-propyl p-hydroxybenzoat, một hoặc nhiều chất tạo màu, một hoặc nhiều chất tạo hương vị và một hoặc nhiều chất làm ngọt, như sucroza hoặc saccharin.

Các huyền phù dầu có thể được phối trộn bằng cách tạo huyền phù hoạt chất trong dầu thực vật, chẳng hạn như dầu arachis, dầu ô liu, dầu vừng hoặc dầu dừa, hoặc trong dầu khoáng như paraffin lỏng. Các huyền phù dùng qua đường miệng có thể chứa chất làm dày, như sáp ong, parafin cứng hoặc rượu xetyl. Các chất làm ngọt, như các chất nêu trên, và chất tạo hương vị có thể được thêm vào để thu được chế phẩm dùng qua đường miệng ngon lành. Các chế phẩm này có thể được bảo quản bởi việc bổ sung một chất chống oxy hoá như axit ascorbic.

Bột và hạt nhỏ phân tán theo sáng chế thích hợp để điều chế huyền phù nước bằng việc bổ sung nước thu được hoạt chất trộn với chất phân tán hoặc thẩm ướt, chất tạo huyền phù, và một hoặc nhiều chất bảo quản. Các chất phân tán hoặc thẩm ướt thích hợp và chất tạo huyền phù được minh hoạ bởi các chất được trình bày ở trên. Tá được bổ sung, ví dụ các chất làm ngọt, tạo hương vị và tạo màu, cũng có mặt.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, như dầu ôliu hoặc dầu arachis, dầu khoáng, như paraffin lỏng, hoặc hỗn hợp của chúng. Chất nhũ hóa thích hợp bao gồm các gôm xuất hiện

trong tự nhiên, như gôm acacia và gôm cây dương hoàng kỳ, các phosphatit xuất hiện trong tự nhiên, như lexithin đậu nành, este hoặc este một phần thu được từ axit béo và hexitol anhydrit, như sorbitan monooleat, và sản phẩm ngưng tụ của các este một phần này với etylen oxit, như polyoxyetylen sorbitan monooleat. Nhũ tương cũng có thể chứa các chất làm ngọt và tạo hương vị. Xi rô và rượu thuốc thơm ngọt có thể được phối trộn với các chất làm ngọt, như glyxerol, sorbitol hoặc sucroza. Các chế phẩm này cũng có thể chứa chất làm mờ, chất bảo quản, chất tạo hương vị hoặc chất tạo màu.

Dược phẩm theo sáng chế có thể ở dạng chế phẩm tiêm vô trùng, như huyền phù nước hoặc dầu tiêm vô trùng. Huyền phù này có thể được phối trộn theo kỹ thuật đã biết sử dụng các chất phân tán hoặc thẩm ướt thích hợp và chất tạo huyền phù đã được đề cập ở trên. Chế phẩm tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù tiêm vô trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi chấp nhận được ngoài đường tiêu hóa không độc, như dung dịch trong 1,3-butan-diol hoặc được điều chế dưới dạng bột đông khô nhanh. Chế phẩm tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù tiêm vô trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi chấp nhận được ngoài đường tiêu hóa. Giữa các chất dẫn và dung môi chấp nhận được có thể được sử dụng là nước, dung dịch Ringer và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, các dầu được cố định vô trùng có thể thông thường được sử dụng làm môi trường dung môi hoặc tạo huyền phù. Nhằm mục đích này dầu thô được cố định bất kỳ có thể được sử dụng bao gồm mono- hoặc diglycerit tổng hợp. Ngoài ra, các axit béo như axit oleic cũng có thể được sử dụng trong chế phẩm tiêm. Giữa chất dẫn và dung môi chấp nhận được có thể được sử dụng là nước, dung dịch Ringer dung dịch natri clorua đẳng trương, dung dịch natri clorua ưu trương, và dung dịch natri clorua nhược trương.

Lượng hoạt chất có thể kết hợp với vật liệu chất mang để tạo ra dạng liều đơn sẽ khác nhau tùy thuộc vào vật chủ được điều trị và phương thức sử dụng cụ thể. Ví dụ, chế phẩm giải phóng theo thời gian dự định cho người dùng qua đường miệng có thể chứa khoảng 1 đến 1000 mg vật liệu có hoạt tính được ghép với lượng thích hợp và thuận tiện vật liệu chất mang có thể thay đổi từ khoảng 5 đến khoảng 95% tổng chế phẩm (trọng lượng: trọng lượng). Dược phẩm có thể được điều chế để thu được các lượng dễ đo được để cho dùng. Ví dụ, dung dịch nước dự định truyền tĩnh mạch có thể

chứa từ khoảng 3 đến 500 µg hoạt chất / mililit dung dịch để truyền thể tích thích hợp với tốc độ khoảng 30 mL/ giờ có thể xảy ra.

Các chế phẩm thích hợp để dùng tại chỗ cho mắt cũng bao gồm thuốc nhỏ mắt trong đó hoạt chất được hòa tan hoặc được tạo huyền phù trong chất mang thích hợp, đặc biệt là dung môi nước cho hoạt chất. Hoạt chất tốt hơn là có trong các chế phẩm này với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 20%, có lợi là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10%, và đặc biệt là khoảng 1,5% trọng lượng/trọng lượng.

Các chế phẩm thích hợp để dùng tại chỗ trong miệng bao gồm viên ngậm chứa hoạt chất trong gốc có hương vị, thông thường là sucroza và acacia hoặc cây dương hoàng kỳ; viên ngậm chứa hoạt chất trong gốc trơn như gelatin và glyxerin, hoặc sucroza và acacia; và dung dịch súc miệng chứa hoạt chất trong chất mang lỏng thích hợp.

Các chế phẩm để dùng trực tràng có thể được thể hiện dưới dạng thuốc đạn với gốc thích hợp ví dụ bao gồm bơ cacao hoặc salixylat.

Các chế phẩm thích hợp để dùng cho phế quản hoặc mũi có kích thước hạt ví dụ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 micron, như 0,5, 1, 30, 35 v.v., được dùng bằng cách hít nhanh thông qua đường mũi hoặc bằng cách hít thông qua miệng để tiếp cận các túi phế nang. Chế phẩm thích hợp bao gồm nước hoặc các dung dịch dầu của hoạt chất. Các chế phẩm thích hợp để dùng dạng sol khí hoặc bột khô có thể được điều chế theo phương pháp thông thường và có thể cấp với các chất điều trị bệnh khác như các hợp chất trước đó được sử dụng trong điều trị hoặc dự phòng sự lây nhiễm *Filoviridae* như được mô tả phía dưới.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua đường âm đạo có thể được thể hiện dưới dạng thuốc đặt âm đạo, tampon, kem, gel, hồ bột, bột hoặc các chế phẩm phun chứa ngoài hoạt chất các chất mang này như đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật là thích hợp.

Các chế phẩm thích hợp để dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm dung dịch tiêm vô trùng nước và không nước có thể chứa chất chống oxy hoá, chất đệm, chất điều hòa vi khuẩn và chất tan làm cho chế phẩm đẳng trương với máu của bên nhận dự định; và các huyền phù vô trùng nước và không nước có thể bao gồm chất tạo huyền phù và chất làm dày.

Các chế phẩm được thể hiện ở vật chứa dạng liều đơn vị hoặc nhiều liều, ví dụ ống thuốc và lọ kín, và có thể được bảo quản trong điều kiện lạnh khô (đông khô nhanh) chỉ yêu cầu việc bổ sung chất mang lỏng vô trùng, ví dụ nước để tiêm, ngay trước khi sử dụng. Các dung dịch tiêm ngay tức thì và huyền phù được điều chế từ bột, hạt và viên nén vô trùng của loại trước đó được mô tả. Các chế phẩm dạng liều đơn vị được ưu tiên là các chế phẩm chứa liều hoặc đơn vị hàng ngày liều phụ hàng ngày, như nêu trên trong bản mô tả này, hoặc phân thích hợp của nó, của hoạt chất.

Cần hiểu rằng ngoài các chất cụ thể nói trên chế phẩm theo sáng chế có thể bao gồm các chất khác thông thường trong lĩnh vực liên quan đến loại chế phẩm quan tâm, ví dụ thích hợp để dùng qua đường miệng có thể bao gồm các chất tạo hương vị.

Sáng chế còn đề xuất chế phẩm thú y chứa ít nhất một hoạt chất như được định nghĩa ở trên với chất mang thú y.

Các chất mang thú y là vật liệu hữu ích nhằm mục đích dùng cho chế phẩm và có thể là các vật liệu rắn, lỏng hoặc khí mà trợ hoặc chấp nhận được trong lĩnh vực thú y và tương thích với hoạt chất. Các chế phẩm thú y này có thể được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa hoặc theo bất kỳ con đường mong muốn khác.

Các hợp chất theo sáng chế được sử dụng để thu được dược phẩm giải phóng có kiểm soát chứa dưới dạng hoạt chất một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế ("chế phẩm giải phóng có kiểm soát") trong đó việc giải phóng hoạt chất được kiểm soát và quy định để cho phép sử dụng tần số ít hơn hoặc cải thiện profin được động học hoặc độc tính của hoạt chất đã cho.

IV. Đường dùng

Một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế (ở đây được coi là các hoạt chất) được cho dùng bằng đường bất kỳ phù hợp với tình trạng bệnh được điều trị. Đường thích hợp bao gồm dùng qua đường miệng, trực tràng, mũi, phổi, tại chỗ (bao gồm miệng và ngậm dưới lưỡi), âm đạo và ngoài đường tiêu hóa (bao gồm tiêm dưới da, tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch, trong da, nội mạc tử cung và trên màng cứng), và đường tương tự. Sẽ được đánh giá cao rằng đường được ưu tiên có thể thay đổi ví dụ theo tình trạng bệnh của bên nhận. Một lợi thế của các hợp chất theo sáng chế là chúng khả dụng sinh học qua đường miệng và có thể được định lượng qua đường miệng.

Trong các phương pháp theo sáng chế để điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae*, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng tại thời điểm bất kỳ cho người có thể tiếp xúc với người bị lây nhiễm *Filoviridae* hoặc đã bị lây nhiễm *Filoviridae*. Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng dự phòng cho người tiếp xúc với người bị lây nhiễm *Filoviridae*. Theo một số phương án, việc dùng các hợp chất theo sáng chế có thể cho người kiểm tra dương tính với lây nhiễm *Filoviridae* nhưng chưa thể hiện triệu chứng lây nhiễm *Filoviridae*. Theo một số phương án, việc dùng các hợp chất theo sáng chế có thể cho người bắt đầu triệu chứng lây nhiễm *Filoviridae*.

Liều hữu hiệu của hoạt chất phụ thuộc ít nhất vào bản chất của tình trạng bệnh đang được điều trị, độc tính, bất kể hợp chất được sử dụng dự phòng (liều thấp hơn) hoặc chống lại sự lây nhiễm virus có hoạt tính, phương pháp phân phối, và dược phẩm, và sẽ được xác định bởi bác sĩ lâm sàng sử dụng các nghiên cứu tăng liều thông thường. Có thể dự kiến nằm trong khoảng từ khoảng 0,0001 đến khoảng 100 mg/kg thể trọng / ngày; thông thường, nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 10 mg/kg thể trọng / ngày; thông thường hơn, nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 5 mg/kg thể trọng / ngày; thông thường nhất là, nằm trong khoảng từ khoảng 0,05 đến khoảng 0,5 mg/kg thể trọng / ngày. Ví dụ, liều ứng viên hàng ngày cho người lớn khoảng 70 kg thể trọng sẽ nằm trong khoảng từ 1 mg đến 1000 mg, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 5 mg đến 500 mg, và có thể ở dạng đơn hoặc đa liều.

Liều hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế để điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* có thể phụ thuộc vào bất kể liệu được sử dụng để dự phòng hoặc để điều trị cho người đã bị lây nhiễm *Filoviridae*. Ngoài ra, liều có thể phụ thuộc vào bất kể người bị lây nhiễm *Filoviridae* chưa thể hiện triệu chứng hoặc đã thể hiện triệu chứng lây nhiễm *Filoviridae*. Liều lớn hơn có thể cần để điều trị cho người kiểm tra dương tính với lây nhiễm *Filoviridae* và đối với người thể hiện triệu chứng lây nhiễm *Filoviridae* so với người nhận điều trị phòng bệnh.

Bất kỳ khoảng thời gian thích hợp để dùng các hợp chất theo sáng chế được dự phòng. Ví dụ, việc dùng có thể nằm trong khoảng từ 1 ngày đến 100 ngày, bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, hoặc 90 ngày. Việc dùng cũng có thể nằm trong khoảng từ 1 tuần đến 15 tuần, bao gồm 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, hoặc 14 tuần. Thời gian dùng dài hơn cũng được dự phòng. Thời gian dùng có thể

phụ thuộc vào bất kể hợp chất được dùng phòng ngừa hoặc điều trị cho người bị lây nhiễm *Filoviridae*. Ví dụ, việc dùng phòng ngừa có thể trong khoảng thời gian trong khi người thường xuyên tiếp xúc với người khác bị lây nhiễm *Filoviridae*, và trong khoảng thời gian thích hợp sau tiếp xúc cuối với người bị lây nhiễm *Filoviridae*. Đối với người đã bị lây nhiễm *Filoviridae*, thời gian dùng có thể có chiều dài bất kỳ cần để điều trị cho bệnh nhân và thời gian dùng thích hợp sau kiểm tra âm tính với lây nhiễm *Filoviridae* để đảm bảo sự lây nhiễm *Filoviridae* không trở lại.

V. Điều trị kết hợp

Chế phẩm theo sáng chế cũng được sử dụng kết hợp với các hoạt chất khác. Để điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae*, tốt hơn là, hoạt chất điều trị bệnh khác có hoạt tính kháng sự lây nhiễm virus *Filoviridae*, đặc biệt là sự lây nhiễm virus Marburg, virus Ebola và virus Cueva. Các ví dụ không giới hạn về các hoạt chất điều trị bệnh khác là ribavirin, palivizumab, motavizumab, RSV-IGIV (RespiGam[®]), MEDI-557, A-60444, MDT-637, BMS-433771, amiodaron, dronedaron, verapamil, Ebola Convalescent Plasma (ECP), TKM-100201, BCX4430 ((2S,3S,4R,5R)-2-(4-amino-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-5-(hydroxymethyl)pyrrolidin-3,4-diol), favipiravir (cũng biết là T-705 hoặc Avigan), T-705 monophosphat, T-705 diphosphat, T-705 triphosphat, FGI-106 (1-N,7-N-bis[3-(dimethylamino)propyl]-3,9-dimethylquinolino[8,7-h]quinolon-1,7-diamin), JK-05, TKM-Ebola, ZMapp, rNAPc2, VRC-EBOADC076-00-VP, OS-2966, MVA-BN filo, brincidofovir, vaccin ebola trên cơ sở vector virus adeno Vaxart 5, Ad26-ZEBOV, vaccin FiloVax, GOVX-E301, GOVX-E302, chất ức chế điểm vào của virus ebola (chất ức chế NPC1), và rVSV-EBOV, và hỗn hợp của nó. Các hợp chất và chế phẩm theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với phosphoramidat morpholino oligome (PMOs), là dạng tương tự oligonucleotit đối nghĩa tổng hợp được thiết kế để can thiệp vào các quá trình chuyển đổi bằng cách tạo cặp đôi cơ sở với trình tự ARN cụ thể. Các ví dụ về PMOs bao gồm AVI-7287, AVI-7288, AVI-7537, AVI-7539, AVI-6002, và AVI-6003. Các hợp chất và chế phẩm theo sáng chế cũng dự định sử dụng cho bệnh nhân được cung cấp chăm sóc chung với sự lây nhiễm virus *Filoviridae*, bao gồm các chất lỏng ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dung dịch muối dextroza và lactat Ringer) và dinh dưỡng, kháng sinh (bao gồm metronidazol và thuốc kháng sinh cephalosporin, như ceftriaxon và xefuroxim) và / hoặc dự phòng chống nấm, sốt và thuốc giảm đau,

thuốc chống buồn nôn (như metoclopramit) và / hoặc các chất trị tiêu chảy, vitamin và bổ sung khoáng chất (bao gồm Vitamin K và kẽm sulfat), chất kháng viêm (như ibuprofen), thuốc giảm đau, và thuốc cho các bệnh chung khác trong quần thể bệnh nhân, như chất chống sốt rét (bao gồm điều trị kết hợp artemether và artesunate-lumefantrin), thương hàn (bao gồm kháng sinh quinolon, như ciprofloxacin, thuốc kháng sinh phân tử vòng lớn, như azithromycin, kháng sinh xephalosporin, như ceftriaxon, hoặc aminopenicillin, như ampicillin), hoặc ly.

Cũng có thể kết hợp hợp chất bất kỳ theo sáng chế với một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh bổ sung ở dạng liều đơn vị để dùng đồng thời hoặc tuần tự cho bệnh nhân. Điều trị kết hợp có thể được dùng như phác đồ điều trị đồng thời hoặc tuần tự. Khi được dùng tuần tự, việc kết hợp có thể được dùng trong hai hoặc nhiều lần dùng.

Việc đồng sử dụng hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác nói chung dùng để chỉ dùng đồng thời hoặc tuần tự hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác, sao cho lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác đều có mặt trong cơ thể của bệnh nhân.

Việc đồng sử dụng bao gồm việc dùng các liều đơn vị của các hợp chất theo sáng chế trước hoặc sau khi dùng các liều đơn vị của một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác, ví dụ, dùng các hợp chất theo sáng chế trong giây, phút, hoặc giờ dùng một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác. Ví dụ, liều đơn vị của hợp chất theo sáng chế có thể là được dùng đầu tiên, sau đó trong giây hoặc phút dùng liều đơn vị của một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác. Theo cách khác, liều đơn vị của một hoặc nhiều chất điều trị bệnh khác có thể được dùng đầu tiên, sau đó là dùng liều đơn vị của hợp chất theo sáng chế trong giây hoặc phút. Trong một số trường hợp, có thể mong muốn dùng liều đơn vị của hợp chất theo sáng chế đầu tiên, sau đó, sau một khoảng thời gian (ví dụ, 1-12 giờ), dùng liều đơn vị của một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác. Theo các trường hợp khác, có thể mong muốn dùng liều đơn vị của một hoặc nhiều hoạt chất điều trị bệnh khác đầu tiên, sau đó, sau một khoảng thời gian (ví dụ, 1-12 giờ), dùng liều đơn vị của hợp chất theo sáng chế.

Điều trị kết hợp có thể thu được "sức mạnh tổng hợp "và" hiệp đồng ", nghĩa là tác dụng đạt được khi các hoạt chất được sử dụng với nhau lớn hơn tổng tác dụng thu

được từ việc sử dụng các hợp chất riêng biệt. Tác dụng hiệp đồng có thể đạt được khi các hoạt chất được: (1) cùng phối trộn và dùng hoặc dùng đồng thời trong chế phẩm kết hợp; (2) dùng bằng cách xen kẽ hoặc song song như các chế phẩm tách biệt; hoặc (3) bằng một số chế độ khác. Khi dùng điều trị xen kẽ, tác dụng hiệp đồng có thể đạt được khi các hợp chất được dùng hoặc dùng tuần tự, ví dụ trong các viên nén, viên tròn hoặc viên nang riêng biệt, hoặc bằng các lượt tiêm khác nhau trong các ống tiêm riêng biệt. Nói chung, trong điều trị xen kẽ, liều hữu hiệu của mỗi hoạt chất được dùng tuần tự, tức là liên tục, bởi vì trong điều trị kết hợp, các liều hữu hiệu của hai hoặc nhiều hoạt chất được dùng với nhau. Tác dụng kháng virus hiệp đồng biểu thị tác dụng kháng virus lớn hơn tác dụng bổ sung hoàn toàn dự đoán của các hợp chất riêng lẻ của hỗn hợp.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp ức chế *Filoviridae* polymeraza trong tế bào, bao gồm: bước cho tiếp xúc tế bào bị nhiễm virus Filo với lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dùng, solvat, và/hoặc este của nó, nhờ đó *Filoviridae* polymeraza bị ức chế.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp ức chế *Filoviridae* polymeraza trong tế bào, bao gồm: bước cho tiếp xúc tế bào bị nhiễm virus Filo với lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dùng, solvat, và/hoặc este của nó, và ít nhất một hoạt chất điều trị bệnh bổ sung, nhờ đó *Filoviridae* polymeraza bị ức chế.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp ức chế *Filoviridae* polymeraza trong tế bào, bao gồm: bước cho tiếp xúc tế bào bị nhiễm virus *Filoviridae* với lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dùng, solvat, và/hoặc este của nó, và ít nhất một hoạt chất điều trị bệnh bổ sung được lựa chọn.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm: bước cho bệnh nhân dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dùng, solvat, và/hoặc este của nó.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm: bước cho bệnh nhân dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dùng, solvat, và/hoặc este của

nó, và ít nhất một hoạt chất điều trị bệnh bổ sung, nhờ đó *Filoviridae* polymeraza bị ức chế.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm: bước cho bệnh nhân dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dụng, solvat, và/hoặc este của nó, và ít nhất một hoạt chất điều trị bệnh bổ sung.

Sáng chế cũng đề xuất bộ kit bao gồm hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dụng, được dụng este, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp các chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó. Theo các phương án riêng biệt bộ kit riêng lẻ được đề xuất bao gồm hợp chất được chọn từ công thức IV trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm các hợp chất riêng lẻ 1, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, và 32 (các hợp chất 1-32), hoặc muối được dụng, được dụng este, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp các chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó. Theo một khía cạnh, bộ kit chứa hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dụng của nó. Mỗi bộ kit riêng lẻ được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa nhãn và / hoặc hướng dẫn sử dụng hợp chất để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh ở đối tượng (ví dụ, người) cần điều trị. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh là sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm sự lây nhiễm virus Ebola hoặc sự lây nhiễm virus Marburg. Theo các phương án khác, mỗi bộ kit riêng biệt cũng có thể chứa hướng dẫn sử dụng được chất bổ sung kết hợp với hợp chất có công thức IV để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh ở đối tượng (ví dụ, người) cần điều trị. Theo một số phương án, bệnh hoặc tình trạng bệnh là sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm sự lây nhiễm virus Ebola hoặc sự lây nhiễm virus Marburg. Trong mỗi bộ kit trong bản mô tả này có phương án khác trong đó bộ kit chứa các đơn vị liều riêng của hợp chất như được mô tả trong bản mô tả này, hoặc muối được dụng, raxemat, chất đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, tautome, đa hình, giả hình, dạng vô định hình, hydrat hoặc solvat của nó. Các ví dụ về đơn vị liều riêng có thể bao gồm viên tròn, viên nén, viên nang, các ống tiêm nạp trước hoặc hộp mực bơm, túi IV, v.v., mỗi đơn vị chứa lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất quan tâm, hoặc muối được dụng, raxemat, chất đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang, tautome, đa hình, giả hình, dạng vô định hình, hydrat hoặc solvat của nó. Theo một số phương án, bộ kit có thể chứa đơn vị liều

đơn và trong các phương án khác các đơn vị nhiều liều có mặt, như số các đơn vị liều cần thiết cho chế độ hoặc giai đoạn nhất định.

Sáng chế cũng đề xuất các vật phẩm chứa hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dụng, este được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp các chất đồng phân lập thể hoặc tautome của nó; và vật chứa. Theo một khía cạnh, vật phẩm chứa hợp chất có công thức IV và các hợp chất riêng 1, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, và 32 (các hợp chất 1-32), hoặc muối được dụng của nó, và vật chứa. Theo các phương án riêng biệt, vật chứa của vật phẩm có thể là lọ, bình, ống tiêm, bơm tiêm nạp, hộp vỉ, hộp thiếc, lon, hộp, hoặc túi tiêm tĩnh mạch.

VI. Các phương pháp ức chế *Filoviridae* polymeraza

Khía cạnh khác của sáng chế đề cập đến các phương pháp ức chế hoạt tính của *Filoviridae* polymeraza bao gồm bước xử lý mẫu nghi ngờ chứa *Filoviridae* bằng hợp chất hoặc chế phẩm theo sáng chế.

Filoviridae có thể được điều trị sử dụng các phương pháp theo sáng chế là các virus ARN đối mã sợi đơn thông thường nhiễm nấm linh trường. Virus Filo có thể nhân lên trong hầu như tất cả các loại tế bào. Kháng nguyên và virion virus Filo được tìm thấy chủ yếu ở nguyên bào sợi và khoang kẽ của cá thể bị nhiễm. Có ba chi virus Filo đã xác định: virus Ebola (EBOV; năm loài); virus Marburg (MARV); và virus Cueva, cũng biết dưới dạng virus Lloviu (LLOV). Các virion (các hạt virus) có đặc điểm hình dạng dài, hình trụ, hạt sợi có thể thẳng, cong, cuộn, hoặc được tìm thấy trong cấu hình có hình dạng “6” hoặc “U”. Đôi khi phân nhánh và các hạt thay đổi rất nhiều về chiều dài, nhưng đường kính (khoảng 80 nm) là nhất quán. Bộ gen virus Filo chứa bảy gen mã hóa 4 protein cấu tạo virion (VP30, VP35, nucleoprotein (NP), và polymeraza protein (L-pol)) và 3 protein liên kết màng (VP40, glycoprotein (GP), và VP24).

Giống virus Ebola bao gồm năm loài đã biết: (1) virus *Bundibugyo ebola*, cũng biết dưới dạng virus Bundibugyo (BDBV, BEBOV trước đây); (2) virus *Reston ebola*, cũng biết dưới dạng virus Reston hoặc Ebola-Reston (RESTV, REBOV trước đây); (3) virus *Sudan ebola*, cũng biết dưới dạng virus Sudan hoặc Ebola-Sudan (SUDV, SEBOV trước đây); (4) virus *Tai Forest ebola*, cũng biết dưới dạng virus Tai Forest hoặc Ebola-Tai (TAFV, CIEBOV trước đây); và (5) virus *Zaire ebola*, cũng biết dưới dạng virus Ebola hoặc Ebola-Zaire (EBOV, ZEBOV trước đây).

Giống virus Marburg bao gồm loài *virus Marburg marburg*, cũng biết dưới dạng virus Marburg (MARV) hoặc virus Ravn (RAVV). Giống virus Cueva bao gồm loài *virus Lloviu cueva*, cũng biết dưới dạng virus Lloviu (LLOV).

Chế phẩm theo sáng chế có thể hoạt động dưới dạng chất ức chế *Filoviridae* polymeraza, như chất trung gian đối với chất ức chế này hoặc có tiện ích khác như được mô tả phía dưới. Chất ức chế sẽ liên kết với vị trí trên bề mặt hoặc trong khoang chứa *Filoviridae* polymeraza có hình học độc đáo với *Filoviridae* polymeraza. Chế phẩm liên kết *Filoviridae* polymeraza có thể liên kết với các độ đảo ngược khác nhau. Các hợp chất đó liên kết gần như không thể thay đổi được các ứng cử viên lý tưởng để sử dụng trong phương pháp theo sáng chế. Một lần đánh dấu, chế phẩm liên kết gần như không thể thay đổi được hữu ích làm đầu dò cho việc phát hiện *Filoviridae* polymeraza. Do đó, sáng chế đề cập đến các phương pháp phát hiện *Filoviridae* polymeraza trong mẫu nghi ngờ chứa *Filoviridae* polymeraza bao gồm các bước: xử lý mẫu nghi ngờ chứa *Filoviridae* polymeraza bằng chế phẩm chứa hợp chất theo sáng chế liên kết với nhân; và quan sát tác dụng của mẫu trên hoạt tính của nhân. Nhân thích hợp đã biết trong lĩnh vực chẩn đoán và bao gồm các gốc tự do ổn định, huỳnh quang, đồng vị phóng xạ, enzym, nhóm phát quang hóa học và sắc ký. Các hợp chất trong bản mô tả này được đánh dấu theo cách thông thường sử dụng các nhóm chức như hydroxyl, carboxyl, sulfhydryl hoặc amino.

Theo sáng chế, mẫu nghi ngờ chứa *Filoviridae* polymeraza bao gồm các vật liệu tự nhiên hoặc nhân tạo như sinh vật sống; nuôi cấy mô hoặc tế bào; các mẫu sinh học như mẫu vật liệu sinh học (máu, huyết thanh, nước tiểu, dịch não tủy, nước mắt, đờm, nước bọt, mẫu mô, và mẫu tương tự); mẫu phòng thí nghiệm; đồ ăn, nước, hoặc mẫu không khí; mẫu sinh phẩm ví dụ như chiết xuất của tế bào, đặc biệt tế bào tái tổ hợp tổng hợp glycoprotein mong muốn; và mẫu tương tự. Thông thường mẫu sẽ bị nghi ngờ chứa sinh vật tạo ra *Filoviridae* polymeraza, thường là sinh vật gây bệnh như virus *Filoviridae*. Các mẫu có thể được chứa trong môi trường bất kỳ bao gồm nước và hỗn hợp nước/dung môi hữu cơ. Các mẫu bao gồm sinh vật sống như người, và vật liệu nhân tạo như nuôi cấy tế bào.

