



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



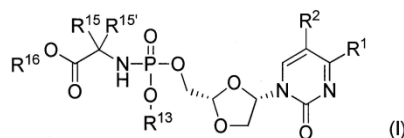
1-0026949

(51)⁷ C07D 405/04; C07F 9/24; A61K 31/506; (13) B
A61P 35/00

- (21) 1-2017-00654 (22) 24/08/2015
(86) PCT/EP2015/069370 24/08/2015 (87) WO 2016/030335 03/03/2016
(30) 1450983-0 25/08/2014 SE; 1550858-3 22/06/2015 SE
(45) 25/01/2021 394 (43) 26/06/2017 351A
(73) MEDIVIR AB (SE)
Blasieholmsgatan 2, S-11148 Stockholm, Sweden
(72) BETHEL, Richard (GB); ENEROTH, Anders (SE); KLASSON, Björn (SE);
ÖBERG, Fredrik (SE).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT PHOSPHORAMIDAT CỦA TROXACITABIN, CÁC CHẤT TƯƠNG
TỰ NÓ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức:



R¹ là OR¹¹, hoặc NR⁵R^{5'};

R² là H hoặc F;

R⁵ là H, C₁-C₆alkyl, OH, C(=O)R⁶, O(C=O)R⁶ hoặc O(C=O)OR⁶;

R^{5'} là H hoặc C₁-C₆alkyl;

R₆ là C₁-C₆alkyl hoặc C₃-C₇cycloalkyl;

R¹³ là H, phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl hoặc naphthyl trong đó phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl và naphthyl này tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 R²²;

và các biến số khác là như được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ,
mà hữu ích để điều trị bệnh ung thư, và các khía cạnh liên quan.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến tiền dược chất chứa phospho của troxacitabin và các dẫn xuất của nó hữu ích trong việc điều trị các bệnh ung thư, cụ thể là ung thư gan như canxinom tế bào gan (HCC) và các bệnh ung thư gan thứ phát. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm và hỗn hợp chứa các hợp chất này, và dược phẩm chứa chúng để điều trị bệnh ung thư, cụ thể là bệnh ung thư gan như HCC.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Bệnh ung thư gan nguyên phát là bệnh ung thư có tần suất mắc phải nhiều nhất, đứng thứ 6 trên toàn cầu và là nguyên nhân đứng thứ hai gây tử vong do ung thư. Ung thư gan tần suất mắc phải nhiều nhất, chiếm khoảng 85% trong tất cả các bệnh ung thư gan ác tính nguyên phát và có tỷ lệ mắc phải tăng lên, là canxinom tế bào gan (HCC), được hình thành bởi các tế bào gan mà trở thành tế bào ác tính. Một loại bệnh ung thư khác nữa được hình thành bởi các tế bào gan là u nguyên bào gan, khối u ác tính hiếm gặp, ban đầu phát triển ở trẻ nhỏ, và chiếm khoảng 1% trong số tất cả các bệnh ung thư ở trẻ nhỏ và 79% trong số tất cả các bệnh ung thư gan nguyên phát ở độ tuổi dưới 15. Bệnh ung thư gan thứ phát, hoặc di căn sang gan, là một bệnh ung thư mà bắt đầu ở bất kỳ một cơ quan nào đó trong cơ thể và sau đó lan đến gan. Các ví dụ về bệnh ung thư gan thứ phát bao gồm các loại bệnh ung thư thông thường, như bệnh ung thư ruột kết, trực tràng, phổi, và ung thư vú. Bệnh ung thư gan cũng có thể tạo thành từ các cấu trúc khác trong gan như ống mật chủ, các mạch máu và các tế bào miễn dịch. Bệnh ung thư ống mật (caxinom ống mật và caxinom tuyến nang tế bào ống mật) chiếm khoảng 6% trong số các bệnh ung thư gan nguyên phát.

Mặc dù việc cắt bỏ bằng phẫu thuật và cấy ghép gan là liệu pháp chữa trị hiệu nghiệm đối với HCC giai đoạn sớm, nhưng trên 20% bệnh nhân cuối cùng vẫn bị tái phát hoặc gặp phải các vấn đề khác, và phần lớn chẩn đoán HCC diễn ra ở giai đoạn tiến triển quá mức để có thể sử dụng các liệu pháp chữa trị nêu trên. Các trị liệu theo khu vực, như cắt bỏ bằng sóng có tần số radio thường cho

tốc độ đáp ứng trên 60%, nhưng chúng chỉ thích hợp cho một tỷ lệ bệnh nhân nhất định và không phải lúc nào cũng chữa khỏi. Ở một mức độ nào đó, liệu pháp hóa học được sử dụng cho hiệu quả rất ít đối với HCC và đến bây giờ tỷ lệ đáp ứng vẫn không vượt quá 25%. Hiện tại, sorafenib là thuốc hiệu quả duy nhất trên thị trường để điều trị HCC tiến triển hoặc chưa cắt bỏ, do đó, rất cần phải có các biện pháp điều trị khác đối với HCC để làm giảm tỷ lệ tái phát và làm tăng tỷ lệ sống sót tổng thể.

Nhiều chất tương tự nucleosit đã được phát hiện thấy là có hoạt tính chống ung thư và các chất này tạo thành nhóm các tác nhân hóa trị liệu chính được sử dụng rộng rãi để điều trị cho các bệnh nhân mắc bệnh ung thư. Nhóm các tác nhân này, được biết là các chất chống chuyển hóa, bao gồm một loạt các dẫn xuất pyrimidin và purin nucleosit có hoạt tính gây độc tế bào.

Các nucleotit kinaza tế bào có chức năng phosphoryl hóa các nucleosit thành các 5'-monophosphat tương ứng mà sau đó được chuyển hóa tiếp thành dạng diphosphat của chúng và sau đó thành triphosphat có hoạt tính dược lý. Đã biết rằng một số nucleosit có hoạt tính yếu bởi vì chúng không thể được phosphoryl một cách hiệu quả bằng các kinaza hoặc không phải các cơ chất đối với kinaza. Trong thứ tự phosphoryl hóa, bước phosphoryl hóa thứ nhất của các chất tương tự nucleosit là để làm hạn chế tốc độ trong khi bước phosphoryl hóa thứ hai và thứ ba ít nhạy hơn đối với các biến đổi đối với nucleosit. Bản thân các nucleosit monophosphat (các nucleotit) nhìn chung không ổn định trong máu và thể hiện sự thấm màng kém và do vậy không thích hợp để dùng làm thuốc. Do tính ổn định không cao và có khả năng thấm qua màng tế bào kém của dạng triphosphat của nucleosit và các chất tương tự nucleosit nên chúng không được đánh giá là được chất cần nghiên cứu.

Troxacitabin, (beta-L-dioxolan xytidin) là chất tương tự deoxycytidin gây độc tế bào có cấu hình L không có trong tự nhiên đã chứng tỏ phổ hoạt động rộng trên cả khối u ác tính rắn và các khối u ác tính tạo huyết in vitro và in vivo. Cụ thể là, đã quan sát thấy nó có hoạt tính mạnh trên các dòng tế bào ung thư ở người và các mảnh ghép có nguồn gốc từ tế bào gan, tuyến tiền liệt, và thận (Cancer Res., 55, 3008-3011, 1995). Troxacitabin được chỉ ra là làm tăng khả năng đột biến của kinaza deoxyxytidin kinaza (dCK) mà thường chịu trách nhiệm

cho bước phosphoryl hóa thứ nhất của nucleosit, dẫn đến việc troxacitabin monophosphat không còn hoặc còn ở mức độ rất thấp, thông qua đó dẫn tới tính kháng.

Troxacitabin được thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III vào năm 2008 đối với chỉ định bệnh bạch cầu sinh tủy cấp tính, nhưng không tiến hành đăng ký. Các thử nghiệm giai đoạn II không liên tục cho troxacitabin bao gồm ung thư vú, ung thư trực tràng ruột kết, ung thư tụy, u melanin, NSCLC, các khối u thận, tuyến tiền liệt và buồng trứng. Troxacitabin thường được dùng dưới dạng dung dịch truyền trong tĩnh mạch, nhờ đó thuốc sẽ tiếp xúc với nhiều mô, bất kể vị trí ung thư.

Troxacitabin được chỉ ra rằng, bất chấp đặc tính ưa nước của nó, chúng được vận chuyển vào trong các tế bào bằng cách khuếch tán thụ động, nhưng chỉ tích tụ rất chậm trong các tế bào ung thư so với các nucleosit khác được vận chuyển bằng chất mang.

Công bố đơn quốc tế số WO2008/030373 bộc lộ các dẫn xuất của troxacitabin mang nhóm tiền được chất trên gốc bazơ xytosin và đánh giá mối quan hệ giữa tính ưa mỡ của các tiền được chất với hoạt tính chống khối u. Công bố đơn này chỉ ra rằng việc cải biến bazơ được mong muốn để tránh được các vấn đề về esteraza có sự biến đổi ở 5'-OH.

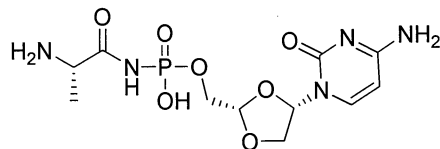
Các tiền được chất phosphoramidat ở nhóm chức 5' hydroxyl của các D-nucleosit đã được sử dụng thành công trong các thuốc chống virus, như sofosbuvir được dùng để điều trị bệnh nhiễm HCV.

Việc không che đi tiền được chất sofosbuvir làm lộ ra monophosphat bên trong tế bào là một, quy trình phức tạp nhiều bước liên quan đến một số enzym hydrolaza theo thứ tự cụ thể.

Việc sử dụng các tiền được chất phosphoramidat ở các nucleosit dùng để điều trị ung thư có ít thành công. Nucana đang phát triển Acelerin (Nuc-1031), một tiền được chất phosphoramidat của D-nucleosit gemxitabin để điều trị bệnh ung thư tụy (cấu trúc: xem trang 71 của công bố đơn quốc tế số WO2005012327). Tuy nhiên, thậm chí phosphoramidat được cho là làm tăng cường tính ưa mỡ và khả năng thấm vào tế bào của hợp chất, nhưng tiền được

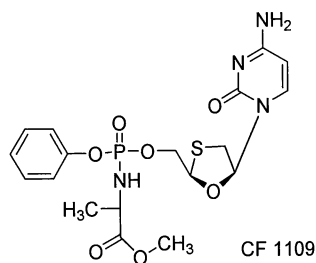
chất Acelarin vẫn phải sử dụng dưới dạng dung dịch truyền trong tĩnh mạch, theo đó nhiều mô khỏe sẽ tiếp xúc với chất chuyển hóa gây độc tế bào.

Hiện nay, có rất ít kiến thức thực tế về các tiền dược chất monophosphat của L-nucleosit như troxacitabin. WO2008048128 mô tả số lượng nhỏ các tiền dược chất troxacitabin monophosphat bao gồm hợp chất ở Ví dụ 14:



Không phát hiện thấy tác dụng điều trị bệnh ung thư hoặc hoạt tính sinh học nào khác đối với hợp chất bất kỳ nêu trên này, trong công bố đơn quốc tế số WO2008048128 hoặc bất cứ chỗ nào trong tài liệu khoa học. Không có báo cáo bất kỳ về việc tiền dược chất vào thử nghiệm lâm sàng. Tuy nhiên, các tác giả sáng chế của công bố đơn quốc tế số WO2008048128 đã cho công bố rộng rãi các tiền dược chất tương tự với D-nucleosit gemxitabin (Baraniak et al *Bior Med Chem* 2014 2133-2040), trong đó tiền dược chất này dường như hoạt động ở một số mô nhất định, và D-nucleosit azidothymidin (Kulic et al *Antivir Chem Chemother* 2011 21(3) 143-150) trong đó các tiền dược chất có hoạt lực nhỏ hơn 2-20 lần so với nucleosit gốc tương ứng. Kulic đã nghiên cứu thấy rằng các tiền dược chất azidothymidin có xu hướng bị khử phosphoryl hóa trước tiên thành nucleosit và sau đó chúng chỉ bị phosphoryl hóa thành các loại triphosphat hoạt tính. Trong nghiên cứu này, phương pháp tiền dược chất hoạt động trên gemxitabin (mà giống với ARN nhờ nhóm chức 2' được thế của nó), và không hoạt động trên azidothymidin (là 2'-deoxy nhờ đó giống với ADN), giả thiết rằng các tiền dược chất của troxacitabin nêu trong công bố quốc tế số WO2008048128 (là chất tương tự ADN, bất chấp L-ADN), dường như là không hoạt động, như các tiền dược chất azidothymidin.

Balzarini et al *Biochem Biophys Res Comm* 225, 363-369 (1996) mô tả hoạt tính kháng HIV và HBV của CF 1109, một tiền dược chất phosphoramidat của L-nucleosit lamivudin/3TC, có cấu trúc:

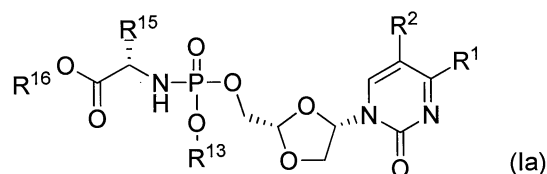


Balzarini chỉ ra rằng tiền dược chất phosphoramidat này có hoạt tính kháng lại HIV nhỏ hơn ~250 lần so với nucleosit 3TC gốc của nó, nhưng tiền dược chất này có “hiệu quả kháng lại HBV gần như tương đương trong tế bào Hep G2.2.15”. Nói cách khác, việc bổ sung nhóm tiền dược chất este phosphoramidat metyl lớn này không làm cải thiện hoạt lực kháng virus ở dòng tế bào gan. Balzarini không thử nghiệm xem tiền dược chất này có được chuyển hóa thành 3TC trước khi được phosphoryl hóa thành triphosphat hoạt tính hay không.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất tiền dược chất chứa phospho của troxacitabin, cụ thể là các tiền dược chất nhắm đích là gan như phosphoramidat, thích hợp để dùng qua đường miệng. Các tiền dược chất này có ưu điểm về khả năng thâm vào tế bào tăng do tính ưa mỡ tăng so với chính troxacitabin, và so với dạng hiệu quả hơn, dạng triphosphat hoạt tính, do bỏ qua bước phosphoryl hóa đầu tiên làm hạn chế tốc độ. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế chủ yếu được chuyển hóa thành triphosphat hoạt tính trong gan, nhờ đó tạo ra hợp chất có hoạt tính với nồng độ cao trong cơ quan đích và đồng thời giữ các tác dụng phụ do độc tính tại các cơ quan khác ở mức thấp nhất.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (Ia):



trong đó:

R^1 là OR^{11} , hoặc $NR^5R^{5'}$;

R^2 là H;

R^5 là H, C_1 - C_6 alkyl, OH, $C(=O)R^6$, $O(C=O)R^6$ hoặc $O(C=O)OR^6$;

$R^{5'}$ là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^6 là C_1 - C_{22} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

R^{11} là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^{13} là H, phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl hoặc naphtyl trong đó phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl và naphtyl này tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 R^{22} ;

R^{15} là H, C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, phenyl, benzyl hoặc indolyl;

R^{16} là H, C_1 - C_{10} alkyl, C_2 - C_{10} alkenyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, benzyl, hoặc phenyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 nhóm, mỗi nhóm độc lập được chọn từ halo, OR^{18} và $N(R^{18})_2$;

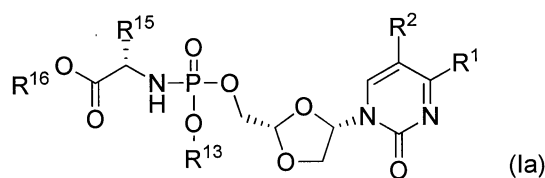
mỗi R^{18} độc lập là H, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 haloalkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

mỗi R^{22} độc lập được chọn từ halo, C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl, C_1 - C_6 haloalkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 haloalkoxy, phenyl, hydroxy C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, C_1 - C_6 alkylcarbonyl, C_3 - C_6 xycloalkylcarbonyl, carboxy C_1 - C_6 alkyl, hydroxy, amino CN, và NO_2 , hoặc hai nhóm R^{22} bất kỳ được gắn vào nguyên tử cacbon vòng liền kề có thể kết hợp để tạo ra $-O-(CR^{23}R^{23'})_{1-6}-O-$;

R^{23} và $R^{23'}$ độc lập là H hoặc C_1 - C_3 alkyl;

hoặc muối được dụng và/hoặc solvat của nó.

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



trong đó:

R^1 là OR^{11} , hoặc $NR^5R^{5'}$;

R^2 là H;

R^5 là H, C_1 - C_6 alkyl, OH, $C(=O)R^6$, $OC(=O)R^6$ hoặc $OC(=O)OR^6$;

$R^{5'}$ là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^6 là C_1 - C_{22} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

R^{11} là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^{13} là H, phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl hoặc naphtyl trong đó phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl và naphtyl này tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 R^{22} ;

R^{15} là H, C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, phenyl, benzyl hoặc indolyl;

R^{16} là H, C_1 - C_{10} alkyl, C_2 - C_{10} alkenyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, benzyl, hoặc phenyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 nhóm, mỗi nhóm độc lập được chọn từ halo, OR^{18} và $N(R^{18})_2$;

mỗi R^{18} độc lập là H, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 haloalkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

mỗi R^{22} độc lập được chọn từ halo, C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl, C_1 - C_6 haloalkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 haloalkoxy, phenyl, hydroxy C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, C_1 - C_6 alkylcarbonyl, C_3 - C_6 xycloalkylcarbonyl, carboxy C_1 - C_6 alkyl, hydroxy, amino, CN, NO_2 và trimethylsilyl, hoặc hai nhóm R^{22} bất kỳ được gắn vào nguyên tử cacbon vòng liền kề có thể kết hợp để tạo ra $-O-(CR^{23}R^{23'})_{1-6}-O-$;

R^{23} và $R^{23'}$ độc lập là H hoặc C_1 - C_3 alkyl;

hoặc muối được dụng và/hoặc solvat của nó.

Các hợp chất có công thức (Ia) có thể tùy ý được pha chế ở dạng muối và/hoặc solvat được dụng. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế được pha chế dưới dạng muối được dụng. Theo phương án thứ hai, hợp chất theo sáng chế được điều chế dưới dạng solvat được dụng. Theo phương án thứ ba, hợp chất theo sáng chế được điều chế dưới dạng tự do của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

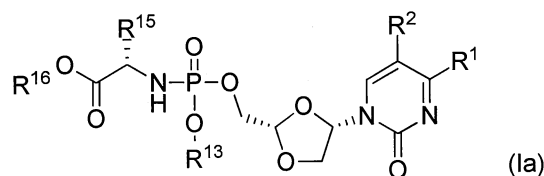
Theo phương án điển hình của sáng chế, R^1 là $NR^5R^{5'}$, như NH_2 hoặc $NHC(=O)C_1$ - C_6 alkyl.

Theo phương án ưu tiên, R^1 là NH_2 .

Thông thường trong các hợp chất có công thức (Ia), gốc $-NHC(R^{15})-C(=O)OR^{16}$ tạo thành gốc este của axit amin, bao gồm các gốc axit amin tự nhiên

và không tự nhiên. Đặc biệt quan tâm là các gốc axit amin trong đó R^{15} là methyl, isopropyl, isobutyl hoặc benzyl. Trong cấu hình thông thường, R^{15} là C_1 - C_3 alkyl, như methyl, ethyl, propyl, isopropyl.

Trong các hợp chất, trong đó R^{15} không phải là hydro, cấu hình ở nguyên tử cacbon không đối xứng là cấu hình của L-axit amin, như vậy tạo ra các hợp chất có hóa học lập thể được thể hiện bằng công thức (Ia):



Trong cấu hình được ưu tiên của các hợp chất có công thức Ia, R^{15} là methyl.

Trong cấu hình khác của các hợp chất có công thức Ia, R^{15} là benzyl.

Trong cấu hình đại diện của các hợp chất có công thức Ia,

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là phenyl naphtyl hoặc indolyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng halo, ví dụ, bromo hoặc C_3 - C_4 xycloalkyl, ví dụ, xyclopropyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl

R^{16} là C_1 - C_8 alkyl.

Trong cấu hình đại diện khác của các hợp chất có công thức Ia,

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là naphtyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl;

R^{16} là C_1 - C_8 alkyl hoặc benzyl.

Trong cấu hình đại diện khác của các hợp chất có công thức Ia,

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là phenyl mà được thể tùy ý ở vị trí thứ 4 bằng halo, ví dụ, bromo hoặc bằng C_3 - C_4 xycloalkyl, ví dụ xyclopropyl;

R^{15} là metyl;

R^{16} là C_3 - C_8 alkyl.

Trong cấu hình đại diện khác của các hợp chất có công thức Ia,

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là phenyl;

R^{15} là metyl;

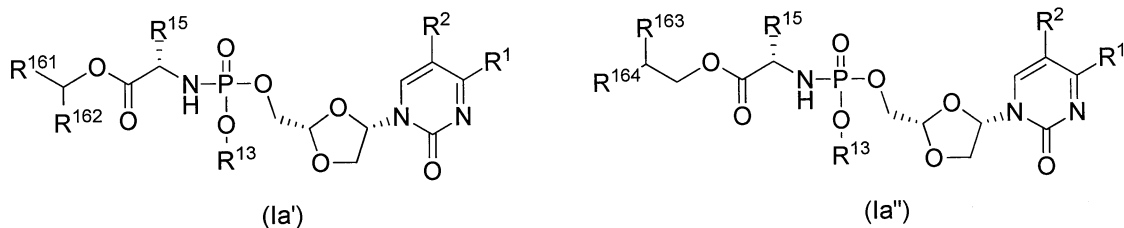
R^{16} là C_3 - C_8 alkyl

R^{16} thường là C_1 - C_{10} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl.

Các giá trị đại diện cho R^{16} bao gồm C_1 - C_3 alkyl, như metyl, etyl, propyl, isopropyl. Giá trị được ưu tiên cho R^{16} là metyl, giá trị ưu tiên khác đối với R^{16} là isopropyl.

Theo một phương án, R^{16} là C_3 - C_{10} alkyl.

Các giá trị đại diện cho R^{16} theo phương án này bao gồm C_5 - C_8 alkyl mạch nhánh. Theo một phương án, điểm tạo nhánh của R^{16} là ở C_1 . Theo một phương án thay thế, điểm tạo nhánh của R^{16} là ở C_2 . Theo các phương án này, hóa học lập thể ở nguyên tử cacbon mà R^{15} được gắn vào là hóa học lập thể của L-axit amin, như vậy tạo ra các hợp chất có công thức chung:



trong đó R^{161} và R^{162} là C_1 - C_3 alkyl giống nhau hoặc khác nhau, và R^{163} và R^{164} là C_1 - C_3 alkyl giống nhau hoặc khác nhau.

Thông thường trong các hợp chất có công thức (Ia'), R^{16} là 2-pentyl, nghĩa là R^{161} là propyl và R^{162} là methyl.

Trong cấu hình thông thường khác của các hợp chất có công thức (Ia'), R^{16} là 2-butyl, nghĩa là R^{161} là ethyl và R^{162} là methyl.

Thông thường trong các hợp chất có công thức (Ia''), R^{16} là 2-propylpentyl hoặc 2-ethylbutyl, nghĩa là cả R^{163} và R^{164} lần lượt là propyl hoặc ethyl.

Các giá trị đại diện khác cho R^{16} bao gồm C_3 - C_7 xycloalkyl, như xyclohexyl.

Các giá trị đại diện khác cho R^{16} là xyclopentyl.

Các giá trị đại diện khác cho R^{16} là benzyl.

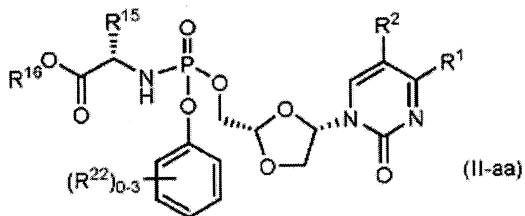
R^{13} thường là phenyl, naphtyl hoặc indolyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng 1 hoặc 2 R^{22} .

Theo một phương án của sáng chế, R^{13} là phenyl hoặc naphtyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này được thế tùy ý.

Theo một phương án của sáng chế, R^{13} là naphtyl.

Theo một phương án được ưu tiên của sáng chế, R^{13} là phenyl.

Các ví dụ đại diện về R^{13} bao gồm phenyl mà tùy ý được thế bằng một, hai hoặc ba R^{22} , như vậy tạo ra các hợp chất có công thức (II-aa):



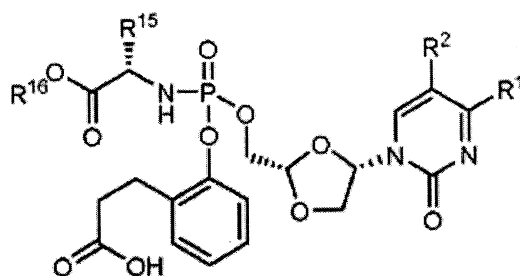
trong đó mỗi R^{22} , khi có mặt, độc lập được chọn từ halo, C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl và C_1 - C_6 alkoxy. Thông thường, vòng phenyl không được thế hoặc được thế bằng R^{22} .

Trong một cấu hình của các hợp chất có công thức (II-aa), vòng phenyl không được thế.

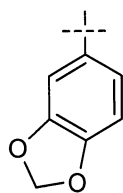
Trong cấu hình khác của các hợp chất có công thức (II-aa), vòng phenyl được thế bằng một R^{22} . Thông thường trong cấu hình này, phần tử thế R^{22} nằm ở vị trí thứ 4 của vòng phenyl.

Theo một phương án của các hợp chất theo sáng chế, R^{13} là phenyl được thế ở vị trí thứ 4 bằng halo, ví dụ bromo hoặc bằng C_3 - C_4 xycloalkyl, ví dụ xyclopropyl.

Trong một cấu hình của các hợp chất có công thức (II-aa), vòng phenyl được thế bằng carboxy C_1 - C_6 alkyl. Ví dụ minh họa của cấu hình này được minh họa trong công thức từng phần:



Trong cấu hình khác của các hợp chất có công thức (II-aa), vòng phenyl được thế bằng hai R^{22} nằm trên các nguyên tử cacbon liên kề và hai R^{22} kết hợp tạo thành $-O-CH_2-O-$, như vậy tạo thành cấu trúc từng phần :



Các giá trị đại diện khác cho R^{13} bao gồm pyridyl được thế tùy ý. Thông thường, gốc pyridyl không được thế hoặc được thế bằng một hoặc hai phân tử thế, mỗi phân tử thế độc lập được chọn từ halo, C_1 - C_6 haloalkyl, C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl, C_1 - C_6 alkoxy, hydroxy, amino.

