



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

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

(11)



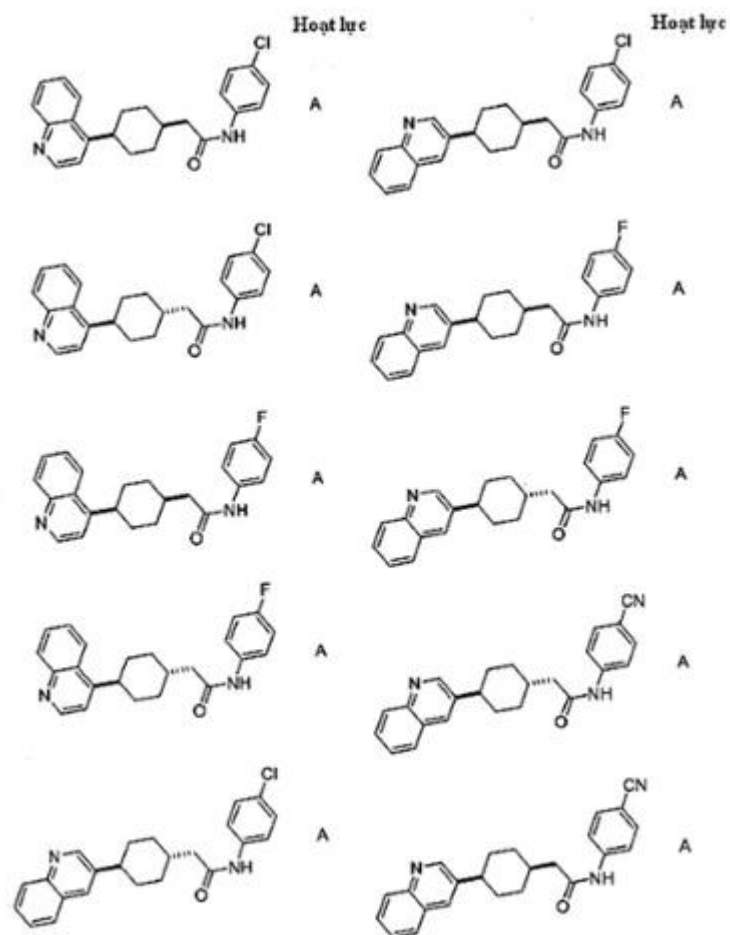
1-0027075

(51)⁷ A61K 31/4375; A61K 31/496; A61K 31/4709 (13) B

-
- (21) 1-2017-01501 (22) 05/11/2015
(86) PCT/US2015/059311 05/11/2015 (87) WO2016/073770 12/05/2016
(30) 62/075,671 05/11/2014 US; 62/098,022 30/12/2014 US
(45) 25/01/2021 394 (43) 27/11/2017 356A
(73) FLEXUS BIOSCIENCES, INC. (US)
Route 206 and Province Line Road, Princeton, New Jersey 08540, United States of America
(72) BECK, Hilary Plake (US); JAEN, Juan Carlos (US); OSIPOV, Maksim (US);
POWERS, Jay Patrick (US); REILLY, Maureen Kay (US); SHUNATONA, Hunter
Paul (US); WALKER, James Ross (AU); ZIBINSKY, Mikhail (RU); BALOG, James
Aaron (US); WILLIAMS, David K (US); MARKWALDER, Jay A (US);
CHERNEY, Emily Charlotte (US); SHAN, Weifang (US); HUANG, Audris (US).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)
-

(54) HỢP CHẤT (R)-N-(4-CLOPHENYL)-2-(CIS-4-(6-FLOQUINOLIN-4-
YL)XYCLOHEXYL)PROPANAMIT, DƯỢC PHẨM VÀ CHẾ PHẨM KẾT HỢP
CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối dược dụng của nó, dược phẩm, và chế phẩm kết hợp chứa hợp chất này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó, được phẩm, và chế phẩm kết hợp chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Indolamin 2,3-đioxygenaza (cũng được gọi là indolamin 2,3-đioxygenaza 1) là gen hướng đích IFN- γ có vai trò điều hòa miễn dịch. Indolamin 2,3-đioxygenaza là oxidoreductaza và một trong hai enzym xúc tác giai đoạn thứ nhất và giai đoạn hạn chế tốc độ trong quá trình chuyển hóa tryptophan thành N-formyl-kynurenin. Indolamin 2,3-đioxygenaza là monome khối lượng phân tử bằng 41kD và có trong một số tế bào, bao gồm tế bào miễn dịch, tế bào nội mô, và nguyên bào sợi. Indolamin 2,3-đioxygenaza có tính bảo thủ tương đối cao giữa các loài, với độ tương đồng trình tự axit amin của indolamin 2,3-đioxygenaza ở chuột và indolamin 2,3-đioxygenaza ở người bằng 63%. Dữ liệu thu được từ cấu trúc tinh thể của indolamin 2,3-đioxygenaza và đột biến điểm có định hướng cho thấy rằng cả gắn kết cơ chất và mối tương quan giữa cơ chất và đioxygenaza đã gắn kết với sắt là cần thiết cho hoạt tính enzym. Enzym tương đồng với indolamin 2,3-đioxygenaza (indolamin 2,3-đioxygenaza 2) có độ tương đồng trình tự axit amin bằng 44% so với indolamin 2,3-đioxygenaza, nhưng có chức năng rất khác biệt so với indolamin 2,3-đioxygenaza (ví dụ, xem Serafini P, et al, *Semin. Cancer Biol*, 16(1):53-65 (Feb. 2006) và Ball, H.J. et al, *Gene*, 396(1):203-213 (Jul. 2007)).

Indolamin 2,3-đioxygenaza đóng vai trò quan trọng trong điều hòa miễn dịch, và có hoạt tính ức chế miễn dịch theo nhiều cơ chế. Quan trọng là, indolamin 2,3-đioxygenaza điều hòa miễn dịch ở cấp độ tế bào T, và có mối liên quan giữa indolamin 2,3-đioxygenaza và sản sinh xytokin. Ngoài ra, khối u thường biểu hiện chức năng miễn dịch bằng cách điều hòa tăng biểu hiện indolamin 2,3-đioxygenaza. Do đó, quá trình điều hòa indolamin 2,3-đioxygenaza có tác dụng điều trị một số bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý.

Có mối liên quan sinh lý bệnh giữa indolamin 2,3-đioxygenaza và bệnh ung thư. Sự gián đoạn nội mô miễn dịch liên quan mật thiết với sinh trưởng và tiến triển khối u, và sản sinh indolamin 2,3-đioxygenaza trong môi trường vi thể xung quanh khối u xuất hiện để hỗ trợ tăng trưởng khối u và di căn. Hơn nữa, mức độ gia tăng hoạt tính indolamin 2,3-đioxygenaza có liên quan với nhiều khối u khác nhau (Brandacher, G. et al, *Clin. Cancer Res*, 12(4):1144-1151 (Feb. 15, 2006)).

Điều trị ung thư thường đòi hỏi phẫu thuật cắt bỏ, sau đó thực hiện liệu pháp hóa trị liệu và liệu pháp xạ trị. Các phác đồ điều trị tiêu chuẩn có hiệu quả điều trị không cao do tế bào ung thư có thể lây lan bằng cách tái phát khối u nguyên phát, và quan trọng hơn là gieo mầm di căn xa. Những tiến bộ gần đây trong việc điều trị bệnh ung thư và bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến ung thư bao gồm việc sử dụng liệu pháp điều trị kết hợp liệu pháp miễn dịch với nhiều liệu pháp hóa trị liệu truyền thống và liệu pháp xạ trị. Trong hầu hết các trường hợp, liệu pháp miễn dịch có độc tính thấp hơn liệu pháp hóa trị liệu truyền thống do liệu pháp miễn dịch sử dụng chính hệ miễn dịch của đối tượng bị bệnh để xác định và loại bỏ tế bào khối u.

Ngoài bệnh ung thư, indolamin 2,3-đioxygenaza cũng có vai trò trong các tình trạng bệnh lý khác, như tình trạng ức chế miễn dịch, bệnh lây nhiễm mãn tính, và bệnh hoặc rối loạn tự miễn (ví dụ bệnh viêm khớp dạng thấp). Do đó, liệu pháp ức chế phân giải tryptophan bằng cách ức chế hoạt tính indolamin 2,3-đioxygenaza có hiệu quả điều trị cao. Hơn nữa, hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza có thể được sử dụng để tăng cường hoạt hóa tế bào T khi tế bào T bị ức chế bởi tình trạng mang thai, tình trạng bệnh ác tính, hoặc virus (ví dụ HIV). Mặc dù vai trò cũng chưa được biết rõ, nhưng hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza cũng có thể được sử dụng để điều trị bệnh hoặc rối loạn thần kinh (ví dụ bệnh trầm cảm).

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza phân tử nhỏ đã được phát triển để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến indolamin 2,3-đioxygenaza. Ví dụ, hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza bao gồm 1-metyl-DL-tryptophan; p-(3-benzofuranyl)-DL-alanin; p-[3-benzo(b)thienyl]-DL-alanin; và 6-nitro-L-tryptophan đã được sử dụng để điều hòa miễn dịch qua trung gian tế bào T bằng cách biến đổi nồng độ ngoại bào khu trú của tryptophan và các chất chuyển hóa của tryptophan (WO 99/29310). Hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza cũng được bộc lộ trong WO 2004/094409.

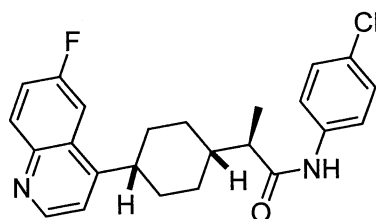
Do indolamin 2,3-đioxygenaza đóng vai trò quan trọng trong nhiều bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý, và hạn chế (ví dụ hoạt lực) của các hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza hiện nay, nên cần có chất điều hòa indolamin 2,3-đioxygenaza thế hệ mới, chế phẩm chứa hợp chất này và phương pháp điều trị liên quan.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề cập đến hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó, dược phẩm, và chế phẩm kết hợp chứa hợp chất này.

Cụ thể sáng chế đề cập đến các phương án sau:

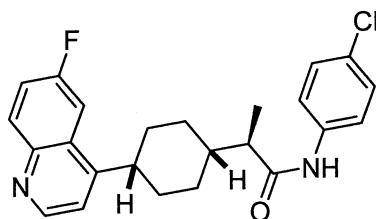
1. Hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



hoặc muối được dụng của nó.

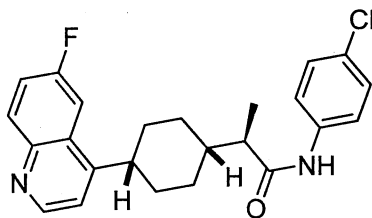
2. Hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó.

3. Hợp chất theo phương án 1, trong đó hợp chất này là (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



4. Hợp chất theo phương án 1, trong đó hợp chất này là muối được dụng của (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

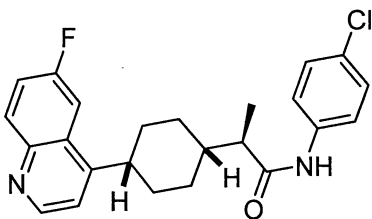
5. Dược phẩm chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



hoặc muối được dụng của nó, và tá được dụng.

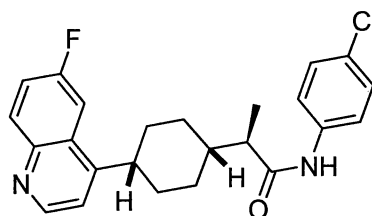
6. Dược phẩm chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó, và tá được dụng.

7. Dược phẩm theo phương án 5, trong đó dược phẩm này chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



8. Dược phẩm theo phương án 5, trong đó dược phẩm này chứa muối được dụng của (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

9. Chế phẩm kết hợp chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit

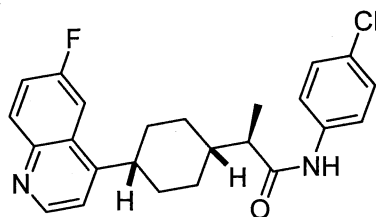


hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một được chất bổ sung là được chất hóa trị liệu, được chất điều hòa miễn dịch và/hoặc được chất điều hòa viêm, được chất chống tăng cholesterol máu, được chất chống nhiễm trùng hoặc được chất kháng ung thư miễn dịch.

10. Chế phẩm kết hợp chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một được chất bổ sung là được chất hóa trị liệu, được chất điều hòa miễn dịch

và/hoặc được chất điều hòa viêm, được chất chống tăng cholesterol máu, được chất chống nhiễm trùng hoặc được chất kháng ung thư miễn dịch.

11. Chế phẩm kết hợp theo phương án 9, trong đó chế phẩm kết hợp này chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



12. Chế phẩm kết hợp theo phương án 9, trong đó chế phẩm kết hợp này chứa muối được dùng của (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

13. Chế phẩm kết hợp theo phương án 9, trong đó được chất bổ sung là được chất kháng ung thư miễn dịch.

14. Chế phẩm kết hợp theo phương án 13, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch được chọn từ chất đối kháng CTLA-4, chất đối kháng PD-1, chất đối kháng PD-L1, chất đối kháng LAG-3, chất chủ vận CD137, chất chủ vận GITR, chất chủ vận OX40, chất đối kháng OX40L, chất chủ vận hoặc chất đối kháng CD40, chất chủ vận CD27, chất đối kháng BTLA, chất đối kháng TIM-3, chất đối kháng A2aR, chất đối kháng thụ thể ức chế gây chết, hoặc kháng thể B7H3.

15. Chế phẩm kết hợp theo phương án 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng CTLA-4.

16. Chế phẩm kết hợp theo phương án 15, trong đó chất đối kháng CTLA-4 là ipilimumab.

17. Chế phẩm kết hợp theo phương án 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-1.

18. Chế phẩm kết hợp theo phương án 17, trong đó chất đối kháng PD-1 là nivolumab.

19. Chế phẩm kết hợp theo phương án 17, trong đó chất đối kháng PD-1 là pembrolizumab, MEDI-0680 hoặc pidilizumab.

20. Chế phẩm kết hợp theo phương án 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-L1.

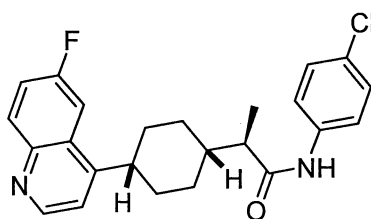
21. Chế phẩm kết hợp theo phương án 20, trong đó chất đối kháng PD-L1 là BMS-936559.

22. Chế phẩm kết hợp theo phương án 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng LAG-3.

23. Chế phẩm kết hợp theo phương án 22, trong đó chất đối kháng LAG-3 là BMS-986016.

24. Chế phẩm kết hợp theo phương án 9, trong đó được chất bổ sung là tremelimumab, MPDL3280A, durvalumab, MSB0010718C, IMP-731, IMP-321, urelumab, PF-05082566, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518, MK-4166, MEDI-6383, MEDI-6469, RG-7888, lucatumumab, dacetuzumab, varlilumab, hoặc MGA271.

25. Chế phẩm kết hợp chứa (*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xylohexyl)propanamit



hoặc muối được dụng của nó, và ít nhất một được chất kháng ung thư miễn dịch và ít nhất một được chất hóa trị liệu.

26. Chế phẩm kết hợp theo phương án 25, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là nivolumab.

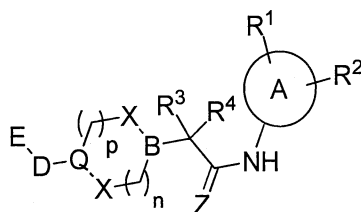
Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất điều hòa enzym oxidoreductaza indolamin 2,3-dioxygenaza, và chế phẩm (ví dụ được phẩm) chứa hợp chất này. Hợp chất theo sáng chế, phương pháp điều chế hợp chất này, và chế phẩm chứa hợp chất này được mô tả chi tiết dưới đây.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất và chế phẩm này để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý ít nhất một phần qua trung gian indolamin 2,3-dioxygenaza. Bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý này được mô tả chi tiết

trong bản mô tả này. Trừ khi có quy định khác, khi hợp chất theo sáng chế được sử dụng, cần hiểu rằng hợp chất này có thể được sử dụng ở dạng chế phẩm (ví dụ được phẩm).

Như được mô tả dưới đây, mặc dù các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza, nhưng không cần hiểu chính xác cơ chế tác dụng của hợp chất này. Hợp chất theo sáng chế có thể ức chế tryptophan-2,3-đioxygenaza. Hợp chất theo sáng chế có thể ức chế cả tryptophan-2,3-đioxygenaza lẫn indolamin 2,3-đioxygenaza. Mặc dù các hợp chất theo sáng chế là hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza, cần hiểu rằng thuật ngữ “hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza” cũng bao gồm hợp chất ức chế tryptophan-2,3-đioxygenaza và hoặc indolamin 2,3-đioxygenaza, và/hoặc hợp chất ức chế cả tryptophan-2,3-đioxygenaza lẫn indolamin 2,3-đioxygenaza.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I):



(I)

hoặc muối được dùng, hydrat hoặc solvat của nó, trong đó chỉ số dưới n bằng 1 hoặc 0; chỉ số dưới p bằng 1 hoặc 0; vòng A là phenyl, heteroaryl 5 hoặc 6 cạnh, hoặc C₅₋₇ xycloalkyl; Z là O; B là N, C(OR^{5a}), hoặc C(R^{3a}); mỗi X độc lập là NR^{5a}, O, CHR⁵, C(O), hoặc CH(OR^{5a}); Q là N, C(CN), hoặc CR⁶; D là liên kết, O, C(R⁵)₂, hoặc NR^{5a}; E là heteroaryl liên hợp hai vòng 9 hoặc 10 cạnh tùy ý được thế; R¹ và R² độc lập là hydro, halogen, C₁-C₄ haloalkyl, C₃-C₆ xycloalkyl, xycloheteroalkyl có 3 đến 6 cạnh, phenyl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, C₁-C₄ alkyl tùy ý được thế, C₁-C₄ alkoxy, CN, SO₂NH₂, NHSO₂CH₃, NHSO₂CF₃, OCF₃, SO₂CH₃, SO₂CF₃, hoặc CONH₂, và khi R¹ và R² là các đỉnh liền kề trên vòng phenyl thì chúng có thể được liên kết với nhau để tạo thành xycloheteroaryl 5 hoặc 6 cạnh có một hoặc hai đỉnh trên vòng độc lập được chọn từ O, N và S, trong đó vòng xycloheteroalkyl này tùy ý được thế bằng một đến ba phần tử thế được chọn từ flo và C₁-C₃ alkyl; R³, R^{3a} và R⁴ độc lập là hydro, C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, C₂-C₆ alkenyl tùy ý được thế, C₂-C₆ alkynyl tùy ý được thế, C₁-C₆ haloalkyl tùy ý được thế, C₃-C₆ xycloalkyl-C₁-C₄ alkyl tùy ý được thế, aryl-C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế,

flo, OH, CN, CO₂H, C(O)NH₂, N(R⁵)₂, -O-C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, -(CR⁵R⁵)_m-OH, -(CR⁵R⁵)_m-CO₂H, -(CR⁵R⁵)_m-C(O)NH₂, -(CR⁵R⁵)_m-C(O)NHR⁵, -(CR⁵R⁵)_m-N(R⁵)₂, -NH(CR⁵R⁵)_m-CO₂H hoặc -NH(CR⁵R⁵)_m-C(O)NH₂; mỗi R⁵ độc lập là H, F, OH, hoặc C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế; mỗi R^{5a} độc lập là H, hoặc C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế; R⁶ là H, OH, F, C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, -O-C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, hoặc -N(R^{5a})₂; và mỗi m độc lập là 1, 2, hoặc 3.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hợp chất có công thức (I), và một hoặc nhiều tá dược được dùng.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư ở đối tượng (ví dụ người) bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế. Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza để làm giảm hoặc dừng tiến triển tình trạng ức chế miễn dịch qua trung gian indolamin 2,3-dioxygenaza. Theo một số phương án, tình trạng ức chế miễn dịch qua trung gian indolamin 2,3-dioxygenaza được điều hòa bởi tế bào nhận diện kháng nguyên.

Ví dụ về bệnh ung thư có thể được điều trị bằng hợp chất và chế phẩm theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư nội mạc tử cung, bệnh ung thư não, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư đầu, bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư da (bao gồm bệnh ung thư sắc tố và bệnh ung thư biểu mô tế bào đáy), bệnh ung thư lớp lót trung biểu mô, bệnh ung thư bạch cầu (bao gồm bệnh u lympho và bệnh bạch cầu), bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư cơ, bệnh ung thư mô liên kết, bệnh ung thư phổi (bao gồm bệnh ung thư biểu mô phổi tế bào nhỏ và bệnh ung thư biểu mô phổi tế bào không nhỏ), bệnh ung thư tuyến thượng thận, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư thận, hoặc bệnh ung thư xương; u nguyên bào thần kinh đệm, bệnh u trung biểu mô, bệnh ung thư biểu mô tế bào thận, bệnh ung thư biểu mô dạ dày, bệnh ung thư tổ chức liên kết, bệnh ung thư biểu mô nhau thai, bệnh ung thư biểu mô da tế bào đáy, và bệnh u tinh. Theo một số phương án, bệnh ung thư là bệnh ung thư sắc tố, bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt, bệnh

ung thư phổi, bệnh bạch cầu, bệnh u não, bệnh u lympho, bệnh ung thư tổ chức liên kết, bệnh ung thư buồng trứng, hoặc bệnh ung thư tổ chức liên kết Kaposi. Bệnh ung thư có thể được điều trị bằng hợp chất và chế phẩm theo sáng chế được mô tả chi tiết hơn dưới đây.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị cho đối tượng được cấy ghép tủy xương hoặc cấy ghép tế bào gốc máu ngoại vi bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza đủ để làm tăng phản ứng quá mẫn muộn với kháng nguyên khối u, làm chậm thời gian tái phát ác tính sau cấy ghép, làm tăng thời gian sống sót sau khi cấy ghép, và/hoặc làm tăng khả năng sống sót sau cấy ghép kéo dài.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn nhiễm trùng (ví dụ bệnh lây nhiễm virus) ở đối tượng (ví dụ người) bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (ví dụ hợp chất ức chế thể hệ mới theo sáng chế). Theo một số phương án, rối loạn nhiễm trùng là bệnh lây nhiễm virus (ví dụ bệnh lây nhiễm virus mãn tính), bệnh nhiễm khuẩn, hoặc bệnh lây nhiễm ký sinh trùng. Theo một số phương án, bệnh lây nhiễm virus là bệnh lây nhiễm virus gây suy giảm miễn dịch ở người hoặc virus gây bệnh mụn rộp nước. Theo các phương án khác, bệnh nhiễm khuẩn là bệnh lây nhiễm vi khuẩn *Mycobacterium* (ví dụ *Mycobacterium leprae* hoặc *Mycobacterium tuberculosis*). Theo một số phương án khác, bệnh lây nhiễm ký sinh trùng là bệnh lây nhiễm ký sinh trùng *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica*, *Leishmania mexicana*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, hoặc *Plasmodium malariae*. Theo các phương án khác, rối loạn nhiễm trùng là bệnh lây nhiễm nấm.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch ở đối tượng (ví dụ người), bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (ví dụ tốt hơn nếu hợp chất ức chế thể hệ mới theo sáng chế). Ví dụ về bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến miễn dịch được mô tả dưới đây.

Các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý có thể được điều trị hoặc phòng ngừa toàn bộ hoặc một phần, bằng cách điều hòa hoạt tính indolamin 2,3-dioxygenaza bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều dược chất bổ sung. Một hoặc nhiều dược chất bổ sung có thể có hoạt tính điều hòa indolamin 2,3-dioxygenaza và/hoặc cơ chế tác dụng khác. Theo một số phương án, các dược chất này bao gồm liệu pháp xạ trị (ví dụ liệu pháp xạ trị tại chỗ hoặc liệu pháp xạ trị toàn thân) và/hoặc các phương pháp điều trị khác không có bản chất dược học. Khi liệu pháp điều trị kết hợp được sử dụng, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và một dược chất bổ sung có thể ở dạng một hoặc nhiều chế phẩm, và các phương pháp điều trị này có thể được sử dụng đồng thời, tuần tự, hoặc thông qua một số phác đồ khác. Ví dụ, sáng chế mô tả phác đồ điều trị trong đó giai đoạn xạ trị được thực hiện sau giai đoạn hóa trị liệu. Liệu pháp điều trị kết hợp có thể có tác dụng hiệp đồng hoặc bổ trợ. Các lợi ích khác của liệu pháp điều trị kết hợp được mô tả dưới đây.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với liệu pháp cấy ghép tủy xương, liệu pháp cấy ghép tế bào gốc máu ngoại vi, hoặc các liệu pháp cấy ghép khác.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch. Tác dụng phong bế hợp chất kiểm soát miễn dịch, dẫn đến tăng cường đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng nguyên, là phương pháp điều trị ung thư tiềm năng ở người. Ví dụ về hợp chất kiểm soát miễn dịch (phối tử và thụ thể), một số được điều hòa giảm biểu hiện một cách chọn lọc ở các loại tế bào khối u khác nhau, thích hợp để phong bế bao gồm PD1 (protein gây chết tế bào theo chương trình 1); PDL1 (phối tử PD1); BTLA (hợp chất làm giảm lympho bào B và T); CTLA4 (kháng nguyên liên quan đến lympho bào T gây độc tế bào 4); TIM3 (protein màng tế bào T 3); LAG3 (gen hoạt hóa lympho bào 3); A2aR (thụ thể adenosin A2a); và thụ thể ức chế gây chết. Dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch, và liệu pháp điều trị kết hợp được mô tả chi tiết trong sáng chế.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế

indolamin 2,3-đioxygenaza và ít nhất một dược chất hóa trị liệu, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở dược chất alkyl hóa (ví dụ nitơ mù tạc, như chlorambucil, xyclophosphamit, isofamit, mechloretamin, melphalan, và uracil mù tạc; aziridin, như thiotepa; metansulphonat este, như busulfan; dược chất tương tự nucleosit (ví dụ gemcitabin); nitroso ure, như carmustin, lomustin, và streptozocin; hợp chất ức chế topoisomeraza I (ví dụ irinotecan); phức chất platin, như cisplatin và carboplatin; chất alkyl oxy hóa khử sinh học, như mitomycin, procarbazin, dacarbazin và altretamin); dược chất phân cắt sợi ADN (ví dụ bleomycin); hợp chất ức chế topoisomeraza II (ví dụ amsacrin, dactinomycin, daunorubicin, idarubicin, mitoxantron, doxorubicin, etoposit, và teniposit); dược chất gắn kết rãnh nhỏ ADN (ví dụ plicamycin); dược chất kháng chuyển hóa (ví dụ chất đối kháng folat, như methotrexat và trimetrexat; chất đối kháng pyrimidin, như flouracil, flodeoxyuridin, CB3717, azacitidin, cytarabin, và floxuridin; chất đối kháng purin, như mercaptopurin, 6-thioguanin, fludarabin, pentostatin; asparginaza; và hợp chất ức chế ribonucleotit reductaza, như hydroxyurea); dược chất tương tác tubulin (ví dụ vincristin, estramustin, vinblastin, docetaxol, dẫn xuất epothilon, và paclitaxel); hormon (ví dụ estrogen; estrogen liên hợp; etinyl estradiol; diethylstilbestol; chlortrianisen; idenestrol; progestin, như hydroxyprogesteron caproat, medroxyprogesteron, và megestrol; và androgen, như testosteron, testosteron propionat, fluoxymesteron, và metyltestosteron); corticosteroid tuyến thượng thận (ví dụ prednison, dexamethason, metylprednisolon, và prednisolon); dược chất kích thích giải phóng hormon thể vàng hoặc dược chất đối kháng hormon giải phóng gonadotropin (ví dụ leuprolit axetat và goserelin axetat); và kháng nguyên kháng hormon (ví dụ tamoxifen, dược chất kháng androgen, như flutamin; và dược chất kháng hormon tuyến thượng thận, như mitotan và aminoglutethimide). Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza kết hợp với các dược chất đã biết khác trong lĩnh vực này (ví dụ arsen trioxit) và các dược chất hóa trị liệu khác được phát triển trong tương lai.

Liên quan đến phương pháp điều trị bệnh ung thư, khi lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza được sử dụng kết hợp với ít nhất một dược chất hóa trị liệu thì tỷ lệ sống sót cao hơn tỷ lệ sống sót khi sử dụng riêng từng hợp chất. Cũng liên quan đến phương pháp điều trị bệnh ung thư, khi lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-đioxygenaza được sử dụng kết hợp với ít nhất một dược chất hóa trị liệu

dẫn đến làm giảm kích cỡ khối u hoặc làm chậm sinh trưởng khối u hiệu quả hơn tác dụng làm giảm kích cỡ khối u hoặc sinh trưởng khối u khi sử dụng riêng từng dược chất.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một hợp chất ức chế truyền tín hiệu. Theo phương án cụ thể, ít nhất một hợp chất ức chế truyền tín hiệu được chọn từ nhóm bao gồm hợp chất ức chế bcr/abl kinaza, hợp chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì, hợp chất ức chế thụ thể her-2/neu, và hợp chất ức chế farnesyl transferaza. Các hợp chất ức chế truyền tín hiệu thích hợp khác được mô tả trong sáng chế.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp tăng cường loại bỏ tế bào khối u ở đối tượng bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza kết hợp với ít nhất một dược chất hóa trị liệu và/hoặc liệu pháp xạ trị, trong đó tác dụng loại bỏ tế bào khối u thu được mạnh hơn tác dụng thu được bằng cách sử dụng riêng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, hợp chất hóa trị liệu hoặc liệu pháp xạ trị.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư ở đối tượng, bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một hợp chất điều hòa miễn dịch không phải là hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza. Theo phương án cụ thể, ít nhất một hợp chất điều hòa miễn dịch được chọn từ nhóm bao gồm CD40L, B7, B7RP1, kháng thể kháng CD40, kháng thể kháng CD38, kháng thể kháng ICOS, phối tử 4-IBB, vacxin kháng ung thư tế bào đuôi gai, IL2, IL12, ELC/CCL19, SLC/CCL21, MCP-1, IL-4, IL-18, TNF, IL-15, MDC, IFN- α /IFN- β , M-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-13, và kháng thể kháng IL-10. Hợp chất điều hòa miễn dịch thích hợp khác được mô tả trong sáng chế.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn nhiễm trùng (ví dụ bệnh lây nhiễm virus) ở đối tượng (ví dụ người) bao gồm bước cho đối tượng này sử dụng lượng hữu hiệu của ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và lượng hữu hiệu của dược chất chống nhiễm trùng.

Theo một số phương án, dược chất bổ sung là xytokin, bao gồm yếu tố kích thích tạo máu đại thực bào-bạch cầu hạt (GM-CSF) hoặc phối tử flt3. Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh lây nhiễm virus (ví dụ bệnh lây nhiễm virus mãn tính) bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở virus viêm gan C (HCV), virus gây bệnh

u nhú ở người (HPV), virus gây bệnh mụn rộp nước (CMV), virus Epstein-Barr (EBV), virus thủy đậu, virus gây bệnh chân tay miệng, và virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV). Việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế để điều trị bệnh lây nhiễm (riêng hoặc kết hợp) được mô tả chi tiết dưới đây.

Theo một số phương án khác, rối loạn nhiễm trùng được điều trị hiệu quả bằng cách sử dụng đồng thời vaccin kết hợp với sử dụng lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế. Theo một số phương án, vaccin là vaccin kháng virus, bao gồm vaccin kháng HIV. Theo các phương án khác, vaccin là vaccin kháng lao hoặc vaccin kháng sốt rét. Theo một số phương án khác, vaccin là vaccin kháng khối u (ví dụ vaccin kháng bệnh ung thư sắc tố); vaccin kháng khối u có thể chứa tế bào khối u cải biến gen hoặc dòng tế bào cải biến gen, bao gồm tế bào khối u cải biến gen hoặc dòng tế bào cải biến gen đã được chuyển gen để biểu hiện yếu tố kích thích bạch cầu hạt-đại thực bào (GM-CSF). Theo phương án cụ thể, vaccin bao gồm một hoặc nhiều peptit sinh miễn dịch và/hoặc tế bào đuôi gai.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với một hoặc nhiều dược chất kháng vi sinh vật.

Liên quan đến phương pháp điều trị bệnh lây nhiễm bằng cách sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất bổ sung, triệu chứng của bệnh lây nhiễm sau khi sử dụng cả hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza lẫn dược chất bổ sung được cải thiện hơn triệu chứng tương tự của bệnh lây nhiễm sau khi sử dụng riêng từng hợp chất. Theo một số phương án, triệu chứng của bệnh lây nhiễm quan sát được có thể là giảm số lượng virus, tăng số lượng tế bào T biểu hiện CD4, giảm nhiễm trùng cơ hội, tăng thời gian sống sót, điều trị dứt điểm bệnh lây nhiễm mãn tính, hoặc tổ hợp của chúng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1A-Fig.1P là các hình vẽ thể hiện công thức cấu tạo và hoạt tính sinh học của các hợp chất theo sáng chế. Hoạt tính ức chế đo được của các hợp chất theo sáng chế trong thử nghiệm mô tả trong ví dụ 251 được thể hiện trên Fig.1A-Fig.1P, trong đó mức độ hoạt tính được thể hiện như sau: hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza: IC_{50} : A < 0,1 μ M; B < 1 μ M; C < 10 μ M).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trước khi sáng chế được mô tả chi tiết, cần hiểu rằng sáng chế không chỉ giới hạn ở các phương án cụ thể được mô tả trong bản mô tả này, và cần hiểu rằng các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả chỉ nhằm mục đích minh họa phương án cụ thể chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Khi khoảng trị số được đề cập đến, cần hiểu rằng mỗi trị số ở giữa, sai khác một phần mười đơn vị của giới hạn dưới trừ khi có quy định khác, giữa giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng và trị số xác định bất kỳ khác hoặc trị số ở giữa trong khoảng xác định, được bao gồm trong sáng chế. Các giới hạn trên và dưới của các khoảng nhỏ hơn này có thể tùy ý được bao gồm trong các khoảng nhỏ hơn, và cũng được bao gồm trong sáng chế, tùy thuộc vào giới hạn cụ thể bất kỳ được loại trừ trong khoảng xác định, trong đó khoảng xác định bao gồm một hoặc cả hai giới hạn, khoảng không bao gồm một hoặc cả hai giới hạn bao gồm các giới hạn cũng được bao gồm trong sáng chế. Trừ khi có quy định khác, toàn bộ các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong sáng chế có nghĩa thông thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Cũng cần lưu ý rằng bộ yêu cầu bảo hộ có thể được soạn thảo để loại trừ dấu hiệu tùy ý bất kỳ. Do đó, tuyên bố này được dùng làm tiền đề để sử dụng các thuật ngữ độc quyền, như “duy nhất”, “chỉ” và thuật ngữ tương tự liên quan đến các dấu hiệu yêu cầu bảo hộ, hoặc sử dụng “giới hạn âm”.

Các đơn công bố được bộc lộ trong bản mô tả này được công bố trường này nộp đơn của sáng chế này. Hơn nữa, ngày công bố có thể khác với ngày công bố thực, có thể cần kiểm chứng độc lập.

Tình trạng rối loạn miễn dịch liên quan chặt chẽ đến khả năng lẩn tránh của khối u khỏi hệ miễn dịch của vật chủ, dẫn đến sinh trưởng và tiến triển khối u. Các phương pháp điều trị truyền thống bao gồm liệu pháp hóa trị liệu và liệu pháp xạ trị thường khó áp dụng cho đối tượng bị bệnh và trở nên không có hiệu lực được phẩm do khối u vẫn phát triển. Bằng cách sử dụng chính hệ miễn dịch của đối tượng bị bệnh để xác định và loại bỏ tế bào khối u, liệu pháp miễn dịch có lợi ích là độc tính giảm. Do quá trình điều hòa tăng biểu hiện enzym điều hòa miễn dịch indolamin 2,3-dioxygenaza bao gồm một cơ chế

được thực hiện bởi khối u để thúc đẩy sinh trưởng, được chất ức chế hoạt tính enzym (ví dụ hợp chất phân tử nhỏ) sẽ hữu hiệu để phòng ngừa và/hoặc điều trị.

Ngoài ra, nhiều dữ liệu thử nghiệm đã cho thấy vai trò của liệu pháp ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza trong tình trạng ức chế miễn dịch, kháng khối u và/hoặc thải loại, bệnh lây nhiễm mãn tính, bệnh lây nhiễm HIV, và bệnh hoặc rối loạn tự miễn. Liệu pháp ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza cũng có thể là chiến lược điều trị quan trọng cho đối tượng bị bệnh hoặc rối loạn tâm thần hoặc thần kinh, như bệnh trầm cảm. Hợp chất, chế phẩm và phương pháp theo sáng chế đáp ứng nhu cầu về chất điều hòa indolamin 2,3-dioxyaza thế hệ mới.

Thuật ngữ

Trừ khi có quy định khác, các thuật ngữ sau có nghĩa như được mô tả dưới đây. Các thuật ngữ khác được định nghĩa trong bản mô tả này.

Thuật ngữ “alkyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, có số lượng nguyên tử cacbon được chỉ rõ (tức là C_{1-8} có nghĩa là một đến tám cacbon). Ví dụ về nhóm alkyl bao gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, *t*-butyl, isobutyl, sec-butyl, n-pentyl, n-hexyl, n-heptyl, n-octyl, và các nhóm tương tự. Thuật ngữ “alkenyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl không no có một hoặc nhiều liên kết đôi. Tương tự, thuật ngữ “alkynyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl không no có một hoặc nhiều liên kết ba. Ví dụ về nhóm alkyl không no này bao gồm vinyl, 2-propenyl, crotyl, 2-isopentenyl, 2-(butadienyl), 2,4-pentadienyl, 3-(1,4-pentadienyl), ethynyl, 1- và 3-propynyl, 3-butylnyl, và các chất đồng phân và chất tương đồng cao.

Thuật ngữ “xycloalkyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ vòng hydrocarbon có số lượng nguyên tử trên vòng được chỉ rõ (ví dụ C_{3-6} xycloalkyl) và no hoàn toàn hoặc không có nhiều hơn một liên kết đôi giữa các đỉnh trên vòng. Thuật ngữ “xycloalkyl” cũng được dùng trong bản mô tả để chỉ vòng hydrocarbon hai vòng và đa vòng, như bixyclo[2,2,1]heptan, bixyclo[2,2,2]octan, v.v.

Thuật ngữ “xycloheteroalkyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ vòng xycloalkyl có số lượng đỉnh trên vòng hoặc cạnh được chỉ rõ và có từ một đến năm dị nguyên tử được chọn từ N, O, và S, thay cho một đến năm đỉnh cacbon, và các nguyên tử nitơ và

lưu huỳnh tùy ý được oxy hóa, và các nguyên tử nitơ tùy ý là nitơ bậc bốn. Xycloheteroalkyl có thể là hệ một vòng, hai vòng hoặc đa vòng. Ví dụ không giới hạn về nhóm xycloheteroalkyl bao gồm pyrrolidin, imidazolidin, pyrazolidin, butyrolactam, valerolactam, imidazolidinon, hydantoin, dioxolan, phtalimit, piperidin, 1,4-dioxan, morpholin, thiomorpholin, thiomorpholin-S-oxit, thiomorpholin-S,S-oxit, piperazin, pyran, pyridon, 3-pyrolin, thiopyran, pyron, tetrahydrofuran, tetrahydrothiophen, quinuclidin, và các nhóm tương tự. Nhóm xycloheteroalkyl có thể được gắn vào phần còn lại của phân tử nhờ cacbon trên vòng hoặc dị nguyên tử.

Ký hiệu “đường lượn sóng $\sim$ ” phân cắt liên kết đơn, liên kết đôi hoặc liên kết ba trong công thức cấu tạo hóa học bất kỳ theo sáng chế, được dùng trong bản mô tả để chỉ điểm gắn liên kết đơn, liên kết đôi, hoặc liên kết ba với phần còn lại của phân tử. Ngoài ra, liên kết kéo dài đến tâm vòng (ví dụ vòng phenyl) có nghĩa là để chỉ điểm gắn ở đỉnh bất kỳ trên vòng. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng nhiều phân tử thế được gắn với vòng sẽ ở các đỉnh vòng tạo ra hợp chất ổn định và tương thích về mặt không gian. Đối với thành phần hóa trị hai, sự biểu thị có nghĩa là một trong hai chiều (chiều xuôi hoặc chiều ngược). Ví dụ, nhóm “-C(O)NH-” được dùng trong bản mô tả để chỉ gốc liên kết theo một trong hai chiều: -C(O)NH- hoặc -NHC(O)-, và các nhóm tương tự, “-O-CH₂CH₂-” được dùng trong bản mô tả để chỉ cả -O-CH₂CH₂- và -CH₂CH₂-O-.

Thuật ngữ “alkoxy”, “alkylamino” và “alkylthio” hoặc “thioalkoxy” được dùng trong bản mô tả để chỉ nhóm alkyl được gắn với phần còn lại của phân tử tương ứng nhờ nguyên tử oxy, nhóm amin, hoặc nguyên tử lưu huỳnh. Ngoài ra, đối với nhóm dialkylamino, các nhóm alkyl có thể giống hoặc khác nhau và cũng có thể được kết hợp để tạo thành vòng 3 đến 7 cạnh chứa nguyên tử nitơ gắn với mỗi nhóm thế này. Do đó, nhóm dialkylamino hoặc -NR^aR^b được dùng trong bản mô tả để chỉ piperidinyl, pyrrolidinyl, morpholinyl, azetidinyl và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “halo” hoặc “halogen” được dùng trong bản mô tả để chỉ flo, clo, brom, hoặc iot. Ngoài ra, thuật ngữ “haloalkyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ monohaloalkyl và polyhaloalkyl. Ví dụ, thuật ngữ “C₁₋₄ haloalkyl” được dùng trong bản mô tả để chỉ triflometyl, 2,2,2-trifloetyl, 4-clobutyl, 3-bromopropyl, và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “aryl” được dùng trong bản mô tả để chỉ nhóm hydrocarbon thơm chứa nhiều liên kết không no có thể là vòng đơn hoặc đa vòng (lên đến ba vòng) được liên hợp với nhau hoặc liên kết đồng hóa trị. Ví dụ không giới hạn về nhóm aryl bao gồm phenyl, naphthyl và biphenyl.

Thuật ngữ “heteroaryl” được dùng trong bản mô tả để chỉ nhóm aryl hoặc vòng aryl chứa từ một đến năm dị nguyên tử được chọn từ N, O, và S, trong đó các nguyên tử nitơ và lưu huỳnh tùy ý được oxy hóa, và các nguyên tử nitơ tùy ý là nitơ bậc bốn. Nhóm heteroaryl có thể được gắn với phần còn lại của phân tử nhờ dị nguyên tử. Ví dụ không giới hạn về nhóm heteroaryl bao gồm pyridyl, pyridazinyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, triazinyl, quinolinyl, quinoxalinyl, quinazolinyl, cinnolinyl, phtalazinyl, benzotriazinyl, purinyl, benzimidazolyl, benzopyrazolyl, benzotriazolyl, benzisoxazolyl, isobenzofuryl, isoindolyl, indoliziny, benzotriazinyl, thienopyridinyl, thienopyrimidinyl, pyrazolopyrimidinyl, imidazopyridin, benzothiazolyl, benzofuranyl, benzothienyl, indolyl, quinolyl, isoquinolyl, isothiazolyl, pyrazolyl, indazolyl, pteridinyl, imidazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, thiadiazolyl, pyrrolyl, thiazolyl, furyl, thienyl và các nhóm tương tự. Các phần tử thế cho vòng heteroaryl có thể được chọn từ nhóm bao gồm các phần tử thế thích hợp được mô tả dưới đây.

Các thuật ngữ nêu trên (ví dụ “alkyl”, “aryl” và “heteroaryl”), theo một số phương án, sẽ tùy ý được thế. Các phần tử thế được chọn cho mỗi loại gốc được thể hiện dưới đây.

Các phần tử thế tùy ý cho các gốc alkyl (bao gồm các nhóm thường được gọi là alkylen, alkenyl, alkynyl và xycloalkyl) có thể là một loạt các nhóm được chọn từ: halogen, -OR', -NR'R'', -SR', -SiR'R''R''', -OC(O)R', -C(O)R', -CO₂R', -CONR'R'', -OC(O)NR'R'', -NR''C(O)R', -NR'-C(O)NR''R''', -NR''C(O)₂R', -NH-C(NH₂)=NH, -NR'C(NH₂)=NH, -NH-C(NH₂)=NR', -S(O)R', -S(O)₂R', -S(O)₂NR'R'', -NR'S(O)₂R'', -CN và -NO₂ với số lượng nằm trong khoảng từ 0 đến (2m'+1), trong đó m' là tổng số nguyên tử cacbon trên gốc này. R', R'' và R''' độc lập với nhau là hydro, C₁₋₈ alkyl không được thế, aryl không được thế, aryl được thế bằng 1-3 halogen, C₁₋₈ alkyl không được thế, C₁₋₈ alkoxy hoặc C₁₋₈ thioalkoxy, hoặc aryl-C₁₋₄ alkyl không được thế. Khi R' và R'' được gắn với cùng nguyên tử nitơ, chúng có thể được kết hợp với nguyên tử nitơ

để tạo thành vòng 3, 4, 5, 6, hoặc 7 cạnh. Ví dụ, $-NR'R''$ được dùng trong bản mô tả để chỉ 1-pyrrolidinyl và 4-morpholinyl.

Tương tự, các phần tử thế tùy ý cho nhóm aryl và heteroaryl được chọn từ: - halogen, $-OR'$, $-OC(O)R'$, $-NR'R''$, $-SR'$, $-R'$, $-CN$, $-NO_2$, $-CO_2R'$, $-CONR'R''$, $-C(O)R'$, $-OC(O)NR'R''$, $-NR''C(O)R'$, $-NR''C(O)_2R'$, $-NR'-C(O)NR''R'''$, $-NH-C(NH_2)=NH$, $-NR'C(NH_2)=NH$, $-NH-C(NH_2)=NR'$, $-S(O)R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)_2NR'R''$, $-NR'S(O)_2R''$, $-N_3$, perflo(C_1-C_4)alkoxy, và perflo(C_1-C_4)alkyl, với số lượng nằm trong khoảng từ 0 đến tổng số hóa trị trống trên hệ vòng thơm này; và R' , R'' và R''' độc lập là được chọn từ hydro, C_{1-8} alkyl, C_{1-8} haloalkyl, C_{3-6} xycloalkyl, C_{2-8} alkenyl và C_{2-8} alkynyl. Các phần tử thế thích hợp khác bao gồm mỗi phần tử thế aryl nêu trên được gắn với nguyên tử trên vòng bằng liên kết alkylen có 1-4 nguyên tử cacbon.

Hai phần tử thế ở hai nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức $-T-C(O)-(CH_2)_q-U-$, trong đó T và U độc lập là $-NH-$, $-O-$, $-CH_2-$ hoặc liên kết đơn, và q là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 2. Theo cách khác, hai phần tử thế ở hai nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức $-A-(CH_2)_r-B-$, trong đó A và B độc lập là $-CH_2-$, $-O-$, $-NH-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2NR'-$ hoặc liên kết đơn, và r là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3. Một trong số các liên kết đơn của vòng mới thu được có thể tùy ý được thay bằng liên kết đôi. Theo cách khác, hai phần tử thế ở hai nguyên tử liền kề của vòng aryl hoặc heteroaryl có thể tùy ý được thay bằng phần tử thế có công thức $-(CH_2)_s-X-(CH_2)_t-$, trong đó s và t độc lập là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3, và X là $-O-$, $-NR'-$, $-S-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, hoặc $-S(O)_2NR'-$. Phần tử thế R' trong $-NR'-$ và $-S(O)_2NR'-$ được chọn từ hydro hoặc C_{1-6} alkyl không được thế.

Thuật ngữ “dị nguyên tử” được dùng trong bản mô tả để chỉ oxy (O), nitơ (N), lưu huỳnh (S) và silic (Si).

Thuật ngữ “muối được dụng” được dùng trong bản mô tả để chỉ muối của hoạt chất được điều chế từ axit hoặc bazơ tương đối không độc, phụ thuộc vào phần tử thế cụ thể, có trong hợp chất theo sáng chế. Khi hợp chất theo sáng chế có tính axit, muối cộng hợp bazơ có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất này ở dạng trung tính tiếp xúc với lượng vừa đủ của bazơ mong muốn, tinh khiết hoặc trong dung môi trơ thích hợp. Ví dụ

về muối thu được từ bazơ vô cơ được dụng bao gồm nhôm, amoni, canxi, đồng, sắt (III), sắt (II), lithi, magie, mangan (III), mangan (II), kali, natri, kẽm và kim loại tương tự. Muối thu được từ bazơ hữu cơ được dụng bao gồm muối của amin bậc một, bậc hai và bậc ba, bao gồm amin được thế, amin mạch vòng, amin có trong tự nhiên và amin tương tự, như arginin, betain, cafein, cholin, N,N'-đibenzyletylendiamin, dietylamin, 2-dietylaminioetanol, 2-dimetylaminioetanol, etanolamin, etylendiamin, N-etylmorpholin, N-etylpiperidin, glucamin, glucosamin, histidin, hydrabamin, isopropylamin, lysin, methylglucamin, morpholin, piperazin, piperidin, nhựa polyamin, procain, purin, theobromin, trietylamin, trimetylamin, tripropylamin, trometamin và amin tương tự. Khi hợp chất theo sáng chế có tính bazơ, muối cộng hợp axit có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất này ở dạng trung tính tiếp xúc với lượng vừa đủ của axit mong muốn, tinh khiết hoặc trong dung môi thích hợp. Ví dụ về muối cộng hợp axit được dụng bao gồm muối thu được từ axit vô cơ, như axit hydrochloric, axit hydrobromic, axit nitric, axit carbonic, axit monohydrocarbonic, axit phosphoric, axit monohydrophosphoric, axit dihydrophosphoric, axit sulfuric, axit monohydrosulfuric, axit hydriodic, hoặc axit phosphor và axit tương tự, cũng như muối thu được từ axit hữu cơ tương đối không độc, như axit axetic, axit propionic, axit isobutyric, axit malonic, axit benzoic, axit succinic, axit suberic, axit fumaric, axit mandelic, axit phtalic, axit benzensulfonic, axit p-tolylsulfonic, axit xitric, axit tartaric, axit metansulfonic, và axit tương tự. Muối được dụng cũng bao gồm muối của axit amin, như arginat và muối tương tự, và muối của axit hữu cơ, như axit glucuronic hoặc galactunoric và axit tương tự (ví dụ, xem Berge, S.M, et al, "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci*, 66:1-19 (1977)). Một số hợp chất theo sáng chế có cả tính axit lẫn tính bazơ cho phép hợp chất này có thể được biến đổi thành muối cộng hợp bazơ hoặc muối cộng hợp axit.

Dạng trung tính của hợp chất có thể được tái tạo bằng cách cho muối tiếp xúc với với bazơ hoặc axit và phân lập hợp chất gốc theo phương pháp thông thường. Dạng gốc của hợp chất khác biệt so với nhiều dạng muối ở một số đặc tính vật lý, như độ hòa tan trong dung môi phân cực, hoặc nếu không muối tương đương với dạng gốc của hợp chất cho mục đích theo sáng chế.

Ngoài dạng muối, sáng chế đề cập đến hợp chất ở dạng tiền dược chất. Tiền dược chất của hợp chất theo sáng chế là hợp chất dễ dàng trải qua các biến đổi hóa học trong

các điều kiện sinh lý để tạo ra hợp chất theo sáng chế. Ngoài ra, tiền dược chất có thể được biến đổi thành các hợp chất theo sáng chế bằng các phương pháp hóa học hoặc sinh hóa trong môi trường *ex vivo*. Ví dụ, tiền dược chất có thể được chuyển hóa từ từ thành hợp chất theo sáng chế khi được đặt trong hệ điều trị qua da chứa enzym thích hợp hoặc chất phản ứng hóa học.

Một số hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng phi solvat cũng như dạng solvat, bao gồm dạng hydrat. Nhìn chung, dạng solvat tương đương với dạng phi solvat và nằm trong phạm vi của sáng chế sáng chế. Một số hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở nhiều dạng tinh thể hoặc vô định hình. Nhìn chung, toàn bộ các dạng vật lý tương đương với mục đích sử dụng của sáng chế và nằm trong phạm vi của sáng chế.

Một số hợp chất theo sáng chế có nguyên tử cacbon bất đối (tâm hoạt quang) hoặc liên kết đôi; raxemat, chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân hình học, chất đồng phân vị trí và chất đồng phân đơn (ví dụ chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ) và nằm trong phạm vi của sáng chế. Khi hóa lập thể được thể hiện, có nghĩa là hợp chất ở đó một trong số các chất đồng phân xuất hiện và không chứa chất đồng phân khác. Thuật ngữ “không chứa chất đồng phân khác” có nghĩa là tỷ lệ giữa hai chất đồng phân ít nhất bằng 80/20, tốt hơn nữa nếu bằng 90/10, hoặc 95/5 hoặc cao hơn. Theo một số phương án, một trong số các chất đồng phân sẽ có mặt ở lượng ít nhất bằng 99%.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể chứa các đồng vị không tự nhiên ở một hoặc nhiều nguyên tử tạo ra hợp chất này. Tỷ lệ phần trăm của đồng vị không tự nhiên có thể được xác định là nằm trong khoảng từ lượng có trong tự nhiên đến lượng bằng 100% nguyên tử trong công thức phân tử xác định. Ví dụ, hợp chất có thể chứa các đồng vị phóng xạ, như triti (^3H), iot-125 (^{125}I) hoặc cacbon-14 (^{14}C), hoặc đồng vị không phóng xạ, như đoteri (^2H) hoặc cacbon-13 (^{13}C). Các biến thể đồng vị này cũng có các tác dụng có lợi được mô tả trong bản mô tả này. Ví dụ, các biến thể đồng vị của các hợp chất theo sáng chế có thể hữu ích làm dược chất chuẩn đoác và/hoặc dược chất chuẩn đoán hình ảnh, hoặc dược chất gây độc tế bào/xạ trị. Ngoài ra, các biến thể đồng vị của các hợp chất theo sáng chế có thể có đặc tính dược động học và dược lực học thay đổi có thể làm tăng độ an toàn, khả năng dung nạp hoặc hiệu lực điều trị. Toàn bộ các biến thể đồng vị của các hợp chất theo sáng chế, có hoạt tính phóng xạ hoặc không, nằm trong phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ “đối tượng bị bệnh” hoặc “đối tượng” được sử dụng trong bản mô tả để chỉ người hoặc động vật không phải là người (ví dụ động vật có vú).

Thuật ngữ “sử dụng”, “việc sử dụng” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ sự tiếp xúc của chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, được phẩm chứa hợp chất này, hoặc được chất chuẩn đoán với đối tượng, tế bào, mô, cơ quan, hoặc dịch sinh học. Trong phạm vi tế bào, việc sử dụng bao gồm sự tiếp xúc (ví dụ *in vitro* hoặc *ex vivo*) của chất phản ứng với tế bào, cũng như sự tiếp xúc của chất phản ứng với dịch sinh học, trong đó dịch sinh học này tiếp xúc với tế bào.

Thuật ngữ “điều trị”, “việc điều trị”, “phương pháp điều trị” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ biện pháp (như sử dụng chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza hoặc được phẩm chứa hợp chất này) được bắt đầu sau khi bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý, hoặc triệu chứng của chúng, đã được chuẩn đoán, quan sát được, và các biện pháp tương tự để loại bỏ, giảm thiểu, triệt tiêu, giảm nhẹ hoặc cải thiện, tạm thời hoặc vĩnh viễn, ít nhất một trong các nguyên nhân gây bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý gây khó chịu cho đối tượng, hoặc ít nhất một trong số các triệu chứng liên quan đến bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý gây khó chịu cho đối tượng. Do đó, việc điều trị bao gồm sự ức chế bệnh (ví dụ làm ngừng phát triển hoặc tiếp tục phát triển bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý hoặc triệu chứng lâm sàng liên quan).