Bước điều trị theo sáng chế bao gồm việc bổ sung chế phẩm theo sáng chế vào mẫu hoặc nó bao gồm việc bổ sung tiền chất của chế phẩm vào mẫu. Bước bổ sung bao gồm phương pháp dùng bất kỳ như được mô tả ở trên.

Nếu muốn, hoạt tính của *Filoviridae* polymeraza sau khi dùng chế phẩm có thể quan sát bởi phương pháp bất kỳ bao gồm các phương pháp trực tiếp và gián tiếp phát hiện hoạt tính *Filoviridae* polymeraza. Các phương pháp định tính, định lượng, và bán định lượng để xác định hoạt tính *Filoviridae* polymeraza tất cả được dự phòng. Thông thường một trong các phương pháp rà soát được mô tả ở trên được áp dụng, tuy nhiên, phương pháp khác bất kỳ như quan sát các tính chất sinh lý của sinh vật sống cũng được áp dụng.

Sinh vật chứa *Filoviridae* polymeraza bao gồm virus *Filoviridae*. Các hợp chất theo sáng chế hữu ích để điều trị hoặc dự phòng sự lây nhiễm *Filoviridae* ở động vật hoặc ở người.

Tuy nhiên, ở các hợp chất rà soát có khả năng ức chế virus *Filoviridae* ở người, có thể lưu ý rằng kết quả của các thí nghiệm enzym có thể không tương quan với thí nghiệm nuôi cấy tế bào. Vì vậy, thí nghiệm trên cơ sở tế bào nên là công cụ rà soát chính.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất các phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae* ở người, bao gồm: bước cho bệnh nhân dùng lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức IV, hoặc muối được dung, solvat, và/hoặc este của nó. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus *Filoviridae*. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus Ebola. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus *Bundibugyo ebola*, virus *Reston ebola*, virus *Sudan ebola*, virus *Tai Forest ebola*, hoặc virus *Zaire ebola*. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus *Marburg*. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus Lloviu. Theo một số phương án, *Filoviridae* polymeraza bị ức chế.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị cho người đã bị lây nhiễm *Filoviridae*, hoặc có thể được dùng phòng ngừa để giảm hoặc ngăn ngừa cơ hội lây nhiễm *Filoviridae*. Sự lây nhiễm *Filoviridae* có thể được đặc trưng bởi sốt xuất huyết, Nôn mửa, tiêu chảy, đau bụng vùng sụn và kiệt sức. Thời kỳ ủ bệnh khoảng 21

ngày sau tiếp xúc với người bị lây nhiễm *Filoviridae*. Kết quả của sự lây nhiễm *Filoviridae* thường là tử vong.

Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dung, solvat, và/hoặc este của nó, để sử dụng trong phương pháp điều trị sự lây nhiễm *Filoviridae* ở người. Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dung, solvat, và/hoặc este của nó, để sử dụng trong phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus Ebola ở người. Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dung, solvat, và/hoặc este của nó, để sử dụng trong phương pháp điều trị sự lây nhiễm virus Marburg ở người. Theo mỗi phương án trong bản mô tả này trong đó sự lây nhiễm *Filoviridae* là virus Ebola, có các phương án tách biệt khác với chúng trong đó sự lây nhiễm *Filoviridae* do, lần lượt, virus *Bundibugyo ebola*, virus *Reston ebola*, virus *Sudan ebola*, virus *Tai Forest ebola*, hoặc virus *Zaire ebola*. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus *Marburg*. Theo một số phương án, sự lây nhiễm *Filoviridae* là do virus *Lloviu*.

Sáng chế cũng đề xuất các hợp chất có mỗi công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có Công thức (IV), hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dung, solvat, và/hoặc este của nó để sử dụng trong bất kỳ phương pháp theo sáng chế như được định nghĩa trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt việc sử dụng hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và

phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dụng, solvat, và/hoặc este của nó, trong việc điều chế thuốc để điều trị sự lây nhiễm Filoviridae ở người. Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt việc sử dụng hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dụng, solvat, và/hoặc este của nó, trong việc điều chế thuốc để điều trị sự lây nhiễm virus Ebola ở người. Sáng chế cũng đề xuất theo các phương án tách biệt việc sử dụng hợp chất được chọn từ mỗi chất có các công thức trong bản mô tả này, cũng như mỗi nhóm phụ và phương án của nó, bao gồm hợp chất được chọn từ nhóm có công thức IV, hoặc một trong các hợp chất cụ thể của các ví dụ trong bản mô tả này, bao gồm các hợp chất 1-32, hoặc muối được dụng, solvat, và/hoặc este của nó, trong việc điều chế thuốc để điều trị sự lây nhiễm virus Marburg ở người.

VII. Rà soát chất ức chế *Filoviridae* polymeraza.

Chế phẩm theo sáng chế được rà soát để ức chế hoạt tính kháng *Filoviridae* polymeraza bởi bất kỳ phương pháp thông thường để đánh giá hoạt tính enzym. Theo sáng chế, thông thường chế phẩm được rà soát đầu tiên để ức chế *Filoviridae* polymeraza *in vitro* và chế phẩm thể hiện hoạt tính ức chế sau đó được rà soát hoạt tính *in vivo*. Chế phẩm có K_i (hằng số ức chế) trong *vitro* nhỏ hơn khoảng $5 \times 10^{-6}M$ và tốt hơn là nhỏ hơn khoảng $1 \times 10^{-7}M$ được ưu tiên để sử dụng *in vivo*.

Các rà soát *in vitro* hữu ích đã được mô tả chi tiết và sẽ không được giải thích chi tiết ở đây. Tuy nhiên, các ví dụ mô tả thí nghiệm trong *vitro* thích hợp.

VIII. Điều chế các hợp chất

Ví dụ thực hiện sáng chế

Một số chữ viết tắt và từ tắt được sử dụng trong mô tả các chi tiết thực nghiệm. Mặc dù hầu hết trong số này sẽ được hiểu bởi người có hiểu biết thông thường trong lĩnh vực, bảng 1 chứa danh sách của nhiều chữ viết tắt và từ tắt.

Bảng 1. Danh sách chữ viết tắt và từ tắt.

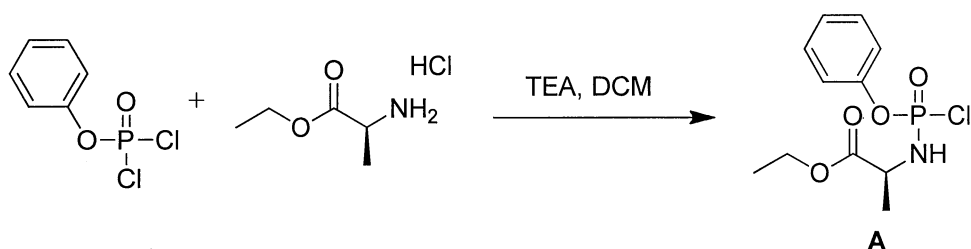
Chữ viết tắt	Nghĩa
Ac ₂ O	anhydrit axetic
AIBN	2,2'-azobis (2-metylpropionitril)
Bn	benzyl
BnBr	benzylbromua
BSA	bis(trimetylsilyl)axetamit
BzCl	benzoyl clorua
CDI	cacbonyl diimidazol
DABCO	1,4-diazabixyclo[2.2.2]octan
DBN	1,5-diazabixyclo[4.3.0]non-5-en
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dixyano-1,4-benzoquinon
DBU	1,5-diazabixyclo[5.4.0]undec-5-en
DCA	dichloroacetamit
DCC	dixyclohexylcarbodiimit
DCM	dichlorometan
DMAP	4-dimetylaminopyridin
DME	1,2-dimetoxyetan
DMTCI	dimetoxytrityl clorua
DMSO	dimetylsulfoxit
DMTr	4, 4'-dimetoxytrityl
DMF	dimetylformamit
EtOAc	etyl axetat
ESI	ion hoá bằng điện

EtOAc	etyl axetat
HMDS	hexametyldisilazan
HPLC	Sắc ký lỏng áp suất cao
LDA	lithi diisopropylamit
LRMS	khối phổ nội dung thấp
MCPBA	axit meta-chloroperbenzoic
MeCN	axetonitril
MeOH	metanol
MMTC	mono metoxytrityl clorua
m/z hoặc m/e	tỷ lệ khối lượng với điện tích
MH ⁺	khối lượng cộng 1
MH ⁻	khối lượng trừ 1
MsOH	axit metansulfonic
MS hoặc ms	khối phổ
MTBE	tert-butylmetyl ete
NBS	N-bromosuccinimit
Ph	phenyl
rt hoặc r.t.	nhiệt độ phòng
TBAF	tetrabutylamoni florua
THF	tetrahydrofuran
TMSCl	chlorotrimetylsilan
TMSBr	bromotrimetylsilan
TMSI	iodotrimetylsilan

TMSOTf	(trimetylsilyl)trifluorometylsulfonat
TEA	trietylamin
TBA	tributylamin
TBAP	tributylamoni pyrophosphat
TBSCl	t-butyldimetylsilyl clorua
TEAB	trietylamoni bicacbonat
TFA	axit trifluoroaxetic
TLC or tlc	sắc ký lớp mỏng
Tr	triphenylmetyl
Tol	4-metylbenzoyl
Turbo Grignard	hỗn hợp 1:1 của isopropylmagie clorua và lithi clorua
δ	khoảng phần / một triệu xuống từ tetrametylsilan

A. Điều chế các hợp chất

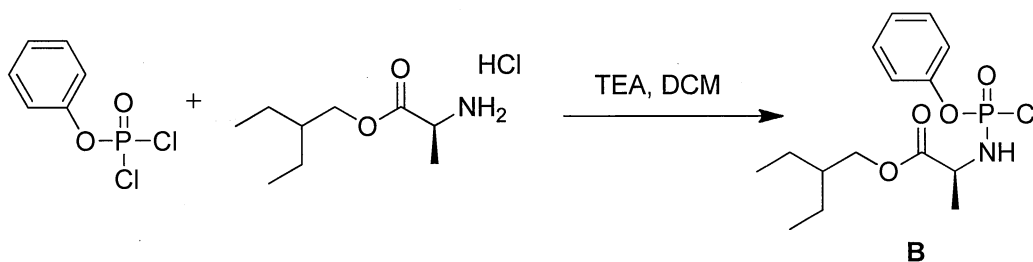
Ví dụ 1. (2S)-etyl 2-(chloro(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (Chloridat A)



Muối etyl alanin este hydroclorua (1,69g, 11mmol) được hòa tan trong CH_2Cl_2 khan (10mL) và hỗn hợp khuấy với làm lạnh đến 0°C trong N_2 (g). Phenyl dichlorophosphat (1,49mL, 10mmol) được bổ sung sau đó là bổ sung từng giọt Et_3N trên khoảng 10 phút. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm nóng dần dần lên RT và khuấy trong khoảng 12 giờ. Et_2O khan (50mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong khoảng 30 phút. Chất rắn tạo thành được loại bỏ bằng cách lọc, và nước lọc được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được sắc ký silica gel rửa giải bằng EtOAc 0-50% trong hexan để thu được hợp chất trung gian A. ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7,39-7,27

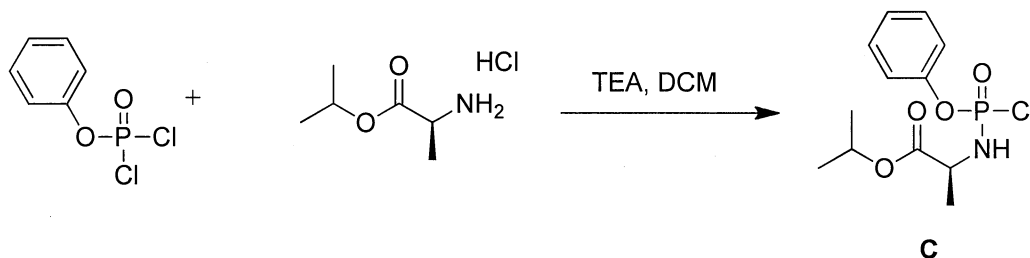
(m, 5H), 4,27 (m, 3H), 1,52 (m, 3H), 1,32 (m, 3H). ^{31}P NMR (121,4MHz, CDCl_3) δ 8,2, 7,8.

Ví dụ 2. (2S)-2-etylbutyl 2-(chloro(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (Chloridat B)



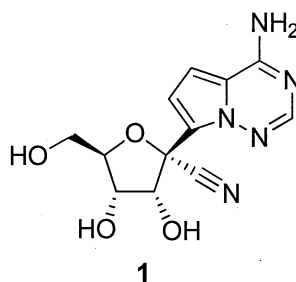
2-etylbutyl alanin chlorophosphoramidat este **B** được điều chế sử dụng quy trình tương tự như chloridat **A** ngoại trừ thay thế 2-etylbutyl alanin este cho etyl alanin este. Vật liệu được sử dụng nguyên ở phản ứng tiếp theo. Điều trị bằng metanol hoặc etanol tạo thành sản phẩm bị dịch chuyển với tín hiệu LCMS cần thiết.

Ví dụ 3. (2S)-isopropyl 2-(chloro(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (Chloridat C)

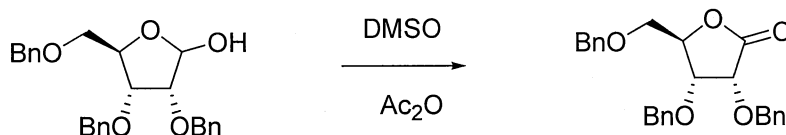


Isopropyl alanin chlorophosphoramidat este **C** được điều chế sử dụng quy trình tương tự như chloridat **A** ngoại trừ thay thế isopropyl alanin este cho etyl alanin este. Vật liệu được sử dụng nguyên ở phản ứng tiếp theo. Điều trị bằng metanol hoặc etanol tạo thành sản phẩm bị dịch chuyển với tín hiệu LCMS cần thiết.

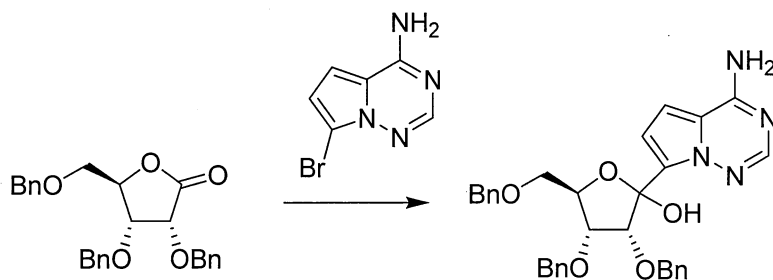
Ví dụ 4. (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (Hợp chất 1)



Điều chế (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril được mô tả phía dưới.

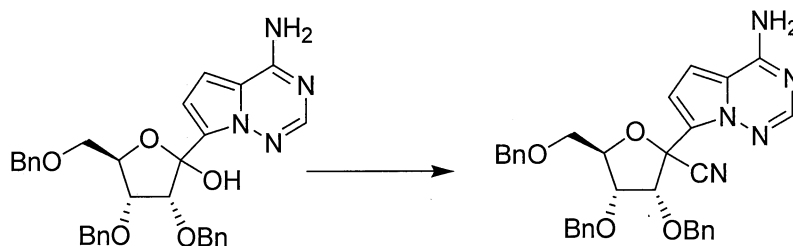


Lactol có bán trên thị trường (10g, 23,8mmol) được hòa tan trong DMSO khan (30mL) trong N₂ (g). Ac₂O (20mL) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng tổng hợp khuấy tại RT trong khoảng 48 h. Hỗn hợp phản ứng được đổ vào H₂O đá (500mL) và hỗn hợp được khuấy trong 20 phút. Hỗn hợp được chiết bằng EtOAc (3 x 200mL) và sau đó rửa chất chiết hữu cơ kết hợp bằng H₂O (3 x 200mL). Chất chiết hữu cơ được sấy khô trên MgSO₄ khan, lọc và cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được hòa tan trong CH₂Cl₂ và được sắc ký silica gel rửa giải bằng EtOAc 25% trong hexan để thu được lacton. ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 7,30-7,34 (m, 13H), 7,19-7,21 (m, 2H), 4,55-4,72 (m, 6H), 4,47 (s, 2H), 4,28 (d, *J* = 3,9Hz, 1H), 3,66 (m, 2H). LCMS *m/z* 436,1 [M+H₂O], 435,2 [M+OH]⁻ Tr = 2,82 phút. HPLC Tr = 4,59 [2-98% ACN trong H₂O] trên 5 phút ở dòng 2mL/phút.

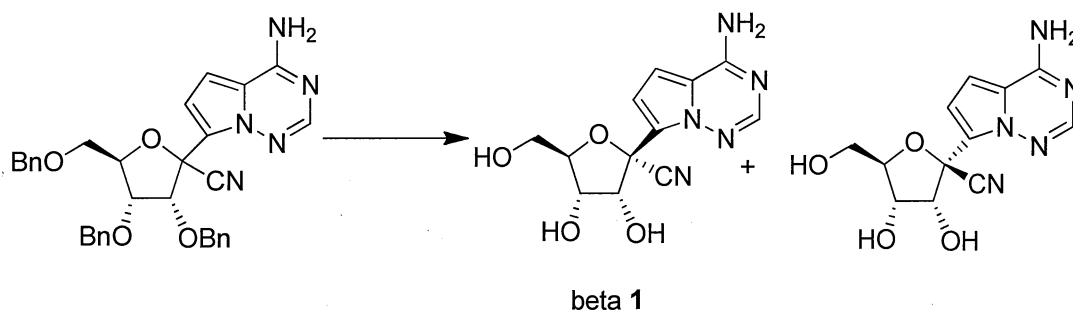


Bromopyrazol (được điều chế theo WO2009/132135) (0,5g, 2,4mmol) được tạo huyền phù trong THF khan (10mL) trong N₂ (g). Khuấy huyền phù và TMSCl (0,67mL, 5,28mmol) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy trong 20 phút ở RT và sau đó làm lạnh đến khoảng -78°C sau thời gian này dung dịch n-BuLi (6mL, 1,6N trong hexan, 9,6mmol) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút ở khoảng -78°C và sau đó lacton (1g, 2,4mmol) được bổ sung qua ống tiêm. Khi phản ứng hoàn toàn như được đo bằng LCMS, AcOH được bổ sung để làm nguội phản ứng. Hỗn hợp được cô trong áp suất giảm và sản phẩm dư được hòa tan trong hỗn hợp của CH₂Cl₂ và H₂O (100mL, 1:1). Lớp hữu cơ được phân tách và được rửa bằng H₂O (50mL). Lớp hữu cơ sau đó được sấy khô trên MgSO₄ khan, được lọc và được cô trong áp suất giảm.

Sản phẩm dư được sắc ký silica gel rửa giải bằng EtOAc 0-50% trong hexan để thu được sản phẩm dưới dạng hỗn hợp 1:1 của anome. LCMS m/z 553 [M+H].



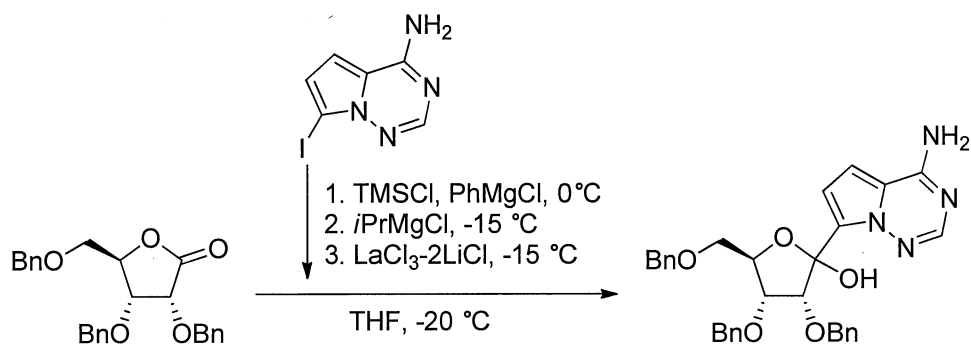
Hydroxy nucleosit (1,1g, 2,0mmol) được hòa tan trong CH_2Cl_2 khan (40mL) và làm lạnh dung dịch với khuấy đến khoảng -78°C trong N_2 (g). TMSCN (0,931mL, 7mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 10 phút nữa. TMSOTf (1,63mL, 9,0mmol) được bổ sung từ từ vào phản ứng và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng CH_2Cl_2 (120mL) và NaHCO_3 nước (120mL) được bổ sung để làm nguội phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút nữa và lớp hữu cơ phân tách. Lớp nước được chiết bằng CH_2Cl_2 (150mL) và chất chiết hữu cơ kết hợp được sấy khô trên MgSO_4 khan, được lọc và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được hòa tan trong lượng CH_2Cl_2 tối thiểu và được sắc ký silica gel rửa giải bằng gradient của EtOAc 0-75% và hexan để thu được tribenzyl xyano nucleosit dưới dạng hỗn hợp của anome. ^1H NMR (300MHz, CD_3CN) δ 7,94 (s, 0,5H), 7,88 (s, 0,5H), 7,29-7,43 (m, 13H), 7,11-7,19 (m, 1H), 6,82-6,88 (m, 1H), 6,70-6,76 (m, 1H), 6,41 (bs, 2H), 5,10 (d, $J = 3,9\text{Hz}$, 0,5H), 4,96 (d, $J = 5,1\text{Hz}$, 0,5H), 4,31-4,85 (m, 7H), 4,09-4,18 (m, 2H), 3,61-3,90 (m, 2H). LCMS m/z 562 [M+H].



Tribenzyl xyano nucleosit (70mg, 0,124mmol) được hòa tan trong CH_2Cl_2 khan (2mL) và làm lạnh đến khoảng -20°C trong N_2 (g). Dung dịch BCl_3 (1N trong CH_2Cl_2 , 0,506mL, 0,506mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở -78°C . Khi phản ứng hoàn toàn bằng LC/MS, MeOH được bổ sung để làm nguội phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được làm nóng đến RT và dung môi được loại bỏ trong áp suất

giảm. Sản phẩm dư được HPLC pha ngược C18, rửa giải trong 5 phút bằng H₂O (TFA 0,1%), sau đó là gradient của MeCN 0-70% trong H₂O (TFA 0,1%) trên 35 phút, để rửa giải α -anome, và β -anome **1**. (**α -anome**) ¹H NMR (300MHz, D₂O) δ 7,96 (s, 1H), 7,20 (d, J = 4,8Hz, 1H), 6,91 (d, J = 4,8Hz, 1H), 4,97 (d, J = 4,4Hz, 1H), 4,56-4,62 (m, 1H), 4,08-4,14 (m, 1H), 3,90 (dd, J = 12,9, 2,4Hz, 1H), 3,70 (dd, J = 13,2, 4,5Hz, 1H). (**β -anome**) ¹H NMR (400MHz, DMSO) δ 7,91 (s, 1H), 7,80-8,00 (br s, 2H), 6,85-6,89 (m, 2H), 6,07 (d, J = 6,0Hz, 1H), 5,17 (br s, 1H), 4,90 (br s, 1H), 4,63 (t, J = 3,9Hz, 1H), 4,02-4,06 (m, 1H), 3,94 (br s, 1H), 3,48-3,64 (m, 2H). LCMS m/z 292,2 [M+H], 290,0 [M-H]. Tr = 0,35 phút. ¹³C NMR (400 MHz, DMSO), 156,0, 148,3, 124,3, 117,8, 117,0, 111,2, 101,3, 85,8, 79,0, 74,7, 70,5, 61,4. HPLC Tr = 1,32 phút

Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol sử dụng LaCl₃-2LiCl



Dung dịch 7-iodopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (7,5g, 28,8mmol, 1,0 đương lượng) được điều chế trong THF (67mL). Dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C, và TMSCl (3,3mL, 30,3mmol, 1,05 đương lượng) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 30 phút, và sau đó PhMgCl (2M trong THF; 28mL, 56,8mmol, 1,97 đương lượng) được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới 5°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 35 phút, và sau đó làm lạnh đến khoảng -15°C. *i*PrMgCl (2M trong THF, 14mL, 30,2mmol, 1,05 đương lượng) sau đó được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -10°C. Sau khoảng 15 phút ở khoảng -15°C, LaCl₃-2LiCl (0,6M trong THF, 50mL, 14,4mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -15°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 25 phút ở khoảng -20°C.

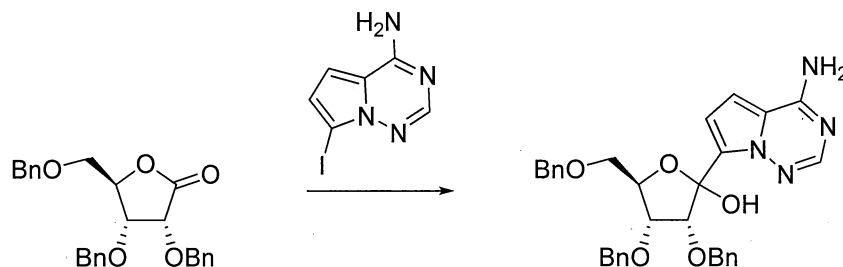
Trong bình riêng biệt, dung dịch (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)dihydrofuran-2(3H)-on (10,0g, 23,9mmol, 0,83 đương lượng) được

điều chế trong THF (45mL). Dung dịch làm lạnh đến khoảng -20°C , và sau đó được chuyển sang dung dịch Grignard trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -15°C . Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở khoảng -20°C trong khoảng 30 phút.

Phản ứng được làm nguội bằng HCl 2M (53mL), và hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 15°C . *i*PrOAc (38mL) được bổ sung, và các pha hữu cơ và nước được phân tách. Lớp nước phía dưới được xả, và lớp hữu cơ phía trên được rửa tuần tự bằng 2,5% trọng lượng NaHCO_3 (53mL), 2,5% trọng lượng NaHCO_3 (53mL), và 10% trọng lượng NaCl (53mL).

Pha hữu cơ được cô đến khoảng 45mL, và sau đó được pha loãng bằng *i*PrOAc (75mL). Dung dịch được cô lại đến khoảng 45mL, và sau đó được pha loãng bằng *i*PrOAc (23mL). Dung dịch được cô đến khoảng 45mL, và sau đó được lọc qua tấm Xelit. Dung dịch đã lọc được cô đến khoảng 26mL, và sau đó được pha loãng bằng MTBE (75mL). Sau 2 giờ, heptan (23mL) được bổ sung từ từ và bùn được khuấy ở khoảng 25°C trong khoảng 2 giờ, và sau đó được làm lạnh đến khoảng -5°C trên khoảng 8 giờ. Các chất rắn được phân lập bằng cách lọc, và bánh lọc được rửa bằng MTBE/heptan (4:1, 23mL). Các chất rắn được sấy khô trong lò sấy không quá khoảng 35°C để cho (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol.

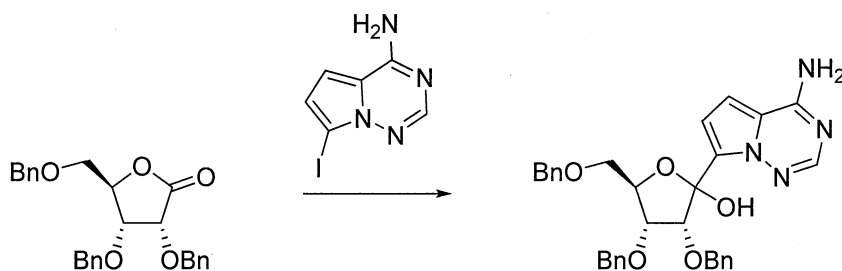
Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol sử dụng CeCl_3



Iodopyrazol (5,02g, 19,3mmol) được hòa tan trong THF (45g) và dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C với khuấy. TMSCl (2,04g, 18,7mmol) được bổ sung, và sau khoảng 1 giờ phenyl magie clorua (2,0M trong THF, 19,9g, 38,2mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng -20°C và *iso*-propyl magie clorua (2,0M trong THF, 9,99g, 20,5mmol) được bổ sung từ từ. Sau khoảng 30 phút, hỗn hợp phản ứng được chuyển sang hỗn hợp của xeri clorua khan (4,75g, 19,3mmol) trong

THF (22g) ở khoảng -20°C . Sau khoảng 1,5 giờ dung dịch lacton (6,73g, 16,1mmol) trong THF (22g) được bổ sung từ từ, và hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy trong khoảng 1 giờ. HCl 2M (41g) được bổ sung, hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 15°C , và *iso*-propyl axetat (35g) được bổ sung. Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng NaHCO_3 2,5% (2 x 40g), NaCl 10% (1 x 35g) và được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (44g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (43g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. Dung dịch được lọc và nước lọc được cô đến lượng khoảng 18mL. *tert*-Butylmetyl ete (37g) được bổ sung sau đó là các tinh thể mầm sản phẩm (10,7mg). Sau khoảng 14 giờ *n*-heptan (10,5g) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng -5°C và được lọc. Các chất rắn được rửa bằng *tert*-butylmetyl ete (9g) ở khoảng -5°C và được sấy khô trong chân không ở khoảng 34°C trong khoảng 15 giờ để thu được sản phẩm.