Theo một phương án thông thường của các hợp chất có công thức (I),

R^1 là NH_2 hoặc $NHC(=O)C_1$ - C_6 alkyl;

R^{13} là phenyl, naphtyl hoặc indolyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng halo, C_1 - C_3 alkyl, C_1 - C_3 alkoxy, C_3 - C_6 xycloalkyl hoặc C_1 - C_3 haloalkyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl hoặc benzyl;

R^{16} là C_1 - C_{10} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl.

Theo một phương án thông thường của các hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia),

R^1 là NH_2 hoặc $NHC(=O)C_1$ - C_6 alkyl;

R^{13} là phenyl hoặc naphtyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm này tùy ý được thế bằng halo, C_1 - C_3 alkyl, C_1 - C_3 alkoxy, C_3 - C_6 xycloalkyl hoặc C_1 - C_3 haloalkyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl hoặc benzyl;

R^{16} là C_2 - C_{10} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl.

Theo một phương án thông thường khác của các hợp chất có công thức (I),

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là phenyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl;

R^{16} là C_1 - C_3 alkyl hoặc xyclohexyl.

Theo một phương án thông thường khác của các hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia),

R^1 là NH_2 ;

R^2 là H;

R^{13} là phenyl;

R^{15} là C_1 - C_3 alkyl hoặc benzyl;

R^{16} là C_3 - C_8 alkyl, xyclopentyl hoặc xyclohexyl.

Các hợp chất theo sáng chế thể hiện hoạt tính chống ung thư đặc biệt là ung thư gan như HCC, và có thể được dùng làm thuốc để điều trị cho động vật máu nóng, cụ thể là người, bị bệnh ung thư. Đặc biệt, các hợp chất này có thể được dùng làm thuốc để điều trị bệnh ở người mắc bệnh ung thư gan như HCC.

Để tránh các tác dụng phụ không mong muốn, đặc biệt là gây độc cho các cơ quan khác, việc vận chuyển thuốc đến vị trí của khối u trong khi làm giảm sự tiếp xúc với các mô bình thường là mang tính quyết định. Các hợp chất theo sáng chế phải ổn định trong dịch dạ dày nhưng được chuyển hóa ngay bằng enzym ở gan, do đó chúng có thể được hấp phụ trong dạ dày và được vận chuyển dưới dạng tác nhân gây độc tế bào được che giấu đến gan ở nơi hấp phụ, dẫn ra sự chuyển hóa và hình thành triphosphat gây độc tế bào hoạt tính. Do vậy, sáng chế đề xuất các hợp chất được hấp phụ và được xử lý ban đầu trong gan, như vậy làm giảm thiểu sự tiếp xúc với các cơ quan khác trong cơ thể và các tác dụng phụ gây độc.

Không bị ràng buộc bởi lý thuyết, hoạt tính chống bệnh ung thư của các hợp chất theo sáng chế có thể được áp dụng trực tiếp chống lại các quá trình xử lý tế bào của các tế bào sinh khối u tác dụng nhanh của bệnh ung thư, mà ngoài ra hoặc theo cách khác có thể thể hiện hiệu quả của chúng thông qua sự điều biến của vi môi trường của khối u, như sự ức chế tạo mạch, nhờ đó làm cho khối u không lấy được chất dinh dưỡng làm ức chế sự phát triển khối u.

Các hợp chất theo sáng chế cũng hữu ích trong việc điều trị bệnh ung thư gan thứ phát, di căn sang gan, nghĩa là bệnh ung thư bắt nguồn từ các cơ quan ở bất kỳ chỗ nào trong cơ thể, như ruột kết, phổi và vú và di chuyển vào gan.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị động vật máu nóng, cụ thể là người, bị bệnh ung thư, cụ thể là bệnh ung thư gan như HCC, phương pháp đã nêu bao gồm việc sử dụng một lượng hữu hiệu hợp chất có công thức (Ia) hoặc nhóm phụ bất kỳ của nó.

Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị động vật máu nóng, cụ thể là người, bị bệnh ung thư gan thứ phát, phương pháp đã nêu bao gồm việc sử dụng một lượng hữu hiệu hợp chất có công thức (Ia) hoặc nhóm phụ bất kỳ của nó.

Việc sử dụng nêu trên làm thuốc hoặc phương pháp điều trị bao gồm việc dùng hệ thống một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (Ia) cho đối tượng bị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (Ia) cùng với chất phụ trợ, chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng để điều trị bệnh ung thư chứa hợp chất có công thức (Ia) cùng với chất phụ trợ, chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng để điều trị bệnh ung thư gan, như HCC chứa hợp chất có công thức (Ia) cùng với chất phụ trợ, chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng để điều trị bệnh ung thư gan thứ phát chứa hợp chất có công thức (Ia) cùng với chất phụ trợ, chất pha loãng, tá dược hoặc chất mang được dụng.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến quy trình bào chế được phẩm như được mô tả ở đây, quy trình này bao gồm bước trộn kỹ chất phụ trợ, chất pha loãng, tá dược và/hoặc chất mang được dụng với một lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (Ia).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm dùng để điều trị hoặc ức chế các bệnh nêu trên, được phẩm này còn chứa một hoặc nhiều tác nhân trị liệu khác.

Dược phẩm nêu trên thường sẽ chứa một lượng hữu hiệu (ví dụ, cho người) hợp chất có công thức (I), tuy mặc dù lượng điều trị phụ của hợp chất có công thức (Ia) có thể có giá trị khi được dùng kết hợp với các tác nhân khác hoặc trong nhiều liều.

Trong bản mô tả này, lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh là lượng hữu hiệu đủ để tạo ra kết quả mong muốn. Lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh sẽ thay đổi tùy theo từng yêu cầu trong từng trường hợp cụ thể. Các dấu hiệu ảnh hưởng đến liều lượng ví dụ là mức độ nghiêm trọng của bệnh cần được điều trị, độ tuổi, cân nặng, tình trạng sức khỏe chung v.v. của đối tượng được điều trị. Liên quan đến tác dụng chống ung thư, tác dụng này có thể ức chế sự phát triển thêm của khối u, giảm khả năng xảy ra hoặc giảm thiểu sự di căn hoặc

tạo ra sự chết tế bào trong khối u, dẫn đến việc thu nhỏ khối u hoặc ngăn ngừa sự tái phát triển của khối u sau khi khối u của bệnh nhân giảm kích cỡ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để dùng làm thuốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để điều trị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để điều trị bệnh ung thư gan như HCC.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để điều trị bệnh ung thư gan thứ phát.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để điều trị bệnh như được mô tả ở trên kết hợp với điều trị một hoặc nhiều bệnh ung thư khác như các thuốc chống ung thư khác, phẫu thuật, liệu pháp trị liệu miễn dịch và/hoặc trị liệu theo vùng như cắt bỏ bằng sóng có tần số radio.

Theo một phương án khác, việc điều trị chống ung thư khác là trị liệu bằng sóng có tần số radio.

Theo một phương án, việc điều trị chống ung thư khác là một hoặc nhiều chất tương tự nucleosit khác thể hiện hoạt tính kháng khối u hiệu nghiệm.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng cho tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (Ia) và một hoặc nhiều tác nhân điều trị bệnh khác được chọn từ nhóm bao gồm tác nhân hóa trị liệu, tác nhân làm đảo ngược sự kháng nhiều thuốc và chất biến đổi đáp ứng sinh học.

Theo một phương án của khía cạnh này, tác nhân trị liệu khác là tác nhân hóa trị liệu.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để bào chế thuốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để bào chế thuốc để điều trị bệnh ung thư.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để bào chế thuốc để điều trị bệnh ung thư gan như HCC.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) để sử dụng để bào chế thuốc để điều trị bệnh ung thư gan thứ phát.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm bước cho đối tượng, ví dụ là người cần điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (Ia).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư gan như HCC, bao gồm bước cho đối tượng, ví dụ là người cần điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (Ia).

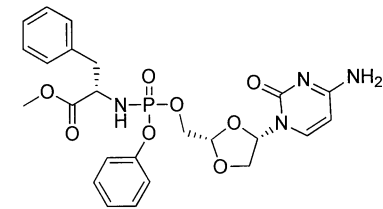
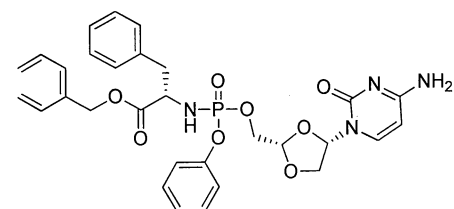
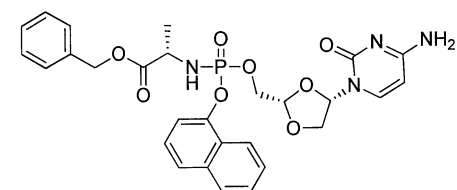
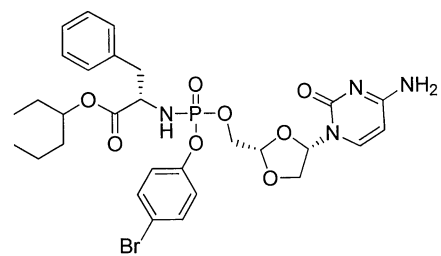
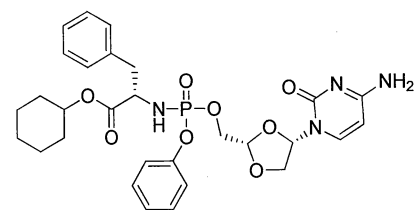
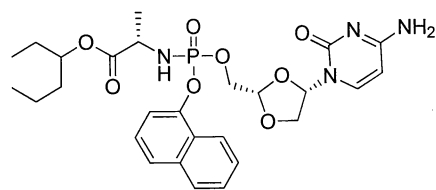
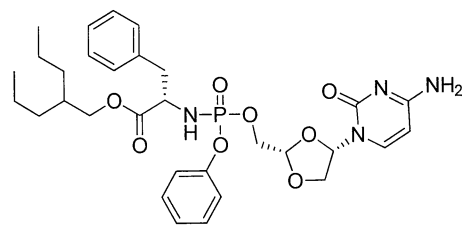
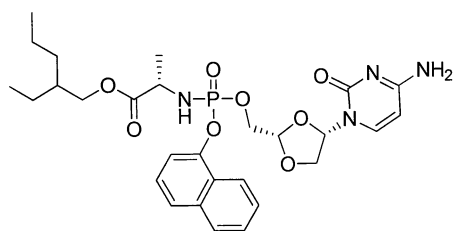
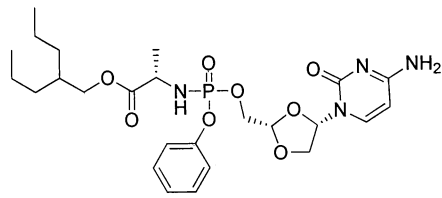
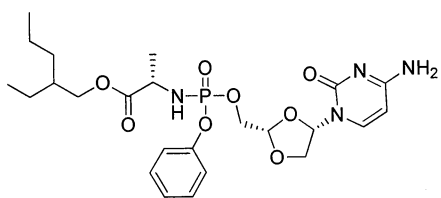
Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư gan thứ phát, bao gồm bước cho đối tượng, ví dụ là người cần điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức (Ia).

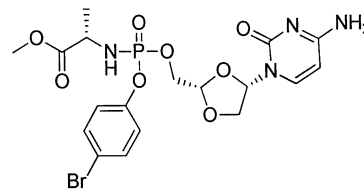
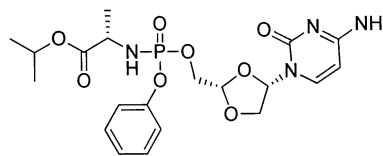
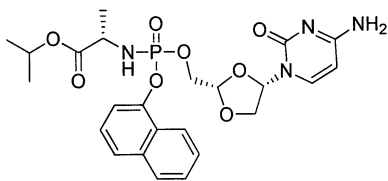
Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị như được mô tả ở trên kết hợp với (các) điều trị bệnh ung thư khác như các thuốc chống ung thư khác, phẫu thuật, liệu pháp trị liệu miễn dịch và/hoặc trị liệu theo vùng như cắt bỏ bằng sóng có tần số radio.

Theo một khía cạnh, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư gan nguyên phát và thứ phát bao gồm bước sử dụng dược phẩm chứa lượng cho tác dụng điều trị bệnh của hợp chất có công thức Ia, còn chứa một hoặc nhiều tác nhân điều trị bệnh khác được chọn từ nhóm bao gồm tác nhân hóa trị liệu, tác nhân làm đảo ngược sự kháng nhiều thuốc và chất biến đổi đáp ứng sinh học.

Theo một phương án của khía cạnh này, tác nhân trị liệu khác là tác nhân hóa trị liệu.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (Ia) hợp chất này được chọn từ các hợp chất được mô tả dưới đây:





hoặc muối được dùng của nó.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất có công thức (Ia), đến các chất trung gian mới để sử dụng để điều chế các hợp chất có công thức (Ia) này và để điều chế các chất trung gian này.

Bất cứ khi nào thuật ngữ ‘các hợp chất có công thức (Ia)’, ‘hợp chất theo sáng chế’, “các hợp chất theo sáng chế” hoặc các thuật ngữ tương tự được sử dụng ở trên và dưới đây, có nghĩa là bao gồm các hợp chất có công thức (Ia) và phân nhóm bất kỳ của các hợp chất có công thức (Ia) này, kể cả các dạng đồng phân hóa học lập thể có thể có, các muối được dùng của chúng, các solvat, các amin bậc bốn và các phức kim loại.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được phối trộn thành các dạng dược phẩm khác nhau tùy mục đích sử dụng. Để làm dược phẩm thích hợp, có thể bào chế tất cả các loại dược phẩm thường được sử dụng để dùng thuốc qua đường miệng. Để bào chế dược phẩm theo sáng chế này, một lượng hữu hiệu của hợp chất cụ thể, tùy ý ở dạng muối cộng hoặc solvat, dưới dạng thành phần hoạt tính được kết hợp trong hỗn hợp trộn kỹ với chất mang dược dụng, chất mang này có thể tạo thành các dạng khác nhau phụ thuộc vào dạng dược phẩm mong muốn dùng. Dược phẩm này mong muốn ở dạng đơn vị liều lượng thích hợp để dùng qua đường miệng. Ví dụ, trong việc bào chế dược phẩm ở dạng liều dùng qua đường miệng, có thể sử dụng môi trường thuốc thông thường bất kỳ như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và các môi trường tương tự trong trường hợp dược phẩm lỏng dùng qua đường miệng như huyền phù, si rô, cồn ngọt, nhũ tương và dung dịch; hoặc các chất mang rắn như tinh bột, đường, cao lanh, các chất bôi trơn, các

chất liên kết, các tác nhân làm phân rã và các chất tương tự trong trường hợp thuốc bột, viên tròn nhỏ, viên nang, và viên nén. Vì dễ dùng, các viên nén và viên nang là dạng đơn vị liều lượng dùng qua đường miệng ưu việt nhất, trong trường hợp đó các chất mang thuốc dạng rắn hiển nhiên là được sử dụng. Sáng chế còn đề cập đến các dược phẩm dạng rắn được dự định để chuyển hóa, ngay trước khi sử dụng, thành dược phẩm dạng lỏng.

Đặc biệt có lợi khi bào chế dược phẩm nêu trên ở dạng đơn vị liều lượng để dễ sử dụng và có liều lượng đồng đều. Dạng đơn vị liều lượng được sử dụng ở đây đề cập đến các đơn vị riêng biệt về mặt vật lý thích hợp dùng làm đơn vị liều lượng, mỗi đơn vị chứa lượng định trước của thành phần hoạt tính được tính để tạo ra tác dụng trị liệu mong muốn kết hợp với chất mang thuốc cần thiết. Các ví dụ về các dạng đơn vị liều lượng này là các viên nén (kể cả các viên nén được khía hoặc được bao), các viên nang, viên tròn nhỏ, gói thuốc bột, viên nhện và các dạng tương tự, và các dạng được tách riêng với số lượng gấp bội của nó.

Thông thường, cho rằng lượng hằng ngày hữu hiệu chống ung thư sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 700 mg/kg, hoặc từ khoảng 0,5 đến khoảng 400 mg/kg, hoặc từ khoảng 1 đến khoảng 250 mg/kg, hoặc từ khoảng 2 đến khoảng 200 mg/kg, hoặc từ khoảng 10 đến khoảng 150 mg/kg trọng lượng cơ thể. Có thể dùng liều cần thiết là hai, ba, bốn hoặc nhiều liều phụ ở các khoảng cách thời gian thích hợp trong ngày. Các phân liều có thể được phối trộn dưới dạng đơn vị liều lượng, ví dụ, chứa từ khoảng 1 đến khoảng 5000 mg, hoặc từ khoảng 50 đến khoảng 3000 mg, hoặc từ khoảng 100 đến khoảng 1000 mg, hoặc từ khoảng 200 đến khoảng 600 mg, hoặc từ khoảng 100 đến khoảng 400 mg của thành phần hoạt tính trong mỗi dạng đơn vị liều lượng.

Các hợp chất theo sáng chế có thể thể hiện tác dụng chống ung thư một mình và/hoặc làm tăng cường khả năng của tác nhân chống ung thư khác nữa để thể hiện tác dụng chống ung thư.

Các hợp chất theo sáng chế được đại diện là chất đồng phân lập thể đã xác định. Cấu hình tuyệt đối của các hợp chất này có thể được xác định bằng cách sử dụng phương pháp đã biết trong lĩnh vực như, ví dụ, nhiễu xạ tia X hoặc NMR và/hoặc suy ra từ nguyên liệu ban đầu có hóa học lập thể đã biết. Dược phẩm

theo sáng chế tốt hơn là sẽ bao gồm các chế phẩm của các chất đồng phân lập thể đã nêu gần như tinh khiết về mặt đồng phân lập thể.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của các hợp chất và các chất trung gian được đề cập ở đây được xác định là các chất đồng phân gần như không có các dạng đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang khác có cấu trúc phân tử cơ bản giống nhau của các hợp chất hoặc các chất trung gian đã nêu. Cụ thể, thuật ngữ “tinh khiết về mặt đồng phân lập thể” liên quan đến các hợp chất hoặc các chất trung gian có lượng dư đồng phân lập thể ít nhất là 80% (nghĩa là ít nhất 90% là của một chất đồng phân và tối đa 10% là của các chất đồng phân có thể có khác) cho đến lượng dư chất đồng phân lập thể là 100% (nghĩa là 100% là của một chất đồng phân và không có chất đồng phân nào khác), cụ thể hơn, các hợp chất hoặc các chất trung gian có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 90% đến 100%, thậm chí cụ thể hơn là có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 94% đến 100% và đặc biệt nhất là có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 97% cho đến 100%. Các thuật ngữ “tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh” và “tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang” cần được hiểu theo cách tương tự, nhưng sau đó lần lượt có liên quan đến lượng dư chất đồng phân đối ảnh, và lượng dư chất đồng phân không đối quang, của hỗn hợp đang nghiên cứu.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của các hợp chất và các chất trung gian theo sáng chế này có thể thu được bằng cách áp dụng các quy trình đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh có thể được tách ra khỏi nhau bằng cách kết tinh chọn lọc các muối đồng phân không đối quang của chúng với các axit hoặc các bazơ có hoạt tính quang học. Các ví dụ của nó là axit tartric, axit dibenzoyltartric, axit ditoluoyltartric và axit camphorsulfonic. Theo cách khác, các chất đồng phân đối ảnh có thể được tách ra bằng kỹ thuật sắc ký sử dụng các pha tĩnh không đối xứng. Các dạng chất đồng phân hóa học lập thể tinh khiết đã nêu cũng có thể được dẫn xuất từ các dạng đồng phân hóa học lập thể tinh khiết tương ứng của các nguyên liệu ban đầu thích hợp, với điều kiện là phản ứng xảy ra dưới dạng đặc hiệu lập thể. Tốt hơn là, nếu muốn có chất đồng phân lập thể cụ thể, hợp chất đã nêu được tổng hợp bằng phương pháp điều chế lập thể

đặc hiệu. Các phương pháp này có ích khi sử dụng các nguyên liệu ban đầu tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh.

Các raxemat đồng phân không đối quang của các hợp chất theo sáng chế có thể thu được riêng rẽ bằng các phương pháp thông thường. Các phương pháp tách vật lý thích hợp mà có thể được sử dụng có lợi là, ví dụ, kết tinh chọn lọc và sắc ký, ví dụ, sắc ký cột.

Khi có mặt nguyên tử phospho trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử cacbon có thể có mặt ở tâm không đối xứng. Tính không đối xứng ở tâm này được ký hiệu là “R” hoặc “S” theo quy tắc ưu tiên Cahn–Ingold–Prelog. Khi không chỉ ra đối xứng, dự tính rằng cả hai chất đồng phân R và S có nghĩa là đều được bao gồm, cũng như hỗn hợp của cả hai chất này, nghĩa là hỗn hợp chất đồng phân không đối quang.

Theo phương án ưu tiên của sáng chế, các chất đồng phân lập thể có cấu hình S ở nguyên tử phospho được bao gồm. Các chất đồng phân lập thể này được ký hiệu là S_P.

Theo các phương án khác của sáng chế, các chất đồng phân lập thể có cấu hình R ở nguyên tử phospho được bao gồm. Các chất đồng phân lập thể này được ký hiệu là R_P.

Theo các phương án khác của sáng chế, các hỗn hợp chất đồng phân không đối quang được bao gồm, nghĩa là các hỗn hợp của các hợp chất có cấu hình R hoặc S ở nguyên tử phospho.

Sáng chế còn bao gồm các hợp chất được gắn nhãn đồng vị có công thức (Ia), trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng chất đồng vị của nguyên tử đó, nghĩa là nguyên tử có cùng số nguyên tử, nhưng khối lượng nguyên tử khác nhau, (các) hợp chất này thường được tìm thấy trong tự nhiên. Các ví dụ về các chất đồng vị mà có thể được đưa vào các hợp chất có công thức (Ia), bao gồm nhưng không giới hạn ở các chất đồng vị của hydro, như ²H và ³H (còn được ký hiệu lần lượt là D đối với đơteri và T đối với triti), cacbon, như ¹¹C, ¹³C và ¹⁴C, nitơ, như ¹³N và ¹⁵N, oxy, như ¹⁵O, ¹⁷O và ¹⁸O, phospho, như ³¹P và ³²P, lưu huỳnh, như ³⁵S, flo, như ¹⁸F, clo, như ³⁶Cl, brom như ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br và ⁸²Br, và iot, như ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I và ¹³¹I. Việc lựa chọn chất đồng vị có trong hợp

chất được gắn nhãn đồng vị sẽ phụ thuộc vào ứng dụng cụ thể của hợp chất đó. Ví dụ, đối với dược chất hoặc các thử nghiệm phân bố mô cơ chất, các hợp chất trong đó chất đồng vị hoạt tính phóng xạ như ^3H hoặc ^{14}C được đưa vào nhìn chung sẽ là hữu ích nhất. Đối với những ứng dụng tạo hình ảnh bằng sóng có tần số radio, ví, chụp positron cắt lớp (PET) chất đồng vị phát xạ positron như ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N hoặc ^{15}O sẽ là hữu ích. Việc hợp nhất chất đồng vị nặng hơn, như đơteri, nghĩa là ^2H , có thể tạo ra độ ổn định chuyển hóa lớn hơn so với hợp chất có công thức (Ia) mà có thể, ví dụ, làm tăng chu kỳ bán hủy in vivo của hợp chất hoặc yêu cầu liều dùng giảm.

Các hợp chất được gắn nhãn đồng vị theo sáng chế có thể được pha chế bằng các quy trình tương tự với các quy trình được mô tả trong các Sơ đồ và/hoặc các Ví dụ nêu dưới đây trong bản mô tả bằng cách sử dụng thuốc thử được gắn nhãn chất đồng vị thích hợp hoặc nguyên liệu ban đầu thay cho thuốc thử được gắn nhãn không phải chất đồng vị tương ứng hoặc nguyên liệu ban đầu, hoặc bằng các kỹ thuật thông thường đã được người có trình độ trung bình trong lĩnh vực biết.

Các muối cộng dược dụng bao gồm các dạng muối có hoạt tính trị liệu và muối cộng bazơ của các hợp chất có công thức (Ia). Quan tâm là các dạng tự do, tức là không phải dạng muối của các hợp chất có công thức (Ia) hoặc nhóm phụ bất kỳ của nó.

Các muối cộng axit dược dụng thông thường có thể thu được bằng cách xử lý dạng bazơ bằng axit thích hợp này. Các axit thích hợp bao gồm, ví dụ, các axit vô cơ như các axit hydrohalogenic, ví dụ axit clohydric hoặc axit bromhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và các axit tương tự; hoặc các axit hữu cơ như, ví dụ, axit axetic, axit propionic, axit hydroxyaxetic, axit lactic, axit pyruvic, axit oxalic (nghĩa là axit etandioic), axit malonic, axit suxinic (nghĩa là axit butanedioic), axit maleic, axit fumaric, axit malic (nghĩa là axit hydroxylbutanedioic), axit tartaric, axit citric, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit benzensulfonic, axit *p*-toluensulfonic, axit xyclamic, axit salixylic, axit *p*-aminosalixylic, axit pamoic và các axit tương tự. Ngược lại, các dạng muối đã nêu có thể được chuyển hóa bằng cách xử lý bằng bazơ thích hợp thành dạng bazơ tự do.

Các hợp chất có công thức (Ia) chứa proton axit cũng có thể được chuyển hóa thành kim loại không độc của chúng hoặc dạng muối cộng amin bằng cách xử lý bằng các bazơ hữu cơ và vô cơ thích hợp. Các dạng muối bazơ thích hợp bao gồm, ví dụ, các muối amoni, các muối kim loại kiềm và kiềm thổ, ví dụ các muối lithi, natri, kali, magie, canxi và các muối tương tự, các muối với các bazơ hữu cơ, ví dụ benzathin, *N*-metyl-D-glucamin, các muối hydrabamin, và các muối với các axit amin như, ví dụ, arginin, lysin và các muối tương tự.