Thuật ngữ “cần điều trị” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương án chẩn đoán được thực hiện bởi bác sĩ hoặc nhân viên y tế mà đối tượng cần có hoặc sẽ có lợi ích từ việc điều trị. Phương án chẩn đoán này được thực hiện dựa trên nhiều yếu tố thuộc về lĩnh vực chuyên môn của bác sĩ hoặc nhân viên y tế.

Thuật ngữ “phòng ngừa”, “việc phòng ngừa”, “sự phòng ngừa” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ biện pháp (như sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza hoặc được phẩm chứa hợp chất này) được bắt đầu theo cách thức (ví dụ trước khi khởi phát bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý hoặc triệu chứng của chúng) để ngăn ngừa, ngăn chặn, ức chế hoặc giảm thiểu, tạm thời hoặc vĩnh viễn, nguy cơ đối tượng phát triển bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý hoặc tương tự (như được xác định bởi sự vắng mặt của các triệu chứng lâm sàng) hoặc làm chậm khởi phát chúng, trong phạm vi đối tượng có nguy cơ mắc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý cụ thể. Trong một số trường hợp, thuật ngữ này cũng được dùng trong bản mô tả để chỉ biện

pháp làm chậm tiến triển bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý hoặc ức chế tiến triển bệnh đến trạng thái có hại hoặc trạng thái không mong muốn khác.

Thuật ngữ “cần phòng ngừa” được dùng trong bản mô tả để chỉ phương án chẩn đoán được thực hiện bởi bác sĩ hoặc nhân viên y tế mà đối tượng cần có hoặc sẽ có lợi ích từ việc phòng ngừa. Phương án chẩn đoán này được thực hiện dựa trên nhiều yếu tố thuộc về lĩnh vực chuyên môn của bác sĩ hoặc nhân viên y tế.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu” được dùng trong bản mô tả để chỉ việc sử dụng được chất cho đối tượng, riêng hoặc dưới dạng được phẩm và ở dạng đơn liều hoặc đa liều, ở lượng có thể tạo ra tác dụng dương tính có thể phát hiện bất kỳ đến triệu chứng, dấu hiệu, hoặc tính chất bất kỳ của bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý khi được sử dụng cho đối tượng. Lượng hữu hiệu có thể được xác định chính xác bằng cách đánh giá các tác dụng sinh lý liên quan, và có thể được điều chỉnh kết hợp với chế độ liều và chẩn đoán phân tích tình trạng đối tượng bị bệnh, và các yếu tố tương tự. Ví dụ, đo nồng độ trong huyết thanh của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza (hoặc chất chuyển hóa của nó) ở thời điểm cụ thể sau khi sử dụng có thể đánh giá xem lượng hữu hiệu đã được sử dụng hay chưa.

Thuật ngữ “ở lượng đủ để tạo ra thay đổi” có nghĩa là có sự khác biệt có thể phát hiện giữa mức độ của tiêu chuẩn đánh giá đo được trước (ví dụ mức độ đường nền) và sau khi sử dụng liệu pháp cụ thể. Tiêu chuẩn đánh giá gồm thông số khách quan bất kỳ (ví dụ nồng độ trong huyết thanh) hoặc thông số chủ quan (ví dụ cảm nhận của đối tượng).

Thuật ngữ “phân tử nhỏ” được dùng trong bản mô tả để chỉ hợp chất có khối lượng phân tử nhỏ hơn khoảng 10kDa, nhỏ hơn khoảng 2kDa, hoặc nhỏ hơn khoảng 1kDa. Phân tử nhỏ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở phân tử vô cơ, phân tử hữu cơ, phân tử hữu cơ chứa thành phần vô cơ, phân tử chứa nguyên tử có hoạt tính phóng xạ, và phân tử tổng hợp. Về mặt điều trị, phân tử nhỏ có thể dễ thấm vào tế bào, ít bị phân hủy, và ít gây đáp ứng miễn dịch hơn phân tử lớn.

Thuật ngữ “hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza”, “hợp chất phong bế indolamin 2,3-dioxygenaza” và thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ được chất có khả năng ức chế hoạt tính của indolamin 2,3-dioxygenaza, nhờ đó ngăn ngừa tình trạng ức chế miễn dịch qua trung gian indolamin 2,3-dioxygenaza. Hợp chất ức

chế indolamin 2,3-dioxygenaza có thể là hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza cạnh tranh, không cạnh tranh, hoặc không thuận nghịch. “Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza cạnh tranh” là hợp chất ức chế thuận nghịch hoạt tính enzym indolamin 2,3-dioxygenaza ở vị trí xúc tác; “hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza không cạnh tranh” là hợp chất ức chế thuận nghịch hoạt tính enzym indolamin 2,3-dioxygenaza ở vị trí không xúc tác; và “hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza không thuận nghịch” là hợp chất loại bỏ không thuận nghịch hoạt tính enzym indolamin 2,3-dioxygenaza bằng cách tạo ra liên kết cộng hóa trị (hoặc ức chế ổn định hoạt tính enzym) với enzym. Một số hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có bán trên thị trường (ví dụ 5-Br-4-Cl-indoxyl 1,3-diacetat và 1-metyl-DL-tryptophan (1 MT); đều do Sigma -Aldrich, St. Louis, MO sản xuất) và có thể được sử dụng làm “hợp chất trung gian” hoặc “chất đối chiếu”.

Thuật ngữ “phối tử” được dùng trong bản mô tả để chỉ peptit, polypeptit, phân tử gắn kết với màng hoặc liên kết với màng, hoặc phức hợp của chúng, đóng vai trò là chất chủ vận hoặc chất đối kháng thụ thể. Phối tử bao gồm phối tử tự nhiên và phối tử tổng hợp, ví dụ xytokin, biến thể xytokin, chất tương tự xytokin, protein cải biến, và chế phẩm gắn kết có nguồn gốc từ kháng thể, cũng như phân tử nhỏ. Thuật ngữ này cũng bao gồm được chất không phải là chất chủ vận hoặc chất đối kháng, nhưng có thể gắn kết với thụ thể nhưng không ảnh hưởng đáng kể đến đặc tính sinh học của nó, ví dụ truyền tín hiệu hoặc bám dính. Hơn nữa, thuật ngữ này bao gồm phối tử gắn kết với màng được biến đổi bằng phương pháp hóa học hoặc phương pháp tái tổ hợp, thành biến thể hòa tan của phối tử gắn kết với màng. Phối tử hoặc thụ thể có thể nằm trong nội bào, tức là có thể nằm trong bào tương, nhân, hoặc một số khoang nội bào khác. Phức hợp của phối tử và thụ thể được gọi là “phức hợp phối tử-thụ thể”.

Thuật ngữ “hợp chất ức chế” và “chất đối kháng”, hoặc “chất hoạt hóa” và “chất chủ vận” được dùng trong bản mô tả để chỉ phân tử ức chế hoặc hoạt hóa tương ứng, ví dụ để hoạt hóa phối tử, thụ thể, đồng yếu tố, gen, tế bào, mô, hoặc cơ quan. Hợp chất ức chế là phân tử làm giảm, phong bế, ngăn ngừa, làm chậm hoạt hóa, bất hoạt, gây tê liệt, hoặc điều hòa giảm biểu hiện, ví dụ gen, protein, phối tử, thụ thể, hoặc tế bào. Chất hoạt hóa là phân tử làm tăng, hoạt hóa, thúc đẩy, tăng cường hoạt hóa, tăng nhạy cảm, hoặc điều hòa tăng biểu hiện, ví dụ gen, protein, phối tử, thụ thể, hoặc tế bào. Hợp chất ức chế

cũng có thể là phân tử làm giảm, phong bế, hoặc bất hoạt hoạt tính cấu thành. “Chất chủ vận” là phân tử tương tác với đích để làm tăng hoạt hóa đích. “Chất đối kháng” là phân tử có tác dụng ngược với tác dụng của chất chủ vận. Chất đối kháng ngăn ngừa, làm giảm, ức chế, hoặc trung hòa hoạt tính của chất chủ vận, và chất đối kháng cũng có thể ngăn ngừa, ức chế, hoặc làm giảm hoạt tính cấu thành của đích, ví dụ thụ thể đích, ngay cả khi không có chất chủ vận được xác định.

Thuật ngữ “điều hòa”, “sự điều hòa” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ khả năng của phân tử (ví dụ chất hoạt hóa hoặc hợp chất ức chế) để làm tăng hoặc giảm chức năng hoặc hoạt tính của indolamin 2,3-dioxygenaza, trực tiếp hoặc gián tiếp. Chất điều hòa có thể tác dụng riêng, hoặc sử dụng đồng yếu tố, ví dụ protein, ion kim loại, hoặc phân tử nhỏ. Ví dụ về chất điều hòa bao gồm hợp chất phân tử nhỏ và các phân tử hữu cơ sinh học khác. Một số thư viện hợp chất phân tử nhỏ (ví dụ thư viện tổ hợp) có bán trên thị trường và có thể đóng vai trò là điểm khởi đầu để xác định chất điều hòa. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể phát triển một hoặc nhiều thử nghiệm (ví dụ thử nghiệm sinh hóa hoặc thử nghiệm tế bào) trong đó thư viện hợp chất này có thể được sàng lọc để xác định một hoặc nhiều hợp chất có đặc tính mong muốn; sau đó người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể tối ưu hóa một hoặc nhiều hợp chất này bằng cách tổng hợp và đánh giá chất tương tự và dẫn xuất của nó. Các nghiên cứu mô hình tổng hợp và/hoặc phân tử cũng có thể được sử dụng để xác định chất hoạt hóa.

Thuật ngữ “hoạt tính của phân tử” được dùng trong bản mô tả để chỉ sự gắn kết của phân tử với phối tử hoặc thụ thể; hoạt tính xúc tác; hoạt tính kích thích biểu hiện gen hoặc truyền tín hiệu tế bào, biệt hóa, hoặc trưởng thành; hoạt tính kháng nguyên; hoạt tính điều hòa của các phân tử khác; và các hoạt tính tương tự. Thuật ngữ “hoạt tính tăng sinh” bao gồm hoạt tính tăng cường, cần thiết cho hoặc liên quan đặc hiệu với phân chia tế bào bình thường, cũng như bệnh ung thư, khối u, chứng loạn sản, chuyển gen tế bào, di căn, và tạo mạch.

Thuật ngữ “tương đương”, “hoạt tính tương đương”, “hoạt tính tương đương với”, “tác dụng tương đương”, “tác dụng tương đương với” và các thuật ngữ tương tự là các thuật ngữ có thể định lượng và/hoặc định tính. Nội dung của các thuật ngữ này thường phụ thuộc vào phạm vi chúng được sử dụng. Ví dụ, hai được chất đều hoạt hóa thụ thể có

thể được xem là có tác dụng tương đương theo quan điểm định tính, nhưng hai hoạt chất này có thể được xem là không có tác dụng tương đương theo quan điểm định lượng khi một dược chất chỉ có hoạt tính bằng 20% hoạt tính của dược chất còn lại như được xác định trong thử nghiệm đã được chấp nhận (ví dụ thử nghiệm đáp ứng liều) hoặc mô hình động vật đã được chấp nhận. Khi so sánh một kết quả với một kết quả khác (ví dụ một kết quả với chuẩn đối chiếu), thuật ngữ “tương đương” thường có nghĩa là một kết quả khác biệt so với chuẩn đối chiếu nhỏ hơn 35%, nhỏ hơn 30%, nhỏ hơn 25%, nhỏ hơn 20%, nhỏ hơn 15%, nhỏ hơn 10%, nhỏ hơn 7%, nhỏ hơn 5%, nhỏ hơn 4%, nhỏ hơn 3%, nhỏ hơn 2%, hoặc nhỏ hơn 1%. Theo phương án cụ thể, một kết quả là tương đương to chuẩn đối chiếu khi kết quả này khác biệt nhỏ hơn 15%, nhỏ hơn 10%, hoặc nhỏ hơn 5% so với chuẩn đối chiếu. Ví dụ, nhưng không chỉ giới hạn, thuật ngữ “hoạt tính” hoặc “tác dụng” có thể được dùng trong bản mô tả để chỉ hiệu lực, độ ổn định, độ hòa tan, hoặc khả năng sinh miễn dịch.

Thuật ngữ “gần như tinh khiết” được dùng trong bản mô tả để chỉ thành phần chiếm lớn hơn khoảng 50% tổng thành phần của chế phẩm, và thường lớn hơn khoảng 60% tổng thành phần polypeptit. Cụ thể hơn, thuật ngữ “gần như tinh khiết” được dùng trong bản mô tả để chỉ chế phẩm trong đó ít nhất 75%, ít nhất 85%, ít nhất 90% hoặc cao hơn là thành phần quan tâm so với tổng chế phẩm. Trong một số trường hợp, polypeptit sẽ chiếm lớn hơn khoảng 90%, hoặc lớn hơn khoảng 95% tổng thành phần của chế phẩm.

Thuật ngữ “gắn kết đặc hiệu” hoặc “gắn kết chọn lọc” liên quan đến phối tử/thụ thể, kháng thể/kháng nguyên, hoặc cặp gắn kết khác được dùng trong bản mô tả để chỉ phản ứng gắn kết quyết định sự có mặt của protein trong hỗn hợp không đồng nhất của các protein và các chất sinh học khác. Do đó, trong các điều kiện cụ thể, phối tử đặc hiệu gắn kết với thụ thể cụ thể và gần như không gắn kết với các protein còn lại có trong mẫu. Kháng thể, hoặc chế phẩm gắn kết có nguồn gốc từ vị trí gắn kết kháng nguyên của kháng thể, phương pháp được thiết kế gắn kết với kháng nguyên của nó, hoặc biến thể hoặc protein cải biến của nó, với ái lực ít nhất lớn hơn 2 lần, ít nhất lớn hơn 10 lần, ít nhất lớn hơn 20 lần, hoặc ít nhất lớn hơn 100 lần hạt tính với kháng thể khác bất kỳ, hoặc chế phẩm gắn kết thu được từ đó. Theo phương án cụ thể, kháng thể sẽ có ái lực lớn hơn khoảng 10^9 L/mol, như được xác định bằng phân tích Scatchard (Munsen, et al, 1980 *Analyt. Biochem.* 107:220-239).

Thuật ngữ “đáp ứng của tế bào, mô, cơ quan, hoặc sinh vật” bao gồm thay đổi về đặc tính sinh hóa hoặc sinh lý, ví dụ nồng độ, mật độ, độ bám dính hoặc di chuyển trong khoang sinh học, tốc độ biểu hiện gen, hoặc trạng thái biệt hóa, trong đó thay đổi này tương quan với hoạt hóa, kích thích, hoặc điều trị, hoặc cơ chế bên trong, như lập trình di truyền. Theo một số phương án, thuật ngữ “hoạt hóa”, “kích thích” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ hoạt hóa tế bào như được điều hòa bằng các cơ chế bên trong, cũng như yếu tố bên ngoài hoặc yếu tố môi trường; trong khi đó thuật ngữ “ức chế”, “điều hòa giảm biểu hiện” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ tác dụng ngược lại.

Thuật ngữ “polypeptit”, “peptit”, và “protein” được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng polyme của axit amin có chiều dài bất kỳ, có thể bao gồm axit amin được mã hóa di truyền và axit amin không được mã hóa di truyền, axit amin được tạo dẫn xuất hoặc cải biến hóa học hoặc sinh hóa, và polypeptit có khung polypeptit được cải biến. Thuật ngữ này bao gồm protein dung hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở protein dung hợp chứa trình tự axit amin không tương đồng, protein dung hợp chứa trình tự chỉ huy tương đồng và không tương đồng, chứa hoặc không chứa gốc methionin ở đầu tận cùng N; protein được đánh dấu miễn dịch; và các chất tương tự.

Thuật ngữ “biến thể” và “thể tương đồng” được dùng trong bản mô tả để chỉ trình tự axit amin hoặc trình tự ADN tương ứng tương đồng với trình tự axit amin hoặc trình tự axit nucleic đối chiếu. Thuật ngữ này bao gồm biến thể có trong tự nhiên và biến thể không có trong tự nhiên. Biến thể có trong tự nhiên bao gồm thể tương đồng (polypeptit và axit nucleic tương ứng khác biệt về trình tự axit amin hoặc trình tự nucleotit so với một loài khác), và biến thể alen (polypeptit và axit nucleic tương ứng khác biệt về trình tự axit amin hoặc trình tự nucleotit so với một cá thể khác trong cùng một loài). Do đó, biến thể và thể tương đồng bao gồm trình tự ADN có trong tự nhiên và protein mã hóa bởi ADN này và dạng đồng phân của chúng, cũng như biến thể ghép nối của protein hoặc gen. Thuật ngữ này cũng bao gồm trình tự axit nucleic khác biệt về một hoặc nhiều bazơ so với trình tự ADN không có trong tự nhiên nhưng vẫn dịch mã thành trình tự axit amin tương ứng với protein không có trong tự nhiên do sự thoái hóa của mã di truyền. Biến thể không có trong tự nhiên và thể tương đồng bao gồm polypeptit và axit nucleic tương ứng chứa thay đổi về trình tự axit amin hoặc trình tự nucleotit, trong đó thay đổi về trình tự

thường được thiết kế nhân tạo (ví dụ protein cải biến); ví dụ thay đổi được tạo ra trong phòng thí nghiệm bởi người. Do đó, biến thể không có trong tự nhiên và thể tương đồng cũng có thể được dùng trong bản mô tả để chỉ biến thể khác biệt so với trình tự có trong tự nhiên bởi một hoặc nhiều gốc thay thế bảo thủ và/hoặc trình tự đánh dấu và/hoặc thể tiếp hợp.

Thuật ngữ “protein cải biến” được dùng trong bản mô tả để chỉ protein đột biến tái tổ hợp. Các protein này thường mang một hoặc nhiều gốc thay thế axit amin và có nguồn gốc từ gen tách dòng đã được đột biến điểm có định hướng hoặc đột biến ngẫu nhiên, hoặc gen được điều chế hoàn toàn.

Thuật ngữ “ADN”, “axit nucleic”, “phân tử axit nucleic”, “polynucleotit” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng polyme của nucleotit có chiều dài bất kỳ, deoxyribonucleotit hoặc ribonucleotit, hoặc chất tương tự của chúng. Ví dụ không giới hạn về polynucleotit bao gồm axit nucleic mạch thẳng và mạch vòng, ARN thông tin, ADN bổ sung, polynucleotit tái tổ hợp, vector, mẫu do, đoạn môi và các cá chất tương tự.

Indolamin 2,3-dioxygenaza

Như nêu trên, indolamin 2,3-dioxygenaza là enzym điều hòa miễn dịch thường được biểu hiện trong tế bào khối u và tế bào miễn dịch hoạt hóa. Indolamin 2,3-dioxygenaza là một trong số các hợp chất kiểm soát đáp ứng miễn dịch tham gia vào việc di chuyển miễn dịch khối u; do đó hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza phá vỡ cơ chế khối u lẩn tránh hệ miễn dịch bình thường của cơ thể.

Indolamin 2,3-dioxygenaza điều hòa giảm đáp ứng miễn dịch qua trung gian oxy hóa tryptophan. Điều này dẫn đến ức chế hoạt hóa tế bào T và cảm ứng gây chết tế bào T theo chương trình, tạo ra môi trường trong đó các lympho bào T gây độc tế bào đặc hiệu khối u bị bất hoạt chức năng hoặc không thể tấn công tế bào ung thư của đối tượng. Do đó, cần có được chất ngăn ngừa phân giải tryptophan bằng cách ức chế hoạt tính indolamin 2,3-dioxygenaza. Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có thể được sử dụng để hoạt hóa tế bào T, do đó tăng cường hoạt hóa tế bào T khi tế bào T bị ức chế bởi tình trạng mang thai, tình trạng bệnh ác tính hoặc virus, như HIV. Liệu pháp ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza cũng có thể là chiến lược điều trị quan trọng cho đối tượng bị bệnh hoặc rối loạn tâm thần hoặc thần kinh, như bệnh trầm cảm. Hợp chất, chế phẩm và

phương pháp theo sáng chế đáp ứng nhu cầu về chất điều hòa indolamin 2,3-dioxygenaza.

Quá trình biểu hiện indolamin 2,3-dioxygenaza được điều hòa bởi một loạt các tín hiệu, do đó tạo ra một số cơ chế tác dụng khác nhau. Ví dụ, indolamin 2,3-dioxygenaza có thể được cảm ứng bởi ức chế ADN metyl transferaza hoặc histon deacetylaza. Quá trình truyền tín hiệu NF- κ B cũng liên quan đến chức năng indolamin 2,3-dioxygenaza. Việc ức chế hoạt tính NF- κ B phong bế biểu hiện indolamin 2,3-dioxygenaza và tạo ra đáp ứng kháng khối u mạnh phụ thuộc vào cả tế bào T lẫn indolamin 2,3-dioxygenaza ; theo cách khác, sự hoạt hóa NF- κ B (có thể bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác nhau, như quá trình truyền tín hiệu interferon- γ R1/- γ R2 và hoạt hóa thụ thể tương tự toll) cảm ứng biểu hiện gen indolamin 2,3-dioxygenaza .

Các cơ chế khác tham gia vào quá trình điều hòa chức năng indolamin 2,3-dioxygenaza. Ví dụ, hợp chất ức chế các tác nhân oxy hóa phản ứng (reactive oxidative species - ROS) có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của indolamin 2,3-dioxygenaza; hàm lượng indolamin 2,3-dioxygenaza có thể là được điều hòa bằng cách ức chế hoặc hoạt hóa các quá trình đều làm giảm và làm tăng indolamin 2,3-dioxygenaza; và sự hoạt hóa interferon- γ có thể hoạt hóa cảm ứng tự phân hủy indolamin 2,3-dioxygenaza.

Các nghiên cứu cho thấy rằng quá trình indolamin 2,3-dioxygenaza được hoạt hóa ở nhiều bệnh ung thư, cả trong tế bào khối u do tấn công trực tiếp tế bào T, và tế bào nhận diện kháng nguyên trong hạch bạch huyết thoát ra từ khối u dẫn đến tính kháng ngoại vi với kháng nguyên liên quan đến khối u. Bệnh ung thư có thể sử dụng quá trình indolamin 2,3-dioxygenaza để tạo kiện cho sự sống sót, sinh trưởng, lẫn tránh, và di căn tế bào ác tính biểu hiện kháng nguyên liên quan đến khối u lẽ ra phải được nhận diện và tấn công bởi hệ miễn dịch.

Như được thể hiện trong sáng chế, quá trình dị hóa tryptophan ở mô khối u bằng cách hạn chế tốc độ enzym indolamin 2,3-dioxygenaza tạo ra cơ hội sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza làm liệu pháp thay thế hoặc bổ trợ cho liệu pháp hóa trị liệu thông thường. Tuy nhiên, một số bệnh ung thư có khả năng dị hóa tryptophan nhưng hầu như không biểu hiện indolamin 2,3-dioxygenaza. Các nghiên cứu gần đây cho thấy rằng quá trình enzym thay thế của quá trình dị hóa tryptophan bao gồm tryptophan-2,3-dioxygenaza cũng liên quan đến bệnh ung thư. Tryptophan-2,3-dioxygenaza, có khả năng

điều hòa hàm lượng tryptophan toàn thân ở gan, được biểu hiện mạnh ở một số bệnh ung thư và cũng có khả năng ức chế đáp ứng miễn dịch kháng khối u (ví dụ, xem Platten, M. et al, *Cancer Res*, 72(21):5435-5440 (Nov. 1, 2012)).

Indolamin 2,3-dioxygenaza được biểu hiện ở nhiều khối u và dòng tế bào khối u của người cũng như ở tế bào nhận diện kháng nguyên của vật chủ, tương quan với chuẩn đoán sai trên lâm sàng. Do đó, liệu pháp ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có thể kéo dài tuổi thọ cho đối tượng bị bệnh ung thư với tình trạng ức chế miễn dịch qua trung gian indolamin 2,3-dioxygenaza. Về mặt so sánh, tryptophan-2,3-dioxygenaza được biểu hiện ở nhiều khối u và dòng tế bào khối u của người, và quá trình biểu hiện tryptophan-2,3-dioxygenaza là rõ ràng trong u nguyên bào thần kinh đệm ở người tiến triển. Việc xác định khối u biểu hiện mạnh indolamin 2,3-dioxygenaza hoặc tryptophan-2,3-dioxygenaza có thể cho phép ức chế chọn lọc hơn các quá trình ức chế miễn dịch điều hòa bởi tryptophan. Theo cách khác, hợp chất ức chế cả tryptophan-2,3-dioxygenaza lẫn indolamin 2,3-dioxygenaza có thể tạo ra phương pháp hiệu quả nhất để ngăn ngừa khối u thoát ra bằng cách biểu hiện bổ trợ enzym phân giải tryptophan khác. Do đó, việc sử dụng hợp chất ức chế đặc hiệu kép indolamin 2,3-dioxygenaza/tryptophan-2,3-dioxygenaza hoặc chế phẩm kết hợp chứa các hợp chất ức chế đặc hiệu indolamin 2,3-dioxygenaza và tryptophan-2,3-dioxygenaza có thể tạo ra liệu pháp thay thế liệu pháp miễn dịch ung thư để phòng bế tình trạng ức chế miễn dịch qua trung gian chuyển hóa tryptophan.

Mặc dù không cần hiểu chính xác cơ chế tác dụng của hợp chất theo sáng chế, nhưng hợp chất theo sáng chế (hoặc phân nhóm của nó) được tin là có hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza. Theo cách khác, hợp chất theo sáng chế (hoặc phân nhóm của nó) có thể ức chế tryptophan-2,3-dioxygenaza. Hợp chất (hoặc phân nhóm của nó) cũng có thể có hoạt tính ức chế cả tryptophan-2,3-dioxygenaza lẫn indolamin 2,3-dioxygenaza. Mặc dù các hợp chất theo sáng chế là hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, cần hiểu rằng thuật ngữ “hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza” bao gồm hợp chất ức chế tryptophan-2,3-dioxygenaza và hoặc indolamin 2,3-dioxygenaza, và/hoặc hợp chất ức chế cả tryptophan-2,3-dioxygenaza lẫn indolamin 2,3-dioxygenaza.

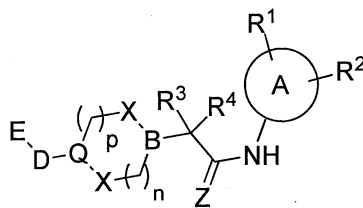
Xác định hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có đặc tính mong muốn

Sáng chế đề cập đến phương pháp xác định hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có ít nhất một đặc tính hoặc tính chất điều trị bệnh. Hợp chất ức chế thích hợp có thể được xác định bằng thử nghiệm hoặc mô hình đã được chấp nhận được mô tả theo sáng chế.

Sau khi xác định, hợp chất ức chế thích hợp có thể tiếp tục được đánh giá bằng cách sử dụng các kỹ thuật tạo ra dữ liệu liên quan đến đặc tính của hợp chất ức chế (ví dụ các thông số dược động học, phương pháp xác định độ hòa tan hoặc độ ổn định). Việc so sánh hợp chất ức chế thích hợp với chuẩn đối chiếu (có thể là “các hợp chất ức chế hiệu quả nhất hiện nay”) là phương pháp đánh giá chính xác các hợp chất này.

Hợp chất theo sáng chế

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



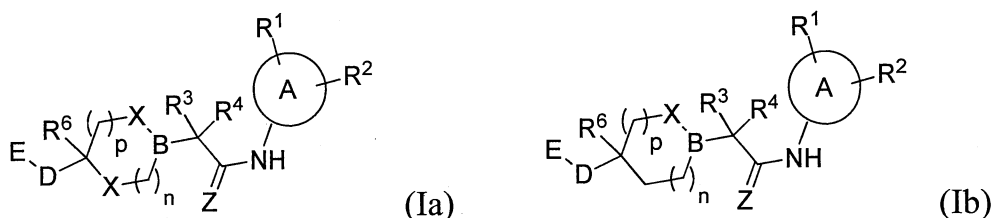
(I)

hoặc muối được dùng, hydrat hoặc solvat của nó, trong đó chỉ số dưới n bằng 1 hoặc 0; chỉ số dưới p bằng 1 hoặc 0; vòng A là phenyl, heteroaryl 5 hoặc 6 cạnh, hoặc C₅₋₇ xycloalkyl; Z là O; B là N, C(OR^{5a}), hoặc C(R^{3a}); mỗi X độc lập là NR^{5a}, O, CHR⁵, C(O), hoặc CH(OR^{5a}); Q là N, C(CN) or CR⁶; D là liên kết, O, C(R⁵)₂, hoặc NR^{5a}; E là heteroaryl liên hợp hai vòng 9 hoặc 10 cạnh tùy ý được thế; R¹ và R² độc lập là hydro, halogen, C₁-C₄ haloalkyl, C₃-C₆ xycloalkyl, xycloheteroalkyl có 3 đến 6 cạnh, phenyl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, C₁-C₄ alkyl tùy ý được thế, C₁-C₄ alkoxy, CN, SO₂NH₂, NHSO₂CH₃, NHSO₂CF₃, OCF₃, SO₂CH₃, SO₂CF₃, hoặc CONH₂, và khi R¹ và R² là các đỉnh liền kề trên vòng phenyl thì chúng có thể được liên kết với nhau để tạo thành xycloheteroaryl 5 hoặc 6 cạnh có một hoặc hai đỉnh trên vòng độc lập được chọn từ O, N và S, trong đó vòng xycloheteroalkyl này tùy ý được thế bằng một đến ba phần tử thế được chọn từ flo và C₁-C₃ alkyl; R³, R^{3a} và R⁴ độc lập là hydro, C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, C₂-C₆ alkenyl tùy ý được thế, C₂-C₆ alkynyl tùy ý được thế, C₁-C₆ haloalkyl tùy ý được thế, C₃-C₆ xycloalkyl-C₁-C₄ alkyl tùy ý được thế, aryl-C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, flo, OH, CN, CO₂H, C(O)NH₂, N(R⁵)₂, -O-C₁-C₆ alkyl tùy ý được thế, -(CR⁵R⁵)_m-

OH, $-(CR^5R^5)_m-CO_2H$, $-(CR^5R^5)_mC(O)NH_2$, $-(CR^5R^5)_m-C(O)NHR^5$, $-(CR^5R^5)_mN(R^5)_2$, $-NH(CR^5R^5)_mCO_2H$ hoặc $-NH(CR^5R^5)_m-C(O)NH_2$; mỗi R^5 độc lập là H, F, OH, hoặc C1-C6 alkyl tùy ý được thế; mỗi R^{5a} độc lập là H, hoặc C1-C6 alkyl tùy ý được thế; R^6 là H, OH, F, C1-C6 alkyl tùy ý được thế, -O-C1-C6 alkyl tùy ý được thế, hoặc $-N(R^{5a})_2$; và mỗi m độc lập là 1, 2, hoặc 3.

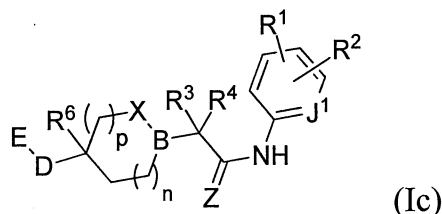
Theo một số phương án, Q là C(CN) hoặc CR^6 .

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ia) hoặc (Ib):



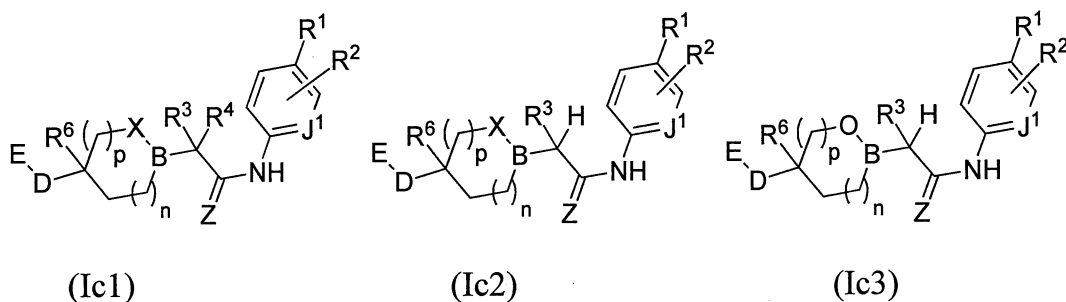
trong đó mỗi chỉ số dưới, nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái, và R^1 , R^2 , R^3 , R^4 và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

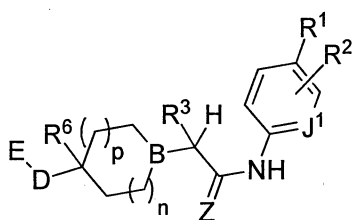
Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ic):



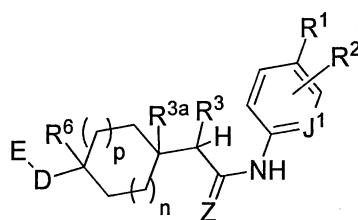
trong đó J^1 là CH, N hoặc tùy ý là $C(R^2)$ khi R^2 được gắn vào đỉnh J^1 , và mỗi chỉ số dưới, nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái, và R^1 , R^2 , R^3 , R^4 và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ic1), (Ic2), (Ic3), (Ic4), (Ic5) và (Ic6):

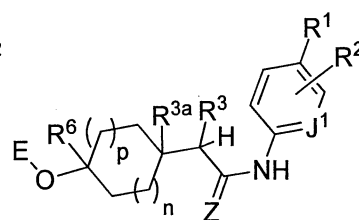




(Ic4)



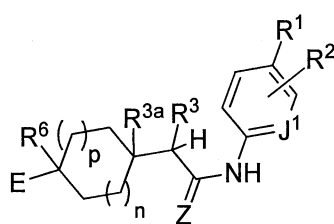
(Ic5)



(Ic6)

trong đó J^1 là CH, N hoặc tùy ý là $C(R^2)$ khi R^2 được gắn vào đỉnh J^1 , và mỗi chỉ số dưới, nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái, và R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} , R^4 và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

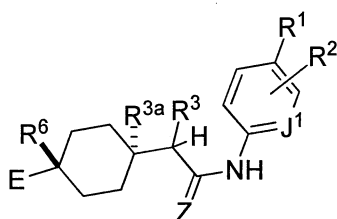
Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Id):



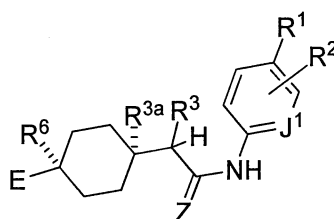
(Id)

trong đó J^1 là CH, N hoặc tùy ý là $C(R^2)$ khi R^2 được gắn vào đỉnh J^1 , mỗi chỉ số dưới, nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái, và R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

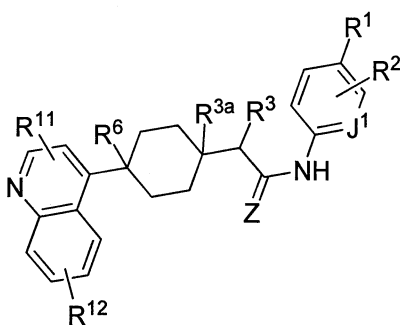
Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Id1), (Id2), (Id3) và (Id4):



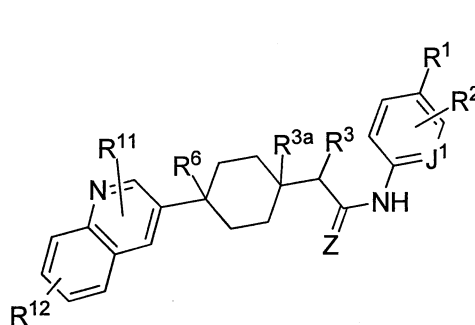
(Id1)



(Id2)



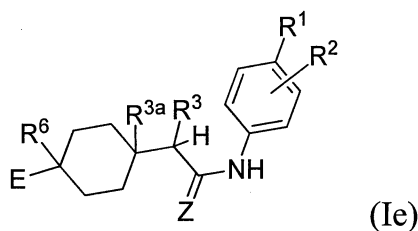
(Id3)



(Id4)

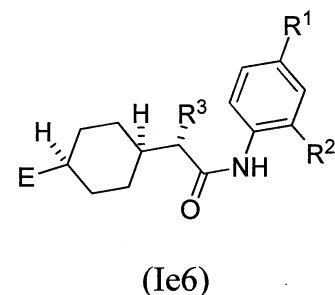
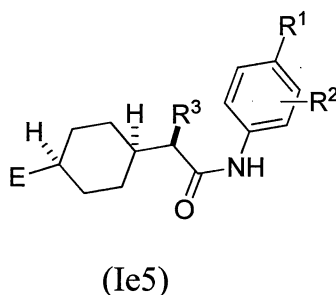
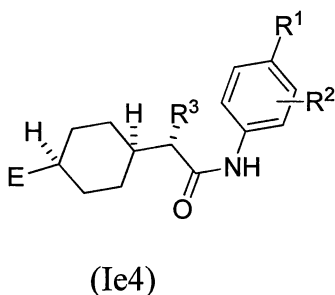
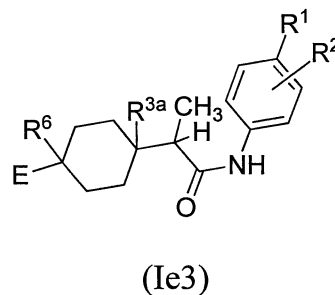
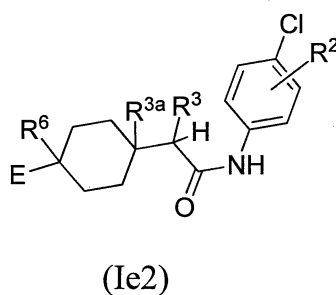
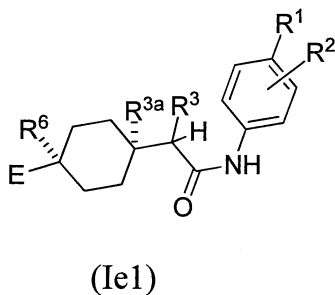
trong đó mỗi hợp chất có công thức (Id1) và (Id2) không chứa các chất đồng phân khác ở các tâm bất đối được thể hiện. Đối với mỗi hợp chất có công thức (Id3) và (Id4), R^{11} và R^{12} độc lập là hydro, halogen, C_1 - C_4 haloalkyl, C_3 - C_6 xycloalkyl, xycloheteroalkyl có 3 đến 6 cạnh, phenyl tùy ý được thế, heteroaryl tùy ý được thế, C_1 - C_4 alkyl tùy ý được thế, C_1 - C_4 alkoxy, CN, SO_2NH_2 , $NHSO_2CH_3$, $NHSO_2CF_3$, OCF_3 , SO_2CH_3 , SO_2CF_3 , hoặc $CONH_2$, và khi R^1 và R^2 là các đỉnh liền kề trên vòng phenyl thì chúng có thể được liên kết với nhau để tạo thành xycloheteroaryl 5 hoặc 6 cạnh có một hoặc hai đỉnh trên vòng độc lập được chọn từ O, N và S, trong đó vòng xycloheteroalkyl này tùy ý được thế bằng một đến ba phần tử thế được chọn từ flo và C_1 - C_3 alkyl. Đối với mỗi hợp chất có công thức (Id1), (Id2), (Id3) và (Id4), các nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái còn lại, và J^1 , R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (Id).

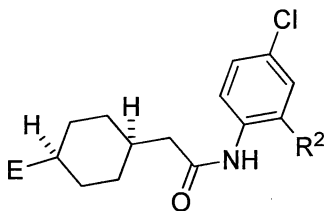
Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie):



trong đó các nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái, và R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie1), (Ie2), (Ie3), (Ie4), (Ie5), (Ie6) và (Ie7):

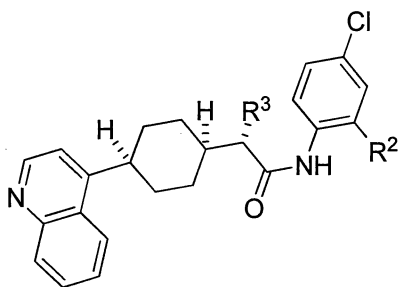




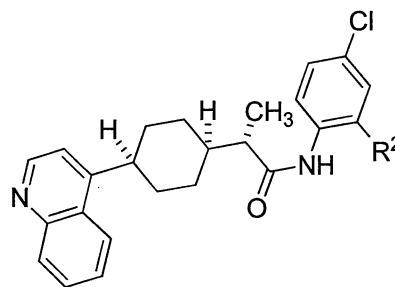
(Ie7).

Đối với mỗi hợp chất có công thức (Ie1), (Ie4), (Ie5), (Ie6) và (Ie7), không chứa các chất đồng phân khác ở mỗi tâm bất đối được thể hiện. Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie4), trong đó R^1 là Cl, F, phenyl tùy ý được thế, hoặc CN. Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie6), trong đó R^1 là Cl, F, phenyl tùy ý được thế, hoặc CN; và R^2 là H hoặc F. Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie6), trong đó R^1 là Cl. Theo một số phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ie6), trong đó R^1 là Cl; và R^3 là CH_3 . Khi không được định nghĩa cụ thể, các nhóm thế thể hiện bằng ký hiệu chữ cái còn lại, và R^1 , R^2 , R^3 , R^{3a} và R^6 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

Theo các phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (If) hoặc (Ig):



(If)



(Ig)

mỗi hợp chất này không chứa các chất đồng phân khác ở một trong ba tâm bất đối được thể hiện, và R^2 và R^3 được định nghĩa như trong hợp chất có công thức (I).

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất bất kỳ được thể hiện trên Fig.1A-1L.

Theo một số phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất bất kỳ được thể hiện trên Fig.1A-1L có hoạt tính được ký hiệu là “A” hoặc “B”.

Theo một số phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất bất kỳ được thể hiện trên Fig.1A-1L có hoạt tính được ký hiệu là “A”.

Phương pháp điều chế

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều phương pháp. Các phương pháp này được mô tả trong các ví dụ dưới đây.

Phương pháp cải biến để tăng cường đặc tính ức chế

Thường có lợi, và đôi khi bắt buộc, để cải thiện một hoặc nhiều đặc tính vật lý của hợp chất theo sáng chế và/hoặc phương pháp sử dụng nó. Phương pháp cải thiện các đặc tính vật lý bao gồm phương pháp làm tăng độ hòa tan trong nước, độ sinh khả dụng, thời gian bán thải trong huyết thanh, và/hoặc thời gian bán thải điều trị; và/hoặc hoạt tính sinh học điều hòa.

Các phương pháp cải biến đã biết trong lĩnh vực này bao gồm phương pháp gắn PEG, phương pháp dung hợp Fc và phương pháp dung hợp albumin. Mặc dù các dược chất phân tử lớn thường được cải biến (ví dụ polypeptit), nhưng gần đây các phương pháp cải biến này đã được áp dụng với các phân tử nhỏ. Ví dụ, Chiang, M. et al. (*J. Am. Chem. Soc.*, 136(9):3370-3373 (2014)) đề cập đến chất chủ vận phân tử nhỏ của thụ thể adenosin 2a được tiếp hợp với vùng Fc của globulin miễn dịch. Thụ thể tiếp hợp phân tử nhỏ-Fc này vẫn có hoạt lực của thụ thể Fc và tương tác thụ thể adenosin 2a và có đặc tính cao hơn phân tử nhỏ chưa được tiếp hợp. Phương pháp gắn cộng hóa trị phân tử PEG vào dược chất phân tử nhỏ cũng được mô tả trong tài liệu (Li, W. et al, *Progress in Polymer Science*, 38:421-444 (2013)).

Sử dụng trong điều trị và phòng ngừa

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế trong điều trị hoặc phòng ngừa nhiều bệnh, rối loạn và/hoặc tình trạng bệnh lý, và/hoặc triệu chứng của chúng. Mặc dù việc sử dụng cụ thể được mô tả chi tiết dưới đây, nhưng cần hiểu rằng sáng chế không chỉ giới hạn ở các việc sử dụng này. Hơn nữa, mặc dù các nhóm bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý cụ thể được đề cập dưới đây, một số bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý có thể có thể được phân loại vào nhiều hơn một nhóm, và các bệnh còn lại có thể được phân loại vào nhóm bất kỳ được bộc lộ.

Rối loạn liên quan đến ung thư.

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị phòng ngừa tình trạng hoặc rối loạn tăng sinh, bao gồm bệnh ung thư, ví dụ bệnh ung thư tử cung, bệnh ung thư cổ tử cung, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư tuyến tiền liệt,

bệnh ung thư tinh hoàn, bệnh ung thư đường tiêu hóa (ví dụ bệnh ung thư thực quản, bệnh ung thư họng miệng, bệnh ung thư dạ dày, bệnh ung thư ruột non hoặc bệnh ung thư ruột già, bệnh ung thư đại tràng, hoặc bệnh ung thư trực tràng), bệnh ung thư thận, bệnh ung thư tế bào thận, bệnh ung thư bàng quang, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư tủy xương, bệnh ung thư da, bệnh ung thư đầu hoặc bệnh ung thư cổ, bệnh ung thư gan, bệnh ung thư túi mật, bệnh ung thư tim, bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư tụy, bệnh ung thư tuyến nước bọt, bệnh ung thư tuyến thượng thận, bệnh ung thư tuyến giáp, bệnh ung thư não (ví dụ bệnh u thần kinh đệm), bệnh ung thư hạch, bệnh ung thư hệ thần kinh trung ương và bệnh ung thư hệ thần kinh ngoại vi, và bệnh ung thư hệ tạo máu và bệnh ung thư hệ miễn dịch (ví dụ bệnh ung thư lá lách hoặc bệnh ung thư tuyến ức). Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý khác liên quan đến ung thư, bao gồm khối u sinh miễn dịch, khối u không sinh miễn dịch, khối u tiềm tàng, bệnh ung thư do virus (ví dụ bệnh ung thư tế bào biểu mô, bệnh ung thư tế bào nội mô, bệnh ung thư biểu mô tế bào vảy và virus gây bệnh u nhú), bệnh ung thư biểu mô tuyến, bệnh u lympho, bệnh ung thư biểu mô, bệnh ung thư sắc tố, bệnh bạch cầu, bệnh u tủy, bệnh ung thư tổ chức liên kết, bệnh ung thư biểu mô phôi, bệnh ung thư do hóa chất, tình trạng di căn, và tình trạng tạo mạch. Sáng chế cũng mô tả phương pháp làm giảm khả năng dung nạp với tế bào khối u hoặc kháng nguyên tế bào ung thư, ví dụ bằng cách điều hòa hoạt tính của tế bào T điều hòa và/hoặc tế bào T biểu hiện CD8 (ví dụ, xem Ramirez-Montagut et al, *Oncogene*, 22:3180-3187 (2003); và Sawaya et al, *New Engl. J. Med*, 349:1501-1509 (2003)). Theo phương án cụ thể, khối u hoặc bệnh ung thư là bệnh ung thư đại tràng, bệnh ung thư buồng trứng, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư sắc tố, bệnh ung thư phổi, u nguyên bào thần kinh đệm, hoặc bệnh bạch cầu. Thuật ngữ “bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến ung thư” được dùng trong bản mô tả để chỉ các tình trạng bệnh lý liên quan trực tiếp hoặc gián tiếp đến bệnh ung thư, và bao gồm tình trạng tạo mạch và tình trạng tiền ung thư, như chứng loạn sản.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị tình trạng tăng sinh, bệnh ung thư, khối u, hoặc tình trạng tiền ung thư bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất điều trị hoặc dược chất chuẩn đoán bổ sung, được mô tả trong sáng chế.

Rối loạn liên quan đến miễn dịch và viêm.

Thuật ngữ “bệnh miễn dịch”, “tình trạng bệnh lý miễn dịch”, “rối loạn miễn dịch”, “bệnh viêm”, “tình trạng bệnh lý viêm”, “rối loạn viêm” và các thuật ngữ tương tự được dùng trong bản mô tả để chỉ tình trạng bệnh lý bất kỳ liên quan đến viêm hoặc miễn dịch (ví dụ bệnh viêm và bệnh tự miễn). Các tình trạng bệnh lý này thường liên quan chặt chẽ với các bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý khác. Ví dụ, thuật ngữ “tình trạng bệnh lý miễn dịch” được dùng trong bản mô tả để chỉ tình trạng bệnh lý tăng sinh, như bệnh ung thư, khối u, và tình trạng tạo mạch; bao gồm bệnh lây nhiễm (cấp tính và mãn tính), khối u, và bệnh ung thư kháng lại bởi hệ miễn dịch.

Ví dụ không giới hạn về bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến viêm và miễn dịch có thể được điều trị hoặc phòng ngừa bằng hợp chất và chế phẩm theo sáng chế bao gồm, bệnh viêm khớp (ví dụ bệnh viêm khớp dạng thấp), bệnh suy thận, bệnh lupus, bệnh hen, bệnh vẩy nến, bệnh viêm kết tràng, bệnh viêm tụy, bệnh dị ứng, bệnh xơ hóa, biến chứng phẫu thuật (ví dụ xytokin viêm làm lâu lành vết thương), bệnh thiếu máu, và rối loạn gây đau cơ khớp. Các bệnh và rối loạn khác có thể là liên quan đến bệnh viêm mãn tính bao gồm bệnh Alzheimer, bệnh suy tim sung huyết, bệnh đột quỵ, bệnh hẹp động mạch chủ, bệnh xơ cứng động mạch, chứng loãng xương, bệnh Parkinson, bệnh lây nhiễm, bệnh viêm ruột (ví dụ bệnh Crohn và bệnh viêm đại tràng), bệnh viêm da dị ứng tiếp xúc và các bệnh chàm khác, bệnh xơ cứng toàn thân, tình trạng cấy ghép và bệnh xơ cứng rải rác.

Trong số các rối loạn khác liên quan đến miễn dịch, đã kiểm chứng được rằng liệu pháp ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza cũng có thể đóng vai trò trong dung nạp miễn dịch và phòng ngừa xảy thai.

Theo một số phương án, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được kết hợp với dược chất ức chế miễn dịch để làm giảm số lượng tế bào tác động miễn dịch.

Một bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý nêu trên có thể được điều trị hữu hiệu bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế (do nhược điểm của các liệu pháp hiện nay) được mô tả chi tiết dưới đây.

Bệnh viêm khớp dạng thấp, đặc trưng bởi tình trạng viêm mãn tính ở màng lót (màng hoạt dịch) của khớp, ảnh hưởng đến khoảng 1% dân số Hoa Kỳ (khoảng 2,1 triệu người). Việc làm rõ thêm vai trò của xytokin, bao gồm TNF- α và IL-1, trong quá trình

viêm đã cho phép phát triển nhóm dược chất điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp thể hệ mới (DMARD). Dược chất (một số trùng lặp với dược chất điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp) bao gồm ENBREL® (etanercept), REMICADE® (infliximab), HUMIRA® (adalimumab) và KINERET® (anakinra). Mặc dù một số dược chất làm giảm các triệu chứng, ngăn ngừa tiến triển tổn thương khớp, và cải thiện chức năng thể chất ở một số đối tượng bị bệnh, nhưng vẫn cần có dược chất thay thế có hiệu lực được cải thiện, cơ chế tác dụng bổ sung, và có ít/không có tác dụng không mong muốn.

Bệnh vảy nến, là bệnh về da mãn tính liên quan đến miễn dịch, ảnh hưởng đến hơn 4,5 triệu người ở Hoa Kỳ, và 1,5 triệu người trong đó bị bệnh vảy nến vừa phải đến nặng.. Hơn nữa, 10% đối tượng bị bệnh vảy nến đã tiến triển thành bệnh viêm khớp vảy nến, gây tổn thương xương và mô liên kết xung quanh khớp. Việc hiểu rõ cơ chế bệnh sinh của bệnh vảy nến cho phép phát triển dược chất, ví dụ hướng đích hoạt tính của lympho bào T và xytokin là nguyên nhân gây ra tình trạng viêm của bệnh vảy nến. Các dược chất này bao gồm hợp chất ức chế TNF- α (cũng sử dụng trong điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp), bao gồm ENBREL® (etanercept), REMICADE® (infliximab) và HUMIRA® (adalimumab)), và hợp chất ức chế tế bào T, như AMEVIVE® (alefacept) và RAPTIVA® (efalizumab). Mặc dù một số dược chất này có hiệu lực điều trị nhất định ở một nhóm đối tượng bị bệnh, nhưng các dược chất này đều không có hiệu lực điều trị ở toàn bộ các đối tượng.

Các đối tượng bị bệnh xơ cứng rải rác, là bệnh tự miễn nguy hiểm bao gồm nhiều vùng viêm và tổn thương dạng sẹo myelin ở não và tủy sống, có thể được điều trị hữu hiệu bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế, do các phương pháp điều trị hiện nay chỉ điều trị triệu chứng và làm chậm tiến triển bệnh.

Tương tự, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có thể có hiệu lực điều trị cho đối tượng bị rối loạn thoái hóa thần kinh, như bệnh Alzheimer, là rối loạn não nghiêm trọng làm giảm khả năng suy nghĩ, ghi nhớ và ngôn ngữ của đối tượng bị bệnh; và bệnh Parkinson, là rối loạn tiến triển ở hệ thần kinh trung ương được đặc trưng bởi rối loạn vận động, cơ cứng và run. Các rối loạn này tiến triển và làm suy yếu cơ thể đối tượng bị bệnh, và chưa có thuốc điều trị dứt điểm.

Rối loạn liên quan đến virus.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza trong điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý virus bất kỳ được điều trị hiệu quả bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza. Theo phương án cụ thể, rối loạn virus là rối loạn virus mãn tính. Ví dụ về bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý virus bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở virus viêm gan B (HBV), virus viêm gan C (HCV), virus gây bệnh u nhú ở người (HPV), HIV, AIDS (bao gồm các hội chứng, như hội chứng suy giảm toàn bộ sức khỏe, hội chứng sa sút trí tuệ, và tiêu chảy), virus herpes simplex (HSV), virus Epstein-Barr (EBV), virus thủy đậu, virus gây bệnh chân tay miệng, và virus gây bệnh mụn rộp nước (CMV).

Rối loạn liên quan đến vi khuẩn và ký sinh trùng.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế cho đối tượng để điều trị bệnh nhiễm khuẩn, ví dụ bệnh lây nhiễm *Mycobacterium* (ví dụ *Mycobacterium leprae* hoặc *Mycobacterium tuberculosis*) hoặc bệnh lây nhiễm *Listeria monocytogenes* hoặc *Toxoplasma gondii*. Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh lây nhiễm ký sinh trùng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở *Leishmania donovani*, *Leishmania tropica*, *Leishmania major*, *Leishmania aethiopica*, *Leishmania mexicana*, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, hoặc *Plasmodium malariae*. Thông thường, liệu pháp kháng ký sinh trùng được sử dụng trong điều trị dự phòng (ví dụ trước khi đối tượng chuyển đến khu vực có khả năng lây nhiễm ký sinh trùng cao).

Dược phẩm

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể ở dạng chế phẩm thích hợp để sử dụng cho đối tượng. Nhìn chung, chế phẩm này là “dược phẩm” chứa hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và một hoặc nhiều tá dược pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dùng hoặc sinh lý dụng. Theo một số phương án, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza được sử dụng ở lượng hữu hiệu điều trị. Dược phẩm này có thể được sử dụng trong phương pháp theo sáng chế; do đó dược phẩm này có thể được sử dụng *ex vivo* hoặc *in vivo* cho đối tượng để thực hiện phương pháp điều trị, phòng ngừa và sử dụng theo sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế theo phương pháp sử dụng hoặc đường đưa thuốc; ví dụ đường đưa thuốc được mô tả trong sáng chế. Hơn nữa, dược

phẩm có thể được sử dụng kết hợp với hoạt chất hoặc hợp chất khác theo sáng chế để điều trị phòng ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý theo sáng chế.