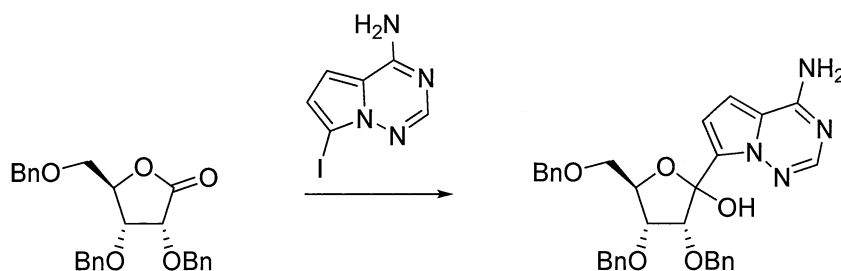
Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol sử dụng CeCl_3 và $i\text{PrMgCl-LiCl}$



Iodopyrazol (5,03g, 19,3mmol) được hòa tan trong THF (45g) và dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C với khuấy trong $\text{N}_2(\text{g})$. TMSCl (2,06g, 19,0mmol) được bổ sung, và sau khoảng 1 giờ phenyl magie clorua (2,0M trong THF, 20,23g, 38,8mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng -20°C và phức hợp *iso*-propyl magie clorua-lithi clorua (2,0M trong THF, 15,37g, 21,0mmol) được bổ sung từ từ. Sau khoảng 1 giờ, hỗn hợp phản ứng được chuyển sang hỗn hợp của xeri clorua (4,77g, 19,4mmol) trong THF (22g) ở khoảng -20°C . Sau khoảng 1 giờ dung dịch lacton (6,75g, 16,1mmol) trong THF (23g) được bổ sung từ từ, và tạo ra hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 1,5 giờ. HCl 2M (40g) được bổ sung, hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 15°C và *iso*-propyl axetat (35g) được bổ sung. Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng NaHCO_3 2,5% (2 x 40g), NaCl 10% (1 x 36g)

và được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (44g) được bổ sung và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. Dung dịch được lọc và nước lọc được cô đến lượng khoảng 18mL. *tert*-Butylmetyl ete (37g) được bổ sung sau đó là các tinh thể mầm sản phẩm (10,5mg). Sau khoảng 14 giờ *n*-heptan (11g) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng -5°C và được lọc. Các chất rắn được rửa bằng *tert*-butylmetyl ete (9g) ở khoảng -5°C và được sấy khô trong chân không ở khoảng 34°C trong khoảng 15 giờ để thu được sản phẩm.

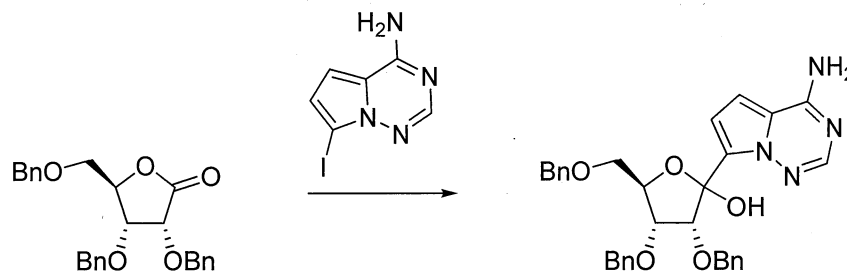
Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)metyl)tetrahydrofuran-2-ol sử dụng YCl₃



Iodopyrazol (4,99g, 19,2mmol) được hòa tan trong THF (44g) và dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C với khuấy. TMSCl (2,45mL, 19,4mmol) được bổ sung, và sau khoảng 30 phút phenyl magie clorua (2,0M trong THF, 20,29g, 39,0mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng -20°C và *iso*-propyl magie clorua (2,0M trong THF, 9,85g, 20,1mmol) được bổ sung từ từ. Sau khoảng 30 phút, hỗn hợp phản ứng được chuyển thành hỗn hợp của ytri clorua khan (3,76g, 19,3mmol) và lacton (6,68g, 16,0mmol) trong THF (24g) ở khoảng -20°C. Sau khoảng 2,5 giờ HCl 2M (30g) được bổ sung, hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 15°C, và *iso*-propyl axetat (22g) được bổ sung. Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng NaHCO₃ 2,5% (2 x 40g), NaCl 10% (1 x 35g) và được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (44g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (45g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. Dung dịch được lọc và nước lọc được cô đến lượng khoảng 18mL. *tert*-Butylmetyl ete (37g) được bổ sung sau đó là các tinh thể mầm sản phẩm (11,5mg). Sau khoảng 1 giờ *n*-heptan (15mL) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng -5°C và được khuấy trong khoảng 17 giờ. Bùn được lọc và chất rắn được rửa bằng hỗn hợp *tert*-butylmetyl ete (8g)/*n*-heptan (2g)

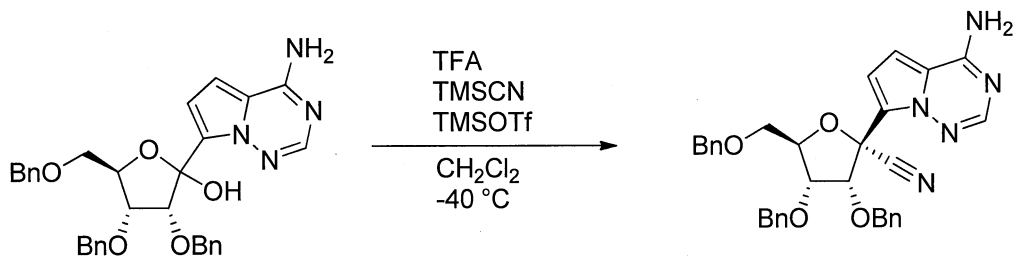
được làm lạnh sơ bộ đến khoảng -5°C . Chất rắn tạo ra được sấy khô trong chân không ở khoảng 34°C trong khoảng 22 giờ để cho sản phẩm.

Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol sử dụng NdCl_3



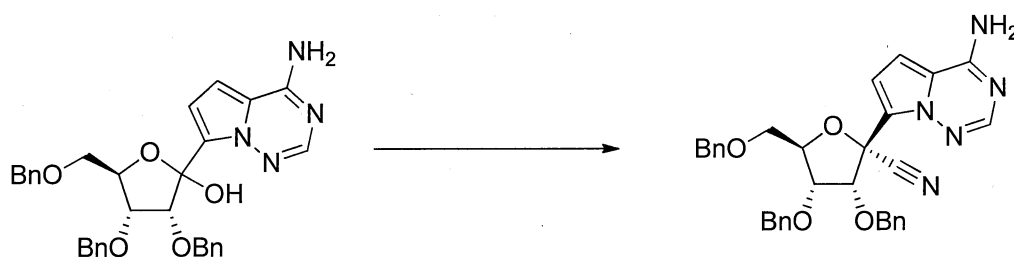
Iodopyrazol (5,02g, 19,3mmol) được hòa tan trong THF (38g) và dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C với khuấy trong $\text{N}_2(\text{g})$. TMSCl (2,45mL, 19,4mmol) được bổ sung, và sau khoảng 1 giờ phenylmagie clorua (2,0M trong THF, 19,75g, 38,0mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng -20°C và *iso*-propylmagie clorua (2,0M trong THF, 9,40g, 19,2mmol) được bổ sung từ từ. Sau khoảng 1,5 giờ, hỗn hợp phản ứng được chuyển thành hỗn hợp của khan neodim (III) clorua (4,03g, 16,1mmol) và lacton (6,70g, 16,0mmol) trong THF (22g) ở khoảng -20°C . Sau khoảng 1,5 giờ hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến -10°C và, sau 2 giờ nữa, HCl 2M (36g) được bổ sung. Hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 15°C và *iso*-propyl axetat (23g) được bổ sung. Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng NaHCO_3 2,5% (2 x 44g), NaCl 10% (1 x 41g) và được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (44g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. *iso*-Propyl axetat (45g) được nạp và dung dịch được cô đến lượng khoảng 30mL. Dung dịch được lọc và nước lọc được cô đến lượng khoảng 18mL. *tert*-Butylmetyl ete (37g) được bổ sung sau đó là các tinh thể mầm sản phẩm (11,9mg). Sau khoảng 1 giờ *n*-heptan (15 mL) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng -5°C và được khuấy trong khoảng 15 giờ. Bùn được lọc và chất rắn được rửa bằng hỗn hợp *tert*-butylmetyl ete (8g)/*n*-heptan (11g) được làm lạnh sơ bộ đến khoảng -5°C . Chất rắn tạo ra được sấy khô trong chân không ở khoảng 34°C trong khoảng 25 giờ để cho sản phẩm.

Điều chế (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril



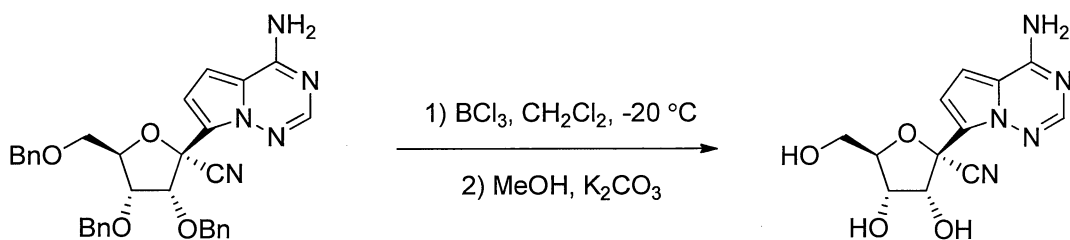
Với dung dịch được làm lạnh sơ bộ (-40°C) (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol (10,0gam, 18,1mmol, 1,0 đương lượng) trong DCM (100mL) được nạp axit trifluoroaxetic (6,19gam, 54,3mmols, 3,0 đương lượng), sau đó là dung dịch được làm lạnh sơ bộ (-30°C) TMSOTf (24,1gam, 108,6mmol, 6,0 đương lượng) và TMSCN (10,8gam, 108,6mmol, 6,0 đương lượng) trong DCM (50mL) trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -25°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở dưới khoảng -30°C trong không ít hơn 10 phút và được làm nguội thành dung dịch được làm lạnh sơ bộ (khoảng -10°C) 20% trọng lượng KOH aq. (120mL). Hỗn hợp có hai pha được đun nóng đến nhiệt độ xung quanh. Lớp hữu cơ được phân tách và được rửa bằng 10% trọng lượng NaCl aq. (3 X 50mL). Pha hữu cơ được lọc, được cô trong chân không đến khoảng 50mL, được pha loãng lại bằng toluen (200mL) và được cô trong chân không đến 140mL ở khoảng 50°C . Dung dịch được tạo mầm với (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril ở khoảng 55°C . Được khuấy ở khoảng 55°C trong khoảng một giờ và được làm lạnh đến khoảng 0°C trên khoảng 6 giờ. Các chất rắn được phân lập bằng lọc và bánh lọc được rửa bằng toluen (30 mL). Các chất rắn được sấy khô trong chân không ở khoảng 50°C .

Điều chế (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril qua phân tích hóa học dòng chảy



Dung dịch (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol (23,0g trong 460,07g DCM), TMSOTf (55,81g trong 138,07g DCM) và TMSCN (25,03g trong 138,10g DCM) được bơm tuần tự, vào thiết bị phản ứng ống ở khoảng -40°C. Hỗn hợp phản ứng được thu gom trong bình, giữ trong bể đá, chứa dung dịch nước KOH 20% (46,91g KOH và 210g nước). Các lớp được phân tách và pha hữu cơ được rửa tuần tự bằng dung dịch nước KOH 10% (10g KOH và 90mL nước) và nước muối 10% (2 x100g). Pha hữu cơ được cô trong chân không đến khoảng 4 phần thể tích, rượu isopropyl được nạp (162,89g) và hỗn hợp được cô trong chân không đến khoảng 10 phần thể tích. Tất cả được đun nóng đến khoảng 60°C, sau đó điều chỉnh đến khoảng 0°C trên khoảng 6,5 giờ và được khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 15,5 giờ. Bùn tạo ra được lọc, chất rắn được súc rửa bằng rượu isopropyl (61,79g) và sau đó được sấy khô ở khoảng 50°C trong áp suất giảm qua đêm để cho sản phẩm.

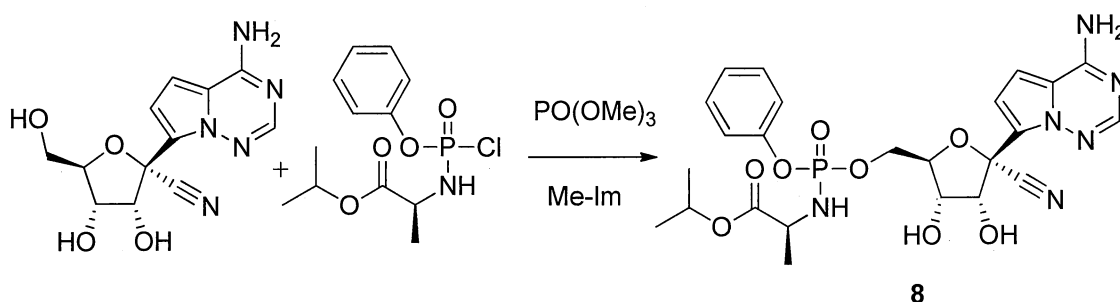
Điều chế (2R, 3R, 4S, 5R)-2-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril



Tribenzyl xyano nucleosit (48,8g, 86,9mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong CH₂Cl₂ khan (244mL) và làm lạnh đến khoảng -20°C. Dung dịch BCl₃ (1M trong CH₂Cl₂, 295mL, 295mmol, 3,4 đương lượng) được bổ sung từng giọt, duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -15°C. Sau bổ sung, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở khoảng -20°C. MeOH (340ml) được bổ sung từng giọt, duy trì nhiệt độ trong dưới -15°C. Dung dịch tạo ra được chưng cất đến khoảng 250ml, sau đó được làm đầy lại với khoảng 250ml MeOH. Dung dịch tạo ra lại được chưng cất đến khoảng 250ml, sau đó được làm đầy lại với khoảng 250ml MeOH, và cuối cùng được chưng cất đến khoảng 125ml. Nước (125ml) được bổ sung, sau đó là dung dịch K₂CO₃ (20% trọng lượng trong nước, 125ml). Độ pH được kiểm tra, và được tìm thấy ~3. Dung dịch K₂CO₃ được bổ sung (20% trọng lượng trong nước, 50ml), và độ pH được tìm thấy ~8. Bùn tạo

ra được khuấy qua đêm, sau đó được lọc và được rửa bằng nước (50ml) và MeOH (50ml). Bánh sản phẩm ướt được sấy khô qua đêm ở khoảng 40°C qua đêm. ^1H NMR (300MHz, D_2O) δ 7,96 (s, 1H), 7,20 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 6,91 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 4,97 (d, $J = 4,4\text{Hz}$, 1H), 4,56-4,62 (m, 1H), 4,08-4,14 (m, 1H), 3,90 (dd, $J = 12,9, 2,4\text{Hz}$, 1H), 3,70 (dd, $J = 13,2, 4,5\text{Hz}$, 1H).

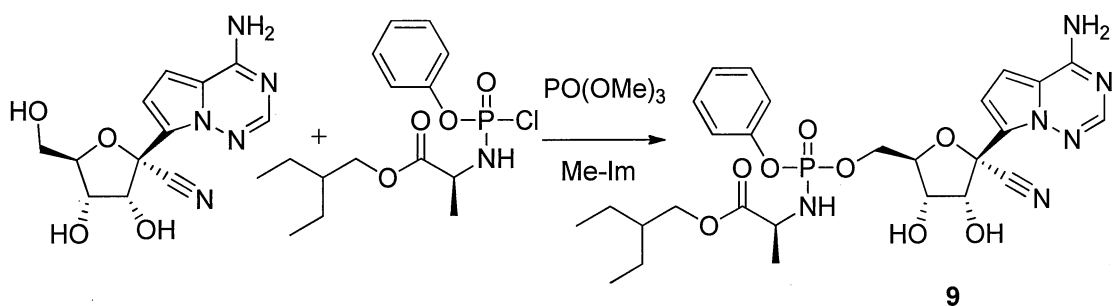
Ví dụ 11. (2S)-isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)-phosphorylamino)propanoat (Hợp chất 8)



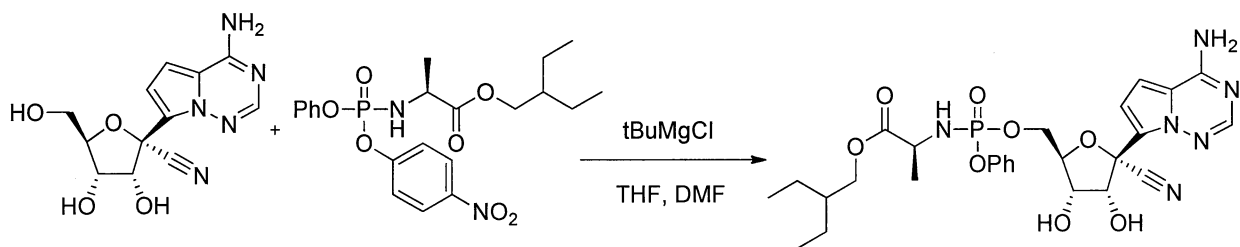
Nucleosit 1 (45mg, 0,15mmol) được hòa tan trong trimetyl phosphat khan (0,5mL) và dung dịch được khuấy trong N_2 (g) ở khoảng 0°C. Metyl imidazol (36 μL , 0,45mmol) được bổ sung vào dung dịch. Chlorophosphoramidat C (69mg, 0,225mmol) được hòa tan trong THF khan (0,25mL) và được bổ sung từng giọt vào hỗn hợp nucleosit. Khi phản ứng hoàn toàn bằng LCMS, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng dung dịch NaHCO_3 nước bão hòa, NaCl bão hòa, được sấy khô trên Na_2SO_4 khan, được lọc và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được sắc ký silica gel rửa giải bằng MeOH 0-5% trong CH_2Cl_2 sau đó là HPLC chuẩn để cho sản phẩm. ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 7,95 (m, 1H), 7,31-6,97 (m, 7H), 4,94 (m, 1H), 4,78 (m, 1H), 4,43 (m, 3H), 4,20 (m, 1H), 3,80 (d, 1H), 1,30-1,18 (m, 9H). ^{31}P NMR (121,4MHz, CD_3OD) δ 3,8. LCMS m/z 561,0 $[\text{M}+\text{H}]$, 559,0 $[\text{M}-\text{H}]$.

Ví dụ 12. (2S)-2-etylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (Hợp chất 9)

Hợp chất 9 có thể được điều chế bằng một vài phương pháp được mô tả phía dưới.

Qui trình 1

Được điều chế từ Hợp chất **1** và chloridat **B** theo phương pháp giống như điều chế hợp chất **8**. ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 7,87 (m, 1H), 7,31-7,16 (m, 5H), 6,92-6,89 (m, 2H), 4,78 (m, 1H), 4,50-3,80 (m, 7H), 1,45-1,24 (m, 8H), 0,95-0,84 (m, 6H). ^{31}P NMR (121,4MHz, CD_3OD) δ 3,7. LCMS m/z 603,1 $[\text{M}+\text{H}]$, 601,0 $[\text{M}-\text{H}]$.

Qui trình 2

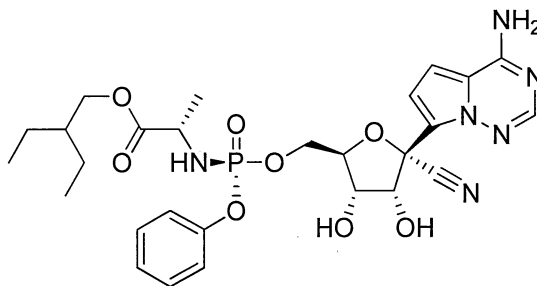
(2S)-2-ethylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat. (2S)-2-ethylbutyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (1,08g, 2,4mmol) được hòa tan trong DMF khan (9mL) và được khuấy trong môi trường nitơ ở RT. (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (350mg, 1,2mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở một phần. Dung dịch *t*-butylmagie clorua trong THF (1M, 1,8mL, 1,8mmol) sau đó được bổ sung vào phản ứng từng giọt trên khoảng 10 phút. Phản ứng được khuấy trong khoảng 2 giờ, ở điểm mà hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng ethyl axetat (50mL) và được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat nước bão hòa (3 x 15mL) sau đó là dung dịch natri clorua nước bão hòa (15mL). Lớp hữu cơ được sấy khô trên natri sulfat khan và được cô trong áp suất giảm. Dầu tạo ra được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (MeOH 0-10% trong DCM) để cho (2S)-2-ethylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-

5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat (311 mg, 43%, 1:0,4 hỗn hợp đồng phân không đối quang ở phospho) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,85 (m, 1H), 7,34 – 7,23 (m, 2H), 7,21 – 7,09 (m, 3H), 6,94 – 6,84 (m, 2H), 4,78 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,46 – 4,33 (m, 2H), 4,33 – 4,24 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,05 – 3,80 (m, 3H), 1,52 – 1,39 (m, 1H), 1,38 – 1,20 (m, 7H), 0,85 (m, 6H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,71, 3,65. LCMS m/z 603,1 $[\text{M}+\text{H}]$, 600,9 $[\text{M}-\text{H}]$. HPLC (MeCN 2–98% – gradient H_2O với chất điều biến TPA 0,1% trên 8,5 phút, 1,5mL/phút, Cột: Phenomenex Kinetex C18, 2,6 μm 100Å, 4,6 x 100mm) $t_R = 5,544$ phút, 5,601 phút

Tách chất đồng phân không đối quang (S) và (R)

(2S)-2-ethylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat được hòa tan trong acetonitril. Dung dịch tạo ra được nạp lên cột không đối xứng Lux Cellulose-2, cân bằng trong acetonitril, và rửa giải bằng isocratic acetonitril/metanol (95:5 thể tích/thể tích). Chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ nhất có thời gian duy trì 17,4 phút, và chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai có thời gian duy trì 25,0 phút.

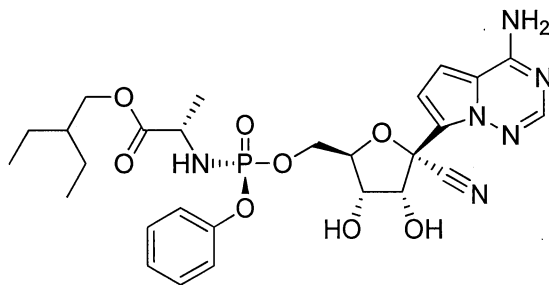
Chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ nhất là (S)-2-ethylbutyl 2-(((R)-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat:



^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 8,05 (s, 1H), 7,36 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 7,29 (br t, $J = 7,8\text{Hz}$, 2H), 7,19 – 7,13 (m, 3H), 7,11 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 4,73 (d, $J = 5,2\text{Hz}$, 1H), 4,48 – 4,38 (m, 2H), 4,37 – 4,28 (m, 1H), 4,17 (t, $J = 5,6\text{Hz}$, 1H), 4,08 – 3,94 (m, 2H), 3,94 – 3,80 (m, 1H), 1,48 (sep, $J = 12,0$, 6,1Hz, 1H), 1,34 (p, $J = 7,3\text{Hz}$, 4H), 1,29 (d, $J = 7,2\text{Hz}$, 3H), 0,87 (t, $J = 7,4\text{Hz}$, 6H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,71 (s). HPLC

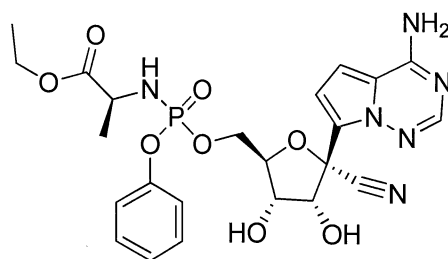
(MeCN 2-98%– gradient H₂O với chất điều biến TPA 0,1% trên 8,5 phút, 1,5mL/phút, Cột: Phenomenex Kinetex C18, 2,6um 100Å, 4,6 x 100mm) $t_R = 5,585$ phút.

Chất đồng phân không đối quang rửa giải thứ hai là (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat:



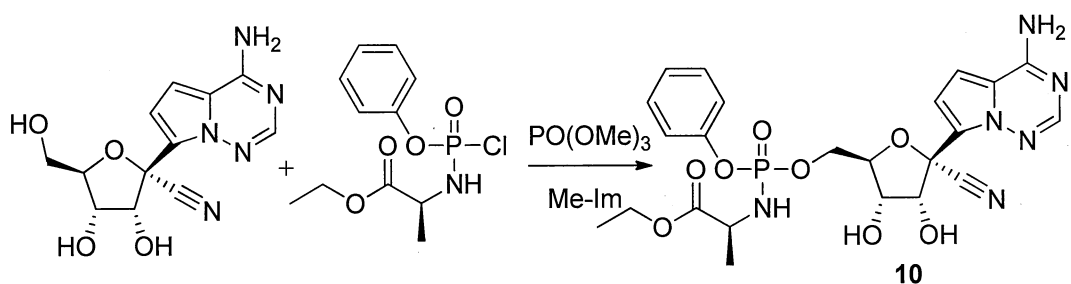
¹HNMR (400MHz, CD₃OD) δ 8,08 (s, 1H), 7,36 – 7,28 (m, 3H), 7,23 – 7,14 (m, 3H), 7,08 (d, $J = 4,8$ Hz, 1H), 4,71 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 4,45 – 4,34 (m, 2H), 4,32 – 4,24 (m, 1H), 4,14 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 4,08 – 3,94 (m, 2H), 3,93 – 3,85 (m, 1H), 1,47 (sep, $J = 6,2$ Hz, 1H), 1,38 – 1,26 (m, 7H), 0,87 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H). ³¹PNMR (162MHz, CD₃OD) δ 3,73 (s). HPLC (MeCN 2-98%– gradient H₂O với chất điều biến TPA 0,1% trên 8,5 phút, 1,5mL/phút, Cột: Phenomenex Kinetex C18, 2,6um 100Å, 4,6 x 100mm) $t_R = 5,629$ phút.

Ví dụ 13. (2S)-ethyl 2-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (Hợp chất 10)



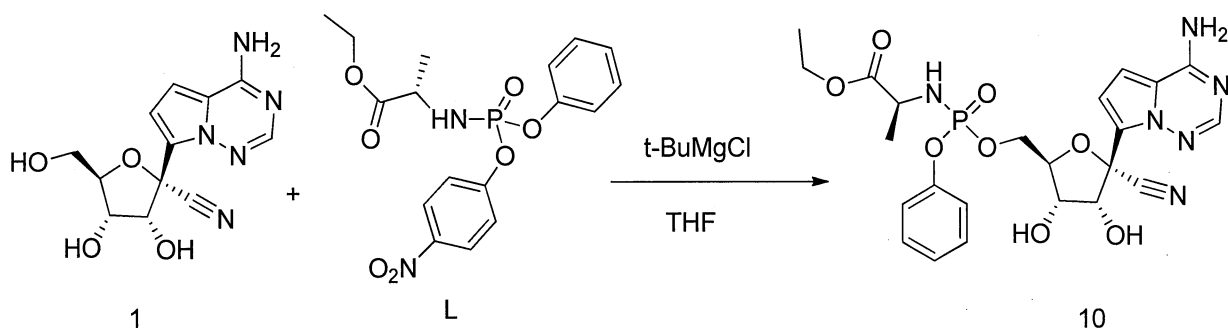
Điều chế (2S)-ethyl 2-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được mô tả phía dưới.

Quy trình 1. Điều chế qua Chloridat A



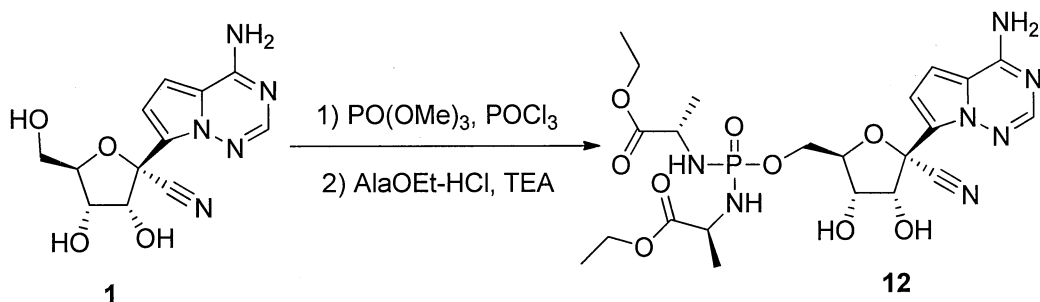
Được điều chế từ Hợp chất **1** và chloridat **A** sử dụng phương pháp giống như đối với điều chế hợp chất **8**. ^1H NMR (300MHz, CD_3OD) δ 7,95 (m, 1H), 7,32-6,97 (m, 7H), 4,78 (m, 1H), 4,43-4,08 (m, 6H), 3,83 (m, 1H), 1,31-1,18 (m, 6H). ^{31}P NMR (121,4MHz, CD_3OD) δ 3,7. LCMS m/z 547,0 [M+H], 545,0 [M-H].