Một số hợp chất có công thức (Ia) cũng có thể tồn tại dưới dạng tautome của chúng. Ví dụ, các dạng tautome của nhóm amit ($-C(=O)-NH-$) là rượu imino ($-C(OH)=N-$), mà có thể trở nên được ổn định trong các vòng với đặc tính thơm. Các dạng này, mặc dù không được chỉ ra trong các công thức cấu trúc đại diện ở đây, nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các thuật ngữ và các cụm từ được sử dụng ở đây trong toàn bộ bản tóm tắt, bản mô tả và các điểm yêu cầu bảo hộ sẽ được hiểu là như được xác định dưới đây trừ khi có quy định khác. Nghĩa của mỗi thuật ngữ là độc lập ở mỗi lần xuất hiện. Các định nghĩa này áp dụng bất kể là thuật ngữ này được sử dụng một mình hoặc kết hợp với các thuật ngữ khác, trừ khi có quy định khác. Thuật ngữ hoặc cụm từ được sử dụng ở đây mà không được xác định cụ thể, sẽ được hiểu là có nghĩa thông dụng của nó được sử dụng trong lĩnh vực. Tên hóa học, tên thông dụng, và cấu trúc hóa học có thể được sử dụng thay thế lẫn nhau để mô tả cấu trúc giống nhau. Nếu hợp chất hóa học được đề cập đến sử dụng cả cấu trúc hóa học và tên hóa học và có sự nhập nhằng giữa cấu trúc và tên hóa học này, thì cấu trúc chiếm ưu thế.

" C_m-C_n alkyl" chính nó hoặc trong cụm từ phức tạp như C_m-C_n haloalkyl, C_m-C_n alkylcarbonyl, C_m-C_n alkylamin, v.v. là gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có số nguyên tử cacbon được ký hiệu, ví dụ, C_1-C_4 alkyl có nghĩa là gốc alkyl có 1 đến 4 nguyên tử cacbon. C_1-C_6 alkyl có nghĩa tương ứng, bao gồm tất cả các chất đồng phân mạch thẳng hoặc mạch nhánh của pentyl và hexyl. Các gốc alkyl được ưu tiên để sử dụng theo sáng chế là C_1-C_6 alkyl, bao gồm methyl, ethyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, *n*-pentyl và *n*-hexyl, đặc biệt là C_1-C_4 alkyl như methyl, ethyl, *n*-propyl, isopropyl, *t*-butyl, *n*-butyl và isobutyl. Methyl và isopropyl thường được ưu tiên. Nhóm alkyl

có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế có thể giống nhau hoặc khác nhau, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, alkenyl, alkynyl, aryl, xycloalkyl, xyano, hydroxy, -O-alkyl, -O-aryl, -alkylen-O-alkyl, alkylthio, -NH₂, -NH(alkyl), -N(alkyl)₂, -NH(xycloalkyl), -O-C(=O)-alkyl, -O-C(=O)-aryl, -O-C(=O)-xycloalkyl, -C(=O)OH và -C(=O)O-alkyl. Thông thường được ưu tiên là nhóm alkyl không được thế, trừ khi có quy định khác.

"C₂-C_nalkenyl" là gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh chứa ít nhất một liên kết đôi cacbon-cacbon và có số nguyên tử cacbon được ký hiệu, ví dụ C₂-C₄alkenyl có nghĩa là gốc alkenyl có 2 đến 4 nguyên tử cacbon; C₂-C₆alkenyl có nghĩa là gốc alkenyl có 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Nhóm alkenyl không giới hạn bao gồm etenyl, propenyl, n-butenyl, 3-metylbut-2-enyl, n-pentenyl và hexenyl. Nhóm alkenyl có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế mà có thể giống nhau hoặc khác nhau, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, alkenyl, alkynyl, aryl, xycloalkyl, xyano, hydroxy, -O-alkyl, -O-aryl, -alkylen-O-alkyl, alkylthio, -NH₂, -NH(alkyl), -N(alkyl)₂, -NH(xycloalkyl), -O-C(=O)-alkyl, -O-C(=O)-aryl, -O-C(=O)-xycloalkyl, -C(=O)OH và -C(=O)O-alkyl. Thông thường được ưu tiên là nhóm alkenyl không được thế, trừ khi có quy định khác.

"C₂-C_nalkynyl" là gốc hydrocacbon béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh chứa ít nhất một liên kết ba cacbon-cacbon và có số nguyên tử cacbon được ký hiệu, ví dụ C₂-C₄alkynyl nghĩa là gốc alkynyl có 2 đến 4 nguyên tử cacbon; C₂-C₆alkynyl nghĩa là gốc alkynyl có 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Nhóm alkenyl không giới hạn bao gồm etynyl, propynyl, 2-butylnyl và 3-metylbutynyl pentynyl và hexynyl. Nhóm alkynyl có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế mà có thể giống nhau hoặc khác nhau, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, alkenyl, alkynyl, aryl, xycloalkyl, xyano, hydroxy, -O-alkyl, -O-aryl, -alkylen-O-alkyl, alkylthio, -NH₂, -NH(alkyl), -N(alkyl)₂, -NH(xycloalkyl), -O-C(=O)-alkyl, -O-C(=O)-aryl, -O-C(=O)-xycloalkyl, -C(O)OH và -C(O)O-alkyl. Thông thường được ưu tiên là nhóm alkynyl không được thế, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ “C_m-C_nhaloalkyl” được sử dụng trong bản mô tả là C_m-C_nalkyl trong đó ít nhất một nguyên tử C được thế bằng halogen (ví dụ nhóm C_m-C_nhaloalkyl có thể chứa từ một đến ba nguyên tử halogen), tốt hơn là clo hoặc flo. Nhóm haloalkyl thông thường là C₁-C₂haloalkyl, trong đó halo thích hợp là flo. Nhóm haloalkyl làm ví dụ bao gồm flometyl, diflurometyl và triflometyl.

Thuật ngữ “C_m-C_nhydroxyalkyl” được sử dụng trong bản mô tả là C_m-C_nalkyl trong đó ít nhất một nguyên tử C được thế bằng một nhóm hydroxy. Thông thường, nhóm C_m-C_nhydroxyalkyl là C_m-C_nalkyl trong đó một nguyên tử C được thế bằng một nhóm hydroxy. Nhóm hydroxyalkyl làm ví dụ bao gồm hydroxymetyl và hydroxyetyl.

Thuật ngữ “C_m-C_naminoalkyl” được sử dụng trong bản mô tả là C_m-C_nalkyl trong đó ít nhất một nguyên tử C được thế bằng một nhóm amino. Thông thường, nhóm C_m-C_naminoalkyl là C_m-C_nalkyl trong đó một nguyên tử C được thế bằng một nhóm amino. Nhóm aminoalkyl ví dụ bao gồm aminometyl và aminoetyl.

Thuật ngữ “C_m-C_nalkylen” được sử dụng trong bản mô tả là gốc alkyl hóa trị hai mạch thẳng hoặc mạch nhánh có số nguyên tử cacbon đã định. Các gốc C_m-C_nalkylen được ưu tiên để sử dụng theo sáng chế là C₁-C₃alkylen. Các ví dụ không giới hạn về nhóm alkylen bao gồm -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₃)- và -CH(CH(CH₃)₂)-

Thuật ngữ "Me" có nghĩa là metyl, và "MeO" có nghĩa là metoxy.

Thuật ngữ “C_m-C_nalkylcacbonyl” là gốc có công thức C_m-C_nalkyl-C(=O)- trong đó gốc C_m-C_nalkyl là như được xác định ở trên. Thông thường, “C_m-C_nalkylcacbonyl” là C₁-C₆alkyl-C(=O)-.

"C_m-C_nalkoxy" là gốc C_m-C_nalkyl-O- trong đó C_m-C_nalkyl là như được xác định ở trên. Đặc biệt quan tâm là gốc C₁-C₄alkoxy này bao gồm metoxy, etoxy, n-propoxy, isopropoxy, t-butoxy, n-butoxy và isobutoxy. Metoxy và isopropoxy là thường được ưu tiên. C₁-C₆alkoxy có nghĩa tương ứng, còn bao gồm thêm tất cả các chất đồng phân mạch thẳng hoặc mạch nhánh của pentoxy và hexoxy.

Thuật ngữ “C_m-C_nalkoxycarbonyl” là gốc có công thức C_m-C_nalkoxy-C(=O)- trong đó gốc C_m-C_nalkoxy là như được xác định ở trên. Thông thường, “C_m-C_nalkoxycarbonyl” là C₁-C₆alkoxy-C(=O)-.

Thuật ngữ “amino” là gốc -NH₂.

Thuật ngữ “halo” là gốc halogen như flo, clo, bromo hoặc iodo. Thông thường, nhóm halo là flo hoặc clo.

Thuật ngữ “aryl” có nghĩa là nhóm phenyl, biphenyl hoặc naphthyl.

Thuật ngữ “heterocycloalkyl” là vòng no một vòng có 3 đến 7 cạnh ổn định chứa từ 1 đến 3 dị nguyên tử độc lập được chọn từ O, S và N. Theo một phương án, vòng một vòng no có 3 đến 7 cạnh ổn định chứa 1 nguyên tử khác loại được chọn từ O, S và N. Theo phương án thứ hai, vòng một vòng no có 3 đến 7 cạnh ổn định chứa 2 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N. Theo phương án thứ ba, vòng một vòng no có 3 đến 7 cạnh ổn định chứa 3 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N. Vòng một vòng no có 3 đến 7 cạnh ổn định chứa từ 1 đến 3 dị nguyên tử độc lập được chọn từ O, S và N thông thường có thể là vòng có 5 đến 7 cạnh, như vòng có 5 hoặc 6 cạnh. Nhóm heterocycloalkyl có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế mà có thể giống nhau hoặc khác nhau, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, alkenyl, alkynyl, aryl, xycloalkyl, xyano, hydroxy, -O-alkyl, -O-aryl, -alkylen-O-alkyl, alkylthio, -NH₂, -NH(alkyl), -N(alkyl)₂, -NH(xycloalkyl), -O-C(=O)-alkyl, -O-C(=O)-aryl, -O-C(=O)-xycloalkyl, -C(=O)OH và -C(=O)O-alkyl. Thông thường được ưu tiên là nhóm heterocycloalkyl không được thế, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ “heteroaryl” là hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ổn định chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N, mỗi vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng. Theo một phương án của sáng chế, hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ổn định chứa một nguyên tử khác loại được chọn từ O, S và N, mỗi vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng. Theo phương án thứ hai của sáng chế, hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ổn định chứa hai nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N, mỗi vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng. Theo phương án thứ ba, hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ổn định chứa ba

nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N, mỗi vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng. Theo phương án thứ tư, hệ vòng thơm một vòng hoặc hai vòng ổn định chứa bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ O, S và N, mỗi vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử vòng.

Một phương án của heteroaryl bao gồm flavon.

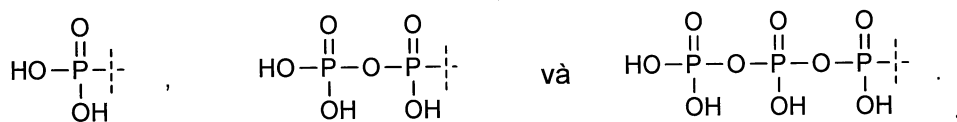
Thuật ngữ “ C_3 - C_n xycloalkyl” là gốc alkyl một vòng hóa trị một có số nguyên tử cacbon đã định, ví dụ C_3 - C_7 xycloalkyl có nghĩa là gốc alkyl một vòng hóa trị một có 3 đến 7 nguyên tử cacbon. Các gốc xycloalkyl được ưu tiên để sử dụng theo sáng chế là C_3 - C_4 alkyl nghĩa là xyclopropyl và xyclobutyl. Nhóm xycloalkyl có thể không được thế hoặc được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế mà có thể giống nhau hoặc khác nhau, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halo, alkenyl, alkynyl, aryl, xycloalkyl, xyano, hydroxy, -O-alkyl, -O-aryl, -alkylen-O-alkyl, alkylthio, $-NH_2$, $-NH(alkyl)$, $-N(alkyl)_2$, $-NH(xycloalkyl)$, $-O-C(=O)-alkyl$, $-O-C(=O)-aryl$, $-O-C(=O)-xycloalkyl$, $-C(=O)OH$ và $-C(=O)O-alkyl$. Thông thường được ưu tiên là nhóm xycloalkyl không được thế, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ “amino C_m - C_n alkyl” là gốc C_m - C_n alkyl như được xác định ở trên được thế bằng nhóm amino, nghĩa là một nguyên tử hydro của gốc alkyl được thay thế bằng nhóm NH_2 -. Thông thường, “amino C_m - C_n alkyl” là amino C_1 - C_6 alkyl.

Thuật ngữ “amino C_m - C_n alkylcacbonyl” là gốc C_m - C_n alkylcacbonyl như được xác định ở trên, trong đó một nguyên tử hydro của gốc alkyl được thay thế bằng nhóm NH_2 -. Thông thường, “amino C_m - C_n alkylcacbonyl” là amino C_1 - C_6 alkylcacbonyl. Các ví dụ về amino C_m - C_n alkylcacbonyl bao gồm nhưng không giới hạn ở glyxyl: $C(=O)CH_2NH_2$, alanyl: $C(=O)CH(NH_2)CH_3$, valinyl: $C(=O)CH(NH_2)CH(CH_3)_2$, leuxinyl: $C(=O)CH(NH_2)(CH_2)_3CH_3$, isoleuxinyl: $C(=O)CH(NH_2)CH(CH_3)(CH_2CH_3)$ và norleuxinyl: $C(=O)CH(NH_2)(CH_2)_3CH_3$ và các gốc tương tự. Định nghĩa là không bị giới hạn ở các axit amin có trong tự nhiên.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "(=O)" tạo thành gốc cacbonyl khi được gắn vào nguyên tử cacbon. Cần lưu ý rằng một nguyên tử chỉ có thể mang một nhóm oxo khi hóa trị của nguyên tử đó cho phép như vậy.

Thuật ngữ "este monophosphat, diphosphat và triphosphat" đề cập đến nhóm:



Như được sử dụng ở đây, vị trí gốc trên gốc phân tử bất kỳ được sử dụng trong các định nghĩa này có thể ở bất kỳ chỗ nào trên gốc này chừng nào nó ổn định về mặt hóa học. Khi sự có mặt biến thể bất kỳ xuất hiện nhiều hơn một lần trên gốc bất kỳ, mỗi định nghĩa là độc lập.

Thuật ngữ "solvat" bao gồm các solvat được dụng bất kỳ mà các hợp chất có công thức (Ia) cũng như các muối của nó, có thể tạo thành. Các solvat này ví dụ là các hydrat, các alcoholat, ví dụ các etanolat, các propanolat, và các solvat tương tự, đặc biệt là các hydrat.

Thuật ngữ "tiền dược chất" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ hợp chất mà là tiền dược chất khi được áp dụng cho đối tượng có thể chuyển hóa ngay in vivo bằng cách quy trình chuyển hóa và/hoặc hóa học tạo ra hợp chất có hoạt tính.

Cụm từ "tiền dược chất đích là gan" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ tiền dược chất được chuyển hóa thành các loại chất hoạt tính của nó chủ yếu trong gan.

Cụm từ "ung thư gan" như được sử dụng ở đây có nghĩa là bao gồm cả ung thư gan nguyên phát và thứ phát, nghĩa là ung thư có nguồn gốc trong gan, và sự chuyển hóa gan từ ung thư ở các cơ quan khác tương ứng.

Các thuật ngữ liên quan có thể được hiểu theo các định nghĩa nêu trên và sử dụng thông dụng trong lĩnh vực kỹ thuật.

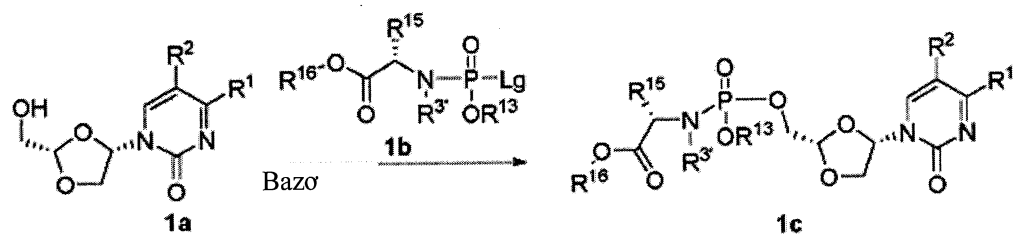
Nhìn chung, các tên của các hợp chất được dùng trong đơn này được tạo ra bằng cách sử dụng ChemDraw Ultra 12.0, Ngoài ra, nếu hóa học lập thể có

cấu trúc hoặc một phần của cấu trúc không được chỉ ra bằng ví dụ các đường in đậm hoặc đường gạch ngang, cấu trúc hoặc một phần của cấu trúc đó được hiểu là bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể của nó.

Phương pháp tổng hợp chung

Các hợp chất theo sáng chế có thể được pha chế bằng nhiều phương pháp ví dụ như được mô tả trong các sơ đồ tổng hợp minh họa được thể hiện và được mô tả dưới đây. Các nguyên liệu ban đầu và các thuốc thử được sử dụng có sẵn từ các nhà cung cấp trên thị trường hoặc có thể được pha chế theo các quy trình trong tài liệu chuyên ngành được nêu trong các tài liệu tham chiếu bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực.

Sơ đồ 1 minh họa cách thức chung đối với hợp chất có công thức (1a).

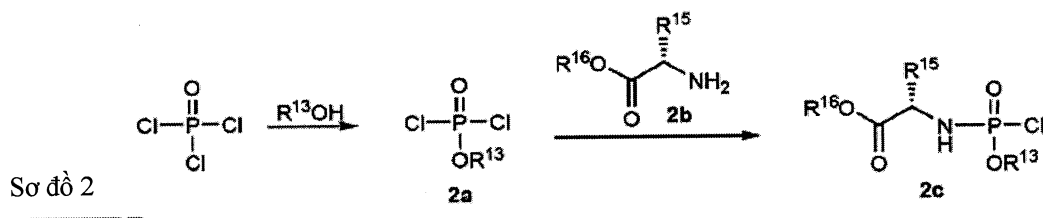


Sơ đồ 1

Lg là nhóm rời chuyển, ví dụ, halo hoặc pentaflorophenol

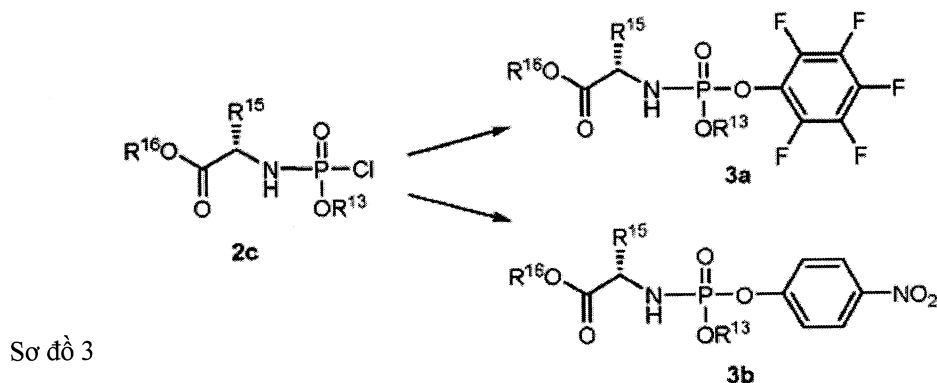
Ngưng tụ dẫn xuất troxacitabin (1a) có bán trên thị trường mà được pha chế như được mô tả trên đây, với chất phản ứng phosphoramidat (1b) mong muốn, trong đó Lg là nhóm rời chuyển thích hợp như halogen như clorua hoặc phenol hoạt hóa như pentaclorophenol, *p*-nitrophenol, pentaflorophenol hoặc các chất tương tự, trong dung môi trơ như ete, ví dụ dietyl ete hoặc THF, hoặc hydrocacbon được halogen hóa, ví dụ, diclometan, khi có mặt bazơ như N-metylimidazol (NMI) hoặc chất phản ứng Grignard như tert.butylmagie clorua hoặc các chất tương tự, dẫn xuất phosphoramidat (1c).

Chất phản ứng phosphoramidat (1b) cần sử dụng trong sơ đồ trên, trong đó Lg là Cl, nghĩa là phosphoramidocloridat, có thể được pha chế trong phản ứng hai bước bắt đầu từ phospho oxyclorua (POCl₃) như được minh họa trong Sơ đồ 2.



Ngưng tụ POCl_3 với rượu mong muốn R^{13}OH trong dung môi trơ như Et_2O tạo ra alkoxy hoặc aryloxy phosphorodichloridat (2a). Phản ứng sau đó với dẫn xuất axit amin (2b) tạo ra phosphoramidocloridat trong đó R^{13} là H (2c).

Nếu muốn, phosphoramidocloridat (2c) thu được có thể được chuyển hóa thành chất phosphoryl hóa tương ứng có phenol hoạt hóa làm nhóm rời chuyển, ví dụ, pentafluorophenol hoặc *p*- NO_2 -phenol như thường được minh họa trong Sơ đồ 3.



Quá trình chuyển hóa này thường được tiến hành bằng cách cho dẫn xuất clo (2c) phản ứng với phenol hoạt hóa mong muốn khi có mặt bazơ như triethylamin hoặc chất tương tự, từ đó tạo ra chất phosphoryl hóa (3a) và (3b).

Việc sử dụng các nhóm bảo vệ (PG) khác nhau được sử dụng trong các Sơ đồ trên đây là đã biết đối với người có trình độ trung bình, và việc sử dụng chúng và các thay thế khác được mô tả rộng rãi trong tài liệu, xem ví dụ Greene T.W., Wuts P.G.M. *Protective group in organic synthesis*, 2nd ed. New York: Wiley; 1995.

Thuật ngữ “nhóm bảo vệ N” hoặc “được bảo vệ N” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ các nhóm được dự định để bảo vệ đầu tận cùng N của axit amin hoặc peptit hoặc bảo vệ nhóm amino khỏi các phản ứng không mong muốn trong các quy trình tổng hợp. Nhóm bảo vệ N thường được sử dụng được bộc lộ trong

Greene. Nhóm bảo vệ N bao gồm nhóm axyl như formyl, axetyl, propionyl, pivaloyl, t-butylaxetyl, 2-cloaxetyl, 2-bromoaxetyl, trifloaxetyl, tricloaxetyl, phtalyl, o-nitrophenoxyaxetyl, α -clobutyryl, benzoyl, 4-clobenzoyl, 4-bromobenzoyl, 4-nitrobenzoyl, và các chất tương tự; nhóm sulfonyl như benzensulfonyl, p-toluensulfonyl, và các chất tương tự; nhóm tạo carbamat như benzyloxycarbonyl, p-clobenzyloxy-carbonyl, p-metoxybenzyloxycarbonyl, p-nitrobenzyloxycarbonyl, 2-nitrobenzyloxycarbonyl, p-bromobenzyl-oxy carbonyl, 3,4-dimethoxybenzyloxycarbonyl, 4-methoxybenzyloxycarbonyl, 2-nitro-4,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl, 3,4,5-trimethoxybenzyloxycarbonyl, 1-(p-biphenyl)-1-methyletoxycarbonyl, α,α -dimethyl-3,5-dimethoxybenzyl-oxy carbonyl, benzhydryloxycarbonyl, t-butoxycarbonyl, diisopropylmethoxycarbonyl, isopropylloxycarbonyl, etoxycarbonyl, methoxycarbonyl, allyloxycarbonyl, 2,2,2-trichloroetoxycarbonyl, phenoxycarbonyl, 4-nitrophenoxycarbonyl, fluorenyl-9-methoxycarbonyl, cyclopentylloxycarbonyl, adamantylloxycarbonyl, cyclohexylloxycarbonyl, phenylthiocarbonyl, và các chất tương tự; nhóm alkyl như benzyl, triphenylmethyl, benzyloxymethyl và các chất tương tự; và nhóm silyl như trimethylsilyl và các chất tương tự. Nhóm bảo vệ N được ưu tiên bao gồm formyl, axetyl, benzoyl, pivaloyl, t-butylaxetyl, phenylsulfonyl, benzyl (Bz), t-butoxycarbonyl (BOC) và benzyloxycarbonyl (Cbz).

Nhóm bảo vệ hydroxy và/hoặc carboxy cũng được đánh giá rộng rãi trong Greene ibid và bao gồm các ete như methyl, methyl ete được thế như methoxymethyl, methylthiomethyl, benzyloxymethyl, t-butoxymethyl, 2-methoxyethoxymethyl và các chất tương tự, silyl ete như trimethylsilyl (TMS), t-butyltrimethylsilyl (TBDMS) tribenzylsilyl, triphenylsilyl, t-butyltriphenylsilyl, triisopropyl silyl và các chất tương tự, etyl ete được thế như 1-ethoxymethyl, 1-methyl-1-methoxyethyl, t-butyl, allyl, benzyl, p-methoxybenzyl, diphenylmethyl, triphenylmethyl và các chất tương tự, nhóm aralkyl như trityl, và dẫn xuất pixyl (9-hydroxy-9-phenylxanten, đặc biệt là clorua). Nhóm bảo vệ este hydroxy bao gồm este như format, benzylformat, cloaxetat, methoxyaxetat, phenoxyaxetat, pivaloat, adamantoat, mesitoat, benzoat và các chất tương tự. Nhóm bảo vệ cacbonat hydroxy bao gồm methyl vinyl, allyl, cinnamyl, benzyl và các chất tương tự.