Dược phẩm chứa hoạt chất (ví dụ hợp chất ức chế indolamin 2,3-di-oxygenaza) có thể được bào chế ở dạng thích hợp để sử dụng qua đường miệng, ví dụ viên nén, viên nang, viên ngậm, viên nhai, hỗn dịch nước hoặc hỗn dịch dầu, bột phân tán hoặc thuốc cốm, nhũ tương, viên nang cứng hoặc viên nang mềm, hoặc siro, dung dịch, vi hạt hoặc cốm thuốc. Dược phẩm để sử dụng qua đường miệng có thể được bào chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này, và chế phẩm này có thể chứa một hoặc nhiều chất, như chất làm ngọt, chất thơm, chất màu và chất bảo quản để thu được dược phẩm để uống. Viên nén, viên nang và dạng bào chế tương tự chứa hoạt chất kết hợp với tá dược được dùng không độc thích hợp để bào chế viên nén. Ví dụ về các tá dược này bao gồm tá dược pha loãng, như canxi carbonat, natri carbonat, lactoza, canxi phosphat hoặc natri phosphat; tá dược phân tán và tạo hạt, ví dụ tinh bột ngô, hoặc axit alginic; tá dược dính, ví dụ tinh bột, gelatin hoặc gôm acacia, và tá dược trơn, ví dụ magie stearat, axit stearic hoặc talc.

Viên nén, viên nang và dạng bào chế tương tự thích hợp để sử dụng qua đường miệng có thể được bao hoặc không được bao bằng các phương pháp đã biết để làm chậm quá trình rã và hấp thu ở đường tiêu hóa nhờ đó tạo ra tác dụng kéo dài. Ví dụ, tá dược làm chậm thời gian rã, như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat có thể được sử dụng. Các dạng bào chế này cũng có thể được bao bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này để tạo thành viên nén thẩm thấu được dùng để giải phóng kiểm soát. Các tá dược bổ sung bao gồm hạt tương thích và phân hủy sinh học hoặc hợp chất polyme, như polyeste, axit polyamin, hydrogel, polyvinyl pyrrolidon, polyanhydrit, axit polyglycolic, etylen-vinylaxetat, metylxenluloza, carboxymetylxenluloza, protamin sulfat, hoặc copolyme lactit/glycolit, copolyme polylactit/glycolit, hoặc copolyme etylenvinylaxetat để phân phối kiểm soát chế phẩm được sử dụng. Ví dụ, dược chất dùng qua đường miệng có thể được bao trong vi nang được bào chế bằng coacervation techniques hoặc bằng phương pháp polyme hóa mặt phân cách, bằng cách sử dụng tương ứng hydroxymetylxenluloza hoặc vi nang gelatin hoặc vi nang poly(metylmethacrolat), hoặc hệ phân phối dược chất thể keo. Hệ phân phối thể keo bao gồm phức hợp phân tử vòng lớn, nang nano, vi cầu, vi hạt, và hệ lipit, bao gồm nhũ tương dầu trong nước, hệ mixen,

hệ mixen hỗn hợp, và liposom. Phương pháp bào chế các dược phẩm nêu trên đã biết trong lĩnh vực này.

Dược phẩm để sử dụng qua đường miệng cũng có thể được bào chế dưới dạng viên nang cứng gelatin trong đó hoạt chất được trộn với tá dược pha loãng trở dạng rắn, ví dụ canxi carbonat, canxi phosphat, cao lanh hoặc xenluloza vi tinh thể, hoặc viên nang mềm gelatin trong đó hoạt chất được trộn với môi trường nước hoặc môi trường dầu, ví dụ dầu lạc, parafin lỏng hoặc dầu oliu.

Hỗn dịch nước chứa hoạt chất kết hợp với tá dược thích hợp. Các tá dược này có thể là chất gây thấm ổn định, ví dụ natri carboxymetylxenluloza, metyloxenluloza, hydroxy-propylmetylxenluloza, natri alginat, polyvinyl-pyrrolidon, gôm tragacanth và gôm acacia; chất phân tán hoặc chất làm ẩm, ví dụ phosphatit có trong tự nhiên (ví dụ lecithin), hoặc sản phẩm ngưng tụ của alkylen oxit với axit béo (ví dụ polyoxyetylen stearat), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với rượu béo mạch dài (ví dụ heptadecaetylenoxycetanol), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần của axit béo và hexitol (ví dụ polyoxyetylen sorbitol monooleat), hoặc sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với este một phần của axit béo và hexitol anhydrit (ví dụ polyetylen sorbitan monooleat). Hỗn dịch nước cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất bảo quản.

Hỗn dịch dầu có thể được bào chế bằng cách tạo hỗn dịch hoạt chất trong dầu thực vật, ví dụ dầu lạc, dầu oliu, dầu vừng hoặc dầu dừa, hoặc dầu khoáng, như parafin lỏng. Hỗn dịch dầu may chứa chất làm đặc, ví dụ sáp ong, parafin cứng hoặc rượu xetylic. Chất làm ngọt, như nêu trên, và chất thơm có thể được bổ sung vào để thu được dược phẩm dùng qua đường miệng dễ uống.

Bột phân tán và thuốc cốm thích hợp để bào chế hỗn dịch nước bằng cách bổ sung nước vào hoạt chất kết hợp với chất phân tán hoặc chất làm ẩm, chất gây thấm ổn định và một hoặc nhiều chất bảo quản. Chất phân tán hoặc chất làm ẩm và chất gây thấm ổn định thích hợp được mô tả trong sáng chế.

Dược phẩm theo sáng chế cũng có thể được bào chế ở dạng nhũ tương dầu trong nước. Pha dầu có thể là dầu thực vật, ví dụ dầu oliu hoặc dầu lạc, hoặc dầu khoáng, ví dụ parafin lỏng, hoặc hỗn hợp của chúng. Chất nhũ hóa thích hợp có thể là gôm có trong tự nhiên, ví dụ gôm acacia hoặc gôm tragacanth; phosphatit có trong tự nhiên, ví dụ hạt đậu tương, lecithin, và este hoặc este một phần của axit béo; hexitol anhydrit, ví dụ sorbitan

monooleat; và sản phẩm ngưng tụ của este một phần với etylen oxit, ví dụ polyoxyetylen sorbitan monooleat.

Dược phẩm cũng có thể chứa chất mang để bảo vệ dược phẩm khỏi bị phân giải nhanh hoặc thải trừ nhanh khỏi cơ thể, như dược phẩm giải phóng có kiểm soát, bao gồm thuốc cấy, liposom, hydrogel, tiền dược chất và hệ phân phối vi nang. Ví dụ, tá dược làm chậm thải trừ, như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl stearat riêng, hoặc kết hợp với chất sáp, có thể được sử dụng.

Dược phẩm chứa lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-di-oxygenaza theo sáng chế và một hoặc nhiều tá dược được dụng và sinh lý dụng. Tá dược pha loãng, chất mang hoặc tá dược được dụng hoặc sinh lý dụng thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở chất chống oxy hóa (ví dụ axit ascorbic và natri bisulfat), chất bảo quản (ví dụ rượu benzylic, metyl paraben, etyl benzoat hoặc n-propyl benzoat, p-hydroxybenzoat), chất nhũ hóa, chất gây thấm ổn định, chất phân tán, dung môi, tá dược độn, tá dược trương nở, chất tẩy, chất đệm, chất dẫn thuốc, tá dược pha loãng, và/hoặc chất bổ trợ. Ví dụ, chất dẫn thuốc thích hợp có thể là dung dịch nước muối sinh lý hoặc nước muối được đệm xitrat, có thể bổ sung các chất khác thường có trong dược phẩm để sử dụng qua đường tiêm. Ví dụ về các chất dẫn thuốc khác bao gồm nước muối được đệm trung tính hoặc nước muối được trộn với albumin huyết thanh. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ dễ dàng xác định được nhiều chất đệm có thể được sử dụng trong dược phẩm và dạng bào chế theo sáng chế. Thông thường, chất đệm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở axit yếu được dụng, bazơ yếu được dụng, hoặc hỗn hợp của chúng. Ví dụ về các chất đệm có thể là hợp chất hòa tan trong nước, như axit phosphoric, axit tartaric, axit lactic, axit succinic, axit xitric, axit axetic, axit ascorbic, axit aspartic, axit glutamic, và muối của chúng. Các chất đệm được dụng bao gồm, ví dụ dung dịch đệm Tris, N-(2-Hydroxyetyl)piperazin-N'-(axit 2-etansulfonic) (HEPES), axit 2-(N-morpholino)etansulfonic (MES), muối natri của axit 2-(N-morpholino)etansulfonic (MES), axit 3-(N-morpholino)propansulfonic (MOPS), và axit N-tris[hydroxymetyl]metyl-3-aminopropansulfonic (TAPS).

Sau khi bào chế, dược phẩm có thể được bảo quản trong lọ vô trùng dưới dạng dung dịch, hỗn dịch, gel, nhũ tương, bột rắn, hoặc bột ngậm nước hoặc bột đông khô. Các dược phẩm này có thể được bảo quản ở dạng dễ sử dụng, dạng đông khô cần hoàn

nguyên trước khi sử dụng, dạng lỏng cần pha loãng trước khi sử dụng, hoặc dạng bào chế thích hợp khác. Theo một số phương án, dược phẩm được bảo quản trong đồ chứa sử dụng một lần (ví dụ lọ, ống tiêm, bơm tiêm, hoặc thiết bị tiêm tự động sử dụng một lần (tương tự như EPIPEN®)), hoặc đồ chứa sử dụng nhiều lần (ví dụ lọ sử dụng nhiều lần). Thiết bị phân phối được chất bất kỳ có thể được sử dụng để phân phối và hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, bao gồm thuốc cấy (ví dụ bơm cấy) và ống thông, thiết bị và bơm tiêm chập, đã biết trong lĩnh vực này. Chế phẩm thuốc tiêm giải phóng chậm thường được sử dụng qua đường tiêm dưới da hoặc tiêm bắp, cũng có thể be sử dụng để giải phóng polypeptit theo sáng chế trong thời gian xác định trước. Chế phẩm thuốc tiêm giải phóng chậm thường ở dạng rắn hoặc dầu và chứa ít nhất một thành phần được mô tả trong sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng bào chế và sử dụng chế phẩm thuốc tiêm giải phóng chậm.

Dược phẩm có thể được bào chế ở dạng hỗn dịch thuốc tiêm nước vô trùng hoặc hỗn dịch thuốc tiêm dầu vô trùng. Hỗn dịch này có thể được bào chế bằng phương pháp đã biết sử dụng chất phân tán hoặc chất làm ẩm và chất gây thấm ổn định thích hợp mô tả trong sáng chế. Chế phẩm thuốc tiêm vô trùng cũng có thể là dung dịch thuốc tiêm vô trùng hoặc hỗn dịch thuốc tiêm vô trùng trong tá dược pha loãng hoặc dung môi không độc được dụng, ví dụ dung dịch trong 1,3-butan diol. Tá dược pha loãng, dung môi và môi trường phân tán được dụng có thể được sử dụng bao gồm nước, dung dịch Ringer, dung dịch natri clorua đẳng trương, CREMOPHOR® EL (BASF, Parsippany, NJ) hoặc dung dịch nước muối đệm phosphat (PBS), etanol, rượu đa chức (ví dụ glyxerol, propylen glycol, và polyetylen glycol lỏng), và hỗn hợp của chúng. Ngoài ra, dầu không bay hơi vô trùng thường được sử dụng làm dung môi hoặc môi trường phân tán. Đối với mục đích này, dầu không bay hơi trung tính bất kỳ có thể được sử dụng, bao gồm monoglyxerit hoặc diglyxerit tổng hợp. Hơn nữa, axit béo, như axit oleic, cũng được sử dụng để bào chế chế phẩm thuốc tiêm. Tác dụng hấp thu kéo dài của chế phẩm thuốc tiêm cụ thể có thể đạt được bằng cách sử dụng chất làm chậm hấp thu (ví dụ nhôm monostearat hoặc gelatin).

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza trong bào chế thuốc đạn để sử dụng qua đường trực tràng. Thuốc đạn có thể được bào chế bằng cách trộn dược chất với tá dược không kích ứng thích hợp ở dạng rắn ở nhiệt độ thường

nhưng ở dạng lỏng ở nhiệt độ trực tràng, do đó tan chảy trong trực tràng để giải phóng dược chất. Các tá dược này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở bơ cacao và polyetylen glycol.

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng được phẩm thích hợp bất kỳ khác đã biết hoặc được phát triển trong tương lai (ví dụ thuốc xịt mũi hoặc thuốc xông hít).

Hàm lượng của polypeptit hoặc mảnh chức năng của nó trong dược phẩm có thể thay đổi nhiều (ví dụ từ nhỏ hơn khoảng 0,1%, thường bằng hoặc ít nhất không 2% đến tối đa 20% đến 50% khối lượng hoặc cao hơn) và thường được chọn dựa trên thể tích dung dịch, độ nhớt, và các yếu tố của đối tượng theo đường đưa thuốc cụ thể được chọn.

Đường đưa thuốc

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, và chế phẩm chứa hợp chất này, theo đường đưa thuốc thích hợp bất kỳ. Đường đưa thuốc thích hợp bao gồm đường miệng, đường tiêm (ví dụ tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da (ví dụ thuốc tiêm hoặc thuốc cấy), tiêm màng bụng, tiêm vào bể dịch não, tiêm vào khớp, tiêm màng bụng, tiêm vào não (tiêm vào nhu mô não) và tiêm vào não thất), đường mũi, đường âm đạo, đường dưới lưỡi, đường trong mắt, đường trực tràng, đường khu trú (ví dụ qua da), đường dưới lưỡi và đường xông hít. Chế phẩm thuốc tiêm giải phóng chậm thường được sử dụng qua đường tiêm dưới da hoặc tiêm bắp, cũng có thể được sử dụng để giải phóng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế trong thời gian xác định trước.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng qua đường miệng.

Liệu pháp điều trị kết hợp

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza kết hợp với một hoặc nhiều dược chất (ví dụ dược chất hóa trị liệu) hoặc liệu pháp điều trị hoặc dự phòng khác (ví dụ phương pháp xạ trị). Trong liệu pháp điều trị kết hợp này, các dược chất khác nhau có thể có cơ chế tác dụng hỗ trợ khác nhau. Liệu pháp điều trị kết hợp này có thể cho phép giảm liều một hoặc nhiều dược chất, nhờ đó làm giảm hoặc loại bỏ các tác dụng không mong muốn liên quan đến một hoặc nhiều dược chất. Hơn nữa, liệu pháp

điều trị kết hợp này có thể có tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa hiệp đồng đối với bệnh, rối loạn, hoặc tình trạng bệnh lý.

Thuật ngữ “chế phẩm kết hợp” được dùng trong bản mô tả để chỉ các dược chất có thể được sử dụng riêng, ví dụ bào chế riêng để sử dụng riêng (ví dụ có thể là ở dạng kit), và các dược chất có thể được sử dụng kết hợp ở một chế phẩm (tức là “chế phẩm đồng thời”).

Theo một số phương án, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza được sử dụng luân phiên, ví dụ trong đó một dược chất được sử dụng trước một hoặc nhiều dược chất khác. Theo các phương án khác, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza được sử dụng đồng thời, ví dụ trong đó hai hoặc nhiều dược chất được sử dụng ở các khoảng thời gian gần nhau; hai hoặc nhiều dược chất có thể được bào chế thành hai hoặc nhiều chế phẩm riêng hoặc được kết hợp thành một chế phẩm (tức là chế phẩm sử dụng đồng thời). Bất kể hai hoặc nhiều dược chất được sử dụng luân phiên hoặc đồng thời hay không, các dược chất này được sử dụng kết hợp theo mục đích của sáng chế.

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với ít nhất một dược chất khác theo đường đưa thuốc thích hợp. Theo một phương án, quá trình điều trị bằng ít nhất một dược chất và ít nhất một hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được duy trì trong một khoảng thời gian. Theo một phương án khác, quá trình điều trị bằng ít nhất một dược chất được giảm hoặc dừng (ví dụ khi đối tượng ổn định), trong khi đó quá trình điều trị bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được duy trì theo phác đồ không đổi. Theo phương án khác, quá trình điều trị bằng ít nhất một dược chất được giảm hoặc dừng (ví dụ khi đối tượng ổn định), trong khi đó quá trình điều trị bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được giảm (ví dụ giảm liều, giảm tần suất sử dụng hoặc rút ngắn thời gian điều trị). Theo phương án khác, quá trình điều trị bằng ít nhất một dược chất được giảm hoặc dừng (ví dụ khi đối tượng ổn định), và quá trình điều trị bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được tăng (ví dụ tăng liều, tăng tần suất sử dụng hoặc tăng thời gian điều trị). Theo phương án khác, quá trình điều trị bằng ít nhất một dược chất được duy trì và quá trình điều trị bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được giảm hoặc dừng (ví dụ giảm liều, giảm tần suất sử dụng hoặc rút ngắn thời gian điều trị). Theo phương án khác, quá trình điều trị

bằng ít nhất một dược chất và quá trình điều trị bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được giảm hoặc dừng (ví dụ giảm liều, giảm tần suất sử dụng hoặc rút ngắn thời gian điều trị).

Rối loạn liên quan đến ung thư.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa tình trạng tăng sinh, bệnh ung thư, khối u, hoặc bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh lý tiền ung thư bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất bổ sung, như phương pháp xạ trị, hợp chất điều hòa miễn dịch hoặc chất hóa trị liệu, hoặc dược chất chuẩn đoán. Hợp chất điều hòa miễn dịch thích hợp có thể được sử dụng trong sáng chế bao gồm CD40L, B7, và B7RP1; kháng thể đơn dòng để kích thích thụ thể, như kháng thể kháng CD40, kháng thể kháng CD38, kháng thể kháng ICOS, và phối tử 4-1BB; kháng nguyên tế bào đuôi gai (*in vitro* hoặc *in vivo*); vaccin kháng ung thư, như vaccin kháng ung thư tế bào đuôi gai; xytokin/chemokin, như IL1, IL2, IL12, IL18, ELC/CCL19, SLC/CCL21, MCP-1, IL-4, IL-18, TNF, IL-15, MDC, IFN α /b, M-CSF, IL-3, GM-CSF, IL-13, và hợp chất kháng IL-10; lipopolysaccharit vi khuẩn (LPS); và oligonucleotit kích thích miễn dịch.

Ví dụ về dược chất hóa trị liệu bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở dược chất alkyl hóa, như thiotepa và cyclophosphamid; alkyl sulfonat, như busulfan, improsulfan và piposulfan; aziridin, như benzodopa, carboquon, meturedopa, và uredopa; etylenimin và metylamelamin bao gồm altretamin, trietylenmelamin, trietylenphosphoramit, trietylenthiophosphoramit và trimetylolomelamin; nitơ mù tạc, như chiorambucil, chlornaphazin, cholophosphamid, estramustin, ifosfamid, mechlorethamin, mechlorethamin oxit hydroclorua, melphalan, novembichin, phenestein, prednimustin, trofosfamid, uracil mustard; nitrosure, như carmustin, clozotocin, fotemustin, lomustin, nimustin, ranimustin; kháng sinh, như aclacinomycin, actinomycin, anthramycin, azaserin, bleomycins, cactinomycin, calicheamicin, carabycin, caminomycin, carzinophilin, chromomycins, dactinomycin, daunorubicin, detorubicin, 6-điazo-5-oxo-L-norleucine, doxorubicin, epirubicin, esorubicin, idarubicin, marcellomycin, mitomycin, axitin, mycophenolic, nogalamycin, olivomycins, peplomycin, potfiromycin, puromycin, quelamycin, rodorubicin, streptonigrin, streptozocin, tubercidin, ubenimex, zinostatin, zorubicin; dược chất kháng chuyển hóa, như methotrexat và 5-fluoracil (5-FU); chất

tương tự axit folic, như denopterin, methotrexat, pteropterin, trimetrexat; chất tương tự purin, như fludarabin, 6-mercaptopurin, thiamiprie, thioguanin; chất tương tự pyrimidin, như ancitabin, azacitidin, 6-azauridin, carmofur, cytarabin, dideoxyuridin, doxifluridin, enocitabin, floxuridin, 5-FU; androgen, như calusteron, drohau hêtanolon propionat, epitiostanol, mepitiostan, testolacton; hợp chất kháng tuyến thượng thận, như aminogluthimit, mitotan, trilostan; dược chất bổ sung axit folic, như axit frolinic; aceglaton; aldophosphamit glycosit; axit aminolevulinic; amsacrin; bestrabucil; bisantren; edatraxat; defofamin; demecolcin; diaziquon; elformithin; elliptinium axetat; etoglucid; gallium nitrat; hydroxyurea; lentinan; lonidamin; mitoguazon; mitoxantron; mopidamol; nitracrin; pentostatin; phenamet; pirarubicin; axit podophyllinic; 2-ethylhydrazit; procarbazin; razoxan; sizofiran; spirogermanium; axit tenuazonic; triaziquon; 2,2',2"-trichlorotrietylamin; urethan; vindesin; dacarbazin; mannomustin; mitobronitol; mitolactol; pipobroman; gacytosin; arabinosit (Ara-C); xyclophosphamit; thiotepa; taxoid, ví dụ paclitaxel và doxetaxel; chlorambucil; gemcitabin; 6-thioguanin; mercaptopurin; methotrexat; platin và phức chất liên kết phối trí platin, như cisplatin và carboplatin; vinblastin; etoposit (VP-16); ifosfamid; mitomycin C; mitoxantron; vincristin; vinorelbin; navelbin; novantron; teniposit; daunomycin; aminopterin; xeloda; ibandronat; CPT11; hợp chất ức chế topoisomeraza; diflometylornithin (DMFO); axit retinoic; esperamicin; capecitabin; và muối, axit hoặc dẫn xuất dược dụng của chúng.

Dược chất hóa trị liệu cũng bao gồm dược chất kháng hormon có tác dụng điều hòa hoặc ức chế tác dụng hormon đến khối u, như dược chất kháng estrogen, bao gồm tamoxifen, raloxifen, 4(5)-imidazol ức chế aromataza, 4-hydroxytamoxifen, trioxifen, keoxifen, onapriston, và toremifen; và dược chất kháng androgen, như flutamid, nilutamit, bicalutamit, leuprolid, và goserelin; và muối, axit hoặc dẫn xuất dược dụng của chúng. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị kết hợp bao gồm việc sử dụng hormon hoặc dược chất hormon liên quan.

Dược chất hóa trị liệu cũng bao gồm hợp chất ức chế truyền tín hiệu. Thuật ngữ “hợp chất ức chế truyền tín hiệu” được dùng trong bản mô tả để chỉ hợp chất ức chế chọn lọc một hoặc nhiều bước trong quá trình truyền tín hiệu. Hợp chất ức chế truyền tín hiệu theo sáng chế bao gồm: (i) hợp chất ức chế bcr/abl kinaza (ví dụ GLEEVEC); (ii) hợp chất ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì, bao gồm hợp chất ức chế kinaza và kháng

thể; (iii) hợp chất ức chế thụ thể her-2/neu (ví dụ HERCEPTIN); (iv) hợp chất ức chế Akt kinaza hoặc quá trình Akt (ví dụ rapamycin); (v) hợp chất ức chế kinaza mạch vòng ở tế bào (ví dụ flavopiridol); và (vi) hợp chất ức chế phosphatidyl inositol kinaza.

Các dược chất bổ sung có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza bao gồm xytokin hoặc chất đối kháng xytokin, như IL-12, IFN, hoặc hợp chất kháng thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì, dược chất xạ trị, kháng thể đơn dòng kháng kháng nguyên khối u khác, phức hợp kháng thể đơn dòng và độc tố, chất bổ trợ tế bào T, liệu pháp cấy ghép tủy xương hoặc tế bào nhận diện kháng nguyên (ví dụ liệu pháp tế bào đuôi gai). Vacxin (ví dụ protein hòa tan hoặc axit nucleic mã hóa protein này) cũng được sử dụng.

Bệnh tim mạch.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến chuyển hóa và/hoặc tim mạch, cũng như các rối loạn liên quan, bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất điều trị hoặc dược chất chuẩn đoán bổ sung.

Ví dụ về dược chất hữu ích trong liệu pháp điều trị kết hợp để điều trị bệnh tăng cholesterol máu (cũng như bệnh xơ vữa động mạch) bao gồm statin (ví dụ CRESTOR, LESCOL, LIPITOR, MEVACOR, PRAVACOL, và ZOCOR), ức chế tổng hợp bằng enzym cholesterol; nhựa axit mật (ví dụ COLESTID, LO-CHOLEST, PREVALITE, QUESTRAN, và WELCHOL), tạo phức với cholesterol và ngăn ngừa hấp thu cholesterol; ezetimib (ZETIA), phong bế hấp thu cholesterol; axit fibric (ví dụ TRICOR), làm giảm triglycerit và có thể làm tăng đáng kể HDL; niacin (ví dụ NIACOR), làm giảm đáng kể cholesterol LDL và triglycerit; và/hoặc chế phẩm kết hợp chứa các dược chất nêu trên (ví dụ VYTORIN (ezetimib và simvastatin). Phương pháp điều trị bệnh tăng cholesterol máu khác có thể thích hợp để sử dụng kết hợp với hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế bao gồm chế phẩm bổ sung dinh dưỡng và chế phẩm thảo dược (ví dụ garlic, policosanol, và guggul). Sáng chế bao gồm muối dược dụng, axit hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ nêu trên.

Rối loạn liên quan đến miễn dịch và viêm.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý liên quan đến viêm và/hoặc miễn dịch, cũng như các rối loạn liên quan, bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất điều trị hoặc dược chất chuẩn đoán bổ sung.

Ví dụ về dược chất hữu ích trong liệu pháp điều trị kết hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở dược chất chống viêm phi steroid (NSAID), như aspirin, ibuprofen, và các dẫn xuất axit propionic khác (alminoprofen, benoxaprofen, axit bucloxic, carprofen, fenbufen, fenoprofen, fluprofen, flurbiprofen, indoprofen, ketoprofen, mioprofen, naproxen, oxaprozin, piroprofen, pranoprofen, suprofen, axit tiaprofenic, và tioxaprofen), dẫn xuất axit axetic (indomethacin, acemetacin, alclofenac, clidanac, diclofenac, fenclofenac, axit fenclozic, fentiazac, furofenac, ibufenac, isoxepac, oxpinac, sulindac, tiopinac, tolmetin, zidometacin, và zomepirac), dẫn xuất axit fenamic (axit flufenamic, axit meclofenamic, axit mefenamic, axit niflumic và axit tolfenamic), dẫn xuất axit biphenyl carboxylic (diflunisal và flufenisal), oxicam (isoxicam, piroxicam, sudoxicam và tenoxicam), salixylat (axit axetyl salixylic, sulfasalazin) và pyrazolon (apazon, bezpiperylon, feprazon, mofebutazon, oxyphenbutazon, phenylbutazon). Các dược chất khác để sử dụng kết hợp bao gồm chất ức chế xyclooxygenaza-2 (COX-2).

Các dược chất khác để sử dụng kết hợp bao gồm steroid, như prednisolon, prednisone, metylprednisolon, betamethason, dexamethason, hoặc hydrocortison. Các dược chất để sử dụng kết hợp này có thể đặc biệt có lợi do một hoặc nhiều tác dụng không mong muốn của steroid có thể được giảm hoặc thậm chí loại bỏ bằng cách giảm liều steroid yêu cầu.

Ví dụ về các dược chất khác có thể được sử dụng kết hợp để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, bao gồm dược chất chống viêm ức chế xytokin (CSAID); kháng thể kháng, hoặc chất đối kháng các yếu tố tăng trưởng hoặc xytokin khác của người, ví dụ TNF, LT, IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-15, IL-16, IL-18, EMAP-II, GM-CSF, FGF, hoặc PDGF.

Chế phẩm kết hợp cụ thể của các dược chất có thể can thiệp vào ở các thời điểm khác nhau trong một loạt các quá trình tự miễn và viêm, và bao gồm chất đối kháng TNF, như kháng thể thể khảm, kháng thể nhân tạo hoặc kháng thể TNF của người, REMICADE, mảnh kháng thể kháng TNF (ví dụ CDP870), và thụ thể TNF p55 hoặc p75

hòa tan, dẫn xuất của chúng, p75TNFRIgG (ENBREL) hoặc p55TNFR1gG (LENERCEPT), thụ thể IL-13 hòa tan (sIL-13), và hợp chất ức chế enzym chuyển hóa TNF α (TACE); tương tự, hợp chất ức chế IL-1 (ví dụ hợp chất ức chế enzym chuyển hóa Interleukin-1) có thể hữu hiệu. Các dược chất khác có thể được sử dụng kết hợp bao gồm Interleukin 11, phối tử kháng P7s và phối tử p-selectin glycoprotein (PSGL). Ví dụ về các dược chất khác hữu ích để sử dụng kết hợp với hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế bao gồm interferon- β 1a (AVONEX); interferon- β 1b (BETASERON); copaxon; oxy cao áp; globulin miễn dịch tiêm tĩnh mạch; clabribin; và kháng thể kháng, hoặc chất đối kháng các yếu tố tăng trưởng hoặc xytokin khác của người (ví dụ kháng thể kháng phối tử CD40 và CD80).

Dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch bổ sung.

Toàn bộ các bệnh ung thư được đặc trưng bởi số lượng lớn các biến đổi di truyền và biểu sinh tạo ra nhiều kháng nguyên mà hệ miễn dịch có thể sử dụng để phân biệt tế bào khối u với các vị trí bình thường của chúng. Trong trường hợp của tế bào T, cường độ cuối cùng (ví dụ mức độ sản sinh xytokin hoặc tăng sinh) và đặc tính (ví dụ loại đáp ứng miễn dịch xuất hiện, như đáp ứng sản sinh xytokin) của đáp ứng được hoạt hóa nhờ nhận diện kháng nguyên bởi thụ thể tế bào T, được điều hòa bởi cân bằng giữa tín hiệu đồng kích thích và tín hiệu ức chế (hợp chất kiểm soát miễn dịch). Trong các điều kiện sinh lý bình thường, hợp chất kiểm soát miễn dịch là cần thiết để phòng ngừa tình trạng tự miễn (tức là duy trì khả năng tự dung nạp) và cũng bảo vệ mô khỏi bị tổn thương khi hệ miễn dịch phản ứng với bệnh lây nhiễm. Quá trình biểu hiện của protein kiểm soát miễn dịch có thể bị rối loạn bởi khối u do cơ chế kháng miễn dịch quan trọng.

Tế bào T đã được tập trung nghiên cứu để tìm ra liệu pháp miễn dịch kháng khối u nội sinh do i) khả năng của chúng để nhận diện chọn lọc peptit có nguồn gốc từ protein trong toàn bộ các khoang tế bào; ii) khả năng của chúng để nhận diện trực tiếp và tiêu diệt tế bào biểu hiện kháng nguyên (bởi tế bào T tác động biểu hiện CD8; cũng được gọi là lympho bào T gây độc tế bào); và iii) khả năng của chúng để điều hòa đáp ứng miễn dịch bởi tế bào T hỗ trợ biểu hiện CD4, tích hợp cơ thể tác động miễn dịch thu được và bẩm sinh. Trên lâm sàng, liệu pháp phong bế hợp chất kiểm soát miễn dịch-dẫn đến tăng

cường đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng nguyên sẽ là liệu pháp điều trị bệnh ung thư hữu hiệu.

Đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào T bao gồm nhiều bước nối tiếp, mỗi bước được điều hòa bởi cân bằng các tín hiệu kích thích và ức chế để tối ưu đáp ứng. Trong khi hầu hết các tín hiệu ức chế trong đáp ứng miễn dịch đều điều hòa các quá trình truyền tín hiệu nội bào, nhiều quá trình được hoạt hóa nhờ các thụ thể màng, các phối tử của chúng là phối tử gắn kết màng hoặc phối tử hòa tan (xytokin). Trong khi phối tử và thụ thể đồng kích thích và ức chế điều hòa hoạt hóa tế bào T thường không biểu hiện quá mức ở bệnh ung thư so với mô bình thường, phối tử và thụ thể ức chế điều hòa chức năng tác động tế bào T ở các mô thường được biểu hiện quá mức ở tế bào khối u hoặc tế bào không chuyển gen liên quan đến môi trường vi thể xung quanh khối u. Chức năng của phức hợp phối tử-thụ thể gắn kết màng và hòa tan kiểm soát miễn dịch có thể được điều hòa bằng cách sử dụng kháng thể chủ vận (đối với quá trình đồng kích thích) hoặc kháng thể đối kháng (đối với quá trình ức chế). Do đó, trái ngược với hầu hết kháng thể hiện đã được cấp phép để điều trị bệnh ung thư, kháng thể phong bế hợp chất kiểm soát miễn dịch không hướng đích trực tiếp đến tế bào khối u, nhưng hướng đích đến thụ thể lympho bào hoặc phối tử của chúng để tăng cường hoạt tính kháng khối u nội sinh. [xem Pardoll, (April 2012) *Nature Rev. Cancer* 12:252-64].

Ví dụ về hợp chất kiểm soát miễn dịch (phối tử và thụ thể), một số được điều hòa giảm biểu hiện một cách chọn lọc ở các loại tế bào khối u khác nhau, thích hợp để phong bế bao gồm PD1 (protein gây chết tế bào theo chương trình 1); PDL1 (PD1 phối tử); BTLA (Hợp chất làm giảm lympho bào B và T); CTLA4 (kháng nguyên liên quan đến lympho bào T gây độc tế bào 4); TIM3 (protein màng tế bào T 3); LAG3 (gen hoạt hóa lympho bào 3); A2aR (thụ thể adenosin A2a A2aR); và thụ thể ức chế gây chết, có thể được phân loại thành hai nhóm dựa trên cấu trúc của chúng: i) thụ thể tương tự globulin miễn dịch tế bào giết (KIR), và ii) thụ thể lectin tít C (thuộc họ thụ thể xuyên màng tít II). Các hợp chất ức chế kiểm soát miễn dịch khác đã được mô tả trong tài liệu chuyên ngành, bao gồm cả hai thụ thể (ví dụ thụ thể 2B4 (cũng được gọi là CD244)) và phối tử (ví dụ phối tử ức chế họ B7, như B7-H3 (cũng được gọi là CD276) và B7-H4 (cũng được gọi là B7-S1, B7x và VCTN1)). [xem Pardoll, (April 2012) *Nature Rev. Cancer* 12:252-64].

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với hợp chất ức chế thụ thể và phối tử kiểm soát miễn dịch nêu trên, cũng như các thụ thể và phối tử kiểm soát miễn dịch chưa biết. Một số chất điều hòa của hợp chất kiểm soát miễn dịch có bán trên thị trường, trong khi đó một số khác đang ở giai đoạn phát triển cuối cùng. Ví dụ, khi được cấp phép để điều trị bệnh ung thư sắc tố vào năm 2011, kháng thể đơn dòng nhân tạo CTLA4 có chiều dài đầy đủ ipilimumab (YERVOY; Bristol-Myers Squibb) đã trở thành dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch được cấp phép đầu tiên ở Hoa Kỳ. Protein dung hợp chứa CTLA4 và kháng thể (CTLA4-Ig; abatacept (ORENCIA; Bristol-Myers Squibb)) đã được sử dụng để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp, và các protein dung hợp khác đã được kiểm chứng là có tác dụng điều trị trên đối tượng cấy ghép thận tăng nhạy cảm với virus Epstein Barr. Kháng thể PD1 đã được sử dụng để điều trị bệnh ung thư, bao gồm ví dụ nivolumab (Bristol-Myers Squibb) và pembrolizumab (Merck), và kháng thể kháng PDL1 cũng đã được thử nghiệm (ví dụ MPDL3280A (Roche)). Nivolumab (Opdivo®) cũng có tác dụng điều trị cho đối tượng bị bệnh ung thư sắc tố, bệnh ung thư phổi và bệnh ung thư thận, cũng như nhiều bệnh ác tính khác.

Theo một khía cạnh theo sáng chế, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được kết hợp với dược chất kháng ung thư miễn dịch là (i) chất chủ vận thụ thể kích thích (bao gồm thụ thể đồng kích thích) hoặc (ii) chất đối kháng tín hiệu ức chế trên tế bào T (bao gồm tín hiệu đồng ức chế), đều dẫn đến khuếch đại đáp ứng tế bào T đặc hiệu kháng nguyên. Một số hợp chất ức chế và kích thích là hợp chất thuộc họ siêu globulin miễn dịch (IgSF). Một họ quan trọng của phối tử gắn kết màng gắn kết với thụ thể đồng kích thích hoặc thụ thể đồng ức chế là họ B7, bao gồm B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA), và B7-H6. Một họ khác của phối tử gắn kết màng gắn kết với thụ thể đồng kích thích hoặc thụ thể đồng ức chế là họ TNF của hợp chất gắn kết với họ thụ thể TNF tương tự, bao gồm CD40 và CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, Lymphotoxin α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, Lymphotoxin α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là xytokin ức chế hoạt hóa tế bào T (ví dụ IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF, và các xytokin ức chế miễn dịch khác) hoặc xytokin kích thích hoạt hóa tế bào T, để kích thích đáp ứng miễn dịch.

Theo một khía cạnh, đáp ứng tế bào T có thể được kích thích bằng chế phẩm kết hợp chứa hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế và một hoặc nhiều (i) chất đối kháng protein ức chế hoạt hóa tế bào T (ví dụ dược chất ức chế kiểm soát miễn dịch), như CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Galectin 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Galectin-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1, và TIM-4, và/hoặc (ii) chất chủ vận protein kích thích hoạt hóa tế bào T, như B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 và CD2. Dược chất khác có thể được kết hợp với hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế để điều trị bệnh ung thư bao gồm chất đối kháng thụ thể ức chế trên tế bào giết tự nhiên hoặc chất chủ vận thụ thể hoạt hóa trên tế bào giết tự nhiên hoặc. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với chất đối kháng KIR, như lirilumab.

Các dược chất khác để sử dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm dược chất ức chế hoặc tiêu diệt đại thực bào hoặc bạch cầu đơn nhân, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở chất đối kháng CSF-1R, như kháng thể đối kháng CSF-1R bao gồm RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) hoặc FPA-008 (WO11/140249; WO13169264; WO14/036357).

Theo một khía cạnh khác, hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được sử dụng với một hoặc nhiều dược chất chủ vận gắn kết thụ thể đồng kích thích dương tính, dược chất phong bế làm giảm truyền tín hiệu thông qua thụ thể ức chế, chất đối kháng, và một hoặc nhiều chất làm tăng tần suất của tế bào T kháng khối u, dược chất khắc phục ức chế miễn dịch riêng biệt trong môi trường vi thể quanh khối u (ví dụ phong bế thụ thể ức chế (ví dụ tương tác PD-L1/PD-1), tiêu diệt hoặc ức chế Treg (ví dụ kháng thể đơn dòng kháng CD25 (ví dụ daclizumab) hoặc loại bỏ hạt kháng CD5 ex vivo), hoặc đẩy lùi/ngăn ngừa tình trạng suy giảm hoặc suy kiệt tế bào T) và dược chất hoạt hóa miễn dịch và/hoặc gây viêm ở vị trí khối u.

Theo một khía cạnh, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng CTLA-4, như kháng thể đối kháng CTLA-4. Kháng thể CTLA-4 thích hợp bao gồm, ví dụ YERVOY (ipilimumab) hoặc tremelimumab.

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-1, như kháng thể đối kháng PD-1. Kháng thể PD-1 thích hợp bao gồm, ví dụ OPDIVO (nivolumab), KEYTRUDA (pembrolizumab), hoặc MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493). Dược chất kháng ung thư miễn dịch cũng có thể bao gồm pidilizumab (CT-011), mặc dù độ gắn kết đặc hiệu của nó với PD-1 vẫn chưa được biết rõ. Một dược chất khác để hướng đích thụ thể PD-1 là protein tái tổ hợp chứa vùng ngoại bào của PD-L2 (B7-DC) được dung hợp với vùng Fc của IgG1, được gọi là AMP-224

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-L1, như kháng thể đối kháng PD-L1. Kháng thể PD-L1 thích hợp bao gồm, ví dụ MPDL3280A (RG7446; WO2010/077634), durvalumab (MEDI4736), BMS-936559 (WO2007/005874), và MSB0010718C (WO2013/79174).

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng LAG-3, như kháng thể đối kháng LAG-3. Kháng thể LAG3 thích hợp bao gồm, ví dụ BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218), hoặc IMP-731 hoặc IMP-321 (WO08/132601, WO09/44273).

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD137 (4-1BB), như kháng thể chủ vận CD137. Kháng thể CD137 thích hợp bao gồm, ví dụ urelumab và PF-05082566 (WO12/32433).

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất chủ vận GITR, như kháng thể chủ vận GITR. Kháng thể GITR thích hợp bao gồm, ví dụ BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO06/105021, WO09/009116) và MK-4166 (WO11/028683).

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất chủ vận OX40, như kháng thể chủ vận OX40. Kháng thể OX40 thích hợp bao gồm, ví dụ MEDI-6383 hoặc MEDI-6469.

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng OX40L, như kháng thể đối kháng OX40. Chất đối kháng OX40L thích hợp bao gồm, ví dụ RG-7888 (WO06/029879).

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD40, như kháng thể chủ vận CD40. Theo phương án khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng CD40, như kháng thể đối kháng CD40. Kháng thể CD40 thích hợp bao gồm, ví dụ lucatumumab hoặc dacetuzumab.

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là chất chủ vận CD27, như kháng thể chủ vận CD27. Kháng thể CD27 thích hợp bao gồm, ví dụ varlilumab.

Theo một khía cạnh khác, dược chất kháng ung thư miễn dịch là MGA271 (kháng B7H3) (WO11/109400).

Sáng chế bao gồm muối được dụng, axit hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ nêu trên.

Bệnh virus.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, rối loạn và tình trạng bệnh lý virus, cũng như các rối loạn liên quan, bằng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza và ít nhất một dược chất điều trị hoặc dược chất chuẩn đoán bổ sung (ví dụ một hoặc nhiều dược chất kháng virus khác và/hoặc một hoặc nhiều chất không liên quan đến liệu pháp virus).

Liệu pháp điều trị kết hợp này bao gồm các dược chất kháng virus hướng đích các giai đoạn vòng đời khác nhau của virus và có cơ chế tác dụng khác nhau, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở hợp chất ức chế giải phóng protein vỏ của virus (ví dụ amantadin và rimantidin); hợp chất ức chế transcriptaza phiên mã ngược (ví dụ axyclovir, zidovudin, và lamivudin); dược chất hướng đích integraza; dược chất phong bế gắn yếu tố phiên mã vào ADN của virus; dược chất (ví dụ hợp chất đối mã) ảnh hưởng đến dịch mã (ví dụ fomivirsen); dược chất điều hòa chức năng dịch mã/ribozym; hợp chất ức chế proteaza; chất điều hòa lắp ráp virus (ví dụ rifampicin); dược chất kháng retrovirus, như hợp chất ức chế transcriptaza phiên mã ngược tương tự nucleosit (ví dụ azidothymidin (AZT), ddI, ddC, 3TC, d4T); hợp chất ức chế transcriptaza phiên mã ngược phi nucleosit (ví dụ

efavirenz, nevirapin); hợp chất ức chế transcriptaza phiên mã ngược tương tự nucleotit; và được chất ngăn ngừa giải phóng hạt virus (ví dụ zanamivir và oseltamivir). Phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa một số bệnh lây nhiễm virus (ví dụ HIV) thường sử dụng nhóm được chất kháng virus (“dung dịch hỗn hợp thuốc”).

Dược chất kháng virus khác để sử dụng kết hợp với hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở abacavir, adefovir, amantadin, amprenavir, ampligen, arbidol, atazanavir, atipla, boceprevirertet, cidofovir, combivir, darunavir, delavirdin, didanosin, docosanol, edoxudin, emtricitabin, enfuvirtide, entecavir, famciclovir, fosamprenavir, foscarnet, fosfonet, ganciclovir, ibacitabin, imunovir, idoxuridin, imiquimod, indinavir, inosin, interferon (ví dụ peginterferon alfa-2a), lopinavir, loviride, maraviroc, moroxydin, methisazon, nelfinavir, nexavir, penciclovir, peramivir, pleconaril, podophyllotoxin, raltegravir, ribavirin, ritonavir, pyrimidin, saquinavir, stavudin, telaprevir, tenofovir, tipranavir, trifluridin, trizivir, tromantadin, truvada, valaciclovir, valganciclovir, vicriviroc, vidarabin, viramidin, và zalcitabin.

[0001] Sáng chế bao gồm muối được dụng, axit hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ nêu trên.

Rối loạn ký sinh trùng.

Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với được chất kháng ký sinh trùng. Các được chất này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở thiabendazol, pyrantel pamoat, mebendazol, praziquantel, niclosamit, bithionol, oxamniquin, metrifonat, ivermectin, albendazol, eflornithie, melarsoprol, pentamidin, benznidazol, nifurtimox, và nitroimidazol. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được được chất khác hữu ích để điều trị rối loạn ký sinh trùng.

Sáng chế bao gồm muối được dụng, axit hoặc dẫn xuất của hợp chất bất kỳ nêu trên.

Bệnh nhiễm khuẩn.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế kết hợp với được chất hữu ích trong điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn

nhễm khuẩn. Dược chất kháng khuẩn có thể được phân loại theo nhiều cách, bao gồm dựa trên cơ chế tác dụng, dựa trên cấu trúc hóa học, và dựa trên phổ hoạt tính. Ví dụ về dược chất kháng khuẩn bao gồm dược chất tác dụng lên thành tế bào vi khuẩn (ví dụ cephalosporin và penicilin) hoặc màng tế bào (ví dụ polymyxins), hoặc can thiệp vào enzym thiết yếu của vi khuẩn (ví dụ sulfonamid, rifamycin và quinolin). Hầu hết dược chất kháng khuẩn ức chế tổng hợp protein (ví dụ tetracyclin và macrolit) là các chất kìm khuẩn, trong khi đó dược chất, như aminoglycosit là chất diệt khuẩn. Một phương pháp khác để phân loại dược chất kháng khuẩn là dựa trên độ đặc hiệu đích của chúng; “dược chất phổ hẹp” hướng đích các loài vi khuẩn cụ thể (ví dụ vi khuẩn Gram dương, như *Streptococcus*), trong khi đó “dược chất phổ rộng” có hoạt tính trên nhiều loài vi khuẩn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể dễ dàng xác định được dược chất kháng khuẩn thích hợp để điều trị bệnh nhiễm khuẩn.

Sáng chế bao gồm muối dược dụng, axit hoặc dẫn xuất của các dược chất và nhóm dược chất nêu trên.

Lượng hữu hiệu

Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể được sử dụng cho đối tượng ở lượng phụ thuộc vào mục đích sử dụng (ví dụ mức độ điều trị mong muốn); tuổi, cân nặng, giới tính, và tình trạng sức khỏe và thể chất của đối tượng sử dụng dược phẩm; đường đưa thuốc; và bản chất của bệnh, rối loạn, tình trạng bệnh lý hoặc triệu chứng của chúng. Phác đồ điều trị cũng có thể được xem xét dựa trên sự xuất hiện, bản chất, và mức độ của tác dụng không mong muốn bất kỳ liên quan đến dược chất được sử dụng. Lượng hữu hiệu và phác đồ điều trị có thể dễ dàng được xác định từ thử nghiệm an toàn và tăng liều, nghiên cứu *in vivo* (ví dụ mô hình động vật), và các phương pháp đã biết khác.

Nhìn chung, các thông số lượng cho thấy rằng lượng hữu hiệu là lượng nhỏ hơn lượng có thể gây độc không phục hồi cho đối tượng (liều dung nạp tối đa (MTD)) và không nhỏ hơn lượng cần có để tạo ra tác dụng có thể định lượng được ở đối tượng. Các lượng này được xác định bằng các thông số dược động hoặc và dược lực học liên quan đến ADME, có xem xét đến đường đưa thuốc và các yếu tố khác.

Lượng hữu hiệu là liều hoặc lượng của dược chất tạo ra đáp ứng điều trị hoặc tác dụng mong muốn ở một số bộ phận của đối tượng sử dụng. “Lượng hữu hiệu trung bình”

hoặc nồng độ ED₅₀ của dược chất là liều hoặc lượng của dược chất tạo ra đáp ứng điều trị hoặc tác dụng mong muốn ở 50% số đối tượng sử dụng. Mặc dù nồng độ ED₅₀ thường được sử dụng làm để đánh giá tác dụng của dược chất, nhưng nồng độ này không nhất thiết được sử dụng khi điều trị toàn bộ các yếu tố liên quan. Do đó, trong một số trường hợp, lượng hữu hiệu cao hơn nồng độ ED₅₀ tính toán được, trong các trường hợp khác, lượng hữu hiệu nhỏ hơn nồng độ ED₅₀ tính toán được, và trong các trường hợp khác, lượng hữu hiệu là tương đương với nồng độ ED₅₀ tính toán được.

Ngoài ra, lượng hữu hiệu của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế có thể là lượng khi được sử dụng ở một hoặc nhiều liều cho đối tượng, tạo ra tác dụng mong muốn như với đối tượng khỏe mạnh. Ví dụ, đối với đối tượng bị rối loạn cụ thể, lượng hữu hiệu có thể là lượng cải thiện thông số chuẩn đoán, kết quả xét nghiệm, dấu chuẩn và thông số tương tự của rối loạn ít nhất khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 90%, hoặc cao hơn 90%, trong đó 100% được định nghĩa là thông số chuẩn đoán, kết quả xét nghiệm, dấu chuẩn và thông số tương tự của đối tượng bình thường.

Để sử dụng qua đường miệng, chế phẩm có thể được bào chế ở dạng viên nén, viên nang và dạng bào chế tương tự chứa từ 1,0 đến 1000mg hoạt chất, cụ thể là 1,0, 3,0, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 50,0, 75,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 400,0, 500,0, 600,0, 750,0, 800,0, 900,0, và 1000,0mg hoạt chất.

Theo một số phương án, lượng của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza mong muốn được chứa trong “dạng bào chế đơn vị”. Thuật ngữ “dạng bào chế đơn vị” được dùng trong bản mô tả để chỉ dạng bào chế đơn vị tách rời về mặt vật lý, mỗi đơn vị chứa lượng xác định trước của hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, riêng hoặc kết hợp với một hoặc nhiều dược chất bổ sung, đủ để tạo ra tác dụng mong muốn. Đã biết rằng các thông số của dạng bào chế đơn vị sẽ phụ thuộc vào dược chất cụ thể và tác dụng cần đạt được.

Kit

Sáng chế cũng đề cập đến kit chứa hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, và dược phẩm chứa hợp chất này. Kit thường có đồ chứa chứa các thành phần khác nhau,

như được mô tả dưới đây, và có thể được sử dụng, ví dụ trong thực hiện các phương pháp mô tả nêu trên.

Kit có thể bao gồm một hoặc nhiều hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế (được đựng trong đồ chứa vô trùng), có thể ở dạng dược phẩm thích hợp để sử dụng cho đối tượng. Hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza có thể ở dạng dễ sử dụng (ví dụ viên nén hoặc viên nang) hoặc dạng cần hoàn nguyên hoặc pha loãng (ví dụ bột) trước khi sử dụng. Khi hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza ở dạng cần hoàn nguyên hoặc pha loãng bởi người sử dụng, kit cũng có thể bao gồm tá dược pha loãng (ví dụ nước vô trùng), chất đệm, tá dược được đựng, và các tá dược tương tự, được đóng gói riêng hoặc cùng hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza. Khi liệu pháp điều trị kết hợp được thực hiện, kit có chứa một số dược chất riêng biệt hoặc chúng đã được kết hợp trong kit. Mỗi thành phần của kit có thể được bao gói trong đồ chứa riêng, và toàn bộ các đồ chứa này có thể được đựng trong một bao bì. Kit theo sáng chế có thể được thiết kế trong các điều kiện cần duy trì ổn định các thành phần chứa trong đó (ví dụ điều kiện trong tủ lạnh hoặc tủ lạnh đông).

Kit có thể chứa nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng bao gồm thông tin xác định về các thành phần chứa trong đó và hướng dẫn sử dụng chúng (ví dụ thông số lượng, đặc tính dược lý lâm sàng của hoạt chất, bao gồm cơ chế tác dụng, thông số dược động học và dược lực học, tác dụng không mong muốn, chống chỉ định, v.v). Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng có thể bao gồm thông tin nhà sản xuất, như số lô và hạn sử dụng. Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng có thể được tích hợp vào đồ chứa chứa các thành phần, chứa riêng trong đồ chứa, hoặc gắn liền với thành phần của kit (ví dụ ống tiêm, ống hoặc lọ).

Nhãn hoặc tờ hướng dẫn sử dụng cũng có thể được chứa hoặc tích hợp vào phương tiện có thể đọc được trên máy vi tính, như đĩa (ví dụ đĩa cứng, thẻ, đĩa nhớ), đĩa quang, như CD hoặc DVD-ROM/RAM, DVD, MP3, băng từ, hoặc phương tiện ghi điện tử, như RAM và ROM hoặc tổ hợp của chúng, như phương tiện ghi quang/từ, phương tiện FLASH hoặc thẻ nhớ. Theo một số phương án, tờ hướng dẫn sử dụng thực tế không được tích hợp trong kit, nhưng các phương pháp để thu được thông tin hướng dẫn sử dụng từ nguồn thông tin từ xa, ví dụ nhờ internet, được cung cấp.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau được thể hiện để mô tả chi tiết hơn sáng chế, và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế, hoặc thể hiện các thử nghiệm dưới đây được thực hiện hoặc toàn bộ các thử nghiệm có thể được thực hiện. Cần hiểu rằng phần mô tả được viết ở thì hiện tại không cần được thực hiện, nhưng phần mô tả có thể được thực hiện để thu được dữ liệu và dấu hiệu tương tự của tính chất được mô tả. Các nỗ lực đã được thực hiện để đảm bảo tính chính xác đối với các chữ số sử dụng (ví dụ lượng, nhiệt độ, v.v), nhưng một số sai sót và sai lệch thực nghiệm cần được tính.

Trừ khi có quy định khác, phần là phần khối lượng, khối lượng phân tử là khối lượng phân tử trung bình, nhiệt độ là °C, và áp suất là ở hoặc ở gần áp suất khí quyển. Các ký hiệu viết tắt tiêu chuẩn được sử dụng bao gồm: wt = thể đại; bp = cặp bazơ; kb = kilobazơ; nt = nucleotit; aa = axit amin; s hoặc sec = giây; min = phút; h hoặc hr = giờ; ng = nano gam; µg = micro gam; mg = milli gam; g = gam; kg = kilo gam; dl hoặc dL = dexi lít; µl hoặc µL = microlít; ml hoặc mL = mililít; l hoặc L = lít; µM = micromol; mM = milimol; M = mol; kDa = kilodalton; i.m. = tiêm bắp; i.p. = tiêm màng bụng; SC hoặc SQ = tiêm dưới da; QD = hàng ngày; BID = hai lần mỗi ngày; QW = hàng tuần; QM = hàng tháng; HPLC = sắc ký lỏng hiệu năng cao; BW = trọng lượng cơ thể; U = đơn vị; ns = không có ý nghĩa thống kê; PBS = dung dịch nước muối đệm phosphat; IHC = hóa mô miễn dịch; DMEM = môi trường Dulbecco Eagle cải tiến; EDTA = axit etylendiamintetraaxetic.

Vật liệu và phương pháp

Các vật liệu và phương pháp sau được sử dụng trong các ví dụ dưới đây.

Các phương pháp sinh học phân tử tiêu chuẩn được mô tả trong các tài liệu chuyên ngành (ví dụ, xem Sambrook et al, *Molecular Cloning*, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); và Ausubel et al, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY (2001), mô tả phương pháp tách dòng tế bào vi khuẩn và đột biến ADN (Vol. 1), phương pháp tách dòng tế bào động vật có vú và nấm men (Vol. 2), thể tiếp hợp glyco và biểu hiện protein (Vol. 3), và tinh sinh học (Vol. 4)).