Quy trình 2. Điều chế qua hợp chất nitro-benzen L



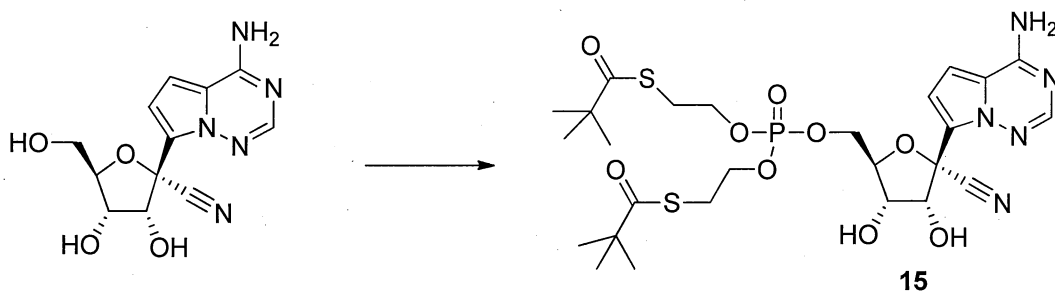
Hợp chất **1** (50mg, 0,17mmol) được hòa tan trong NMP-THF (1:1mL)) và làm lạnh bằng bể đá. tBuMgCl (0,257mL, 0,257mmol) sau đó được bổ sung trên khoảng 5 phút. Hỗn hợp tạo ra được làm nóng đến RT và được khuấy trong khoảng 30 phút. Sau đó dung dịch hợp chất **L** (Được điều chế theo US20120009147, 74,6mg, 0,189mmol) trong THF (2mL) được bổ sung. Sau khoảng 30 phút, hỗn hợp phản ứng được tinh chế bằng HPLC (acetonitril 10 đến 80% trong nước) để cho hợp chất **29** dưới dạng chất rắn màu vàng. Chất rắn còn được tinh chế bằng sắc ký silica gel (MeOH 0 đến 20% DCM) để cho hợp chất **29**. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,76 (d, $J = 6,0\text{Hz}$, 1H), 7,25 – 7,14 (m, 2H), 7,11 – 6,99 (m, 3H), 6,87 – 6,72 (m, 2H), 4,70 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,39 – 4,24 (m, 2H), 4,20 (dddd, $J = 9,7, 7,9, 5,1, 2,8\text{Hz}$, 1H), 4,10 (dt, $J = 12,8, 5,5\text{Hz}$, 1H), 4,06 – 3,91 (m, 2H), 3,72 (ddq, $J = 14,3, 9,3, 7,1\text{Hz}$, 1H), 1,17 (dd, $J = 7,1, 1,0\text{Hz}$, 1H), 1,14 – 1,06 (m, 5H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,73, 3,68. MS $m/z = 547$ (M+1) $^+$.

Ví dụ 15. (2S,2'S)-diethyl 2,2'-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)phosphoryl)bis(azanediy) dipropanoat (Hợp chất 12)



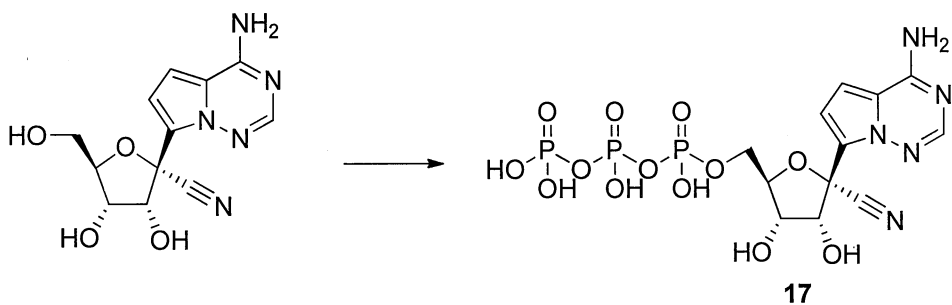
Nucleosit **1** (14,6mg, 0,05mmol) được hòa tan trong trimetyl phosphat khan (0,5mL) và được khuấy trong N₂(g) ở RT. POCl₃ (9,2μL, 0,1mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong khoảng 60 phút. Alanin etyl este hydroclorua (61mg, 0,4mmol) và sau đó Et₃N (70μL, 0,5mmol) được bổ sung. Hỗn hợp tổng hợp được khuấy trong khoảng 15 phút. và sau đó bổ sung Et₃N (70μl, 0,5mmol) được bổ sung để cho độ pH dung dịch là 9-10. Hỗn hợp được khuấy trong khoảng 2 giờ và sau đó được pha loãng bằng EtOAc, được rửa bằng dung dịch NaHCO₃ nước bão hòa sau đó là dung dịch NaCl nước bão hòa. Lớp hữu cơ được sấy khô trên Na₂SO₄ khan và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được HPLC điều chế (cột C₁₈) để tạo ra sản phẩm **12**. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 8,13 (s, 1H), 7,41 (d, *J* = 4,8Hz, 1H), 7,18 (d, *J* = 4,8Hz, 1H), 4,78 (d, *J* = 5,6Hz, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,25-4,08 (m, 7H), 3,83 (m, 2H), 1,33-1,23 (m, 12H). ³¹P NMR (121,4MHz, CD₃OD) δ 13,8. LCMS *m/z* 570,0 [M+H], 568,0 [M-H].

Ví dụ 18. S,S'-2,2'-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)phosphoryl)bis(oxy)bis(etane-2,1-diyl) bis(2,2-dimethylpropanethioat) (Hợp chất 15)



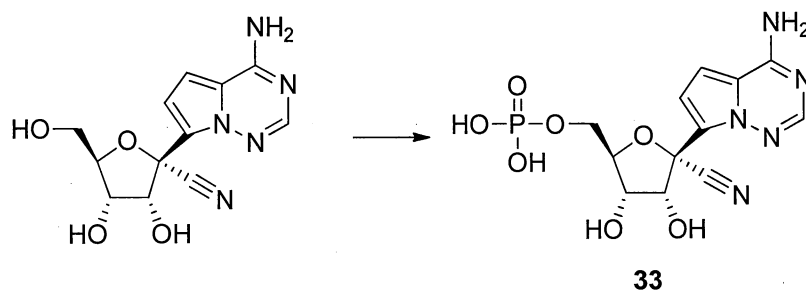
Nucleosit **1** (0,028g, 0,096mmol) được hòa tan trong trimetylphosphat (1mL). Phản ứng được khuấy trong N₂(g) và sau đó được xử lý bằng 1H-tetrazol (0,021g, 0,29mmol). Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và phosphan (Nucleosit Nucleotit, các axit Nucleic; 14; 3-5; 1995; 763 – 766. Lefebvre, Isabelle; Pompon, Alain; Perigaud, Christian; Girardet, Jean-Luc; Gosselin, Gilles; et al.) (87mg, 0,192mmol) được bổ sung. Phản ứng được khuấy trong 2 giờ và sau đó được làm nguội bằng hydro peroxit 30% (0,120mL). Hỗn hợp được khuấy trong 30 phút ở RT và sau đó được xử lý bằng natri thiosulfat nước bão hòa (1mL). Hỗn hợp được khuấy trong 10 phút và sau đó được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được HPLC điều chế để phân lập sản phẩm ở tiêu đề **15**. ¹H NMR (300MHz, CD₃CN) δ 7,98 (s, 1H), 6,92 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 6,44 (bs, 2H), 4,82 (m, 2H), 4,47 (m, 1H), 4,24 (m, 2H), 4,00 (m, 4H), 3,80 (bs, 1H), 3,11 (m, 4H), 1,24 (s, 9H). ³¹P NMR (121,4MHz, CD₃CN) δ -1,85 (s). LCMS *m/z* 661 [M+H].

Ví dụ 20. ((2R, 3S, 4R, 5R)-5-(4-aminopyrrolo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl tetrahydro triphosphat (Hợp chất 17)



Hợp chất **17** được điều chế từ hợp chất **1** sử dụng qui trình tương tự như được mô tả ở trên (WO2012012776). Sản phẩm được phân lập dưới dạng muối natri. ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,76 (s, 1H), 6,88 (d, J = 4,8Hz, 1H), 6,73 (d, J = 4,4Hz, 1H), 4,86 (d, J = 5,2Hz, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,94 (m, 1H). ³¹P NMR (121,4MHz, D₂O) δ -5,4 (d, 1P), -10,8 (d, 1P), -21,1 (t, 1P). LCMS *m/z* 530 [M-H], 531,9 [M+H] Tr = 0,22 phút. Trao đổi ion HPLC Tr=9,95 min.

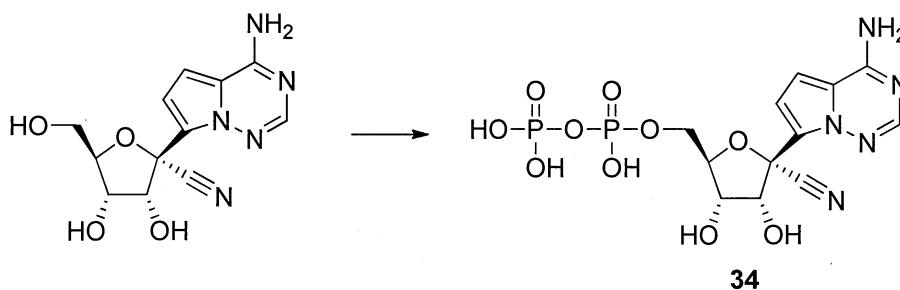
Ví dụ 20-a. ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl phosphat (Hợp chất 33)



Hỗn hợp của khoảng 0,05mmol hợp chất **1** và khoảng 0,5mL trimetylphosphat được bịt kín trong vật chứa trong khoảng một đến khoảng 48 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng -10 đến khoảng 10°C và khoảng 0,075mmol phospho oxyclorea được bổ sung. Sau khoảng một đến khoảng 24 giờ, phản ứng được làm nguội bằng khoảng 0,5mL tetraethylamoni bircacbonat 1M và các phân đoạn mong muốn được phân lập bằng sắc ký trao đổi anion để cho hợp chất ở tiêu đề.

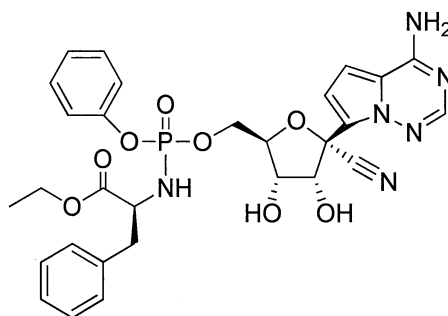
Hợp chất **33** được điều chế dưới dạng muối bis-triethylamoni từ hợp chất **1** như được mô tả trước đó (WO2011150288). ¹H NMR (400MHz, D₂O) δ 7,82 (s, 1H), 6,91 – 6,88 (m, 1H), 6,81 – 6,78 (m, 1H), 4,87 – 4,84 (m, 1H), 4,40 – 4,30 (m, 2H), 3,95 – 3,77 (m, 2H), 3,10 – 3,00 (m, 6H), 1,20 – 1,10 (m, 9H). ³¹P NMR (162 MHz, D₂O) δ 2,33. MS *m/z* 371.

Ví dụ 20-b. ((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metyl trihydro diphosphat (Hợp chất 34)



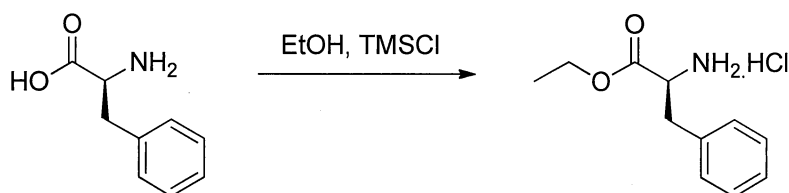
Hợp chất **34** được điều chế dưới dạng muối tri-lithi từ hợp chất **1** như được mô tả trước đó (WO2002057425). ³¹P NMR (162MHz, D₂O) δ -5,34 (d), -9,75 (d). MS *m/z* 451.

Ví dụ 24. (2S)-ethyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (21)



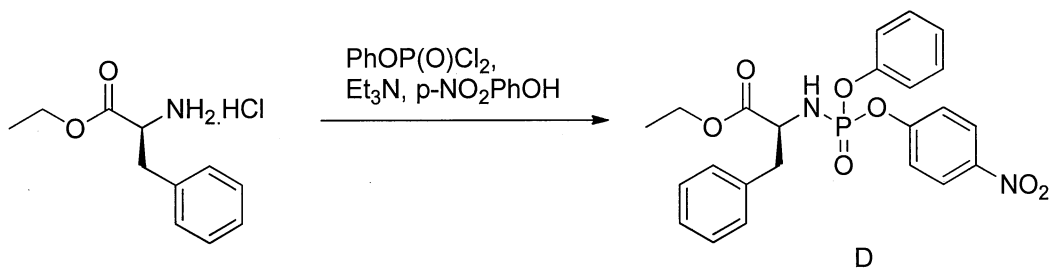
Điều chế (2S)-ethyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat được mô tả phía dưới.

Điều chế (S)-ethyl 2-amino-3-phenylpropanoat hydroclorua.



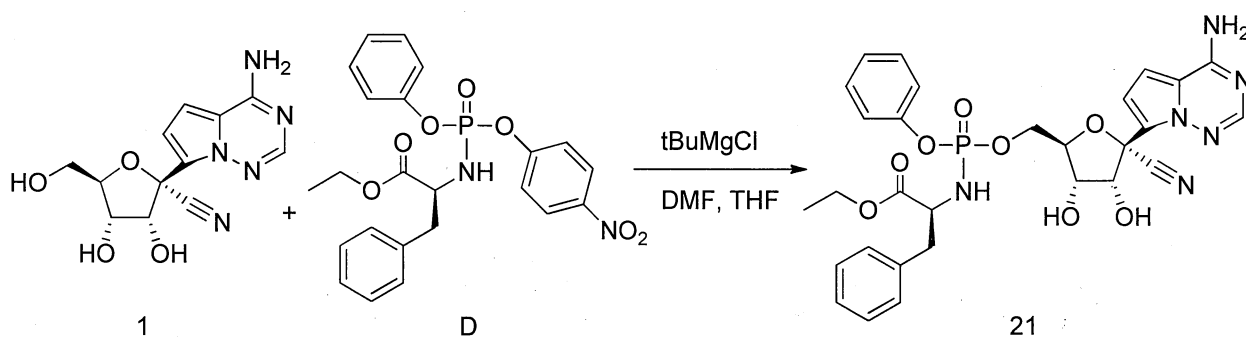
L-Phenylalanin (5g, 30mmol) được hấp thụ trong EtOH (30mL). TMSCl (6,915mL, 54mmol) được bổ sung vào phản ứng ở RT. Thiết bị phản ứng được trang bị thiết bị ngưng hồi lưu và phản ứng được đặt trong bể 80°C. Phản ứng được khuấy qua đêm. Ngày tiếp theo phản ứng được làm lạnh đến RT, được cô trong áp suất giảm và sản phẩm dư tạo ra được hấp thụ trong Et₂O. Bùn tạo ra được lọc và chất rắn tách còn được rửa bằng Et₂O. Chất rắn đã rửa được đặt trong chân không cao để tạo ra ví dụ (S)-ethyl 2-amino-3-phenylpropanoat hydroclorua. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,52 (s, 3H), 7,30 (m, 5H), 4,24 (ABX, J_{AX} = 7,8Hz, J_{BX} = 6,2Hz, 1H), 4,11 (m, 2H), 3,17, 3,05 (ABX, J_{AB} = -14Hz, J_{BX} = 5,8Hz, J_{AX} = 7,6Hz, 2H), 1,09 (t, J = 6,8Hz, 3H).

Điều chế (2S)-etyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (Hợp chất D)



(S)-etyl 2-amino-3-phenylpropanoat hydroclorua (1,01g, 4,41mmol) được hòa tan trong DCM (50mL). Dung dịch này được làm lạnh đến khoảng 0°C và PhOP(O)Cl₂ (0,656mL, 4,41mmol) được bổ sung, sau đó là bổ sung từ từ Et₃N (1,62mL, 11,5mmol) trên 5 phút. Bể lạnh được loại bỏ và phản ứng được làm nóng đến RT và khuấy trên thời gian 80 phút. *p*-NO₂PhOH (0,583g, 4,19mmol) được bổ sung, sau đó là thêm Et₃N (0,3mL, 2,1mmol). Quy trình phản ứng được giám sát bởi LC/MS. Sau khi hoàn toàn phản ứng, nó được pha loãng bằng Et₂O, và chất rắn tạo ra được loại bỏ bằng cách lọc. Nước lọc được cô và hợp chất **D** được phân lập bằng sắc ký cột silica gel (25g ống nạp khô, 120g cột; dung môi rửa giải hấp: 100% hexan đi tới 55% EtOAc trong hexan). ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 8,17 (m, 2H), 7,33 (m, 2H), 7,09-7,25 (m, 10H), 4,17 (m, 1H), 4,07 (m, 2H), 3,08 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 1,14 (m, 3H). ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ -1,479 (s), -1,719 (s). MS *m/z* = 471,01 [M+1].

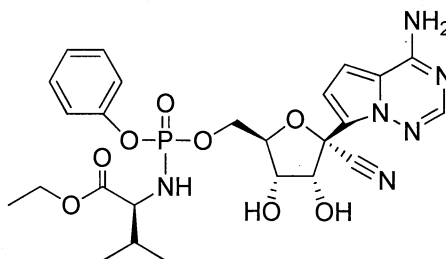
Điều chế (2S)-etyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (Hợp chất 21)



Hợp chất **1** (0,030g, 0,103mmol) được hòa tan trong DMF (1mL) và sau đó THF (0,5mL) được bổ sung. *t*-BuMgCl (1M/THF, 154,5μL, 0,154μmol) được bổ sung vào

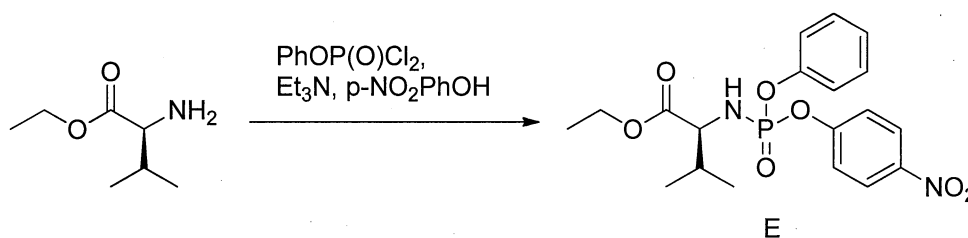
phản ứng theo cách từng giọt với khuấy mạnh. Bùn trắng tạo ra được khuấy ở RT trong khoảng 30 phút. Dung dịch hợp chất **D** (0,058g, 0,124mmol) trong THF (1mL) được bổ sung theo cách từng giọt vào phản ứng ở RT. Quy trình phản ứng được giám sát bằng LC/MS. Khi phản ứng chuyển hóa đến 50%, phản ứng được làm lạnh trong bể đá và được làm nguội bằng axit glacial axetic (70 μ L). Phản ứng được cô và hợp chất **21** được phân lập khỏi sản phẩm dư bằng HPLC pha ngược. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7,91 (d, J = 4Hz, 1H), 7,90 (brs, 2H), 7,09-7,30 (m, 8H), 7,01, (t, J = 8,2Hz, 2H), 6,89 (d, J = 4,4Hz, 1H), 6,82 (t, J = 4,4Hz, 1H), 6,27 (m, 1H), 6,14 (m, 1H), 5,34 (m, 1H), 4,62 (t, J = 5,6Hz, 1H), 4,15 (m, 1H), 3,78-4,01 (m, 6H), 2,92 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 1,04 (m, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6) δ 3,69 (s), 3,34 (s). MS m/z = 623,0 [M+H].

Ví dụ 25. (2S)-ethyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-methylbutanoat (22)



Điều chế (2S)-ethyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-methylbutanoat được mô tả phía dưới.

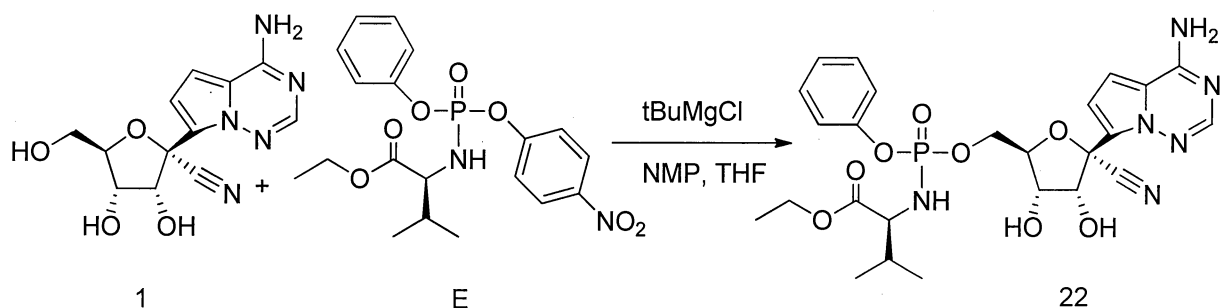
Điều chế (2S)-ethyl 3-metyl-2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) butanoat (Hợp chất E)



The (S)-ethyl 2-amino-3-methylbutanoat (0,351g, 1,932mmol) được hòa tan trong DCM (17mL). Dung dịch này được làm lạnh trong bể đá và PhOP(O)Cl₂ (0,287mL,

1,932mmol) được bổ sung, sau đó là bổ sung từ từ Et_3N (1,62mL, 11,4mmol) trên khoảng 5 phút. Bể lạnh được loại bỏ và phản ứng được làm nóng đến RT và khuấy trên thời gian 1 giờ. $p\text{-NO}_2\text{PhOH}$ (0,255g, 1,836mmol) được bổ sung, và quy trình phản ứng được giám sát bằng LC/MS. Sau khi hoàn toàn phản ứng, hỗn hợp được pha loãng bằng Et_2O , và chất rắn tạo ra được loại bỏ bằng cách lọc. Nước lọc được cô và hợp chất **E** được phân lập bằng sắc ký cột silica gel (12g ống nạp khô, 80g cột; dung môi rửa giải hấp: 100% hexan đi tới 55% EtOAc trong hexan). ^1H NMR (400MHz, DMSO-d_6) δ 8,30 (d, $J = 9,2\text{Hz}$, 2H), 7,48 (t, $J = 9,6\text{Hz}$, 2H), 7,40 (t, $J = 7,8\text{Hz}$, 2H), 7,20-7,27 (m, 3H), 6,60 (quart, $J = 11,6\text{Hz}$, 1H), 4,01 (m, 2H), 3,61 (m, 1H), 1,93 (m, 1H), 1,11 (m, 3H), 0,79 (m, 6H). ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d_6) δ -0,342 (s), -0,578 (s). MS m/z = 422,9 [M+H].

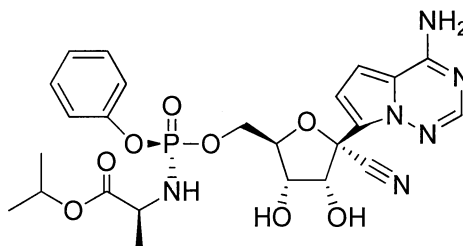
Điều chế (2S)-etyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-methylbutanoat (Hợp chất 22)



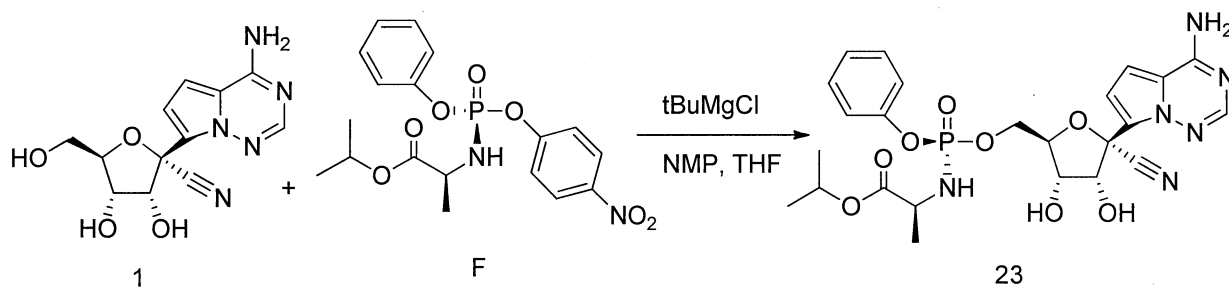
Hợp chất **1** (0,040g, 0,137mmol) được hòa tan trong NMP (1,5mL) và sau đó THF (0,25mL) được bổ sung. Dung dịch này được làm lạnh trong bể đá và $t\text{-BuMgCl}$ (1M/THF, 425,7 μL , 0,426 μmol) được bổ sung theo cách từng giọt với khuấy mạnh. Bể đá được loại bỏ và bùn trắng tạo ra được khuấy ở RT trong khoảng 15 phút. Dung dịch hợp chất **E** (0,081g, 0,192mmol) trong THF (0,5mL) được bổ sung theo cách từng giọt vào phản ứng ở RT. Quy trình phản ứng được giám sát bằng LC/MS. Khi phản ứng chuyển hóa đến 50%, phản ứng được làm lạnh trong bể đá và được làm nguội bằng glacial axit axetic (70 μL). Phản ứng được cô và hợp chất **22** được bán tinh chế từ sản phẩm dư bằng HPLC pha ngược. Vật liệu bán tinh khiết còn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (12g ống nạp khô, 40 g cột; dung môi rửa giải hấp: 100% EtOAc đi tới 10% MeOH trong EtOAc) để tạo ra hợp chất **22**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ

7,91 (d, $J = 1,6\text{Hz}$, 1H), 7,88 (brs, 2H), 7,32 (m, 2H), 7,15 (m, 3H), 6,90 (t, $J = 4,2\text{Hz}$, 1H), 6,84 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 1H), 6,26 (dd, $J = 13,4, 6,2\text{Hz}$, 1H), 5,87 (quart. $J = 11,2\text{Hz}$, 1H), 5,35 (m, 1H), 4,64 (m, 1H), 4,25 (m, 2H), 3,93-4,15 (m, 4H), 3,45 (m, 1H), 1,87 (m, 1H), 1,09-1,16 (m, 3H), 0,70-0,83 (m, 6H). ^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6) δ 4,59 (s), 4,47 (s). MS $m/z = 575,02$ [M+H].

Ví dụ 26. (S)-isopropyl 2-(((R)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl) amino)propanoat (23)



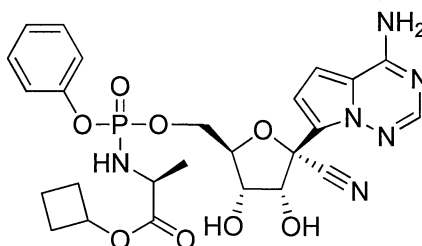
Điều chế (S)-isopropyl 2-(((R)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được mô tả phía dưới.



Hợp chất 1 (60,0mg, 206 μmol) được hòa tan trong NMP (0,28mL). THF (0,2mL) được bổ sung sau đó là tert-butyl magie clorua (dung dịch 1,0M trong tetrahydrofuran, 0,309mL) ở RT trong môi trường argon. Sau 20 phút, dung dịch hợp chất F (Được điều chế theo Cho, A. et al *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 1812-1825., 81mg, 206 μmol) trong THF (0,2mL) được bổ sung, và hỗn hợp tạo ra được đun nóng đến khoảng 50°C. Sau 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến RT và được tinh chế trực tiếp bằng HPLC điều chế (Phenominex Synergi 4u Hydro-RR 80Å 150 x 30mm cột, 5-100% acetonitril/ gradient nước) để cho hợp chất 23. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,86 (s, 1H), 7,34 – 7,26 (m, 2H), 7,21 – 7,12 (m, 3H), 6,91 (d, $J = 4,6\text{Hz}$,

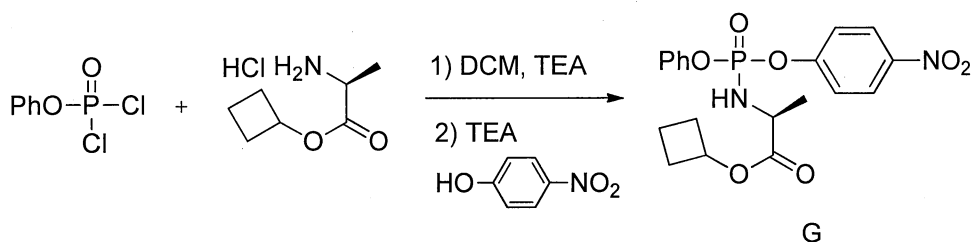
1H), 6,87 (d, $J = 4,6\text{Hz}$, 1H), 4,92 (sept, $J = 6,3\text{Hz}$, 1H), 4,80 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,43 – 4,34 (m, 1H), 4,33 – 4,24 (m, 1H), 4,18 (t, $J = 5,6\text{Hz}$, 1H), 3,82 (dq, $J = 9,7, 7,1\text{Hz}$, 2H), 1,27 (dd, $J = 7,1, 1,0\text{Hz}$, 3H), 1,18 (dd, $J = 6,3, 4,8\text{Hz}$, 6H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,72 (s). LC/MS: $t_R = 1,39$ phút, MS $m/z = 561,11$ $[\text{M}+\text{H}]^+$; hệ LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; hệ MS: Thermo LCQ Fleet; Cột: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 4,6mm; Dung môi: ACN với 0,1% axit axetic, nước với 0,1% axit axetic; Gradient: 0 phút-2,0 phút 2-100% ACN, 2,0 phút -3,05 phút 100% ACN, 3,05 phút -3,2 phút 100%-2% ACN, 3,2 phút -3,5 phút 2% ACN ở 2 μL /phút. HPLC: $t_R = 2,523$ phút; hệ HPLC: Agilent 1100 series.; Cột: Gemini 5 μ C18 110A, 50 x 4,6 mm; Dung môi: ACN với 0,1% TFA, Nước với 0,1% TFA; Gradient: 0 phút-5,0 phút 2-98% ACN, 5,0 phút - 6,0 phút 98% ACN ở 2 mL/ phút.