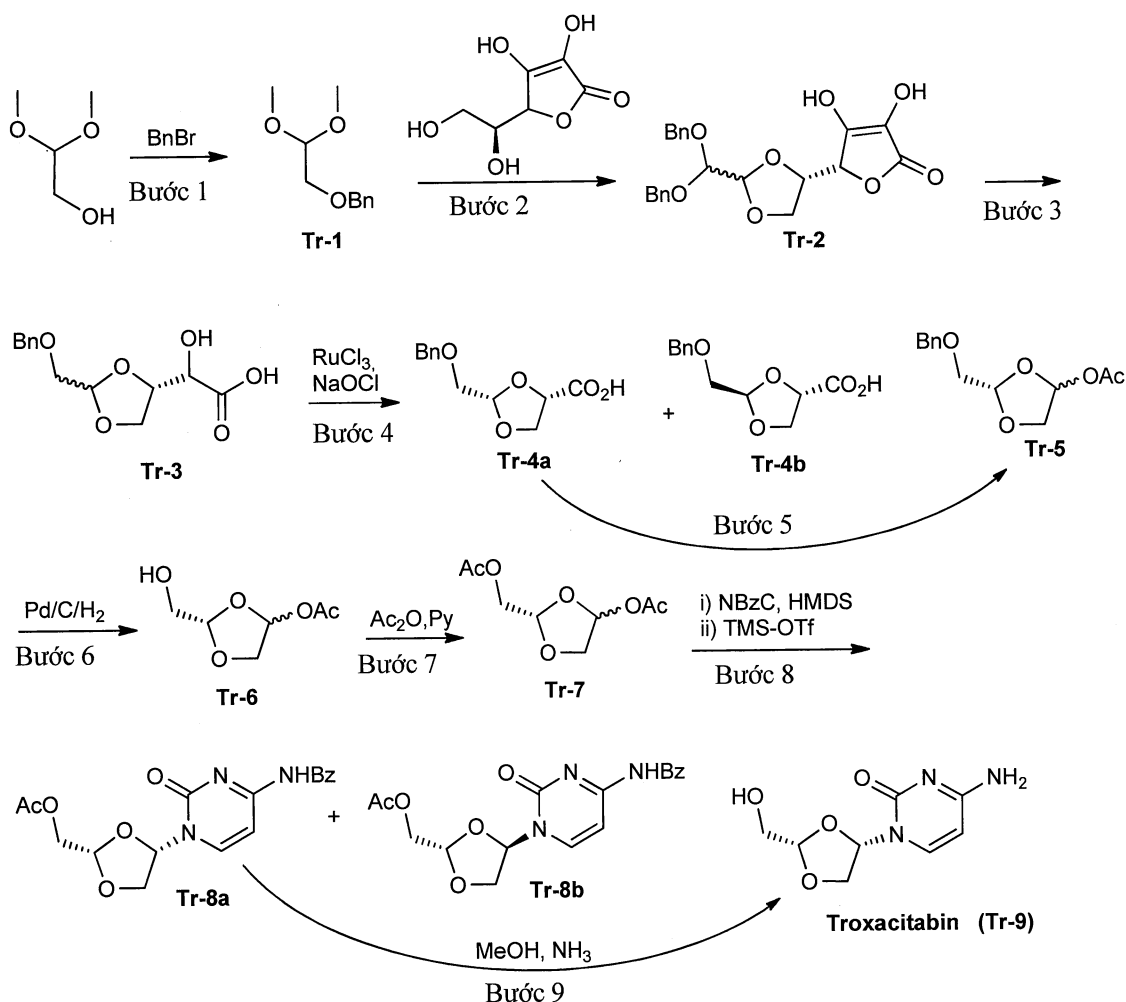
Ví dụ thực hiện sáng chế

Do đó, các phương án khác nhau của sáng chế và các chất trung gian được minh họa bằng các ví dụ sau. Các ví dụ chỉ được dự định để minh họa thêm cho sáng chế và không có nghĩa là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Tên của các hợp chất được tạo ra bằng phần mềm ChemDraw Ultra, Cambridgesoft, phiên bản 12.0.2.

Ngoài các định nghĩa trên đây, các chữ viết tắt sau được sử dụng trong các sơ đồ tổng hợp trên đây và các ví dụ dưới đây. Nếu chữ viết tắt được sử dụng trong bản mô tả không được xác định thì nó có nghĩa được chấp nhận thông dụng của nó.

Bn	Benzyl
BOP-Cl	Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinic clorua
DCC	Dixyclohexylcarbodiimit
DCM	Diclometan
DIEA	Diisopropyletylamin
DMAP	4-Dimetylaminyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimetylformamit
EtOA	Etyl axetat
Et ₃ N	Trietylamin
EtOH	Etanol
Et ₂ O	Dietyl ete
LC	Sắc ký lỏng
HOAc	Axit axetic
HPLC	Sắc ký lỏng cao áp
MeCN	Axetonitril
MeO	Metanol
NT	3-Nitro-1,2,4-triazol
on	Qua đêm
Pg	Nhóm bảo vệ
Ph	Phenyl
rt	Nhiệt độ trong phòng
TEST	bis(trietoxysilyl)propyl-tetrasulfua
THF	Tetrahydrofuran
TFA	Axit trifloaxetic
TFAA	Anhydrit trifloaxetic
TIPS	Triisopropylsilyl

Điều chế troxacitabin



Bước 1) ((2,2-dimethoxyethoxy)methyl)benzen (Tr-1)

Bổ sung benzyl bromua (56,03mL, 0,471mol) và NaOH (20,7g, 0,518mol) vào dung dịch đã khuấy chứa 2,2-dimethoxyetanol (50g, 0,471mol) trong DMF (200mL) ở nhiệt độ 0°C và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), bổ sung dung dịch natri clorua bão hòa (500mL) vào và chiết hỗn hợp phản ứng bằng DCM (1L), làm khô pha hữu cơ (Na_2SO_4) và cô và tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột silicagel trên 60-120 silic oxit dưới dạng 4-6% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục (60g, 60%) dưới dạng chất lỏng.

Bước 2) (5S)-5-((4S)-2-((benzyloxy)methyl)-1,3-dioxolan-4-yl)-3,4-dihydroxyfuran-2(5H)-on (Tr-2)

Bổ sung axit L-ascorbic (44,9g, 0,255mol) vào dung dịch chứa hợp chất Tr-1 (60g, 0,306mol) trong axetonitril khô (898mL) sau đó bổ sung *p*TSA monohydrat (15,5g, 0,076mol) vào và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ

90°C trong 1 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), chưng cất hoàn toàn một nửa thể tích của axetonitril và lặp lại quy trình này hai lần. Loại bỏ hoàn toàn dung môi và thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể (91g). Sản phẩm được dùng trực tiếp cho bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước 3) Axit (2R)-2-((4S)-2-((benzyloxy)metyl)-1,3-dioxolan-4-yl)-2-hydroxyaxetic (Tr-3)

Bổ sung hợp chất Tr-2 (91,7g, 0,297mol) vào dung dịch đã khuấy chứa K_2CO_3 (86,3g, 0,625mol) trong H_2O (509mL) ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung từ từ H_2O_2 (80mL, 0,71mol, 30% thể tích/thể tích) vào và làm lạnh dung dịch đến 0°C và sau đó khuấy trong 24 giờ. Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm, bổ sung EtOH (100mL) vào và gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ hồi lưu trong 30 phút, sau đó lọc. Bổ sung EtOH (100mL) vào phần cặn dạng rắn thu được và gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ hồi lưu trong 30 phút (hai lần). Cô các dịch lọc đã gom được trong điều kiện chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục (90g) dưới dạng chất rắn.

Bước 4) Axit (2S,4S)-2-((benzyloxy)metyl)-1,3-dioxolan-4-carboxylic (Tr-4a) & axit (2R,4S)-2-((benzyloxy)metyl)-1,3-dioxolan-4-carboxylic (Tr-4b)

Bổ sung từng giọt natri hypochlorit (650mL, 0,881mol, 9-10% trong nước) trong thời gian 30 phút vào dung dịch được khuấy mạnh chứa hợp chất Tr-3 (90g, 0,294mol) và $RuCl_3 \cdot xH_2O$ (1,22g, 0,0058mol) trong nước (ml pH=8 nhiệt độ trong phòng). Duy trì độ pH bằng 8 bằng cách bổ sung dung dịch NaOH 1M. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 35°C trong 12 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), bổ sung HCl 1,5N vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C cho đến khi đạt được độ pH = 6, sau đó bổ sung EtOAc (1L) vào. Rửa pha hữu cơ bằng nước muối (2x100mL), làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột silicagel trên 230-400 silic oxit dưới dạng 20% EtOAc trong P.ete để thu được hợp chất 4a+4b dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân. Sau đó tách các chất đồng phân bằng sắc ký cột trên silic oxit 230-400 bằng cách sử dụng MeOH 0,9%

trong DCM và AcOH 0,1% làm chất rửa giải, thu được chất đồng phân 2R (20g, 28%)

Bước 5) (2S)-2-((benzyloxy)methyl)-1,3-dioxolan-4-yl axetat (Tr-5)

Bổ sung pyridin (13,2mL) và chì axetat (79,8g, 0,180mol) vào dung dịch chứa hợp chất Tr-4a (33g, 0,138mol) trong axetonitril (660mL) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), lọc hỗn hợp phản ứng, cô dịch lọc và đưa phần còn lại vào EtOAc (500mL), rửa bằng nước (100mL) và dung dịch natri clorua bão hòa (100mL) và làm khô trên Na_2SO_4 . Sau khi loại bỏ dung môi, tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên 60-120 silic oxit dưới dạng gradien 12-15% EtOAc/Pet.ete để thu được hợp chất nêu ở đề mục (16g, 47%) dưới dạng chất lỏng.

Bước 6) (2S)-2-(hydroxymethyl)-1,3-dioxolan-4-yl axetat (Tr-6)

Bổ sung Pd/C (3,2g, 20% trọng lượng/trọng lượng) vào dung dịch đã khuấy chứa hợp chất Tr-5 (16g,) trong metanol khô (160mL), hydro hóa hỗn hợp phản ứng trong 3 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), lọc hỗn hợp phản ứng thông qua xelit. Cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm và hợp chất thô nêu ở đề mục thu được (10g, 97%) được đưa trực tiếp vào bước tiếp theo.

Bước 7) ((2S)-4-axetoxy-1,3-dioxolan-2-yl)methyl axetat (Tr-7)

Bổ sung anhydrit của axit axetic (8,22mL, 0,080mol) vào dung dịch đã khuấy chứa hợp chất Tr-6 (5,74g, 0,0354mol) trong pyridin (107mL) ở nhiệt độ 0°C và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), làm nguội hỗn hợp phản ứng bằng HCl loãng (10mL) và chiết vào EtOAc (100mL). Tách pha hữu cơ, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit được rửa giải bằng gradien của 10-15% EtOAc/Pet.ete để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,97g, 68%) dưới dạng chất lỏng.

Bước 8) ((2S,4S)-4-(4-(benzylamino)-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methyl axetat (Tr-8a)

Hồi lưu hỗn hợp của N-benzoylxytosin (12,1g, 56,3mmol), amoni sulfat (lượng xúc tác) và hexametyldisilazan (HMDS) (67,4mL, 418mmol) trong 1 giờ.

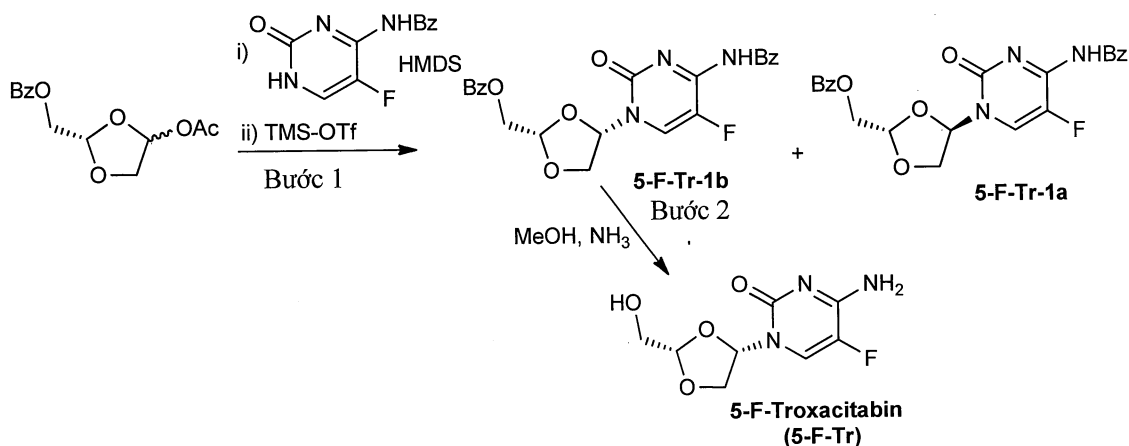
Loại bỏ HMDS trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 40°C và đưa phần còn lại vào 1,2-dicloetan khô (57mL) và bổ sung dung dịch chứa hợp chất Tr-7 (5,7g, 27,9mmol) trong 1,2-dicloetan khô (57mL) sau đó bổ sung từng giọt TMSOTf (10,2mL, 45,7mmol) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, sau đó bổ sung dung dịch NaHCO₃ trong nước vào và khuấy hỗn hợp trong 30 phút. Lọc chất rắn thu được thông qua xelit và đưa dịch lọc vào EtOAc (200mL), rửa bằng nước (50mL) và làm khô (Na₂SO₄). Sau khi loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm, tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit sử dụng gradien của 10-15% EtOAc/Pet.ete để thu được hỗn hợp của các anome mà sau đó được tách bằng cách tinh chế SFC để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3g, 30%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Bước 9) 4-amino-1-((2S,4S)-2-(hydroxymetyl)-1,3-dioxolan-4-yl)pyrimidin-2(1H)-on (Tr-9)

Khuấy hỗn hợp của hợp chất Tr-8a (3g), dung dịch metanolic amoniac bão hòa (180mL) ở nhiệt độ trong phòng trong ống bịt kín trong 16 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit được rửa giải bằng gradien của 10-13% MeOH trong DCM, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,5g, 85%) dưới dạng chất rắn.

¹H NMR 400 MHz DMSO-d₆ δ: 3,63-3,65 (2H), 4,04-4,07 (2H), 4,92-4,94 (1H), 5,18-5,21 (1H), 5,72-5,74 (1H), 6,16-6,18 (1H), 7,14 (1H), 7,26 (1H), 7,80-7,82 (1H).

Điều chế 5-F-troxacitabin



Bước 1) ((2S,4R)-4-(4-benzamido-5-flo-2-oxypyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)metyl benzoat (5-F-Tr-1a) & ((2S,4S)-4-(4-benzamido-5-flo-2-oxypyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)metyl benzoat (5-F-Tr-1b)

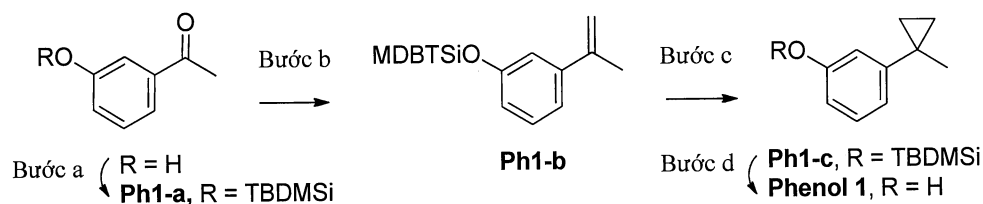
Hồi lưu hỗn hợp của 5-flo benzoyl xytosin (9,1g, 39,5mmol), amoni sulfat (lượng xúc tác) và hexametyldisilazan (140mL) trong 14 giờ. Loại bỏ HMDS trong điều kiện áp suất giảm ở nhiệt độ 40°C và đưa phần còn lại vào 1,2-dicloetan khô (50mL) và bổ sung dung dịch chứa hợp chất ((2S)-4-axetoxymetyl-1,3-dioxolan-2-yl)metyl benzoat (7g, 26,30mmol) trong 1,2-dicloetan khô (50mL) vào, sau đó bổ sung từng giọt TMS-OTf (11,6g, 52,6mmol) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó bổ sung dung dịch NaHCO₃ trong nước vào hỗn hợp phản ứng và khuấy hỗn hợp trong 30 phút nữa. Lọc chất rắn thu được thông qua xelit và đưa dịch lọc vào EtOAc (500mL), rửa bằng nước (50mL) và làm khô (Na₂SO₄). Loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit dưới dạng gradien 50-60% EtOAc/Pet.ete để thu được hợp chất tinh khiết nêu ở đề mục (1,7g, 18%) dưới dạng chất rắn.

Bước 2) 4-amino-5-flo-1-((2S,4S)-2-(hydroxymetyl)-1,3-dioxolan-4-yl)pyrimidin-2(1H)-on (5-F-Tr)

Khuấy hỗn hợp của hợp chất 5-F-Tr-1b (1,7g), dung dịch metanolic amoniac bão hòa (34mL) ở nhiệt độ phòng trong ống bịt kín trong 16 giờ, sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit dưới dạng gradien 5% MeOH trong DCM để thu được hợp chất nêu ở đề mục (0,8g, 68%) dưới dạng chất rắn.

Các phenol sau được pha chế và được sử dụng trong quá trình điều chế các chất trung gian cho các hợp chất theo sáng chế:

Phenol 1



Bước a) 1-(3-((Tert-butyldimethylsilyl)oxy)phenyl)etanon (Ph1-a)

Bổ sung imidazol (4,46g, 65,5mmol) vào dung dịch chứa 3-hydroxyacetophenon (4,46g, 32,8mmol) trong DMF (6mL). Sau 5 phút, bổ sung dung dịch chứa TBDMS-Cl (4,69g, 31,1mmol) trong DMF (4mL) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 90 phút, sau đó rót vào hexan chứa 5% EtOAc (200mL) và rửa bằng HCl 1M (60mL), nước (60mL), natri bicarbonat bão hòa (2x60mL), nước (60mL) và nước muối (60mL). Làm khô lớp hữu cơ trên Na_2SO_4 , lọc và cô và tinh chế phần cần thu được bằng sắc ký nhanh trên silicagel được rửa giải bằng hexan/EtOAc, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,7g, 69%).

Bước b) Tert-butyldimetyl(3-(prop-1-en-2-yl)phenoxy)silan (Ph1-b)

Tạo huyền phù methyl(triphenylphosphoni)bromua (10,2g, 28,4mmol) trong THF khô (30mL) trong điều kiện nitơ và làm lạnh huyền phù này xuống 0°C . Bổ sung từng giọt n-Butyllithi (17,8mL, 28,4mmol) vào hỗn hợp và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Bổ sung Ph1-a (5,7g, 22,8mmol) vào hỗn hợp và tiếp tục tiến hành phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 60 phút. Dừng phản ứng bằng natri bicarbonat trong nước và chiết bằng diethyl ete (50mL). Rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch natri bicarbonat, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế phần cần thu được thông qua nút silicagel sử dụng được rửa giải bằng hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,9g, 69%).

Bước c) tert-butyldimetyl(3-(1-metylcyclopropyl)phenoxy)silan (Ph1-c)

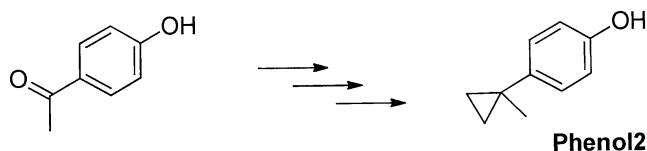
Bổ sung từng giọt Dietylkẽm trong hexan (439,2mmol) trong điều kiện nitơ trong 10 phút vào dung dịch lạnh (0°C) chứa olefin Ph1-b (3,9g, 15,7mmol)

trong 1,2-dicloetan (60mL). Bổ sung từng giọt diiodometan (6,32mL, 78,5mmol) vào và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút và sau đó cho phép đạt nhiệt độ trong phòng qua đêm. Rót hỗn hợp vào dung dịch đá lạnh chứa amoni clorua và chiết bằng diethyl ete. Rửa lớp hữu cơ bằng natri bicarbonat bão hòa, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Đưa sản phẩm thô vào hexan và loại bỏ diiodometan còn lại. Cô lớp hexan thành sản phẩm thô mà được đưa vào bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước d) 3-(1-Metylxcyclopropyl)phenol (Phenol 1)

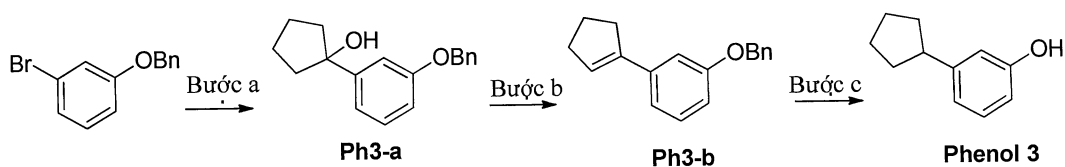
Đưa Ph1-c (3,45g, 13,1mmol) vào dung dịch 1M chứa tetrabutylamoni florua trong THF (20mL, 20mmol) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Dùng phản ứng bằng HCl 1M (50mL) và chiết bằng etyl axetat (100mL). Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối (2x50mL), làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế phần còn lại bằng sắc ký nhanh trên silicagel được rửa giải bằng hỗn hợp của 2-propanol, EtOAc và hexan, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (0,56g, 29%). MS 147,1 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Phenol 2



Hợp chất nêu ở đề mục được pha chế từ 4-hydroxyaxetophenon (6,0g, 44,1mmol) bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả để điều chế Phenol 1. Hiệu suất 53%.

Phenol 3



Bước a) 1-(3-(benzyloxy)phenyl)cyclopentanol (Ph3-a)

Bổ sung Iot, được làm ẩm bằng magie, vào huyền phù chứa dây điều chỉnh làm bằng magie (1,29g, 52,8mmol) trong THF khô (50mL). Hồi lưu hỗn

hợp và bổ sung khoảng 5% dung dịch chứa 3-bromophenol (13,9g, 52,8mmol) vào. Khi bắt đầu phản ứng, bổ sung từng giọt dung dịch chứa bromua vào và sau đó hồi lưu hỗn hợp trong một giờ nữa. Làm lạnh hỗn hợp xuống khoảng 5°C và bổ sung từng giọt dung dịch chứa xyclopentanone (4,44g, 52,8mmol) trong THF (50mL) vào. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ, sau đó dừng phản ứng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa lạnh và chiết bằng dietyl ete (x3). Rửa pha hữu cơ bằng nước muối, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký silicagel (isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,5g, 54%).

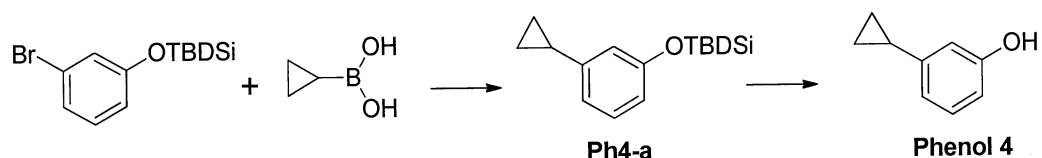
Bước b) 1-(benzyloxy)-3-(xyclopent-1-en-1-yl)benzen (Ph3-b)

Bổ sung axit *p*-Toluensulfonic vào dung dịch chứa Ph3-a (8,4g, 28,2mmol) trong benzen (100mL). Hồi lưu hỗn hợp trong ba giờ bằng bể DMF, sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng với dietyl ete và rửa bằng dung dịch bão hòa chứa natri hydro carbonat và nước muối. Làm khô pha hữu cơ (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký silicagel (isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (6,45g, 91%). MS 249,4 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Bước c) 3-Xcyclopentylphenol (Phenol 3)

Hydro hóa dung dịch chứa Ph3-b (6,4g, 26mmol) trong EtOAc (75mL) và EtOH (75mL) ở nhiệt độ 22°C và 40PSI khi có mặt Pd 10% trên cacbon (1,5g) trong Parr qua đêm. Lọc sạch chất xúc tác và rửa bằng EtOAc và EtOH. Làm bay hơi dung môi trong điều kiện áp suất giảm và phân lập sản phẩm bằng sắc ký silicagel (isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,6g, 82%). MS 161,2 [M-H]⁻.

Phenol 4



Bước a) Tert-butyl(3-xyclopropylphenoxy)dimetylsilan (Ph4-a)

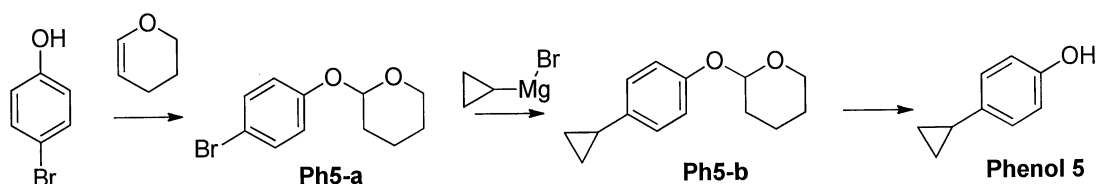
Khuấy huyền phù chứa (3-bromophenoxy)(tert-butyl)dimetylsilan (5,46g, 19mmol), axit xyclopropylboric (2,12g, 24,7mmol), kali phosphat, tribazo

(14,1g, 66,5mmol), trixyclohexylphosphin (0,53g, 1,9mmol) và $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,21g, 0,95mmol) trong toluen (80mL) và nước (4mL) ở nhiệt độ 110°C qua đêm. Pha loãng huyền phù đặc này với diethyl ete và rửa bằng nước và nước muối. Làm khô pha hữu cơ (MgSO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột nhanh (EtOAc/hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,94g, 41%).

Bước b) 3-Xyclopropylphenol (Phenol 4)

Bổ sung tetrabutylamoni florua 1M (10,1mL, 10,1mmol) vào dung dịch chứa Ph4-a (1,94g, 7,81mmol) trong THF (25mL). Khuấy dung dịch trong 2 giờ, sau đó làm bay hơi dung môi và hòa tan phần còn lại trong EtOAc và rửa hai lần bằng NH_4Cl đậm đặc (trong nước) và rửa một lần nữa bằng nước muối. Làm khô pha hữu cơ (MgSO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột nhanh (hexan/etyl axetat 9:1 với 1% isopropanol) để thu được hợp chất nêu ở đề mục không tinh khiết ở mức độ nhẹ (1,24g, 119%).

Phenol 5



Bước a) 2-(4-Bromophenoxy)tetrahydro-2H-pyran(Ph5-a)

Hòa tan 4-Bromphenol (3,75g, 21,7mmol) trong 3,4-dihydro-2H-pyran (16mL, 175mmol), bổ sung lượng xúc tác của axit p-Toluensulfonic (15mg, 0,09mmol) vào và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 22°C trong 45 phút. Pha loãng hỗn hợp với diethyl ete và rửa bằng NaOH 1M (trong nước) x2, nước, làm khô (Na_2SO_4) và cô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,57g, 99%).

Bước b) 2-(4-Xyclopropylphenoxy)tetrahydro-2H-pyran (Ph5-b)

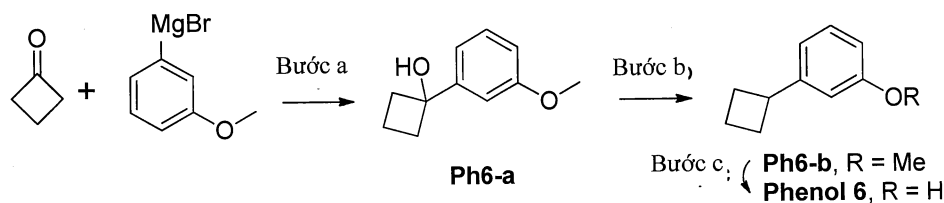
Bổ sung dung dịch chứa xyclopropyl magie bromua 0,5M trong THF (6,5mL, 3,25mmol) trong 15 phút vào dung dịch chứa Ph5-a (552,5mg, 2,15mmol), ZnBr (144mg, 0,64mmol), tri-tert-butylphosphin tetraflorolat (35,6mg, 0,12mmol) và $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (29,5mg, 0,13mmol) trong THF (4mL). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 22°C trong 90 phút sau đó làm lạnh trên bề mặt đá và bổ sung nước đá (10mL) vào. Chiết hỗn hợp bằng EtOAc x3 và rửa các chất chiết bằng

nước muối và sau đó làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế phần còn lại bằng sắc ký cột trên silic oxit (ete dầu mỏ/EtOAc) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (292mg, 62%).