Phương pháp tinh chế protein, bao gồm phương pháp kết tủa miễn dịch, phương pháp sắc ký, phương pháp điện di, phương pháp ly tâm, và phương pháp kết tinh, cũng như phân tích hóa học, cải biến hóa học, cải biến sau dịch mã, sản xuất protein dung hợp,

và glycosyl hóa protein được mô tả trong các tài liệu chuyên ngành (ví dụ, xem Coligan, et al, *Current Protocols in Protein Science*, Vols. 1-2, John Wiley and Sons, Inc, NY (2000)).

Các gói phần mềm và cơ sở dữ liệu để xác định mảnh kháng nguyên, trình tự chỉ huy, protein gấp nếp, vùng chức năng, vị trí glycosyl hóa, và sắp thẳng hàng trình tự là có sẵn (ví dụ, xem GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc, San Diego, CA); và DECYPHER® (TimeLogic Corp, Crystal Bay, NV).

Các thử nghiệm và phương pháp thử nghiệm khác có thể được sử dụng để đánh giá hợp chất theo sáng chế được mô tả trong tài liệu chuyên ngành.

Thử nghiệm enzym indolamin 2,3-dioxygenaza và sản sinh kynurenin trong tế bào được mô tả trong Sarkar, S.A. et al, *Diabete*, 56:72-79 (2007). Cụ thể, toàn bộ các hóa chất do Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) cung cấp, trừ khi có quy định khác. Hỗn hợp gồm 1000 đảo tụy của người có thể được nuôi cấy trong 24 giờ trong 1mL môi trường chứa xytokin, thu nhận bằng cách ly tâm trong 5 phút ở tốc độ bằng 800 x g và siêu âm trong 150µL PBS chứa dung dịch hỗn hợp ức chế proteaza (bộ hỗn hợp 2; Calbiochem, EMD Biosciences, San Diego, CA). Dịch siêu âm có thể được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 10000 xg, và dịch nổi có thể được thử nghiệm ba lần bằng cách ủ 40µL mẫu với thể tích tương đương của 100mmol/L dung dịch đệm kali phosphat, độ pH = 6,5, chứa 40mmol/L axit ascorbic (được trung hòa đến độ pH = 7,0), 100µmol/L xanh metylen, 200µg/mL catalaza, và 400µmol/L L-Trp trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Thử nghiệm được kết thúc bằng cách bổ sung axit tricloaxetic 30% (16µL, khối lượng/thể tích) (TCA) và tiếp tục ủ ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút để thủy phân *N*-formylkynurenin thành kynurenin. Sau đó, hỗn hợp có thể được ly tâm ở tốc độ bằng 12000 vòng/phút trong 15 phút, và kynurenin có thể được định lượng bằng cách trộn thể tích tương đương của dịch nổi với thuốc thử Ehrlich 2% (khối lượng/thể tích) trong axit axetic băng trong vi đĩa 96 giếng và đọc độ hấp thụ ở bước sóng 480nm sử dụng chất chuẩn là L-kynurenin. Protein trong các mẫu đảo tụy có thể được định lượng bằng thử nghiệm protein Bio-Rad ở bước sóng 595nm. Để phát hiện L-kynurenin trong dịch nổi nuôi cấy đảo tụy, protein có thể được kết tủa bằng 5% (khối lượng/thể tích) TCA và ly tâm ở tốc độ 12000 vòng/phút trong 15 phút, và kynurenin trong dịch nổi có thể được định lượng bằng thuốc thử Ehrlich như nêu trên. IL-4 (10µg/mL; 500-2,000 đơn vị/mL) và 1- α -metyl Trp (1-MT; 40µmol/L) có thể được bổ

sung vào môi trường ủ theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thử nghiệm này cũng là cơ sở cho thử nghiệm tế bào, và có thể định lượng bằng phương pháp LCMS/MS thay cho phân tích phát hiện UV/Vis.

Phân tích thẩm tách Westen.

Hỗn hợp gồm 1000 -1200 đảo tụy được ủ trong 24 giờ trong môi trường Miami trong sự có mặt của các xytokin có thể được thu nhận và siêu âm trong PBS như nêu trên, và các mẫu protein (50 μ g) có thể được điện di trên gel SDS-PAGE 10%. Các tế bào COS7 ($0,6 \times 10^6$ tế bào/đĩa petri 60mm³) được chuyển nạp bằng plasmit IDO của người (3 μ g) hoặc tế bào vectơ trống có thể tương ứng được sử dụng làm mẫu đối chứng dương và mẫu đối chứng âm. Protein có thể được điện chuyển lên các màng polyvinylidene florua bằng phương pháp bán khô và phong bế trong 1 giờ bằng sữa khô không béo 5% (khối lượng/thể tích) trong dung dịch muối đệm Tris và 0,1% Tween, sau đó ủ qua đêm với kháng thể của chuột kháng IDO của người (1:500; Chemicon, Temecula, CA), phospho-STAT_{1 α} p91, và STAT_{1 α} p91 (1:500; Zymed, San Francisco, CA). Protein phản ứng miễn dịch có thể được hiện thị bằng thuốc thử phát hiện thẩm tách Westen ECL PLUS® (Amersham BioSciences, Buckinghamshire, U.K) sau khi ủ trong 1 giờ với kháng thể thứ cấp liên hợp peroxidaza của cây cải ngựa kháng IgG của chuột (Jackson Immunolabs, West Grove, PA).

Phát hiện indolamin 2,3-dioxygenaza bằng phương pháp hóa mô miễn dịch.

Đảo tụy có thể được cố định trong paraformaldehyt 4% trong PBS (Invitrogen) trong 1 giờ, cố định trong khối gelatin đa lợn nóng chảy 10% (37°C), và ngâm trong hợp chất ở nhiệt độ cắt tối ưu. Mô đảo tụy có thể được nhuộm miễn dịch huỳnh quang trên các mảnh mô kích cỡ 7 μ m đã được nhuộm kháng thể kháng hợp đồng nhất 1 ở tá tràng tụy (PDX1) và IDO. Kháng nguyên có thể được phục hồi trong bể nước trong 30 phút trong dung dịch đệm chứa 10mmol/L Tris và 1mmol/L EDTA (độ pH = 9,0) ở nhiệt độ 97°C. The sections có thể được phong bế trong 1 giờ bằng huyết thanh dê đẳng trương 5% trong PBS. Sau đó, các mô này có thể được cho phản ứng với kháng thể đơn dòng của chuột kháng IDO của người (1:20; Chemicon) và kháng thể đa dòng của dê kháng PDX1 của người (1:2000; do Dr. Chris Wright, School of Medicine, Vanderbilt, TN cung cấp) qua đêm ở nhiệt độ phòng trong buồng ẩm. Các kháng thể thứ cấp kháng dê (được đánh dấu bằng Cy3) và kháng chuột (được đánh dấu bằng Cy2) do Jackson Immunolabs

cung cấp và có thể được sử dụng ở nồng độ bằng 1:200. Các nhân có thể được nhuộm bằng Hoechst 33258 (Molecular Probes, Eugene, OR). Các hình ảnh có thể được chụp bằng phần mềm Intelligent Imaging System từ kính hiển vi Olympus 1X81 gắn động cơ đảo chiều được trang bị máy chụp ảnh Olympus DSU (đĩa quay đồng tiêu) và Hamamatsu ORCA IIER đơn sắc CCD.

Các phương pháp khác để đánh giá hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza theo sáng chế được mô tả trong WO 2010/0233166 và mô tả dưới đây.

Thử nghiệm sinh hóa.

Các sản phẩm tách dòng ADN bổ sung mã hóa cả indolamin 2,3-dioxygenaza của người lẫn chuột đã được phân lập và giải trình tự và có bán trên thị trường. Để điều chế indolamin 2,3-dioxygenaza dùng cho các thử nghiệm sinh hóa, protein indolamin 2,3-dioxygenaza được đánh dấu His ở đầu tận cùng C có thể được sản xuất trong *E. coli* bằng cách sử dụng hệ vectơ pET5a cảm ứng IPTG và phân lập bằng cột niken. Hàm lượng của protein đã được tinh chế một phần có thể được xác định bằng phương pháp điện di trên gel và hàm lượng được xác định bằng cách so sánh với chuẩn protein. Để thử nghiệm hoạt tính enzym indolamin 2,3-dioxygenaza, thử nghiệm quang phổ đĩa 96 giếng về sản sinh kynurenin có thể được thực hiện theo các tài liệu chuyên ngành (ví dụ, xem Littlejohn, T.K., et al, *Prot. Exp. Purif.*, 19:22-29 (2000)). Để sàng lọc hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenazay, các hợp chất có thể được đánh giá ở một nồng độ bằng 200 μ M so với 50ng enzym indolamin 2,3-dioxygenaza trong thể tích phản ứng bằng 100 μ L với tryptophan được bổ sung ở nồng độ tăng, ví dụ 0 μ M, 2 μ M, 20 μ M, và 200 μ M. Sự sản sinh kynurenin có thể được đánh giá sau 1 giờ.

Thử nghiệm tế bào.

Các tế bào COS-1 có thể được chuyển nạp tạm thời với plasmit được điều khiển bằng vùng khởi đầu CMV biểu hiện ADN bổ sung mã hóa indolamin 2,3-dioxygenaza sử dụng Lipofectamin 2000 (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Một quần thể tế bào khác có thể được chuyển nạp tạm thời với plasmit biểu hiện indolamin 2,3-dioxygenaza. Sau 48 giờ chuyển nhiễm, các tế bào có thể được chuyển vào đĩa 96 giếng ở mật độ bằng 6×10^4 tế bào/giếng. Vào ngày hôm sau, các giếng có thể được rửa và môi trường mới (không chứa đồ phenol) chứa 20 μ g/mL tryptophan có thể được bổ sung vào cùng với chất ức chế. Phản ứng có thể được dừng sau 5 giờ và dịch nổi được phân tách và

thử nghiệm định lượng kynurenin bằng phương pháp quang phổ được thực hiện như mô tả nêu trên trong thử nghiệm enzym. Để sàng lọc hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza, các hợp chất có thể được đánh giá ở một nồng độ bằng 100 μ m. Các dữ liệu tăng liều chi tiết hơn có thể được thu thập để chọn lọc các hợp chất.

Đánh giá thông số dược động học và dược lực học.

Thử nghiệm dược động học có thể được thực hiện bằng cách đo nồng độ trong huyết thanh của cả kynurenin lẫn tryptophan, và tính toán tỷ lệ kynurenin/tryptophan để xác định hoạt tính indolamin 2,3-dioxygenaza phụ thuộc vào nồng độ tryptophan trên đường nền. Nồng độ trong huyết thanh của tryptophan và kynurenin có thể được xác định bằng phương pháp HPLC, và nồng độ trong huyết thanh của hợp chất tùy ý cũng có thể được xác định bằng cùng phương pháp HPLC.

Hợp chất có thể được đánh giá ban đầu bằng cách gây miễn dịch cho chuột nhắt bằng LPS, sau đó sử dụng liều một lần của hợp chất ở thời điểm mà nồng độ trong huyết thanh của kynurenin không đổi. Do kynurenin được chuyển hóa nhanh với thời gian bán thải trong huyết thanh nhỏ hơn 10 phút, kynurenin đã tồn tại không được kỳ vọng là không thể che giấu được tác động mà hợp chất ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza đã sản sinh kynurenin. Mỗi thử nghiệm có thể bao gồm các chuột nhắt không được điều trị bằng LPS (để xác định nồng độ của kynurenin ở đường nền so với các chuột nhắt còn lại) và các chuột nhắt được điều trị bằng LPS được sử dụng riêng tá được lỏng (để thu được mẫu đối chứng dương để hoạt hóa indolamin 2,3-dioxygenaza). Mỗi hợp chất có thể được đánh giá ban đầu trên chuột nhắt ở liều đơn tiêm màng bụng ít nhất bằng 100mg/kg. Máu có thể được lấy ở các thời điểm xác định (ví dụ, 50 μ L mẫu sau 5, 15, 30 phút, 1, 2, 4, 6, 8, và 24 giờ sử dụng hợp chất) để xác định nồng độ của kynurenin và tryptophan bằng phương pháp HPLC (phân tích dược động học) cũng như nồng độ của hợp chất (phân tích dược lực học). Từ dữ liệu dược lực học, nồng độ cực đại trong huyết thanh của hợp chất đạt được có thể được xác định cũng như độ thanh thải được xác định. Bằng cách so sánh nồng độ trong huyết thanh của hợp chất với tỷ lệ kynurenin/tryptophan ở các thời điểm khác nhau, nồng độ IC₅₀ ức chế hữu hiệu indolamin 2,3-dioxygenaza *in vivo* có thể được xác định chính xác. Các hợp chất có hiệu lực có thể được đánh giá để xác định liều tối đa ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza 100% IDO ở nồng độ cực đại.

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ sau. Các ví dụ này chỉ nhằm mục đích minh họa sáng chế chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Các ký hiệu viết tắt được sử dụng bao gồm: “1 x” = 1 lần, “2 x” = hai lần, “3 x” = ba lần, “°C” = độ Celsius, “eq” = đương lượng, “g” = gam, “mg” = miligam, “L” = lít, “mL” = mililit, “μL” = microlit, “N” = nồng độ đương lượng, “M” = mol, “mmol” = milimol, “min” = phút, “h” = giờ, “rt” = nhiệt độ phòng, “T_r” = thời gian lưu, “atm” = áp suất khí quyển, “psi” = pao/in sơ vuông, “conc.” = cô hoặc được cô, “aq” = “nước”, “sat” hoặc “sat’d” = bão hòa, “MW” = khối lượng phân tử, “mp” = nhiệt độ nóng chảy, “MS” hoặc “Mass Spec” = khối phổ, “ESI” = khối phổ ion hóa bằng tia điện, “HR” = độ phân giải cao, “HRMS” = khối phổ độ phân giải cao, “LCMS” = sắc ký lỏng ghép khối phổ, “HPLC” = sắc ký lỏng hiệu năng cao, “RP HPLC” = HPLC pha đảo, “TLC” hoặc “tlc” = sắc ký lớp mỏng, “NMR” = phổ cộng hưởng từ hạt nhân, “nOe” = phổ hiệu ứng hạt nhân Overhauser, “¹H” = proton, “δ” = delta, “s” = vạch đơn, “d” = vạch đôi, “t” = vạch ba, “q” = vạch bốn, “m” = nhiều vạch, “br” = vạch rộng, “Hz” = héc, và “α”, “β”, “R”, “S”, “E”, và “Z” là các ký hiệu hóa lập thể đã biết trong lĩnh vực này.

Me	metyl
Et	etyl
Pr	propyl
<i>i</i> -Pr	isopropyl
Bu	butyl
<i>i</i> -Bu	isobutyl
<i>t</i> -Bu	<i>tert</i> -butyl
Ph	phenyl
Bn	benzyl
Hex	hexan
MeOH	metanol
EtOH	etanol
<i>i</i> -PrOH hoặc IPA	isopropanol
AcOH hoặc HOAc	axit axetic
BOP	(benzotriazol-1-yloxy)tris(dimethylamino)phosphoni hexaflophosphat
CDCl ₃	đoteri-cloroform
CHCl ₃	cloroform
DCM	điclometan
cDNA	ADN bổ sung
DMF	đimetyl formamit
DMSO	đimetyl sulfoxit
DIAD	Điisopropyl azodicarboxylat
DIPEA	<i>N,N</i> -điisopropyletylamin
EDC hoặc EDCI	1-Etyl-3-(3-đimetylaminopropyl) carbodiimitt
EDTA	axit etylendiāmintetraaxetic
EtOAc	etyl axetat

Et ₂ O	đietyl ete
AlCl ₃	nhôm clorua
Boc	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl
CH ₂ Cl ₂	điclometan
CH ₃ CN hoặc ACN	axetonitril
Cs ₂ CO ₃	xeri carbonat
HCl	axit hydrocloric
H ₂ SO ₄	axit sulfuric
HOBt	Hydroxybenzotriazol (và hydrat)
HATU	1-[Bis(đimetylamin)metylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridin trong 3-oxit hexaflophosphat
Bazơ Hunig, DIPEA	điisopropyletylamin
K ₂ CO ₃	kali carbonat
mCPBA hoặc m-CPBA	axit meta-cloperbenzoic
Pd/C	paladi cacbon
PS	polystyren
PyBOP	(benzotriazol-1-yloxy)tripyrolidinophosphoni hexaflophosphat
SiO ₂	silic đioxit
SnCl ₂	thiếc (II) clorua
TEA	trietylamin
TFA	axit trifloaxetic
TFAA	trifloaxetic anhydrit
THF	tetrahydrofuran
TMSCHN ₂	trimetylsilyldiazometan
KOAc	kali axetat
LHMDS	Lithi hexametyldisilazit
MgSO ₄	magie sulfat
NMP	N-metylpyrolidon
MsOH hoặc MSA	axit metylsulfonic
NaCl	natri clorua
NaH	natri hyđrua
NaHCO ₃	natri bicarbonat
NaOH	natri hyđroxit
Na ₂ SO ₃	natri sulfit
Na ₂ SO ₄	natri sulfat
NH ₃	amoniac
NH ₄ Cl	amoni clorua
NH ₄ OH	amoni hyđroxit
LG	nhóm rời chuyển
RT, rt	Nhiệt độ phòng
RP	Pha đảo

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp được mô tả dưới đây, cùng với các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các phương pháp ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương pháp được mô tả dưới đây. Các phản ứng được thực hiện trong dung môi hoặc hỗn hợp dung môi thích hợp với các thuốc thử và vật liệu được sử dụng và thích hợp để thực hiện phản ứng biến đổi. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng Các chức năng

hiện có trên phân tử phải phù hợp với các phản ứng đối được đề cập đến. Điều này đôi khi sẽ yêu cầu phương án để cải biến thứ tự của các bước tổng hợp hoặc để chọn một sơ đồ quy trình cụ thể để thu được hợp chất mong muốn theo sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế sử dụng các phản ứng và kỹ thuật được mô tả trong phần này. Trong các phương pháp tổng hợp được mô tả dưới đây, cần hiểu rằng toàn bộ các điều kiện phản ứng, bao gồm việc lựa chọn dung môi, áp suất phản ứng, nhiệt độ phản ứng, thời gian thử nghiệm và quy trình thực hiện, là các điều kiện chuẩn để phản ứng, dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Hạn chế đối với các phân tử thể tương thích với các điều kiện phản ứng sẽ dễ dàng được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và sau đó phương pháp thay thế cần được sử dụng.

Phương pháp điều chế

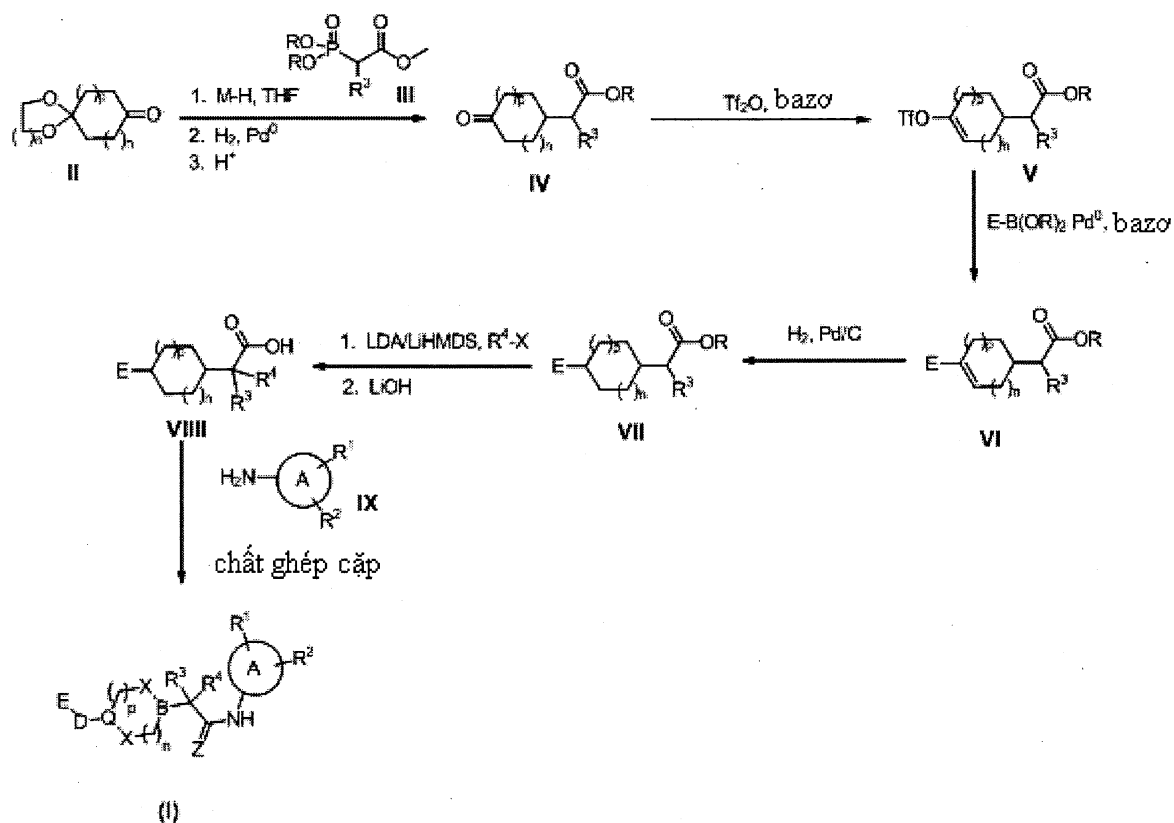
Các hợp chất theo sáng chế có thể là được điều chế bằng phương pháp, như các phương pháp được mô tả trong các sơ đồ sau bằng cách sử dụng các phản ứng biến đổi hóa học đã biết trong lĩnh vực này. Các dung môi, nhiệt độ, áp suất, và các điều kiện phản ứng khác có thể dễ dàng được chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các hợp chất ban đầu có bán trên thị trường hoặc dễ dàng được điều chế bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các sơ đồ không nhằm mục đích giới hạn các phương pháp có thể được sử dụng để điều chế hợp chất theo sáng chế. Các phương pháp có thể đã biết trong lĩnh vực này. Ngoài ra, các bước điều chế khác nhau có thể được thực hiện theo thứ tự hoặc trình tự thay thế để thu được hợp chất mong muốn. Hơn nữa, các phản ứng trong các sơ đồ này là các bước tách biệt không thực hiện nối tiếp, bằng cách lồng ghép nhiều bước trong cùng bình phản ứng hoặc bằng cách thực hiện nhiều bước mà không cần tinh chế hoặc xác định công thức cấu tạo của hợp chất trung gian. Ngoài ra, nhiều hợp chất điều chế bằng phương pháp dưới đây có thể tiếp tục được biến đổi bằng cách dùng các phương pháp thông thường đã biết trong lĩnh vực này. Toàn bộ các tài liệu trích dẫn được kết hợp vào sáng chế bằng cách viện dẫn.

Nhiều phản ứng biến đổi hóa học này được mô tả trong tài liệu Smith, M.B. et al, *March's Advanced Organic Chemistry Phản ứngs, Mechanisms, and Structure*, Fifth Edition, Wiley-Interscience, New York (2001), hoặc các tài liệu chuẩn khác. Một số phản ứng biến đổi cần bảo vệ nhóm chức phản ứng bằng nhóm bảo vệ. Các điều kiện để gắn,

loại bỏ, và độ nhạy tương đối với các điều kiện phản ứng của các nhóm này được mô tả trong Greene, T.W. et al, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley-Interscience, New York (1999).

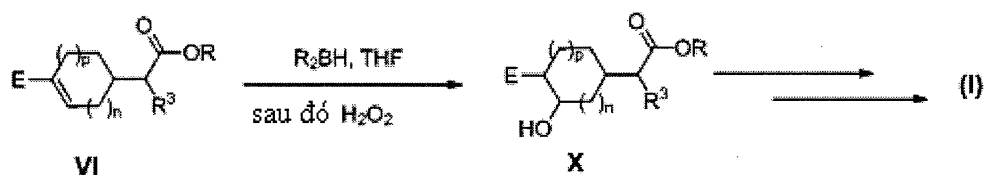
Liên quan đến sơ đồ 1, trong điều kiện Horner-Wadsworth Emmons tiêu chuẩn xyclohexanon II được cho phản ứng với phosphonat III để thu được este không no tương ứng. Thực hiện phản ứng hydro hóa xúc tác bằng Pd/C và khí hydro, sau đó thủy phân ketal trong điều kiện axit để thu được xycloalkanon có công thức IV. Hợp chất IV được cho phản ứng với triflic anhydrit và bazơ hữu cơ, như 2,6-lutidin để thu được vinyl triflat có công thức V. Hợp chất V được ghép cặp với axit arylboronic hoặc este arylboronic E-B(OR)₂, tốt hơn nếu trong điều kiện Suzuki (xem Kotha, S. et al, *Tetrahedron*, 58:9633-9695 (2002)) để thu được xycloalken có công thức VI. Thông thường, phản ứng này được thực hiện bằng cách gia nhiệt halogenua và axit hoặc este boronic đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 90°C đến 98°C với bazơ, như dung dịch nước natri triaxit hoặc kali phosphat hoặc natri carbonat hoặc kali carbonat trong dung môi, như đioxan, DMF, THF, hoặc NMP bằng cách sử dụng chất xúc tác, như tetrakis(triphenylphosphin)paladi hoặc Cl₂Pd(dppf). Nhiều biến thể của phản ứng này bao gồm việc sử dụng các nhiệt độ, dung môi, bazơ, điều kiện khan, chất xúc tác, dẫn xuất boronat, và chất thay thế halogenua, như triflat đã biết trong lĩnh vực này. Các điều kiện vừa phải đã được ghi nhận để ghép cặp các dẫn xuất axit boronic nhạy cảm. xem Kinzel, T. et al, *J. Am. Chem. Soc.*, 132(40):14073-14075 (2010). Olefin VII có thể được bão hòa bằng cách cho phản ứng với Pd/C trong điều kiện khí hydro để thu được hợp chất có công thức VII dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân cis và chất đồng phân trans xung quanh vòng cacbon. Este này được tiếp tục thế bằng cách cho phản ứng với bazơ mạnh, như LDA hoặc LiHMDS, sau đó bổ sung hợp chất điện tử R⁴-X, trong đó X là Br hoặc I, để thu được hợp chất có công thức VIII sau khi thủy phân bazơ với bazơ, như LiOH. Axit VIII được ghép cặp với amin có công thức IX trong điều kiện tiêu chuẩn, đã biết trong lĩnh vực này, để thu được hợp chất có công thức (I).

Sơ đồ 1



Như được thể hiện trong sơ đồ 2, olefin VI có thể được hydroborat hóa bằng cách cho phản ứng với boran, như catechol boran, sau đó oxy hóa bằng hydro peroxit để thu được hợp chất hydroxyl có công thức X, dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân. Hợp chất X có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng phương pháp mô tả trong sơ đồ 1.

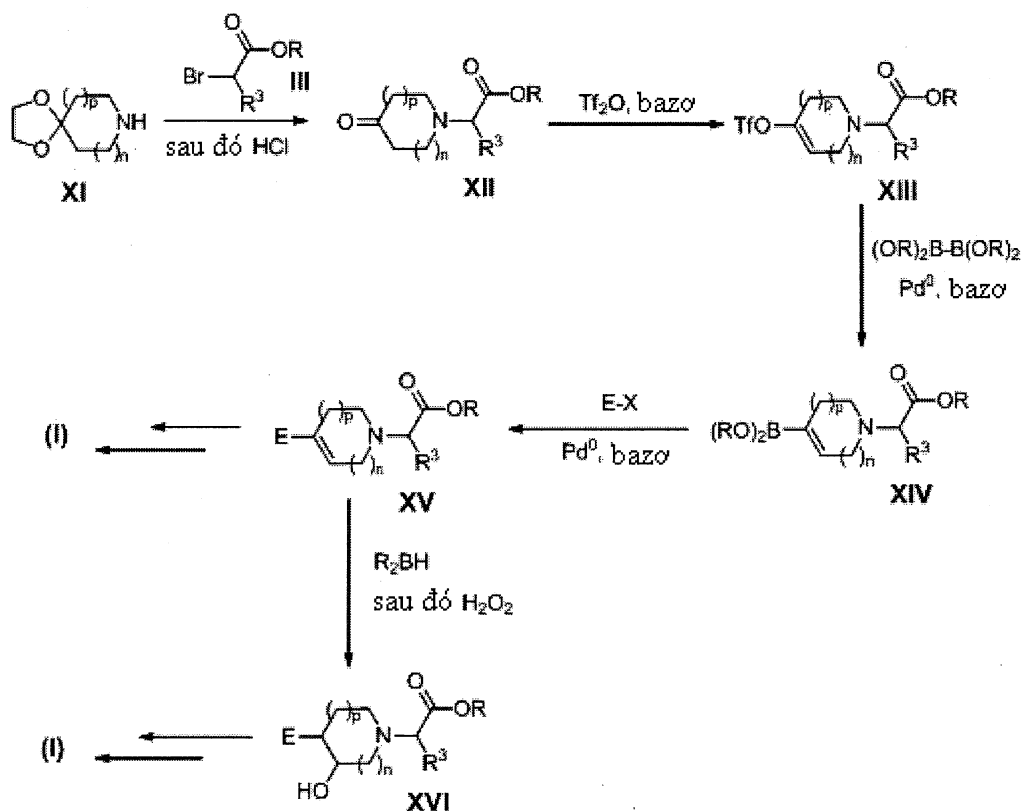
Sơ đồ 2



Trong sơ đồ 3, piperidinon được bảo vệ có công thức XI được N-alkyl hóa bằng cách cho phản ứng với haloaxetat có công thức III ($X=Br, Cl$), sau đó thủy phân trong điều kiện axit ketal để thu được keto este có công thức XII. Vinyl triflat được điều chế như trên để thu được hợp chất có công thức XIII. Vinyl triflat được cho phản ứng với điboran, như bis-pinnacolatoboran, trong sự có mặt của nguồn $Pd(0)$, như $(PPh_3)_4Pd$, để thu được vinyl bornic este có công thức XIV. Thực hiện phản ứng ghép cặp Suzuki aryl

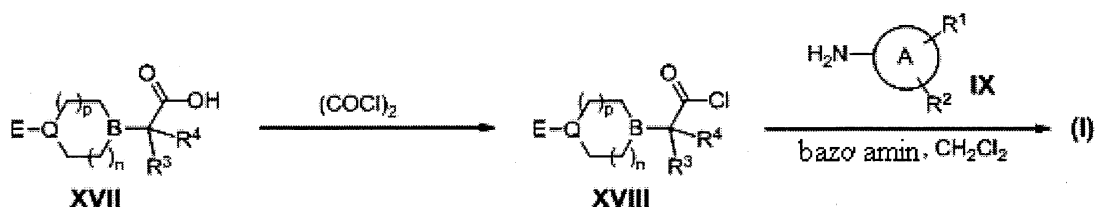
halogenua E-X, trong đó X=Br, I, Cl, OTf, trong điều kiện tiêu chuẩn mô tả nêu trên để thu được hợp chất không no có công thức XV. Hợp chất có công thức XV có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế. Theo một phương án khác, hợp chất có công thức XV có thể được cho phản ứng với boran, như catechol boran, sau đó oxy hóa bằng hydro peroxit, để thu được hợp chất có công thức XVI, có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 3



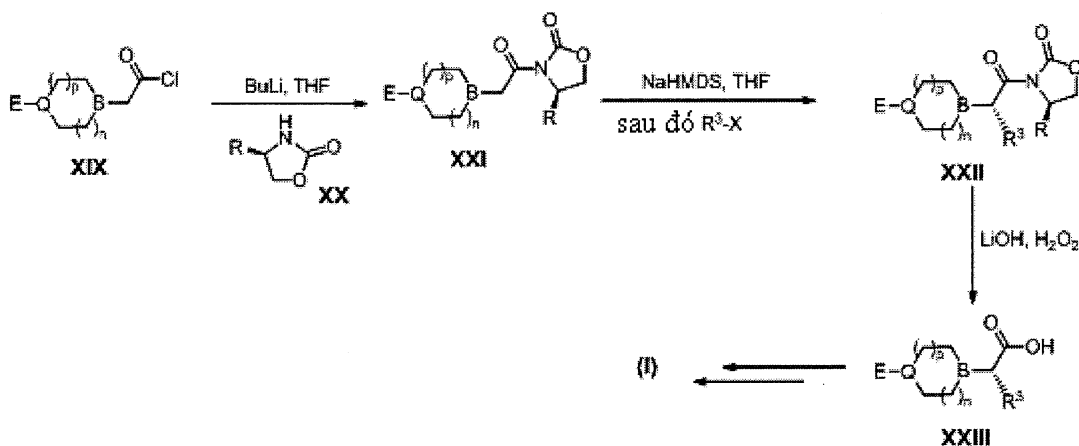
Sơ đồ 4 thể hiện phương pháp điều chế amit từ anhydrit có công thức XVIII. Axit có công thức XVII được cho phản ứng với chất clo hóa, như oxafyl clorua hoặc thionyl clorua, để thu được axyl clorua có công thức XVIII. Hợp chất có công thức XVIII có thể được biến đổi thành amit có công thức I bằng cách cho phản ứng với amin có công thức IX và bazơ hữu cơ, như diisopropyletylamin.

Sơ đồ 4



Sơ đồ 5 thể hiện phương pháp alkyl hóa chọn lọc để gắn R^3 ở vị trí alpha của amit có công thức I. Trong điều kiện tiêu chuẩn, anhydrit hỗn hợp có công thức XIX có thể được cho phản ứng với hợp chất cơ kim hoạt quang hỗ trợ oxazolidinon có công thức XX để thu được imit có công thức XXI. Các chất hỗ trợ hoạt quang Evan là đã biết trong lĩnh vực này. Imit có công thức XXI được alkyl hóa chọn lọc bằng cách cho phản ứng với bazơ mạnh, như NaHMDS, và hợp chất ái điện tử $\text{R}^3\text{-X}$ để thu được hợp chất có công thức XXII có độ chọn lọc đồng phân không đối quang cao để gắn R^3 . Imit XXII có thể được thủy phân bằng các phương pháp tiêu chuẩn, như bazơ mạnh và hydro peroxit (xem Evans et al, *Tetrahedron Lett*, 28:6141-6144 (1987)) để thu được hợp chất có công thức XXIII. Axit XXIII có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

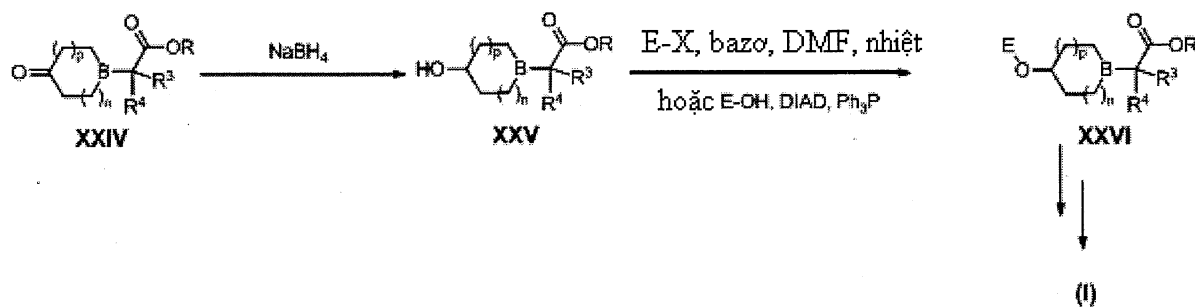
Sơ đồ 5



Trong sơ đồ 6, keton có công thức XXIV có thể được điều chế bằng phương pháp mô tả trong sơ đồ 1 và 3, có thể được cho phản ứng trong điều kiện khử mạnh với borohydrua, như natri borohydrua, để thu được rượu có công thức XXV. Rượu này có thể được cho phản ứng với bazơ mạnh trong sự có mặt của hợp chất dị vòng thơm được thế halogen hoạt tính để thu được ete có công thức XXVI. Theo cách khác, rượu XXV có thể được cho phản ứng trong điều kiện Mitsunobu tiêu chuẩn với DIAD và

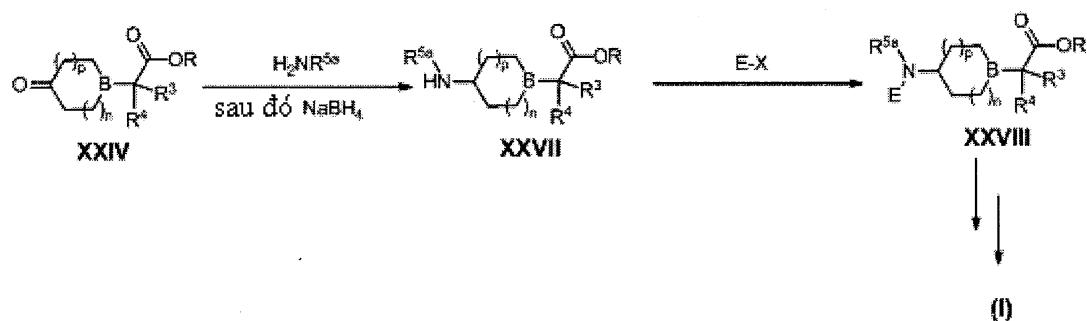
triphenylphosphin để thu được ete có công thức XXVI, có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 6



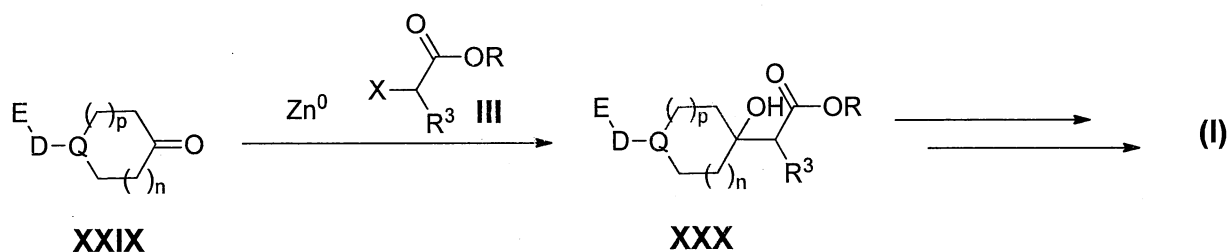
Sơ đồ 7 thể hiện phương pháp điều chế amin có công thức XXVII từ keton có công thức XXIV bằng phản ứng amin hóa khử. Phản ứng này có thể được thực hiện bằng cách cho phản ứng theo thứ tự với amin, sau đó phản ứng với chất khử, như natri borohydrua. Amin XXVII có thể được liên kết với E-X, trong đó X=Cl, Br hoặc I trong các điều kiện nhiệt, như gia nhiệt trong dung môi, như DMF, hoặc bằng cách ghép cặp xúc tác paladi, như phản ứng ghép cặp Buchwald để thu được amin có công thức XXVIII. Este có công thức XXVIII có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 7



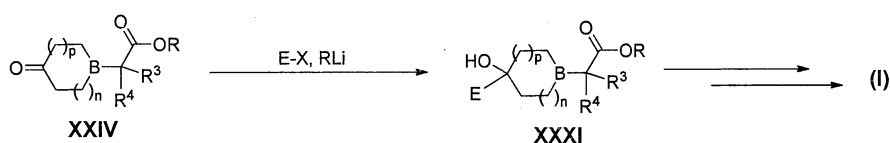
Như được thể hiện trong sơ đồ 8, keton có công thức XXIX có thể được cho phản ứng với haloaxetat có công thức III trong sự có mặt của kim loại kẽm hoạt tính để thu được rượu bậc ba có công thức XXX. Este có công thức XXX có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 8



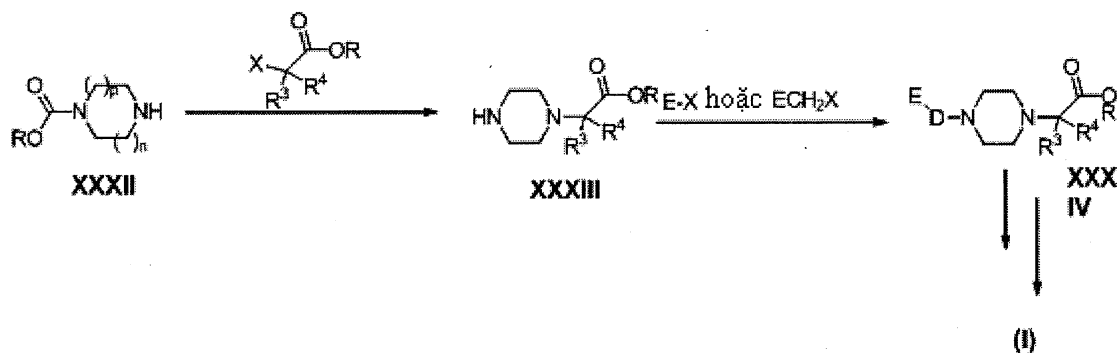
Như được thể hiện trong sơ đồ 9, keton có công thức XXIV có thể được cho phản ứng với hợp chất cơ kim E-M, trong đó M = Li, Na hoặc K, được điều chế bằng cách cho aryl halogenua phản ứng với alkyl lithi, như tert-butyllithi để thu được rượu bậc ba có công thức XXXI. Este có công thức XXXI có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 9



Như được thể hiện trong sơ đồ 10, điamin được bảo vệ một nhóm chức có công thức XXXII có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức XXXIII bằng các phương pháp mô tả trong sơ đồ 3. Amin có công thức XXXIII được cho phản ứng với E-X, trong đó X = Cl, Br, I, và chất xúc tác paladi, như Pd(Ph₃P)₄, để thu được hợp chất có công thức XXXIV. Theo cách khác, amin có công thức XXXIII có thể được cho phản ứng với hợp chất ECH₂X trong điều kiện bazơ đủ để N-alkyl hóa để thu được hợp chất có công thức XXXIV. Este có công thức XXXIV có thể được biến đổi thành hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp đã mô tả trong sáng chế.

Sơ đồ 10



Phân tích công thức cấu tạo và tinh chế hợp chất theo sáng chế bằng phương pháp HPLC/MS và HPLC phân tích/điều chế

Phương pháp [0002]HPLC/MS phân tích và điều chế được thực hiện bằng các phương pháp sau:

Phương pháp A: Waters Acquity SDS bằng cách sử dụng phương pháp sau: gradien tuyến tính nằm trong khoảng từ 2% đến 98% dung môi B trong 1,7 phút; phát hiện: UV ở bước sóng 220nm; cột: BEH C18 2,1 mm $\times$ 50mm; hạt kích cỡ 1,7 μ m (gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C); tốc độ dòng: 0,8mL/phút; pha động A: 100% nước, 0,05% TFA; pha động B: 100% axetonitril, 0,05% TFA.

Phương pháp B: Cột: Waters Acquity UPLC BEH C18, 2,1 $\times$ 50mm, hạt kích cỡ 1,7 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril:nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril:nước chứa 10mM amoni axetat; nhiệt độ: 50°C; gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% B trong 3 phút, sau đó duy trì trong 0,75 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 1,00mL/phút; phát hiện: UV ở bước sóng 220nm.

Phương pháp C: Berger SFC MGII; cột: IC 25 $\times$ 3cm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 85,0mL/phút; pha động: 70/30 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm.

Phương pháp D: Berger SFC phân tích; cột: Chiral IC 250 $\times$ 4,6mm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 2,0mL/phút; pha động: 70/30 CO₂/MeOH.

Phương pháp E: Berger SFC MGII; cột: Chiral OJ-H 25 $\times$ 3cm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 85,0mL/phút; pha động: 75/25 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm.

Phương pháp F: Aurora SFC phân tích; cột: Chiral IC 250 $\times$ 4,6mm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 2,0mL/phút; pha động: 70/30 CO₂/MeOH.

Phương pháp G: Berger SFC MGII; cột: Chiral AS 25 $\times$ 3cm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 85,0mL/phút; pha động: 87/13 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm.

Phương pháp H: Aurora SFC phân tích; cột: Chiral AS 250 $\times$ 4,6mm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 2,0mL/phút; pha động: 85/15 CO₂/MeOH.

Phương pháp I: Berger SFC MGII; cột: Chiral AS 25 $\times$ 3cm ID, 5 μ m; tốc độ dòng: 85,0mL/phút; pha động: 90/10 CO₂/MeOH w/ 0,1% DEA; bước sóng phát hiện: 220nm

Phương pháp J: Aurora SFC phân tích; cột: Chiral AS 250 × 4,6mm ID, 5μm; tốc độ dòng: 2,0mL/phút; pha động: 90/10 CO₂/MeOH w/ 0,1% DEA

Phương pháp K: Cột: Waters Acquity UPLC BEH C18, 2,1 × 50mm, hạt kích cỡ 1,7μm; pha động A: 5:95 axetonitril:nước chứa 0,1% axit trifloaxetic; pha động B: 95:5 axetonitril:nước chứa 0,1% axit trifloaxetic; nhiệt độ: 50°C; gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% B trong 3 phút, sau đó duy trì trong 0,75 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 1,0mL/phút; phát hiện: UV ở bước sóng 220nm.

Phương pháp L: HPLC phân tách đồng phân quang học: cột IF-3, ID 4,6 mm × 150mm; tốc độ dòng: 1mL/phút; pha động: 85% heptan/15% isopropanol.

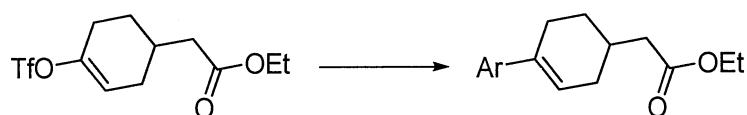
Phương pháp M: HPLC phân tách đồng phân quang học: cột ID CHIRALPAK®, Chiral Technologies, West Chester, PA, 5 μm, ID 4,6 mm × 250mm; tốc độ dòng: 20mL/phút; pha động: 0,4% Et₂NH trong axetonitril.

Phân tích công thức cấu tạo hợp chất theo sáng chế bằng phương pháp NMR

Phổ ¹H NMR (trừ khi có quy định khác) được phân tích bằng máy quang phổ JEOL® hoặc Bruker FOURIER® ở tần số 400MHz hoặc 500MHz.

Dữ liệu phổ được ghi dưới dạng độ chuyển dịch hóa học (độ bội, số lượng hydro, hằng số liên kết theo Hz) và tính theo đơn vị ppm (đơn vị δ) so với chuẩn nội (tetrametyl silan = 0ppm) đối với phổ ¹H NMR, hoặc pic dung môi còn dư (2,49ppm đối với CD₃SOCD₂H, 3,30ppm đối với CD₂HOD, 1,94ppm đối với CHD₂CN, 7,26ppm đối với CHCl₃, 5,32ppm đối với CDHCl₂). Các ký hiệu viết tắt được sử dụng trong pic NMR: “a” = biểu kiến, “br. s.” = vạch đơn rộng.

Phương pháp A: Điều chế aryl xyclohexen bằng phản ứng ghép cặp liên kết chéo Suzuki



Bổ sung Pd(PPh₃)₄ (5% mol) vào ethyl 2-(4-(((trifluoromethyl)sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat* (1,0 đương lượng), axit boronic (1,2 đương lượng), Na₂CO₃ (2,5 đương lượng), KBr (1,1 đương lượng) trong 1,4-đioxan/nước (10:1 thể tích, 0,25M). Hỗn hợp phản ứng thu được được gia nhiệt đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 80°C đến 90°C trong

16 giờ, sau đó hỗn hợp phản ứng thô được cô. Chất rắn thu được được pha loãng bằng EtOAc và nước và các lớp được phân tách. Lớp nước được chiết bằng EtOAc ba lần. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được hợp chất mong muốn.

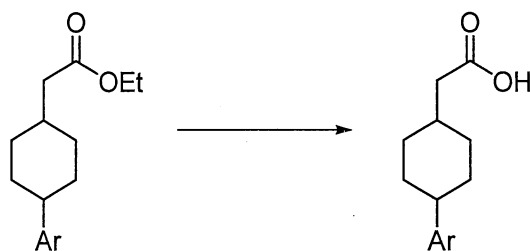
*Etyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)cyclohex-3-en-1-yl)axetat được điều chế từ 1,4-dioxaspiro[4,5]đecan-8-on bằng phương pháp mô tả trong 1) Stocks, P.A. et al, *Angew. Chem. Int. Ed*, 46:6278-6283 (2007); 2) Barlind, J.G. et al, *J. Med. Chem*, 55:10610-10629 (2012).

Phương pháp B: Hydro hóa



Hợp chất ban đầu không no được hòa tan trong dung môi được chọn (ví dụ metanol, etyl axetat, hoặc axit axetic) để tạo thành dung dịch 0,1-0,3M. Dung dịch thu được được sục với khí nitơ và 20% khối lượng chất xúc tác (Pd/C khan hoạt tính 10% khối lượng, hoặc Pd/C Degussa 10% khối lượng, hoặc Pd(OH)₂/C 10% khối lượng) được bổ sung vào dung dịch này để tạo thành hỗn hợp không đồng nhất. Khí hydro được sục vào dung dịch cho đến khi hợp chất ban đầu phản ứng hoàn toàn được xác định bằng TLC, và/hoặc LC-MS, và/hoặc NMR. Khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được sục với khí nitơ, lọc qua đệm CELITE®, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hợp chất cuối cùng được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh.

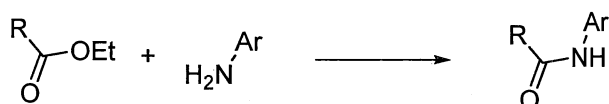
Phương pháp E: Thủy phân este



Bổ sung thể tích dung dịch nước LiOH (7,25M) vào dung dịch chứa este (1,0 đương lượng) trong EtOH (1,0M). Hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh, gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong 1 giờ, sau đó pha loãng bằng nước (50mL) và tiếp tục gia nhiệt đến

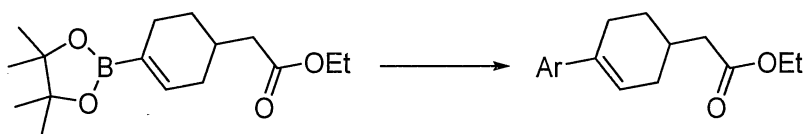
nhệt độ 50°C trong 5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá và axit hóa (độ pH khoảng 1) bằng cách bổ sung từ từ dung dịch HCL 3M. EtOAc được bổ sung vào, các lớp được phân tách, và pha nước được chiết bằng EtOAc (3x). Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được desired axit carboxylic được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Phương pháp G: Phản ứng giữa este và anilin



Bổ sung dung dịch chứa $i\text{PrMgCl}$ (2,0 đương lượng, 2M trong THF) vào dung dịch chứa anilin (2,0 đương lượng) trong THF (0,25M) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút ở thời điểm này este (1,0 đương lượng) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 8 giờ và rót vào nước. Etyl axetat được bổ sung vào và các lớp được phân tách. Lớp nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được hợp chất mong muốn.

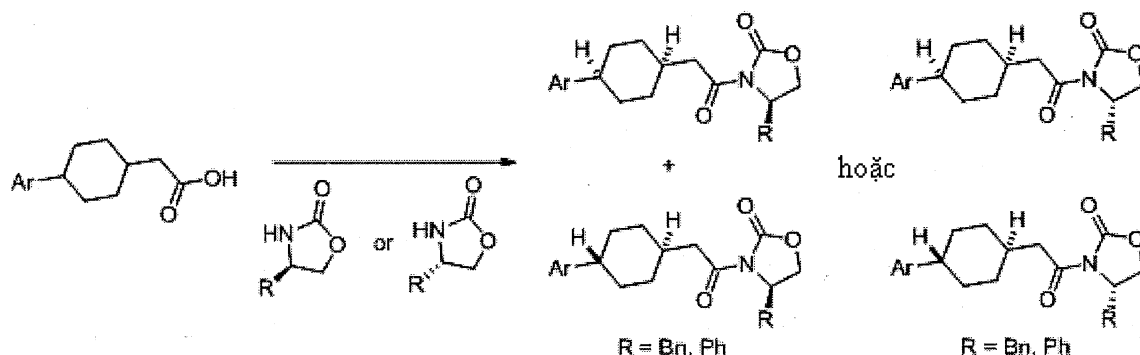
Phương pháp K: Điều chế aryl xyclohexen bằng phản ứng ghép cặp liên kết chéo Suzuki



Bổ sung lượng xúc tác của PEPPSI-IPr (2% mol) vào etyl 2-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)cyclohex-3-en-1-yl)axetat* (1,1 đương lượng), aryl halogenua (1,0 đương lượng), và Cs_2CO_3 (2,2 đương lượng), trong 1,4-dioxan/nước (10:1 thể tích, 0,25M). Hỗn hợp phản ứng thu được được gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong 2-12 giờ, sau đó hỗn hợp phản ứng thô được cô và nạp vào silica gel. Hỗn hợp phản ứng thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel.

*Etyl 2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)xyclohex-3-en-1-yl)axetat được điều chế từ 1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-on bằng phương pháp mô tả trong Barlind, J.G. et al, *J. Med. Chem.*, 55:10610-10629 (2012).

Phương pháp L: Phản ứng ghép cặp của axit carboxylic với hợp chất hỗ trợ hoạt quang

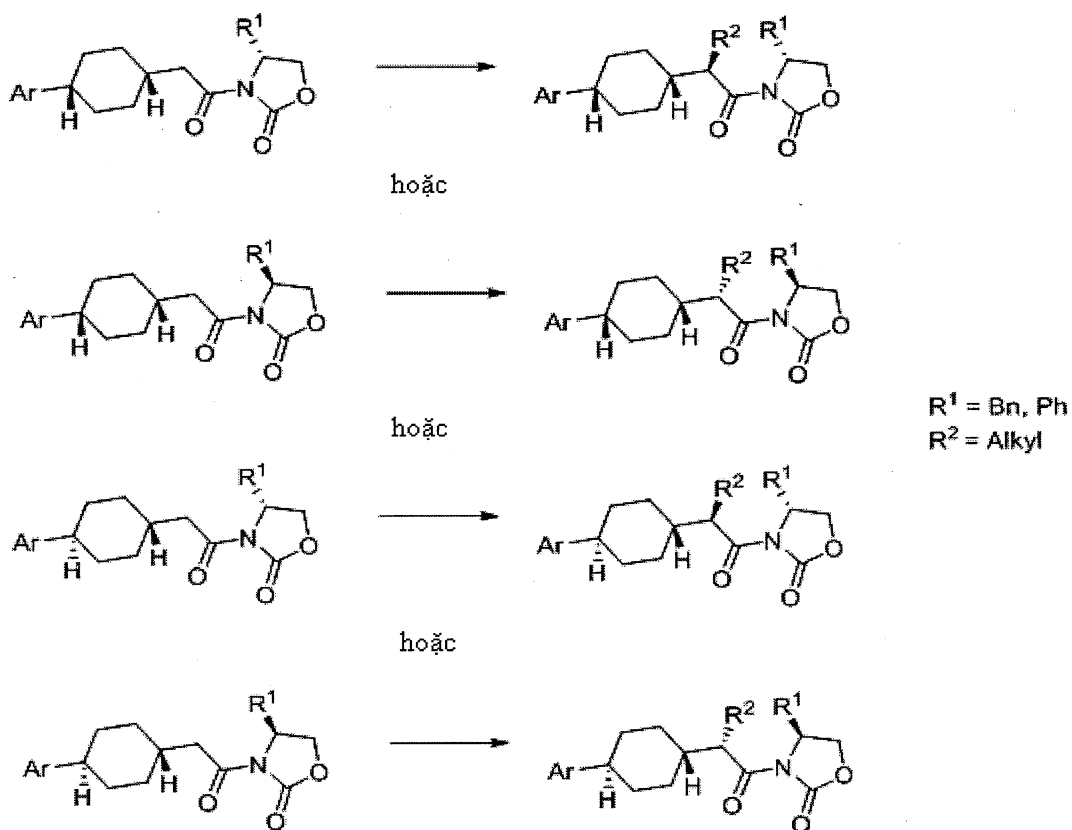


Bổ sung vào bình phản ứng đáy tròn đã làm khô trong lò (Bình số 1) axit carboxylic (1,0 đương lượng) dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang. Bình phản ứng này được súc và nạp đầy với khí nitơ, sau đó nạp với THF (0,25M) và triethylamin (2,0 đương lượng). Dung dịch thu được được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C trước khi bổ sung từ từ pivaloyl clorua (1,25 đương lượng) trong 15 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ.