Ví dụ 27. (2S)-xyclobutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (24)



Điều chế (2S)-xyclobutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được mô tả phía dưới.

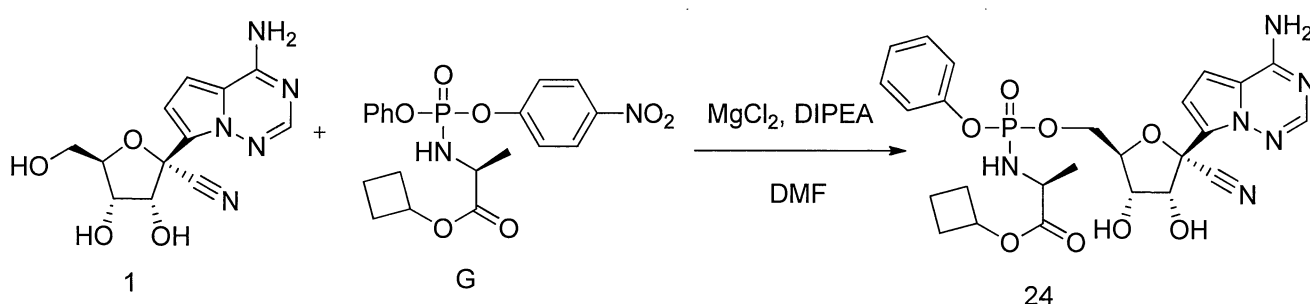
Điều chế (2S)-xyclobutyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (Hợp chất G)



Phenyl dichlorophosphat (1,49mL, 10mmol) được hòa tan trong 10mL DCM khan và được khuấy trong môi trường nitơ trong bể đá. L-Alanin isobutyl este hydroclorua (0,9g, 5mmol) được bổ sung trong một phần. Trietylamin (765 μL ,

5,5mmol) sau đó được bổ sung từng giọt. Phản ứng được khuấy trong khoảng 1 giờ. Thêm triethylamin (765 μ L, 5,5mmol) được bổ sung từng giọt và phản ứng được khuấy trong khoảng 45 phút. *p*-Nitrophenol (1,25g, 9mmol) được bổ sung trong một phần và được khuấy trong khoảng 30 phút. Triethylamin (765 μ L, 5,5mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 2 giờ. Bổ sung *p*-nitrophenol (1,25g, 9mmol) và triethylamin (765 μ L, 5,5mmol) sau đó được bổ sung, và phản ứng được khuấy trong khoảng 2 giờ khác. Hỗn hợp phản ứng được cô trong áp suất giảm. Nguyên liệu tạo ra được pha loãng bằng EtOAc và được rửa hai lần bằng dung dịch axit xitric nước 5%, sau đó bằng dung dịch natri clorua nước bão hòa. Lớp hữu cơ sau đó được sấy khô trên natri sulfat khan và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư thô được tinh chế bằng cột silica gel (0-20-50% EtOAc trong hexan) để cho hợp chất **G**. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 8,33 – 8,23 (m, 2H), 7,52 – 7,33 (m, 4H), 7,33 – 7,17 (m, 3H), 4,96 – 4,85 (m, 1H), 4,07 – 3,96 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,07 – 1,91 (m, 2H), 1,83 – 1,70 (m, 1H), 1,70 – 1,55 (m, 1H), 1,32 (m, 3H). ^{31}P NMR (162 MHz, CD_3OD) δ -1,36, -1,59. MS m/z = 420,9 $[\text{M}+\text{H}]$.

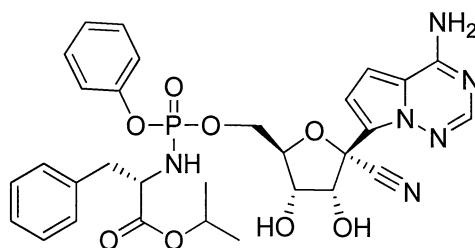
Điều chế (2S)-xyclobutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (Hợp chất 24)



Hợp chất **1** (58mg, 0,2mmol) được trộn với hợp chất **G** (101mg, 0,24mmol) trong 2mL DMF khan. Magie clorua (42mg, 0,44mmol) được bổ sung trong một phần. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến khoảng 50°C. DIPEA (87 μ L, 0,5mmol) được bổ sung, và phản ứng được khuấy trong khoảng 2 giờ ở khoảng 50°C. Hỗn hợp phản ứng làm lạnh đến nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng dung dịch axit xitric nước 5% sau đó là dung dịch natri clorua nước bão hòa. Lớp hữu cơ sau đó được sấy khô trên natri sulfat khan và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư thô

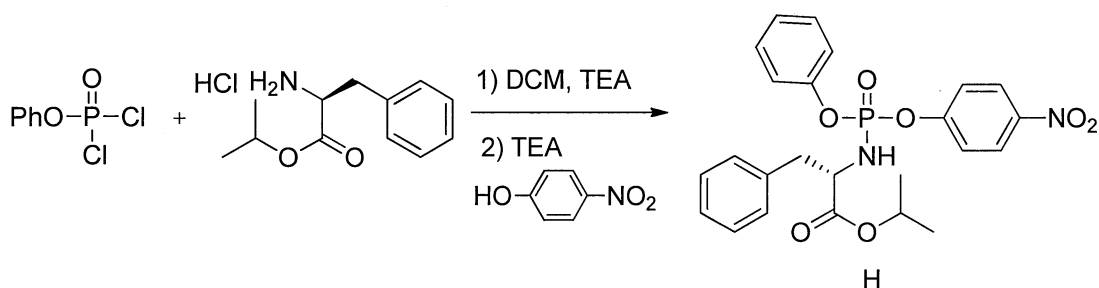
được tinh chế bằng cột silica gel (0-2-5% MeOH trong DCM) để cho hợp chất **24**. ^1H NMR (400MHz, Metanol- d_4) δ 7,85 (m, 1H), 7,34 – 7,22 (m, 2H), 7,22 – 7,08 (m, 3H), 6,94 – 6,84 (m, 2H), 4,95 – 4,85 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,46 – 4,34 (m, 2H), 4,34 – 4,24 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 2,27 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,84 – 1,68 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,30 – 1,16 (m, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, cd_3od) δ 3,70, 3,65. MS $m/z = 573,0$ [M+H].

Ví dụ 28. (2S)-isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (25)



Điều chế (2S)-isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat được mô tả phía dưới.

Điều chế (2S)-isopropyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (Hợp chất H)

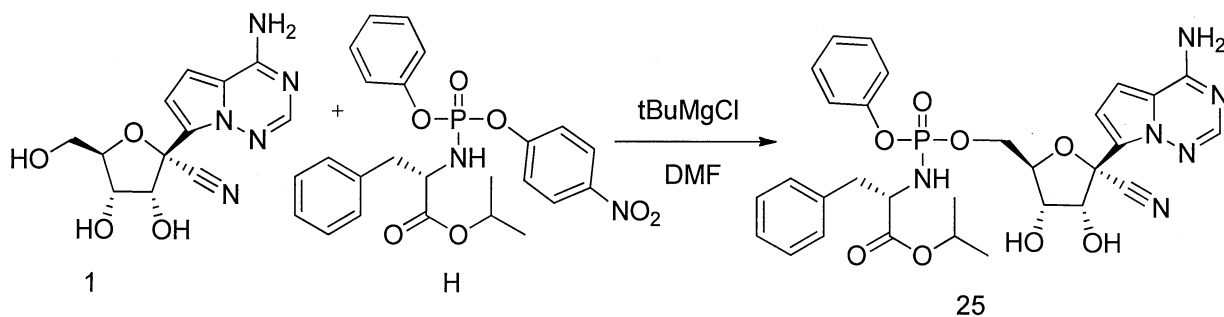


Phenyl dichlorophosphat (718 μL , 4,8mmol) được hòa tan trong 10mL DCM khan và được khuấy trong môi trường nitơ trong bể đá. L-Phenylalanin isopropyl este hydroclorua (1g, 4,1mmol) được bổ sung trong một phần. 10mL DCM khan khác được bổ sung. Triethylamin (736 μL , 5,3mmol) được bổ sung từng giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 30 phút. Thêm triethylamin (736 μL , 5,3mmol) sau đó được bổ sung từng giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút. Bổ sung triethylamin (736 μL , 5,3mmol) sau đó được bổ sung từng giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy

trong khoảng 15 phút. p-Nitrophenol (600mg, 4,32mmol) sau đó được bổ sung. Bể đá sau đó được loại bỏ và hỗn hợp phản ứng được làm nóng đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong khoảng 2 giờ. Thêm p-nitrophenol (50mg) và triethylamin (736 μ L, 5,3mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 1 giờ.

Hỗn hợp phản ứng sau đó được cô trong áp suất giảm, và được pha loãng bằng EtOAc và được rửa hai lần bằng dung dịch axit xitric nước 5%, sau đó bằng dung dịch natri clorua nước bão hòa. Lớp hữu cơ được sấy khô trên natri sulfat khan và được cô trong áp suất giảm. Nguyên liệu được tinh chế bằng cột silica gel (0-15% EtOAc trong hexan) để cho hợp chất **H**. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8,17 (m, 2H), 7,38 – 7,13 (m, 10H), 7,13 – 7,02 (m, 2H), 4,95 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,02 (dd, J = 6,1, 1,8Hz, 2H), 1,21 – 1,08 (m, 6H). ^{31}P NMR (162MHz, cdcl_3) δ -2,96, -2,98. MS m/z = 485,0 $[\text{M}+\text{H}]$.

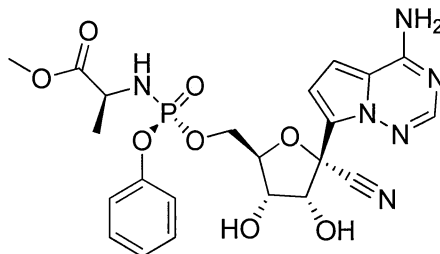
Điều chế (2S)-isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-3-phenylpropanoat (Hợp chất 25)



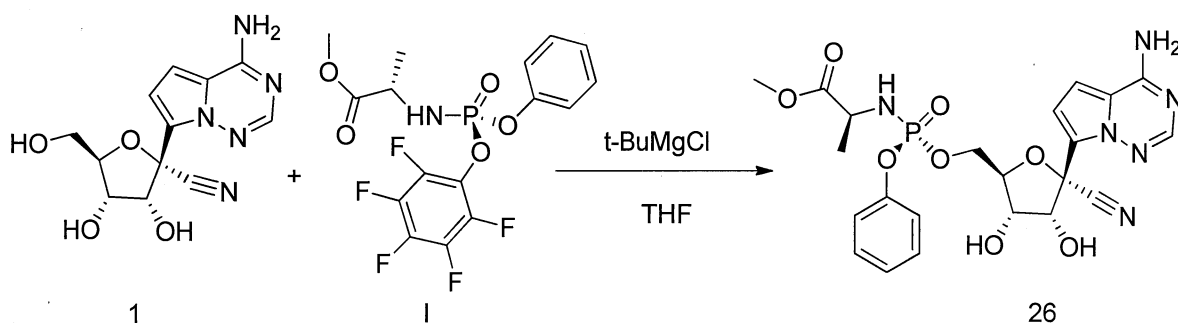
Hợp chất **1** (58mg, 0,2mmol) và hợp chất **H** (116mg, 0,24mmol) được trộn và 2mL DMF khan được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường nitơ ở nhiệt độ phòng. 1M tBuMgCl trong THF (300 μ L, 0,3mmol) được bổ sung từng giọt trên 3 phút và hỗn hợp phản ứng sau đó được khuấy trong khoảng 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và được rửa bằng dung dịch axit xitric nước 5%, dung dịch natri bicacbonat nước bão hòa và sau đó dung dịch natri clorua nước bão hòa. Lớp hữu cơ được sấy khô trên natri sulfat khan và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư thô được tinh chế bằng cột silica gel (0-5% MeOH trong DCM) để cho hợp chất **25**. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,84 (m, 1H), 7,27 – 7,08 (m, 8H), 7,08 – 6,97 (m, 2H), 6,88 (m, 2H), 4,91 – 4,84 (m, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,19 – 4,04 (m,

2H), 4,04 – 3,91 (m, 2H), 2,97 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 1,14 (m, 3H), 1,06 (m, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,63, 3,25. MS m/z = 637,0 $[\text{M}+\text{H}]$.

Ví dụ 29. (S)-metyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (26)



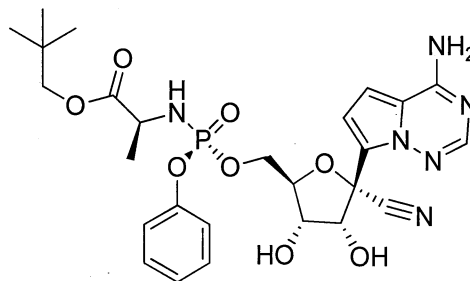
Điều chế (S)-metyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được mô tả phía dưới.



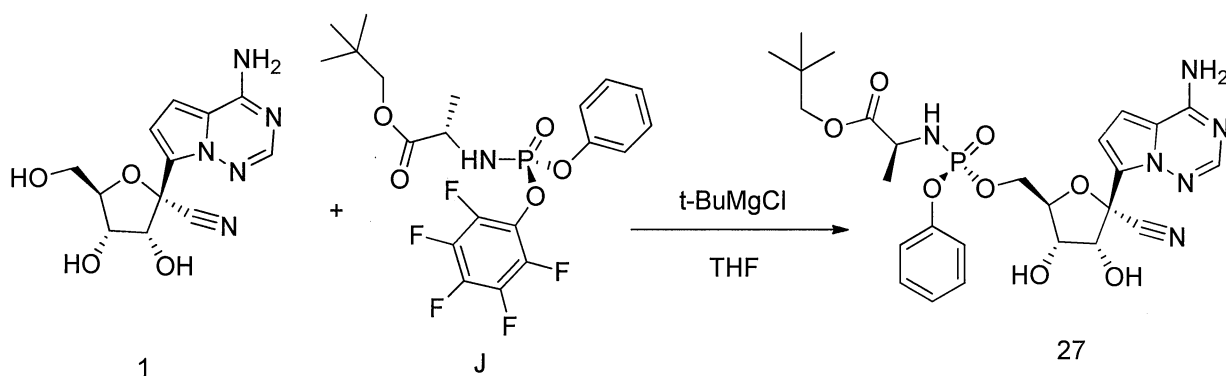
Hợp chất **1** (100mg, 0,34mmol) được hòa tan trong THF (2mL) và làm lạnh bằng bể nước đá. Sau đó $t\text{-BuMgCl}$ 1M (0,52mL, 0,77mmol) được bổ sung từng giọt từ từ. Hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó hợp chất **I** (Được điều chế theo WO 2012142085, 219mg, 0,52mmol) trong THF (2mL) được bổ sung trên 5 phút và hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng EtOAc, làm lạnh trong bể nước đá, được rửa bằng aq NaHCO_3 (2mL), được rửa bằng nước muối, được sấy khô bằng natri sulfat, và được cô trong chân không. Hỗn hợp tạo ra được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (MeOH 0 đến 20% trong DCM) và prep-HPLC (acetonitril 10 đến 80% trong nước) để cho hợp chất **26**. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,86 (s, 1H), 7,29 (dd, J = 8,6, 7,2Hz, 2H), 7,21 – 7,09 (m, 3H), 6,94 – 6,81 (m, 2H), 4,79 (d, J = 5,4Hz, 1H), 4,38

(ddq, $J = 10,8, 5,3, 2,7\text{Hz}$, 2H), 4,33 – 4,23 (m, 1H), 4,18 (t, $J = 5,5\text{Hz}$, 1H), 3,86 (dq, $J = 9,9, 7,1\text{Hz}$, 1H), 3,62 (s, 3H), 1,27 (dd, $J = 7,2, 1,1\text{Hz}$, 3H). MS $m/z = 533$ ($M+1$)⁺.

Ví dụ 30. (S)-neopentyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat (27)



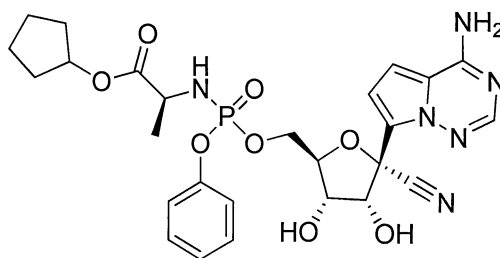
Điều chế (S)-neopentyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat được mô tả phía dưới.



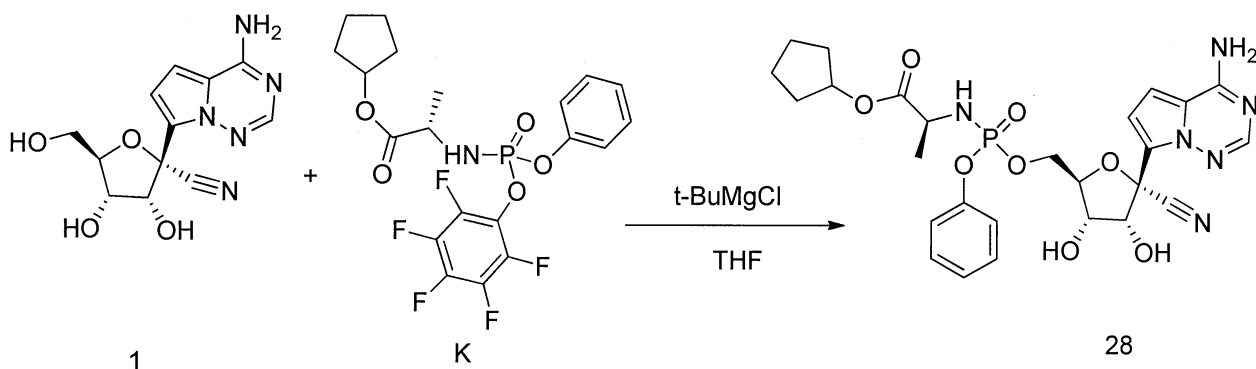
Hợp chất **1** (100mg, 0,34mmol) được hòa tan trong THF (2mL) và làm lạnh trong bể nước đá. Sau đó t-BuMgCl 1M (0,52mL, 0,77mmol) được bổ sung từng giọt từ từ. Hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó hợp chất **J** (Được điều chế theo WO2012075140, 248mg, 0,52mmol) được bổ sung trên khoảng 5 phút và hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 24 giờ ở nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc, làm lạnh trong bể nước đá, được xử lý bằng aq NaHCO₃ (2mL), được rửa bằng nước muối, được sấy khô bằng natri sulfat, và được cô trong chân không. Hỗn hợp tạo ra được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (MeOH 0 đến 20% trong DCM) và prep-HPLC (acetonitril 10 đến 80% trong nước) để cho hợp chất **27**. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7,86 (s, 1H), 7,36 – 7,24 (m, 2H), 7,23 – 7,10 (m, 3H), 6,96 –

6,85 (m, 2H), 4,78 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,38 (tdd, $J = 10,0, 4,9, 2,5\text{Hz}$, 2H), 4,32 – 4,24 (m, 1H), 4,17 (t, $J = 5,6\text{Hz}$, 1H), 3,91 (dq, $J = 9,8, 7,1\text{Hz}$, 1H), 3,81 (d, $J = 10,5\text{Hz}$, 1H), 3,69 (d, $J = 10,5\text{Hz}$, 1H), 1,31 (dd, $J = 7,2, 1,1\text{Hz}$, 3H), 0,89 (s, 9H). MS $m/z = 589 (M+1)^+$.

Ví dụ 31. (2S)-xyclopentyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat (28)



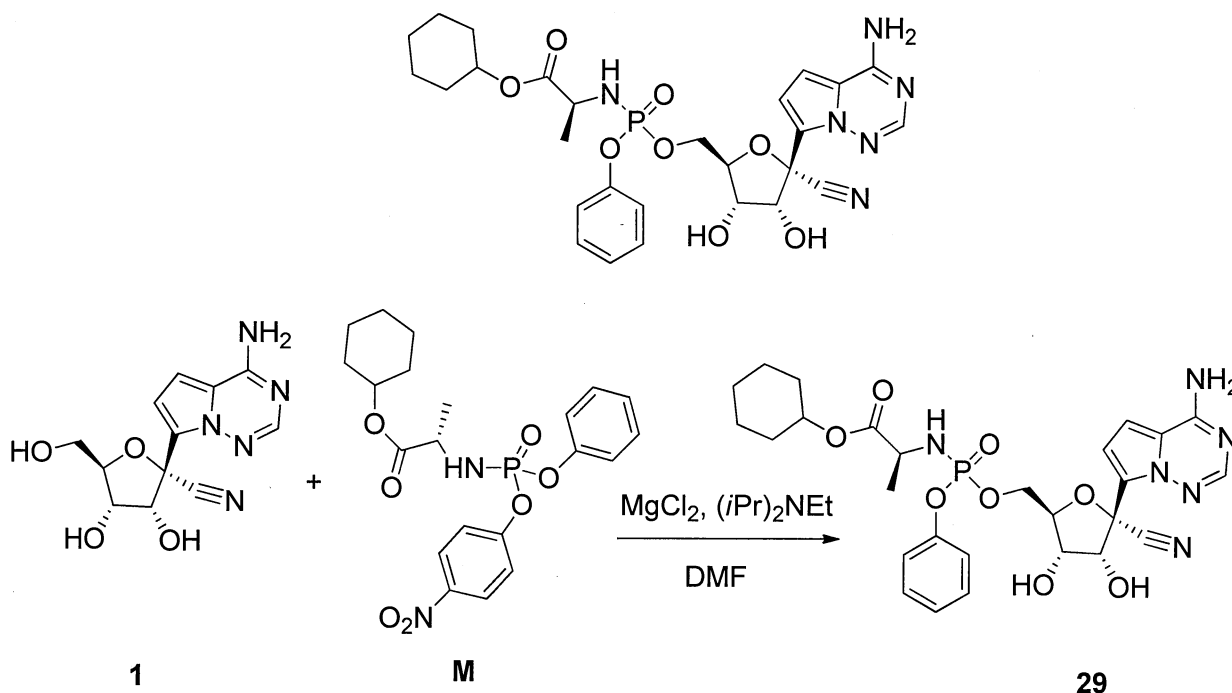
Điều chế (2S)-xyclopentyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat được mô tả phía dưới.



Hợp chất **1** (100mg, 0,34mmol) được hòa tan trong THF (2 mL) và làm lạnh trong bể nước đá. Sau đó t-BuMgCl 1M (0,52mL, 0,77mmol) được bổ sung từng giọt từ từ. Hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó hợp chất **K** (Được điều chế theo WO2012075140, 247mg, 0,52mmol) trong THF (2 mL) được bổ sung trên khoảng 5 phút và hỗn hợp tạo ra được khuấy trong khoảng 24 giờ ở nhiệt độ phòng, được pha loãng bằng EtOAc, làm lạnh trong bể nước đá, được xử lý bằng aq NaHCO_3 (2mL), được rửa bằng nước muối, được sấy khô bằng natri sulfat, và được cô *trong chân không*. Hỗn hợp tạo ra được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (MeOH 0 đến 20% trong DCM) và prep-HPLC (acetonitril 10 đến 80% trong nước) để cho ví dụ

28. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,85 (s, 1H), 7,33 – 7,22 (m, 2H), 7,14 (tdd, $J = 7,6, 2,1, 1,1\text{Hz}$, 3H), 6,95 – 6,87 (m, 2H), 5,13 – 5,00 (m, 1H), 4,78 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,48 – 4,35 (m, 2H), 4,30 (ddd, $J = 10,6, 5,7, 3,6\text{Hz}$, 1H), 4,19 (t, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 3,78 (dq, $J = 9,2, 7,1\text{Hz}$, 1H), 1,81 (dtd, $J = 12,5, 5,9, 2,4\text{Hz}$, 2H), 1,74 – 1,49 (m, 6H), 1,21 (dd, $J = 7,1, 1,2\text{Hz}$, 3H). MS $m/z = 587 (\text{M}+1)^+$.

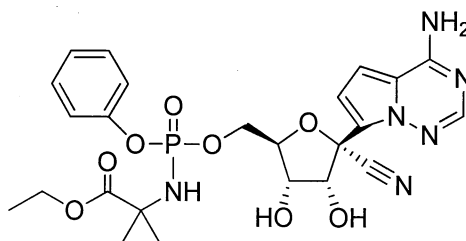
Ví dụ 32. (2S)-xyclohexyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (29)



Với hỗn hợp của hợp chất 1 (50mg, 0,343mmol), hợp chất M (Được điều chế theo US20130143835, 93mg, 0,209mmol), và MgCl_2 (24,5mg, 0,257mmol) trong DMF (1mL) được bổ sung diisopropyletylamin (0,075mL, 0,43mmol) từng giọt trên khoảng 5 phút ở khoảng 0°C . Hỗn hợp tạo ra được khuấy ở khoảng 50°C trong khoảng 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng sau đó được làm lạnh bằng bể nước đá, được xử lý bằng axit xitric 1M (0,5mL), và được tinh chế trực tiếp bằng prep-HPLC (ACN 0 đến 70% trong nước) để cho hợp chất 29. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,84 (s, 1H), 7,32 – 7,23 (m, 2H), 7,18 – 7,10 (m, 3H), 6,93 – 6,87 (m, 2H), 4,78 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,67 (td, $J = 8,7, 4,2\text{Hz}$, 1H), 4,48 – 4,35 (m, 2H), 4,30 (ddd, $J = 10,8, 5,7, 3,7\text{Hz}$, 1H), 4,20 (t, $J =$

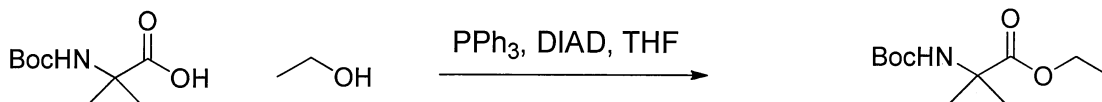
5,4Hz, 1H), 3,88 – 3,71 (m, 1H), 1,83 – 1,63 (m, 4H), 1,58 – 1,46 (m, 1H), 1,46 – 1,24 (m, 5H), 1,24 (s, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, CD_3OD) δ 3,75. MS m/z = 601 ($\text{M}+1$) $^+$.

Ví dụ 33. Etyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-metylpropanoat (30)



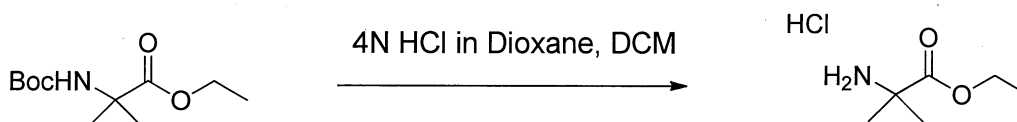
Điều chế etyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-metylpropanoat được mô tả phía dưới.