Bước c) 4-Xyclopropylphenol (Phenol 5)

Bổ sung monohidrat của axit *p*-Toluensulfonic (18,9mg, 0,1mmol) vào dung dịch chứa Ph5-b (2,28g, 10,45mmol) trong MeOH (15mL). Gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ 120°C trong 5 phút trong bình phản ứng vi sóng, sau đó cô và tinh chế bằng sắc ký cột trên silic oxit (ete dầu mỏ/EtOAc). Kết tinh các chất rắn thu được từ ete dầu mỏ để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,08g, 77%).

Phenol 6



Bước a) 1-(3-Metoxyphenyl)xyclobutanol (Ph6-a)

Bổ sung từng giọt dung dịch 1M chứa 3-metoxyphenyl magie bromua trong THF (2,11g, 99,8mmol) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 10°C vào dung dịch đã khuấy chứa xyclobutanon (6,66g, 95mmol) trong dietyl ete (65mL). Khuấy hỗn hợp trong ba giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 10°C , sau đó bổ sung hỗn hợp vào dung dịch đã được làm lạnh bằng đá chứa NH_4Cl bão hòa (300mL) và nước (300mL). Khuấy hỗn hợp trong 10 phút sau đó chiết ba lần bằng dietyl ete. Làm khô pha hữu cơ, (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký silicagel (isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (16,9g, 86%).

Bước b) 1-xyclobutyl-3-metoxybenzen (Ph6-b)

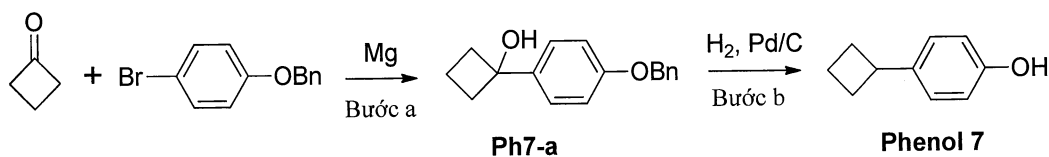
Bổ sung Pd 10% trên cacbon (2,5g) vào dung dịch chứa Ph6-a (15,4g, 86,1mmol) trong ethanol (200mL) và hydro hóa hỗn hợp trong Parr ở 60psi. Sau 18 giờ, bổ sung thêm Pd 10% trên cacbon (1,5g) vào và hydro hóa hỗn hợp trong 18 giờ nữa ở 60 psi. Lọc sạch chất xúc tác và rửa bằng EtOH và EtOAc. Cô dung dịch trong điều kiện áp suất giảm và phân lập sản phẩm thô bằng sắc ký silicagel

(isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (14,0g, 77%).

Bước c) 3-xyclobutylphenol (Phenol 6)

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa boron tribromua 1M (18,1g, 72,2mmol) trong DCM ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa Ph6-b (10,6g, 65,6mmol) trong DCM khô (65mL). Khuấy hỗn hợp trong 2,5 giờ ở nhiệt độ -5°C, sau đó dừng phản ứng bằng dung dịch lạnh bão hòa chứa NH₄Cl và chiết ba lần bằng DCM. Làm khô pha hữu cơ (Na₂SO₄), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký silicagel (isohexan/EtOAc), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (9,73g, 88%).

Phenol 7



Bước a) 1-(4-(benzyloxy)phenyl)cyclobutanol (Ph7-a)

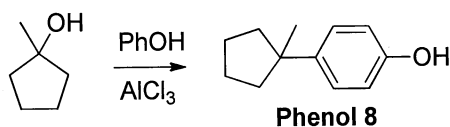
Bổ sung từng giọt dung dịch chứa 1-(benzyloxy)-4-bromobenzen (2,63g, 100mmol) trong dietyl ete:THF 1:1 (100mL) ở nhiệt độ hồi lưu trong ≈ 1 giờ vào huyền phù chứa dây điều chỉnh làm bằng magie (2,43g) và một lượng nhỏ iot trong dietyl ete (50mL). Khi hoàn thành việc bổ sung, hồi lưu hỗn hợp trong bốn giờ, sau đó làm lạnh đến $\approx 0^\circ\text{C}$. Bổ sung THF khô (50mL) vào sau đó bổ sung từ từ dung dịch chứa xyclobutanon (7,01g, 100mmol) trong dietyl ete (50mL) và để hỗn hợp đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy trong hai giờ, bổ sung dung dịch lạnh bão hòa chứa NH₄Cl (500mL) vào và khuấy hỗn hợp trong 15 phút, sau đó chiết hai lần bằng EtOAc. Rửa pha hữu cơ bằng nước muối, làm khô bằng natri sulfat và làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký cột trên silicagel, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (12,5g, 42%).

Bước b) 4-xyclobutylphenol (Phenol 7)

Bổ sung Pd 10% trên cacbon (2,55g, 21,5mmol) trong điều kiện khí argon vào dung dịch chứa Ph7-a (12,4g, 41,4mmol) trong EtOH nguyên chất (110mL) và hydro hóa hỗn hợp ở 45psi ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Lọc sạch chất xúc tác, rửa bằng etanol và cô dung dịch. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký

silicagel (isohexan – EtOAc). Tập hợp các phần thích hợp và cô và kết tinh phần còn lại từ ete nhiên liệu để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,15g, 51%).

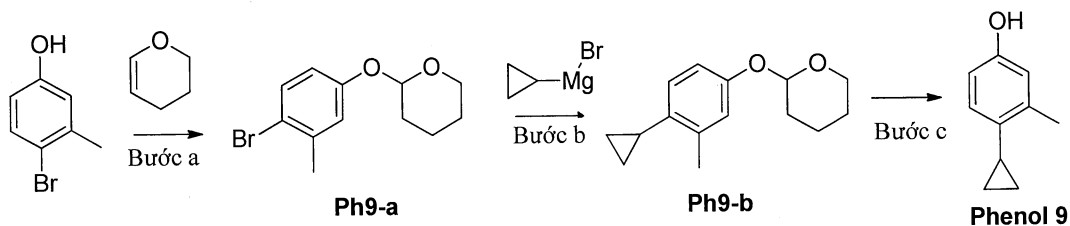
Phenol 8



4-(1-Methylcyclopentyl)phenol (Phenol 8)

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa 1-methylcyclopentanol (2,00g, 20,0mmol) và phenol (2,07g, 22,0mmol) trong pentan (50mL) trong 30 phút vào huyền phù chứa AlCl_3 sạch (1,33g, 10mmol) trong pentan (100mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong điều kiện N_2 ở nhiệt độ trong phòng trong 72 giờ, sau đó rót hỗn hợp phản ứng vào nước/đá và HCl (12M, 20mmol, 1,66mL). Rửa pha hữu cơ bằng nước (50mL) và nước muối (50mL), làm khô (Na_2SO_4) lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên silic oxit (MeOH – DCM), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (426mg, 12%).

Phenol 9



Bước a) 2-(4-Bromo-3-methylphenoxy)tetrahydro-2H-pyran (Ph9-a)

Bổ sung *p*Ts (16mg, 0,086mmol) vào dung dịch chứa 4-bromo-3-methylphenol (4,0g, 21,4mmol) trong 3,4-dihydro-2-H-pyran (16mL, 175mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, sau đó pha loãng với diethyl ete và rửa bằng NaOH 1M (trong nước) và nước. Làm khô pha hữu cơ (Na_2SO_4) lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên silic oxit (EtOAc/heptan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,32g, 57%).

Bước b) 2-(4-Xyclopropyl-3-methylphenoxy)tetrahydro-2H-pyran (Ph9-b)

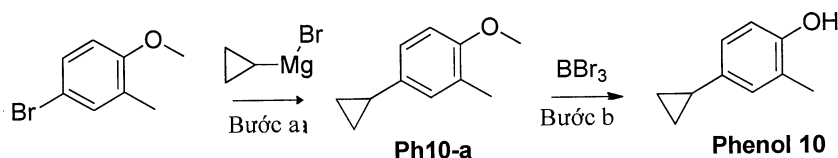
Cho Ph9-a (3,12g, 11,5mmol), ZnBr_2 (2,59g, 11,5mmol), tri-tert-

butylphosphin tetraflorborat (0,2g, 0,69mmol) và $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (258mg, 1,15mmol) vào trong bình và làm đầy tràn bình này với N_2 hai lần. Bỏ sung THF (10mL) vào trong khi khuấy, sau đó bỏ sung từng giọt xyclopropylmagie bromua 0,5M trong THF (35mL, 17,4mmol) trong 5 phút. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, sau đó lọc trên nút xelit, rửa giải bằng MeOH. Cô dung dịch và tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên silic oxit (EtOAc/heptan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,69g, 57%).

Bước c) 4-Xcyclopropyl-3-metylphenol (Phenol 9)

Hòa tan Ph9-b (1,70g, 7,30mmol) trong MeOH (20mL) và bổ sung *p*TsxH₂O (318mg, 1,67mmol) vào. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 22°C trong 30 phút, sau đó cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột (EtOAc/heptan), để thu được hợp chất nêu ở đề mục (704mg, 65%).

Phenol 10



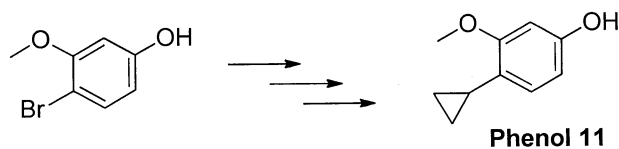
Bước a) 4-xyclopropyl-1-metoxi-2-metylbenzen (Ph10-a)

Cho 4-Bromo-1-metoxy-2-metylbenzen (4,39g, 21,9mmol) phản ứng với xyclopropylmagie bromua theo quy trình được mô tả trong Ph9 bước b, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,54g, 43%).

Bước b) 4-xyclopropyl-2-metylphenol (Phenol 10)

Bổ sung BBr₃ (5mL, 5mmol) trong điều kiện N₂ ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa Ph10-a (1,54g, 9,49mmol) trong DCM (7,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 2 giờ, sau đó làm nguội bằng MeOH (3mL) và cô. Hòa tan sản phẩm thô trong EtOAc và rửa bằng nước muối. Làm khô pha hữu cơ (Na₂SO₄), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột trên silic oxit, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (826mg, 59%). MS 147,11 [M-H]⁻.

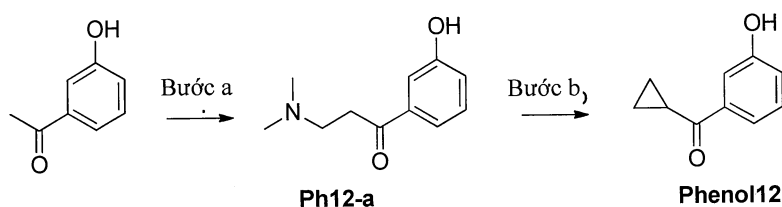
Phenol 11



4-xyclopropyl-3-metoxyphenol (Phenol 11)

Hợp chất nêu ở đề mục được pha chế từ 4-bromo-3-metoxyphenol (1,11g, 5,49mmol) theo quy trình được mô tả để điều chế Phenol 9. Hiệu suất 40%.

Phenol 12



Bước a) 3-(dimethylamino)-1-(3-hydroxyphenyl)propan-1-on (Ph12-a)

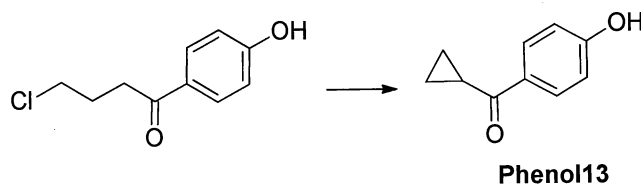
Bổ sung một vài giọt HCl vào dung dịch chứa 3-hydroxy axetophenon (4,08g, 30mmol), paraformaldehyt (4,05g, 45mmol) và dimetylamin hydroclorua (2,69g, 33mmol) trong EtOH nguyên chất (100mL) và hồi lưu hỗn hợp phản ứng trong 18 giờ. Bổ sung thêm dimetylamin hydroclorua (0,55 đương lượng, 1,22g), paraformaldehyt (0,5 đương lượng, 1,35g) và HCl (0,5mL) vào và hồi lưu hỗn hợp phản ứng trong 4 giờ nữa, sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Gom chất rắn màu trắng đã kết tủa và rửa bằng EtOH lạnh (50mL) và axeton lạnh (10mL) và sau đó làm đông khô, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,59g, 38%) mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước b) xyclopropyl(3-hydroxyphenyl)metanon (Phenol 12)

Bổ sung theo phần NaH (60% chất phân tán dầu khoáng) (1,13g, 28,2mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào huyền phù đã khuấy chứa trimetylsulfoxoni iodua (6,20g, 28,2mmol) trong DMSO (100mL). Sau 1 giờ, bổ sung theo phần Ph12-a rắn (2,59g, 11,3mmol) trong điều kiện có khuấy và làm mát. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 40 giờ, sau đó rót vào nước lạnh (200mL) và chiết bằng DCM (3x100mL). Rửa pha hữu cơ bằng dung dịch bão hòa trong nước chứa NH₄Cl (2 x 100mL), làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột trên silic oxit

(MeOH/DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (883mg, 48%).

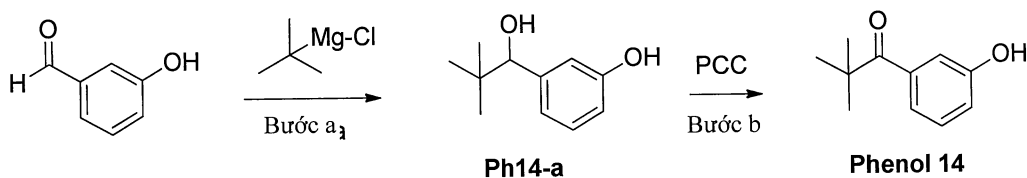
Phenol 13



Bước a) xyclopropyl(4-hydroxyphenyl)metanon (Ph13)

Bổ sung theo phần *p*-Hydroxy- γ -clobutyrophenon (4,95g) trong khoảng 30 phút vào dung dịch chứa NaOH (8mL, trong nước, 50% trọng lượng/trọng lượng), sau đó bổ sung NaOH (35mL, trong nước, 25% trọng lượng/trọng lượng) sau đó là *p*-hydroxy γ -clobutyrophenon (4,95g) theo một phần. Giảm nhiệt độ xuống 140°C và bổ sung NaOH (8g) vào. Sau 90 phút, bổ sung H₂O (10mL) vào, và sau đó thêm 60 phút nữa, làm mát hỗn hợp phản ứng, pha loãng với H₂O và trung hòa bằng HOAc ($\approx$ 27-30ml) đến độ pH $\approx$ 7. Lọc chất kết tủa được tạo ra, rửa bằng H₂O và làm khô trong chân không. Nghiền nhỏ các chất rắn thành bột trong CHCl₃ (200mL) ở nhiệt độ 40°C trong 10 phút, sau đó ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Gia nhiệt huyền phù đặc đến 40°C trong 30 phút, sau đó lọc. Làm khô dịch lọc (MgSO₄), lọc và cô đến $\approx$ 70ml. Bổ sung hexan và tạo ra dầu mà cuối cùng trở thành tinh thể. Lọc huyền phù đặc, rửa các chất rắn bằng CHCl₃/hexan và làm khô, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,15g, 51%).

Phenol 14



Bước a) 3-(1-hydroxy-2,2-dimetylpropyl)phenol (Ph14-a)

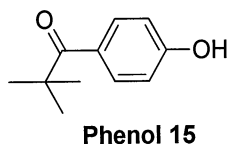
Bổ sung từng giọt t.Bu-MgBr (1,5 đương lượng) trong 30 phút vào hỗn hợp lạnh (-10°C) của 3-hydroxybenzaldehyt (2,00g, 16,4mmol) trong diethyl ete (20mL). Trong quá trình bổ sung này, bổ sung THF (20mL) vào. Cho phép hỗn hợp đạt 23°C và khuấy trong 6 giờ. Bổ sung thêm t.Bu-MgBr (0,7 đương lượng)

vào và khuấy hỗn hợp qua đêm, sau đó làm mát và dừng phản ứng bằng NH_4Cl trong nước bão hòa để thu được EtOAc được bổ sung vào hỗn hợp sau đó bổ sung HCl 1M trong nước cho đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Tách các pha và rửa pha hữu cơ bằng nước muối, làm khô (Na_2SO_4), lọc và cô. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,1g, 37%).

Bước b) 1-(3-hydroxyphenyl)-2,2-dimethylpropan-1-on (Ph14)

Bổ sung 3 Å MS và pyridini clocromat (PCC) (1,97g, 9,15mmol) sau đó là DCM khô (5mL) vào bình đáy tròn được sấy trong lò. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 20°C trong 5 phút sau đó bổ sung từ từ hỗn hợp của AA8019 (1,10g, 6,10mmol) trong DCM (5mL) vào. Sau khi kết thúc bước oxy hóa, lọc hỗn hợp thông qua tấm xelit, rửa tấm này bằng dietyl ete. Cô dịch lọc. Tinh chế sản phẩm thô bằng sắc ký cột để thu được hợp chất nêu ở đề mục (402mg, 37%). MS 179,25 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

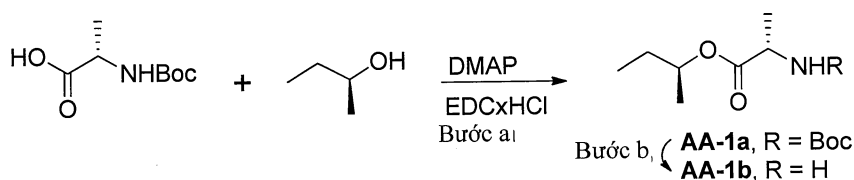
Phenol 15



1-(4-Hydroxyphenyl)-2,2-dimethylpropan-1-on (Ph15)

4-hydroxybenzaldehyt (3g, 24,6mmol) được cho phản ứng theo quy trình được mô tả để điều chế Phenol 14, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (538mg, 17%).

Axit amin 1



Bước a) (S)-(S)-sec-butyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoat (AA1-a)

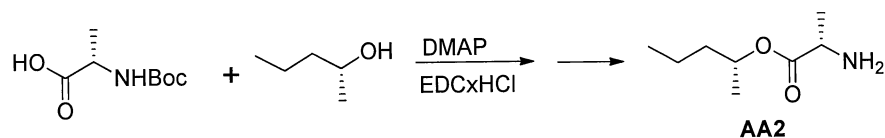
Hòa tan L-Boc-Alanin (2,18g, 11,5mmol) trong DCM khô (40mL) và bổ sung rượu (*R*)-butan-2-ol (938mg, 12,6mmol) vào. Làm lạnh hỗn hợp đến

khoảng 5°C và bổ sung EDC (3,31g, 17,2mmol) trong một phần sau đó bổ sung từng phần DMAP (140mg, 1,15mmol) vào. Cho phép hỗn hợp đạt nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm, sau đó pha loãng với ethyl axetat (~300mL) và rửa pha hữu cơ ba lần bằng dung dịch bão hòa chứa natri hydro carbonat và một lần bằng nước muối. Làm khô pha hữu cơ trên natri sulfat và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phân lập sản phẩm bằng sắc ký silicagel được rửa giải bằng isohexan và ethyl axetat 10%, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,78g, 98%).

Bước b) (S)-(S)-Sec-butyl 2-aminopropanoat (AA1-b)

Khuấy hỗn hợp của AA1-a (2,77g, 11,3mmol) và axit *p*-toluen sulfonic mono hydrat (2,15g, 11,3mmol) trong EtOAc (45mL) trong 16 giờ ở nhiệt độ 65°C, sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm. Kết tinh phần cặn thu được từ diethyl ete, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,20g, 89%).

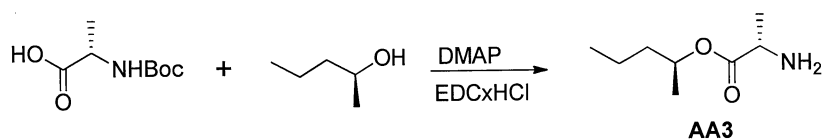
Axit amin 2



(S)-(R)-Pentan-2-yl 2-aminopropanoat (AA2)

Tuân theo quy trình được mô tả để điều chế AA1 nhưng sử dụng (*R*)-pentan-2-ol thay vì (*R*)-butan-2-ol, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,6g).

Axit amin 3

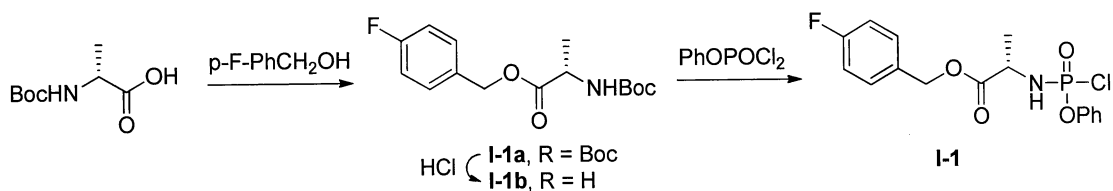


(S)-(S)-Pentan-2-yl 2-aminopropanoat (AA3)

Tuân theo quy trình được mô tả để điều chế AA1 nhưng sử dụng (*S*)-pentan-2-ol thay vì (*R*)-butan-2-ol, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (8,3g).

Các chất trung gian sau được pha chế và có thể được sử dụng trong quá trình điều chế các hợp chất theo sáng chế:

Chất trung gian 1



Bước a) (R)-4-flobenzyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoat (I-1a)

Hòa tan Boc-L-AlaOH (19,92mmol), DMAP (1,99mmol) và (4-flophenyl)metanol (23,9mmol) trong CH_2Cl_2 (100mL). Bổ sung triethylamin (23,9mmol) sau đó là EDCI (23,9mmol) vào dung dịch này và khuấy hỗn hợp phản ứng thu được qua đêm ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện N_2 . Pha loãng hỗn hợp phản ứng với CH_2Cl_2 (100mL), rửa bằng dung dịch bão hòa trong nước chứa NaHCO_3 (2x50mL), dung dịch bão hòa trong nước chứa NaCl (2x50mL), làm khô (Na_2SO_4) và cô. Tinh chế phân cận thu được bằng sắc ký cột trên silicagel được rửa giải bằng n-hexan-EtOAc (95:5 đến 60:40) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,44g) dưới dạng chất rắn sáp màu trắng. MS: 296 $[\text{M-H}]^-$.

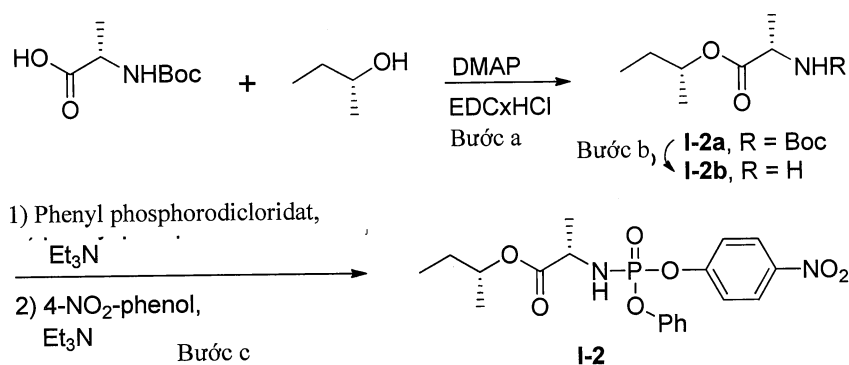
Bước b) (R)-4-flobenzyl 2-aminopropanoat (I-1b)

Hòa tan hợp chất I-1a (14,93mmol) trong 4M HCl/dioxan (40mL) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và làm bay hơi đến khô để thu được muối hydroclorua của hợp chất nêu ở đề mục (3,4g) dưới dạng bột màu trắng. MS: 198 $[\text{M+H}]^+$.

Bước c) (2R)-4-flobenzyl 2-((clo(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-1)

Bổ sung từng giọt PhOPOCl_2 (4,28mmol) ở nhiệt độ -78°C vào dung dịch chứa hợp chất I-5b (4,28mmol) trong CH_2Cl_2 . sau đó bổ sung từng giọt triethylamin (8,56mmol) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng thu được ở nhiệt độ -78°C trong điều kiện Ar và cho phép đạt nhiệt độ trong phòng qua đêm. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng trên silicagel và tinh chế bằng sắc ký (n-hexan/EtOAc (88:12)-(0:100)) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (769mg). $^{31}\text{P-NMR}$ (CDCl_3) δ : 7,85 (s) và 7,54 (s) (chất đồng phân không đối quang R_P và S_P).

Chất trung gian 2



Bước a) (S)-(R)-sec-butyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoat (I-2a)

Hòa tan L-Boc-Alanin (2,18g, 11,5mmol) trong DCM khô (40mL) và bổ sung rượu (*R*)-butan-2-ol (938mg, 12,6mmol) vào. Làm lạnh hỗn hợp đến khoảng 5°C và bổ sung EDC (3,31g, 17,2mmol) vào trong một phần sau đó bổ sung từng phần DMAP (140mg, 1,15mmol) vào. Cho phép hỗn hợp đạt nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm, sau đó pha loãng với etyl axetat (~300mL) và rửa pha hữu cơ ba lần bằng dung dịch bão hòa chứa natri hydro carbonat và một lần bằng nước muối. Làm khô pha hữu cơ trên natri sulfat và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phân lập sản phẩm bằng sắc ký silicagel được rửa giải bằng isohexan và etyl axetat 10%, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,78g, 98%).

Bước b) (S)-(R)-Sec-butyl 2-aminopropanoat (I-2b)

Khuấy hỗn hợp của I-10a (2,77g, 11,3mmol) và axit *p*-toluen sulfonic mono hydrat (2,15g, 11,3mmol) trong EtOAc (45mL) trong 16 giờ ở nhiệt độ 65°C, sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm. Kết tinh phần cặn thu được từ diethyl ete, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,20g, 89%).