Bổ sung (R)-4-benzyl-2-oxazolidinon hoặc (S)-4-benzyl-2-oxazolidinon hoặc 4-phenyl-2-oxazolidinon hoạt quang (1,3 đương lượng) và THF (0,25M) vào bình phản ứng đáy tròn khác đã làm khô trong lò (Bình số 2). Dung dịch này được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C trước khi bổ sung từ từ *n*-BuLi (2,5M trong hexan, 1,3 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ -78°C trong 15 phút trước khi được lấy ra khỏi bể nước đá.

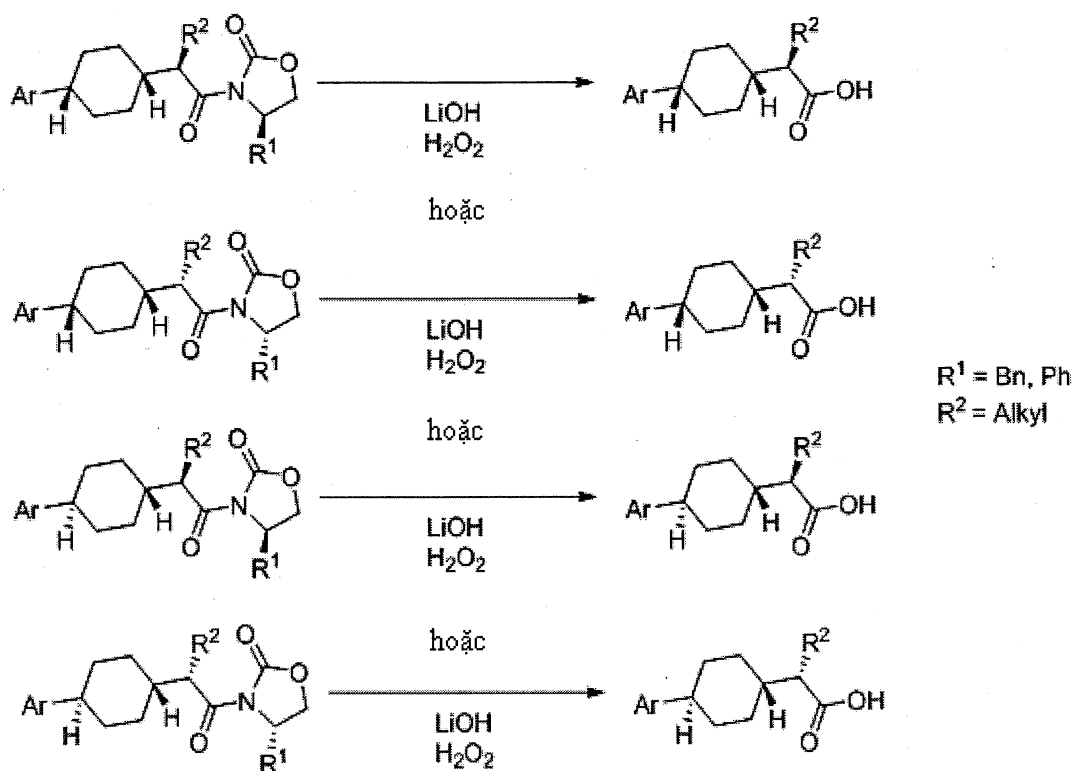
Sau đó, bình số 1 được làm lạnh trở lại đến nhiệt độ -78°C và hỗn hợp trong bình số 2 được bổ sung vào bình số 1 bằng ống thông trong 15 phút. Sau khi bổ sung hoàn toàn, bể nước đá được lấy ra và phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng cách bổ sung dung dịch amoni clorua bão hòa (100mL), sau đó chiết bằng etyl axetat (100mL $\times$ 3). Các pha hữu cơ thu gom được được rửa bằng nước muối, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel.

Phương pháp M: Alkyl hóa imit oxazolidinon



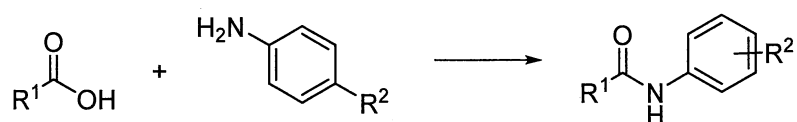
NaHMDS (2M trong THF, 1,2 đương lượng) được bổ sung nhỏ giọt vào dung dịch 0,2M chứa imit (1,0 đương lượng) trong tetrahydrofuran khan ở nhiệt độ -50°C . Dung dịch được khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ -50°C , sau đó alkylhalogenua tinh khiết được bổ sung nhỏ giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm trong 2 đến 48 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -50°C đến -20°C , sau đó dừng bằng cách bổ sung dung dịch amoni clorua bão hòa trong khi vẫn ở trạng thái lạnh. Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ môi trường và chiết ba lần bằng etyl axetat. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng MgSO_4 , lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silica gel.

Phương pháp N: Phân cắt hợp chất hỗ trợ hoạt quang



Bổ sung imit oxazalidinon (0,418mmol, 1,0 đương lượng), THF (0,25M) và nước cất (1M) vào bình phản ứng đáy tròn. Dung dịch này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C trước khi bổ sung từ từ H₂O₂ (35% khối lượng trong nước, 4 đương lượng), sau đó bổ sung LiOH (2,7M trong nước, 1,6 đương lượng). Dung dịch phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng. Tiến trình phản ứng được kiểm soát bằng phương pháp LC/MS và dung dịch phản ứng được dừng từ từ ở nhiệt độ 0°C bằng cách bổ sung dung dịch natri sulfit bão hòa khi hợp chất ban đầu đã phản ứng hoàn toàn. Độ pH được điều chỉnh đến khoảng 5-6 bằng HCl 1N, sau đó hỗn hợp được chiết bằng EtOAc và metylen clorua. Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel.

Phương pháp O: Phản ứng ghép cặp của axit carboxylic và anilin

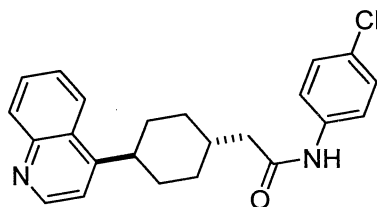


Propylphosphonic anhydrit (1,5 đương lượng, dung dịch 50% khối lượng trong etyl axetat) được bổ sung vào dung dịch chứa axit carboxylic (1 đương lượng) và pyridin (3 đương lượng) trong etyl axetat (0,1M) ở nhiệt độ môi trường. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút, sau đó anilin (1,5 đương lượng) được bổ sung vào. Phản ứng được

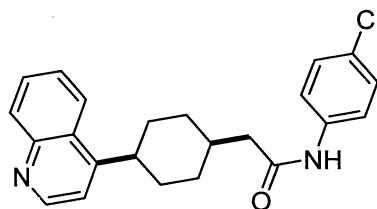
khuấy ở nhiệt độ môi trường cho đến khi axit phản ứng hoàn toàn được xác định bằng TLC và/hoặc LC-MS. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước, NaOH 1M (10 đương lượng) được bổ sung vào, và lớp nước được chiết bằng etyl axetat ba lần. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng MgSO_4 và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel.

Ví dụ 1 và 2

N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-clophenyl)-2-(4-(*cis*-quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit



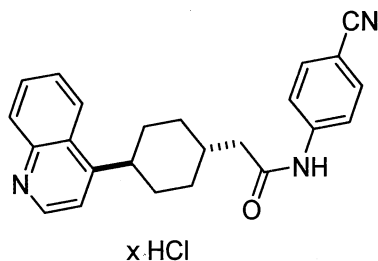
Hợp chất theo ví dụ 1 và 2 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 7,91g (25mmol) etyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy) xyclohex-3-en-1-yl)axetat và 4,56g (26mmol) axit quinolin-4-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 100mg etyl 2-(4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 87mg 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% etyl axetat trong toluen) để thu được hợp chất theo ví dụ 1 (chất đồng phân không đối quang *trans*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR của chất đồng phân *trans* (400MHz; CDCl_3): δ 8,85 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,04-8,14 (m, 2H), 7,67-7,72 (m, 1H), 7,53-7,59 (m, 1H), 7,47-7,53 (m, 2H), 7,27-7,31 (m, 3H), 3,27-3,37 (m, 1H), 2,34 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,03-2,11 (m, 5H), 1,61-1,73 (m, 2H), 1,31-1,44 (m, 2H) ppm. m/z 379,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 2 (chất đồng phân không đối quang *cis*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR của chất đồng phân *cis*

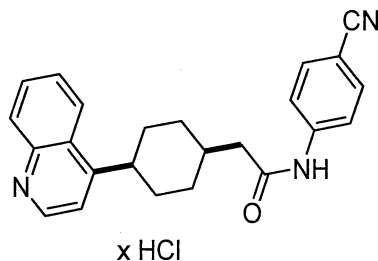
(400MHz; CDCl₃): δ 8,84 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 8,04-8,14 (m, 2H), 7,67-7,73 (m, 1H), 7,48-7,60 (m, 3H), 7,25-7,31 (m, 3H), 3,36-3,46 (m, 1H), 2,51-2,60 (m, 3H), 1,68-1,96 (m, 8H) ppm. m/z 379,2 (M+H⁺).

Ví dụ 3 và 4

N-(4-xyanophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit hydroclorua



N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit hydroclorua

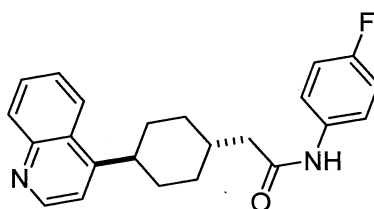


Hợp chất theo ví dụ 3 và 4 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 7,91g (25mmol) ethyl 2-(4-(((triflometyl) sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat và 4,56g (26mmol) axit quinolin-4-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 100mg ethyl 2-(4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 80mg 4-xyanoanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% ethyl axetat trong toluen) để thu được hợp chất theo ví dụ 3 (chất đồng phân không đối quang *trans*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. Bazo tự do được biến đổi thành hydroclorua bằng cách trộn với lượng dư HCl 2M trong diethyl ete, loại bỏ các chất dễ bay hơi, và làm khô trong điều kiện chân không cao. ¹H NMR của chất đồng phân *trans* (400MHz; CDCl₃): δ 10,53 (s, 1H), 9,2 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,33 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 8,09-8,15 (m, 1H), 7,91-8,00 (m, 2H), 7,79-7,84 (m, 2H), 7,72-7,77 (m, 2H), 3,60-3,70 (m, 1H), 2,37 (d, J = 6,7 Hz, 2H), 1,87-1,99 (m, 5H), 1,65-1,77 (m, 2H), 1,34-1,47 (m, 2H) ppm. m/z 370,2 (M+H⁺).

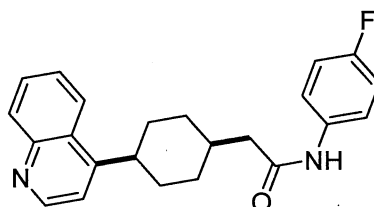
Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 4 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. Bazo tự do được biến đổi thành hydroclorua bằng cách trộn với lượng dư HCl 2M trong diethyl ete, loại bỏ các chất dễ bay hơi, và làm khô trong điều kiện chân không cao. ^1H NMR của chất đồng phân cis (400MHz; DMSO- d_6): δ 10,79 (s, 1H), 9,26 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 8,59 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 8,36 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 8,09-8,17 (m, 2H), 7,91-7,97 (m, 1H), 7,83-7,87 (m, 2H), 7,72-7,77 (m, 2H), 3,65-3,75 (m, 1H), 2,66 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 2,37-2,46 (m, 1H), 1,81-1,99 (m, 4H), 1,65-1,77 (m, 4H) ppm. m/z 370,2 ($M+H^+$).

Ví dụ 5 và 6

N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit



N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit



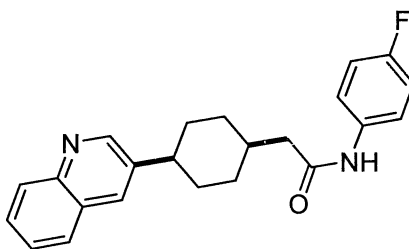
Hợp chất theo ví dụ 5 và 6 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 7,91g (25mmol) ethyl 2-(4-(((triflometyl) sulfonyl)oxy)cyclohex-3-en-1-yl)axetat và 4,56g (26mmol) axit quinolin-4-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 100mg ethyl 2-(4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 76mg 4-floanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% ethyl axetat trong toluen) để thu được hợp chất theo ví dụ 5 (chất đồng phân không đối quang trans) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR của chất đồng phân trans (400MHz; CDCl_3): δ 8,85 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,05-8,15 (m, 2H), 7,67-7,73 (m, 1H), 7,48-7,58 (m, 4H), 7,27 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H), 6,98-7,05 (m, 2H), 3,25-3,36 (m, 1H),

2,34 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,01-2,10 (m, 5H), 1,58-1,72 (m, 2H), 1,29-1,42 (m, 2H) ppm. m/z 363,2 ($M+H^+$).

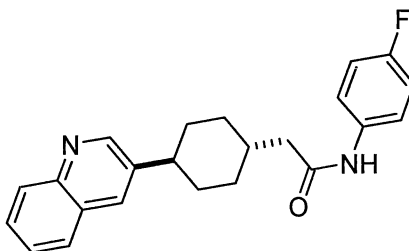
Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 6 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. 1H NMR của chất đồng phân cis (400MHz; $CDCl_3$): δ 8,84 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,05-8,15 (m, 2H), 7,67-7,73 (m, 1H), 7,54-7,62 (m, 2H), 7,48-7,54 (m, 2H), 7,27 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 6,97-7,05 (m, 2H), 3,36-3,46 (m, 1H), 2,51-2,60 (m, 3H), 1,68-1,98 (m, 8H) ppm. m/z 379,2 ($M+H^+$).

Ví dụ 7 và 8

N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit hydroclorua



x HCl

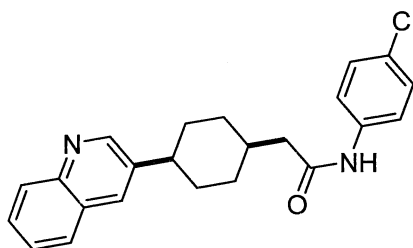
Hợp chất theo ví dụ 7 và 8 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 10,0g (32mmol) etyl 2-(4-(((triflometyl) sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat và 6,02g (35mmol) axit quinolin-3-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 95mg etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 71mg 4-floanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 7 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. 1H NMR của chất đồng phân cis (400MHz; $DMSO-d_6$): δ 8,87-8,89 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,18 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,91-8,00 (m, 2H), 7,65-7,72 (m, 1H), 7,55-7,64 (m, 3H), 7,09-7,15 (m, 3H) 2,77-2,87 (m,

1H), 2,47 (m, $J = 8,0$ Hz, 2H), 2,26-2,36 (m, 1H), 1,79-1,91 (m, 2H), 1,57-1,78 (m, 6H) ppm. m/z 379,2 ($M+H^+$).

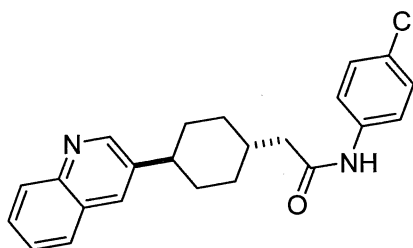
Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 8 (chất đồng phân không đối quang trans) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. Bazo tự do được biến đổi thành hydroclorua bằng cách trộn với lượng dư HCl 2M trong diethyl ete, loại bỏ các chất dễ bay hơi, và làm khô trong điều kiện chân không cao. 1H NMR của chất đồng phân trans (400MHz; $CDCl_3$): δ 10,05 (s, 1H), 9,21 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,89 (s, 1H), 8,18-8,26 (m, 2H), 7,96-8,03 (m, 1H), 7,81-7,87 (m, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,08-7,16 (m, 2H), 2,83-2,93 (m, 1H), 2,27 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 1,84-2,02 (m, 5H), 1,59-1,71 (m, 2H), 1,15-1,28 (m, 2H) ppm. m/z 379,2 ($M+H^+$).

Ví dụ 9 và 10

N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit



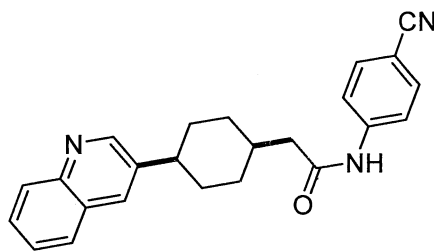
Hợp chất theo ví dụ 9 và 10 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 10,0g (32mmol) etyl 2-(4-(((triflometyl) sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat và 6,02g (35mmol) axit quinolin-3-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 95mg etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 82mg 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 9 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. 1H NMR của chất đồng phân cis

(400MHz; CDCl₃): δ 8,80 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,06-8,11 (m, 1H), 7,74-7,82 (m, 3H), 7,66-7,72 (m, 1H), 7,51-7,59 (m, 3H), 7,26-7,30 (m, 2H), 2,79-2,89 (m, 1H), 2,43-2,47 (m, 3H), 1,60-1,90 (m, 8H) ppm. m/z 379,1 (M+H⁺).

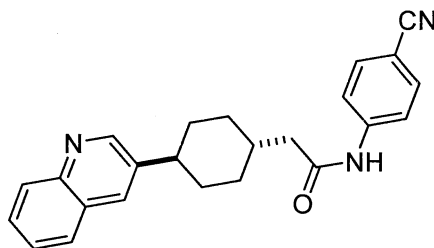
Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 10 (chất đồng phân không đối quang trans) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ¹H NMR của chất đồng phân trans (400MHz; CDCl₃): δ 8,81 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,04-8,09 (m, 1H), 7,90-7,93 (m, 1H), 7,76-7,80 (m, 1H), 7,63-7,68 (m, 1H), 7,47-7,55 (m, 3H), 7,26-7,32 (m, 2H), 7,24 (bs, 1H), 2,66-2,76 (m, 1H), 2,32 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,99-2,09 (m, 5H), 1,57-1,72 (m, 2H), 1,21-1,34 (m, 2H) ppm. m/z 379,1 (M+H⁺).

Ví dụ 11 và 12

N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-xyanophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetamit



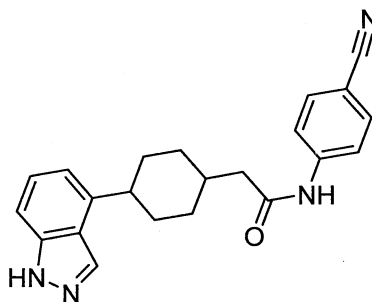
Hợp chất theo ví dụ 11 và 12 được điều chế bằng phương pháp A, B, và G. Phương pháp A sử dụng 10,0g (32mmol) triflat và 6,02g (35mmol) axit quinolin-3-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 65mg etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và 52mg 4-xyanoanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 60% etyl axetat trong hexan) để thu được cả hai hợp chất theo ví dụ 11 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ¹H NMR của chất đồng phân cis (400MHz; CDCl₃): δ 8,76 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,58 (bs, 1H), 8,07-8,11 (m, 1H), 7,69-7,79 (m, 4H), 7,64-7,67 (m,

1H), 7,57-7,63 (m, 3H), 2,75-2,85 (m, 1H), 2,45-2,50 (m, 3H), 1,45-1,85 (m, 8H) ppm. m/z 370,2 ($M+H^+$).

Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 12 (chất đồng phân không đối quang trans) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. 1H NMR của chất đồng phân trans (400MHz; $CDCl_3$): δ 8,80 (d, $J = 2,3$ Hz, 1H), 8,05-8,09 (m, 1H), 7,90-7,93 (m, 1H), 7,76-7,80 (m, 1H), 7,60-7,73 (m, 5H), 7,50-7,56 (m, 1H), 7,45 (bs, 1H), 7,67-7,77 (m, 1H), 2,36 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 1,99-2,10 (m, 5H), 1,59-1,72 (m, 2H), 1,22-1,35 (m, 2H) ppm. m/z 370,2 ($M+H^+$).

Ví dụ 13 (a) và (b)

2-(4-(*cis*-1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-xyanophenyl)axetamit (chất đồng phân rửa giải thứ nhất, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



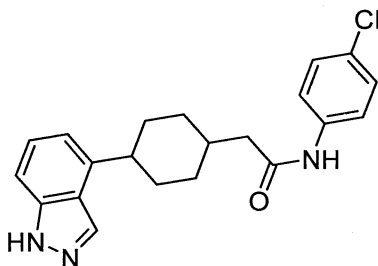
2-(4-(*trans*-1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-xyanophenyl)axetamit (chất đồng phân rửa giải thứ hai, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)

2-(4-(1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-xyanophenyl)axetamit được điều chế bằng phương pháp A, B và G. Phương pháp A sử dụng axit indazol-4-boronic và etyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat và đimetoxyetan làm dung môi, $Pd(dppf)Cl_2$ làm chất xúc tác, K_2CO_3 làm bazơ, và không sử dụng KBr làm chất hỗ trợ. Phương pháp B sử dụng 10% khối lượng $Pd(OH)_2/C$ (10% khối lượng) làm chất xúc tác và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 4-xyanoanilin (2 đương lượng) và etyl 2-(4-(1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)axetat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) (1 đương lượng). Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được cả hai chất đồng phân theo ví dụ 13. Hợp chất theo ví dụ 13(a) (chất đồng phân rửa giải thứ nhất, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý): 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 8,15 (s, 1H), 7,55 - 7,40 (m, 2H), 7,40 - 7,20 (m, 4H), 7,14 (s, 1H), 7,08 - 7,01 (m, 1H), 3,21 - 3,00 (m, 1H), 2,59 - 2,44 (m, 3H), 1,98 - 1,72 (m, 8H) ppm.

Hợp chất theo ví dụ 13(b) (chất đồng phân rửa giải thứ hai, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý): ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8,13 (s, 1H), 7,69 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,63 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,37 - 7,20 (m, 3H), 6,99 (t, $J = 4,0$ Hz, 1H), 3,06 - 2,88 (m, 14H), 2,37 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,13 - 1,97 (m, 5H), 1,83 - 1,65 (m, 2H), 1,39 - 1,27 (m, 2H) ppm.

Ví dụ 14

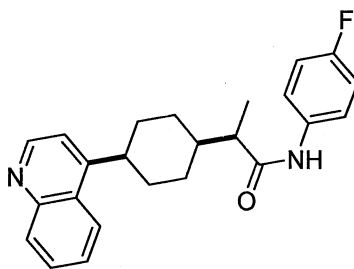
2-(4-(1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



2-(4-(1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)axetamit [0003] được điều chế bằng phương pháp A, B và G. Phương pháp A sử dụng axit indazol-4-boronic và ethyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)axetat và đimetoxyetan làm dung môi, $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$ làm chất xúc tác, K_2CO_3 làm bazơ, và không sử dụng KBr làm chất hỗ trợ. Phương pháp B sử dụng 10% khối lượng $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (10% khối lượng) làm chất xúc tác và metanol làm dung môi. Phương pháp G sử dụng 4-cloanilin (2 đương lượng) và ethyl 2-(4-(1H-indazol-4-yl)xyclohexyl)axetat (1 đương lượng). Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được hợp chất theo ví dụ 14 dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis và trans. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8,13 (s, 1H), 7,55 - 7,45 (m, 2H), 7,38 - 7,21 (m, 4H), 7,13 (s, 1H), 6,99 (t, $J = 3,9$ Hz, 1H), 3,06 - 2,90 (m, 1H), 2,33 (d, $J = 6,7$ Hz, 2H), 2,13 - 1,96 (m, 5H), 1,82 - 1,64 (m, 2H), 1,38 - 1,28 (m, 2H) ppm. m/z 368,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ví dụ 16

N-(4-flophenyl)-2-(cis-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



Hợp chất trung gian 16A: ethyl 2-(4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat

Hợp chất trung gian 16A được điều chế bằng phương pháp A và B. Phương pháp A sử dụng ethyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)cyclohex-3-en-1-yl)acetat và axit quinolin-4-boronic. Phương pháp B sử dụng 20% khối lượng Pd/C khan (10% khối lượng) và metanol làm dung môi để thu được hợp chất trung gian mong muốn 16A.

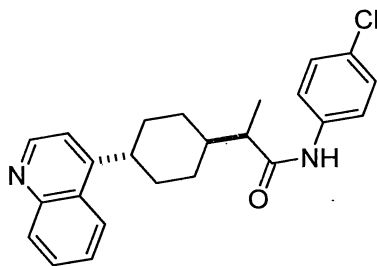
Hợp chất trung gian 16B: Ethyl 2-(4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)propanoat

Bổ sung dung dịch NaHMDS (4,3mL, 4,3mmol, 1M trong THF) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 16A (630mg, 2,15 mmol) trong THF (10mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch màu vàng thu được được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút và MeI (608mg, 4,3mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, khi đó axit axetic (200μL) được bổ sung vào cùng với Et₂O (10mL). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm silica rửa giải thêm bằng Et₂O (50mL). Dịch lọc được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (15% đến 30% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 16B dưới dạng dầu và hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis:trans theo tỷ lệ 2:1.

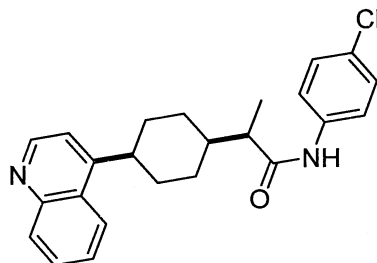
N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng hợp chất trung gian 16B (78mg, 0,25mmol) và 4-floanilin (56mg, 0,5mmol). Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (30% đến 45% etyl acetat trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 16 dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân không đối quang đơn (chất đồng phân rửa giải thứ nhất, raxemic, hóa lập thể tương đối không được xác định). ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,83 (d, *J* = 4,6 Hz, 1H), 8,11 (dd, *J* = 8,4, 0,8 Hz, 1H), 8,05 (dd, *J* = 8,4, 0,5 Hz, 1H), 7,69 (ddd, *J* = 8,4, 6,9, 1,4 Hz, 1H), 7,57-7,52 (m, 4H), 7,26 (s, 1H), 7,05-6,99 (m, 2H), 3,31-3,25 (m, 1H), 2,22-2,15 (m, 1H), 2,11-1,98 (m, 4H), 1,90 (s, 1H), 1,82-1,73 (m, 1H), 1,60 (qd, *J* = 11,8, 2,6 Hz, 2H), 1,44-1,27 (m, 5H) ppm. *m/z* 377,3 (M+H⁺).

Ví dụ 17 và 18

N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit

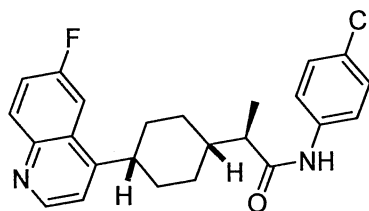


N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl) propanamit và *N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl) propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng hợp chất trung gian 16B (44mg, 0,14mmol) và 4-cloanilin (36mg, 0,28mmol). Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (30% đến 45% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 17 (chất đồng phân không đối quang *trans*, raxemic) dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,84 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,11 (dd, $J = 8,4, 1,0$ Hz, 1H), 8,07-8,05 (m, 1H), 7,69 (ddd, $J = 8,4, 6,9, 1,4$ Hz, 1H), 7,58-7,50 (m, 3H), 7,31-7,25 (m, 4H), 3,34-3,26 (m, 1H), 2,22-2,15 (m, 1H), 2,14-1,98 (m, 5H), 1,83-1,74 (m, 1H), 1,65-1,57 (m, 2H), 1,44-1,32 (m, 2H), 1,30 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H) ppm. m/z 393,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 18 (chất đồng phân không đối quang *cis*, raxemic) dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,79 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,11 (dd, $J = 8,4, 1,2$ Hz, 1H), 8,07 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,71 (ddd, $J = 8,3, 6,9, 1,3$ Hz, 1H), 7,58 (ddd, $J = 8,4, 6,9, 1,4$ Hz, 1H), 7,55-7,52 (m, 2H), 7,28-7,23 (m, 3H), 3,50-3,42 (m, 1H), 2,68-2,60 (m, 1H), 2,18-2,12 (m, 1H), 1,95-1,67 (m, 8H), 1,29 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H) ppm. m/z 393,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ví dụ 19

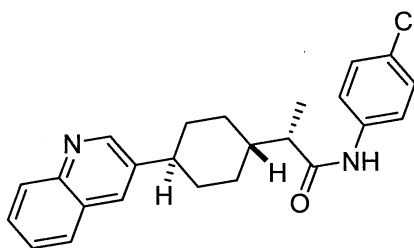
(*R*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



(R)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*cis*-4-(6-fluoroquinolin-4-yl)cyclohexyl)propanamidit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(6-fluoroquinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (*R*)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân *cis* và iodometan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% etyl axetat trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 19. ^1H NMR của chất đồng phân *cis* (400MHz; CDCl_3): δ 9,14 (s, 1H), 8,70 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,06 (dd, $J = 9,2$ Hz, $J = 5,6$ Hz, 1H), 7,58-7,64 (m, 3H), 7,45 (ddd, $J = 9,3$ Hz, $J = 7,8$ Hz, $J = 2,7$ Hz, 1H), 7,19-7,24 (m, 2H), 7,15 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 3,16-3,26 (m, 1H), 2,59-2,69 (m, 1H), 2,08-2,16 (m, 1H), 1,66-1,86 (m, 7H), 1,31-1,42 (m, 1H), 1,21 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H) ppm. m/z 411,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 20

(*S*)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)cyclohexyl)propanamidit

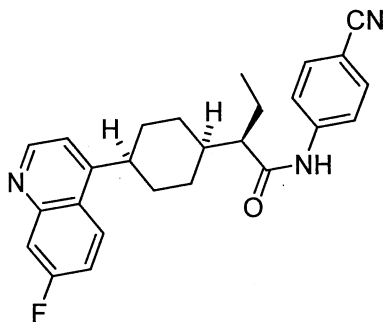


(*S*)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)cyclohexyl)propanamidit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng 2-(4-(quinolin-3-yl)-xyclohexyl)axit axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (*S*)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang và iodometan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 10% isopropanol trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 20 (chất đồng phân *trans*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR của

chất đồng phân trans (400MHz; MeOH): δ 9,21 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 9,10 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H), 8,30-8,34 (m, 1H), 8,19-8,23 (m, 1H), 8,10-8,16 (m, 1H), 7,94-8,00 (m, 1H), 7,57-7,63 (m, 2H), 7,29-7,34 (m, 2H), 3,00 (tt, $J = 12,0$ Hz, $J = 3,1$ Hz, 1H), 2,28-2,38 (m, 1H), 2,07-2,22 (m, 3H), 1,9302,01 (m, 1H), 1,65-1,82 (3H), 1,22-1,46 (m, 5H) ppm. m/z 393,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 21

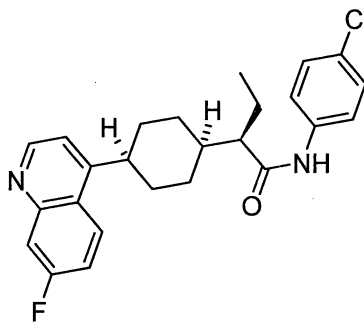
(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(7-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit



(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(7-floquinolin-4-yl)xyclohexyl) butanamit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(7-floquinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (R)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân cis và iodoetan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-xyanoanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (10% đến 25% EtOAc trong CH₂Cl₂) để thu được hợp chất theo ví dụ 21 (chất đồng phân cis). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8,78 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,07 (dd, $J = 9,4, 5,9$ Hz, 1H), 7,80 - 7,67 (m, 3H), 7,60 - 7,53 (m, 2H), 7,37 (ddd, $J = 9,4, 7,9, 2,7$ Hz, 1H), 7,26 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 3,44 (s, 1H), 2,51 (td, $J = 10,4, 3,7$ Hz, 1H), 2,23 - 2,11 (m, 1H), 2,09 - 1,35 (m, 10H), 1,01 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. m/z 416,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 22

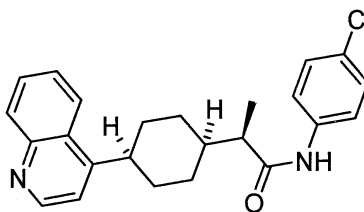
(R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(7-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit



(R)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*cis*-4-(7-fluoroquinolin-4-yl)cyclohexyl) butanamit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(7-fluoroquinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (*R*)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân *cis* và iodoetan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (20% đến 50% EtOAc trong hexan). Phần cặn được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (25% EtOAc trong CH₂Cl₂) để thu được hợp chất mong muốn. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8,83 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 8,07 (dd, J = 9,4, 5,9 Hz, 1H), 7,74 (dd, J = 10,0, 2,7 Hz, 1H), 7,60 - 7,44 (m, 3H), 7,41 - 7,24 (m, 4H), 3,54 - 3,41 (m, 1H), 2,42 (td, J = 10,7, 3,7 Hz, 1H), 2,19 (d, J = 16,6 Hz, 1H), 2,17 - 1,37 (m, 10H), 1,02 (t, J = 7,4 Hz, 3H) ppm. M/z 425,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 23

(R)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)propamit

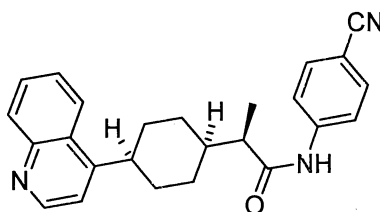


(R)-N-(4-chlorophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)propamit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(quinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (*R*)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân *cis* và iodometan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin để thu được hợp chất theo ví dụ 23. Chất đồng phân đối ảnh không mong muốn được loại bỏ bằng phương pháp L: thời gian lưu của chất

đồng phân đối ảnh không mong muốn = 7,1 phút, thời gian lưu của chất đồng phân đối ảnh mong muốn = 8,0 phút. ^1H NMR của chất đồng phân đối ảnh mong muốn (400MHz; CDCl_3): δ 8,84 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,14 - 8,02 (m, 2H), 7,70 (ddd, $J = 8,3, 6,8, 1,3$ Hz, 1H), 7,62 - 7,54 (m, 2H), 7,32 - 7,20 (m, 2H), 3,60 - 3,26 (m, 1H), 2,71 - 2,48 (m, 1H), 2,16 - 2,08 (m, 1H), 1,96 - 1,66 (m, 9H), 1,63 - 1,45 (m, 1H), 1,24 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H) ppm. m/z 393,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 24

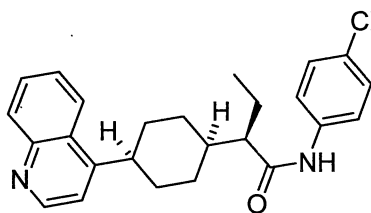
(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)propamit



(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)propamit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(quinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (R)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân *cis* và iđometan. Hợp chất bổ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và phương pháp O và 4-xyanoanilin để thu được hợp chất theo ví dụ 24. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,89 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,11 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,78 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,74 - 7,67 (m, 1H), 7,64 - 7,54 (m, 3H), 7,33 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 3,54 - 3,37 (m, 1H), 2,67 - 2,53 (m, 1H), 2,16 - 2,09 (m, 1H), 2,00 - 1,72 (m, 7H), 1,57 - 1,45 (m, 1H), 1,26 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H) ppm. m/z 384,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 25

(R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit

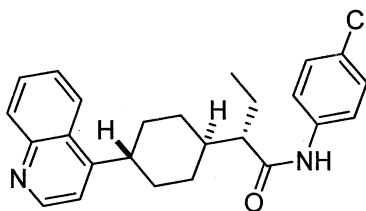


(R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit[0004] được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-

(quinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) và (*R*)-4-phenyl-2-oxazolidinon, Phương pháp M sử dụng chất đồng phân cis của phương pháp L và iodoetan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin. Hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (10% đến 100% EtOAc trong metylen clorua) để thu được hợp chất theo ví dụ 25 dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,83 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,15 - 7,95 (m, 3H), 7,69 (dd, $J = 8,3, 7,0$ Hz, 1H), 7,63 - 7,49 (m, 3H), 7,31 - 7,22 (m, 3H), 3,47 (s, 1H), 2,43 (td, $J = 10,4, 3,7$ Hz, 1H), 2,16 - 2,13 (m, 1H), 1,98 - 1,52 (m, 11H), 1,01 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H) ppm. m/z 406,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ví dụ 26

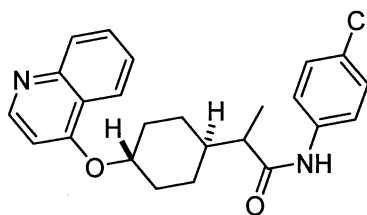
(*S*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit



(*S*)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, N, và O. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(quinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (*S*)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng iodoetan và chất đồng phân trans của phương pháp L. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N và hợp chất mong muốn được điều chế bằng phương pháp O và 4-cloanilin. Hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (10% đến 100% EtOAc trong metylen clorua) để thu được hợp chất theo ví dụ 26 dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,84 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,11 (dd, $J = 8,5, 1,1$ Hz, 1H), 8,05 (dd, $J = 8,4, 0,6$ Hz, 1H), 7,69 (ddd, $J = 8,4, 6,8, 1,4$ Hz, 1H), 7,59 - 7,46 (m, 3H), 7,34 - 7,29 (m, 2H), 7,26 - 7,25 (m, 2H), 3,30 (t, $J = 11,7$ Hz, 1H), 2,25 - 1,88 (m, 4H), 1,85 - 1,69 (m, 3H), 1,70 - 1,50 (m, 3H), 1,50 - 1,27 (m, 2H), 0,99 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H) ppm. m/z 406,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).

Ví dụ 27

N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanamit (độ tinh khiết đồng phân đối ảnh, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Hợp chất trung gian 27A: Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]decan-8-yliden)propanoat

Hỗn dịch chứa NaH 60% (12,8g, 385mmol) trong THF (500mL) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và triethyl-2-phosphono propionat (91,6g, 385mmol) được bổ sung vào trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và hỗn dịch đục chuyển dần thành dung dịch màu vàng. Sau khi làm ấm đến nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh trở lại đến nhiệt độ 0°C. Dung dịch chứa 1,4-xyclohexandion monoetylen axetal (50g, 320mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào bằng phễu nạp. Sau khi bổ sung hoàn toàn, hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm và phần cặn màu vàng được pha loãng bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (500mL) và EtOAc (1000mL). Lớp hữu cơ được phân tách và lớp nước được chiết bằng EtOAc (500mL × 2). Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất trung gian 27A (93,8g) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 27B: ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]decan-8-yl)propanoat raxemic

Hợp chất trung gian 27A (93,8g, 390,3mmol) được hòa tan trong EtOH (1000mL) và paladi cacbon 10% (9,4g) được bổ sung vào. Bình H₂ (g) được trang bị kim tiêm được sục qua hỗn dịch màu đen này, sau đó bình hydro được nạp đầy lại và bình phản ứng được duy trì trong điều kiện khí H₂ (g) qua đêm. Hỗn hợp được lọc qua đệm CELITE®545 và bánh lọc được rửa bằng EtOH. Dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất trung gian 27B (92,5g) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Hợp chất trung gian 27C: ethyl 2-(4-oxocyclohexyl)propanoat raxemic

Hỗn hợp raxemic chứa hợp chất trung gian 27B (17,1g, 70,6mmol) được hòa tan trong axeton (250mL). Sau đó dung dịch nước HCl 1N (62mL) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 24 giờ. Hỗn hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm và chiết bằng EtOAc (200mL × 3). Dịch chiết hữu cơ thu gom được rửa bằng dung dịch nước NaOH 1N (50mL), làm khô bằng magie sulfat khan, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel (0-20% EtOAc trong ete dầu hỏa) để thu được hợp chất trung gian 27C (12,8g, hiệu suất = 91,5%).

Hợp chất trung gian 27D: ethyl-2-(*trans*-4-hydroxycyclohexyl)propanoat

Bổ sung nhọt giọt NaBH₄ (1,67g, 45mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian raxemic 27C (5,94g, 30mmol) trong MeOH (100mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ phòng và kiểm soát bằng phương pháp TLC. Khi hợp chất ban đầu phản ứng hoàn toàn, hỗn hợp được dừng bằng HCl 1M và chiết bằng CH₂Cl₂ (2 × 100mL). Dịch chiết hữu cơ thu gom được làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Dầu màu vàng nhạt thu được được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (25% đến 40% EtOAc trong hexan) để thu được chất đồng phân *trans*, hợp chất trung gian 27D dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai.

Hợp chất trung gian 27E: ethyl-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)cyclohexyl)propanoat:

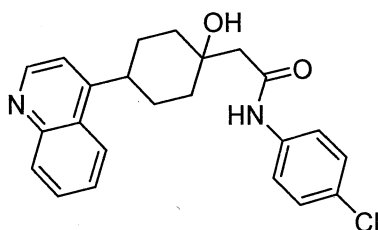
Bổ sung nhỏ giọt DEAD (0,921mL, 5,87mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian raxemic 27D (690mg, 3,45mmol), quinolin-4-ol (600mg, 4,13mmol) và triphenylphosphin (2,69g, 10,3mmol) trong THF (11,5mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng NaOH 1M và chiết bằng EtOAc (3 x). Các lớp hữu cơ thu gom được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (10% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 27E.

N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)cyclohexyl)propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng hợp chất trung gian 27E và 4-cloanilin. Hỗn hợp raxemic này được rửa giải bằng phương pháp M để thu được hợp chất theo ví dụ 27 dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn (hóa lập thể tuyệt đối không được xác định, chất đồng phân đối ảnh đơn rửa giải thứ hai). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 8,61 (d, J = 5,3 Hz, 1H),

8,27 (s, 1H), 8,14 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,61 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,49 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,42 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,31 - 7,13 (m, 2H), 6,62 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 4,44 - 4,20 (m, 1H), 2,27 - 2,01 (m, 3H), 1,99 - 1,78 (m, 2H), 1,72 - 1,58 (m, 1H), 1,51 (dd, $J = 24,1, 12,8$ Hz, 2H), 1,24 - 0,96 (m, 5H). m/z 409,2 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 30

N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



Hợp chất trung gian 30A: 4-(1,4-dioxaspiro[4,5]dec-7-en-8-yl)quinolin

Bổ sung đioxan (12mL), nước (1,2mL), và NEt_3 (1,0mL, 7,5mmol, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng dung tích 20mL chứa 4,4,5,5-tetrametyl-2-(1,4-dioxaspiro[4,5]dec-7-en-8-yl)-1,3,2-dioxaborolan (xem phương pháp K, CAS# [680596-79-6]) (1,0g, 3,8mmol, 1,0 đương lượng), 4-bromoquinolin (0,86g, 4,1mmol, 1,1 đương lượng), và $Pd(dppf)Cl_2$ (0,154g, 0,188mmol, 0,05 đương lượng). Bình phản ứng được súc với khí argon và đặt vào bộ gia nhiệt sơ bộ ở 100°C trong 15 giờ. Phần cần thô được pha loãng bằng EtOAc (100mL), lọc qua đệm CELITE®, và cô. Phần cần thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 50% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 30A (1,0g, hiệu suất = 99%).

Hợp chất trung gian 30B: 4-(quinolin-4-yl)xyclohexan-1-on

Hợp chất trung gian 30A (3,25g, 12,3mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong MeOH (100mL) và súc với khí argon trong 1 giờ trước khi bổ sung Pd/C (2,54g, 2,4mmol, 0,2 đương lượng). Dung dịch phản ứng được súc với khí H_2 (g) và đặt vào điều kiện áp suất dương bằng bình hydro. Phản ứng được khuấy trong điều kiện khí H_2 trong 14 giờ và lọc qua đệm CELITE®, rửa bằng 100mL MeOH. Dung dịch được cô để thu được chất rắn màu vàng nhạt và hỗn hợp dầu. Hỗn hợp thô được pha loãng trực tiếp bằng HCl 3M (100mL) và axeton (100mL). Dung dịch được khuấy ở nhiệt độ phòng

trong 2 giờ và kiểm soát bằng phương pháp TLC. Phản ứng được bazơ hóa bằng NaOH 1N và chiết bằng EtOAc ($2 \times 100\text{mL}$), rửa bằng nước muối, làm khô (MgSO_4), lọc, và cô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 50% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 30B (1,25g, hiệu suất = 45% qua 2 bước).

Hợp chất trung gian 30Ca: ethyl 2-(*cis*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat

Hợp chất trung gian 30Cb: ethyl 2-(*trans*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat

Bổ sung THF khan (8mL) vào bình phản ứng dung tích 20mL chứa hợp chất trung gian 30B (0,99g, 4,4mmol, 1,0 đương lượng) và Zn^0 (350mg, 5,3mmol, 1,2 đương lượng) trong điều kiện khí argon. Dung dịch chứa ethyl bromoacetat (0,54mL, 4,8mmol, 1,1 đương lượng) trong THF (4,0mL) được bổ sung vào bằng bơm tiêm, sau đó bổ sung tinh thể iot. Hỗn hợp phản ứng được đặt vào bộ gia nhiệt sơ bộ ở nhiệt độ 80°C trong 5 giờ, sau đó 0,5 đương lượng ethyl bromoacetat (0,24mL, 2,2mmol) và Zn^0 (150mg, 2,2mmol) được bổ sung thêm vào. Phản ứng được tiếp tục khuấy ở nhiệt độ 80°C thêm 2 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc và lọc qua đệm CELITE®. Dung dịch được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian *cis* 30Ca và hợp chất trung gian *trans* 30Cb dưới dạng chất rắn màu vàng.

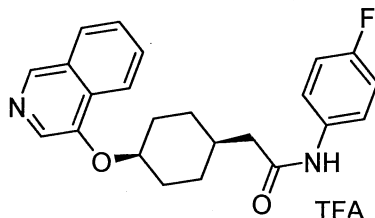
N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetamid

Bổ sung *i*PrMgCl (2, 0M trong THF, 0,22mL, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng chứa 4-cloanilin (56mg, 0,44mmol, 2,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Trong bình phản ứng khác, hợp chất trung gian 30C (70mg, 0,22mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 0,5mL THF trước khi bổ sung 0,11mL *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,11mmol, 1,0 đương lượng). Dung dịch này được khuấy trong 5 phút trước khi bơm bằng bơm tiêm vào bình phản ứng anilit nêu trên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ và pha loãng bằng EtOAc (30mL), rửa bằng HCl 3M ($2 \times 15\text{mL}$) và nước muối, làm khô (MgSO_4), lọc và cô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 30 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ^1H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 8,89 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H) 8,31 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H) 8,14 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H) 7,94 (s, 1H) 7,77-7,85 (m, 2H) 7,50

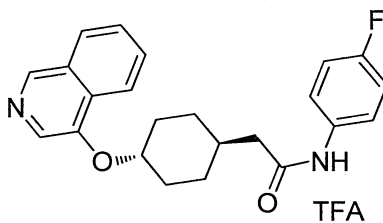
(d, $J = 8,8$ Hz, 2H) 7,19-7,28 (m, 2H) 3,50-3,64 (m, 1H) 2,75 (s, 2H) 1,93-2,10 (m, 4H) 1,73-1,89 (m, 4H). m/z 395,2 ($M+H$)⁺.

Ví dụ 31 và 32

Ví dụ 31: *N*-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(isoquinolin-4-yloxy)xyclohexyl)axetamit trifloaxetat



Ví dụ 32: *N*-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(isoquinolin-4-yloxy)xyclohexyl)axetamit trifloaxetat



Hợp chất trung gian 31A. Ethyl 2-(4-hydroxycyclohexyl)acetat:

Bổ sung NaBH_4 (0,60g, 16mmol) vào dung dịch chứa ethyl (2-(4-oxocyclohexyl)acetat (xem phương pháp A) (1,0g, 5,4mmol) trong metanol (40mL) ở nhiệt độ phòng. Dung dịch thu được được khuấy trong điều kiện thông khí trong 13 giờ, sau đó pha loãng bằng CH_2Cl_2 (60mL), rửa bằng HCl 1M ($3 \times 30\text{mL}$), làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm để thu được hợp chất trung gian 31A dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân *cis* và *trans* theo tỷ lệ 1:3, dưới dạng dầu không màu trong suốt (1,0g, hiệu suất = 99%).

Hợp chất trung gian 31B. *N*-(4-flophenyl)-2-(4-hydroxycyclohexyl)axetamit:

Được điều chế bằng phương pháp G sử dụng hợp chất trung gian 31A (1,0g, 5,4mmol) và 4-floanilin (1,01mL, 11mmol). Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (50% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 31B dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang theo tỷ lệ 1:2 (chất rắn màu trắng, 772mg, 57%).

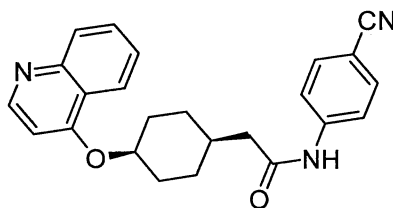
N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(isoquinolin-4-yloxy)xyclohexyl)axetamit trifloaxetat
and *N*-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(isoquinolin-4-yloxy)xyclohexyl)axetamit trifloaxetat

Bổ sung toluen vào bình phản ứng chứa hợp chất trung gian 31B (200mg, 0,80mmol, 1,0 đương lượng) và 4-isoquinolinol (170mg, 1,2mmol, 1,5 đương lượng) được bổ sung vào, sau đó bổ sung nhỏ giọt xyanometylentributylphosphoran (0,31mL, 1,2mmol, 1,5 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 16 giờ trước khi cô. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hỗn hợp chứa hợp chất theo ví dụ 31 và 32 được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo điều chế (PHENOMENEX® Gemini-NX, 10μ, C18, 110A, 250 × 30Mm, 20mL/phút, rửa giải bằng gradien nằm trong khoảng từ 0% đến 100% axetonitril trong nước chứa 0,1% TFA trong 30 phút đầu trong tổng số 40 phút chạy mẫu) để thu được hợp chất theo ví dụ 31 (chất đồng phân không đối quang *cis*, rửa giải thứ nhất) dưới dạng muối TFA. ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,87 (s, 1H) 8,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) 8,07 (s, 1H) 7,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) 7,56-7,73 (m, 2H) 7,42-7,52 (m, 2H) 7,39 (br. s, 1H) 6,95-7,06 (m, 2H) 4,85 (br. s, 1H) 2,33 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H) 2,22 (d, *J* = 13,1 Hz, 2H) 2,11 (s, 1H) 1,66-1,79 (m, 4H) 1,51-1,66 (m, 2H). *m/z* 379,2 (M+H)⁺.