Điều chế Etyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-metylpropanoat



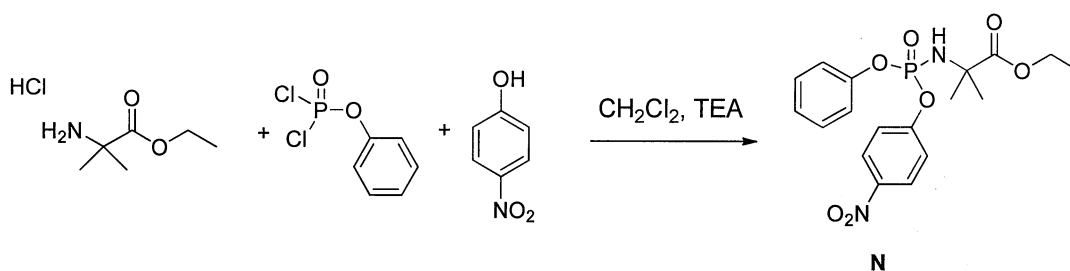
Hấp thụ triphenylphosphin (6,18g, 25,00mmol) trong THF (30mL). Tiếp theo nạp DIAD (4,92mL, 25,00mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 10 phút. Hòa tan 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-axit metylpropanoic (5,08g, 25,00mmol) trong THF (20mL) và bổ sung vào hỗn hợp phản ứng sau đó là bổ sung etanol (2,19mL, 37,49mmol). Để phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. Dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm và nguyên liệu được hấp thụ trong 1:1 Et_2O :Hexan (120mL). Triphenylphosphin oxit rắn được lọc ra và dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm. Nguyên liệu được hấp thụ trong CH_2Cl_2 tối thiểu và được tinh chế bằng sắc ký silica gel 0-50% EtOAc /Hex để cho etyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-metylpropanoat. ^1H NMR (400MHz, Chloroform- d) δ 4,18 (q, J = 7,1Hz, 2H), 1,49 (s, 6H), 1,43 (s, 9H), 1,27 (t, J = 7,1Hz, 3H).

Điều chế Etyl 2-amino-2-metylpropanoat hydroclorua



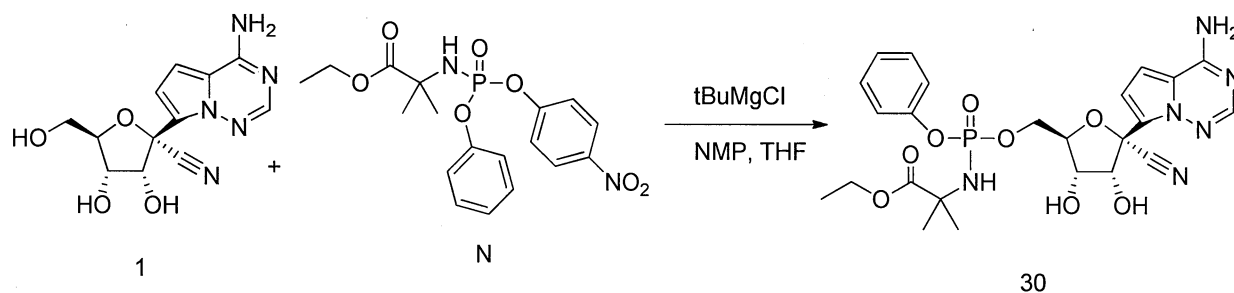
Hấp thụ ethyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-methylpropanoat (2,71g, 11,72mmol) trong CH_2Cl_2 (25mL) và bổ sung từ từ HCl 4N trong dioxan (25mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng. Ở 1 giờ, phản ứng được xác định hoàn toàn bằng TLC. Dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm và nguyên liệu cùng bay hơi với Et_2O hai lần sau đó được đặt trong chân không cao để cho ethyl 2-amino-2-methylpropanoat hydroclorua. ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,70 (s, 3H), 4,18 (q, $J = 7,1\text{Hz}$, 2H), 1,46 (s, 6H), 1,21 (t, $J = 7,1\text{Hz}$, 3H).

Điều chế Ethyl 2-metyl-2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (Hợp chất N)



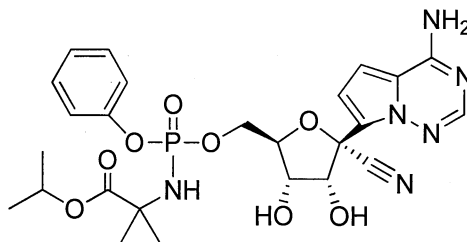
Hấp thụ phenyl dichlorophosphat (0,97mL, 6,50mmol) và ethyl 2-amino-2-methylpropanoat hydroclorua (1,09g, 6,50mmol) trong CH_2Cl_2 (50mL). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng đến khoảng 0°C và bổ sung từ từ TEA (1,75mL, 12,45mmol). Loại bỏ bể lạnh và để hỗn hợp phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng 2 giờ, việc bổ sung axit amin được xác định hoàn toàn bằng ^{31}P NMR. Nạp p-nitrophenol (0,860g, 6,17mmol) sau đó là bổ sung TEA (0,87g, 7,69mmol). Cho phép phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng 2 giờ, phản ứng được xác định hoàn toàn bằng LCMS. Phản ứng được pha loãng bằng Et_2O và muối $\text{TEA}\cdot\text{HCl}$ được lọc ra. Nguyên liệu được cô và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (0-50% EtOAc/Hex) để cho hợp chất N. ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,37 – 8,21 (m, 2H), 7,55 – 7,44 (m, 2H), 7,43 – 7,33 (m, 2H), 7,30 – 7,09 (m, 3H), 6,57 (d, $J = 10,1\text{Hz}$, 1H), 3,99 (q, $J = 7,1\text{Hz}$, 2H), 1,39 (s, 6H), 1,08 (t, $J = 7,1\text{Hz}$, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -2,87. LC/MS: $t_R = 1,65$ phút, MS $m/z = 408,97$ $[\text{M}+1]$.; hệ LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; hệ MS: Thermo LCQ Fleet; Cột: Kinetex 2,6 μ XB-C18 100A, 50 x 3,00 mm; Dung môi: Acetonitril với axit formic 0,1%, Nước với axit formic 0,1%; Gradient: 0 phút-2,4 phút 2-100% ACN, 2,4 phút -2,80 phút 100% ACN, 2,8 phút -2,85 phút 100%-2% ACN, 2,85 phút -3,0 phút 2% ACN ở 1,8mL/ phút.

Điều chế ethyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-methylpropanoat (Hợp chất 30)



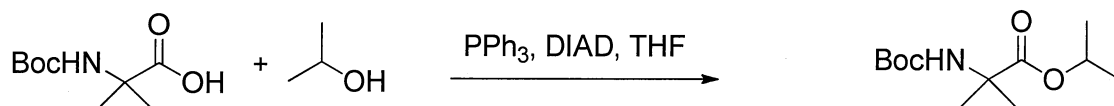
Hấp thụ hợp chất 1 (66mg, 0,23mmol) trong NMP (2,0mL). Làm lạnh hỗn hợp đến khoảng 0°C và bổ sung từ từ tBuMgCl (1,0M trong THF, 0,34mL, 0,34mmol). Cho phép phản ứng khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 30 phút, sau đó bổ sung dung dịch hợp chất N (139mg, 0,34mmol) được hòa tan trong THF (1,0mL). Loại bỏ bể lạnh và đặt phản ứng ở bể dầu được gia nhiệt sơ bộ khoảng 50°C. Sau khoảng 2 giờ, phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được làm nguội bằng axit axetic và metanol. Nguyên liệu được cô và được tinh chế bằng HPLC pha ngược không có chất điều biến để cho hợp chất 30. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,89 (m, 3H), 7,31 (q, *J* = 8,1Hz, 2H), 7,22 – 7,05 (m, 3H), 6,87 (d, *J* = 4,5, 1H), 6,80 (d, *J* = 4,5Hz, 1H), 6,27 (d, *J* = 11,7, 1H), 5,81 (d, *J* = 9,7, 1H), 5,35 (d, *J* = 5,6Hz, 1H), 4,64 (dt, *J* = 9,0, 5,6Hz, 1H), 4,24 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 4,04 – 3,90 (m, 3H), 1,39 – 1,23 (m, 6H), 1,10 (t, *J* = 7,1, 3H). ³¹P NMR (162MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,45, 2,41. LC/MS: *t*_R = 1,03 phút, MS *m/z* = 561,03 [M+1]; hệ LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; hệ MS: Thermo LCQ Fleet; Cột: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00mm; Dung môi: Acetonitril với axit formic 0,1%, Nước với axit formic 0,1%; Gradient: 0 phút-2,4 phút 2-100% ACN, 2,4 phút-2,80 phút 100% ACN, 2,8 phút-2,85 phút 100%-2% ACN, 2,85 phút-3,0 phút 2% ACN ở 1,8mL/phút.

Ví dụ 34. Isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-methylpropanoat (31)



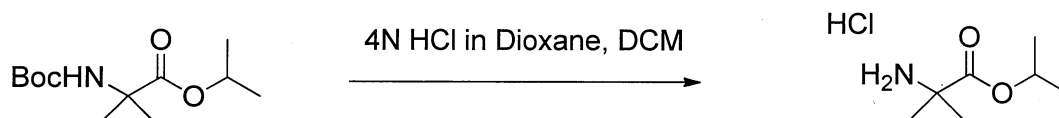
Điều chế Isopropyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-methylpropanoat được mô tả phía dưới.

Điều chế Isopropyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-methylpropanoat



Hấp thụ triphenylphosphin (6,17g, 25,00mmol) trong THF (30mL). Tiếp theo nạp DIAD (4,92mL, 25,00mmol) và khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 10 phút. Hòa tan 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-axit metylpropanoic (5,07g, 25,00mmol) được hòa tan trong THF (20mL) và bổ sung vào hỗn hợp phản ứng sau đó là bổ sung isopropanol (1,91mL, 25,00mmol). Cho phép phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng trong khoảng 1 giờ. Dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm và nguyên liệu được hấp thụ trong 1:1 Et₂O:Hexan (120mL). Triphenylphosphin oxit rắn được lọc ra và dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm. Nguyên liệu được hấp thụ trong CH₂Cl₂ tối thiểu và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (0-50% EtOAc/Hex) để cho isopropyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-methylpropanoat. ¹H NMR (400MHz, Chloroform-*d*) δ 5,03 (p, *J* = 6,2Hz, 1H), 1,48 (s, 6H), 1,40 (d, *J* = 6,2Hz, 9H), 1,24 (d, *J* = 6,3Hz, 6H).

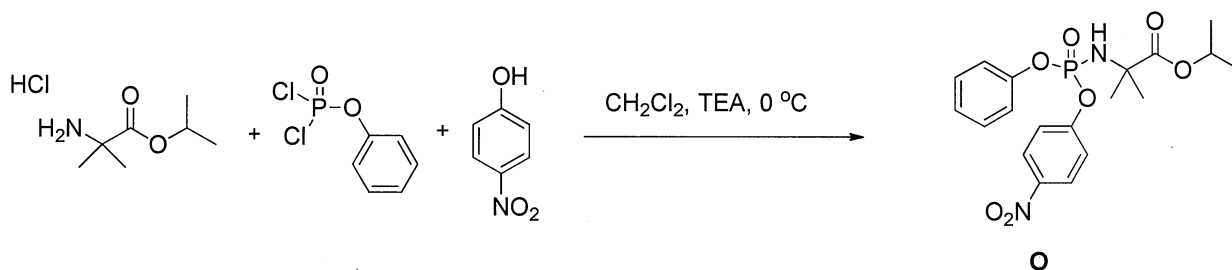
Điều chế Isopropyl 2-amino-2-methylpropanoat hydroclorua



Hấp thụ isopropyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-2-methylpropanoat (4,09g, 16,67mmol) trong CH₂Cl₂ (50mL) và bổ sung từ từ HCl 4N trong dioxan (50mmol) và

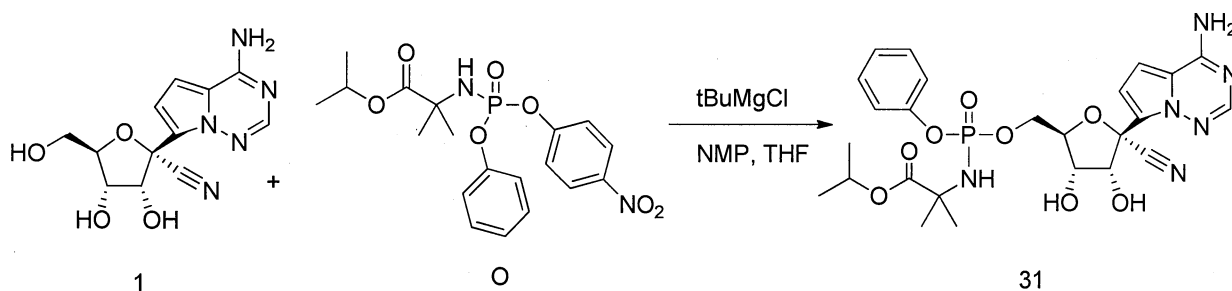
khuấy ở nhiệt độ phòng. Ở khoảng 1 giờ, phản ứng được xác định hoàn toàn bằng TLC. Dung môi được loại bỏ trong áp suất giảm và nguyên liệu được cùng bay hơi với Et₂O hai lần sau đó được đặt trong chân không cao để cho isopropyl 2-amino-2-methylpropanoat hydroclorua. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,61 (s, 3H), 4,96 (p, *J* = 6,2Hz, 1H), 1,44 (s, 6H), 1,22 (d, *J* = 6,2Hz, 6H).

Điều chế Isopropyl 2-metyl-2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (Hợp chất O)



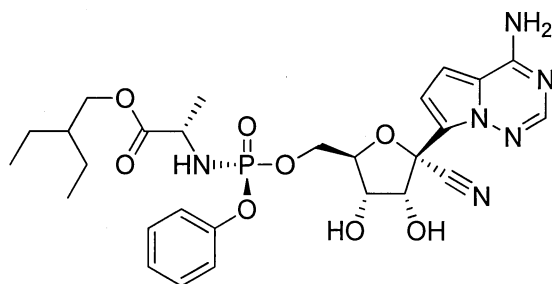
Hấp thụ phenyl dichlorophosphat (0,83mL, 5,58mmol) và isopropyl 2-amino-2-methylpropanoat hydroclorua (1,01g, 5,58mmol) trong CH₂Cl₂ (50mL). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng đến 0°C và bổ sung từ từ TEA (1,61mL, 11,45mmol). Loại bỏ bể lạnh và cho phép hỗn hợp phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng 2 giờ, bổ sung axit amin được xác định hoàn toàn bằng ³¹P NMR. Nạp p-nitrophenol (0,74g, 5,30mmol) sau đó là bổ sung TEA (0,81, 5,84mmol). Cho phép phản ứng khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau khoảng 2 giờ, phản ứng được xác định hoàn toàn bằng LCMS. Phản ứng được pha loãng bằng Et₂O và muối TEA•HCl được lọc ra. Nguyên liệu được cô và được tinh chế bằng sắc ký silica gel (0-50% EtOAc/Hex) để cho hợp chất O. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,42 – 8,19 (m, 2H), 7,55 – 7,43 (m, 2H), 7,39 (dd, *J* = 8,6, 7,2Hz, 2H), 7,30 – 7,12 (m, 3H), 6,53 (d, *J* = 10,1Hz, 1H), 4,82 (hept, *J* = 6,3Hz, 1H), 1,38 (s, 6H), 1,09 (d, *J* = 6,3, 6H). ³¹P NMR (162MHz, DMSO-*d*₆) δ -2,84. LC/MS: t_R = 1,73 phút, MS *m/z* = 422,92 [M+1]; hệ LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; hệ MS: Thermo LCQ Fleet; Cột: Kinetex 2,6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00mm; Dung môi: Acetonitril với axit formic 0,1%, Nước với axit formic 0,1%; Gradient: 0 phút-2,4 phút 2-100% ACN, 2,4 phút-2,80 phút 100% ACN, 2,8 phút-2,85 phút 100%-2% ACN, 2,85 phút-3,0 phút 2% ACN ở 1,8mL/phút.

Điều chế Isopropyl 2-((((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)-2-methylpropanoat (Hợp chất 31)



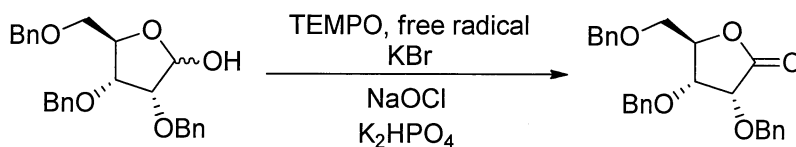
Hấp thụ hợp chất **1** (66mg, 0,23mmol) trong NMP (2,0mL). Làm lạnh hỗn hợp đến khoảng 0°C và bổ sung từ từ tBuMgCl (1,0M trong THF, 0,57mL, 0,57mmol). Cho phép phản ứng khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 30 phút, sau đó bổ sung dung dịch hợp chất **O** (143mg, 0,34mmol) được hòa tan trong THF (1,0mL). Loại bỏ bể lạnh và đặt phản ứng trong bể dầu được gia nhiệt sơ bộ khoảng 50°C. Sau khoảng 2 giờ, phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và được làm nguội bằng axit axetic và metanol. Nguyên liệu được cô và được tinh chế bằng HPLC pha ngược không có chất điều biến để cho hợp chất **31**. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,88 (m, 3H), 7,30 (td, *J* = 8,5, 7,0Hz, 2H), 7,20 – 7,04 (m, 3H), 6,87 (d, *J* = 4,5, 1H), 6,80 (d, *J* = 4,5Hz, 1H), 6,27 (d, 6,1Hz, 1H), 5,75 (t, *J* = 9,1Hz, 1H), 5,34 (d, *J* = 5,7Hz, 1H), 4,81 (p, *J* = 6,3Hz, 1H), 4,71 – 4,50 (m, 1H), 4,23 (m, 2H), 4,11 (m, 1H), 4,03 – 3,83 (m, 1H), 1,37 – 1,23 (m, 6H), 1,18 – 1,04 (m, 6H). ³¹P NMR (162 MHz, DMSO) δ 2,47, 2,43. LC/MS: *t*_R = 1,08 phút, MS *m/z* = 575,06 [M+1]; hệ LC: Thermo Accela 1250 UHPLC; hệ MS: Thermo LCQ Fleet; Cột: Kinetex 2h6μ XB-C18 100A, 50 x 3,00mm; Dung môi: Acetonitril với axit formic 0,1%, Nước với axit formic 0,1%; Gradient: 0 phút-2,4 phút 2-100% ACN, 2,4 phút-2,80 phút 100% ACN, 2,8 phút-2,85 phút 100%-2% ACN, 2,85 phút-3,0 phút 2% ACN ở 1,8mL/phút.

Ví dụ 35. (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (32)



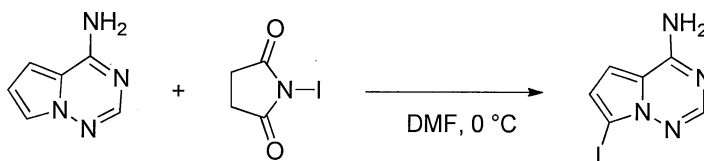
Điều chế (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được mô tả phía dưới.

Điều chế (3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2(3H)-on.



(3R,4R,5R)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol (15,0g) kết hợp với MTBE (60,0mL), KBr (424,5mg), dung dịch K_2HPO_4 nước (2,5M, 14,3mL), và TEMPO (56mg). Hỗn hợp này được làm lạnh đến khoảng $1^\circ C$. Dung dịch tẩy trắng nước (7,9% trọng lượng) được nạp từ từ từng phần cho tới khi dùng hoàn toàn vật liệu ban đầu như được chỉ ra thông qua kiểm tra tinh bột/ iốt. Các lớp được phân tách, và lớp nước được chiết bằng MTBE. Pha hữu cơ kết hợp được sấy khô trên $MgSO_4$ và được cô trong áp suất giảm để tạo ra sản phẩm dưới dạng rắn.

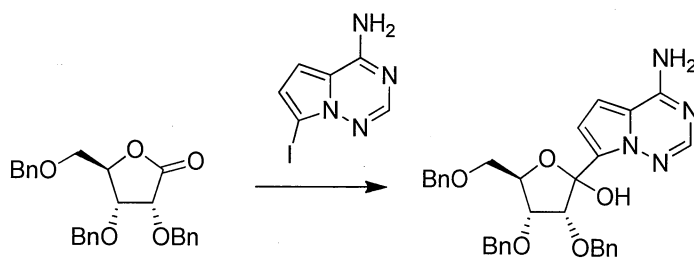
Điều chế (4-amino-7-iodopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin)



Với dung dịch lạnh 4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]-triazin (10,03g; 74,8mmol) trong N,N-dimetylformamit (70,27g), N-iodosuccinimide (17,01g; 75,6mmol) được nạp từng phần, trong khi giữ tất cả ở khoảng $0^\circ C$. Sau khi phản ứng hoàn toàn (khoảng 3 giờ ở khoảng $0^\circ C$), hỗn hợp phản ứng được chuyển thành dung dịch nước natri hydroxit

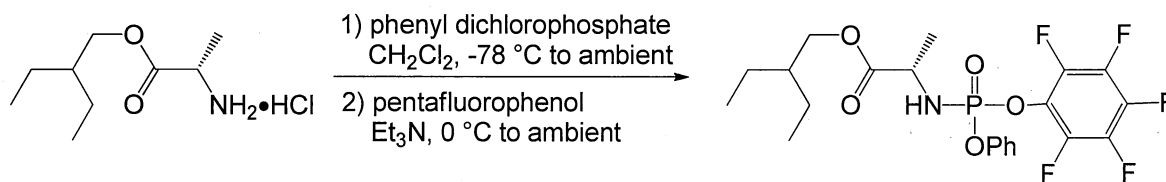
1M (11g NaOH và 276mL nước) trong khi giữ tất cả ở khoảng 20-30°C. Bùn tạo ra được khuấy ở khoảng 22°C trong 1,5 giờ và sau đó được lọc. Các chất rắn được súc rửa bằng nước (50mL) và được sấy khô ở khoảng 50°C trong chân không để tạo ra 4-amino-7-iodopyrrolo[2,1-f] [1,2,4]triazin dưới dạng rắn. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 7,90 (s, 1H), 7,78 (br s, 2H), 6,98 (d, $J = 4,4\text{Hz}$, 1H), 6,82 (d, $J = 4,4\text{Hz}$, 1H). ^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ 155,7, 149,1, 118,8, 118,1, 104,4, 71,9. MS m/z = 260,97 $[\text{M}+\text{H}]$.

Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis(benzyloxy)-5-((benzyloxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol via (4-amino-7-iodopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin)



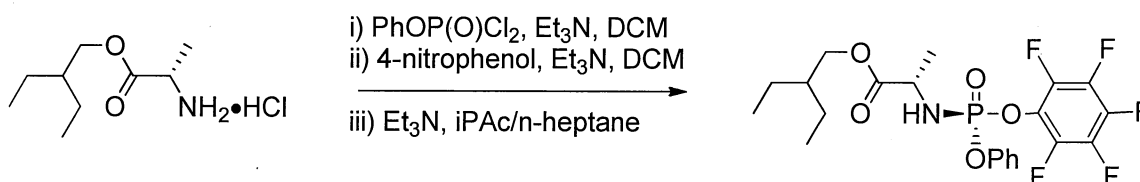
Với thiết bị phản ứng trong môi trường nitơ được nạp iodobase **2** (81g) và THF (1,6L). Dung dịch tạo ra được làm lạnh đến khoảng 5°C, và TMSCl (68g) được nạp. PhMgCl (345mL, 1,8M trong THF) sau đó được nạp từ từ trong khi duy trì nhiệt độ trong ở khoảng $\leq 5^\circ\text{C}$. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở khoảng 0°C trong 30 phút, và sau đó được làm lạnh đến khoảng -15°C. $i\text{PrMgCl} \cdot \text{LiCl}$ (311mL, 1,1M trong THF) được nạp từ từ trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -12°C. Sau khoảng 10 phút khuấy ở khoảng -15°C, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng -20°C, và dung dịch lacton **1** (130g) trong THF (400mL) được nạp. Hỗn hợp phản ứng sau đó được khuấy ở khoảng -20°C trong khoảng 1 giờ và được làm nguội bằng AcOH (57mL). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến khoảng 0°C và được điều chỉnh đến độ pH 7-8 bằng NaHCO_3 nước (5% trọng lượng, 1300mL). Hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng EtOAc (1300mL), và các lớp hữu cơ và nước được phân tách. Lớp hữu cơ được rửa bằng HCl 1N (1300mL), NaHCO_3 nước (5% trọng lượng, 1300mL), và nước muối (1300mL), và sau đó được sấy khô trên Na_2SO_4 khan và được cô đến khô. Tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient chứa hỗn hợp của MeOH và EtOAc tạo ra sản phẩm.

Điều chế ((2S)-2-ethylbutyl 2-(((perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat) (hỗn hợp của *Sp* và *Rp*):



L-Alanin 2-etylbutyl este hydroclorua (5,0g, 23,84mmol) kết hợp với metylen clorua (40mL), làm lạnh đến khoảng -78°C , và phenyl dichlorophosphat (3,65mL, 23,84mmol) được bổ sung. Trietylamin (6,6mL, 47,68mmol) được bổ sung trên khoảng 60 phút ở khoảng -78°C và hỗn hợp tạo ra được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến khoảng 0°C và pentafluorophenol (4,4g, 23,84mmol) được bổ sung. Trietylamin (3,3mL, 23,84mmol) được bổ sung trên khoảng 60 phút. Hỗn hợp được khuấy trong khoảng 3 giờ ở nhiệt độ xung quanh và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được hòa tan trong EtOAc, được rửa bằng dung dịch natri cacbonat nước vài lần, và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient của EtOAc và hexan (0 đến 30%). Sản phẩm chứa các phân đoạn được cô trong áp suất giảm để có ((2S)-2-etylbutyl 2-(((perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat rắn. ^1H NMR (400MHz, Chloroform-d) δ 7,41 – 7,32 (m, 4H), 7,30 – 7,17 (m, 6H), 4,24 – 4,16 (m, 1H), 4,13 – 4,03 (m, 4H), 4,01 – 3,89 (m, 1H), 1,59 – 1,42 (m, 8H), 1,40 – 1,31 (m, 8H), 0,88 (t, $J = 7,5\text{Hz}$, 12H). ^{31}P NMR (162MHz, Chloroform-d) δ -1,52. ^{19}F NMR (377MHz, Chloroform-d) δ -153,63, -153,93 (m), -160,05 (td, $J = 21,9, 3,6\text{Hz}$), -162,65 (qd, $J = 22,4, 20,5, 4,5\text{Hz}$). MS $m/z = 496$ [M+H].

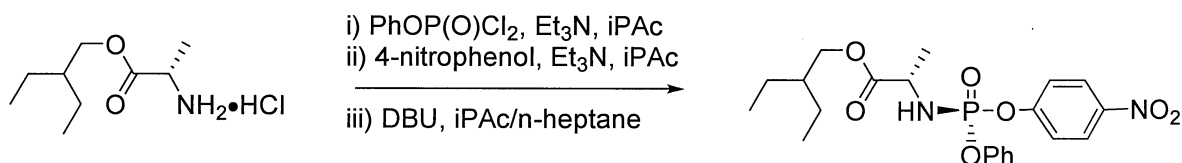
Điều chế ((2S)-2-etylbutyl 2-(((perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat):



L-alanin-2-etylbutyleste hydroclorua (40,10g, 0,191mmol) được hòa tan trong dichlorometan (533g) và dung dịch được làm lạnh bằng cách khuấy đến khoảng -15°C trong $\text{N}_2(\text{g})$. Phenyl dichlorophosphat (40,32g, 0,191mol) được bổ sung sau đó là bổ

sung từ từ triethylamin (41,58g, 0,411mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở khoảng -15°C trong khoảng 1,5 giờ. Pentafluorophenol (35,14g, 0,191mol) được bổ sung, sau đó là triethylamin (19,23g, 0,190mol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến khoảng 0°C và HCl 0,5M (279,19g) được bổ sung. Hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 22°C và lớp hữu cơ được phân tách và được rửa bằng dung dịch nước KHCO_3 5% (281g), sau đó nước (281g). Phần phân ước của lớp hữu cơ (453,10g của 604,30g dung dịch) được cô đến khoảng lượng 120mL, isopropyl axetat (157g) được bổ sung và dung dịch được cô đến khô. Sản phẩm dư được hòa tan trong isopropyl axetat (158g). Dung dịch tạo ra được cô đến khoảng lượng 120mL và nhiệt độ được điều chỉnh đến khoảng 45°C . n-Heptan (165g) được bổ sung và hỗn hợp làm lạnh đến 22°C trên khoảng 1 giờ. n-Heptan (167g) được bổ sung và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng 0°C . Triethylamin (2,90g, 0,0287mol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở 0°C trong khoảng 17 giờ. Hỗn hợp được lọc, chất rắn được súc rửa bằng n-heptan (145g) và chất rắn được sấy khô trong chân không ở khoảng 40°C trong khoảng 15 giờ để thu được 2-ethylbutyl ((S)-(pentafluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)-L-alaninat.