Bước c) (2S)-(R)-Sec-butyl 2-(((4 nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl) amino) propanoat (I-2)

Bổ sung Phenyl diclophosphat (1 đương lượng) trong điều kiện nitơ ở nhiệt độ -30°C vào dung dịch chứa hợp chất I-10b (3,15g, 9,92mmol) trong DCM (75mL), sau đó bổ sung từng giọt triethylamin (2 đương lượng). Cho phép hỗn hợp đạt nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm, sau đó làm lạnh đến khoảng 5°C và bổ sung 4-nitrophenol (1 đương lượng, 15mmol) dưới dạng chất rắn, sau đó bổ sung từng giọt triethylamin (1 đương lượng g, 15mmol) vào và khuấy hỗn hợp trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm,

pha loãng với etyl axetat (40mL) và ete (40mL) và để ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Lọc sạch triethylamin-muối HCl và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phần cần thu được bằng sắc ký cột trên silicagel được rửa giải bằng iso-hexan-etyl axetat, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,19g, 79%).

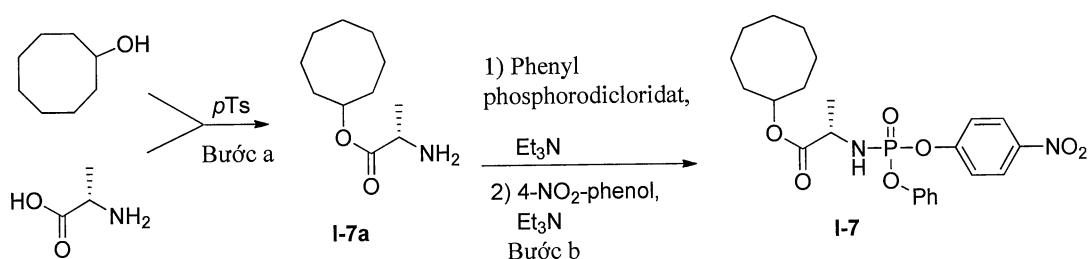
Các hợp chất sau được pha chế theo quy trình được mô tả để điều chế I-2 bằng cách sử dụng rượu thích hợp:

I-#	Cấu trúc	Rượu
I-3		xyclopropylmetanol
I-4		xyclopentylmetanol
I-5		pentan-3-ol
I-6		2-propylpentan-1-ol

Chất trung gian 6, chất đồng phân không đối quang-1 & -2

Tách hai chất đồng phân không đối quang của hợp chất I-6 bằng SFC, để thu được I-6-dia-1 và I-6-dia-2.

Chất trung gian 7



Bước a) (S)-xyclooctyl 2-aminopropanoat (I-7a)

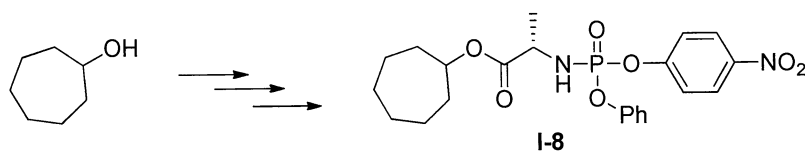
Bổ sung axit p-toluensulfonic monohydrat (3,6g, 19,1mmol) vào huyền phù đặc chứa L-alanin (1,7g, 19,1mmol) và xyclooctanol (25mL, 191mmol)

trong toluen (100mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ hồi lưu trong 25 giờ và loại bỏ nước khỏi phản ứng bằng cách sử dụng bẫy Dean-Stark. Cô hỗn hợp trong điều kiện áp suất giảm và giữ phần còn lại trong điều kiện chân không qua đêm. Bổ sung diethyl ete (100mL) vào phần còn lại này (27g). Gom chất kết tủa màu trắng bằng cách lọc, rửa bằng diethyl ete (3x50mL) và làm khô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,84g, 68%).

Bước b) (2S)-xyclooctyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-7)

Cho hợp chất I-7a phản ứng theo phương pháp được mô tả để điều chế I-2 bước c, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,7g, 76%)

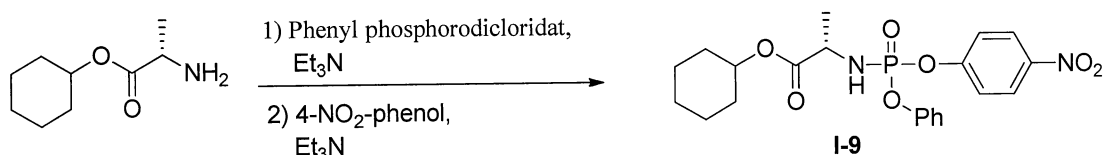
Chất trung gian 8



(2S)-xycloheptyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-22)

Tuân theo quy trình được mô tả để điều chế hợp chất I-7 nhưng sử dụng xycloheptanol (27mL, 224mmol) thay vì xyclooctanol, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,72g, 55%).

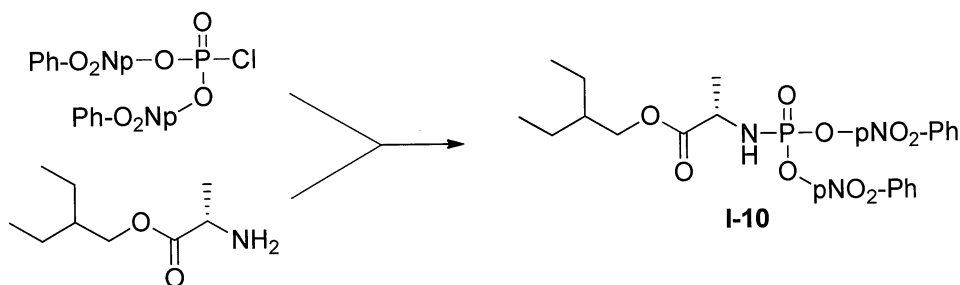
Chất trung gian 9



(2S)-Xyclohexyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-23)

Tuân theo quy trình được mô tả để điều chế I-2 bước c nhưng sử dụng (S)-xyclohexyl 2-aminopropanoat thay vì (S)-3,3-dimetylbutyl 2-aminopropanoat, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (10,6g, 82%).

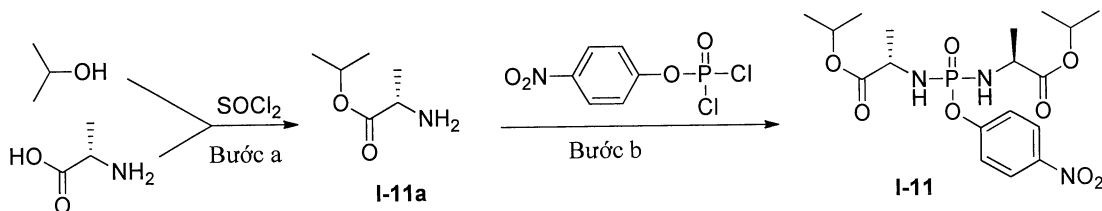
Chất trung gian 10



(S)-2-Etylbutyl 2-(((bis(4-nitrophenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-10)

Bổ sung (S)-2-Etylbutyl 2-aminopropanoat (5g, 14,49mmol) vào dung dịch chứa bis(4-nitrophenyl) phosphorocloridat (6,14g, 17,1mmol) trong DCM (50mL), làm lạnh hỗn hợp trong bể đá và bổ sung từng giọt Et₃N (4,77mL, 34,2mmol) vào. Loại bỏ chất tải lạnh sau 15 phút và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 23°C cho đến khi kết thúc phản ứng theo TLC. Sau đó bổ sung dietyl ete vào, lọc hỗn hợp và cô dịch lọc và tinh chế bằng sắc ký cột trên silic oxit để thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,05g, 82%).

Chất trung gian 11



Bước a) (S)-isopropyl 2-aminopropanoat (I-11a)

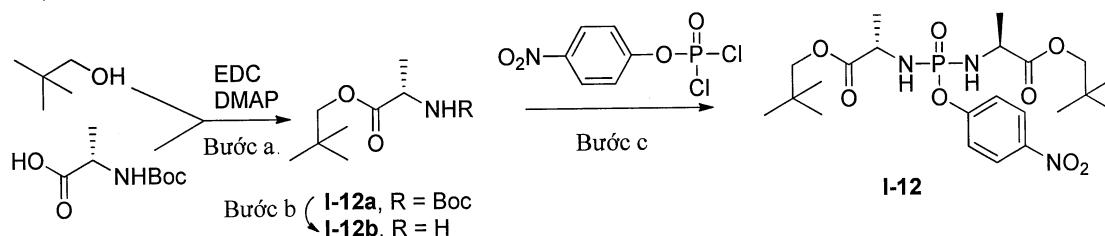
Bổ sung từng giọt SOCl₂ (29mL, 400mmol) ở nhiệt độ 0°C vào huyền phù chứa muối HCl của L-alanin (17,8g, 200mmol) trong isopropanol (700mL). Khuấy huyền phù ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, sau đó cô, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (29,2g, 87%).

Bước b) (2S)-Isopropyl 2-((((S)-1-isopropoxy-1-oxopropan-2-yl)amino)(4-nitrophenoxy)phosphoryl)-amino)propanoat (I-11)

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa 4-nitrophenyl diclophosphat (1,8g 7mmol) trong DCM ở nhiệt độ -60°C vào dung dịch chứa amin I-11a (2,35g, 14mmol) và trietylamin (7,7mL, 56mmol) trong DCM. Cho phép hỗn hợp phản

ứng đạt nhiệt độ trong phòng, khuấy qua đêm, cô và sau đó pha loãng với ethyl axetat và ete và để ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Lọc sạch triethylamin-muối HCl, cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cần thu được bằng sắc ký trên silicagel được rửa giải bằng iso-hexan-ethyl axetat, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,6g, 50%).

Chất trung gian 12



Bước a) (S)-Neopentyl 2-((tert-butoxycarbonyl)amino)propanoat (I-12a)

Bổ sung theo phần EDAC và DMAP ở nhiệt độ -5°C vào dung dịch chứa Boc-alanin (18,9g, 100mmol) và neopentyl rượu (13,0mL, 120mmol) trong DCM (200mL). Cho phép hỗn hợp phản ứng đạt nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 72 giờ. Bổ sung EtOAc (700mL) vào và rửa pha hữu cơ ba lần bằng dung dịch bão hòa chứa NaHCO_3 và một lần bằng nước muối, sau đó cô. Tinh chế phần cần thu được bằng sắc ký cột được rửa giải bằng hexan-EtOAc 90/10 đến 80/20, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (21g, 81%).

Bước b) (S)-Neopentyl 2-aminopropanoat (I-12b)

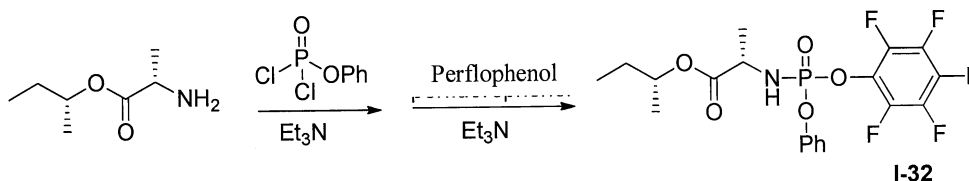
Bổ sung axit *p*-Toluen sulfonic (15,6g, 82,0mmol) ở nhiệt độ -65°C vào dung dịch chứa amin được bảo vệ Boc I-12a (21,1g, 82,0mmol) trong EtOAc (330mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -65°C trong 8 giờ, sau đó để đạt nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó lọc hỗn hợp và cô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (21g, 78%).

(2S)-Neopentyl 2-((((S)-1-(neopentyloxy)-1-oxopropan-2-yl)amino)(4-nitrophenoxy)-phosphoryl)amino)propanoat (I-12)

Bổ sung từng giọt 4-Nitrophenol diclophosphat trong 1 giờ ở nhiệt độ -50°C vào dung dịch chứa amin I-12b (3,90g, 24,5mmol) trong DCM (100mL). Cho phép hỗn hợp phản ứng đạt nhiệt độ trong phòng, khuấy qua đêm, cô và sau

đó pha loãng với diethyl ete và để ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Lọc hỗn hợp, cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phần cặn thu được bằng sắc ký trên silicagel được rửa giải bằng iso-hexan-ethyl axetat, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,8g, 77%).

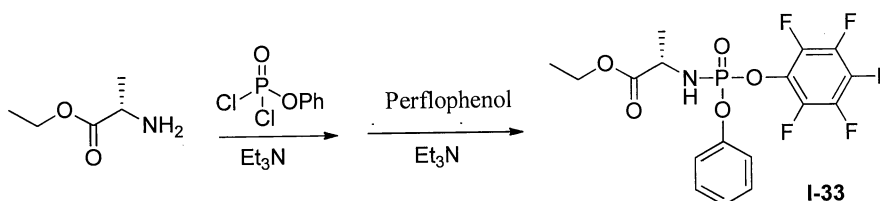
Chất trung gian 32



(2S)-(R)-sec-butyl 2-(((perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-32)

Bổ sung từng giọt Et_3N (10,9mL, 78,1mmol) ở nhiệt độ -70°C trong điều kiện nitơ trong 15 phút vào dung dịch đã khuấy chứa muối pTs của (S)-(R)-sec-butyl 2-aminopropanoat (12,0g, 37,7mmol) trong DCM (50mL). Bổ sung dung dịch chứa phenyl diclophosphat (5,61mL, 37,7mmol) trong DCM (50mL) vào hỗn hợp này trong 1 giờ. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -70°C trong 30 phút nữa, sau đó cho phép làm ấm đến 0°C trong 2 giờ và khuấy trong 1 giờ. Bổ sung dung dịch chứa pentafluorophenol (6,94g, 37,7mmol) và Et_3N (5,73mL, 41,1mmol) trong DCM (30mL) vào hỗn hợp trong 20 phút. Khuấy hỗn hợp thô ở nhiệt độ 0°C trong 18 giờ, và sau đó cô. Đưa phần còn lại vào THF (100mL), lọc sạch các chất không hòa tan và rửa một vài lần bằng THF. Làm bay hơi dung môi và tán nhỏ phần cặn thành bột bằng tert.butyl methyl ete. Lọc sạch các chất không hòa tan và rửa bằng tert.butyl methyl ete. Cô dịch lọc đã kết hợp và nghiền chất rắn thô bằng sóng âm với n-hexan/EtOAc (80:20; 100mL). Lọc chất rắn, rửa bằng n-hexan/EtOAc (80:20) để thu được chất đồng phân lập thể phospho tinh khiết của hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng (2,3g, 13%).

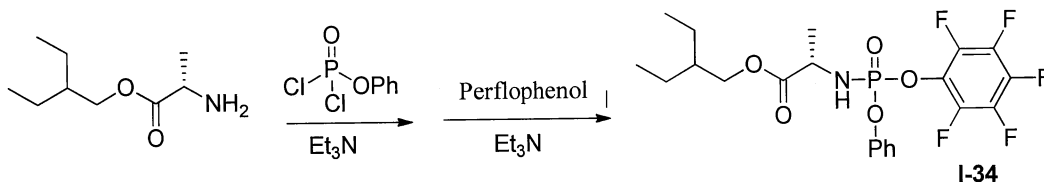
Chất trung gian 33



(2S)-ethyl 2-(((perflophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-33)

Điều chế chất đồng phân lập thể phospho tinh khiết của hợp chất nêu ở đề mục theo phương pháp được mô tả cho I-32, nhưng bắt đầu từ muối HCl của (S)-ethyl 2-aminopropanoat (11,0g, 71,1mmol). Hiệu suất 8,56g, 27%.

Chất trung gian 34

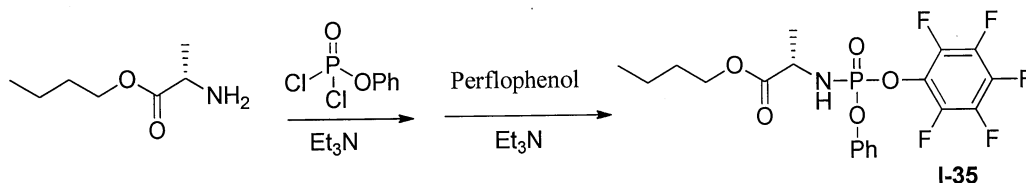


(2S)-2-ethylbutyl 2-(((perflophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-34)

Điều chế chất đồng phân lập thể phospho tinh khiết của hợp chất nêu ở đề mục theo phương pháp được mô tả cho I-32, nhưng bắt đầu từ muối pTs của (S)-2-ethylbutyl 2-aminopropanoat (18,8g, 54,4mmol). Hiệu suất 27,0g, 99%.

LC-MS 496,44 $[M+H]^+$.

Chất trung gian 35

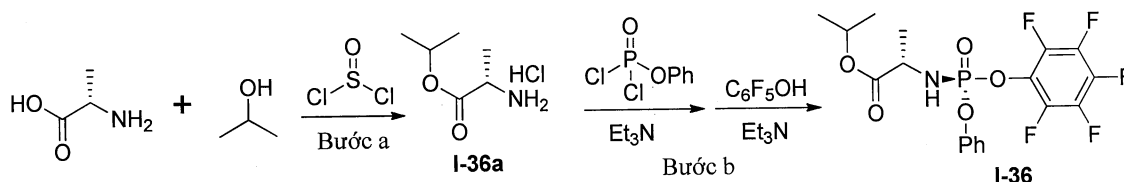


(2S)-butyl 2-(((perflophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-35)

Bổ sung Phenyl diclophosphat (12,4mL, 83,1mmol) vào huyền phù đặc lạnh (-20°C) chứa (S)-butyl 2-aminopropanoat (26,4g, 83,1mmol) trong diclometan (200mL). Khuấy hỗn hợp trong 10 phút sau đó bổ sung từng giọt Et_3N (25,5mL, 183mmol) vào trong 15 phút. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ -20°C trong 1 giờ sau đó ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút. Để lạnh hỗn hợp trong bể đá và bổ sung perflophenol (15,3g, 0,08mol) sau đó bổ sung từng giọt Et_3N (11,6mL, 0,08mol) vào. Khuấy hỗn hợp qua đêm và từ từ đạt đến nhiệt độ 20°C . Bổ sung

dietyl ete vào và lọc hỗn hợp thông qua xelit, cô và tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel được rửa giải bằng ete dầu mỏ/EtOAc (9:1 → 8:2). Tập hợp các phần thích hợp, cô và kết tinh từ ete dầu mỏ EtOAc (9:1) để thu được chất đồng phân lập thể phospho tinh khiết của hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng (2,23g, 5,8%).

Chất trung gian 36



Bước a) L-Alanin isopropyleste hydroclorua (I-36a)

Bổ sung thionylclorua (80,2g, 0,674mol, 1,5 đương lượng) đồng thời làm lạnh vào 2-propanol (400mL) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -7 đến 0°C trong thời gian 30 phút, sau đó bổ sung L-alanin (40,0g, 0,449mol) vào ở nhiệt độ 0°C. Gắn bộ chỉ báo lưu lượng và bộ phận làm sạch với hỗn hợp của natri hydroxit 27,65% (228g) và nước (225g) vào đầu ra. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 67°C trong hai giờ, sau đó ở nhiệt độ 70°C trong một giờ và ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 25°C qua đêm. Chung cất hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 47 đến 50°C trong điều kiện áp suất giảm (250 - 50 mBar) từ bể 60°C. Khi bước chung cất trở nên rất chậm, bổ sung toluen (100mL) vào đầu thừa, và tiếp tục chung cất ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 48 đến 51°C trong điều kiện áp suất giảm (150 - 50 mBar) từ bể 60°C cho đến khi bước này trở nên rất chậm. Bổ sung t-butylmetylete (tBME) (400mL) vào đầu thừa, và rắc hệ hai pha trong điều kiện khuấy hiệu quả ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 34 đến 35°C. Khi quan sát thấy sự kết tinh, làm mát hỗn hợp đến 23°C trong thời gian một giờ, và phân lập chất kết tủa bằng cách lọc. Rửa bánh lọc bằng tBME (100mL) và làm khô đến trọng lượng cố định trong điều kiện áp suất giảm mà không gia nhiệt, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (67,7g, 90%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Bước b) (S)-Isopropyl 2-(((S)-(perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-36)

Bổ sung Phenyl diclophosphat (62,88g, 0,298mol, 1,0 đương lượng) trong điều kiện nitơ vào dung dịch chứa L-alanin isopropyleste hydroclorua

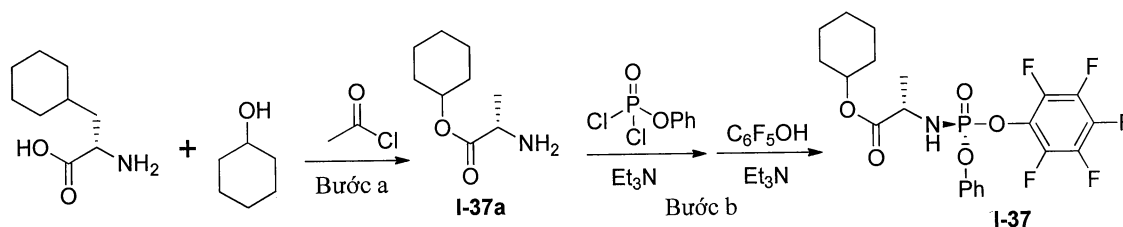
(50,0g, 0,298mol) trong DCM (310mL) ở nhiệt độ 0°C - hoàn thành việc bổ sung bằng cách rửa với DCM (39mL). Làm lạnh hỗn hợp và bổ sung triethylamin (63,35g, 0,626mol, 2,1 đương lượng) vào trong thời gian 70 phút đồng thời giữ lạnh nhiệt độ không cao hơn -14°C, hoàn thành việc bổ sung bằng cách rửa với DCM (39mL). Khuấy hỗn hợp trong một giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15 đến -20°C, sau đó gia nhiệt đến -8°C và bổ sung dung dịch chứa pentaflorphenol (60,38g, 0,328mol, 1,1 đương lượng) và triethylamin (33,19g, 0,328mol, 1,1 đương lượng) trong DCM (78mL) vào trong thời gian 42 phút đồng thời giữ lạnh nhiệt độ không cao hơn 0°C - hoàn thành việc bổ sung bằng cách rửa với DCM (39mL). Khuấy hỗn hợp trong một giờ ở nhiệt độ 0°C và sau đó qua đêm ở nhiệt độ +5°C. Loại bỏ chất kết tủa được tạo ra bằng cách lọc, và rửa bánh lọc bằng DCM (95mL). Rửa các dịch lọc đã kết hợp ở nhiệt độ 5°C bằng nước (2x190mL). Chung cất pha hữu cơ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 32 đến 38°C trong điều kiện áp suất giảm (650 - 600 mBar), và tiếp tục chung cất cho đến khi thu được khối lượng kết tinh một phần thể tích còn lại bằng khoảng 170mL. Bổ sung Etyl axetat (385mL) vào, và chung cất dung dịch trong thu được ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 43 đến 45°C trong điều kiện áp suất giảm (300 - 250 mBar). Tiếp tục chung cất cho đến khi thu được thể tích còn lại bằng khoảng 345mL. Làm mát dung dịch trong này đến 36°C, và kích thích sự kết tinh bằng cách bổ sung các tinh thể dạng hạt của (S)-isopropyl 2-(((S)-(perflophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (20mg) được pha chế như được mô tả trong J. Org. Chem., 2011, 76, 8311 - 8319. Làm mát hỗn hợp đến 27°C trong thời gian một giờ, sau đó bổ sung n-heptan (770mL) vào trong thời gian 47 phút, và khuấy hỗn hợp trong khoảng thời gian 37 phút nữa. Bổ sung Triethylamin (6,03g, 0,2 đương lượng) vào, và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 23 đến 25°C qua đêm. Phân lập chất kết tủa bằng cách lọc. Rửa bánh lọc bằng etyl axetat:n-heptan (1:9, 80mL) và làm khô đến cố định trong điều kiện áp suất giảm (thấp hơn 0,1mBar) mà không gia nhiệt, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (75,64g, 56%) dưới dạng vật liệu tinh thể màu trắng.

¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,38-7,32 (m, 2 H), 7,27-7,24 (m, 2 H), 7,23-7,19 (m, 1 H), 5,10-4,98 (m, 1 H), 4,20-4,08 (m, 1 H), 4,03-3,96 (m, 1 H), 1,46 (dd, 7,2, 0,6 Hz, 3 H), 1,26-1,23 (2xd, 6 H);

^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 172,7 (d, $J = 8,8$ Hz), 150,4 (d, $J = 7,1$ Hz), 143,4-143,0 (m), 141,0-140,2 (m), 140,0-139,8 (m), 137,6-137,2 (m), 136,8-136,2 (m), 130,0 (d, $J = 0,82$ Hz), 125,8 (d, $J = 1,4$ Hz), 120,3 (d, $J = 5,0$ Hz), 69,8, 50,6, (d, $J = 1,9$ Hz), 21,8 (d, $J = 1,9$ Hz), 21,2 (d, $J = 4,4$ Hz);

Các tính chất kết tinh và dữ liệu phổ NMR của hợp chất nêu ở đề mục thống nhất với dữ liệu được công bố (J. Org. Chem., 2011, 76, 8311-8319), do đó xác nhận hóa học lập thể S của nguyên tử phospho của hợp chất nêu ở đề mục.

Chất trung gian 37



Bước a) (S)-Xyclohexyl 2-aminopropanoat (I-37a)

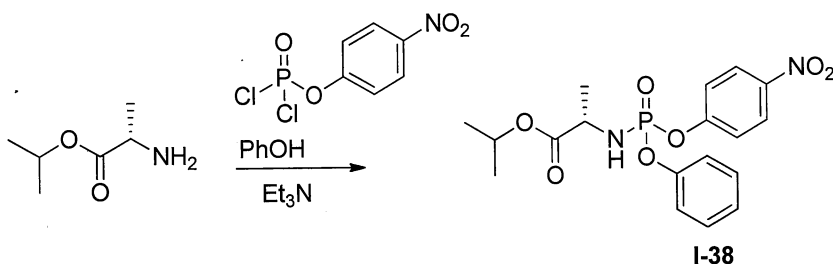
Bổ sung từng giọt axetylclorua (4,2mL, 59,3mmol) sau đó là bổ sung L-phenylalanin (4,0g, 24,2mmol) vào dung dịch đã khuấy chứa xyclohexanol (50mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 100°C trong 16 giờ, sau đó cô trong điều kiện áp suất giảm, tán nhỏ thành bột với dietyl ete/Hexan (1:1) và làm khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (6g, 88%) dưới dạng chất rắn màu trắng mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm.