Tiếp tục rửa giải bằng phương pháp HPLC pha đảo điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 32 (chất đồng phân không đối quang *trans*, rửa giải thứ hai) dưới dạng muối TFA. ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,86 (s, 1H) 8,19-8,25 (m, 1H) 8,09 (s, 1H) 7,93 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) 7,69 (ddd, *J* = 8,3, 7,0, 1,3 Hz, 1H) 7,57-7,63 (m, 1H) 7,45-7,54 (m, 2H) 6,94-7,07 (m, 2H) 4,37-4,51 (m, 1H) 2,24-2,40 (m, 3H) 1,96-2,09 (m, 4H) 1,57-1,72 (m, 2H) 1,17-1,31 (m, 2H). *m/z* 379,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 33

N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)axetamit

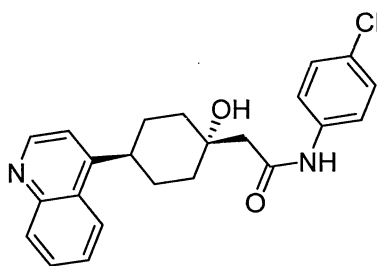


Bổ sung nhỏ giọt DEAD (0,182mL, 1,16mmol, 1,5 đương lượng) vào hỗn hợp chứa *N*-(4-xyanophenyl)-2-(4-hydroxycyclohexyl) axetamit (được điều chế bằng phương pháp G từ hợp chất trung gian 31A và 4-xyanooanilin) (200mg, 0,775mmol, 1,0 đương

lượng), 4-quinolinol (168mg, 1,16mmol, 1,5 đương lượng), và PPh_3 (609mg, 2,33mmol 3,0 đương lượng) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C . Bể nước đá được lấy ra, và hỗn hợp phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 16 giờ. Sau đó, hỗn hợp được pha loãng bằng EtOAc, lọc qua đệm CELITE®, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 33 (chất đồng phân không đối quang cis) được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo điều chế (PHENOMENEX® Gemini-NX, 10μ , C18, 110A, $250 \times 30\text{Mm}$, 20mL/phút, rửa giải bằng gradien nằm trong khoảng từ 0% đến 100% axetonitril trong nước chứa 0,1% TFA trong 30 phút đầu trong tổng số 40 phút chạy mẫu) để thu được hợp chất theo ví dụ 33 dưới dạng muối TFA. ^1H NMR (400MHz; CD_3OD): δ 8,96 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H) 8,48-8,56 (m, 1H) 8,06-8,17 (m, 2H) 7,90 (s, 1H) 7,76-7,83 (m, 2H) 7,62-7,69 (m, 2H) 7,52 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H) 5,33 (br. s, 1H) 2,65 (d, $J = 0,6$ Hz, 1H) 2,43 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H) 2,25 (br. s, 2H) 2,05-2,19 (m, 1H) 1,93 (br. s, 2H) 1,79 (d, $J = 3,3$ Hz, 2H) 1,64 (br. s, 2H). m/z 386,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 34

N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)

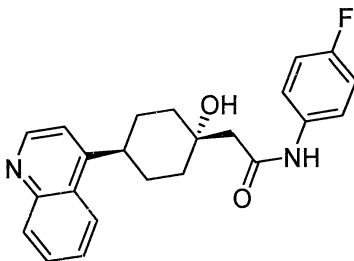


Bổ sung $i\text{PrMgCl}$ (2,0M trong THF, 0,13mL, 0,25mmol, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng chứa 4-cloanilin (33mg, 0,25mmol, 2,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Trong bình phản ứng khác, chất đồng phân không đối quang đơn được điều chế từ hợp chất trung gian 30Ca (40mg, 0,13mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 0,5mL THF trước khi bổ sung 0,064mL $i\text{PrMgCl}$ (2,0M trong THF, 0,13mmol, 1,0 đương lượng). Dung dịch này được khuấy trong 5 phút trước khi bơm bằng bơm tiêm vào bình phản ứng anilit nêu trên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ và pha loãng bằng EtOAc (30mL), rửa bằng HCl 3M ($2 \times 15\text{mL}$) và

nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 34 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ¹H NMR (400MHz; CD₃OD): δ 9,09 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H) 8,62 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H) 8,20-8,29 (m, 1H) 8,15 (ddd, *J* = 8,4, 7,1, 1,1 Hz, 1H) 7,94-8,06 (m, 2H) 7,54-7,62 (m, 2H) 7,23-7,33 (m, 2H) 3,74 (t, *J* = 12,1 Hz, 1H) 3,30 (dt, *J* = 3,3, 1,6 Hz, 1H) 2,61 (s, 2H) 2,09-2,26 (m, 2H) 1,98-2,09 (m, 2H) 1,81-1,96 (m, 4H). *m/z* 395,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 35

N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)

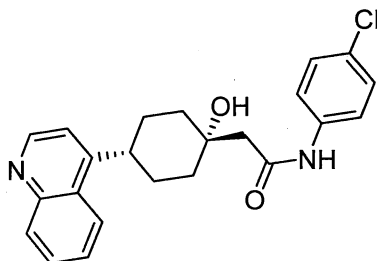


Bổ sung *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,13mL, 0,26mmol, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng chứa 4-floanilin (28mg, 0,25mmol, 2,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Trong bình phản ứng khác, chất đồng phân không đối quang đơn được điều chế từ hợp chất trung gian 30Ca (40mg, 0,13mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 0,5mL THF trước khi bổ sung 0,064mL *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,13mmol, 1,0 đương lượng). Dung dịch này được khuấy trong 5 phút trước khi bơm bằng bơm tiêm vào bình phản ứng anilit nêu trên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ và pha loãng bằng EtOAc (30mL), rửa bằng HCl 3M (2 × 15mL) và nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 35 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,81 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H) 8,63-8,70 (m, 1H) 8,12 (dd, *J* = 8,4, 1,0 Hz, 1H) 8,05 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H) 7,63-7,73 (m, 1H) 7,42-7,60 (m, 3H) 7,34 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H) 6,94-7,05 (m, 2H) 3,28 (t, *J* = 12,0

Hz, 1H) 2,58 (s, 2H) 1,97-2,16 (m, 4H) 1,84 (d, $J = 10,9$ Hz, 2H) 1,57-1,70 (m, 2H). m/z 379,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 36

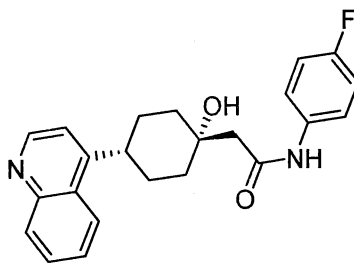
N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



Bổ sung *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,20mL, 0,40mmol, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng chứa 4-cloanilin (51mg, 0,40mmol, 2,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Trong bình phản ứng khác, chất đồng phân không đối quang được điều chế từ hợp chất trung gian 30C (63mg, 0,20mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 0,5mL THF trước khi bổ sung 0,10mL *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,10mmol, 1,0 đương lượng). Dung dịch này được khuấy trong 5 phút trước khi bơm bằng bơm tiêm vào bình phản ứng anilit nêu trên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ và pha loãng bằng EtOAc (30mL), rửa bằng HCl 3M (2 × 15mL) và nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 36 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 9,73 (s, 1H) 8,75 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H) 8,10 (dd, $J = 8,4, 1,0$ Hz, 1H) 8,03 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H) 7,70 (ddd, $J = 8,3, 7,0, 1,3$ Hz, 1H) 7,50-7,62 (m, 3H) 7,21-7,29 (m, 2H) 7,14 (d, $J = 4,7$ Hz, 1H) 3,30-3,45 (m, 1H) 2,75 (s, 2H) 2,03-2,12 (m, 2H) 1,93-2,02 (m, 2H) 1,82 (td, $J = 13,3, 3,3$ Hz, 2H) 1,47-1,63 (m, 2H). m/z 395,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 37

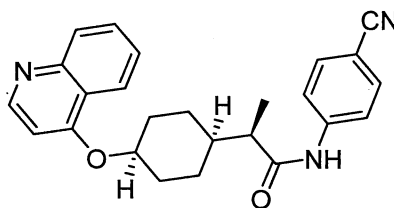
N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



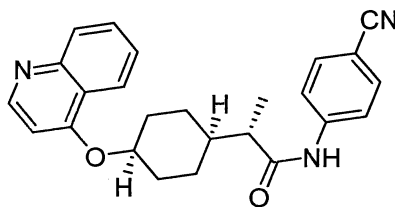
Bổ sung *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,20mL, 0,40mmol, 2,0 đương lượng) vào bình phản ứng chứa 4-floanilin (44mg, 0,40mmol, 2,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 15 phút. Trong bình phản ứng khác, chất đồng phân không đối quang được điều chế từ hợp chất trung gian 30Cb (63mg, 0,20mmol, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong 0,5mL THF trước khi bổ sung 0,064mL *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 0,10mL, 0,20mmol, 1,0 đương lượng). Dung dịch này được khuấy trong 5 phút trước khi bơm bằng bơm tiêm vào bình phản ứng anilit nêu trên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 14 giờ và pha loãng bằng EtOAc (30mL), rửa bằng HCl 3M (2 × 15mL) và nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 37 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 9,60 (s, 1H) 8,76 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H) 8,10 (dd, *J* = 8,4, 1,0 Hz, 1H) 8,04 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H) 7,71 (ddd, *J* = 8,3, 6,9, 1,4 Hz, 1H) 7,52-7,65 (m, 2H) 7,15 (d, *J* = 4,7 Hz, 1H) 6,93-7,07 (m, 2H) 3,30-3,45 (m, 1H) 2,75 (s, 2H) 2,07 (d, *J* = 13,5 Hz, 2H) 1,92-2,02 (m, 2H) 1,83 (td, *J* = 13,3, 3,4 Hz, 2H) 1,45-1,65 (m, 2H). *m/z* 379,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 38 và 39

(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)cyclohexyl)propanamit (chất đồng phân đối ảnh đơn, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định và bố trí tùy ý)



(S)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)cyclohexyl)propanamit (chất đồng phân đối ảnh đơn, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định và bố trí tùy ý)



Hợp chất trung gian 38A: ethyl 2-(4-((*tert*-butyl)dimethylsilyl)oxy)cyclohexyl)acetat

Bổ sung imidazol (9,54g, 140mmol, 1,5 đương lượng) và *tert*-butyl)dimethylsilyl clorua (15,5g, 103mmol, 1,1 đương lượng) vào dung dịch chứa ethyl 2-(4-hydroxycyclohexyl)acetat (17,4g, 93,4mmol, 1,0 đương lượng) trong DMF (100mL) trong điều kiện khí argon. Phản ứng trở nên đục và được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (100mL) và chiết bằng EtOAc (150mL và 2 × 60mL). Các lớp hữu cơ thu gom được được làm khô (MgSO₄) và cô để thu được hợp chất trung gian 38A dưới dạng dầu không màu trong suốt.

Hợp chất trung gian 38B: ethyl 2-(4-((*tert*-butyl)dimethylsilyl)oxy)cyclohexyl)propanoat

Hợp chất trung gian 38A (5,0g, 17mmol, 1,0 đương lượng) được pha loãng bằng Et₂O và làm lạnh đến nhiệt độ -78°C. Natri hexametyldisilazit (2,0M trong THF, 9,2mL, 18mmol, 1,1 đương lượng) được bổ sung vào bằng bơm tiêm, và phản ứng chuyển sang màu vàng nhạt và được khuấy trong 5 phút. Metyl iodua (5,1mL, 83mmol, 5,0 đương lượng) được bổ sung vào, và phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (100mL) và nước muối (100mL) và dung dịch nước amoni clorua bão hòa (100mL). Các lớp được phân tách, và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 × 60mL). Các lớp hữu cơ thu gom được được làm khô (MgSO₄), lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 10% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 38B dưới dạng dầu màu vàng nhạt (4,56g, 86%).

Hợp chất trung gian 38C: ethyl 2-(4-hydroxycyclohexyl)propanoat

Hợp chất trung gian 38B (4,54g, 14,5mmol, 1,0 đương lượng) được pha loãng trong THF (48mL), và dung dịch được xử lý với dung dịch tetrabutylamoni florua (1,0M trong THF, 22mL, 21,7mmol, 1,5 đương lượng). Dung dịch phản ứng được để khuấy qua đêm. Dung dịch phản ứng được cô, sau đó pha loãng bằng EtOAc (200mL), rửa bằng nước và nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn

thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 30% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 38C dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân trans:cis theo tỷ lệ 7:3 (2,78g, hiệu suất = 96%).

Hợp chất trung gian 38D: ethyl 2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanoat

Bổ sung DEAD (1,27mL, 8,03mmol, 1,5 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 38C (1,07g, 5,35mmol, 1,0 đương lượng), 4-quinolinol (0,931g, 6,42mmol, 1,2 đương lượng), và PPh₃ (4,22g, 16,1mmol, 3,0 đương lượng) trong THF (18mL, 0,3M) ở nhiệt độ 0°C. Phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được cô, sau đó pha loãng bằng EtOAc (100mL). Dung dịch được rửa bằng NaOH 1M và nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 38D.

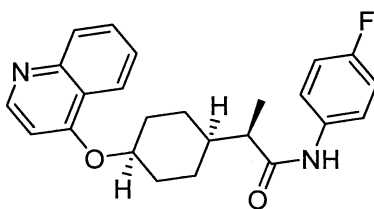
(R)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanamit và (S)-N-(4-xyanophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanamit (cả hai đều ở dạng chất đồng phân đối ảnh đơn, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định và bố trí tùy ý)

Bổ sung *i*PrMgCl (2,0M trong THF, 1,45mL, 2,9mmol, 2,0 đương lượng) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (340mg, 2,9mmol, 2,0 đương lượng) trong THF (2,5mL). Dung dịch chuyển sang màu nâu/da cam và được khuấy trong 15 phút. Dung dịch chứa hợp chất trung gian 38D (502mg, 1,45mmol, 1,0 đương lượng) trong THF (0,5mL) được bổ sung vào, và phản ứng được để khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (30mL) và rửa bằng HCl 3M (2 × 15mL) và nước muối. Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô (MgSO₄), lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc) để thu được hợp chất theo ví dụ 38 và 39 dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân đối ảnh. Tinh chế bằng phương pháp HPLC pha thuận bán điều chế phân tách đồng phân quang học (Diacel CHIRALPAK® ID, 5μ, 250 × 20mm, 15mL/phút, rửa giải bằng 95% 1:1 hexan:CH₂Cl₂ và 5% axetonitril chứa 0,4% diethylamin đẳng dòng trong 40 phút) để thu được hợp chất theo ví dụ 38 dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,71 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H) 8,19 (dd, *J* = 8,4, 1,4 Hz, 1H) 8,02 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H) 7,78 (s, 1H) 7,64-7,73 (m, 2H) 7,54-7,61 (m, 2H) 7,44 (ddd, *J* = 8,2, 7,0, 1,2 Hz, 1H) 6,70 (d, *J* = 5,5 Hz, 1H) 4,86 (br. s, 1H) 2,14-2,32 (m, 2H) 1,47-1,86 (m, 7H), 1,27 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H). *m/z* 400,2 (M+H)⁺.

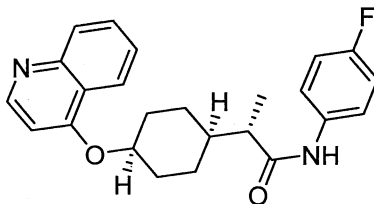
Tiếp tục rửa giải từ cột HPLC bán điều chế phân tách đồng phân quang học để thu được hợp chất theo ví dụ 39 dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,71 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H) 8,19 (dd, $J = 8,4, 1,4$ Hz, 1H) 8,02 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H) 7,78 (s, 1H) 7,64-7,73 (m, 2H) 7,54-7,61 (m, 2H) 7,44 (ddd, $J = 8,2, 7,0, 1,2$ Hz, 1H) 6,70 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H) 4,86 (br. s, 1H) 2,14-2,32 (m, 2H) 1,47-1,86 (m, 7H), 1,27 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H). m/z 400,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 40 và 41

(R)-N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanamit (chất đồng phân đối ảnh đơn, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định và bố trí tùy ý)



(S)-N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)propanamit (chất đồng phân đối ảnh đơn, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định và bố trí tùy ý)



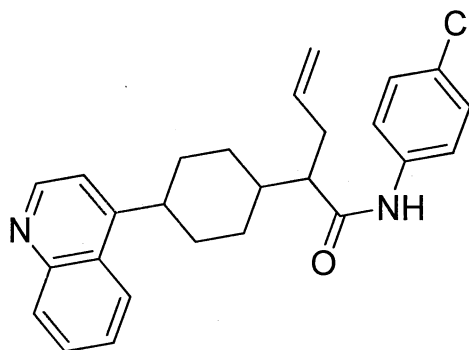
Bổ sung $i\text{PrMgCl}$ (2,0M trong THF, 1,45mL, 2,9mmol, 2,0 đương lượng) vào dung dịch chứa 4-floanilin (0,275mL, 2,9mmol, 2,0 đương lượng) trong THF (2,5mL). Dung dịch chuyển sang màu nâu/da cam và được khuấy trong 15 phút. Dung dịch chứa hợp chất trung gian 38D (502mg, 1,45mmol, 1,0 đương lượng) trong THF (0,5mL) được bổ sung vào, và phản ứng được để khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (30mL) và rửa bằng HCl 3M ($2 \times 15\text{mL}$) và nước muối. Dung dịch được làm khô (MgSO_4), cô, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 100% EtOAc) để thu được hợp chất theo ví dụ 40 và 41 dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân đối ảnh. Tinh chế bằng phương pháp HPLC pha thuận bán điều chế phân tách đồng phân quang học (Diacel CHIRALPAK® ID, 5μ , $250 \times 20\text{mm}$, 15mL/phút, rửa giải bằng 95% 1:1 hexan: CH_2Cl_2 và 5% axetonitril chứa 0,4% dietylamin đẳng dòng trong 40 phút) để thu được hợp chất theo ví dụ 40 dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR

(400MHz; CDCl₃): δ 8,72 (d, J = 5,3 Hz, 1H) 8,22 (dd, J = 8,3, 1,1 Hz, 1H) 8,03 (d, J = 8,6 Hz, 1H) 7,69 (ddd, J = 8,4, 6,9, 1,5 Hz, 1H) 7,42-7,53 (m, 2H) 7,21 (s, 1H) 6,94-7,05 (m, 2H) 6,71 (d, J = 5,5 Hz, 1H) 4,87 (br. s, 1H) 2,06-2,31 (m, 4H) 1,47-1,88 (m, 5H) 1,22-1,29 (m, 4H). m/z 393,2 (M+H)⁺.

Tiếp tục rửa giải từ cột HPLC bán điều chế phân tách đồng phân quang học để thu được hợp chất theo ví dụ 41 dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ¹H NMR (400MHz; CDCl₃): δ 8,72 (d, J = 5,3 Hz, 1H) 8,22 (dd, J = 8,3, 1,1 Hz, 1H) 8,03 (d, J = 8,6 Hz, 1H) 7,69 (ddd, J = 8,4, 6,9, 1,5 Hz, 1H) 7,42-7,53 (m, 2H) 7,21 (s, 1H) 6,94-7,05 (m, 2H) 6,71 (d, J = 5,5 Hz, 1H) 4,87 (br. s, 1H) 2,06-2,31 (m, 4H) 1,47-1,88 (m, 5H) 1,22-1,29 (m, 4H). m/z 393,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 42

(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enamit



Hợp chất trung gian 42A: ethyl-2-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enoat

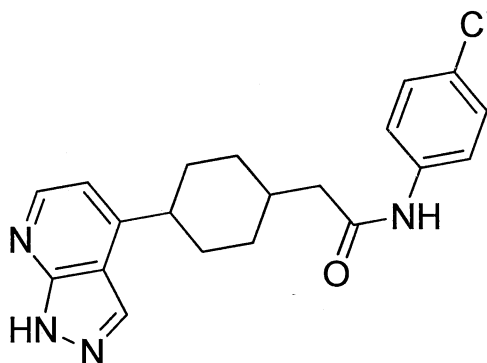
Bổ sung dung dịch NaHMDS (2 đương lượng) vào dung dịch chứa ethyl 2-(4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetat (điều chế bằng phương pháp A và B) trong THF (0,2M) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch màu vàng thu được được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút và allyl bromua (2 đương lượng) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 1 giờ, khi đó AcOH được bổ sung vào cùng với Et₂O. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm silica rửa giải thêm bằng Et₂O. Dịch lọc được cô và tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được hợp chất trung gian 42A dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis/trans.

N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enamit được điều chế từ [0005] hợp chất trung gian 42A bằng phương pháp G sử dụng 4-cloanilin dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 9,53 (s, 1H), 8,58 (d, J = 4,6 Hz,

1H), 8,10 (dd, $J = 11,5, 8,5$ Hz, 2H), 7,70 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,60 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,25 (ddd, $J = 8,9, 5,8, 2,3$ Hz, 1H), 7,20 - 7,15 (m, 2H), 6,00 - 5,87 (m, 1H), 5,21 - 5,09 (m, 2H), 3,46 (s, 1H), 2,71 (td, $J = 10,1, 4,9$ Hz, 1H), 2,45 (q, $J = 9,7$ Hz, 2H), 2,28 - 1,62 (m, 9H).

Ví dụ 43

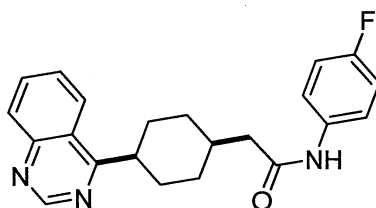
2-(4-(1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis/trans)



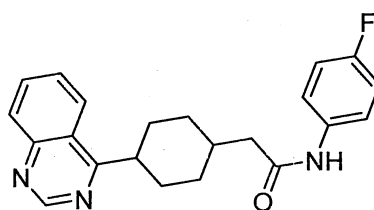
2-(4-(1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis/trans) [0006] được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. Trong phương pháp K, 4-bromo-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridin được sử dụng làm chất ghép cặp và dimetoxyetan được sử dụng làm dung môi. Trong phương pháp G, 4-cloanilin được sử dụng. Hỗn hợp chất theo ví dụ 43 được phân lập dưới dạng chất rắn màu trắng và hỗn hợp chất đồng phân không đối quang theo tỷ lệ khoảng 1:1. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 8,52 - 8,45 (m, 1H), 8,20 - 8,11 (m, 1H), 7,52 - 7,46 (m, 2H), 7,34 - 7,27 (m, 2H), 7,08 - 6,96 (m, 1H), 3,20 - 2,90 (m, 1H), 2,50 (s, 1H), 2,33 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 2,14 - 1,64 (m, 8H), 1,39 - 1,25 (m, 2H). LC/MS, m/z 369 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 44 và 45

N-(4-flophenyl)-2-(cis-4-(quinazolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-flophenyl)-2-(4-(quinazolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)

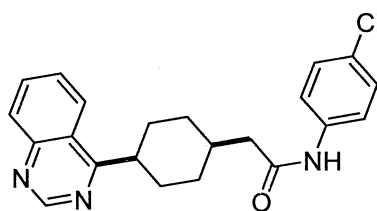


N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinazolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit và *N*-(4-flophenyl)-2-(4-(quinazlin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. 4-cloquinazolin và Pd(PPh₃)₄ được sử dụng trong phương pháp K. 4-floanilin được sử dụng trong phương pháp G. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (50% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 44 (chất đồng phân không đối quang *cis*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ¹H NMR (400MHz, CD₃OD) δ 9,15 (s, 1H), 8,37 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,08 - 7,93 (m, 2H), 7,75 (ddd, J = 8,4, 6,0, 2,2 Hz, 1H), 7,56 (ddd, J = 7,0, 5,3, 2,8 Hz, 2H), 7,08 - 6,97 (m, 2H), 3,82 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 2,56 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 2,43 (s, 1H), 2,20 - 2,02 (m, 2H), 2,00 (s, 1H), 2,00 - 1,74 (m, 6H) ppm. *m/z* 364,2 (M+H)⁺.

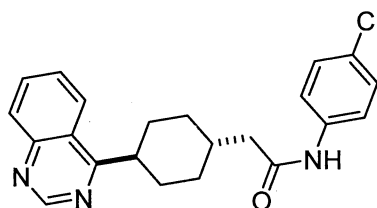
Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 45 dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân *cis:trans* theo tỷ lệ 1:1. *m/z* 364,2 (M+H)⁺.

Ví dụ 46 và 47

Ví dụ 46: *N*-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinazolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit



Ví dụ 47: *N*-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinazlin-4-yl)xyclohexyl)axetamit



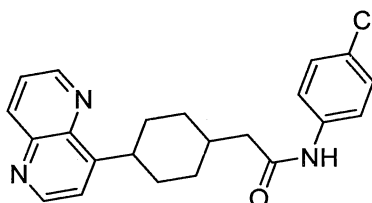
N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinazolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit và *N*-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(quinazlin-4-yl)xyclohexyl)axetamit được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. 4-cloquinazolin và Pd(PPh₃)₄ được sử dụng trong phương pháp K. 4-

cloanilin được sử dụng trong phương pháp G. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (50% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 46 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 9,28 (s, 1H), 8,19 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,90 (ddd, $J = 8,4, 6,9, 1,3$ Hz, 1H), 7,67 (ddd, $J = 8,3, 6,9, 1,2$ Hz, 2H), 7,53 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,32 - 7,24 (m, 2H), 3,69 (dd, $J = 12,0, 8,6$ Hz, 1H), 2,57 (s, 3H), 2,05 (dt, $J = 19,0, 8,4$ Hz, 2H), 1,86 - 1,72 (m, $J = 30,7, 27,2$ Hz, 6H) ppm. m/z 380 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Tiếp tục rửa giải từ cột để thu được hợp chất theo ví dụ 47 (chất đồng phân không đối quang trans) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 9,25 (s, 1H), 8,17 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,89 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,65 (t, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,35 - 7,15 (m, 3H), 3,54 (t, $J = 11,5$ Hz, 1H), 2,36 (d, $J = 6,5$ Hz, 2H), 2,15 - 1,81 (m, 5H), 1,48 - 1,30 (m, 2H), 0,87 (d, $J = 11,4$ Hz, 2H) ppm. m/z 380 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 48

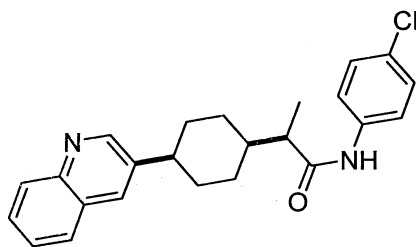
N-(4-clophenyl)-2-(4-(1,5-napthyridin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



N-(4-clophenyl)-2-(4-(1,5-napthyridin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang) được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. 4-clo-1,5-napthyridin được sử dụng trong phương pháp K và 4-cloanilin được sử dụng trong phương pháp G. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (25-75% EtOAc trong hexan) để thu được phần cần. Phần cần được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (25-75% EtOAc trong toluen) để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang theo tỷ lệ 2:1. M/z 380,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 49

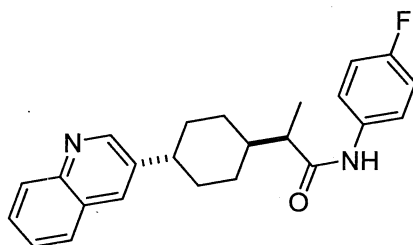
N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit



N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanoat và 4-cloanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 10% 2-propanol trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 49 dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 8,74 (d, $J=2,2\text{Hz}$, 1H), 8,64 (s, 1H), 8,05-8,11 (m, 1H), 7,68-7,75 (m, 2H), 7,55-7,64 (m, 3H), 7,23-7,28 (m, 3H), 2,74-2,84 (m, 1H), 2,44-2,54 (m, 1H), 1,99-2,09 (m, 1H), 1,36-1,80 (m, 8H), 1,26 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 3H) ppm. m/z 393,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 50

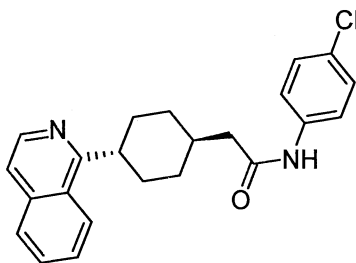
N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit



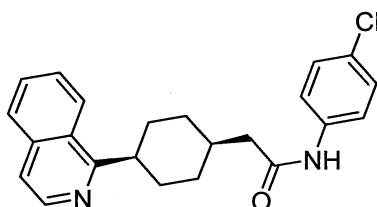
N-(4-flophenyl)-2-(*trans*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanoat và 4-floanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 10% 2-propanol trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 50 dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 8,80 (d, $J=2,2\text{Hz}$, 1H), 8,04-8,09 (m, 1H), 7,89-7,91 (m, 1H), 7,75-7,80 (m, 1H), 7,52-7,69 (m, 1H), 7,48-7,56 (m, 3H), 7,27 (s, 1H), 6,98-7,06 (2H), 2,69 (tt, 1 giờ, $J=3,1\text{Hz}$, $J=12,6\text{Hz}$), 1,95-2,20 (m, 5H), 1,54-1,90 (m, 5H), 1,28 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 3H) ppm. m/z 377,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 51 và 52

N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-1-yl)xyclohexyl)axetamit



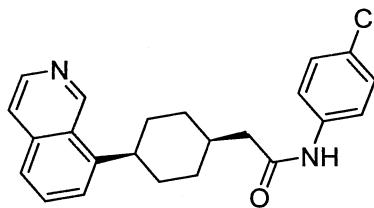
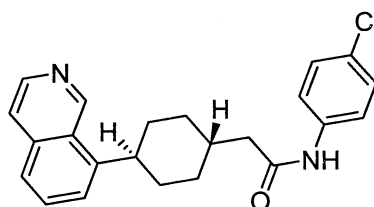
N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(isoquinolin-1-yl)xyclohexyl)axetamit



N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-1-yl)xyclohexyl)axetamit và *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(isoquinolin-1-yl)xyclohexyl)axetamit được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. Đối với phương pháp K, 1-cloisoquinolin được sử dụng. Đối với phương pháp B, etanol được sử dụng làm dung môi, và phản ứng được chạy mẫu ở nhiệt độ 50°C. Đối với phương pháp G, 4-cloanilin được sử dụng, và trimetylnhôm được sử dụng thay cho $^i\text{PrMgCl}$. Hợp chất mong muốn được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (Varian ProStar sử dụng cột Hamilton C18 PRP-1 (15 × 250Mm) với tốc độ dòng bằng 20mL/phút; pha động A: 0,5% axit formic trong nước; pha động B: 0,5% axit formic trong axetonitril; gradien rửa giải nằm trong khoảng từ 0% đến 100% B trong 30 phút) để thu được hợp chất theo ví dụ 51 và 52 dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang. Phần cần được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp TLC điều chế (33% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 51 (chất đồng phân không đối quang *trans*, hệ số lưu cao hơn). ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,49-8,43 (m, 1H), 8,24-8,20 (m, 1H), 7,85-7,82 (m, 2H), 7,65-7,50 (m, 4H), 7,28-7,25 (m, 2H), 3,70-3,62 (m, 1H), 2,62-2,56 (m, 2H), 2,41-2,36 (m, 2H), 2,09-2,02 (m, 2H), 1,86-1,82 (m, 3H), 1,28-1,24 (m, 2H) ppm. m/z 379,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Tiếp tục tinh chế bằng phương pháp TLC điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 52 (chất đồng phân không đối quang *cis*, hệ số lưu thấp hơn). ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,50-8,46 (m, 1H), 8,24-8,20 (m, 1H), 7,86-7,82 (m, 1H), 7,72-7,50 (m, 4H), 7,30-7,26 (m, 2H), 3,59-3,54 (m, 1H), 2,38-2,33 (m, 2H), 2,20-1,95 (m, 6H), 1,40-1,22 (m, 3H) ppm. M/z 379,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 53 và 54

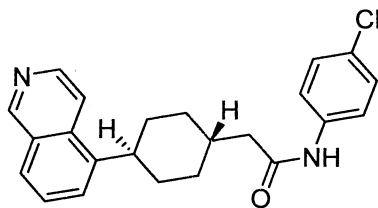
N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(isoquinolin-8-yl)xyclohexyl)axetamit*N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-8-yl)xyclohexyl)axetamit

N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(isoquinolin-8-yl)xyclohexyl)axetamit và *N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-8-yl)xyclohexyl)axetamit được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. Đối với phương pháp K, 8-bromoisoquinolin được sử dụng. Đối với phương pháp B, ethanol được sử dụng làm dung môi và phản ứng được chạy mẫu ở nhiệt độ 50°C. Đối với phương pháp G, 4-cloanilin được sử dụng và trimetylnhôm được sử dụng thay cho $i\text{PrMgCl}$. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (Varian ProStar sử dụng cột Hamilton C18 PRP-1 (15 × 250Mm) với tốc độ dòng bằng 20mL/phút; pha động A: 0,5% axit formic trong nước; pha động B: 0,5% axit formic trong axetonitril; gradien rửa giải nằm trong khoảng từ 0% đến 100% B trong 30 phút) để thu được hợp chất theo ví dụ 53 (chất đồng phân không đối quang *cis*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 9,25 (s, 1H), 8,56-8,53 (m, 1H), 7,85-7,82 (m, 2H), 7,62-7,47 (m, 4H), 7,31-7,26 (m, 2H), 3,38-3,27 (m, 1H), 2,57-2,53 (m, 3H), 2,04-1,25 (m, 8H) ppm. m/z 379 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Tiếp tục rửa giải để thu được hợp chất theo ví dụ 54 (chất đồng phân không đối quang *trans*) dưới dạng chất đồng phân rửa giải thứ hai. ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 9,24 (s, 1H), 8,56-8,52 (m, 1H), 7,86-7,81 (m, 2H), 7,69-7,49 (m, 4H), 7,32-7,26 (m, 2H), 3,26-3,18 (m, 1H), 2,35-2,23 (m, 3H), 1,67-1,59 (m, 4H), 1,40-1,27 (m, 4H) ppm. m/z 379 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 55

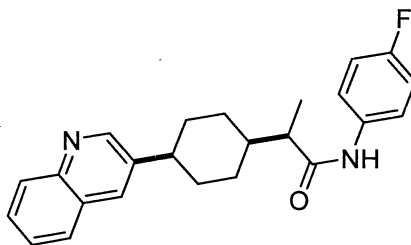
N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-5-yl)xyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)



N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(isoquinolin-5-yl)xyclohexyl)axetamit được điều chế bằng phương pháp K, B, và G. Đối với phương pháp K, 5-bromoisquinolin được sử dụng. Đối với phương pháp B, etanol được sử dụng làm dung môi, và phản ứng được chạy mẫu ở nhiệt độ 50°C. Đối với phương pháp G, 4-cloanilin được sử dụng, và trimetylnhôm được sử dụng thay cho PrMgCl . Phần cần được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (Varian ProStar sử dụng cột Hamilton C18 PRP-1 (15 × 250Mm) với tốc độ dòng bằng 20mL/phút. ; pha động A: 0,5% axit formic trong nước; pha động B: 0,5% axit formic trong axetonitril; gradient rửa giải nằm trong khoảng từ 0% đến 100% B trong 30 phút) để thu được hợp chất theo ví dụ 55 (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý). ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 9,24 (s, 1H), 8,55-8,52 (m, 1H), 7,85-7,81 (m, 2H), 7,60-7,48 (m, 4H), 7,32-7,26 (m, 2H), 3,27-3,20 (m, 1H), 2,38-2,32 (m, 1H), 2,09-2,02 (m, 3H), 1,70-1,57 (m, 3H), 1,41-1,24 (m, 4H). m/z 379 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Ví dụ 56

N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit

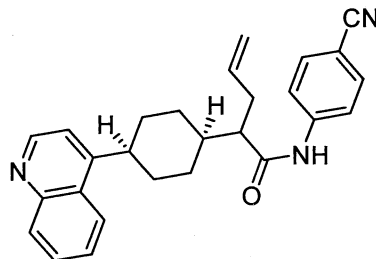


N-(4-flophenyl)-2-(*cis*-4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanamit được điều chế bằng phương pháp G sử dụng etyl 2-(4-(quinolin-3-yl)xyclohexyl)propanoat và 4-floanilin. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel (0% đến 10% 2-propanol trong hexan) để thu được hợp chất theo ví dụ 56 (chất đồng phân không đối quang cis) dưới dạng chất rắn màu trắng và chất đồng phân rửa giải thứ nhất. ^1H NMR (400MHz,

CDCl_3): δ 8,76-8,79 (m, 1H), 8,19 (bs, 1H), 8,06-8,11 (m, 1H), 7,65-7,77 (m, 3H), 7,53-7,62 (m, 3H), 6,96-7,04 (m, 2H), 2,79-2,89 (m, 1H), 2,43-2,53 (m, 1H), 1,99-2,08 (m, 1H), 1,50-1,85 (m, 8H), 1,27 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 3H) ppm. m/z 377,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Ví dụ 57

($\pm$)-*N*-(4-xyanophenyl)-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enamit



Hợp chất trung gian 57A: Ethyl 2-((*cis*-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)pent-4-enoat

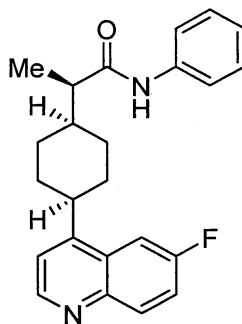
Bổ sung NaHMDS (2M trong THF, 3,0mL, 6,0mmol) vào dung dịch chứa ethyl 2-((4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat (điều chế bằng phương pháp A và B) (740mg, 2,5mmol) trong THF (5mL) ở nhiệt độ -78°C . Hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở nhiệt độ -78°C trong 5 phút, và allyl bromua (333mg, 2,75mmol) được bổ sung vào. Phản ứng được làm ấm đến 0°C và khuấy trong 10 phút. Phản ứng được pha loãng bằng Et_2O và lọc qua đệm silicagel kích cỡ 2x2cm, rửa thêm bằng 50mL Et_2O . Dịch lọc được cô và sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

($\pm$)-*N*-(4-xyanophenyl)-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enamit

Hợp chất trung gian 57A được thủy phân thành axit carboxylic bằng phương pháp E. Hợp chất axit được ghép cặp với 4-xyanoanilin bằng phương pháp O để thu được hợp chất theo ví dụ 57 dưới dạng chất rắn màu trắng sau khi tinh chế bằng sắc ký cột (10% đến 30% 2-propanol trong hexan). ^1H NMR (400MHz; CDCl_3): δ 9,16 (s, 1H), 8,67 (d, $J = 4,6\text{ Hz}$, 1H), 8,13-8,08 (m, 2H), 7,72 (dtd, $J = 8,7, 3,4, 1,7\text{ Hz}$, 3H), 7,61 (ddd, $J = 8,4, 6,9, 1,4\text{ Hz}$, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 7,14 (d, $J = 4,6\text{ Hz}$, 1H), 5,95-5,84 (m, 1H), 5,18 (dt, $J = 16,3, 1,1\text{ Hz}$, 1H), 5,13-5,10 (m, 1H), 3,50-3,49 (m, 1H), 2,69-2,68 (m, 1H), 2,48-2,41 (m, 2H), 2,23 (dt, $J = 10,4, 0,3\text{ Hz}$, 1H), 2,01-1,65 (m, 8H).

Ví dụ 58

(*R*)-2-((*cis*)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-*N*-phenylpropanamit



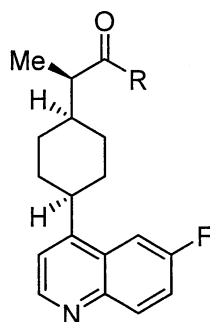
Hợp chất trung gian 58A: axit (R)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl) propanoic

Hợp chất trung gian 58A được điều chế bằng phương pháp K, B, E, L, M, và N. Phương pháp L sử dụng axit 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)-xyclohexyl) axetic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang), và (R)-2-phenyl-oxazolidinon. Phương pháp M sử dụng chất đồng phân cis và iđometan. Hợp chất hỗ trợ hoạt quang được loại bỏ bằng phương pháp N. Phân tích LC-MS: m/z $[M+H]^+$ 302,2. ^1H -NMR (400MHz; DMSO, d_6): δ 12,10 (s, 1H), 8,70 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 8,07 (dd, $J = 9,2, 5,9$ Hz, 1H), 7,97-7,94 (m, 1H), 7,67-7,62 (m, 1H), 7,49 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 3,41-3,36 (m, 1H), 2,73-2,65 (m, 1H), 1,83-1,61 (m, 9H), 1,08 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

(R)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-phenylpropanamit

Hợp chất trung gian 58A axit (R)-2-((1S,4S)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl) propanoic (10mg, 0,033mmol) được bổ sung vào bình phản ứng và hòa tan trong DMF (350 μ L). Anilin (4,64mg, 0,050mmol) và HATU (18,93mg, 0,050mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung DIPEA (17,39 μ L, 0,100mmol). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng DMF để thu được tổng thể tích bằng 2mL và lọc. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 58 (9,7mg, 0,026mmol, 78%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{FN}_2\text{O}$ 376,20, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 377,0 $T_r = 1,969$ phút (phương pháp B). ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 9,96 (s, 1H), 8,82 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 8,05 (dd, $J=9,2, 5,8$ Hz, 1H), 7,93 (dd, $J=10,9, 2,5$ Hz, 1H), 7,62 (td, $J=8,7, 2,6$ Hz, 1H), 7,57 (d, $J=7,9$ Hz, 2H), 7,53 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 7,25 (t, $J=7,8$ Hz, 2H), 6,99 (t, $J=7,4$ Hz, 1H), 2,83 (dd, $J=10,8, 6,7$ Hz, 1H), 1,64-1,97 (m, 7H), 1,51-1,64 (m, 3H), 1,08 (d, $J=6,6$ Hz, 3H)

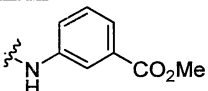
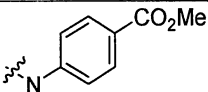
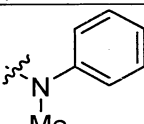
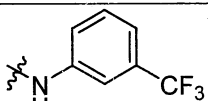
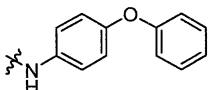
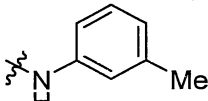
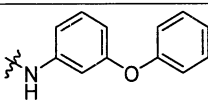
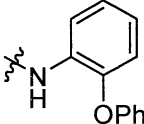
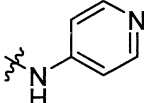
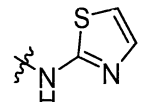
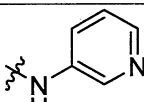
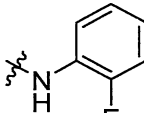
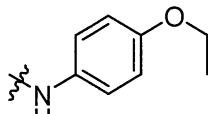
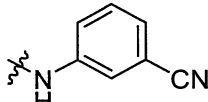
Ví dụ 59 đến 81

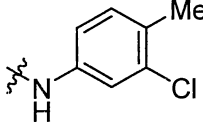
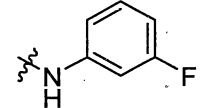


Hợp chất theo ví dụ 59 đến 81 được điều chế từ hợp chất trung gian 58A theo phương pháp điều chế hợp chất theo ví dụ 58 bằng cách sử dụng anilin hoặc aryl amin tương ứng.

Bảng 1

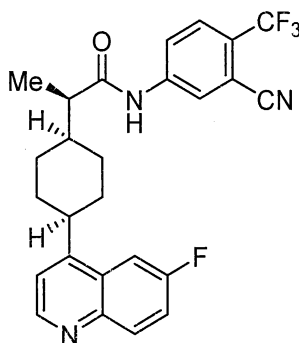
Ví dụ	Danh pháp	R	Thời gian lưu (phút) (phương pháp B)	[M+H] ⁺
59	(R)-N-(4-flu-2-metylphenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		1,985	409,2
60	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-(triflometyl)phenyl) propanamit		2,294	445,0
61	(R)-N-(2,2-diflobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,268	457,1
62	(R)-N-(2-etoxyphenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,162	421,1
63	(R)-N-(3-(diflometyl)phenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,082	427,3
64	(R)-N-(4-clo-2-metylphenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,145	425,1
65	(R)-N-(3-clophenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,203	411,0
66	(R)-N-(3,4-điclophenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,385	445,2

Ví dụ	Danh pháp	R	Thời gian lưu (phút) (phương pháp B)	[M+H] ⁺
67	metyl 3-((R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamido)benzoat		2,025	435,1
68	metyl 4-((R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamido)benzoat		2,042	435,1
69	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-metyl-N-phenylpropanamit		1,964	391,1
70	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(3-(triflometyl)phenyl)propanamit		2,278	445,0
71	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-phenoxyphenyl)propanamit		2,324	469,3
72	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(m-tolyl)propanamit		2,082	391,1
73	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(3-phenoxyphenyl)propanamit		2,355	469,1
73(a)	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(2-phenoxyphenyl)propanamit		2,337	469,1
74	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(pyridin-4-yl)propanamit		1,669	378,3
75	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(thiazol-2-yl)propanamit		1,852	384,2
76	(R)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-N-(pyridin-3-yl)propanamit		1,654	378,0
77	(R)-N-(2-flophenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		1,998	395,0
78	(R)-N-(4-etoxyphenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,030	421,1
79	(R)-N-(3-xyanophenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		1,992	402,1

Ví dụ	Danh pháp	R	Thời gian lưu (phút) (phương pháp B)	[M+H] ⁺
80	(R)-N-(3-clo-4-metylphenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,302	425,1
81	(R)-N-(3-flophenyl)-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,094	395,1

Ví dụ 82

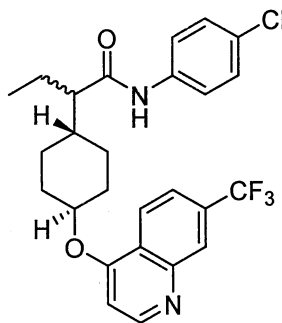
(R)-N-(3-xyano-4-(triflometyl)phenyl)-2-((*cis*)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



Hợp chất trung gian 58A (15mg, 0,050mmol) được hòa tan trong tetrahydrofuran (249μL) và triethylamin (13,88μL, 0,100mmol) được bổ sung vào. Dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C. Isobutyl carbonocloridat (10,20mg, 0,075mmol) được bổ sung vào và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 10 phút trước khi bổ sung 5-amino-2-(triflometyl)benzonitril (12,97mg, 0,070mmol). Sau khi bổ sung anilin, phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Sau 16 giờ, 5-amino-2-(triflometyl)benzonitril (12,97mg, 0,070mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong 24 giờ. Sau đó, phản ứng được cô trong điều kiện chân không, pha loãng bằng DMF (khoảng 2mL), lọc và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 82 (5,8mg, 0,012mmol, 25%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho C₂₆H₂₃F₄N₃O 469,18, tính toán theo thực nghiệm [M+H] 470,1 T_r = 2,219 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ: 10,69 (br. s, 1H), 8,79 (br. s, 1H), 8,38 (br. s, 1H), 8,05 (d, J=8,2 Hz, 2H), 7,95 (d, J=8,0 Hz, 2H), 7,60-7,71 (m, 1H), 7,44 (br. s, 1H), 2,39 (br. s, 1H), 1,83-2,00 (m, 3H), 1,60-1,83 (m, 3H), 1,27-1,60 (m, 4H), 1,15 (d, J=6,2 Hz, 3H)

Ví dụ 83

(±)-N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((7-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)
xyclohexyl)butanamit



Hợp chất trung gian 83A: Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yliden)axetat

Triethyl phosphonoaxetat (21,79mL, 109mmol) được bổ sung vào hỗn dịch chứa natri hydrua (3,84g, 96mmol) trong THF (64,0mL) ở 0°C. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau 30 phút, phản ứng được làm lạnh trở lại đến nhiệt độ 0°C và dung dịch chứa 1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-on (10g, 64,0mmol) trong 5mL THF được bổ sung vào. Sau đó, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút trước khi dừng bằng nước. Hỗn hợp được chiết bằng DCM ba lần. Các dịch chiết thu gom được được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký silicagel để thu được hợp chất trung gian 83A (13,88g, 61,3mmol, hiệu suất = 96%). TLC: vết hợp chất mong muốn dưới dạng chấm màu tím trong anisaldehyt ($R_f = 0,75$ trong 1:1 Hex/EtOAc). ^1H NMR (400MHz, cloroform- d) δ : 5,65 (s, 1H), 4,13 (q, $J=7,2$ Hz, 2H), 3,92-3,99 (m, 4H), 2,94-3,02 (m, 2H), 2,31-2,40 (m, 2H), 1,71-1,79 (m, 4H), 1,26 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Hợp chất trung gian 83B: Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yl)axetat

Hợp chất trung gian 83A (13,88g, 61,3mmol) được hòa tan trong EtOAc (61,3mL) và được bổ sung vào bình hydro hóa Parr chứa paladi cacbon ẩm 10% (1,306g, 12,27mmol) (54% khối lượng/khối lượng nước) trong điều kiện khí nitơ. Bình phản ứng được súc và nạp đầy trở lại bằng khí nitơ ba lần, sau đó súc và nạp đầy trở lại ba lần bằng hydro. Sau khi nạp đầy bình phản ứng bằng khí hydro đến áp suất bằng 50psi, bình phản ứng được đặt vào máy lắc Parr và lắc. Sau 4 giờ, phản ứng được lọc nén qua đệm CELITE® và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất trung gian 83B (13,78g, 60,4mmol, hiệu suất = 98%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho

$C_{12}H_{20}O_4$ 228,14, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 299,1 $T_r = 0,83$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 4,11 (q, $J=7,2$ Hz, 2H), 3,88-3,95 (m, 4H), 2,21 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 1,83 (dq, $J=11,0, 7,5, 3,5$ Hz, 1H), 1,68-1,78 (m, 4H), 1,50-1,61 (m, 2H), 1,27-1,35 (m, 2H), 1,24 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 83C: Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yl)butanoat

Diisopropylamin (2,347mL, 16,63mmol) được hòa tan trong THF khan (15,99mL) (trong điều kiện khí nitơ) và làm lạnh đến nhiệt độ $-78^\circ C$. n -BuLi (6,14mL, 15,35mmol) (2,5M trong hexan) được bổ sung vào trong khoảng 5 phút ở nhiệt độ $-78^\circ C$. Sau khi khuấy trong 45 phút, phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ phòng trong 10 phút và làm lạnh trở lại đến nhiệt độ $-78^\circ C$. Sau đó, 1,3-đimetyltetrahydropyrimidin-2(1H)-on (1,541mL, 12,79mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung dung dịch chứa hợp chất trung gian 83B (2,92g, 12,79mmol) trong THF (15,99mL) (nhỏ giọt trong khoảng 5 phút). Sau 1 giờ, iodoetan (1,125mL, 14,07mmol) (tinh khiết) được bổ sung nhỏ giọt vào trong khoảng 5 phút. Phản ứng được khuấy thêm 2 giờ ở nhiệt độ $-78^\circ C$ trước khi làm ấm từ từ đến nhiệt độ phòng. Sau đó, phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng cách rót vào hỗn hợp nước/nước muối theo tỷ lệ 1:1 và chiết bằng EtOAc. Các pha hữu cơ thu gom được rửa bằng nước muối, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu được hợp chất trung gian 83C (2,27g, 8,86mmol, hiệu suất = 69%). TLC: vết hợp chất mong muốn dưới dạng chấm màu tím trong anisaldehyt ($R_f = 0,80$ trong 1:1 Hex/EtOAc). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 4,14 (q, $J=7,5$ Hz, 2H), 3,88-3,95 (m, 4H), 2,09 (td, $J=8,4, 5,6$ Hz, 1H), 1,69-1,83 (m, 4H), 1,45-1,64 (m, 6H), 1,33-1,42 (m, 1H), 1,25 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 0,86 (t, $J=7,5$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 83D: Ethyl 2-(4-oxoxyclohexyl)butanoat

Hợp chất trung gian 83C (2,00g, 7,80mmol) được hòa tan trong THF (39,0mL) và Axit hydrocloric 1M (39,0mL) được bổ sung vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Phản ứng được cô trong điều kiện chân không, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết hữu cơ thu gom được làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu được hợp chất trung gian 83D (1,47g, 6,92mmol, hiệu suất = 89%). TLC: vết hợp chất mong muốn có màu hồng nhạt trong anisaldehyt ($R_f = 0,65$ trong 1:1

Hex/EtOAc). ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 4,15 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 2,25-2,42 (m, 4H), 2,18 (ddd, $J=9,3, 7,8, 5,2$ Hz, 1H), 2,10 (ddt, $J=13,1, 6,2, 3,3$ Hz, 1H), 1,90-2,03 (m, 2H), 1,56-1,70 (m, 2H), 1,38-1,56 (m, 2H), 1,25 (t, $J=7,2$ Hz, 3H), 0,89 (t, $J=7,4$ Hz, 3H)

Hợp chất trung gian 83E: Ethyl-2-((*trans*)-4-hydroxycyclohexyl)butanoat

Hợp chất trung gian 83D (1,47g, 6,92mmol) được hòa tan trong EtOH (13,85mL) và được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C . NaBH_4 (0,314g, 8,31mmol) được bổ sung vào, sau đó phản ứng được để khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và chiết bằng EtOAc. Các dịch chiết thu gom được được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu được hợp chất trung gian 83E (1,22g, 5,69mmol, hiệu suất = 82%) cùng với (138mg, 0,644mmol, hiệu suất = 9,30%), chất đồng phân cis. ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 4,14 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,53 (t, $J=10,5$ Hz, 1H), 1,92-2,08 (m, 2H), 1,80-1,89 (m, 1H), 1,63-1,70 (m, 1H), 1,52-1,62 (m, 4H), 1,37-1,52 (m, 2H), 1,26 (t, $J=7,2$ Hz, 3H), 0,95-1,17 (m, 2H), 0,87 (t, $J=7,4$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 83F: Ethyl 2-((*trans*)-4-((7-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanoat

Hợp chất trung gian 83E (100mg, 0,467mmol) được hòa tan trong DMSO (933 μL) và NaH (22,40mg, 0,933mmol) được bổ sung từ từ nhỏ giọt vào ở nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ, 4-clo-7-(triflometyl)quinolin (130mg, 0,560mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C . Sau 16 giờ, phản ứng được dừng bằng amoni clorua và chiết bằng EtOAc. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng natri sulfat, lọc, cô trong điều kiện chân không. Phần cặn thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu được hợp chất trung gian 83F (91mg, 0,222mmol, hiệu suất = 47,6%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{F}_3\text{NO}_3$ 409,19, tính toán theo thực nghiệm $[\text{M}+\text{H}]$ 410,2 $T_r = 0,91$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 83G: axit 2-((*trans*)-4-((7-(Triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanoic

Hợp chất trung gian 83F (91mg, 0,222mmol) được hòa tan trong THF (889 μL), nước (889 μL), và MeOH (445 μL). Lithi hydroxit (53,2mg, 2,223mmol) được bổ sung vào và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 40 giờ. Phản ứng được cô trong điều

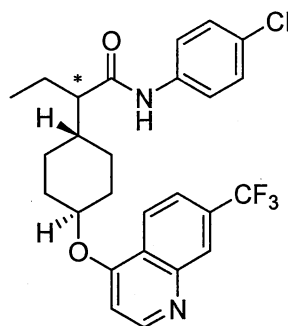
kiện chân không, pha loãng bằng nước, axit axetic (dạng kết tủa) được bổ sung vào, lớp nước được chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất trung gian 83G (85mg, 0,223mmol, hiệu suất = 100%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{20}H_{22}F_3NO_3$ 381,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 382,2 T_r = 0,78 phút (phương pháp A).

N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((7-(triflo metyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit

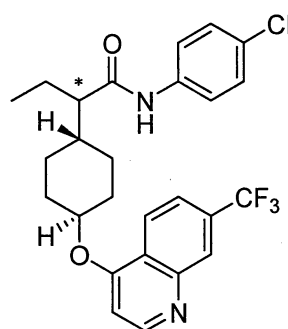
Hợp chất trung gian 83G (41mg, 0,108mmol) được đặt trong điều kiện khí nitơ và hòa tan trong $SOCl_2$ (78 μ L, 1,075mmol). DMF khan (1 giọt) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được cô trong điều kiện chân không và quá trình đồng bay hơi với toluen trong điều kiện chân không được sử dụng để loại bỏ thionyl clorua còn dư. Axyl clorua thô được hòa tan trong DCM (1075 μ L) trong điều kiện khí nitơ và TEA (74,9 μ L, 0,538mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung 4-cloanilin (20,57mg, 0,161mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Phản ứng được cô trong điều kiện chân không, được hòa tan trong DMF, lọc, và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 83 (14,4mg, 0,029mmol, hiệu suất = 27%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{26}H_{26}ClF_3N_2O_2$ 490,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 491,2 T_r = 0,94 phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,07 (s, 1H), 8,82 (d, J =5,1 Hz, 1H), 8,32 (d, J =8,6 Hz, 1H), 8,25 (s, 1H), 7,80 (d, J =8,7 Hz, 1H), 7,67 (d, J =8,5 Hz, 2H), 7,35 (d, J =8,5 Hz, 2H), 7,29 (d, J =5,0 Hz, 1H), 4,66 (t, J =10,1 Hz, 1H), 2,10-2,27 (m, 3H), 1,97 (d, J =11,4 Hz, 1H), 1,73 (d, J =13,2 Hz, 1H), 1,41-1,65 (m, 5H), 1,28-1,41 (m, 1H), 1,21 (d, J =10,4 Hz, 1H), 0,85 (t, J =7,1 Hz, 3H).

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2

Chất đồng phân đối ảnh 1: Ví dụ 83 (a) N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((7-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)-2-butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: Ví dụ 83 (b) N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((7-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xcyclohexyl)-2-butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Hợp chất theo ví dụ 83(a), chất đồng phân đối ảnh 1, và hợp chất theo ví dụ 83(b), chất đồng phân đối ảnh 2: Phân tách đồng phân quang học mẫu raxemic (phương pháp C) để thu được chất đồng phân đối ảnh 1 $T_r = 3,611$ phút (phương pháp D) và chất đồng phân đối ảnh 2 $T_r = 5,106$ phút (phương pháp D) Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

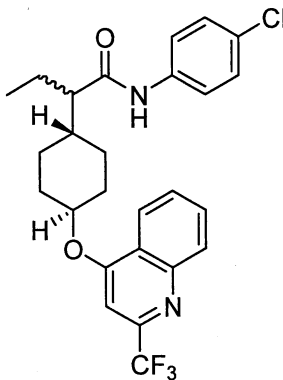
Hợp chất theo ví dụ 83(a), chất đồng phân đối ảnh 1: MS(ES): $m/z = 491,1$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,529$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,14 (s, 1H), 8,78 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 8,32 (d, $J=8,6$ Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,79 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,33 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,21 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 4,61 (br. s, 1H), 2,06-2,23 (m, 3H), 1,94 (d, $J=13,0$ Hz, 1H), 1,69 (d, $J=12,0$ Hz, 1H), 1,36-1,62 (m, 5H), 1,30 (d, $J=13,2$ Hz, 1H), 1,11-1,26 (m, 1H), 0,81 (t, $J=7,1$ Hz, 3H)

Hợp chất theo ví dụ 83(b), chất đồng phân đối ảnh 2: MS(ES): $m/z = 491,1$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,545$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,13 (s, 1H), 8,78 (d, $J=5,1$ Hz, 1H), 8,32 (d, $J=8,7$ Hz, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,79 (d, $J=8,7$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,33 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,22 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 4,62 (br. s, 1H),

2,08-2,25 (m, 3H), 1,95 (d, $J=13,4$ Hz, 1H), 1,70 (d, $J=11,6$ Hz, 1H), 1,39-1,62 (m, 5H), 1,30 (d, $J=12,3$ Hz, 1H), 1,18 (d, $J=11,4$ Hz, 1H), 0,81 (t, $J=7,1$ Hz, 3H)

Ví dụ 84

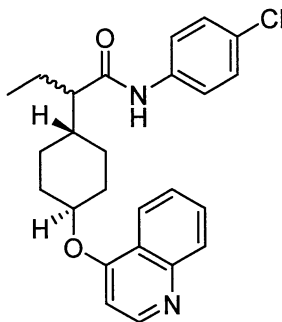
(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit



(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit được điều chế từ hợp chất trung gian 83E và các phương pháp tương tự để điều chế hợp chất 83F, 83G, và hợp chất theo ví dụ 83 chỉ khác là 4-clo-2-(triflometyl) quinolin được sử dụng trong phần F. Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{26}H_{26}ClF_3N_2O_2$ 490,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 491,2 T_r = 1,20 phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,07 (s, 1H), 8,20 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J=8,7$ Hz, 1H), 7,84-7,91 (m, 1H), 7,63-7,74 (m, 3H), 7,48 (s, 1H), 7,35 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 4,79-4,90 (m, 1H), 2,10-2,27 (m, 3H), 1,96 (d, $J=13,1$ Hz, 1H), 1,72 (d, $J=12,0$ Hz, 1H), 1,44-1,63 (m, $J=7,6$ Hz, 5H), 1,32-1,42 (m, 1H), 1,20-1,32 (m, 1H), 0,85 (t, $J=7,1$ Hz, 3H).