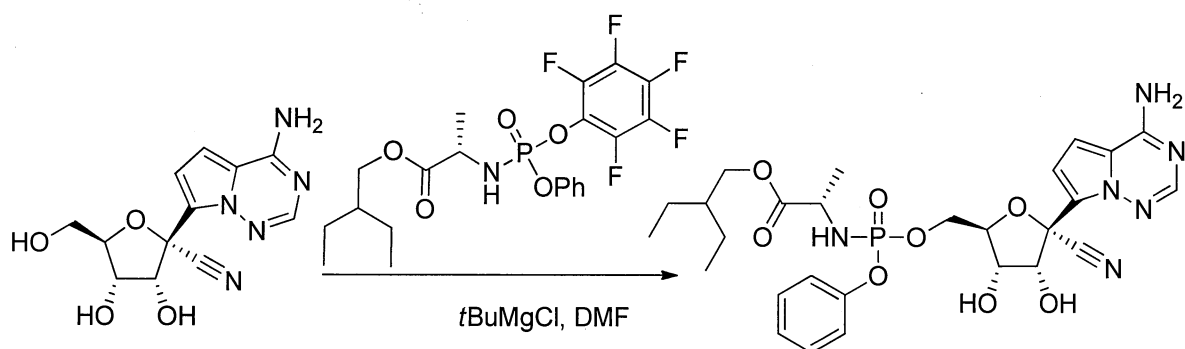
Điều chế 2-ethylbutyl ((S)-(4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)-L-alaninat:



Bùn của L-alanin-2-ethylbutyleste hydroclorua (20,08g, 95,8mmol) và isopropyl axetat (174g) được làm lạnh bằng cách khuấy đến khoảng -20°C . Phenyl dichlorophosphat (20,37g, 96,5mmol) được bổ sung, sau đó là bổ sung từ từ triethyl amin (20,97g, 207,2mmol) và hỗn hợp được khuấy ở khoảng -20°C trong khoảng 1 giờ. 4-Nitrophenol (13,23g, 95,1mmol) được bổ sung, sau đó là bổ sung từ từ triethylamin (10,01g, 98,8mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến khoảng 0°C và HCl 0,5M (140g) được bổ sung. Lớp hữu cơ được phân tách và được rửa bằng Na_2CO_3 5% (2 x 100g) và NaCl 10% (2 x 100g). Lớp hữu cơ sau đó được cô đến lượng khoảng 80mL và isopropylaxetat (4g) được bổ sung, sau đó là n-heptan (110g). Các tinh thể mầm sản phẩm (0,100g) được bổ sung sau đó là phần thứ hai của n-heptan (110g) và hỗn hợp được làm lạnh đến khoảng 0°C .

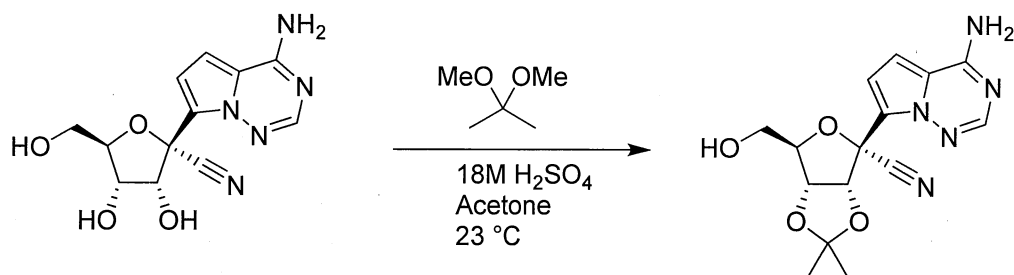
1,8-Diazabixycloundec-7-en (1,49g, 9,79mmol) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 21 giờ. Chất rắn tổng hợp được lọc và được rửa đầu tiên bằng n-heptan (61g) và sau đó bằng H₂O (2 x 100 g). Các chất rắn được khuấy với H₂O (200g) trong khoảng 1,5 giờ, được lọc, và được súc rửa bằng H₂O (3 x 100g), sau đó n-heptan (61g). Chất rắn thu được được sấy khô trong chân không ở khoảng 40°C trong khoảng 19 giờ để thu được 2-etylbutyl ((S)-(4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)-L-alaninat.

Điều chế hợp chất ở tiêu đề (hỗn hợp của *Sp* và *Rp*):



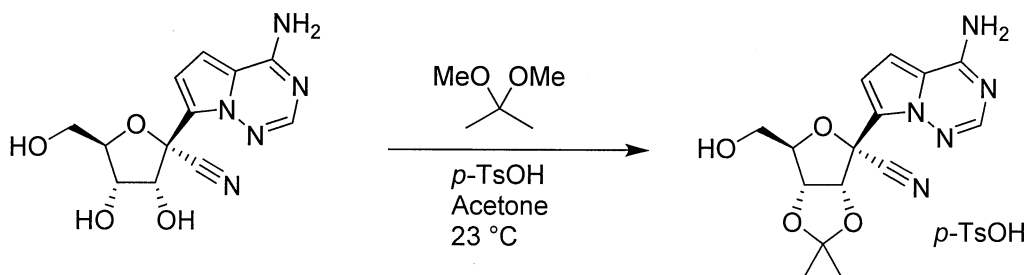
Nucleosit (29mg, 0,1mmol) và phosphonamit (60mg, 0,12mmol) và N,N-dimetylformamit (2mL) được kết hợp ở nhiệt độ xung quanh. *Tert*-Butyl magie clorua (1M trong THF, 0,15mL) được bổ sung từ từ. Sau khoảng 1 giờ, phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat, được rửa bằng dung dịch axit xitric nước (5% trọng lượng), dung dịch NaHCO₃ bão hòa nước và dung dịch nước muối bão hòa. Pha hữu cơ được sấy khô trên Na₂SO₄ và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient của metanol và CH₂Cl₂ (0 đến 5%). Sản phẩm chứa các phân đoạn được cô trong áp suất giảm để thu được sản phẩm.

Điều chế (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-6-(hydroxymetyl)-2,2-dimetyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxole-4-cacbonitril:



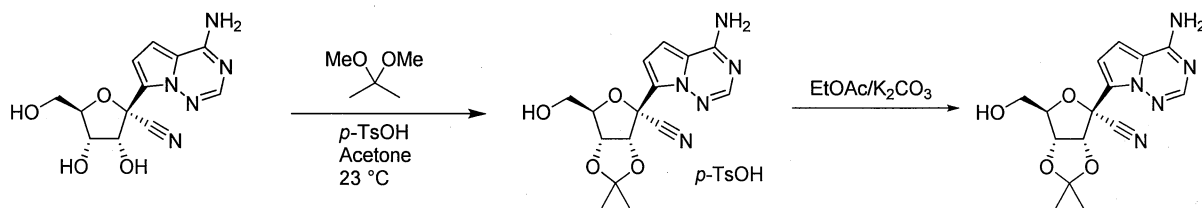
Hỗn hợp của (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (5,8g, 0,02mol), 2,2-dimethoxypropan (11,59mL, 0,09mol) và axeton (145mL) ở nhiệt độ xung quanh được bổ sung axit sulfuric (18M, 1,44mL). Hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 45°C. Sau khoảng 30 phút, hỗn hợp được làm lạnh đến nhiệt độ xung quanh và natri bicacbonat (5,8g) và nước 5,8mL) được bổ sung. Sau 15 phút, hỗn hợp được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được hấp thụ trong etyl axetat (150mL) và nước (50mL). Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 50mL). Pha hữu cơ kết hợp được sấy khô trên natri sulfat và được cô trong áp suất giảm để có nguyên liệu (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 7,84 (s, 1H), 6,93 (d, *J* = 4,6Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 4,6Hz, 1H), 5,40 (d, *J* = 6,7Hz, 1H), 5,00 (dd, *J* = 6,7, 3,3Hz, 1H), 4,48 – 4,40 (m, 1H), 3,81 – 3,72 (m, 2H), 1,71 (s, 3H), 1,40 (s, 3H). MS *m/z* = 332,23 [M+1].

Điều chế muối (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-6-(hydroxymethyl)-2,2-dimetyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxole-4-carbonitril TsOH:



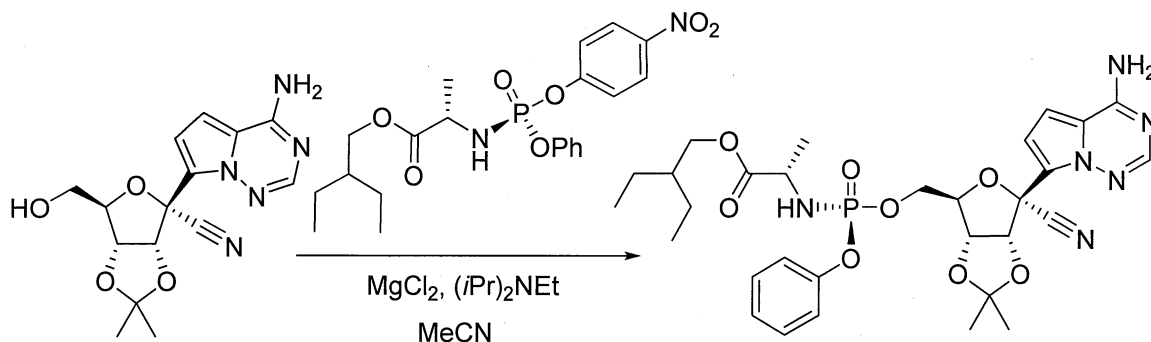
Hỗn hợp của (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (5,0g, 17,2mmol, 1,0 đương lượng), 2,2-dimethoxypropan (10,5mL, 86mmol, 5,0 đương lượng) và axeton (25mL) ở nhiệt độ xung quanh được bổ sung axit *p*-tolylsulfonic (3,59 g, 1,1 đương lượng). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ xung quanh. Sau khoảng 30 phút, isopropyl axetat (25mL) được bổ sung trên khoảng một giờ. Bùn tạo ra được lọc và được súc rửa bằng 2:1 heptan:isopropyl axetat (25ml). Sản phẩm được sấy khô trong chân không ở khoảng 40°C.

Điều chế (3aR,4R,6R,6aR)-4-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-6-(hydroxymetyl)-2,2-dimetyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxole-4-cacbonitril:



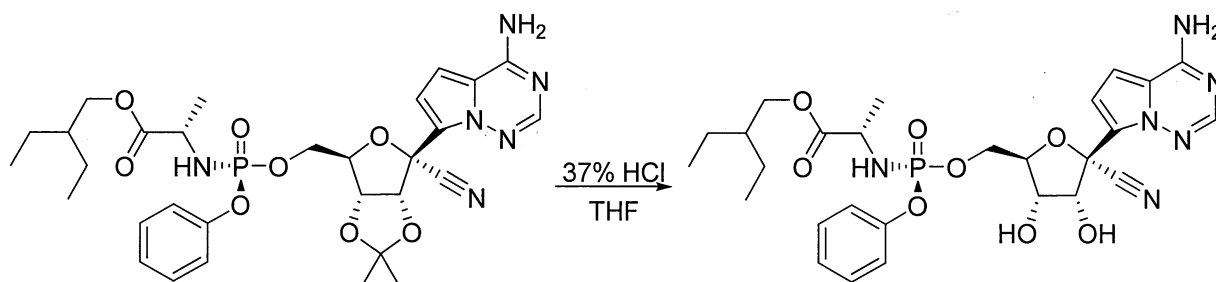
Hỗn hợp của (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril (5g, 17,2 mmol, 1,0 đương lượng), 2,2-dimethoxypropanol (10,5mL, 86mmol, 5,0 đương lượng) và axeton (25mL) ở nhiệt độ xung quanh được bổ sung axit *p*-tolylsulfonic (3,59g, 1,1 đương lượng). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ xung quanh. Sau 30 phút, isopropyl axetat (25mL) được bổ sung trên một giờ. Bùn tạo ra được lọc và được súc rửa bằng 2:1 heptan:isopropyl axetat (25ml). Sản phẩm được sấy khô trong chân không ở 40°C. Chất rắn được phân lập được bổ sung vào thiết bị phản ứng và dung dịch K₂CO₃ 5% (50ml) và etyl axetat (50mL) được bổ sung. Các lớp được phân tách, và lớp nước được rửa bằng etyl axetat (25ml). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (25ml), sau đó được cô đến ca.25ml. Thiết bị phản ứng được nạp lại bằng isopropyl axetat (25ml) và được cô đến ca. 25ml. Thiết bị phản ứng lại được nạp lại bằng isopropyl axetat (25ml) và được cô đến 25ml. Dung dịch tạo ra được tạo mầm, sản xuất bùn dày. Nó được bổ sung heptan (25ml) trên một giờ. Bùn tạo ra được lọc và được súc rửa bằng 2:1 heptan:isopropyl axetat (25ml). Sản phẩm được sấy khô trong chân không ở 40°C. () (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril. ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,84 (s, 1H), 6,93 (d, *J* = 4,6Hz, 1H), 6,89 (d, *J* = 4,6Hz, 1H), 5,40 (d, *J* = 6,7Hz, 1H), 5,00 (dd, *J* = 6,7, 3,3Hz, 1H), 4,48 – 4,40 (m, 1H), 3,81 – 3,72 (m, 2H), 1,71 (s, 3H), 1,40 (s, 3H). MS *m/z* = 332,23 [M+1].

Điều chế (2S)-2-ethylbutyl 2-((((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat:



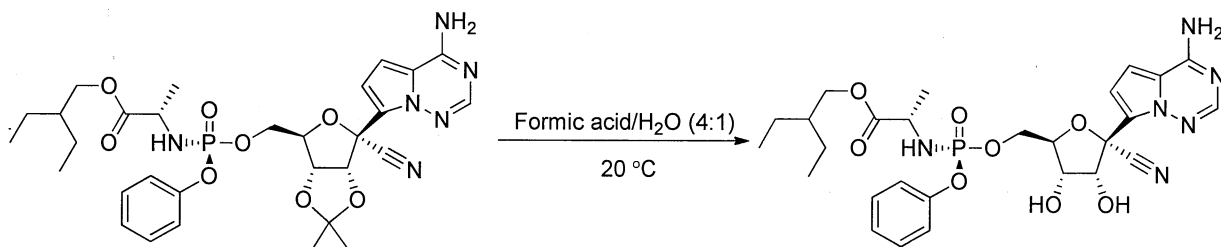
Acetonitril (100mL) kết hợp với (2S)-2-ethylbutyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)-amino)propanoat (9,6g, 21,31mmol), rượu nền (6,6g, 0,02mol),), magie clorua (1,9g, 19,91mmol) ở nhiệt độ xung quanh. Hỗn hợp được khuấy trong khoảng 15 phút và *N,N*-diisopropyletylamin (8,67mL, 49,78mmol) được bổ sung. Sau khoảng 4 giờ, phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (100mL), làm lạnh đến khoảng 0°C và kết hợp với dung dịch axit xitric nước (5% trọng lượng, 100mL). Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch axit xitric nước (5% trọng lượng, 100mL) và dung dịch amoni clorua bão hòa nước (40mL), dung dịch kali cacbonat nước (10% trọng lượng, 2 x 100mL), và dung dịch nước muối bão hòa nước (100mL). Pha hữu cơ được sấy khô bằng natri sulfat và được cô trong áp suất giảm để thu được sản phẩm thô. ^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 7,86 (s, 1H), 7,31 – 7,22 (m, 2H), 7,17 – 7,09 (m, 3H), 6,93 – 6,84 (m, 2H), 5,34 (d, $J = 6,7\text{Hz}$, 1H), 4,98 (dd, $J = 6,6, 3,5\text{Hz}$, 1H), 4,59 – 4,50 (m, 1H), 4,36 – 4,22 (m, 2H), 4,02 (dd, $J = 10,9, 5,7\text{Hz}$, 1H), 3,91 (dd, $J = 10,9, 5,7\text{Hz}$, 1H), 3,83 (dq, $J = 9,7, 7,1\text{Hz}$, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,50 – 1,41 (m, 1H), 1,39 (s, 3H), 1,36 – 1,21 (m, 7H), 0,86 (t, $J = 7,4\text{Hz}$, 6H). MS $m/z = 643,21$ $[\text{M}+1]$.

Điều chế (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat (Hợp chất 32)



Acetonit thô (12,85g) kết hợp với tetrahydrofuran (50mL) và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được hấp thụ trong tetrahydrofuran (100mL), làm lạnh đến khoảng 0°C và HCl đã cô (20mL) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp được làm nóng đến nhiệt độ xung quanh. Sau khi tiêu thụ acetonit ban đầu như được chỉ thị bằng phân tích HPLC, nước (100mL) được bổ sung sau đó là dung dịch natri bicacbonat bão hòa nước (200mL). Hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (100mL), pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước muối bão hòa nước (50mL), được sấy khô trên natri sulfat hóa và được cô trong áp suất giảm. Sản phẩm dư được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel sử dụng gradient của metanol và etyl axetat (0 đến 20%). Sản phẩm chứa các phân đoạn được cô trong áp suất giảm để thu được sản phẩm.

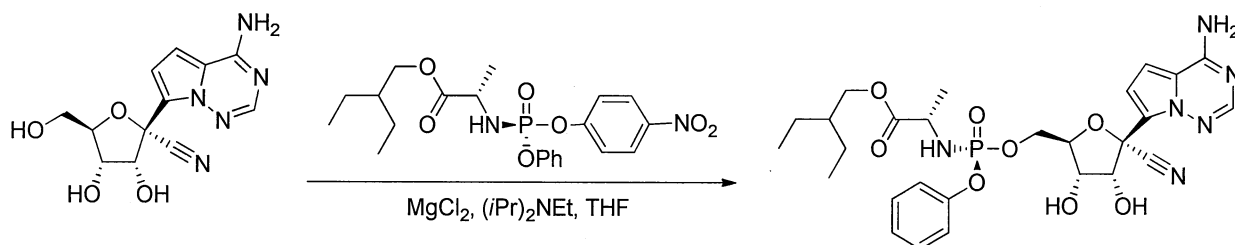
Điều chế (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino) propanoat (Hợp chất 32)



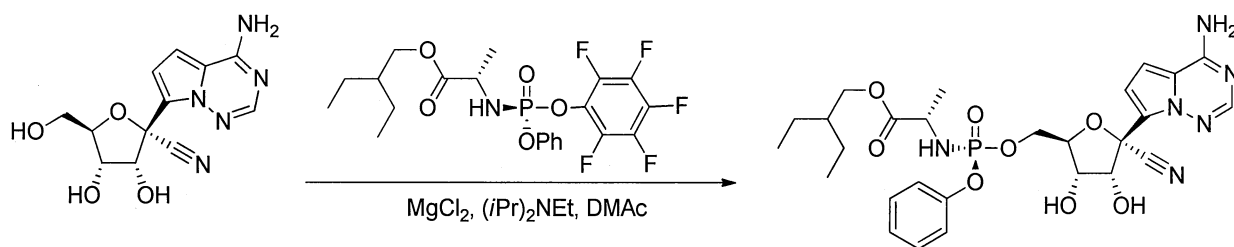
Lọ nhỏ chứa (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((3aR,4R,6R,6aR)-6-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-6-xyano-2,2-dimethyltetrahydrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (30mg, 0,05mmol) được bổ sung

dung dịch axit formic nước 80% (1,5mL). Sau 18 giờ ở khoảng 20°C chuyển hóa hoàn toàn được xác nhận bằng HPLC và LC-MS. MS (m/z) = 603($M+1$)⁺.

Điều chế (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (Hợp chất 32) qua ghép nối trực tiếp

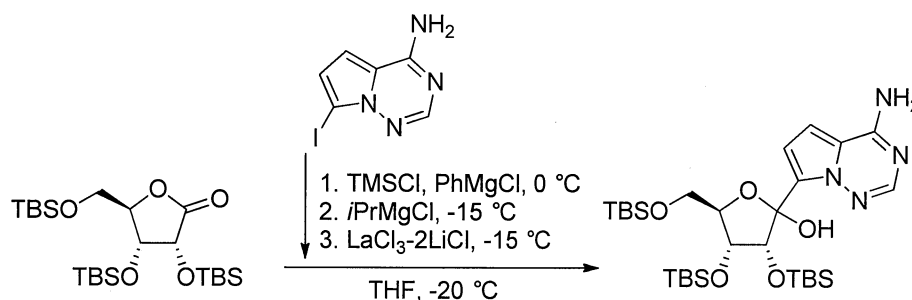


Hỗn hợp của (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (0,5g, 2mmol), (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (0,9g, 2mmol), và $MgCl_2$ (0,2g, 2mmol), được nạp N,N-dimethylacetamid (10mL). Hỗn hợp tạo ra được đun nóng đến khoảng 30°C với khuấy không đổi. N,N-Diisopropyletylamin (0,7mL, 4mmol) sau đó được bổ sung từ từ, và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 6 giờ. Nước (10mL) được nạp H_2O , sau đó là 2-MeTHF (10mL), và các pha hữu cơ và nước được phân tách. Lớp nước sau đó được chiết lại bằng 2-MeTHF (10mL). Các lớp hữu cơ được kết hợp, và được rửa bằng dung dịch axit xitric 10% trọng lượng (10mL), sau đó là dung dịch K_2CO_3 10% trọng lượng (10mL), và H_2O (10mL). Lượng nhỏ nước muối được bổ sung để hòa tan nhũ tương trong nước rửa trước khi các lớp được phân tách. Lớp hữu cơ được làm bay hơi đến khô để cho 0,65 g bột xốp. *i*PrOAc (2,6mL) được bổ sung sau đó được bổ sung, và hỗn hợp được đun nóng đến khoảng 40°C để hòa tan. Dung dịch được làm lạnh đến khoảng 20°C, và hỗn hợp được khuấy trong khoảng 3 ngày. Các chất rắn được phân lập bằng lọc, và bánh lọc được rửa bằng lượng nhỏ *i*PrOAc. Các chất rắn được sấy khô để cho (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat.



Hỗn hợp của (2R,3R,4S,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril (0,2g, 0,7mmol), (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (0,3g, 0,7mmol), và MgCl_2 (0,1g, 1 mmol), được nạp N,N-dimetylacetamide (4mL). Hỗn hợp tạo ra được đun nóng đến khoảng 30°C với khuấy không đổi. N,N-Diisopropyletylamin (0,3mL, 2mmol) sau đó được bổ sung từ từ, và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 giờ. Chuyển hóa thành sản phẩm được xác nhận thông qua phân tích UPLC.

Điều chế (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol



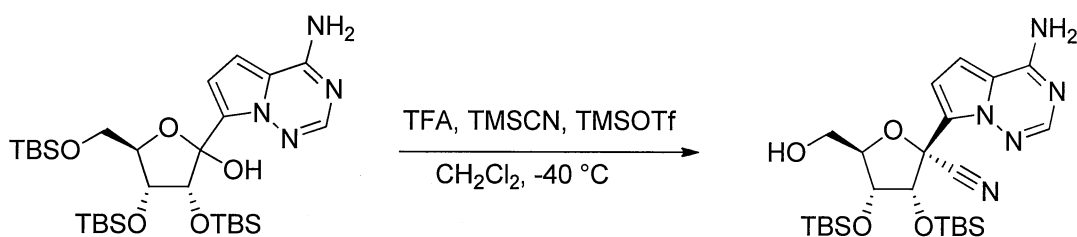
Dung dịch 7-iodopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-4-amin (13,9 g, 53,5 mmol) được điều chế trong THF (280mL). Dung dịch được làm lạnh đến khoảng 0°C , và TMSCl (13,6mL, 107mmol) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 20 phút, và sau đó PhMgCl (2M trong THF; 53,5mL, 56,8mmol) được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng 5°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở khoảng 0°C trong khoảng 30 phút, và sau đó làm lạnh đến khoảng -20°C . $i\text{PrMgCl-LiCl}$ (1,3 M trong THF, 43,1mL, 56mmol) sau đó được bổ sung trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới khoảng -15°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 30 phút ở khoảng -20°C .

Trong bình riêng biệt, dung dịch (3R,4R,5R)-3,4-bis((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2(3H)-on (25,0g, 50,9mmol, 0,83 đương lượng) được điều chế trong $\text{LaCl}_3\text{-2LiCl}$ (0,6M trong

THF, 85mL, 50,9mmol). Dung dịch sau đó được chuyển sang dung dịch Grignard trong khi duy trì nhiệt độ trong dưới -20°C . Hỗn hợp phản ứng tạo ra được khuấy ở khoảng -20°C trong khoảng 4 giờ.

Phản ứng được làm nguội bằng HCl 1M (140mL), và hỗn hợp được đun nóng đến nhiệt độ xung quanh. EtOAc (140mL) được bổ sung, và các pha hữu cơ và nước được phân tách. Lớp nước được chiết bằng EtOAc (200mL). Các lớp EtOAc kết hợp được chiết tuần tự bằng NaHCO_3 nước bão hòa (2 x 200mL), nước (200mL), và nước muối (200mL). Lớp hữu cơ được cô, và sau đó được tinh chế bằng sắc ký silica gel (30% EtOAc/hexan) để cho (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol. ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8,15 – 7,88 (m, 1H), 7,51 (d, $J = 4,8\text{Hz}$, 0,5H), 7,02 – 6,92 (m, 0,5H), 6,65 – 6,57 (m, 1H), 5,66 – 5,24 (m, 3H), 4,49 – 3,50 (m, 4H), 0,97 – 0,78 (26H), 0,65 (s, 1,5H), 0,19 – 0,00 (m, 15,5H), $-0,22$ (s, 1H), $-0,55$ (s, 1H). MS $m/z = 626$ (M+H).

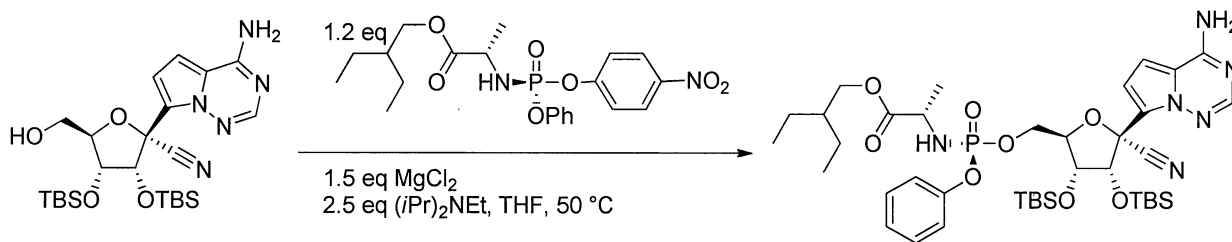
Điều chế (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-carbonitril



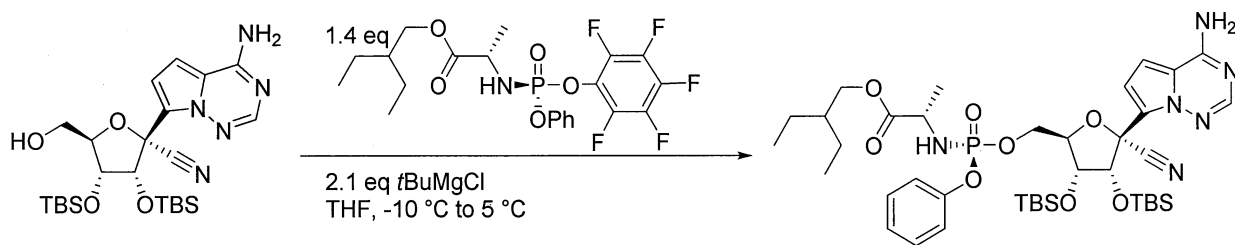
Dung dịch (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol (1,50g, 2,40mmol) trong CH_2Cl_2 (15mL) được làm lạnh đến khoảng -40°C . Axit trifluoroacetic (0,555mL, 7,20mmol) được bổ sung giữ nhiệt độ dưới -20°C . Trong bình riêng biệt, trimethylsilyl trifluorometanesulfonat (2,60mL, 14,4mmol) được bổ sung vào 5mL CH_2Cl_2 (5mL) ở khoảng 15°C , sau đó là trimethylsilyl cyanit (1,92mL, 14,4mmol), và dung dịch làm lạnh đến khoảng -30°C . Dung dịch đã làm lạnh được bổ sung vào dung dịch (3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)tetrahydrofuran-2-ol trong khi giữ nhiệt độ dưới -25°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 phút ở khoảng -30°C . Phản ứng được làm nguội bằng triethylamin (3,34mL, 24,0mmol) và hỗn hợp

được đun nóng đến khoảng 0°C. Nước (50mL) được bổ sung trong khi giữ nhiệt độ dưới khoảng 20°C. Khi việc bổ sung hoàn toàn hỗn hợp được khuấy trong 15 phút ở nhiệt độ phòng. Các lớp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa tuần tự bằng KOH (20mL), nước (20mL), và nước muối (20mL). Lớp hữu cơ được sấy khô trên Na₂SO₄, được cô, và sau đó được tinh chế bằng sắc ký silica gel (EtOAc / hexan 30%) để cho sản phẩm dưới dạng hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang 3,8:1). Hỗn hợp được tinh chế thêm bằng prep-HPLC (ACN 0 đến 95% trong nước) để cho sản phẩm dưới dạng đồng phân không đối quang đơn. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,14-7,92 (m, 2H), 7,89 (s, 1H), 6,95 (d, *J* = 4,8Hz, 1H), 6,88 (d, *J* = 4,4Hz, 1H), 5,27 (d, *J* = 4,6Hz, 1H), 5,10 (dd, *J* = 7,7, 4,6Hz, 1H), 4,31 (dd, *J* = 4,7, 1,4Hz, 1H), 4,12 (ddd, *J* = 5,9, 4,1, 1,4Hz, 1H), 3,80 – 3,69 (m, 1H), 3,56 (td, *J* = 7,8, 3,9Hz, 1H), 0,93 (s, 9H), 0,75 (s, 9H), 0,11 (s, 3H), 0,09 (s, 3H), -0,15 (s, 3H), -0,62 (s, 3H). MS *m/z* = 520 (M+H).