Bước b) (S)-Xyclohexyl 2-(((S)-(perfluorophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-37)

Bổ sung từng giọt trietylamin (7,17mL, 51,5mmol) vào dung dịch đã khuấy chứa hợp chất I-37a (7,0g, 24,6mmol) trong DCM khô (42mL) ở nhiệt độ -70°C trong 30 phút, sau đó bổ sung dung dịch chứa phenyl diclophosphat (5,15g, 34,5mmol) trong DCM khô (21mL) trong 1 giờ. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -70°C trong 30 phút nữa và sau đó làm ấm đến 0°C trong 2 giờ và khuấy trong 1 giờ. Bổ sung dung dịch chứa pentafluorophenol (4,94g, 26,8mmol) và trietylamin (3,74mL, 26,8mmol) trong DCM khô (28mL) vào hỗn hợp này trong 1 giờ. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 0°C trong 4 giờ, và sau đó để ở nhiệt độ 5°C trong 16 giờ. Lọc hỗn hợp phản ứng và cô dịch lọc trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan chất rắn thô trong EtOAc (300mL), rửa bằng nước (50mL), làm khô và

loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tán nhỏ chất rắn thu được thành bột với EtOAc 20% trong hexan, lọc, rửa bằng hexan và làm khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất đồng phân không đối quang đơn (3,0g, 21%) dưới dạng chất rắn.

Chất trung gian 38

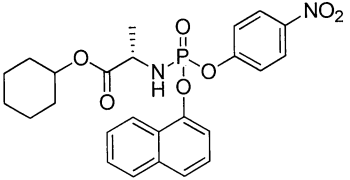
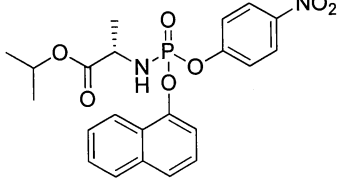
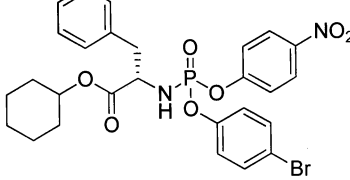
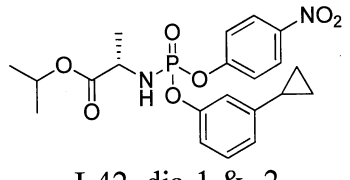
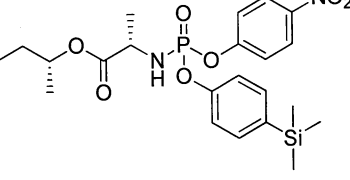
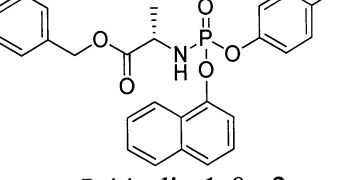
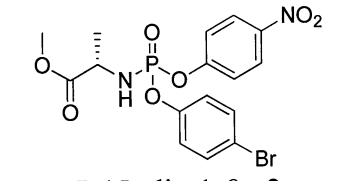
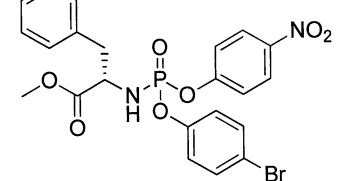
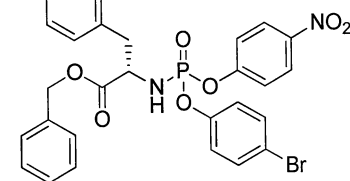
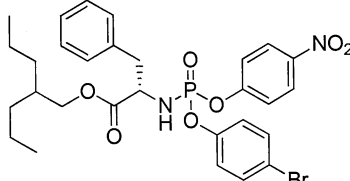
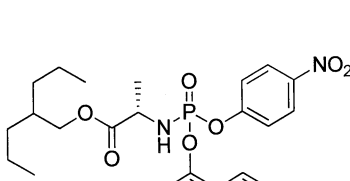
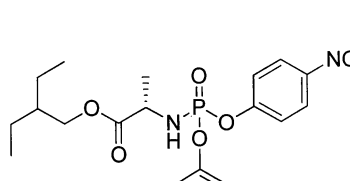
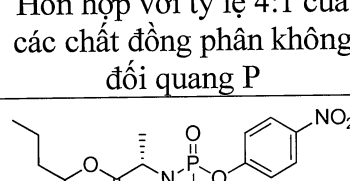
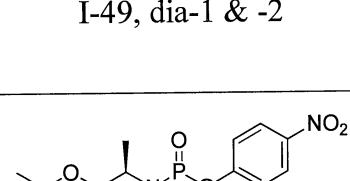
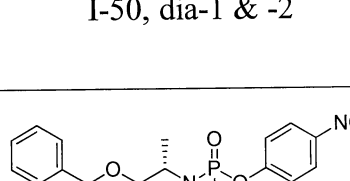
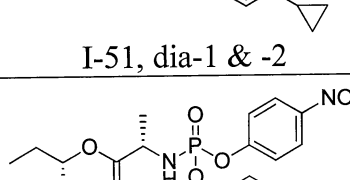
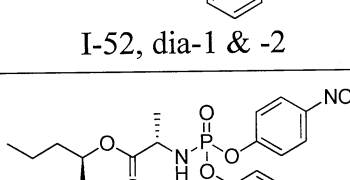
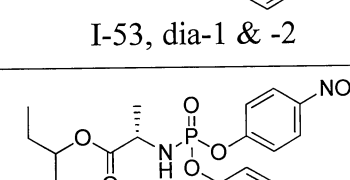
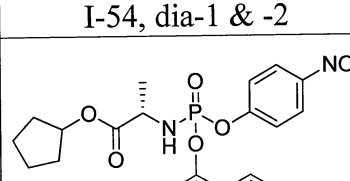
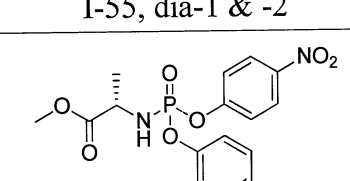
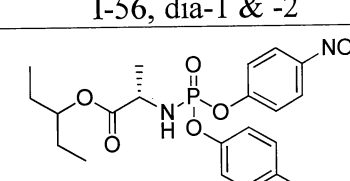


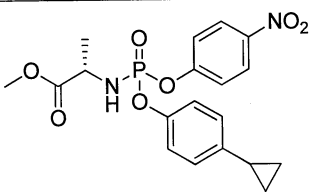
(2S)-Isopropyl 2-(((4-nitrophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (I-38)

Bổ sung dung dịch chứa phenol (1,86g, 19,8mmol) và triethylamin (3mL, 21,8mmol) trong DCM khô (50mL) vào dung dịch đã khuấy chứa 4-nitrophenyldiclorophosphat (5g, 19,8mmol) trong DCM khô (40mL) ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 30 phút. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ này trong 60 phút, sau đó chuyển vào một bình khác chứa dung dịch chứa hợp chất (S)-isopropyl 2-aminopropanoat (3,3g, 19,8mmol) trong DCM khô (40mL) ở nhiệt độ -5°C trong thời gian 15 phút. Bổ sung phần thứ hai của TEA (6mL, 43,3mmol) vào hỗn hợp này ở nhiệt độ -5°C trong thời gian 20 phút. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ, sau đó loại bỏ dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Đưa phần còn lại vào EtOAc (200mL) và rửa bằng nước (50mL), làm khô trên Na₂SO₄ và loại bỏ các dung môi trong điều kiện áp suất giảm để thu được sản phẩm thô dưới dạng dầu, được tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng gradien 0-20% EtOAc/Hexan và silicagel 230-400 mắt lưới để thu được hỗn hợp của chất đồng phân không đối quang với tỷ lệ khoảng 1:1. Tách hai chất đồng phân không đối quang bằng SFC để thu được hợp chất nêu ở đề mục, chất đồng phân 1 (1,5g, 20%) và chất đồng phân 2 (1,5g, 18%) dưới dạng chất rắn.

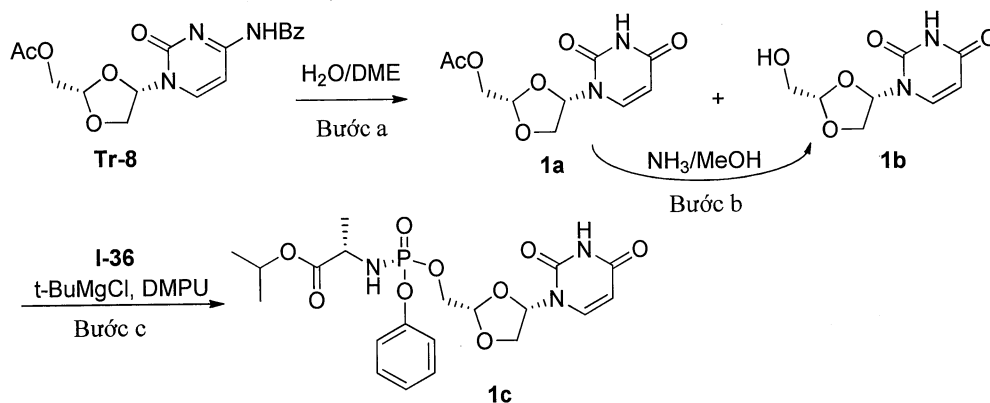
Các hợp chất được liệt kê trong Bảng 1 được pha chế và các chất đồng phân không đối quang được tách theo quy trình được mô tả để điều chế chất trung gian I-38, sử dụng este của axit amin và phenol thích hợp.

Bảng 1

 I-39, dia-1 & -2	 I-40, dia-1 & -2	 I-41, dia-1 & -2
 I-42, dia-1 & -2	 I-43, dia-1 & -2	 I-44, dia-1 & -2
 I-45, dia-1 & -2	 I-46, dia-1 & -2	 I-47, dia-1 & -2
 I-48, Hỗn hợp với tỷ lệ 4:1 của các chất đồng phân không đối quang P	 I-49, dia-1 & -2	 I-50, dia-1 & -2
 I-51, dia-1 & -2	 I-52, dia-1 & -2	 I-53, dia-1 & -2
 I-54, dia-1 & -2	 I-55, dia-1 & -2	 I-56, dia-1 & -2
 I-58, dia-1 & -2	 I-58, dia-1 & -2	 I-59, dia-1 & -2

I-57, dia-1 & -2		
		
I-60, dia-1 & -2		

Ví dụ 1



Bước a) ((2S,4S)-4-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methyl axetat (1a)

Gia nhiệt hỗn hợp của hợp chất Tr-8 (0,15g, 0,41mmol), 1,2-dimetoxyetan (1,5mL) và nước (0,96mL) trong ống bịt kín ở nhiệt độ 125°C trong 48 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), làm mát hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ trong phòng và loại bỏ các dung môi trong điều kiện áp suất giảm. Tinh chế phân cận thô bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit dưới dạng gradien 3-7% MeOH/DCM để thu được hợp chất 1a (0,08g, 80%) dưới dạng chất rắn và hợp chất 1b (0,02g) dưới dạng chất rắn.

Bước b) 1-((2S,4S)-2-(hydroxymetyl)-1,3-dioxolan-4-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion (1b)

Khuấy hợp chất 1a (0,08g, 0,31mmol) trong dung dịch bão hòa chứa NH₃ trong MeOH (1,6mL) trong ống bịt kín ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), loại bỏ các dung môi trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế phân còn lại bằng sắc ký cột trên 60-120 silic oxit sử dụng 5-7%

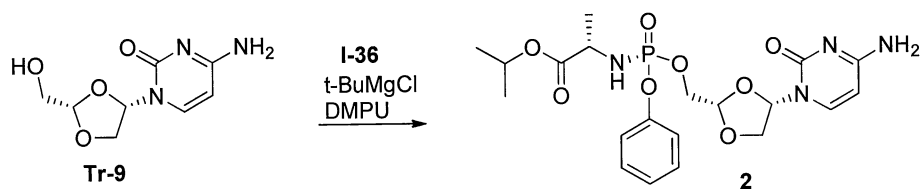
MeOH/DCM để thu được hợp chất hợp chất nêu ở đề mục (0,06g, 90%) dưới dạng chất rắn.

Bước c) (2S)-isopropyl 2-((((2S,4S)-4-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (1c)

Bổ sung từng giọt tert-butylmagneclorua (0,57mL, 0,98mmol, 1,7M trong THF) vào dung dịch đã khuấy chứa hợp chất 1b (60mg, 0,28mmol) trong DMPU (0,6mL), ở nhiệt độ -5°C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ -5°C trong 30 phút, sau đó ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Bổ sung dung dịch chứa isopropyl ((perflophenoxy)(phenoxy)phosphoryl)-L-alaninat (0,25g, 0,56mmol) trong THF khô (2,5mL) vào ở nhiệt độ -5°C và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng (TLC), bổ sung nước (15mL) vào và chiết hỗn hợp bằng EtOAc (30mL). Rửa pha hữu cơ bằng dung dịch natri clorua bão hòa (10mL), làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô, và tinh chế sản phẩm thô thu được bằng sắc ký cột trên 230-400 silic oxit dưới dạng gradien 4-5% MeOH/DCM để thu được hợp chất nêu ở đề mục (55mg, 38%) dưới dạng chất rắn. MS (ES⁺) [484,0]⁺.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,15-1,20 (10H), 3,73-3,75 (1 H), 4,11-4,27 (4H), 4,84-4,90 (1H), 5,14 (1H), 5,51-5,53 (1H), 6,06-6,12 (1H), 6,26-6,27 (1H), 7,17- 7,23 (3H), 7,36-7,40 (2H), 7,57-7,60 (1H), 11,37 (1H).

Ví dụ 2

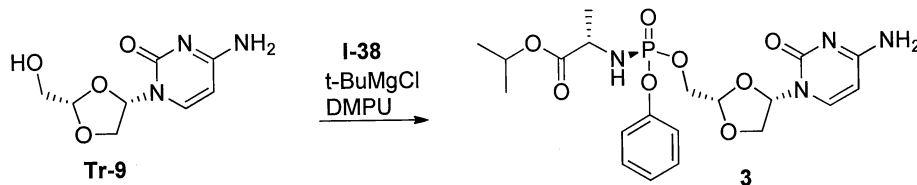


(2S)-Isopropyl 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (2)

Cho troxacitabin (TR-9) (50mg, 0,23mmol) phản ứng với chất phosphoryl hóa I-36 (0,26g, 0,58mmol) theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 bước c, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (30mg, 26%) dưới dạng chất rắn. MS (ES⁺) 483,34 [M+H]⁺.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 1,14-1,24 (9H), 3,32-3,38 (1H), 4,05-4,21 (4H), 4,84-4,26 (1H), 5,14 (1H), 5,68-5,70 (1H), 6,07-6,13 (1H), 6,23-6,25 (1H), 7,16-7,24 (5H), 7,34-7,39 (2H), 7,59-7,61 (1H).

Ví dụ 3

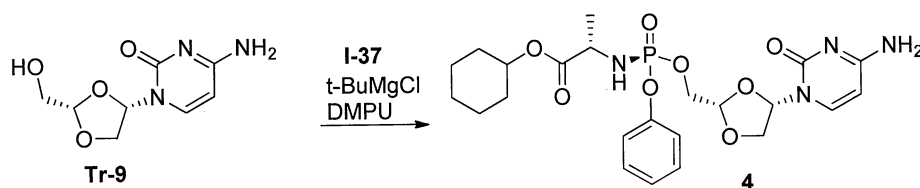


(2S)-Isopropyl 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (3)

Cho troxacitabin (50mg, 0,23mmol) phản ứng với chất phosphoryl hóa I-38 (0,24g, 0,58mmol) theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 bước c, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (40mg, 35%) dưới dạng chất rắn. MS (APCI) 481,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 1,14-1,20 (9H), 3,76-3,77 (1H), 4,10-4,18 (2H), 4,22-4,25 (2H), 4,84-4,87 (1H), 5,17-5,186 (1H), 5,69-5,70 (1H), 6,03-6,08 (1H), 6,24-6,26 (1H), 7,17-7,25 (5H), 7,36-7,40 (2H), 7,62-7,64 (1H).

Ví dụ 4



(2S)-Isopropyl 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (4)

Cho troxacitabin (50mg, 0,23mmol) phản ứng với chất phosphoryl hóa I-37 (0,33g, 0,58mmol) theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 bước c, để thu được hợp chất nêu ở đề mục (30mg, 22%) dưới dạng chất rắn. MS (APCI) 599,47 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

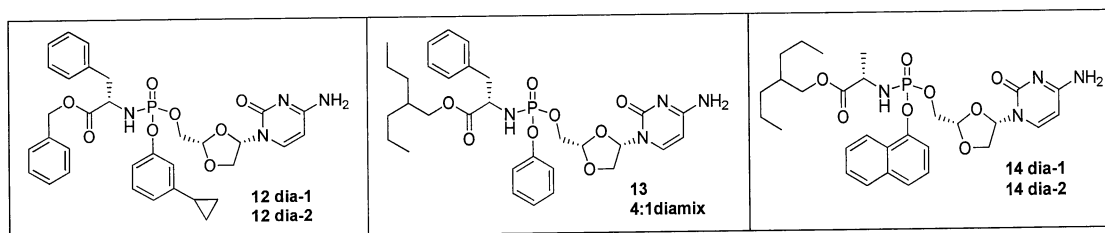
Các hợp chất được liệt kê trong Bảng 2 được pha chế dưới dạng chất đồng phân không đối quang tinh khiết theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 bước c sử dụng chất trung gian thích hợp, I-# dia-1 hoặc I-# dia-2.

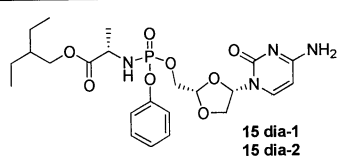
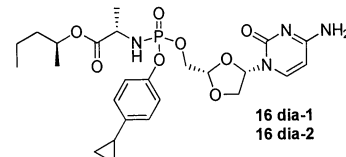
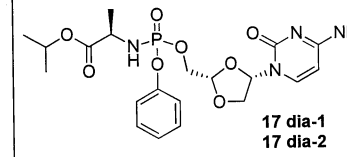
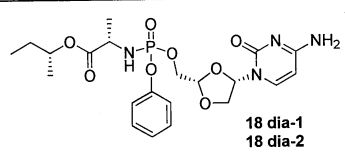
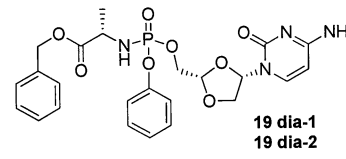
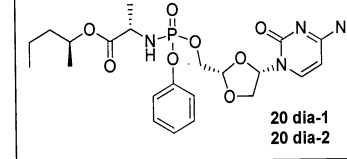
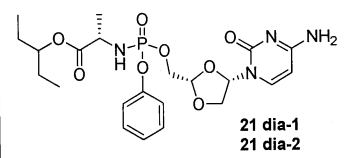
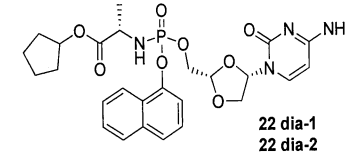
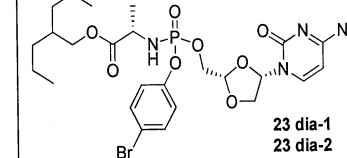
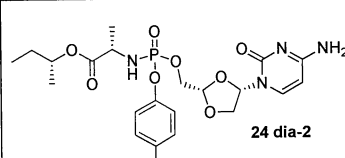
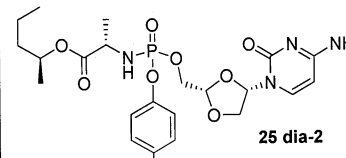
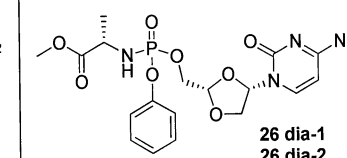
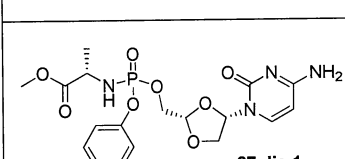
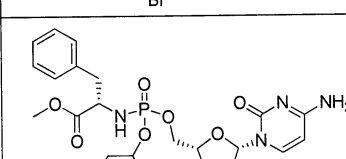
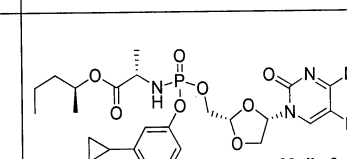
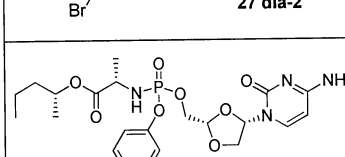
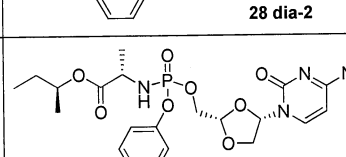
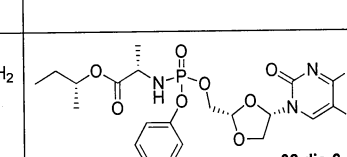
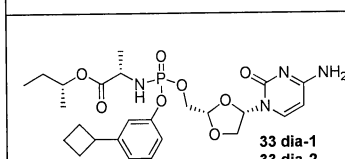
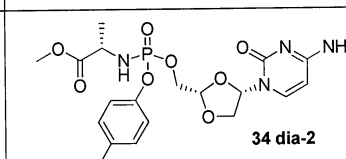
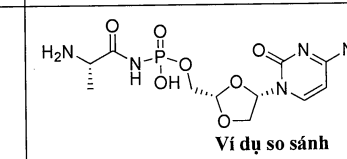
Bảng 2

Ví dụ	Chất trung gian	R ¹⁵	R ¹⁶	Ar	chất đồng phân không đối quang 1		chất đồng phân không đối quang 2	
					Hiệu suất	MS [M+H] ⁺	Hiệu suất	MS [M+H] ⁺
5	I-40	metyl	2-propyl	1-naphtyl	25%	533,40	33%	533,36
6	I-39	metyl	xyclohexyl	1-naphtyl	19%	573,35	22%	573,2
7	I-41	benzyl	xyclohexyl	4-Br-phenyl	18%	na	18%	na
8	I-6	metyl	2-propyl-pentyl	phenyl	37%	553,2	35%	553,2
9	I-44	metyl	benzyl	1-naphtyl	25%	581,2	30%	581,2
10	I-42	metyl	2-propyl	2-xyclopropyl-phenyl	34%	523,2	27%	523,2
11	I-43	metyl	2-butyl	4-(trimetyl-silyl)-phenyl	37%	569,2	37%	569,2

Tương tự, các hợp chất được liệt kê trong Bảng 3 được pha chế dưới dạng chất đồng phân không đối quang tinh khiết theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 bước c sử dụng các chất trung gian thích hợp.

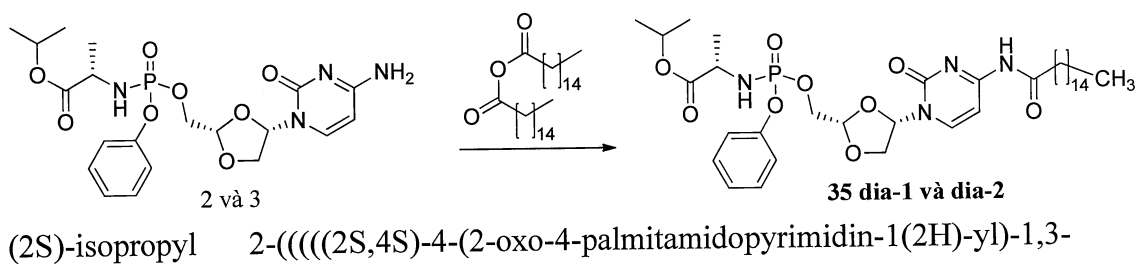
Bảng 3



 15 dia-1 15 dia-2	 16 dia-1 16 dia-2	 17 dia-1 17 dia-2
 18 dia-1 18 dia-2	 19 dia-1 19 dia-2	 20 dia-1 20 dia-2
 21 dia-1 21 dia-2	 22 dia-1 22 dia-2	 23 dia-1 23 dia-2
 24 dia-2	 25 dia-2	 26 dia-1 26 dia-2
 27 dia-1 27 dia-2	 28 dia-2	 29 dia-2
 30 dia-2	 31 dia-2	 32 dia-2
 33 dia-1 33 dia-2	 34 dia-2	 Ví dụ so sánh

Dữ liệu NMR và MS được ghi lại đối với tất cả các hợp chất được lấy làm ví dụ xác nhận cấu trúc của chúng.

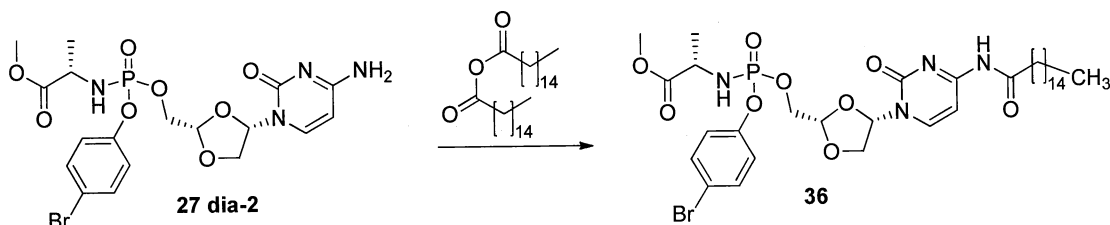
Ví dụ 35



dioxolan-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (35 dia1 & 35 dia-2)

Mỗi hợp chất 2 và 3 được axyl hóa bằng palmitic anhydrit theo phương pháp được mô tả trong WO2008/030373, để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

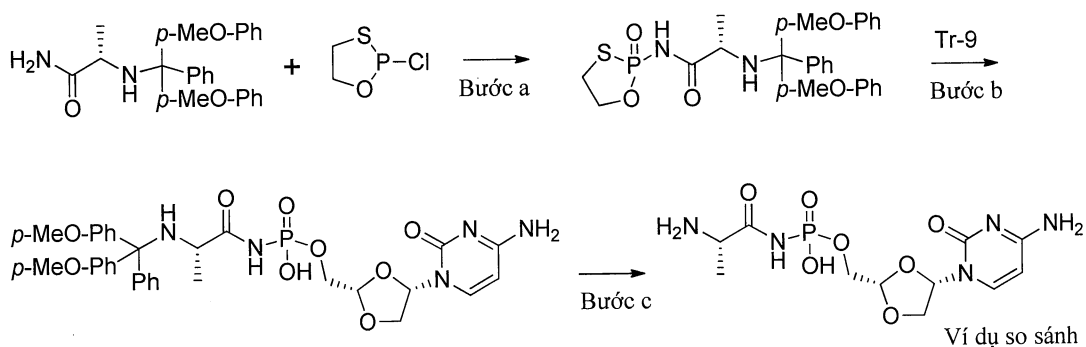
Ví dụ 36



(2S)-metyl 2-((((2S,4S)-4-(2-oxo-4-palmitamidopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)metoxy)(phenoxy)phosphoryl)amino)propanoat (36)

Hợp chất 27 dia-2 được axyl hóa bằng palmitic anhydrit theo phương pháp được mô tả trong WO2008/030373, để thu được hợp chất nêu ở đề mục.