Ví dụ 85

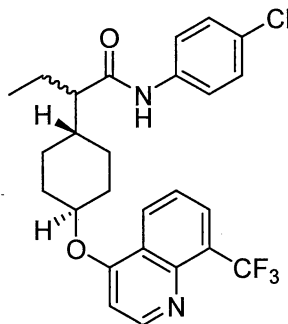
(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)butanamit



(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(quinolin-4-yloxy)xyclohexyl)butanamit được điều chế từ hợp chất trung gian 83E và các phương pháp tương tự để điều chế hợp chất 83F, 83G, và hợp chất theo ví dụ 83 chỉ khác là 4-bromo-quinolin được sử dụng trong phần F. Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{25}H_{27}ClN_2O_2$ 422,18, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 423,2 $T_r = 0,87$ phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,14 (s, 1H), 8,65 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,11 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,91 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,72 (t, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,54 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,34 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 7,06 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 4,58 (t, $J=10,1$ Hz, 1H), 2,08-2,26 (m, 3H), 1,95 (d, $J=12,6$ Hz, 1H), 1,70 (d, $J=12,9$ Hz, 1H), 1,39-1,66 (m, 5H), 1,31 (q, $J=11,9$ Hz, 1H), 1,10-1,25 (m, $J=12,4$ Hz, 1H), 0,82 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Ví dụ 86

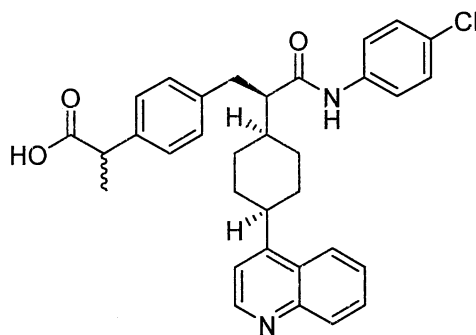
N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-((8-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit



Hợp chất theo ví dụ 86 được điều chế từ hợp chất trung gian 83E và các phương pháp tương tự để điều chế hợp chất 83F, 83G, và hợp chất theo ví dụ 83 chỉ khác là 4-clo-8-(triflometyl) quinolin được sử dụng trong phần F. Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{26}H_{26}ClF_3N_2O_2$ 490,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 491,2 $T_r = 1,03$ phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,13 (s, 1H), 8,77 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,39 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 8,12 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 7,58-7,67 (m, 3H), 7,33 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,19 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 4,61 (t, $J=10,4$ Hz, 1H), 2,08-2,24 (m, 3H), 1,94 (d, $J=12,0$ Hz, 1H), 1,69 (d, $J=13,8$ Hz, 1H), 1,37-1,63 (m, 5H), 1,24-1,37 (m, $J=12,5$ Hz, 1H), 1,11-1,24 (m, $J=11,1$ Hz, 1H), 0,81 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Ví dụ 87

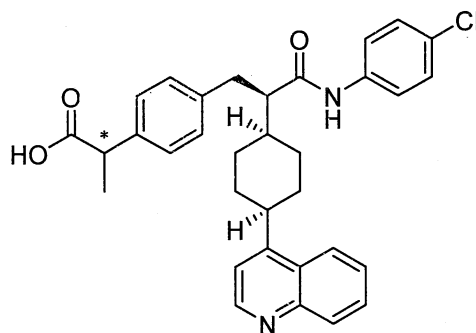
Axit 2-(4-((*R*)-3-((4-clophenyl)amino)-2-((*cis*)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic



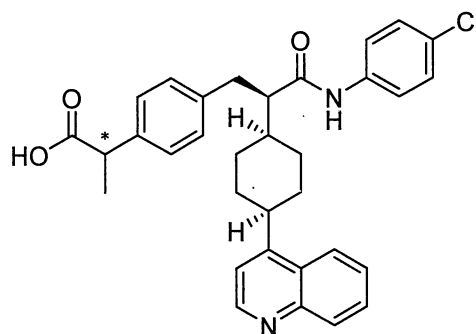
Hợp chất raxemic theo ví dụ 87 có thể được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp K và 4-cloquilin, B, E, và L, sau đó alkyl hóa bằng hợp chất trung gian 137A bằng cách sử dụng phương pháp điều chế hợp chất 137B, sau đó bằng phương pháp tương tự để điều chế hợp chất trung gian 137C, D, và hợp chất theo ví dụ 137.

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 87(a) axit 2-(4-((R)-3-((4-chlorophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)-2-propanoic (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 87(b) axit 2-(4-((R)-3-((4-chlorophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)-2-propanoic (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể không được xác định)



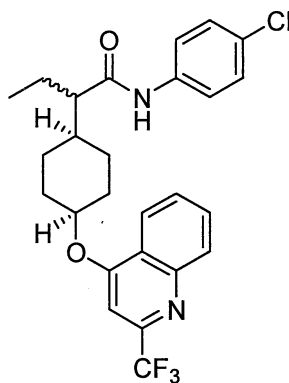
Hợp chất theo ví dụ 87 (a), chất đồng phân đối ảnh 1 và hợp chất theo hợp chất theo ví dụ 87(b), chất đồng phân đối ảnh 2: Phân tách đồng phân quang học mẫu raxemic (phương pháp E) để thu được chất đồng phân đối ảnh 1 $T_r = 10,161$ phút (phương pháp F) và chất đồng phân đối ảnh 2 $T_r = 13,160$ phút (phương pháp F) Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 87 (a), chất đồng phân đối ảnh 1: MS(ES): $m/z = 541,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 0,84$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 8,78 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,09 (m, 2H), 7,69 (ddd, $J=8,4, 7,0, 1,2$ Hz, 1H), 7,58 (ddd, $J=8,4, 7,0, 1,1$ Hz, 1H), 7,30 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 7,11-7,20 (m, 8H), 6,91 (s, 1H), 3,72-3,78 (m, 1H), 3,02 (dd, $J=13,2, 3,4$ Hz, 1H), 2,79-2,89 (m, $J=13,0$ Hz, 1H), 2,62 (td, $J=10,8, 3,5$ Hz, 1H), 2,28-2,37 (m, 1H), 1,71-2,15 (m, 9H), 1,40 (d, $J=7,1$ Hz, 3H)

Hợp chất theo ví dụ 87(b), chất đồng phân đối ảnh 2: MS(ES): $m/z = 541,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 0,84$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 8,82 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,05-8,14 (m, 2H), 7,70 (ddd, $J=8,3, 7,0, 1,2$ Hz, 1H), 7,58 (ddd, $J=8,3, 6,9, 1,2$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 7,09-7,20 (m, 8H), 6,78 (s, 1H), 3,72-3,77 (m, 1H), 3,02 (dd, $J=13,1, 3,5$ Hz, 1H), 2,83 (t, $J=12,2$ Hz, 1H), 2,61 (td, $J=10,9, 3,5$ Hz, 1H), 2,29-2,37 (m, 1H), 1,72-2,16 (m, 9H), 1,40 (d, $J=7,2$ Hz, 3H)

Ví dụ 88

($\pm$)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit



Hợp chất trung gian 88A: Ethyl 2-((*cis*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanoat

Hợp chất trung gian 83E (300mg, 1,400mmol) được hòa tan trong THF (5600 μ L) và 2-(triflometyl)quinolin-4-ol (656mg, 3,08mmol) và triphenylphosphin (808mg, 3,08mmol) được bổ sung vào. Dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C trong bể nước đá. Diisopropyl azodicarboxylat (599 μ L, 3,08mmol) được bổ sung vào và phản ứng được để khuấy ở nhiệt độ phòng khi bổ sung hoàn toàn. Được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Sau đó, phản ứng được cô trong điều kiện chân không và tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột silicagel để thu được hợp chất trung gian 88A (383mg, 0,935mmol, hiệu suất bằng 66,8%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho C₂₂H₂₆F₃NO₃ 409,19, tính toán theo thực nghiệm [M+H] 410,2 T_r = 1,22 phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 88B: axit 2-((cis)-4-((2-(Triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanoic

Hợp chất trung gian 88A (383mg, 0,935mmol) được hòa tan trong THF (748 μ L), nước (748 μ L), và MeOH (374 μ L). Lithi hydroxit (224mg, 9,35mmol) được bổ sung vào và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 60°C qua đêm. Sau 16 giờ, lithi hydroxit (224mg, 9,35mmol) được bổ sung thêm vào và phản ứng được gia nhiệt thêm 24 giờ. Phản ứng được cô trong điều kiện chân không, pha loãng bằng nước, axit hóa bằng AcOH và chiết bằng EtOAc. Lớp nước được chiết một lần nữa bằng hỗn hợp cloroform:propanol theo tỷ lệ 7:3. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất trung gian 88B (348mg, 0,912mmol, hiệu suất = 98%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho C₂₀H₂₂F₃NO₃ 381,16, tính toán theo thực nghiệm [M+H] 382,3 T_r = 1,04 phút (phương pháp A).

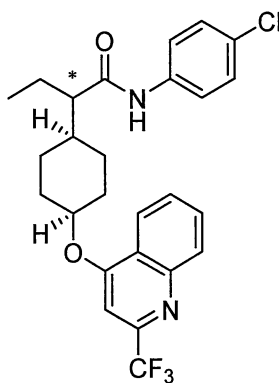
N-(4-clophenyl)-2-((cis)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit

Hợp chất trung gian 88B (50mg, 0,131mmol) được đặt trong điều kiện khí nitơ và hòa tan trong SOCl₂ (96 μ L, 1,311mmol). DMF khan (1 giọt) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được cô trong điều kiện chân không và quá trình đồng bay hơi với toluen trong điều kiện chân không được sử dụng để loại bỏ thionyl clorua còn dư. Axyl clorua thô được hòa tan trong DCM (1311 μ L) trong điều kiện khí nitơ và TEA (91 μ L, 0,655mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung 4-cloanilin (25,09mg, 0,197mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Phản ứng được cô trong điều kiện chân không, được hòa tan trong DMF, lọc, và

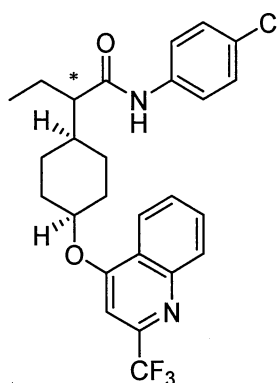
tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 88 (38,0mg, 0,077mmol, 59%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{26}H_{26}ClF_3N_2O_2$ 490,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 491,2 $T_r = 1,18$ phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,09 (s, 1H), 8,21 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J=8,5$ Hz, 1H), 7,87 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,66 (t, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,61 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,36 (s, 1H), 7,32 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 5,13 (br. s, 1H), 2,17 (br. s, 1H), 2,03 (br. s, 2H), 1,60-1,78 (m, 4H), 1,46-1,60 (m, 4H), 1,34-1,46 (m, 1H), 0,81 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 88 (a) *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 88(b) *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-((2-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



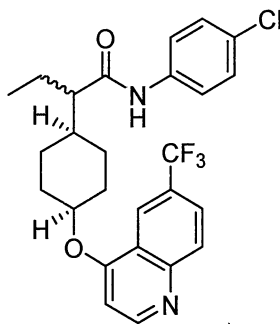
Hợp chất theo ví dụ 88(a), chất đồng phân đối ảnh 1 và hợp chất theo ví dụ 88(b) Chất đồng phân đối ảnh 2: Phân tách đồng phân quang học mẫu raxemic (phương pháp G) để thu được chất đồng phân đối ảnh 1 $T_r = 3,911$ phút (phương pháp H) và chất đồng phân đối ảnh 2 $T_r = 4,551$ phút (phương pháp H) Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 88(a), chất đồng phân đối ảnh 1: MS(ES): $m/z = 491,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,549$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,05 (s, 1H), 8,22 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J=8,4$ Hz, 1H), 7,88 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,68 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,38 (s, 1H), 7,33 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 5,15 (br. s, 1H), 2,19 (br. s, 1H), 2,04 (d, $J=7,1$ Hz, 2H), 1,35-1,78 (m, 9H), 0,83 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Hợp chất theo ví dụ 88(b), chất đồng phân đối ảnh 2: MS(ES): $m/z = 491,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,541$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,05 (s, 1H), 8,21 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 8,06 (d, $J=8,5$ Hz, 1H), 7,87 (t, $J=7,5$ Hz, 1H), 7,67 (t, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,37 (s, 1H), 7,33 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 5,15 (br. s, 1H), 2,18 (br. s, 1H), 1,98-2,10 (m, $J=5,0$ Hz, 2H), 1,36-1,80 (m, 9H), 0,83 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Ví dụ 89

($\pm$)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-((6-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanamit

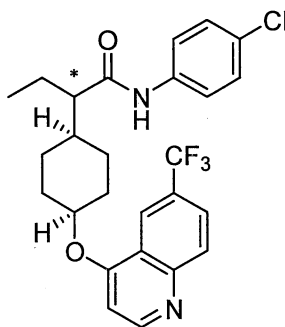


($\pm$)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-((6-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)cyclohexyl)butanamit được điều chế từ hợp chất trung gian 83E và các phương pháp tương tự để điều chế 88F, 88G, và hợp chất theo ví dụ 88 chỉ khác là 4-hydroxy-6-(triflometyl) quinolin được sử dụng trong phần F. Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{26}H_{26}ClF_3N_2O_2$ 490,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 491,3 $T_r = 0,90$ phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,06 (s, 1H), 8,83 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,14 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J=8,7$ Hz,

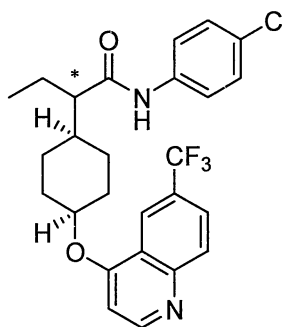
2H), 7,30 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,17 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 4,98 (br. s, 1H), 2,22 (br. s, 1H), 2,05 (br. s, 2H), 1,72 (d, $J=13,1$ Hz, 4H), 1,46-1,62 (m, 4H), 1,41 (d, $J=11,5$ Hz, 1H), 0,83 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 89(a) *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(((6-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 89(b) *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(((6-(triflometyl)quinolin-4-yl)oxy)xyclohexyl)butanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Hợp chất theo ví dụ 89(a), chất đồng phân đối ảnh 1 và hợp chất theo ví dụ 89(b), chất đồng phân đối ảnh 2: Phân tách đồng phân quang học mẫu raxemic (phương pháp I) để thu được chất đồng phân đối ảnh 1 $T_r = 6,320$ phút (phương pháp J) và chất đồng phân đối ảnh 2 $T_r = 7,500$ phút (phương pháp J) Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

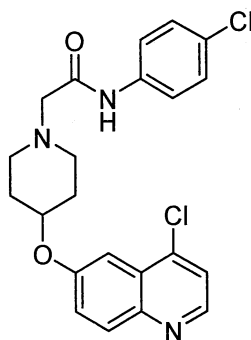
Hợp chất theo ví dụ 89(a), chất đồng phân đối ảnh 1: MS(ES): $m/z = 491,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,418$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,05 (s, 1H), 8,82 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,13 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,99 (d, $J=8,8$ Hz, 1H),

7,61 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,29 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,16 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 4,97 (br. s, 1H), 2,22 (br. s, 1H), 2,04 (br. s, 2H), 1,34-1,79 (m, 9H), 0,83 (t, $J=7,2$ Hz, 3H)

Hợp chất theo ví dụ 89(b), chất đồng phân đối ảnh 2: MS(ES): $m/z = 491,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,418$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ : 10,06 (s, 1H), 8,84 (d, $J=5,2$ Hz, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,14 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,99 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,30 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,17 (d, $J=5,3$ Hz, 1H), 4,98 (br. s, 1H), 2,23 (br. s, 1H), 2,01-2,11 (m, $J=5,4$ Hz, 2H), 1,37-1,79 (m, 9H), 0,84 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Ví dụ 90

N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetamit



Hợp chất trung gian 90A. *Tert-butyl* 4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-carboxylat, và hợp chất trung gian 90B. *Tert-butyl* 4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-carboxylat

Dung dịch chứa *tert-butyl* 4-hydroxypiperidin-1-carboxylat (0,242g, 1,200mmol) trong 1mL đioxan được xử lý với kali hexametyldisilazit (1,200mL, 1,200mmol) trong THF. Dung dịch được thu được được khuấy 5 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó được xử lý và 4-clo-6-floquinolin (0,182g, 1mmol) trong 1mL đioxan. Phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C và khuấy trong 30 phút, sau đó qua đêm ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng 0,1mL HOAc băng và chạy sắc ký silica gel (3:1 điclotetan-EtOAc, sau đó EtOAc, sau đó 95:5 EtOAc-EtOH). Cô các phân đoạn thích hợp (R_f cao) để thu được hợp chất trung gian 90A: *tert-butyl* 4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-carboxylat (0,11g, hiệu suất = 30%) dưới dạng dầu không màu. MS(ES): $m/z = 363$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,93$ phút (phương pháp A). Cô các phân đoạn R_f thấp để thu được hợp chất trung gian 90B: *tert-butyl* 4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-carboxylat (0,09g, hiệu suất = 26%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. MS(ES): $m/z = 347$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,77$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 90C. 4-clo-6-(piperidin-4-yloxy)quinolin

Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 90A (0,1g, 0,276mmol) trong HCl/dioxan (1,033mL, 4,13mmol) được khuấy ở nhiệt độ phòng. Hợp chất ban đầu được hóa dầu trên thủy tinh sau khi bổ sung HCl. Hợp chất ban đầu không hòa tan ngay cả sau khi siêu âm, so khoảng 0,5mL điclotetan được bổ sung vào, và hỗn hợp này được khuấy trong 3 giờ. During this time, dầu được hòa tan, và chất kết tủa màu trắng xuất hiện. Phản ứng được bơm hút đến khô để thu được 0,08g (97%) hợp chất trung gian 90C, HCl dưới dạng bột màu trắng nhạt. MS(ES): $m/z = 263$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,50$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 90D. Ethyl 2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetat

Hỗn dịch chứa 4-clo-6-(piperidin-4-yloxy)quinolin, HCl (0,06g, 0,201mmol) và kali carbonat (0,097g, 0,702mmol) trong DMF (0,5mL) được xử lý với ethyl bromoaxetat (0,045mL, 0,401mmol), và hỗn hợp thu được được khuấy 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp này được trung hòa bằng HOAc băng, và phần cần được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh (1:1 EtOAc-CH₂Cl₂ lên đến EtOAc). Các phân đoạn thích hợp để thu được hợp chất trung gian 90D dưới dạng dầu không màu. MS(ES): $m/z = 349$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,56$ phút (phương pháp A).

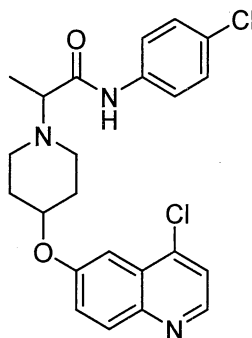
Hợp chất trung gian 90E. axit 2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetic.2 HCl

Dung dịch chứa hợp chất trung gian 90D (0,04g) trong THF (2mL) được xử lý với lithi hydroxit (0,04g, 1,670mmol) trong nước (1mL). Metanol (khoảng 1mL) được bổ sung vào để thu được pha đơn, và phản ứng được khuấy 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Dung môi được loại bỏ trong điều kiện dòng nitơ, và hỗn dịch đặc thu được được xử lý với khoảng 3mL nước để hòa tan. Dung dịch nước HCl được bổ sung từ từ vào, để hạ độ pH dung dịch đến khoảng 4, nhưng hợp chất không kết tủa ở thời điểm bất kỳ. Độ pH được điều chỉnh ngược trở lại lên đến khoảng 7,5 bằng dung dịch nước natri bicarbonat. Nước muối được bổ sung vào, nhưng vẫn không xuất hiện kết tủa. Dung dịch này được chiết sáu lần bằng cloroform-IPA theo tỷ lệ 3:1, và các dịch chiết hữu cơ thu gom được được cất để thu được dầu. Dầu này được xử lý với 5 đương lượng HCl/dioxan, và vài giọt nước được bổ sung vào để hòa tan. Sau đó, dung dịch này được đông khô để thu được hợp chất trung gian 90E (0,04g, 92%) dưới dạng chất rắn màu nâu lục nhạt. MS(ES): $m/z = 321$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,48$ phút (phương pháp A).

N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetamit

Dung dịch chứa hợp chất trung gian 90E (0,04g, 0,102mmol) và 4-cloanilin (0,014g, 0,112mmol) và triethylamin (0,057mL, 0,406mmol) trong DMF (1mL) được xử lý với BOP (0,067g, 0,152mmol). Dung dịch này được khuấy 2 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó tinh chế bằng HPLC điều chế. Cô phân đoạn thích hợp để thu được hợp chất có độ tinh khiết khoảng 90%. Hợp chất này tiếp tục được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh. Cô các phân đoạn thích hợp, sau đó đông khô để thu được hợp chất theo ví dụ 90 (0,016g, hiệu suất = 36%) dưới dạng bột màu trắng. MS(ES): $m/z = 430$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,73$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,88 (s, 1H), 8,69 (d, 1 giờ, $J = 4,7$ Hz), 8,04 (d, 1 giờ, $J = 9,2$ Hz), 7,69-7,74 (m, 3H), 7,57 (dd, 1 giờ, $J = 9,2, 2,8$ Hz), 7,50 (d, 1 giờ, $J = 2,7$ Hz), 7,36-7,39 (m, 2H), 4,69-4,76 (m, 1H), 3,19 (s, 2H), 2,78-2,86 (m, 2H), 2,06-2,13 (m, 2H), 1,81-1,89 (m, 2H). Lưu ý: một tín hiệu ở khoảng 2,55ppm chủ yếu là dung môi.

Ví dụ 91

 $(\pm)$ -N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit

Hợp chất trung gian 91A. $(\pm)$ -Etyl 2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoat

[0007] $(\pm)$ -Etyl 2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoat được điều chế dưới dạng dầu màu vàng nhạt với hiệu suất bằng 97% từ hợp chất 90C và etyl 2-bromopropionat bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90C thành hợp chất 90D chỉ khác là phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ 60°C và phân tích sắc ký không được thực hiện. MS(ES): $m/z = 363$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,58$ phút (phương pháp A).

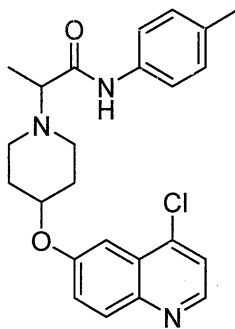
Hợp chất trung gian 91B. axit $(\pm)$ -2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoic

Axit $(\pm)$ -2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoic được điều chế dưới dạng bột màu trắng nhạt với hiệu suất bằng 93% từ hợp chất 91A bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90D thành hợp chất 90E chỉ khác là hợp chất phân lập không được biến đổi thành muối HCl. MS(ES): $m/z = 335 [M+H]^+$. $T_R = 0,49$ phút (phương pháp A).

$(\pm)$ -N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit được điều chế dưới dạng muối trifloaxetat với hiệu suất bằng 57% sau khi tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế từ hợp chất 91B bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 444 [M+H]^+$. $T_R = 0,73$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,83 (s, 1H), 8,69 (d, 1 giờ, $J = 4,4$ Hz), 8,07 (d, 1 giờ, $J = 9,1$ Hz), 7,73 (d, 1 giờ, $J = 4,2$ Hz), 7,59-7,65 (m, 3H), 7,56 (s, 1H), 7,49 (d, 2 giờ, $J = 8,1$ Hz), 4,63-4,67 (m, 1H), 3,10-3,70 (m, 5H), 2,01-2,39 (m, 4H), 1,66 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz).

Ví dụ 92

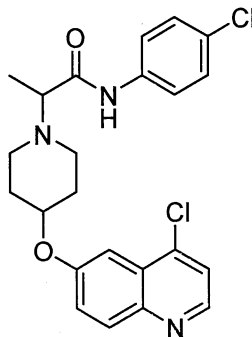
$(\pm)$ -2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)-N-(p-tolyl)propanamit



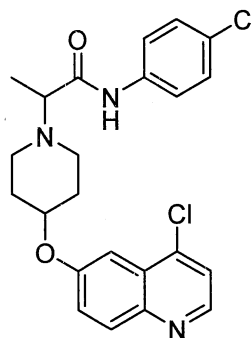
$(\pm)$ -2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)-N-(p-tolyl)propanamit được điều chế dưới dạng muối HCl với hiệu suất bằng 77% sau khi tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế và trao đổi muối từ 91B và p-toluidin bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 424 [M+H]^+$. $T_R = 0,71$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 11,02 (s, không được tích hợp), 10,91 (s, không được tích hợp), 10,72 (br. s, không được tích hợp), 10,57 (br. s, không được tích hợp), 8,78 (s, 1H), 8,13 (t, 1 giờ, $J = 9,8$ Hz), 7,83 (s, 1H), 7,52-7,70 (m, 4H), 7,19 (d, 2 giờ, $J = 7,2$ Hz), 4,27-4,35 (m, 1H), 3,25-3,77 (m, 5H), 1,96-2,41 (m, 7H), 1,62 (d, 3H, $J = 5,1$ Hz).

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2 của hỗn hợp raxemic theo ví dụ 91

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 93 N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 94 N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Ví dụ 93 và 94. N-(4-clophenyl)-2-(4-((4-cloquinolin-6-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit (cả hai chất đồng phân đối ảnh, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)

Hỗn hợp raxemic theo ví dụ 91 (0,038g) được tinh chế bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học (27% MeOH trong CO₂, 0,1% (thể tích/thể tích) mỗi diethylamin và amoni format); cột: CHIRALPAK® AD, tốc độ dòng bằng 85mL/phút); cô phân đoạn thích hợp (rửa giải sớm hơn) để thu được hợp chất theo [0008]

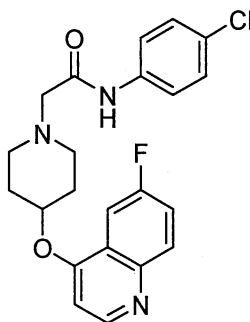
ví dụ 93 (chất đồng phân đối ảnh 1, rửa giải thứ nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định) (0,007g, 23%). MS(ESI): $m/z = 444$ [M+H]⁺. T_R = 1,28 phút (SCP TFA). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,65 (d, 1 giờ, J = 4,5 Hz), 8,02 (d, 1 giờ, J = 9,2 Hz), 7,69 (d, 1 giờ, J = 4,5 Hz), 7,64 (d, 2 giờ, J = 8,6 Hz), 7,54 (br. d, 1 giờ, J = 9,3 Hz), 7,47

(br. s, 1H), 7,37 (d, 2 giờ, $J = 8,5$ Hz), 4,68-4,75 (m, 1H), 3,56-3,0 (m, 5H), 2,06-2,15 (m, 2H), 1,80-1,90 (m, 2H), 1,24-1,32 (m, 3H).

Hợp chất theo ví dụ 94 (chất đồng phân đối ảnh 2, rửa giải thứ hai, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định) (0,027g). MS(ESI): $m/z = 444$ $[M+H]^+$. $T_R = 1,27$ phút (phương pháp K). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6): gần như tương tự với raxemat NMR (một số diethylamoni format xuất hiện).

Ví dụ 95

N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetamit



Hợp chất trung gian 95A. 6-flo-4-(piperidin-4-yloxy)quinolin.2 HCl

6-flo-4-(piperidin-4-yloxy)quinolin.2 HCl được điều chế từ hợp chất 90B với hiệu suất có thể định lượng dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90A thành hợp chất 90C. MS(ES): $m/z = 247$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,42$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 95B. Ethyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetat

Ethyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetat được điều chế từ hợp chất 95A dưới dạng dầu màu vàng nhạt với hiệu suất bằng 63% bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90C thành hợp chất 90D. MS(ES): $m/z = 333$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,48$ phút (phương pháp A).

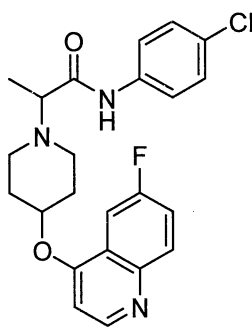
Hợp chất trung gian 95C. axit 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl) axetic

Axit 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl) axetic được điều chế từ hợp chất 95B dưới dạng thủy tinh màu vàng với hiệu suất bằng 75% bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90D thành hợp chất 90E chỉ khác là hợp chất phân lập không được biến đổi thành muối HCl. MS(ES): $m/z = 305$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,42$ phút (phương pháp A).

N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)axetamit được điều chế từ hợp chất 95C với hiệu suất bằng 38% bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 414$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,66$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8,68 (d, 1 giờ, $J = 5,1$ Hz), 8,04 (dd, 1 giờ, $J = 9,0, 5,2$ Hz), 7,81 (d, 1 giờ, $J = 9,3$ Hz), 7,63-7,68 (m, 3H), 7,36 (d, 2 giờ, $J = 8,4$ Hz), 7,13 (d, 1 giờ, $J = 5,0$ Hz), 4,81-4,87 (m, 1H), 3,69 (s, 2H), 2,80-2,88 (m, 2H), 2,58-2,67 (m, 2H), 2,07-2,14 (m, 2H), 1,89-1,98 (m, 2H).

Ví dụ 96

($\pm$)-N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit



Hợp chất trung gian 96A. ($\pm$)-Etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoat

[0009] ($\pm$)-Etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoat được điều chế dưới dạng dầu không màu với hiệu suất bằng 83% từ hợp chất 95A và etyl 2-bromopropionat bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90C thành hợp chất 90D. MS(ES): $m/z = 347$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,51$ phút. (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 96B. axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoic

Axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanoic được điều chế dưới dạng thủy tinh với hiệu suất bằng 68% từ hợp chất 96A bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90D thành hợp chất 90E chỉ khác là hợp chất phân lập không được biến đổi thành muối HCl. MS(ES): $m/z = 319$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,42$ phút (phương pháp A).

($\pm$)-N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)propanamit được điều chế với hiệu suất bằng 58% sau khi tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế

từ hợp chất 96B bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 428$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,72$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,97 (s, 1H), 8,69 (d, 1 giờ, $J = 5,4$ Hz), 8,02 (dd, 1 giờ, $J = 9,8, 5,4$ Hz), 7,77 (dd, 1 giờ, $J = 9,7, 2,8$ Hz), 7,71 (d, 2 giờ, $J = 8,1$ Hz), 7,64-7,68 (m, 1H), 7,37 (d, 2 giờ, $J = 8,8$ Hz), 7,15 (d, 1 giờ, $J = 5,2$ Hz), 4,78-4,85 (m, 1H), 2,77-2,87 (m, 2H), 2,57-2,63 (m, 1H), 2,06-2,14 (m, 2H), 1,85-1,94 (m, 2H), 1,22 (d, 3H, $J = 6,8$ Hz). Lưu ý: một tín hiệu chủ yếu là dung môi.

Ví dụ 97 đến 101

Hợp chất trung gian 97A: ($\pm$)-Etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)butanoat

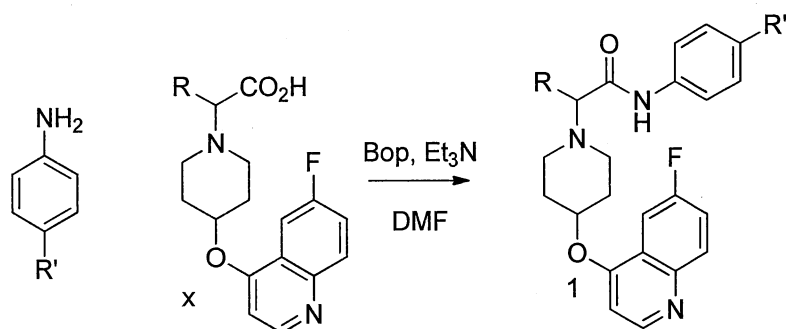
($\pm$)-Etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)butanoat được điều chế dưới dạng dầu không màu với hiệu suất bằng 71% từ hợp chất 95A và etyl 2-bromobutyrat bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90C thành hợp chất 90D chỉ khác là phản ứng được chạy mẫu ở nhiệt độ $50^\circ C$ MS(ES): $m/z = 361$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,54$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 97B: axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)butanoic

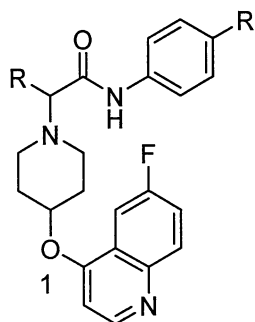
Axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)butanoic được điều chế dưới dạng bột màu vàng rơm với hiệu suất bằng 74% từ hợp chất 97A bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90D thành hợp chất 90E chỉ khác là hợp chất phân lập không được biến đổi thành muối HCl. MS(ES): $m/z = 333$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,44$ phút (phương pháp A).

Như được thể hiện trong Sơ đồ 1 dưới đây, axit carboxylic x (hợp chất trung gian 96B và 97B được điều chế theo ví dụ nêu trên) được cho phản ứng ghép cặp Bop với anilin thích hợp trong các điều kiện để biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90 để thu được hợp chất theo sáng chế 1 được thể hiện trong Bảng 2. (Toàn bộ các hợp chất là hỗn hợp racemic)

Sơ đồ 1



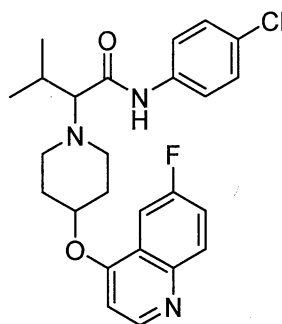
Bảng 2



Ví dụ	R	R'	(M+H) ⁺	thời gian lưu (phút) ^{Phương pháp}
97	Et	Me	422	1,13 ^K
98	Et	Cl	442	1,15 ^K
99	Me	F	412	0,94 ^K
100	Me	EtO	438	1,03 ^K
101	Me	Me	408	1,02 ^K

Ví dụ 102

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-metylbutanamit



Hợp chất trung gian 102A. (±)-Etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-metylbutanoat

(±)-etyl 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-metylbutanoat được điều chế dưới dạng dầu màu vàng nhạt với hiệu suất bằng 59% từ hợp chất 95A và etyl 2-

bromo-3-methylbutyrat bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90C thành hợp chất 90D chỉ khác là phản ứng được chạy mẫu ở nhiệt độ 90°C MS(ES): $m/z = 375$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,60$ phút. (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 102B. axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-methylbutanoic

Axit ($\pm$)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-methylbutanoic được điều chế dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt với hiệu suất bằng 77% từ hợp chất 102A bằng cách sử dụng phương pháp biến đổi hợp chất 90D thành hợp chất 90E chỉ khác là phản ứng được chạy mẫu trong vài ngày ở nhiệt độ 75°C và hợp chất phân lập không được biến đổi thành muối HCl. MS(ES): $m/z = 347$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,47$ Phút (phương pháp A).

($\pm$)-N-(4-clophenyl)-2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-methylbutanamit

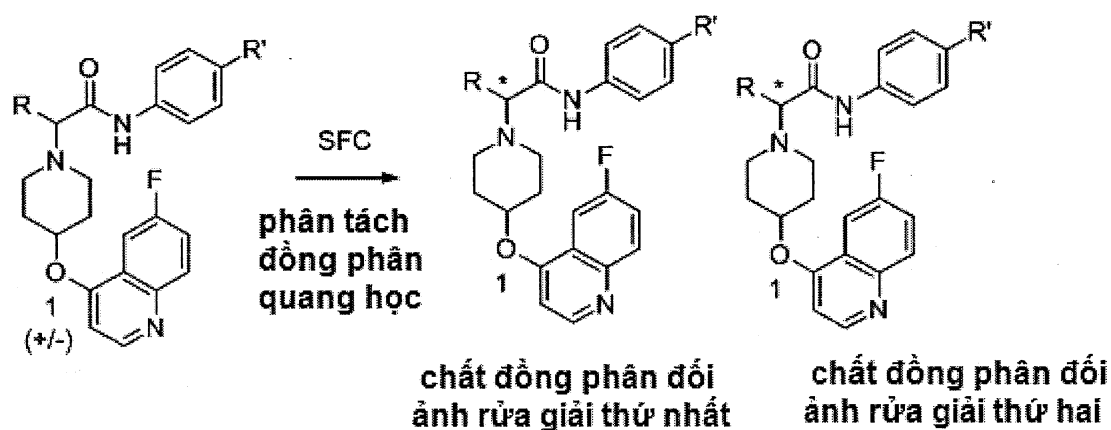
Dung dịch chứa axit 2-(4-((6-floquinolin-4-yl)oxy)piperidin-1-yl)-3-methylbutanoic (0,02g, 0,058mmol) và N-metylmorpholin (0,013mL, 0,115mmol) trong THF (0,2mL) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C và xử lý với isobutyl cloroformat (9,10 μ L, 0,069mmol). Hỗn hợp này được khuấy 15 phút, sau đó được xử lý và 4-cloanilin (8,84mg, 0,069mmol) và làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 1 giờ. Phản ứng được dừng bằng cách bổ sung 1 giọt nước, pha loãng bằng DMF, và tinh chế bằng HPLC điều chế. Cô phân đoạn thích hợp để thu được hợp chất theo ví dụ 102.2 TFA (0,005g, hiệu suất = 13%) dưới dạng bột màu trắng. MS(ES): $m/z = 456$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,82$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,94 (br. s, 1H), 9,96 (br. s, 1H), 8,02-8,19 (m, 3H), 7,82-7,91 (m, 1H), 7,67 (d, 2 giờ, $J = 8,7$ Hz), 7,44 (d, 2 giờ, $J = 8,2$ Hz), 2,01-2,37 (m, 5H), 1,10 (d, 6H, $J = 5,3$ Hz). Lưu ý: Một số tín hiệu là pic nước kích cỡ lớn.

Ví dụ 103 đến 112

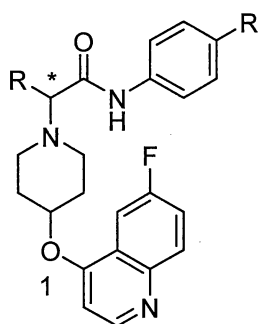
Như được thể hiện trong sơ đồ 2 dưới đây, các hỗn hợp raxemic (được điều chế theo ví dụ nêu trên) được phân tích bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học với các cột được thể hiện trong các điều kiện (MeOH-CO₂) để hòa tan hợp chất theo ví dụ 91 thành chất đồng phân đối ảnh theo ví dụ 93 và hợp chất theo ví dụ 94 để thu được chất đồng phân quang học đồng nhất theo sáng chế 1 được thể hiện trong Bảng 3.

(Toàn bộ các hợp chất là chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)

Sơ đồ 2



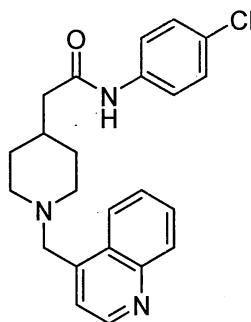
Bảng 3



Ví dụ	R	R'	Cột, dung môi rửa giải	Thứ tự rửa giải	(M+H) ⁺	Thời gian lưu (phút) Phương pháp
103	Me	Cl	Chiraltech AD, 30% MeOH	Thứ nhất	428	1,08 ^K
104	Me	Cl	Chiraltech AD, 30% MeOH	Thứ hai	428	1,07 ^K
105	Me	F	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ nhất	412	1,00 ^K
106	Me	F	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ hai	412	0,97 ^K
107	Me	EtO	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ nhất	438	1,01 ^K
108	Me	EtO	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ hai	438	1,01 ^K
109	Me	Me	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ nhất	408	1,07 ^K
110	Me	Me	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ hai	408	1,04 ^K
111	Et	Cl	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ nhất	442	1,16 ^K
112	Et	Cl	Chiraltech AD, 40% MeOH + 0,1% EtNH ₂	Thứ hai	442	1,20 ^K

Ví dụ 113

N-(4-clophenyl)-2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetamit



Hợp chất trung gian 113A. Metyl 2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetat.

Dung dịch chứa metyl 2-(piperidin-4-yl)axetat, HCl (0,465g, 2,400mmol) và triethylamin (0,892mL, 6,40mmol) trong 1mL DMF được cho phản ứng với 4-(clometyl)quinolin, HCl (0,428g, 2mmol). Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ, sau đó pha loãng bằng EtOAc. Sau đó, các dịch chiết hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô, lọc, và cất để thu được metyl 2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetat (0,54g, hiệu suất = 86%) dưới dạng dầu màu hổ phách. MS(ES): $m/z = 299$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,48$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 113B. axit 2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl) axetic

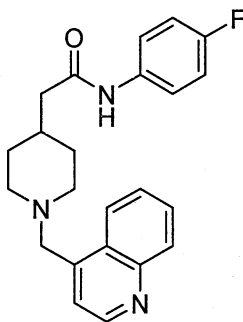
Dung dịch chứa hợp chất trung gian 113A (0,1g, 0,335mmol) trong THF (1mL) được xử lý với dung dịch nước lithi hydroxit (0,268mL, 0,670mmol), sau đó bổ sung 0,2mL nước. Metanol, khoảng 0,5mL, được bổ sung vào để thu được pha đơn, và phản ứng được khuấy 18 giờ ở nhiệt độ phòng. Hầu hết dung môi hữu cơ được loại bỏ trong điều kiện dòng nitơ, và phần cặn được dừng bằng 0,08mL HOAc băng. Độ pH được điều chỉnh đến khoảng 7 bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa, và dung dịch thu được được chiết ba lần bằng cloroform-isopropanol theo tỷ lệ 3:1. Dịch chiết hữu cơ thu gom được được làm khô, lọc, và cất để thu được axit 2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl) axetic (0,095g, hiệu suất = 95%) dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt. MS(ES): $m/z = 285$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,43$ phút (phương pháp A).

N-(4-clophenyl)-2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetamit được điều chế với hiệu suất bằng 51% từ hợp chất 113B bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 394$ $[M+H]^+$. $T_R = 1,07$ phút

(phương pháp K). ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,08 (s, 1H), 8,82 (d, 1 giờ, $J = 3,9$ Hz), 8,27 (d, 1 giờ, $J = 8,3$ Hz), 8,02 (d, 1 giờ, $J = 8,3$ Hz), 7,75 (t, 1 giờ, $J = 7,5$ Hz), 7,55-7,64 (m, 3H), 7,49 (d, 1 giờ, $J = 3,4$ Hz), 7,33 (d, 2 giờ, $J = 8,4$ Hz), 3,76 (s, 2H), 2,81-2,88 (m, 2H), 2,22 (d, 2 giờ, $J = 6,7$ Hz), 2,03-2,13 (m, 2H), 1,73-1,82 (m, 1H), 1,59-1,65 (m, 2H), 1,19-1,28 (m, 2H).

Ví dụ 114

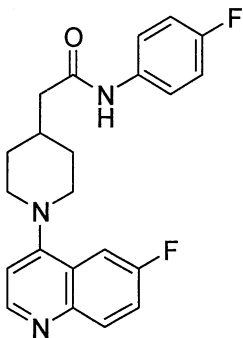
N-(4-flophenyl)-2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetamit



N-(4-flophenyl)-2-(1-(quinolin-4-ylmetyl)piperidin-4-yl)axetamit được điều chế với hiệu suất bằng 76% từ hợp chất 113B và 4-floanilin bằng cách sử dụng các điều kiện biến đổi hợp chất 90E thành hợp chất theo ví dụ 90. MS(ES): $m/z = 378$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_R = 0,88$ phút (phương pháp K). ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 10,03 (s, 1H), 8,79 (d, 1 giờ, $J = 4,0$ Hz), 8,25 (d, 1 giờ, $J = 8,3$ Hz), 8,01 (d, 1 giờ, $J = 8,4$ Hz), 7,75 (t, 1 giờ, $J = 7,5$ Hz), 7,61 (t, 1 giờ, $J = 7,5$ Hz), 7,47-7,55 (m, 3H), 7,09 (t, 2 giờ, $J = 8,7$ Hz), 3,90 (s, 2H), 2,80-2,86 (m, 2H), 2,20 (d, 2 giờ, $J = 6,9$ Hz), 2,03-2,11 (m, 2H), 1,71-1,79 (m, 1H), 1,58-1,64 (m, 2H), 1,18-1,27 (m, 2H).

Ví dụ 115

N-(4-flophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)axetamit



Hợp chất trung gian 115A. Metyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)axetat

Bổ sung methyl 2-(piperidin-4-yl)axetat (260,0mg, 1,7mmol) vào hỗn hợp chứa 4-clo-6-floquinolin (200,0mg, 1,1mmol) trong NMP khan (4mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (0,8mL, 4,6mmol). Bình phản ứng này được đậy nắp và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ, sau đó ở nhiệt độ 120°C trong 66 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng trước khi phân lớp bằng nước và Et₂O. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết hai lần nữa bằng Et₂O. Các dịch chiết hữu cơ này được kết hợp với lớp hữu cơ ban đầu và rửa bằng nước muối, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được methyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)axetat dưới dạng dầu màu vàng (304,3mg; hiệu suất = 91%). MS(ES): m/z = 303 [M+H]⁺. T_R = 0,64 phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,67 (d, J =5,0 Hz, 1H), 8,04 - 7,97 (m, 1H), 7,67 - 7,53 (m, 2H), 7,02 (d, J =5,0 Hz, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,51 - 3,43 (m, 2H), 2,87 - 2,76 (m, 2H), 2,39 (d, J =7,0 Hz, 2H), 1,94 - 1,89 (m, 1H), 1,87 - 1,81 (m, 2H), 1,62 - 1,49 (m, 2H).

Hợp chất trung gian 115B. axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl) axetic

Bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước NaOH 2M (1mL, 2,0mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa hợp chất trung gian 115A (304,3mg, 1,0mmol) trong EtOH (10mL), ở nhiệt độ phòng trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 22 giờ trước khi dừng bằng HCl 4M trong dioxan (0,5mL, 2,0mmol). Sau khi khuấy trong 5 phút, hỗn hợp được cô trong điều kiện chân không để thu được chất rắn màu vàng nhạt được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS(ES): m/z = 289 [M+H]⁺. T_R = 0,55 phút (phương pháp A).

N-(4-flophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)axetamid

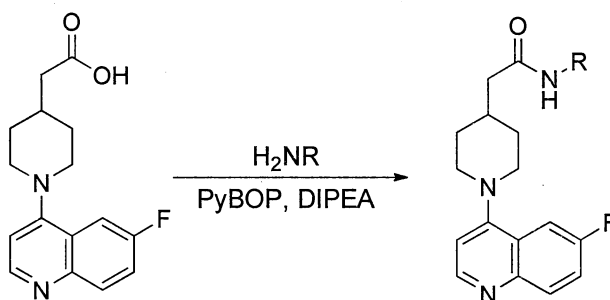
Bổ sung DIPEA (0,04mL, 0,23mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 115B (20,0mg, 0,07mmol) và 4-floanilin (9,3mg, 0,08mmol) trong DMF khan (1mL), ở nhiệt độ phòng trong điều kiện khí nitơ, sau đó bổ sung PyBOP (36,1mg, 0,07mmol). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 4 giờ trước khi cô trong điều kiện chân không để loại bỏ các chất dễ bay hơi, pha loãng bằng DMSO, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn (14,4mg; hiệu suất = 54%). MS(ES): m/z = 382 [M+H]⁺. T_R = 1,25 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 10,04 (s, 1H), 8,66 (d, J =4,9 Hz, 1H), 8,03 - 7,99

(m, 1H), 7,64 - 7,58 (m, 4H), 7,16 - 7,11 (m, 2H), 7,03 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 3,59 - 3,15 (m, 2H), 2,86 - 2,78 (m, 2H), 2,36 (d, $J=7,1$ Hz, 2H), 2,07 - 1,98 (m, 1H), 1,89 - 1,84 (m, 2H), 1,62 - 1,53 (m, 2H).

Ví dụ 116 đến 119

Hợp chất trung gian 115B được cho phản ứng với amin thích hợp, trong các điều kiện mô tả trong ví dụ 115 (Sơ đồ 3, dưới đây), để thu được hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong Bảng 4.

Sơ đồ 3

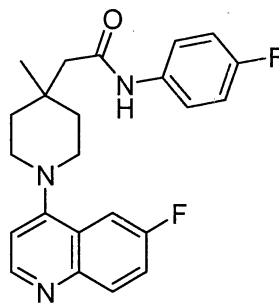


Bảng 4

Ví dụ	R	(M+H) ⁺	Thời gian lưu (phút) Phương pháp
116		398	1,43 ^K
117		442	1,48 ^K
118		396	1,35 ^K
119		412	1,42 ^K

Ví dụ 120

N-(4-flophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetamit



Hợp chất trung gian 120A. Metyl 2-(4-metylpiperidin-4-yl)axetat, HCl

Bổ sung từ từ axetyl clorua (1,1mL, 15,2mmol) vào bình phản ứng được nạp với MeOH (7,5mL), ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi bổ sung hoàn toàn, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút trước khi hỗn hợp đồng nhất chứa axit 2-(4-metylpiperidin-4-yl) axetic, HCl (675,0mg, 3,5mmol) trong MeOH (1,5mL) được bổ sung từ từ nhỏ giọt vào. Hỗn hợp đồng nhất thu được được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút, sau đó ở nhiệt độ 60°C trong 8 giờ, trước khi cô trong điều kiện chân không để thu được muối HCl của hợp chất trung gian 120A dưới dạng chất rắn màu trắng (718,0mg; hiệu suất = 99%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 9,41 - 9,12 (m, 1H), 3,60 (s, 3H), 3,25 - 3,15 (m, 2H), 2,93 - 2,82 (m, 2H), 2,39 - 2,30 (m, 2H), 1,74 - 1,64 (m, 4H), 1,02 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 120B. Metyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetat

Bổ sung muối HCl của metyl 2-(4-metylpiperidin-4-yl)axetat (120A, 480,0mg, 2,3mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa 4-clo-6-floquinolin (350,0mg, 1,9mmol) trong NMP khan (5mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (1,6mL, 9,2mmol). Bình phản ứng được đậy kín và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 120°C. Sau 26 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, sau đó phân lớp bằng nước và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, sau đó cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được hợp chất trung gian 120B dưới dạng dầu (565,8mg; hiệu suất = 93%). MS(ES): *m/z* = 317 [M+H]⁺. T_R = 0,66 phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,38 (d, *J*=5,4 Hz,

1H), 7,96 (dd, $J=11,7, 2,8$ Hz, 1H), 7,89 - 7,84 (m, 1H), 7,55 - 7,49 (m, 1H), 6,54 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 3,82 - 3,63 (m, 2H), 3,59 (s, 3H), 3,54 - 3,34 (m, 2H), 2,45 - 2,38 (m, 2H), 1,87 - 1,72 (m, 4H), 1,05 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 120C. axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetic

Bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước NaOH 2M (1mL, 2,0mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa methyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetat (321,0mg, 1,0mmol) trong MeOH (5mL), trong điều kiện khí nitơ. Sau đó, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 20 giờ trước khi xử lý bằng dung dịch nước HCl 1N cho đến khi độ pH = 6 chuyển sang độ pH của thiết bị cất. Sau đó, hỗn hợp được phân lớp bằng nước và EtOAc, các lớp được phân tách và lớp nước được chiết hai lần bằng EtOAc. Lớp nước chiết được được đông khô để thu được hợp chất thô theo ví dụ 120C dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (302,1mg, hiệu suất = 98%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. MS(ES): $m/z = 303$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,59$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 12,12 (br.s, 1H), 8,41 (d, $J=6,1$ Hz, 1H), 8,12 (dd, $J=11,5, 2,7$ Hz, 1H), 8,00 (dd, $J=9,3, 5,7$ Hz, 1H), 7,75 - 7,64 (m, 1H), 6,64 (d, $J=6,2$ Hz, 1H), 3,98 - 3,87 (m, 1H), 3,87 - 3,78 (m, 1H), 3,69 - 3,49 (m, 2H), 2,38 - 2,29 (m, 2H), 1,92 - 1,70 (m, 4H), 1,06 (s, 3H).

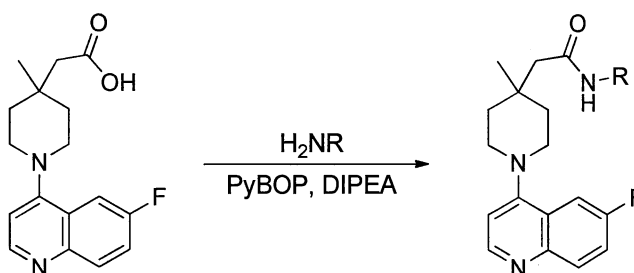
N-(4-flophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetamid

Bổ sung DIPEA (0,05mL, 0,3mmol) vào hỗn hợp chứa axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetic (25,6mg, 0,09mmol) và 4-floanilin (11,3mg, 0,1mmol) trong DMF khan (1mL), trong điều kiện khí nitơ, sau đó bổ sung PyBOP (44,1mg, 0,09mmol). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 156 giờ, trước khi pha loãng bằng DMF, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn (17,2mg; hiệu suất = 51%). MS(ES): $m/z = 396$ $[M+H]^+$. $T_R = 1,32$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,05 (s, 1H), 8,33 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 7,99 - 7,93 (m, 1H), 7,89 - 7,83 (m, 1H), 7,57 - 7,50 (m, 3H), 7,13 - 7,08 (m, 2H), 6,54 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 3,85 - 3,61 (m, 2H), 3,59 - 3,36 (m, 2H), 2,41 - 2,31 (m, 2H), 1,86 - 1,75 (m, 4H), 1,07 (s, 3H).

Ví dụ 121 đến 125

Axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetic được cho phản ứng với amin thích hợp, trong các điều kiện mô tả trong ví dụ 120 (Sơ đồ 4, dưới đây), để thu được hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong Bảng 5.

Sơ đồ 4

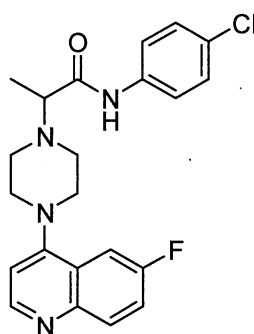


Bảng 5

Ví dụ	R	(M+H) ⁺	Thời gian lưu (phút) ^{Phương pháp}
121		392	1,39 ^K
122		380	0,91 ^K
123		412	1,78 ^K
124		410	1,04 ^K
125		422	1,40 ^K

Ví dụ 126

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanamit



Hợp chất trung gian 126A. *Tert-butyl* 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat

Bổ sung 1-Boc-piperizin (308,0mg, 1,7mmol) vào hỗn hợp chứa 4-clo-6-floquinolin (200,0mg, 1,1mmol) trong NMP khan (4mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (0,8mL, 4,6mmol). Bình phản ứng này được đậy nắp và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ, sau đó ở nhiệt độ 120°C trong 66 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng trước khi phân lớp bằng nước và Et₂O. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết hai lần nữa bằng Et₂O. Các dịch chiết hữu cơ này được kết hợp với lớp hữu cơ ban đầu và rửa bằng nước muối, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được *tert-butyl* 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat dưới dạng dầu (362,8mg; hiệu suất = 98%). MS(ES): $m/z = 332$ [M+H]⁺. T_R = 0,70 phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,70 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 8,09 - 8,00 (m, 1H), 7,77 - 7,67 (m, 1H), 7,67 - 7,62 (m, 1H), 7,07 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 3,67 - 3,57 (m, 4H), 3,15 - 3,06 (m, 4H), 1,44 (s, 9H).