Điều chế (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-5-xyanotetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy) phosphoryl)amino)propanoat

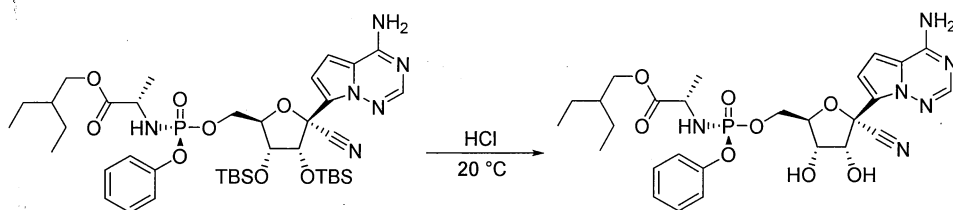


Hỗn hợp của (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril (16mg, 0,03mmol), (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (17mg, 0,04mmol), và MgCl₂ (4mg, 0,05mmol), được nạp THF (0,3mL). Hỗn hợp tạo ra được đun nóng đến khoảng 50°C với khuấy không đổi. N,N-Diisopropyletylamin (0,013mL, 0,08mmol) sau đó được bổ sung, và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 21 giờ. Chuyển hóa thành sản phẩm được xác nhận thông qua phân tích UPLC và LC-MS. MS *m/z* = 831 (M+H).



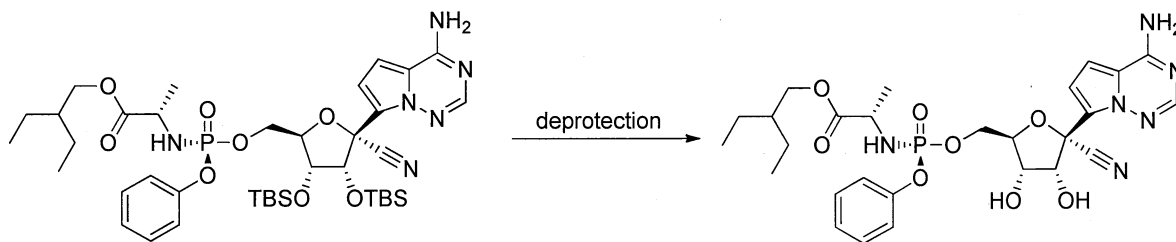
Dung dịch (2R,3R,4R,5R)-2-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-2-cacbonitril (16mg, 0,03mmol) trong THF (0,3mL) làm lạnh đến -10°C . $t\text{BuMgCl}$ được bổ sung từng giọt (0,07mL, 0,07mmol), sau đó là dung dịch (S)-2-etylbutyl 2-(((S)-((perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (22mg, 0,04mmol) trong THF (0,15mL). Hỗn hợp phản ứng được đun nóng đến 5°C , và được khuấy trong 16 giờ. Phản ứng được làm nguội bằng MeOH, được cô, và sau đó được tinh chế bằng sắc ký silica gel (EtOAc /hexan) để cho sản phẩm. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,97 (s, 1H), 7,38 – 7,29 (m, 2H), 7,25 – 7,21 (m, 2H), 7,21 – 7,13 (m, 1H), 7,11 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,65 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 5,88 (br s, 2H), 5,35 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 4,49 – 4,41 (m, 1H), 4,41 – 4,35 (m, 1H), 4,32 – 4,26 (m, 1H), 4,24 (dd, $J = 4,5, 1,7$ Hz, 1H), 4,10 – 3,99 (m, 2H), 3,96 (dd, $J = 10,9, 5,7$ Hz, 1H), 3,80 – 3,72 (m, 1H), 1,48 (h, $J = 6,2$ Hz, 1H), 1,39 – 1,28 (m, 7H), 0,96 (s, 9H), 0,85 (t, $J = 7,5$ Hz, 6H), 0,80 (s, 9H), 0,08 (s, 3H), 0,07 (s, 3H), -0,13 (s, 3H), -0,56 (s, 3H). ^{31}P NMR (162MHz, CDCl_3) δ 2,74 (s). MS $m/z = 831$ ($\text{M}+\text{H}$).

Điều chế (S)-2-etylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat



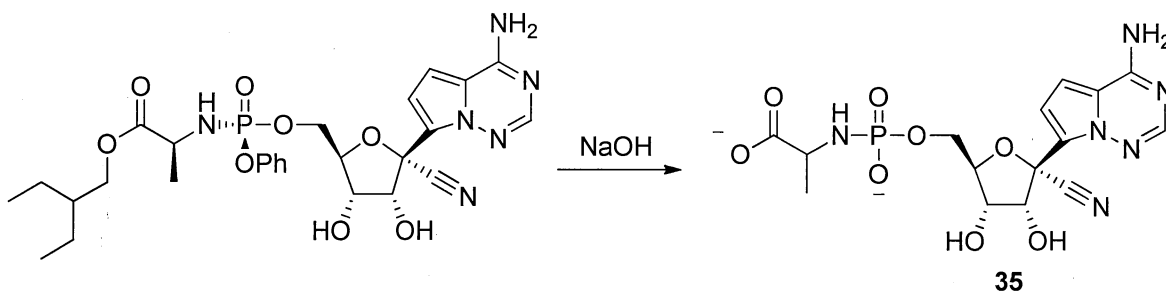
Dung dịch thô (S)-2-etylbutyl 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-xyanotetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat được làm lạnh đến khoảng 0°C và conc HCl (0,05mL, 0,62mmol) được bổ sung từ từ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy

trong khoảng 72 giờ ở khoảng 20°C. Chuyển hóa thành sản phẩm được xác nhận thông qua phân tích UPLC và LC-MS. MS m/z = 603 (M+H).



Dung dịch (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-3,4-bis((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-xyanotetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat trong florua hoặc axit có thể gỡ bỏ dung dịch (S)-2-ethylbutyl 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat. Florua đại diện bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở TBAF, KF, pyridini hydroflorua, trietylamoni hydroflorua, hydro hydroflorua, axit hydrochloric, axit toluensulfonic, hoặc nguồn florua thích hợp khác bất kỳ. Các axit đại diện bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở axit được tìm thấy trong Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups In Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, **2006**.

Ví dụ 35-a. (((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)oxidophosphoryl)alaninat (Hợp chất 35)



2-ethylbutyl ((S)-(((2R,3S,4R,5R)-5-(4-aminopyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-7-yl)-5-xyano-3,4-dihydroxytetrahydrofuran-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)-L-alaninat (130mg, 0,216mmol) được hòa tan trong hỗn hợp của acetonitril (6mL) và nước (2mL). Dung dịch natri hydroxit nước (2N, 0,5mL) được bổ sung từng giọt trên 5 phút ở RT và hỗn hợp phản ứng được khuấy. Sau 2 giờ, hỗn hợp tạo ra được cô trong áp suất giảm và sản phẩm dư được tinh chế bằng HPLC trên cột C18 rửa giải bằng nước để cho sản

phẩm mong muốn dưới dạng muối bis-natri. ^1H NMR (400MHz, D_2O) δ 7,79 (s, 1H), 6,86 (d, $J = 4,7\text{Hz}$, 1H), 6,80 (d, $J = 4,7\text{Hz}$, 1H), 4,86 (d, $J = 5,4\text{Hz}$, 1H), 4,40 – 4,34 (m, 1H), 4,30 (dd, $J = 5,3, 3,0\text{Hz}$, 1H), 3,75 (qdd, $J = 11,6, 4,5, 3,1\text{Hz}$, 2H), 3,20 (dq, $J = 8,6, 7,1\text{Hz}$, 1H), 0,86 (d, $J = 7,0\text{Hz}$, 3H). ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) δ 7,30. LCMS m/z 442,95 $[\text{M}+\text{H}]$. HPLC (MeCN 2-98%– gradient H_2O với chất điều biến TPA 0,1% trên 8,5 phút, 1,5mL/phút, Cột: Phenomenex Kinetex C18, 2,6 μm 100Å, 4,6 x 100mm) $t_R = 2,694$ phút.

B. Hoạt tính kháng virus

Khía cạnh khác theo sáng chế đề cập đến các phương pháp ức chế sự lây nhiễm virus, bao gồm bước điều trị mẫu hoặc đối tượng bị nghi là cần phải ức chế với chế phẩm theo sáng chế.

Theo sáng chế các mẫu bị nghi là chứa virus bao gồm các vật liệu tự nhiên hoặc nhân tạo như các sinh vật sống; mô hoặc nuôi cấy tế bào; các mẫu sinh học như mẫu vật liệu sinh học (máu, huyết thanh, nước tiểu, dịch não tủy, nước mắt, đờm, nước bọt, các mẫu mô, và mẫu tương tự); mẫu phòng thí nghiệm; đồ ăn, nước, hoặc mẫu không khí; các mẫu sinh phẩm như chất chiết của tế bào, đặc biệt là tế bào tái tổ hợp tổng hợp glycoprotein mong muốn; và mẫu tương tự. Thông thường mẫu sẽ bị nghi ngờ chứa sinh vật gây ra sự lây nhiễm virus, thường là sinh vật gây bệnh như virus gây ra khối u. Các mẫu có thể là được chứa trong môi trường bất kỳ bao gồm nước và hỗn hợp nước/dung môi hữu cơ. Các mẫu bao gồm sinh vật sống như người, và vật liệu nhân tạo như nuôi cấy tế bào.

Nếu muốn, hoạt tính kháng virus của hợp chất theo sáng chế sau khi cho dùng chế phẩm có thể được quan sát bằng phương pháp bất kỳ bao gồm các phương pháp trực tiếp và gián tiếp phát hiện hoạt tính này. Các phương pháp định lượng, định tính, và bán định lượng xác định hoạt tính này tất cả được dự phòng. Thông thường là một trong các phương pháp rà soát được mô tả ở trên được áp dụng, tuy nhiên, phương pháp khác bất kỳ như quan sát các tính chất sinh lý của sinh vật sống cũng có thể áp dụng.

Hoạt tính kháng virus của hợp chất theo sáng chế có thể được đo sử dụng các giao thức rà soát chuẩn đã biết. Ví dụ, hoạt tính kháng virus của hợp chất có thể được đo sử dụng giao thức chung sau đây.

Virut	Dòng tế bào	Định dạng tấm	Số tế bào	MOI (pfu/tế bào)	Ủ (Ngày)	Hiện thị	Giá trị
EBOV (Zaire)	Hela	384	4000	0,5	2	HCS	EC50
EBOV (Zaire)	HFF-1			2		HCS	
EBOV-GFP	Huh-7	96	10000	0,1	4	GFP	
EBOV-GFP	HMVEC-TERT					GFP	
EBOV-LUC	Huh-7					LUC	
MARV-GFP	Huh-7					GFP	
NiV	Hela					CPE	
NiV-GFP	HMVEC-TERT					GFP	
NiV-LUC	HMVEC-TERT					LUC	

EBOV: Chủng virut Ebola lưu hành ở Zaire

EBOV-GFP: Virut báo cáo Ebola biểu hiện protein huỳnh quang xanh

EBOV-LUC: Virut báo cáo Ebola biểu hiện luciferaza

MARV-GFP: Virut Marburg biểu hiện protein huỳnh quang xanh

NiV: Virut Nipah

NiV-GFP: Virut báo cáo Nipah biểu hiện protein huỳnh quang xanh

NiV-LUC: Virut báo cáo Nipah biểu hiện luciferaza

HCS: Ảnh nội dung cao (ăn mòn miễn dịch của virut ebola GP-protein)

GFP: Protein huỳnh quang xanh

LUC: Luxiferaza

CPE Tác dụng trên tế bào đo bằng thuốc thử cell titer glo (CTG)

Hela: Tế bào biểu mô Hela (ung thư cổ tử cung)

HFF-1: Tế bào ở da bao quy đầu của người

Huh-7: Tế bào gan

HMVEC-TERT: Tế bào nội mô mạch máu nhỏ của người được làm cho sống bằng protein xúc tác telomeraza

Ví dụ 36. Các thí nghiệm về độc tính tế bào và hoạt tính kháng virus Ebola

Hoạt tính kháng virus của hợp chất 1 và hợp chất 9 được đo kháng virus Ebola (EBOV), virus Marburg (MARV) (Bảng 2), và virus Nipah (NiV) (Bảng 3) sử dụng các virus báo cáo sao chép đầy đủ biểu hiện luxiferaza hoặc protein huỳnh quang xanh (GFP) (Uebelhoer, L.S., 2014. AVR; Hoenen, T., 2013. AVR). Hoạt tính kháng virus khác của hợp chất 1 và hợp chất 9 được đo kháng virus Ebola (EBOV), virus Marburg (MARV) (Bảng 2-a), sử dụng các virus báo cáo sao chép đầy đủ biểu hiện luxiferaza hoặc protein huỳnh quang xanh (GFP) (Uebelhoer, L.S., 2014. AVR; Hoenen, T., 2013. AVR). Tất cả các nghiên cứu được thực hiện ở vật chứa mức an toàn sinh học 4 (BSL-4) ở trung tâm kiểm soát và phòng ngừa bệnh (CDC). Các thí nghiệm kháng virus Ebola được thực hiện cơ bản ở tế bào nội mô mạch máu nhỏ của người được làm cho sống bằng protein xúc tác telomeraza (HMVEC-TERT) và ở tế bào Huh-7 (Shao, R., 2004, BBRC). Hoạt tính kháng virus Nipah được đo ở tế bào HMVEC-TERT và Hela.

Thí nghiệm kháng virus được thực hiện ở các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa đơn lớp tế bào được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của tế bào chưa bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình

ảnh bằng huỳnh quang trực tiếp cho các virus báo cáo GFP hoặc sau khi bổ sung thêm nền luxiferaza cho các virus báo cáo luxiferaza. Đối với các thí nghiệm tạo ra virus, môi trường từ tế bào bị nhiễm được loại bỏ và một phần được sử dụng để định lượng ARN virus bằng phản ứng mạch polymeraza định lượng phiên mã ngược (RT-qPCR). Môi trường còn lại liên tục được pha loãng và lượng virus truyền nhiễm được đo bằng cách sử dụng môi trường được pha loãng để lây nhiễm vào các đơn lớp tế bào mới để xác định liều truyền nhiễm mô do 50% tác dụng trên tế bào (TCID₅₀) sử dụng thuốc thử Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). Đối với các thí nghiệm tác dụng trên tế bào virus (CPE), khả năng sống được của tế bào bị nhiễm được đo sử dụng thuốc thử Cell TiterGlo.

Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC₅₀ đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 37. Tế bào EBOV-GFP HMVEC-TERT

Tế bào HMVEC-TERT được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm 96 lỗ chứa các đơn lớp HMVEC-TERT được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus EBOV-GFP, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh bằng huỳnh quang trực tiếp để đo biểu hiện GFP từ virus báo cáo. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC₅₀ đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 38. EBOV-GFP Huh-7 tế bào

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm 96 lỗ chứa các đơn lớp Huh-7 được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus EBOV-GFP, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh bằng huỳnh quang trực tiếp để đo biểu hiện GFP từ virus báo cáo. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 39. Tế bào EBOV-Luc Huh-7

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp tế bào được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus EBOV-Luc, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh sau khi bổ sung thêm nền luxiferaza. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 40. Tế bào MARV-GFP Huh-7

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 μ L/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm 96 lỗ chứa các đơn lớp Huh-7 được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus MARV-GFP, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sự sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh bằng huỳnh quang trực tiếp để đo biểu hiện GFP từ virus báo cáo. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 41. Ebola Huh-7 (ARN)

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 μ L/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp Huh-7 được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus EBOV, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, môi trường từ tế bào bị nhiễm được loại bỏ và một phần được sử dụng để định lượng ARN virus bằng phản ứng mạch polymeraza định lượng phiên mã ngược (RT-qPCR). Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 42. Ebola Huh-7 (Sản lượng)

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 μ L/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp Huh-7 được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus EBOV, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, môi trường từ tế bào bị nhiễm được loại bỏ và được pha loãng theo dãy 10 lần. Lượng virus truyền nhiễm được đo bằng cách sử dụng môi trường được pha loãng để lây nhiễm vào các đơn lớp tế bào mới để xác định liều truyền nhiễm mô do 50% tác dụng trên tế bào (TCID₅₀) sử dụng thuốc thử Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC₅₀ đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 43. Tế bào Ebola HeLa

Hoạt tính kháng virus của các hợp chất được lựa chọn được đo kháng virus ebola (EBOV) chủng Zaire được thực hiện ở vật chứa mức an toàn sinh học 4 (BSL-4) ở Viện Nghiên cứu Quân y Hoa Kỳ đối với các Bệnh lây nhiễm (USAMRIID). Tế bào HeLa được tạo mầm trong các tấm 384 lỗ ở 5000 tế bào / lỗ. Hoạt tính kháng virus của mỗi hợp chất được đo bốn lần. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được bổ sung trực tiếp vào môi trường nuôi cấy tế bào sử dụng máy in kỹ thuật số HP300 số gia pha loãng theo dãy 3 lần 2 giờ trước khi lây nhiễm. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ

trong 2 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, tế bào được cố định trong dung dịch formalin và sự sao chép virus được đo bằng định lượng các mức glycoprotein Ebola sau khi ăn mòn miễn dịch và ảnh nội dung cao sử dụng thiết bị kính hiển vi đồng tiêu Perkin Elmer Opera. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 44. Môi trường nuôi cấy đại thực bào Ebola

Hoạt tính kháng virus của các hợp chất được lựa chọn được đo kháng virus ebola (EBOV) chủng Zaire được thực hiện ở vật chứa mức an toàn sinh học 4 (BSL-4) ở Viện Nghiên cứu Quân y Hoa Kỳ đối với các Bệnh lây nhiễm (USAMRIID). Các môi trường nuôi cấy đại thực bào được phân lập khỏi PBMCs ở người mới và phân biệt ở sự có mặt của 5ng/ml GM-CSF và 50uM B-mercaptoetanol. Môi trường được thay đổi mỗi 2 ngày và tế bào tham gia vào tấm môi trường nuôi cấy mô sau 7 ngày được loại bỏ bằng EDTA 0,5M trong 1x PBS, được cô bằng ly tâm tại 200 x g trong 10 phút và được đặt trong các tấm thí nghiệm 384 lỗ ở 40.000 tế bào / lỗ. Hoạt tính kháng virus của mỗi hợp chất được đo bốn lần. Tấm đến mười phần cô đặc của hợp chất được bổ sung trực tiếp vào môi trường cấy tế bào sử dụng máy in kỹ thuật số HP300 số gia pha loãng theo dãy 3 lần 2 giờ trước khi lây nhiễm. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 2 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, tế bào được cố định trong dung dịch formalin và sự sao chép virus được đo bằng định lượng các mức glycoprotein Ebola sau khi ăn mòn miễn dịch và ảnh nội dung cao sử dụng thiết bị kính hiển vi đồng tiêu Perkin Elmer Opera. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 45. Tế bào Nipah-GFP HMVEC-TERT

Tế bào HMVEC-TERT được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm 96 lỗ chứa các đơn lớp HMVEC-TERT được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus NiV-GFP, trước đó được xác định bằng phép chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sự sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh bằng huỳnh quang trực tiếp để đo biểu hiện GFP từ virus báo cáo. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với các đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 46. NiV-Luc HMVEC-TERT

Tế bào HMVEC-TERT được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp tế bào được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus NiV-Luc, trước đó được xác định bằng chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, sự sao chép virus được đo trong thiết bị đọc tấm hình ảnh sau khi bổ sung thêm nền luxiferaza. Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 47. NiV Hela (Sản lượng)

Tế bào Hela được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp tế bào Hela được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus Niv, trước đó được xác định bằng chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 4 ngày trong thiết bị ấp môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, môi trường từ tế bào bị nhiễm được loại bỏ và được pha loãng theo dãy 10 lần. Lượng lây nhiễm virus truyền nhiễm được đo bằng cách sử dụng môi trường được pha loãng để lây nhiễm vào các đơn lớp tế bào mới để xác định liều truyền nhiễm mô do 50% tác dụng trên tế bào (TCID₅₀) sử dụng thuốc thử Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI). Phần trăm ức chế được tính toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC₅₀ đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Ví dụ 48. Niv Hela (ARN)

Tế bào Huh-7 được tạo mầm trong các tấm 96 lỗ. Tám đến mười phần cô đặc của hợp chất được pha loãng số gia pha loãng theo dãy 3 lần trong môi trường và 100 uL/lỗ của mỗi lần pha loãng được chuyển thành ba lần lên các tấm chứa các đơn lớp tế bào Hela được tạo mầm sơ bộ. Các tấm được chuyển sang vật chứa BSL-4 và độ pha loãng thích hợp của nguyên liệu virus Niv, trước đó được xác định bằng chuẩn độ và được điều chế trong môi trường nuôi cấy tế bào, được bổ sung vào các tấm thử nghiệm chứa tế bào và các hợp chất được pha loãng liên tục. Mỗi tấm bao gồm ba lỗ của tế bào bị nhiễm không được điều trị và ba lỗ của các tế bào không bị nhiễm lần lượt là đối chứng ức chế virus 0% và 100%. Sau lây nhiễm, các tấm thử nghiệm được ủ trong 3 đến 4 ngày trong thiết bị ủ môi trường nuôi cấy mô. Sau khi ủ, môi trường từ tế bào bị nhiễm được loại bỏ và một phần được sử dụng để định lượng ARN virus bằng phản ứng mạch polymeraza định lượng phiên mã ngược (RT-qPCR). Phần trăm ức chế được tính

toán cho mỗi nồng độ được kiểm tra tương ứng với đối chứng ức chế 0% và 100% và giá trị EC_{50} đối với mỗi hợp chất được xác định bằng hồi quy phi tuyến làm nồng độ hữu hiệu của hợp chất ức chế sự sao chép virus khoảng 50%.

Bảng 2: Thử nghiệm kháng virus Ebola và Marburg

	EC ₅₀ (nM)							
Thí nghiệm	Virus báo cáo				ARN	Tạo ra	Biểu hiện kháng thể (ảnh nội dung cao)	
Virus	EBOV-GFP		EVOV-Luc	MARV-GFP	Ebola			
Dòng tế bào	HMVEC-TERT	Huh-7	Huh-7	Huh-7	Huh-7		Hela	Macrophage
Hợp chất 1	771	1492	3126	1726	ND	ND	>20.000	>20.000
Hợp chất 9	121	90	ND	ND	1	1029	290	501
(R)-Đồng phân không đối quang của Hợp chất 9	62	70	ND	ND	ND	ND		
(S)-Đồng phân không đối quang của Hợp chất 9 (Hợp chất 32)	40	81	ND	ND	ND	ND		
Hợp chất 10								
Hợp chất 15	630	271	ND	ND	ND	ND		
Hợp chất 21	905							270
Hợp chất 22	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
Hợp chất 23	458						1650	243.350
Hợp chất 24								
Hợp chất 25								
Hợp chất 26	283						970.1180	1180
Hợp chất 27	82						182	

Hợp chất 28	102						975	120
Hợp chất 29								
Hợp chất 30								
Hợp chất 31	11061						>20.000	1230

EBOV-GFP: Virut Ebola biểu hiện gen báo cáo GFP

EBOV-Luc: Virut Ebola biểu hiện gen báo cáo luxiferaza

MARV-GFP: Virut Marburg biểu hiện gen báo cáo GFP

Ebola: Chứng virut Ebola 2014

Bảng 2-a: Các thí nghiệm kháng virut Ebola và Marburg

	EC ₅₀ (nM)							
Thí nghiệm	Virut báo cáo				ARN	Tạo ra	Biểu hiện kháng thể (ảnh nội dung cao)	
Virut	EBOV-GFP		EVOV-Luc	MARV-GFP	Ebola			
Dòng tế bào	HMVEC-TERT	Huh-7	Huh-7	Huh-7	Huh-7		Hela	Macrophage
Hợp chất 1	771	1492	3126	1726	ND	ND	>20.000	>20.000
Hợp chất 9	121	90	ND	ND	1	1029	290, 270	501, 70
(R)-Đồng phân không đối quang của hợp chất 9	62	70	ND	ND	ND	ND	210	112
(S)-Đồng phân không đối quang của hợp chất 9 (Hợp chất 32)	40	81	ND	ND	ND	ND	100	87
Hợp chất 10							3200	
Hợp chất 15	630	271	ND	ND	ND	ND	520	501
Hợp chất 21	905, 473							270
Hợp chất 22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	11570	
Hợp chất 23	458						1650, 1845	243, 350, 297
Hợp chất 24							785	
Hợp chất 25							6720	
Hợp chất 26	283						970,	1180, 1290

							1180, 1103	
Hợp chất 27	82						182	
Hợp chất 28	102						975, 682	120
Hợp chất 29							275	
Hợp chất 30	11061						>20000	1230
Hợp chất 31							>20.000, >10000	

EBOV-GFP: Virut Ebola biểu hiện gen báo cáo GFP

EBOV-Luc: Virut Ebola biểu hiện gen báo cáo luxiferaza

MARV-GFP: Virut Marburg biểu hiện gen báo cáo GFP

Ebola: Chứng virut Ebola 2014

Bảng 3: Các thí nghiệm kháng virut Nipah và Hendra

	EC ₅₀ (nM)			
Thí nghiệm	Virut báo cáo		CPE	Tạo ra
Virut	NiV GFP	NiV Luc	NiV	
Dòng tế bào	HMVEC-TERT		Hela	
Hợp chất 1	13420	3500	1484	1000
Hợp chất 9	60	30	ND	ND

NiV GFP: Virut Nipah biểu hiện gen báo cáo GFP

NiV-Luc: Virut Nipah biểu hiện gen báo cáo luxiferaza

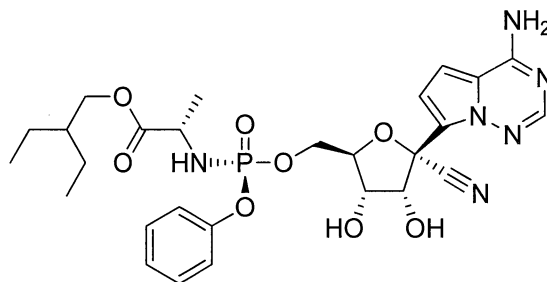
NiV: Virut Nipah

Tất cả các ấn phẩm, bằng sáng chế và tài liệu bằng sáng chế được trích dẫn ở trên trong bản mô tả này được kết hợp bằng cách tham khảo trong bản mô tả này, cũng như được kết hợp bằng cách tham khảo riêng rẽ.

Sáng chế đã được mô tả có tham chiếu đến các phương án và phương pháp cụ thể và được ưu tiên khác nhau. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng nhiều cải biến và thay đổi có thể được thực hiện trong khi vẫn nằm trong phạm vi của sáng chế.

Yêu cầu bảo hộ

1. Hợp chất có cấu trúc:



hoặc muối được dụng của nó.

2. Dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, và một hoặc nhiều chất mang được dụng.

3. Dược phẩm theo điểm 2, trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một chất điều trị bệnh khác.

4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó ít nhất một chất điều trị bệnh khác được chọn từ nhóm bao gồm corticosteroid, chất điều biến tải nạp tín hiệu kháng viêm, tác nhân làm giãn phế quản chủ vận thụ thể adrenalin β_2 , chất chống tiết cholin, chất tiêu nhầy, dung dịch muối ưu trương và các chất khác dùng để điều trị sự lây nhiễm virus *Filoviridae*; hoặc hỗn hợp của chúng.

5. Dược phẩm theo điểm 4 trong đó ít nhất một chất điều trị bệnh khác được chọn từ ribavirin, palivizumab, motavizumab, RSV-IGIV (RespiGam[®]), MEDI-557, A-60444, MDT-637, BMS-433771, amiodaron, dronedaron, verapamil, Ebola Convalescent Plasma (ECP), TKM-100201, BCX4430 ((2S,3S,4R,5R)-2-(4-amino-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-5-(hydroxymethyl)pyrrolidin-3,4-diol), favipiravir (cũng biết dưới dạng T-705 hoặc Avigan), T-705 monophosphat, T-705 diphosphat, T-705 triphosphat, FGI-106 (1-N,7-N-bis[3-(dimethylamino)propyl]-3,9-dimethylquinolino[8,7-h]quinolon-1,7-diamin), JK-05, TKM-Ebola, ZMapp, rNAPc2, VRC-EBOADC076-00-VP, OS-2966, MVA-BN filo, brincidofovir, vaccin ebola trên cơ sở vectơ adenovirus Vaxart 5, Ad26-ZEBOV, vaccin FiloVax, GOVX-E301, GOVX-E302, chất ức chế xâm nhập virus ebola (chất ức chế NPC1), hoặc rVSV-EBOV hoặc hỗn hợp của chúng.

6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó ít nhất một chất điều trị bệnh khác là ZMapp.