Ví dụ so sánh



Bước a) (2S)-2-((bis(4-metoxyphenyl)(phenyl)metyl)amino)-N-(2-oxido-1,3,2-oxathiaphospholan-2-yl)propanamit

Bổ sung từng giọt dung dịch chứa 2-clo-1,3,2-oxathiaphospholan (0,542g, 3,80mmol) vào dung dịch đá lạnh chứa (S)-2-((bis(4 metoxyphenyl)(phenyl) metyl)amino)propanamit (1,40g, 3,58mmol) và trietylamin (0,60mL, 4,30mol) trong diclometan (8mL) trong điều kiện nitơ. Cho phép phản ứng đạt nhiệt độ trong phòng và khuấy trong hai ngày. Làm lạnh dung dịch đến 0°C và bổ sung từ từ dung dịch chứa (tert-butylperoxy)trimetylsilan (1,16g, 7,17mmol) trong

heptan. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 90 phút, sau đó cô trong chân không. Tạo huyền phù phần còn lại trong etyl axetat (10mL), loại bỏ các muối hydroclorua bằng cách lọc và loại bỏ dung môi trong chân không. Hòa tan phần còn lại trong axetonitril khô (10mL) và dung dịch thu được được sử dụng trong bước tiếp theo mà không tinh chế thêm. Giả sử hiệu suất định lượng và độ tinh khiết 80% dựa trên ^{31}P -NMR.

Bước b) ((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methyl hydro ((S)-2-((bis(4-metoxyphe-nyl)(phenyl)methyl)amino)propanoyl)phosphoramidat

Bổ sung DMAP (229mg, 1,88mmol) trong điều kiện nitơ vào dung dịch chứa hợp chất Tr-9 (100mg, 0,469mmol) trong pyridin khô (5mL), sau đó bổ sung từ từ dung dịch chứa (2S)-2-((bis(4-metoxyphe-nyl)(phenyl)methyl)amino)-N-(2-oxo-1,3,2-oxathia phospholanyl)propanamit (361mg, 0,563mmol) trong axetonitril khô (2mL) vào. Khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong điều kiện nitơ trong 46 giờ, sau đó cô. Tinh chế phần còn lại bằng HPLC điều chế trên Gemini-NX 5m C18 (100x30mm) sử dụng gradien từ 20%B đến 80%B trong 17 phút và tốc độ chảy bằng 35mL/phút. Dung môi A: 95% nước, 5% axetonitril (10mM trong amoni axetat); Dung môi B: 10% nước, 90% axetonitril (10mM trong amoni axetat). Kết hợp các phần chứa sản phẩm và làm đông khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (80mg, 26%). MS (ES+) 664,26 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước c) ((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-1,3-dioxolan-2-yl)methyl hydro ((S)-2-aminopropanoyl)phosphoramidat

Bổ sung nước (50mL) vào dung dịch chứa hợp chất từ bước trước (80,5mg, 0,121mmol) trong diclometan sau đó bổ sung axit axetic (500mL) vào. Khuấy dung dịch ở nhiệt độ trong phòng trong 12 phút, sau đó bổ sung TFA (75mL) vào và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút, pha loãng với toluen (10mL), cô đến khô và làm khô trong điều kiện chân không. Đưa phần còn lại vào nước chứa axetonitril 10% (10mL) và rửa bằng tert-butyl methyl ete chứa hexan 10% (2x10mL). Gom lớp nước và làm đông khô qua đêm để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng muối bis-TFA (80mg) có độ tinh

khuyết bằng ~75% theo LC-MS. Tinh chế thêm phần cặn thu được bằng HPLC điều chế trên Hypercarb (21,2 x 100mm, l=271nm), sử dụng gradien từ 0% đến 35% axetonitril trong nước. Gom các phần chứa sản phẩm và làm đông khô. MS (ES+) 364,10 [M+H]⁺.

Cấu trúc được xác nhận bằng ¹H và ¹³C NMR.

Dữ liệu NMR để chọn lọc các hợp chất được lấy làm ví dụ:

Hợp chất 8 dia-1

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0,81-0,84 (6H), 1,20-1,22 (11H), 1,59 (1H), 3,82-3,97 (3H), 4,08-4,16 (2H), 4,22-4,23 (2H), 5,16 (1H), 5,67-5,69 (1H), 6,05-6,10 (1H), 6,23-6,24 (1H), 7,16-7,23 (m, 5H), 7,34-7,38 (m, 2H), 7,60-7,62 (m, 1H).

Hợp chất 8 dia-2

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0,81-0,84 (6H), 1,22-1,27 (11H), 1,57 (1H), 3,81-3,89 (2H), 3,95-3,98 (1H), 4,05-4,07 (1H), 4,10-4,20 (3H), 5,128 (1H), 5,68-5,69 (1H), 6,13-6,14 (1H), 6,22-6,24 (1H), 7,16-7,21 (5H), 7,34-7,38 (2H), 7,58-7,60 (1H).

Hợp chất 9 dia-1

³¹P NMR (DMSO-d₆) δ 4,354.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,24-1,26 (3H), 3,98-4,01 (1H), 4,12-4,14 (2H), 4,27-4,29 (2H), 5,00-5,08 (2H), 5,16-5,18 (1H), 5,64-5,66 (2H), 6,25-6,27 (1H), 6,34 (1H), 7,17-7,22 (2H), 7,31-7,33 (5H), 7,45-7,46 (2H), 7,55-7,59 (2H), 7,63-7,64 (1H), 7,74-7,77 (1H), 7,95-7,97 (1H), 8,08-8,11 (1H).

Hợp chất 9 dia-2

³¹P NMR (DMSO-d₆) δ 4,159.

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,25-1,26 (3H), 3,97-4,01 (1H), 4,08-4,16 (2H), 4,23-4,29 (2H), 5,04-5,16 (3H), 5,65-5,66 (1H), 6,26 (1H), 6,36-6,42 (1H), 7,17-7,24 (2H), 7,326 (5H), 7,41-7,49 (2H), 7,57-7,64 (3H), 7,74-7,76 (1H), 7,95-7,97 (1H), 8,10-8,12 (1H).

Hợp chất 11-dia-1

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 0,23 (9H), 0,78-0,82 (3H), 1,08-1,12 (3H), 1,20-1,22 (3H), 1,44-1,49 (2H), 3,77-3,79 (1H), 4,09-4,23 (4H), 4,67-4,72 (1H), 5,16-5,16 (1H), 5,69-5,70 (1H), 6,04-6,10 (1H), 6,23-6,25 (1H), 7,15-7,24 (4H), 7,48-7,50 (2H), 7,61-7,63 (1H).

Hợp chất 11 dia-2

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 0,22-0,24 (9H), 0,78-0,82 (3H), 1,10-1,11 (3H), 1,22-1,24 (3H), 1,46-1,50 (2H), 4,05-4,07 (1H), 4,11-4,22 (4H), 4,70-4,71 (1H), 5,14 (1H), 5,69-5,71 (1H), 6,07-6,11 (1H), 6,23-6,25 (1H), 7,16-7,24 (4H), 7,49-7,51 (2H), 7,60-7,62 (1H).

Đối với tiền dược chất nhắm đích gan, việc xử lý chính xác tiền dược chất mang tính quyết định. Tiền dược chất này nên ổn định trong dịch ruột, và được xử lý trong gan bằng các enzym gan trong quá trình chuyển hóa do hấp thu lần thứ nhất để tạo ra monophosphat. Monophosphat được tạo ra sau đó được đồng hóa bằng kinaza tế bào trong các tế bào gan thành các loại triphosphat hoạt tính. Ngoài ra, thuốc chống ung thư nên độc đối với các tế bào tăng sinh. Các phương pháp thích hợp để đánh giá hợp chất về các tính chất này, ví dụ, là như được nêu dưới đây.

Độ ổn định trong phần S9 ruột người (HIS9) và trong phần S9 gan người (HLS9),

Dung dịch gốc chứa mỗi hợp chất thử nghiệm (10mM) được pha chế trong DMSO và được bảo quản ở nhiệt độ -20°C . Trước khi bắt đầu thử nghiệm, các hợp chất thử nghiệm được pha loãng đến $500\mu\text{M}$ trong axetonitril 50% trong nước. Hỗn hợp phản ứng được pha chế với tổng thể tích bằng $250\mu\text{L}$ chứa MgCl_2 5mM, NADPH 1mM và hợp chất thử nghiệm $5\mu\text{M}$ trong dung dịch đệm kali phosphat 50mM (pH=7,4). Bắt đầu phản ứng bằng cách bổ sung phần S9 của gan hoặc ruột người có nồng độ cuối cùng bằng 0,4mg protein/mL (Xeno Tech). Hỗn hợp phản ứng được ủ trên thiết bị lắc quỹ đạo ở nhiệt độ 37°C . Ở các thời điểm mong muốn (0, 10, 30 và 60 phút) các phần phân ước $50\mu\text{L}$ được lấy ra và phản ứng được dừng bằng cách trộn với $150\mu\text{L}$ axetonitril chứa chất chuẩn nội. Dung dịch chuẩn chứa mỗi hợp chất thử nghiệm được pha chế từ dung dịch $500\mu\text{M}$ bằng cách pha loãng dung dịch này đến nồng độ cuối cùng bằng $5\mu\text{M}$ trong phần

S9 của người đã được đun sôi (0,4mg protein/mL), MgCl_2 5mM và dung dịch đệm kali phosphat 50nM (pH=7,4). Các chất chuẩn và mẫu được giữ trên đá trong 30 phút sau đó ly tâm ở 3 000g trong 20 phút ở nhiệt độ 10°C, sau đó 10µL dịch nổi trên bề mặt được trộn với 200µL axetonitril 50% trong nước. 0,5µM mỗi hợp chất thử nghiệm trong axetonitril 50% trong nước được phun vào LC/MS-MS để xác định ion thu được từ phân tử của các hợp chất gốc, thể đầu vào (DP), năng lượng va chạm (CE) và thể đầu ra tế bào va chạm (CXP) để phát triển phương pháp LC/MS-MS. Các hợp chất được tách bằng cách sử dụng cột C18 với hệ QTRAP5500. Pha động gồm có dung môi A (nước 98%, axetonitril 2%, axit axetic 0,1% hoặc amoni axetat 10mM) và dung môi B (axetonitril 80%, nước 20%, axit axetic 0,1% hoặc amoni axetat 10mM). Việc rửa giải các hợp chất được thực hiện bằng cách sử dụng gradien của dung môi B từ 0% đến 100%. 5µL điểm chuẩn và mẫu được phun để phân tích bằng QTRAP5500.

Lượng hợp chất ban đầu được xác định dựa trên diện tích đỉnh trong mỗi thời điểm so với tiêu chuẩn được thiết lập đến 5µM. Độ thanh thải thực chất (CL_{int}) và thời gian bán hủy ($t_{1/2}$) được xác định từ đường cong triệt tiêu của hợp chất thử nghiệm bằng cách sử dụng phần mềm Excel.

Thử nghiệm độ độc hại tế bào của tế bào

Các tế bào được nuôi cấy 24 giờ trước khi bổ sung hợp chất. Mỗi hợp chất thử nghiệm (được pha loãng theo dãy từ 100µM) được bổ sung vào Huh7 ($1,5 \times 10^4$ tế bào/lỗ) hoặc HepG2 ($1,5 \times 10^4$ tế bào/lỗ), và được cho phép ủ trong 5 ngày ở nhiệt độ 37°C. Đối chứng chỉ làm môi trường được sử dụng để xác định ít nhất là giá trị hấp thụ và giá trị tế bào không được điều trị. Kết thúc giai đoạn phát triển, thuốc nhuộm XTT của Polysciences Europe GmbH được bổ sung vào mỗi lỗ. Độ hấp thụ ở 450nm với bước sóng đối chiếu bằng 600nm được đọc bằng Sunrise (Tecan) bằng cách sử dụng các lỗ đối chứng chỉ làm môi trường làm mẫu trống. Giá trị ức chế 50% (CC_{50}) được xác định bằng cách so sánh độ ức chế (so với đối chứng tế bào) được vẽ biểu đồ dựa trên nồng độ hợp chất. Các kết quả từ loạt chất pha loãng được làm thích hợp với đường cong đáp ứng liều xích-ma.

Các hợp chất theo sáng chế được đánh giá trong các thử nghiệm này để đánh giá độ ổn định trong phần S9 ruột người (HIS9) và phần S9 gan người

(HLS9), và độ độc hại tế bào của tế bào trong tế bào HUH7, HEP3B và HEPG2.

Các kết quả được tóm tắt trong Bảng B1.

Bảng B1

Ví dụ	HUH7 CC ₅₀ (μ M)	HEP3B CC ₅₀ (μ M)	HEPG2 CC ₅₀ (μ M)	CL _{int} của S9 gan (μ L/phút/mg)	CL _{int} của S9 ruột (μ L/phút/mg)
1	>100	na	>100	12	6
2	1,75	na	0,248	13	6
3	3,28	na	0,371	8	6
4	12,0	na	0,936	84	123
4 dia-2	1,55	na	0,093	38	18
5 dia-1	0,465	na	0,107	32	21
5 dia-2	0,602	na	0,114	31	13
6 dia-1	0,258	na	0,092	91	36
6 dia-2	0,316	na	0,048	61	25
7 dia-1	1,02	na	0,24	148	147
7 dia-2	0,134	na	0,058	60	27
8 dia-1	0,123	na	0,007	130	86
8 dia-2	0,074	0,035	0,017	143	25
9 dia-1	0,164	na	0,023	133	171
9 dia-2	0,158	na	0,016	94	127
10 dia-1	0,392	na	0,062	26	12
10 dia-2	0,556	na	0,051	22	14
11 dia-1	0,026	0,018	0,054	51	6
11 dia-2	na	0,031	0,054	81	28
12 dia-1	4,33	na	0,481	182	300
12 dia-2	5,02	na	1,09	97	300
13 diamix 4:1	0,663	na	0,163	85	27
14 dia-1	0,216	na	0,016	88	30
14 dia-2	0,200	na	0,012	159	59
15 dia-1	0,025	na	0,037	167	87
15 dia-2	0,026	na	0,019	95	36
16 dia-1	1,20	0,106	0,151	50	8
16 dia-2	0,152	0,053	0,130	59	8
17 dia-1	50,0	na	50,0	6	6
17 dia-2	50,0	na	50,0	6	6
18 dia-1	0,461	0,228	0,248	21	6
18 dia-2	0,076	0,113	0,065	30	7

Ví dụ	HUH7 CC ₅₀ (μ M)	HEP3B CC ₅₀ (μ M)	HEPG2 CC ₅₀ (μ M)	CL _{int} của S9 gan (μ L/phút/mg)	CL _{int} của S9 ruột (μ L/phút/mg)
19 dia-1	0,091	na	0,018	19	26
19 dia-2	0,071	0,058	0,014	24	17
20 dia-1	0,216	na	0,074	45	21
20 dia-2	0,073	0,078	0,060	25	6
21 dia-1	0,574	na	0,163	61	29
21 dia-2	0,070	na	0,048	22	10
22 dia-1	0,033	na	0,012	49	52
22 dia-2	0,040	na	0,011	43	34
23 dia-1	na	0,01	0,0086	186	32
23 dia-2	na	na	na	300	20
24 dia-1	na	na	na	na	na
24 dia-2	na	na	na	na	na
25 dia-1	na	na	na	na	na
25 dia-2	na	na	na	na	na
26 dia-1	na	4,34	1,21	7	6
26 dia-2	4,73	4,02	1,06	10	6
Troxa- citabine	0,646	0,279	0,218	na	na
27 dia-1	1,44	na	0,151	38	11
27 dia-2	1,02	0,348	0,223	57	6
28 dia-2	15,6	na	2,72	20	40
29 dia-2	0,495	0,075	na	36	18
30 dia-2	na	na	na	120	11
31 dia-2	na	na	na	8	6
32 dia-2	na	na	na	27	8
33 dia-1	na	na	na	180	27
33 dia-2	na	na	na	230	75
34 dia-2	0,524	0,210	0,236	64	6
35 dia-2	0,011	na	0,007	34	51
36	0,009	0,019	na	na	

na = chưa xác định được

Thử nghiệm tạo ra triphosphat

Mỗi hợp chất được thử nghiệm ba lần trong thử nghiệm này.

Tế bào gan mới của người đã được dần trên đĩa (Biopredic, France) trong đĩa 12 lỗ được sử dụng. Mỗi lỗ được dần mỏng $0,76 \times 10^6$ tế bào và được ủ với

dung dịch DMSO 10 μ M chứa hợp chất (DMSO 0,1%) trong 1mL môi trường ủ trong tủ ủ CO₂ ở nhiệt độ 37°C trong 8 giờ. Các tế bào Huh7 sinh trưởng trong DMEM với các chất kháng sinh và huyết thanh bào thai bê 10% được nuôi cấy trong đĩa 12 lỗ, 2x10⁵ tế bào/lỗ. Sau 24 giờ, 1mL hợp chất 10 μ M trong môi trường được bổ sung và các tế bào được ủ trong 6-8 giờ nữa.

Dừng quá trình ủ bằng cách rửa mỗi lỗ bằng 1mL dung dịch cân bằng Hank đá lạnh, độ pH = 7,2 hai lần, sau đó bổ sung 0,5mL metanol 70% đã lạnh. Ngay sau khi bổ sung metanol, gỡ lớp tế bào khỏi đáy của lỗ bằng dụng cụ nạo tế bào và hút lên và xuống 5-6 lần bằng ống pipet tự động. Huyền phù tế bào được chuyển vào ống thủy tinh và được bảo quản qua đêm ở nhiệt độ -20°C.

Mỗi mẫu gồm có tiền được chất ở các nồng độ khác nhau, nucleosit tự do, và mono-, di- và triphosphat sau đó được xoay và ly tâm ở nhiệt độ 10°C trong 10 phút, ở 14000 vòng/phút trong Eppendorf centrifuge 5417R. Các phân dịch nổi trên bề mặt được chuyển vào ống thủy tinh 2mL có đệm và được đưa vào phân tích sinh học như sau:

Chất chuẩn nội (Indinavir) được bổ sung vào mỗi mẫu và các mẫu (thể tích phun 10 μ L) được phân tích trên hệ hai cột được kết hợp với máy đo phổ khối QTRAP 5000. Hệ hai cột gồm có bơm hai nhánh, X và Y, hai van chuyển đổi và thiết bị lấy mẫu tự động. Hai cột HPLC được sử dụng là Synergy POLAR-RP 50*4,6 mm, hạt 4 μ M và BioBasic AX 50*2,1 mm hạt 5 μ M. Tốc độ dòng chảy LC là 0,4-0,6 mL/phút mL/phút (tốc độ dòng chảy cao hơn được sử dụng trong bước khôi phục).

Pha động HPLC đối với cột POLAR-RP gồm có 10mmol/L amoni axetat trong axetonitril 2% (pha động A) và 10mmol/L amoni axetat trong axetonitril 90% (pha động B) và đối với cột BioBasic AX 10mmol/L amoni axetat trong axetonitril 2% (pha động C) và amoni hydroxit 1% trong axetonitril 2% (pha động D). Gradient HPLC đối với bơm Y bắt đầu ở 0% pha động B và được giữ trong 2 phút.

Trong pha nạp, pha động đi qua cột POLAR-RP và BioBasic AX, và tiền được chất, nucleosit và chất chuẩn nội được bẫy trên cột POLAR-RP; trong khi

đó các nucleotit (mono-, di- và triphosphat) được rửa giải trên cột BioBasic AX và được bẫy ở đó.

Trong bước tiếp theo, dòng chảy được chuyển đổi từ cột POLAR-RP vào MS và pha động C được chuyển đổi từ bơm X vào cột BioBasic AX. Hợp chất trên cột POLAR-RP được rửa giải bằng gradien từ 0% B cho đến 100% B trong khoảng hai phút và được phân tích theo cách thức dương hoặc âm bằng cách sử dụng cách thức giám sát nhiều phản ứng (MRM).

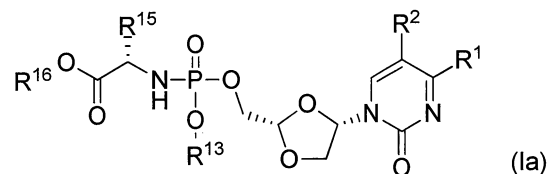
Trong bước cuối cùng, dòng chảy từ cột BioBasic AX được chuyển đổi vào MS và phosphat được rửa giải bằng khoảng 7 phút gradien lên đến 50% D, và được phân tích theo cách thức dương hoặc âm bằng cách sử dụng MRM. Trong bước cuối cùng, cả hai cột được khôi phục.

Nồng độ triphosphat đối với mỗi hợp chất sau đó được xác định bằng cách so sánh với đường cong tiêu chuẩn được tạo ra bằng cách phân tích các mẫu tiêu chuẩn với các nồng độ đã biết của triphosphat. Các mẫu tiêu chuẩn được thực hiện trong các chất kết dính giống nhau làm mẫu thử nghiệm. Do các biến thể trong mức độ phosphoryl hóa giữa các đối tượng cho tế bào gan, hợp chất đối chiếu nội bộ được yêu cầu trong mỗi lần thực hiện thử nghiệm để có thể xếp loại các kết quả từ các lần thực hiện khác nhau với nhau.

Trong cả bản mô tả và các điểm yêu cầu bảo hộ tuân thủ, trừ khi ngữ cảnh yêu cầu khác đi, cụm từ ‘bao gồm’, và các biến thể ngữ pháp của cụm từ này, sẽ được hiểu là ngụ ý bao gồm số nguyên, bước, nhóm các số nguyên hoặc nhóm các bước được nêu nhưng không loại trừ số nguyên, bước, nhóm các số nguyên hoặc nhóm các bước bất kỳ khác.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất được đại diện bằng công thức Ia:



trong đó:

R^1 là OR^{11} , hoặc $NR^5R^{5'}$;

R^2 là H;

R^5 là H, C_1 - C_6 alkyl, OH, $C(=O)R^6$, $OC(=O)R^6$ hoặc $OC(=O)OR^6$;

$R^{5'}$ là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^6 là C_1 - C_{22} alkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

R^{11} là H hoặc C_1 - C_6 alkyl;

R^{13} là H, phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl hoặc naphtyl trong đó phenyl, pyridyl, benzyl, indolyl và naphtyl tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 R^{22} ;

R^{15} là H, C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, phenyl, benzyl hoặc indolyl;

R^{16} là H, C_1 - C_{10} alkyl, C_2 - C_{10} alkenyl, C_3 - C_7 xycloalkyl, C_3 - C_7 xycloalkyl C_1 - C_3 alkyl, benzyl, hoặc phenyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm nêu trên tùy ý được thế bằng 1, 2 hoặc 3 nhóm, mỗi nhóm độc lập được chọn từ halo, OR^{18} và $N(R^{18})_2$;

mỗi nhóm R^{18} độc lập là H, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 haloalkyl hoặc C_3 - C_7 xycloalkyl;

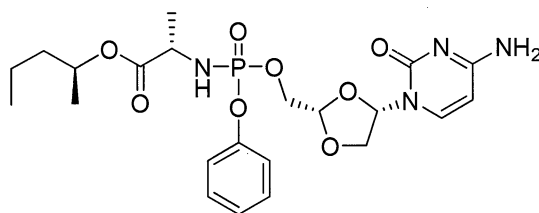
mỗi nhóm R^{22} độc lập được chọn từ halo, C_1 - C_6 alkyl, C_2 - C_6 alkenyl, C_1 - C_6 haloalkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 haloalkoxy, phenyl, hydroxy C_1 - C_6 alkyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, C_1 - C_6 alkylcarbonyl, C_3 - C_6 xycloalkylcarbonyl, carboxy C_1 - C_6 alkyl, hydroxy, amino CN, và NO_2 , hoặc hai nhóm R^{22} bất kỳ được gắn vào nguyên tử cacbon vòng liền kề có thể kết hợp để tạo ra $-O-(CR^{23}R^{23'})_{1-6}-O-$;

R^{23} và $R^{23'}$ độc lập là H hoặc C_1 - C_3 alkyl;

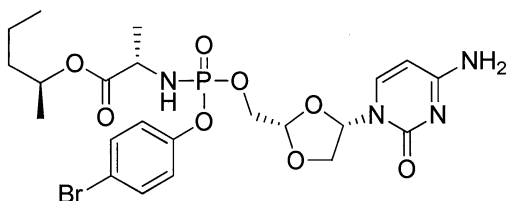
hoặc muối được dụng và/hoặc solvat của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^1 là NH_2 .

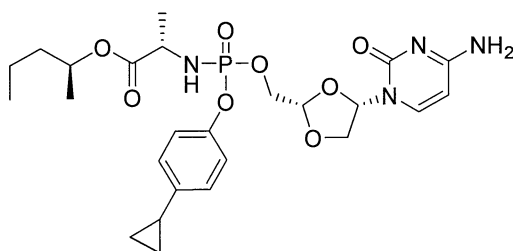
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^{15} là C_1 - C_3 alkyl.
4. Hợp chất theo điểm 3, trong đó R^{15} là methyl.
5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R^{16} là C_3 - C_{10} alkyl, tốt hơn là 2-propylpentyl hoặc 2-ethylbutyl.
6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R^{16} là 2-pentyl.
7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó R^{13} là phenyl hoặc naphtyl, nhóm bất kỳ trong số các nhóm nêu trên tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm R^{22} .
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R^{13} là phenyl.
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



10. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



11. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



12. Dược phẩm chứa lượng cho tác dụng điều trị bệnh của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, còn chứa một hoặc nhiều tác nhân điều trị

bệnh khác được chọn từ nhóm bao gồm tác nhân hóa trị liệu, tác nhân làm đảo ngược sự kháng nhiều thuốc và chất biến đổi đáp ứng sinh học.

13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó tác nhân điều trị bệnh khác là tác nhân hóa trị liệu.