Hợp chất trung gian 126B. 6-flo-4-(piperazin-1-yl)quinolin

Bổ sung HCl 4M trong đioxan (10mL, 40,0mmol) vào bình phản ứng được nạp với *tert-butyl* 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat (362,8mg, 1,1mmol), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 5,5 giờ, kết tủa xuất hiện trong thời gian này. Hỗn hợp không đồng nhất này được cô đến thể tích bằng khoảng 1/2 thể tích ban đầu và lọc trong điều kiện chân không để thu được muối HCl của hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (259,0mg; hiệu suất = 88%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. MS(ES): $m/z = 232$ [M+H]⁺. T_R = 0,34 phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 126C. Ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanoat

Bổ sung K₂CO₃ (60,0mg, 0,4mmol) vào hỗn hợp không đồng nhất chứa muối HCl của 6-flo-4-(piperazin-1-yl)quinolin (126B, 80,0mg, 0,3mmol) trong NMP khan (2mL) trong bình phản ứng có thể đậy kín, sau đó bổ sung ethyl 2-bromopropanoat (65,0mg, 0,4mmol). Sau đó, bình phản ứng được đậy kín và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 60°C. Sau 67,5 giờ, phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, sau đó phân lớp bằng nước và DCM. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng DCM. Các lớp hữu cơ được kết hợp và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất

mong muốn dưới dạng dầu (92,7mg, 94%), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.
MS(ES): $m/z = 332$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,51$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 126D. axit 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanoic

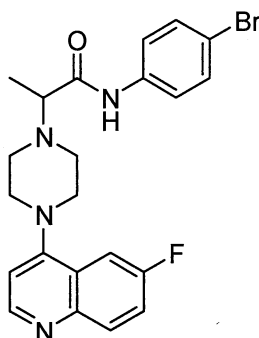
Bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước NaOH 2M (0,3mL, 0,6mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanoat (92,7mg, 0,3mmol) trong EtOH (3mL), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 21 giờ trước khi dừng bằng HCl 4M trong đioxan (0,15mL, 0,6mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 30 phút, hỗn hợp được cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu nâu vàng nhạt, được sử dụng mà không cần tinh chế thêm, dựa trên 100%, in the next step.
MS(ES): $m/z = 304$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,39$ phút (phương pháp A).

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanamit

Bổ sung DIPEA (0,06mL, 0,3mmol) vào hỗn hợp chứa axit 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanoic (30mg, 0,1mmol) và 4-cloanilin (15,1mg, 0,1mmol) trong DMF khan (1,5mL), trong điều kiện khí nitơ, sau đó bổ sung PyBOP (51,5mg, 0,1mmol). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 17,5 giờ, trước khi pha loãng bằng DMF, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng raxemat (11,0mg; hiệu suất = 27%).
MS(ES): $m/z = 413$ $[M+H]^+$. $T_R = 1,01$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,05 (s, 1H), 8,71 - 8,62 (m, 1H), 8,06 - 7,96 (m, 1H), 7,66 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,64 - 7,57 (m, 2H), 7,35 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,04 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 3,36 (q, $J=6,8$ Hz, 1H), 3,27 - 3,13 (m, 4H), 2,90 - 2,73 (m, 4H), 1,25 (d, $J=6,8$ Hz, 3H).

Ví dụ 127

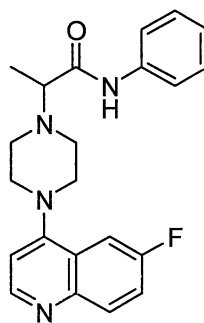
(±)-N-(4-bromophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanamit



Hợp chất theo ví dụ 127 (17,1mg; hiệu suất = 37%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 126, chỉ khác là 4-bromoanilin (20,4mg, 0,12mmol) được sử dụng thay cho 4-cloanilin. MS(ES): $m/z = 457 [M+H]^+$. $T_r = 1,04$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,58 (br. s, 1H), 8,65 (d, $J=6,0$ Hz, 1H), 8,09 - 7,98 (m, 1H), 7,85 - 7,76 (m, 2H), 7,61 - 7,48 (m, 4H), 7,20 (d, $J=6,1$ Hz, 1H), 3,76 - 3,66 (m, 2H), 3,39 - 3,27 (m, 2H), 3,27 - 3,16 (m, 2H), 2,95 - 2,82 (m, 1H), 2,58 - 2,54 (m, 2H), 1,46 (d, $J=6,6$ Hz, 3H).

Ví dụ 128

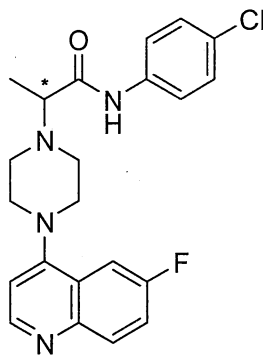
($\pm$)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-*N*-phenylpropanamit



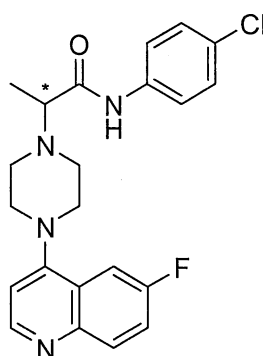
Hợp chất theo ví dụ 128 (10,9mg; hiệu suất = 29%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 126, chỉ khác là anilin (11,1mg, 0,12mmol) được sử dụng thay cho 4-cloanilin. MS(ES): $m/z = 379 [M+H]^+$. $T_r = 0,81$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 9,92 (s, 1H), 8,65 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 8,08 - 7,96 (m, 1H), 7,67 - 7,54 (m, 4H), 7,30 (t, $J=7,7$ Hz, 2H), 7,12 - 7,00 (m, 2H), 3,36 (q, $J=6,7$ Hz, 1H), 3,28 - 3,11 (m, 4H), 2,93 - 2,74 (m, 4H), 1,25 (d, $J=6,8$ Hz, 3H).

Chất đồng phân đối ảnh 1 và chất đồng phân đối ảnh 2 của hỗn hợp raxemic theo ví dụ 126

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 129 *N*-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 130 *N*-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)

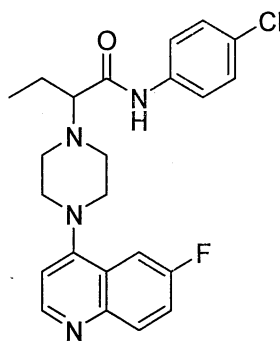


Hỗn hợp raxemic theo ví dụ 126 (11,0mg) được tinh chế bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học (70/30 CO₂/MeOH; pha động, cột Chiral AD 25 × 3cm, 5μm, tốc độ dòng bằng 85mL/phút; bước sóng phát hiện = 220nm). Cô các phân đoạn thích hợp để thu được hợp chất theo ví dụ 129 (chất đồng phân đối ảnh 1, rửa giải thứ nhất) (4,2mg) MS(ES): $m/z = 413$ [M+H]⁺. T_r = 1,04 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Hợp chất theo ví dụ 130 (chất đồng phân đối ảnh 2, rửa giải thứ hai) (4,1mg) MS(ES): $m/z = 413$ [M+H]⁺. T_r = 1,04 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Ví dụ 131

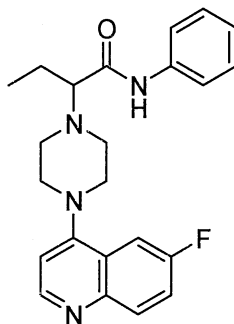
(±)-*N*-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)butanamit



Hợp chất theo ví dụ 131 (5,6mg; hiệu suất = 14%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 126, chỉ khác là etyl 2-bromobutanoat được sử dụng thay cho etyl 2-bromopropanoat. MS(ES): $m/z = 427$ $[M+H]^+$. $T_r = 1,09$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,17 (s, 1H), 8,65 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 8,01 (dd, $J=9,0, 5,6$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,64 - 7,57 (m, 2H), 7,37 (d, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,03 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 3,58 - 3,54 (m, 1H), 3,25 - 3,11 (m, 4H), 2,95 - 2,76 (m, 4H), 1,85 - 1,60 (m, 2H), 0,89 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

Ví dụ 132

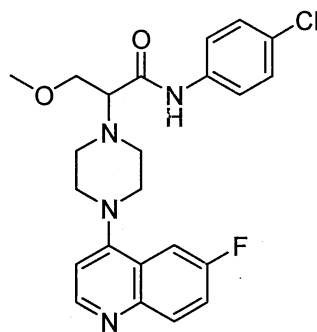
($\pm$)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-phenylbutanamit



Hợp chất theo ví dụ 132 (6,6mg; hiệu suất = 17%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 131, chỉ khác là anilin được sử dụng thay cho 4-cloanilin. MS(ES): $m/z = 393$ $[M+H]^+$. $T_r = 0,91$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,08 (s, 1H), 8,61 (d, $J=4,0$ Hz, 1H), 7,98 (dd, $J=8,8, 5,6$ Hz, 1H), 7,65 - 7,52 (m, 4H), 7,31 (t, $J=7,8$ Hz, 2H), 7,13 - 6,98 (m, 2H), 3,24 - 3,09 (m, 5H), 2,96 - 2,76 (m, 4H), 1,83 - 1,60 (m, 2H), 0,87 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

Ví dụ 133

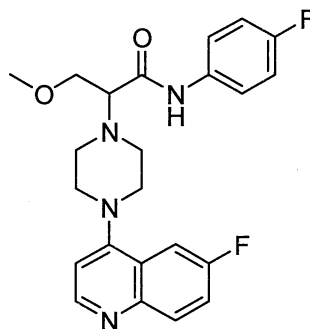
($\pm$)-N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxypropanamit



Hợp chất theo ví dụ 133 (12,0mg; hiệu suất = 29%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 126, chỉ khác là methyl 2-bromo-3-metoxypromanoat được sử dụng thay cho ethyl 2-bromopromanoat. MS(ES): $m/z = 443$ $[M+H]^+$. $T_r = 1,14$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,15 (s, 1H), 8,68 (d, $J=4,4$ Hz, 1H), 8,06 - 7,96 (m, 1H), 7,71 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 7,65 - 7,56 (m, 2H), 7,38 (d, $J=8,3$ Hz, 2H), 7,04 (d, $J=4,3$ Hz, 1H), 3,83 - 3,64 (m, 2H), 3,62 - 3,36 (m, 1H), 3,18 (s, 3H), 3,01 - 2,93 (m, 2H), 2,89 - 2,81 (m, 2H), 2,57 - 2,53 (m, 4H).

Ví dụ 134

(±)-N-(4-fluorophenyl)-2-(4-(6-fluoroquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxypromanamid



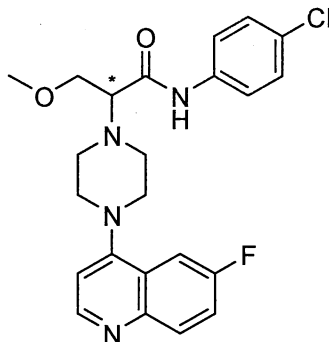
Hợp chất theo ví dụ 134 (11,3mg; hiệu suất = 35%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 133, chỉ khác là 4-fluorophenyl được sử dụng thay cho 4-chlorophenyl. MS(ES): $m/z = 427$ $[M+H]^+$. $T_r = 1,05$ phút (phương pháp K). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,07 (s, 1H), 8,67 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 8,09 - 7,98 (m, 1H), 7,73 - 7,65 (m, 2H), 7,63 - 7,58 (m, 2H), 7,20 - 7,11 (m, 2H), 7,04 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 3,88 - 3,62 (m, 2H), 3,60 - 3,34 (m, 1H), 3,19 (s, 3H), 3,01 - 2,94 (m, 2H), 2,89 - 2,82 (m, 2H), 2,56 - 2,52 (m, 4H).

Ví dụ 135 và 136

Chất đồng phân đối ảnh 1:

N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxipropanamit

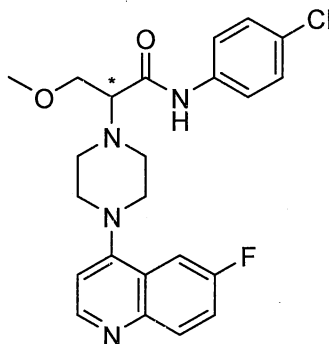
(chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2:

N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxipropanamit

(chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)

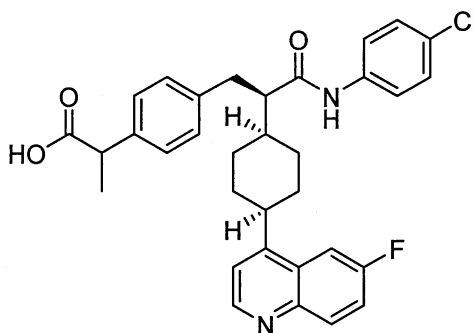


Hỗn hợp raxemic theo ví dụ 133 (9,8mg) được tinh chế bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học (70/30 CO₂/MeOH; pha động, cột Chiral Lux-4 25 × 3cm, 5μm, tốc độ dòng bằng 85mL/phút; bước sóng phát hiện = 220nm). Các phân đoạn thích hợp (rửa giải nhanh hơn) để thu được hợp chất theo ví dụ 135 (rửa giải thứ nhất) (3,2mg) được xác định là N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxipropanamit (chất đồng phân đối ảnh 1). MS(ES): $m/z = 443$ [M+H]⁺. T_r = 1,19 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Hợp chất theo ví dụ 136 (rửa giải thứ hai) (3,3mg) được xác định là N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-3-metoxipropanamit (chất đồng phân đối ảnh 2). MS(ES): $m/z = 443$ [M+H]⁺. T_r = 1,19 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Ví dụ 137

axit 2-(4-((R)-3-((4-clophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic (hỗn hợp hai chất đồng phân không đối quang)



Hợp chất trung gian 137A. *Tert*-butyl 2-(4-(bromometyl)phenyl)propanoat

Bổ sung vào dung dịch chứa axit 2-(4-(bromometyl)phenyl)propanoic (3g, 12,34mmol) trong CH₂Cl₂ (100mL) ở nhiệt độ phòng được bổ sung vào oxalyl clorua (1,400mL, 16,04mmol) và DMF (1 giọt). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó hỗn hợp được cô đến khô. Bổ sung CH₂Cl₂ (2mL) vào phản ứng nêu trên được bổ sung vào, sau đó bổ sung *t*-BuOH (100mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng CH₂Cl₂ và rửa bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa, nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô để thu được hợp chất trung gian 137A (1,8g, 6,02mmol, hiệu suất = 48,7%) dưới dạng chất lỏng màu vàng. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 7,36 (d, *J*=8,3 Hz, 2H), 7,33 - 7,23 (m, 2H), 4,60 (s, 1H), 4,51 (s, 1H), 3,64 (dd, *J*=7,2, 2,8 Hz, 1H), 1,47 (dd, *J*=7,2, 1,2 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H)

Hợp chất trung gian 137B. *Tert*-butyl 2-(4-((R)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxo-3-((R)-2-oxo-4-phenyloxazolidin-3-yl)propyl)phenyl)propanoat (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)

Bổ sung nhỏ giọt NaHMDS (1M trong THF) (0,555mL, 0,555mmol) vào dung dịch chứa (R)-3-(2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)axetyl)-4-phenyloxazolidin-2-on (điều chế theo phương pháp K, B, E, và L) (200mg, 0,462mmol) trong THF (4mL) ở nhiệt độ -40°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -40°C đến -30°C trong 20 phút, sau đó *tert*-butyl 2-(4-(bromometyl)phenyl)propanoat (304mg, 1,017mmol) trong THF (0,5mL) được bổ sung vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -20°C trong 16 giờ. Phản ứng được dừng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và EtOAc

ở nhiệt độ -20°C . Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô đến khô. Hợp chất thô này được hòa tan trong DMF và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (PHENOMENEX® Luna 5μ $30 \times 100\text{Mm}$), tốc độ dòng bằng 40mL/phút với gradient 20% B-100% B trong 10 phút. Duy trì ở 100%B trong 5 phút. (A: 0,1% TFA trong nước/MeOH (90:10), B: 0,1% TFA trong nước/MeOH (10:90) kiểm soát ở bước sóng 254nm . Các phân đoạn thu gom được ($t_r=11,06$ phút) chứa hợp chất mong muốn. Cô để thu được hợp chất trung gian 137B (134mg , $0,204\text{mmol}$, $44,1\%$) dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang. ^1H NMR (400MHz , cloroform- d) δ 9,15 (d, $J=5,1$ Hz, 1H), 8,65 (dd, $J=9,2$, $4,9$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J=3,5$ Hz, 1H), 7,94 (dd, $J=9,3$, $2,2$ Hz, 1H), 7,89 - 7,73 (m, 1H), 7,36 - 7,24 (m, 4H), 7,13 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 7,17 (d, $J=8,1$ Hz, 1H), 6,99 (d, $J=7,9$ Hz, 2H), 6,84 - 6,64 (m, 2H), 5,44 - 5,35 (m, 1H), 4,98 (br. s, 1H), 4,63 - 4,46 (m, 1H), 4,10 (ddd, $J=8,9$, $6,5$, $4,3$ Hz, 1H), 3,69 - 3,60 (m, 1H), 3,52 (d, $J=11,7$ Hz, 1H), 3,03 (dt, $J=13,6$, $4,2$ Hz, 1H), 2,74 (ddd, $J=13,6$, $10,6$, $6,8$ Hz, 1H), 2,37 - 2,23 (m, 1H), 2,16 (d, $J=12,8$ Hz, 1H), 2,10 - 2,00 (m, 1H), 2,00 - 1,74 (m, 7H), 1,50 (dd, $J=8,6$, $7,2$ Hz, 3H), 1,45 - 1,29 (m, 9H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{40}\text{H}_{43}\text{FN}_2\text{O}_5$ $650,316$, tính toán theo thực nghiệm $[\text{M}+\text{H}]$ $651,3$ LC: $t_r = 1,03$ phút (phương pháp B)

Hợp chất trung gian 137C. axit (2R)-3-(4-(1-tert-Butoxy)-1-oxopropan-2-yl)phenyl)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)cyclohexyl)propanoic (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)

Bổ sung nhỏ giọt H_2O_2 30% ($0,093\text{mL}$, $0,824\text{mmol}$) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 137B ($0,206\text{mmol}$, 134mg) trong THF ($1,3\text{mL}$) ở nhiệt độ 0°C , sau đó bổ sung $2,7\text{M}$ LiOH in H_2O ($0,122\text{mL}$, $0,329\text{mmol}$). Phản ứng được để ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Phản ứng được dừng từ từ ở nhiệt độ 0°C bằng cách bổ sung dung dịch natri sulfit bão hòa. Độ pH được điều chỉnh đến khoảng 5-6 bằng HCl 1N và hỗn hợp được chiết bằng EtOAc. Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO, cột 12g , tốc độ dòng bằng 30mL/phút , gradient: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% EtOAc/Hexan trong 35 phút. Hợp chất mong muốn được rửa giải bằng 22% EtOAc/Hexan. Cô để thu được hợp chất 137C (35mg , $0,069\text{mmol}$, 33%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz , cloroform- d) δ 8,82 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,15 (dd,

$J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,68 (dd, $J=10,5, 2,7$ Hz, 1H), 7,49 (ddd, $J=9,2, 7,9, 2,7$ Hz, 1H), 7,41 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 7,27 - 7,06 (m, 4H), 3,60 (d, $J=7,0$ Hz, 1H), 3,37 (br. s, 1H), 3,04 - 2,96 (m, 2H), 2,95 - 2,81 (m, 1H), 2,12 (d, $J=19,2$ Hz, 1H), 2,00 - 1,76 (m, 8H), 1,45 (d, $J=7,2$ Hz, 3H), 1,42 - 1,34 (m, 9H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $C_{31}H_{36}FNO_4$ 505,263, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 506,1 LC: tr = 0,92 phút (phương pháp B).

Hợp chất trung gian 137D. *Tert-butyl 2-(4-((R)-3-((4-clophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoat* (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)

Bổ sung nhỏ giọt oxalyl clorua (8,90 μ L, 0,104mmol) vào dung dịch chứa 137C (35mg, 0,069mmol) trong CH_2Cl_2 (3mL) ở nhiệt độ phòng, sau đó bổ sung DMF (1 giọt). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, sau đó hỗn hợp được cô đến khô. Bổ sung 4-cloanilin (8,76mg, 0,069mmol) vào hỗn hợp này trong THF (1mL) ở nhiệt độ phòng, sau đó bổ sung Bazơ Hunig (0,018mL, 0,103mmol). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp được pha loãng bằng MeOH và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế (PHENOMENEX® Luna 5 μ 30 $\times$ 100Mm), tốc độ dòng bằng 40mL/phút với gradien 20% B-100% B trong 10 phút, duy trì ở 100%B trong 5 phút (A: 0,1% TFA trong nước/MeOH (90:10), B: 0,1% TFA trong nước/MeOH (10:90) kiểm soát ở bước sóng 254nm để thu được hợp chất trung gian 137D (10mg, 0,016mmol, hiệu suất = 46,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng. 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 9,06 (br. s, 1H), 8,57 (br. s, 1H), 7,95 - 7,84 (m, 2H), 7,84 - 7,63 (m, 1H), 7,26 - 7,10 (m, 8H), 3,66 - 3,49 (m, 4H), 3,06 (dd, $J=13,6, 3,4$ Hz, 2H), 2,87 (t, $J=12,3$ Hz, 1H), 2,70 (br. s, 1H), 2,40 (br. s, 1H), 2,15 (br. s, 1H), 2,10 - 1,80 (m, 7H), 1,41 (d, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,37 - 1,30 (m, 9H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $C_{37}H_{40}ClFN_2O_3$ 614,271, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 615,3 LC: tr = 1,06 phút (phương pháp B)

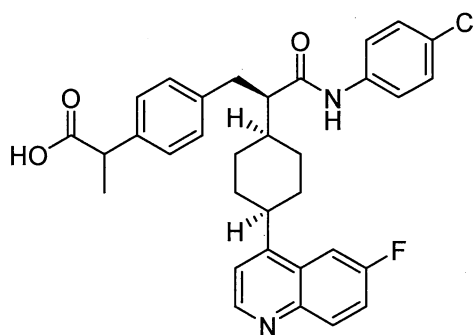
axit 2-(4-((R)-3-((4-clophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic

Bổ sung TFA 50%/CH₂Cl₂ (0,3mL, 0,016mmol) vào hợp chất trung gian 137D (10mg, 0,016mmol) trong bình phản ứng dung tích 7,39mL, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ Phản ứng được cô đến khô và làm lạnh đông trong 2 ngày để thu được hợp chất theo ví dụ 137 (9,5mg, 0,014mmol, hiệu suất = 83%) dưới dạng chất

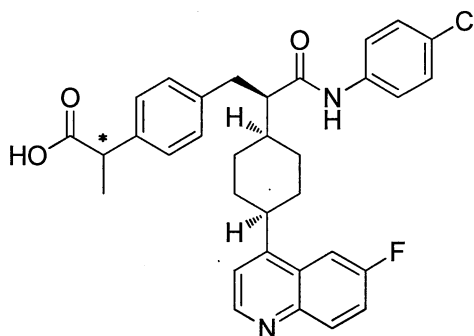
rắn màu trắng. ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,74 - 8,52 (m, 1H), 8,34 (br. s, 1H), 7,90 - 7,78 (m, 2H), 7,72 (t, $J=7,9$ Hz, 1H), 7,32 - 7,19 (m, 6H), 7,15 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 6,92 (d, $J=8,6$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 3,67 (d, $J=6,7$ Hz, 1H), 3,42 (br. s, 1H), 3,13 - 2,83 (m, 3H), 2,30 (br. s, 1H), 2,15 (br. s, 1H), 2,02 (br. s, 1H), 1,97 - 1,87 (m, 3H), 1,84 (br. s, 3H), 1,41 (t, $J=6,1$ Hz, 3H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{ClFN}_2\text{O}_3$ 558,209, tính toán theo thực nghiệm $[\text{M}+\text{H}]$ 559,3 LC: tr = 0,87 phút (phương pháp B)

Chất đồng phân đối ảnh 1 và 2 từ hỗn hợp raxemic theo ví dụ 137

Chất đồng phân đối ảnh 1: hợp chất theo ví dụ 138, axit 2-(4-((R)-3-((4-chlorophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể không được xác định)



Chất đồng phân đối ảnh 2: hợp chất theo ví dụ 139, axit 2-(4-((R)-3-((4-chlorophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể không được xác định)



Các chất đồng phân không đối quang theo ví dụ 137 được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral WHELK-O® KROMASIL® 25 × 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μm ; pha động A: 70/30 CO_2/MeOH ; bước sóng phát hiện: 220nm;

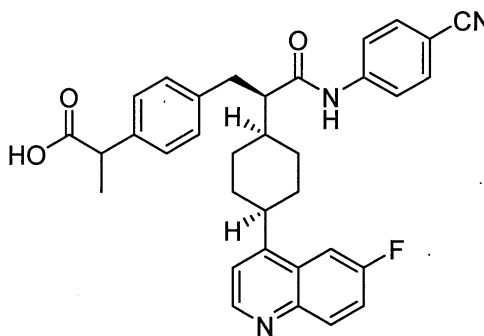
tốc độ dòng: 85mL/phút để thu được các phân đoạn thích hợp (chất đồng phân đối ảnh 1 “píc-1” tr = 15,2 phút (ví dụ 138) và chất đồng phân đối ảnh 2 “píc-2” tr = 17,2 phút (ví dụ 139):

Hợp chất theo ví dụ 138 (chất đồng phân đối ảnh 1, rửa giải thứ nhất): ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,67 (br. s, 1H), 8,18 - 7,97 (m, 1H), 7,67 (d, $J=10,5$ Hz, 1H), 7,47 (t, $J=7,2$ Hz, 1H), 7,33 - 7,23 (m, 6H), 7,17 (d, $J=7,8$ Hz, 2H), 7,08 (s, 4H), 7,02 (br. s, 1H), 3,76 (d, $J=6,7$ Hz, 1H), 3,36 (br. s, 1H), 3,03 (d, $J=10,1$ Hz, 1H), 2,87 (t, $J=12,2$ Hz, 1H), 2,63 (t, $J=10,0$ Hz, 2H), 2,32 (br. s, 2H), 2,12 (br. s, 2H), 2,02 - 1,79 (m, 2H), 1,73 (d, $J=10,0$ Hz, 2H), 1,53 (d, $J=7,1$ Hz, 3H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{ClFN}_2\text{O}_3$ 558,209, tính toán theo thực nghiệm $[\text{M}+\text{H}]$ 559,3 LC: tr = 0,86 phút (phương pháp B).

Hợp chất theo ví dụ 139 (chất đồng phân đối ảnh 2, rửa giải thứ nhất): ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,64 (br. s, 1H), 8,16 - 8,03 (m, 1H), 7,66 (d, $J=8,8$ Hz, 1H), 7,45 (t, $J=7,3$ Hz, 1H), 7,30 (br. s, 7H), 7,20 - 7,01 (m, 7H), 3,74 (br. s, 1H), 3,35 (br. s, 1H), 3,00 (d, $J=11,1$ Hz, 1H), 2,96 - 2,80 (m, 1H), 2,71 - 2,55 (m, 1H), 2,31 (d, $J=8,7$ Hz, 1H), 2,25 - 2,13 (m, 1H), 2,09 (br. s, 3H), 2,00 - 1,86 (m, 2H), 1,83 (br. s, 2H), 1,58 - 1,33 (m, 2H), 1,30 - 1,25 (m, 2H), 1,00 - 0,71 (m, 1H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $\text{C}_{33}\text{H}_{32}\text{ClFN}_2\text{O}_3$ 558,209, tính toán theo thực nghiệm $[\text{M}+\text{H}]$ 559,3 LC: tr = 0,86 phút (phương pháp B).

Ví dụ 140

axit 2-(4-((R)-3-((4-xyanophenyl)amino)-2-((cis)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)-3-oxopropyl)phenyl)propanoic

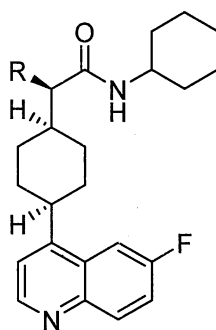


Hợp chất theo ví dụ 140 được điều chế bằng phương pháp theo ví dụ 137 bằng cách sử dụng 4-xyanoanilin tương ứng. ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,99 (br. s,

1H), 8,42 (br. s, 1H), 8,06 (br. s, 1H), 7,95 (d, $J=9,3$ Hz, 1H), 7,83 (t, $J=8,2$ Hz, 1H), 7,50 - 7,35 (m, 3H), 7,25 - 7,10 (m, 4H), 3,78 - 3,54 (m, 1H), 3,53 (s, 1H), 3,18 - 2,92 (m, 2H), 2,92 - 2,65 (m, 1H), 2,38 (br. s, 1H), 2,27 - 2,16 (m, 1H), 2,03 (s, 2H), 2,00 - 1,93 (m, 3H), 1,91 (br. s, 3H), 1,80 (br. s, 1H), 1,52 - 1,36 (m, 3H), 0,94 - 0,69 (m, 1H), phân tích MS: Tính toán theo lý thuyết cho $C_{34}H_{32}FN_3O_3$ 549,243, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 550,3 LC: tr = 0,83 phút (phương pháp B).

Ví dụ 141 và 142

Các hợp chất này được điều chế bằng phương pháp theo ví dụ 137 bằng cách sử dụng axit carboxylic tương ứng (điều chế bằng phương pháp K, B, E hoặc 58A) và xyclohexylamin.

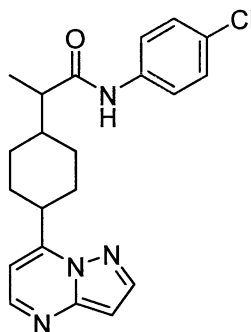


Bảng 6

Ví dụ	Danh pháp	R	Thời gian lưu (phút)	$[M+H]^+$
141	(R)-N-xyclohexyl-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		0,77	383,1
142	N-xyclohexyl-2-((<i>cis</i>)-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit		0,74	369,1

Ví dụ 143

(±)-N-(4-chlophenyl)-2-(cis- và trans-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)cyclohexyl)propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)



Hợp chất trung gian 143A. etyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yliden)propanoat

Bổ sung etyl 2-(điethoxyphosphoryl)propanoat (1,830g, 7,68mmol) từ từ vào hỗn dịch chứa NaH (0,307g, 7,68mmol) trong THF (8mL) được làm lạnh ở nhiệt độ 0°C. Sau 30 phút, 1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-on (1g, 6,40mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ, sau đó làm ấm đến nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp được dừng bằng nước, THF được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước, nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ và cô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO (EtOAc/Hex 0-30%). Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được cô để thu được hợp chất trung gian 143A (1,2g, hiệu suất = 78%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 4,19 (q, *J*=7,1 Hz, 2H), 4,03 - 3,89 (m, 4H), 2,68 - 2,53 (m, 2H), 2,46 - 2,28 (m, 2H), 1,89 (s, 3H), 1,78 - 1,66 (m, 4H), 1,30 (t, *J*=7,1 Hz, 3H)

Hợp chất trung gian 143B. etyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yl)propanoat

Hỗn dịch chứa hợp chất trung gian 143A (500mg, 2,081mmol)(1A) và paladi cacbon 10% (25mg, 0,024mmol) trong EtOAc (5mL) được hydro hóa trong máy lắc Parr ở áp suất bằng 45psi trong 6 giờ. Chất xúc tác được lọc, và dịch lọc được cô để thu được hợp chất trung gian 143B (450mg, hiệu suất = 89%) dưới dạng dầu màu trắng nhạt. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 4,12 (dtt, *J*=10,7, 7,1, 3,6 Hz, 2H), 3,98 - 3,81 (m, 4H), 2,35 - 2,17 (m, 1H), 1,83 - 1,68 (m, 3H), 1,66 - 1,45 (m, 4H), 1,43 - 1,28 (m, 2H), 1,27 - 1,22 (m, 3H), 1,14 - 1,07 (m, 3H)

Hợp chất trung gian 143C. etyl 2-(4-oxocyclohexyl)propanoat

Bổ sung dung dịch nước HCl 1M (0,929mL, 3,71mmol) vào dung dịch chứa ethyl 2-(1,4-dioxaspiro[4,5]decan-8-yl)propanoat (450mg, 1,857mmol)(1B) trong THF (5mL). Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô. Phần cặn được hòa tan trong EtOAc, rửa bằng nước(2X), nước muối, làm khô bằng Na₂SO₄ và cô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp ISCO (EtOAc/Hex 0-30%). Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được cô để thu được hợp chất trung gian 143C (290mg, hiệu suất = 79%) dưới dạng dầu trong suốt. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 4,22 - 4,06 (m, 2H), 2,46 - 2,30 (m, 5H), 2,13 - 1,91 (m, 3H), 1,56 - 1,42 (m, 2H), 1,31 - 1,24 (m, 3H), 1,18 (d, *J*=7,1 Hz, 3H)

Hợp chất trung gian 143D. ethyl 2-(4-(((triflometyl)sulfonyl)oxy)xyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Hợp chất trung gian 143C (200mg, 1,01mmol)(1C) và 2,6-di-tert-butyl-4-methylpyridin (238mg, 1,16mmol) được hòa tan trong DCM khan (10mL). Bổ sung nhỏ giọt triflometansulfonic anhydrit (0,186mL, 1,11mmol) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy trong 2 giờ. Hỗn dịch này được lọc and dịch lọc được pha loãng bằng DCM, rửa bằng HCl 1N(2X), dung dịch natri bicarbonat bão hòa, nước, nước muối và làm khô bằng Na₂SO₄ và cô để thu được hợp chất trung gian 143D (320mg, hiệu suất = 96%) dưới dạng dầu màu nâu. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 5,73 (t, *J*=6,1 Hz, 1H), 4,28 - 4,05 (m, 2H), 2,52 - 2,17 (m, 4H), 2,08 - 1,79 (m, 3H), 1,49 (dt, *J*=11,1, 6,6 Hz, 1H), 1,31 - 1,20 (m, 3H), 1,19 - 1,04 (m, 3H)

Hợp chất trung gian 143E. ethyl 2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)xyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Bổ sung (5mL) 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametyl-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolan) (230mg, 0,908mmol) và kali axetat (267mg, 2,72mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 143D (300mg, 0,908mmol)(1D) trong DMSO. Sau đó, hỗn hợp được đuổi khí bằng N₂ trong 10 phút, PdCl₂(dppf) (19,9mg, 0,027mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C qua đêm. Hỗn hợp được phân lớp bằng EtOAc và nước. Pha hữu cơ được cô và tinh chế by ISCO. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được cô để thu được hợp chất trung gian 143E (168mg, hiệu suất = 60%) dưới dạng dầu màu nâu. ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 6,66 - 6,40 (m, 1H), 4,31 - 4,00 (m, 2H), 2,34 - 2,26 (m,

1H), 2,25 - 2,19 (m, 1H), 2,19 - 2,04 (m, 2H), 1,95 - 1,75 (m, 3H), 1,73 - 1,60 (m, 1H), 1,29 - 1,24 (m, 15H), 1,13 (dd, $J=11,6, 7,0$ Hz, 3H)

Hợp chất trung gian 143F. Ethyl 2-(4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Hỗn hợp chứa 7-clopyrazolo[1,5-a]pyrimidin (0,193g, 1,260mmol), hợp chất trung gian 143E (0,400g, 1,298mmol), Na_2CO_3 (0,534g, 5,04mmol), và $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,073g, 0,063mmol) trong đioxan (11,67mL) và nước (3,89mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-70% EtOAc trong hexan trong 16 phút, $t_r = 10,5$ phút) để thu được hợp chất 143F (0,224g, 0,748mmol, hiệu suất = 59,4%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 300,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,95 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Hợp chất trung gian 143G. Ethyl 2-(4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl)propanoat

Bổ sung amoni format (0,236g, 3,74mmol) vào dung dịch chứa 143F (0,224g, 0,748mmol) trong MeOH (3,74mL), sau đó bổ sung Pd/C (0,021g, 0,202mmol). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Phản ứng được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc rửa bằng CH_2Cl_2 . Dịch lọc được cô. Hợp chất thô được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (1X). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được hợp chất 143G (220mg, 98%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 302,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,94 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

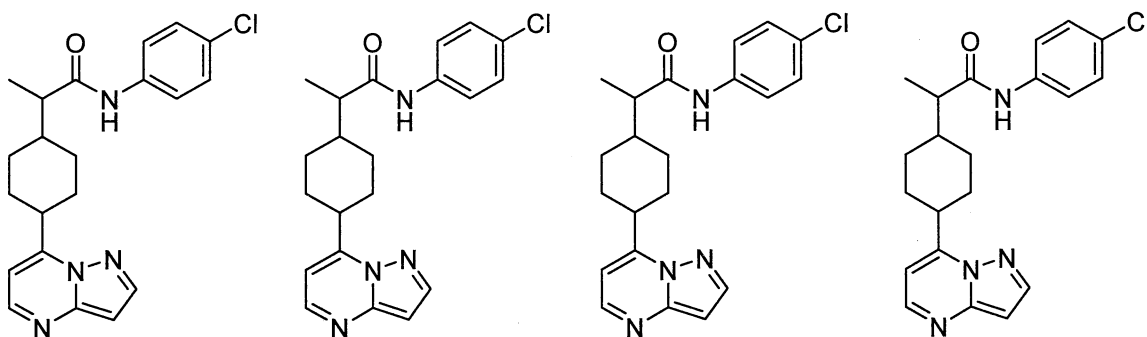
(±)-N-(4-clophenyl)-2-(cis- và trans-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl) propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (360 μL , 0,720mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (92mg, 0,720mmol) trong THF (0,9mL) ở nhiệt độ 0°C . Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung

gian 143G (108,5mg, 0,360mmol) trong THF (0,9mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 2,5 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. 4-cloanilin (42mg) và isopropylmagie clorua (360μL, 0,720mmol) được bổ sung thêm vào. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cần. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5μm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 40-80% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp bốn chất đồng phân (43,4mg, 31%). ESI MS (M+H)⁺ = 383,1. Thời gian lưu píc HPLC = 0,96 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Ví dụ 144 (a), (b), (c), và (d)

(*S*)-N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl)propanamit và (*R*)-N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl)propanamit và (*S*)-N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl)propanamit và (*R*)-N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(pyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-yl)xyclohexyl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối và hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý).



Hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang theo ví dụ 143 (khoảng 43,4mg) được phân giải. Hỗn hợp đồng phân này được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral IE, 25 × 3cm ID, hạt kích cỡ 5μm; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 85mL/phút. Các phân đoạn

(144(a) “píc-1” $t_r = 13,272$, 144(b) “píc-2” $t_r = 14,097$, 144(c) “píc-3” $t_r = 19,986$, 144(d) “píc-4” $t_r = 27,958$; điều kiện phân tích: cột: Chiral IE, $250 \times 4,6$ mm ID, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 80/20 CO_2/MeOH ; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của píc 2 và píc 3 được xác định là lớn hơn 99% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Píc 1 (23,8mg) được tinh chế lại bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral OJ, 25×3 cm ID, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 80/20 CO_2/MeOH ; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 85mL/phút. Các phân đoạn (“píc-1” $t_r = 4,558$ và “píc-2” $t_r = 5,622$; điều kiện phân tích: cột: Chiral OJ, $250 \times 4,6$ mm ID, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 80/20 CO_2/MeOH ; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của các phân đoạn được xác định là lớn hơn 99% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Mỗi chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế:

Hợp chất theo ví dụ 144(a), chất đồng phân rửa giải thứ nhất: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: Waters XBridge c-18, 19×200 mm, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 40-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 10 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 1 (11,3mg, 8,2%). ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 383,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,833 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

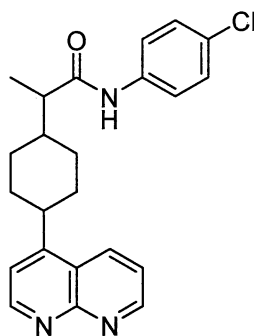
Hợp chất theo ví dụ 144(b), chất đồng phân rửa giải thứ hai: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: Waters XBridge c-18, 19×200 mm, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 40-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 10 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 2 (11,1mg, 8,1%). ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 382,9$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,829 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 144(c), chất đồng phân rửa giải thứ ba: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: Waters XBridge c-18, $19 \times 200\text{mm}$, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 40-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 10 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 3 (7,2mg, 5,0%). ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 383,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,874 phút. Độ tinh khiết = 96%. Điều kiện HPLC: B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 144(d), chất đồng phân rửa giải thứ tư: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: Waters XBridge c-18, $19 \times 200\text{mm}$, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 40-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 10 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 4 (7,6mg, 5,1%). ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 383,3$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,874 phút. Độ tinh khiết = 93%. Điều kiện HPLC: B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Ví dụ 147

(±)-2-(cis- và trans-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)



Hợp chất trung gian 147A. Ethyl 2-(4-(1,8-naphthyridin-4-yl)cyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Hỗn hợp chứa 4-bromo-1,8-naphthyridin (0,070g, 0,335mmol), hợp chất trung gian 143E (0,106g, 0,345mmol), Na_2CO_3 (0,142g, 1,339mmol), và $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,019g, 0,017mmol) trong đioxan (3,10mL) và nước (1,034mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (2X). Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 24g, tốc độ dòng bằng 35mL/phút, 0-20% MeOH trong CH_2Cl_2 trong 25 phút, t_r = 17 phút) để thu được hợp chất trung gian 147A (92,7mg, 0,299mmol, hiệu suất = 89%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 311,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,72 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Hợp chất trung gian 147B. Ethyl 2-(4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)propanoat

Bổ sung amoni format (0,094g, 1,493mmol) vào dung dịch chứa 147A (0,0927g, 0,299mmol) trong MeOH (1,493mL), sau đó bổ sung 10% Pd/C (8,58mg, 0,081mmol). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Phản ứng được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc rửa bằng CH_2Cl_2 . Dịch lọc được cô. Hợp chất thô được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (1X). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được hợp chất trung gian 147B (72,5mg, 78%) dưới dạng phần cặn màu nâu. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 313,3$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,70 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

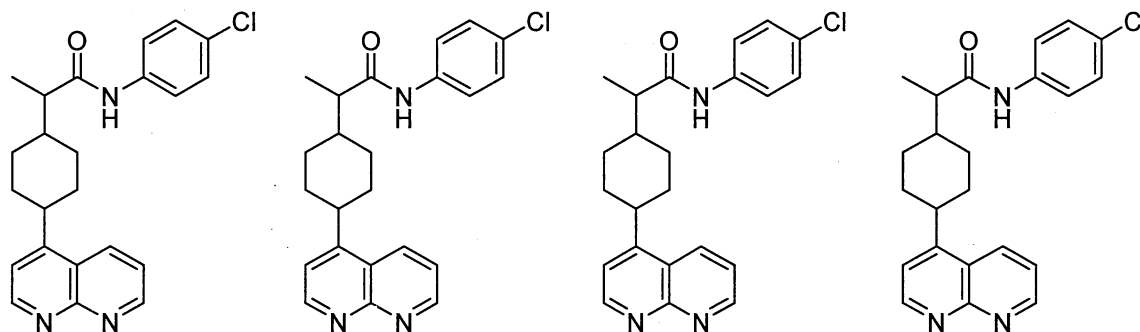
(±)-2-(cis- và trans-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (0,232mL, 0,464mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (0,059g, 0,464mmol) trong THF (0,4mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 147B (0,0725g, 0,232mmol) trong THF (0,76mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 3 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được phần cặn. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19

× 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp bốn chất đồng phân (33,4mg, 36%). ESI MS (M+H)⁺ = 394,2. Thời gian lưu píc HPLC = 1,743 phút. Độ tinh khiết = 98%. Điều kiện HPLC: phương pháp B.

Ví dụ 148 (a), (b), (c), và (d)

(*S*)-2-((*cis*)-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-chlophenyl)propanamit và (*R*)-2-((*cis*)-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-chlophenyl)propanamit và (*S*)-2-((*trans*)-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-chlophenyl)propanamit và (*R*)-2-((*trans*)-4-(1,8-naphthyridin-4-yl)xyclohexyl)-N-(4-chlophenyl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối và hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý).



Hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang theo ví dụ 147 (khoảng 34,3mg) được phân giải. Hỗn hợp đồng phân này được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral AD, 25 × 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 70/30 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 85mL/phút. Các phân đoạn (“píc-1” *t_r* = 7,377, “píc-2” *t_r* = 8,774, “píc-3” *t_r* = 10,106, “píc-4” *t_r* = 14,282; điều kiện phân tích: cột: Chiral AD, 250 × 4,6mm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 70/30 CO₂/MeOH; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của mỗi phân đoạn được xác định là lớn hơn 99% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Mỗi chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế:

Hợp chất theo ví dụ 148 (a), chất đồng phân rửa giải thứ nhất: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 1 (5,3mg, 5,7%). ESI MS (M+H)⁺ = 394,1. Thời gian lưu píc HPLC = 1,757 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 148 (b), chất đồng phân rửa giải thứ hai: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 2 (6,0mg, 6,4%). ESI MS (M+H)⁺ = 394,1. Thời gian lưu píc HPLC = 1,719 phút. Độ tinh khiết = 98%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

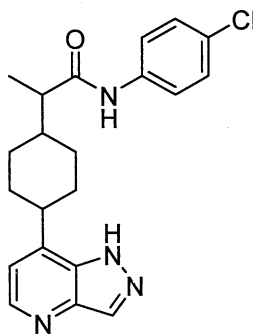
Hợp chất theo ví dụ 148 (c), chất đồng phân rửa giải thứ ba: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 3 (6,1mg, 6,3%). ESI MS (M+H)⁺ = 394,2. Thời gian lưu píc HPLC = 1,694 phút. Độ tinh khiết = 95%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 148 (d), chất đồng phân rửa giải thứ tư: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B

trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 4 (3,5mg, 3,8%). ESI MS (M+H)⁺ = 394,3. Thời gian lưu pic HPLC = 1,743 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Ví dụ 149

(±)-2-(cis- và trans-4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)



Hợp chất trung gian 149A. Ethyl 2-(4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Hỗn hợp chứa 7-clo-1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin (0,048g, 0,315mmol), hợp chất trung gian 143E (0,100g, 0,324mmol), Na₂CO₃ (0,134g, 1,260mmol), và 10% Pd(Ph₃P)₄ (0,018g, 0,016mmol) trong đioxan (2,92mL) và nước (0,972mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-100% EtOAc trong hexan trong 23 phút, t_r = 18 phút) để thu được 149A (0,039g, 0,124mmol, hiệu suất = 39,3%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS (M+H)⁺ = 300,2. Thời gian lưu pic HPLC = 0,69 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Hợp chất trung gian 149B. Ethyl 2-(4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)propanoat

Bổ sung amoni format (0,042g, 0,660mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 149A (0,0395g, 0,132mmol) trong MeOH (0,660mL), sau đó bổ sung Pd/C (3,79mg,

0,036mmol). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Additional amoni format (0,042g, 0,660mmol) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt trong 1 giờ ở nhiệt độ 70°C, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Phản ứng được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc rửa bằng CH₂Cl₂. Dịch lọc được cô. Hợp chất thô được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (1X). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được hợp chất trung gian 149B (34,3mg, 86%) dưới dạng phần cặn màu vàng được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ESI MS (M+H)⁺ = 302,4. Thời gian lưu pic HPLC = 0,66 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

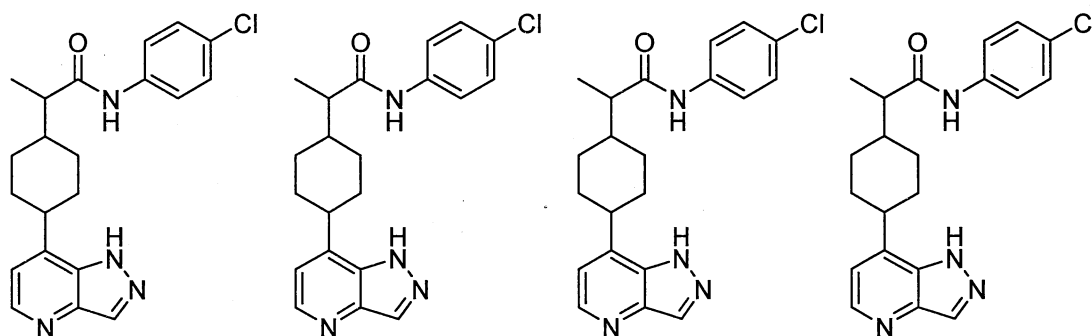
(±)-2-(cis- và trans-4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl) propanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (228μL, 0,455mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (58,1mg, 0,455mmol) trong THF (0,3mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 149B (34,3mg, 0,114mmol) trong THF (0,3mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cặn. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5μm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp bốn chất đồng phân (25,4mg, 58%). ESI MS (M+H)⁺ = 383,3. Thời gian lưu pic HPLC = 1,662 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp B.

Ví dụ 150 (a), (b), (c), và (d)

(S)-2-((cis)-4-(1H-Pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit và (R)-2-((cis)-4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit và (S)-2-((trans)-4-(1H-pyrazolo[4,3-b]pyridin-7-

yl)cyclohexyl)-*N*-(4-chlophenyl)propanamit và (*R*)-2-((*trans*)-4-(1*H*-pyrazolo[4,3-*b*]pyridin-7-yl)cyclohexyl)-*N*-(4-chlophenyl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối và hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý).



Hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang theo ví dụ 149 được phân giải (khoảng 29,3mg). Hỗn hợp đồng phân này được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral WHELK-O®, 25 × 3cm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 70/30 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 85mL/phút. Các phân đoạn (150(a) “píc-1” *t_r* = 9,587, 150(b) “píc-2” *t_r* = 10,407, 150(c) “píc-3” *t_r* = 11,794, 15-(d) “píc-4” *t_r* = 12,855; điều kiện phân tích: cột: Chiral WHELK-O®, 250 × 4,6mm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của píc 1, 3, và 4 được xác định là lớn hơn 95% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Píc 2 được tinh chế lại bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral AS, 25 × 3cm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 85mL/phút. Các phân đoạn (“píc-1” *t_r* = 3,391 và “píc-2” *t_r* = 4,071; điều kiện phân tích: cột: Chiral AS, 250 × 4,6mm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của các phân đoạn được xác định là lớn hơn 99% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Mỗi chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế:

Hợp chất theo ví dụ 150(a), chất đồng phân rửa giải thứ nhất: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn

chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 1 (4,6mg, 11%). ESI MS $(M+H)^+ = 383,1$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,611 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

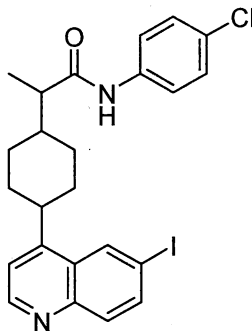
Hợp chất theo ví dụ 150(b), chất đồng phân rửa giải thứ hai: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19×200 mm, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 2 (4,6mg, 11%). ESI MS $(M+H)^+ = 383,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,630 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ [0010] ví dụ 150(c), chất đồng phân rửa giải thứ ba: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19×200 mm, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 3 (9,1mg, 21%). ESI MS $(M+H)^+ = 383,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,659 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 150(d), chất đồng phân rửa giải thứ tư: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19×200 mm, hạt kích cỡ $5\mu\text{m}$; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 19 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 4 (4,7mg, 10%). ESI MS $(M+H)^+ = 383,3$. Thời gian lưu píc HPLC = 1,704 phút. Độ tinh khiết = 93%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Ví dụ 151

(±)-*N*-(cis- và trans-4-clophenyl)-2-(4-(6-iodoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



Hợp chất trung gian 151A. Ethyl 2-(4-(6-nitroquinolin-4-yl)xyclohex-3-en-1-yl)propanoat

Bình kín dung tích 350mL được nạp với hỗn hợp chứa 4-clo-6-nitroquinolin (2g, 9,59mmol), hợp chất trung gian 143E (3,04g, 9,88mmol), Na_2CO_3 (4,06g, 38,4mmol), và $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,554g, 0,479mmol) trong đioxan (89mL) và nước (29,6mL). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 80g, tốc độ dòng = 60mL/phút, 0-45% EtOAc trong hexan trong 19 phút, t_r = 14 phút) để thu được 151A (2,955g, 8,34mmol, hiệu suất = 87%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 355,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,98 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Hợp chất trung gian 151B. Ethyl 2-(4-(6-aminoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanoat

Bổ sung amoni format (0,405g, 6,42mmol) vào dung dịch chứa 151A (0,455g, 1,284mmol) trong MeOH (6,42mL), sau đó bổ sung 10% Pd/C (0,037g, 0,347mmol). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Phản ứng được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc rửa bằng CH_2Cl_2 . Dịch lọc được cô. Hợp chất thô được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (2X). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được 151B (379mg, 90%) dưới dạng phần cặn màu nâu. Phân tích NMR cho thấy hợp chất tinh khiết mong muốn ở tỷ lệ 1,8:1 dr. ESI

MS (M+H)⁺ = 327,3. Thời gian lưu píc HPLC = 0,71 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

Hợp chất trung gian 151C. Ethyl 2-(4-(6-iodoquinolin-4-yl)cyclohexyl)propanoat

Dung dịch chứa hợp chất trung gian 151B (0,379g, 1,161mmol) và dung dịch nước HCl (0,59mL) trong nước (2,1mL) được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C, sau đó dung dịch chứa natri nitrit (0,096g, 1,393mmol) trong nước (2,1mL) được bổ sung vào. Dung dịch chứa kali iodua (0,289g, 1,742mmol) trong nước (2,1mL) được bổ sung nhỏ giọt vào dung dịch nêu trên sau khi chất rắn hòa tan hoàn toàn. Sau khi bổ sung, hỗn hợp được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Sau khi làm nguội, dung dịch được trung hòa bằng cách bổ sung từ từ dung dịch chứa Na₂S₂O₃ (1,81mL), sau đó chiết bằng CH₂Cl₂ (2X). Pha hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Hợp chất thô được hòa tan trong lượng tối thiểu của CH₂Cl₂ và chạy sắc ký. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-55% EtOAc trong hexan trong 15 phút, t_r = 10,5 phút) để thu được hợp chất trung gian 151C (92,7mg, 0,212mmol, hiệu suất = 18,26%) dưới dạng phần cặn màu vàng. ESI MS (M+H)⁺ = 438,1. Thời gian lưu píc HPLC = 0,89 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

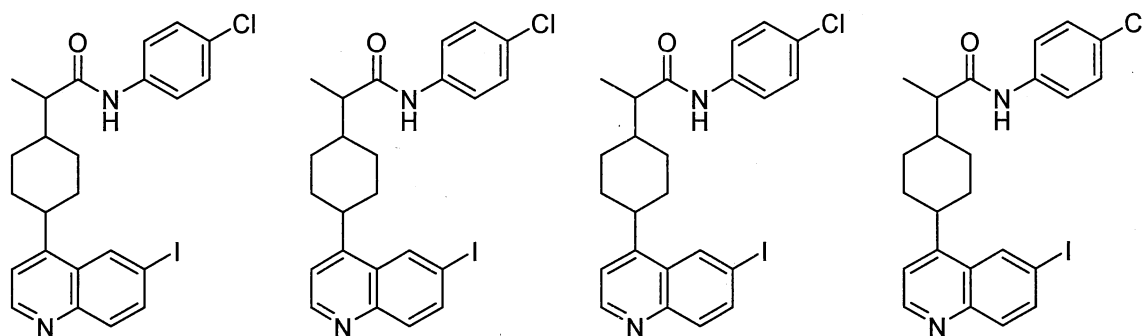
(±)-N-(cis- và trans-4-clophenyl)-2-(4-(6-iodoquinolin-4-yl)cyclohexyl)propanamit

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (1,820mL, 3,64mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (0,464g, 3,64mmol) trong THF (2,8mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 151C (0,796g, 1,820mmol) trong THF (4,8mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Isopropylmagie clorua (1,820mL, 3,64mmol) được bổ sung thêm vào. Phản ứng được gia nhiệt thêm 2 giờ. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cặn. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 80g, tốc độ dòng = 60mL/phút, 0-65% EtOAc trong hexan trong 35 phút, t_r = 27 phút) để thu

được chất đồng phân ($\pm$)-*trans* theo ví dụ 151 (455mg, 0,702mmol, hiệu suất = 39%) và chất đồng phân ($\pm$)-*cis* theo ví dụ 151 (111mg, 12%). Chất đồng phân không đối quang *trans* rửa giải thứ nhất, sau đó là chất đồng phân không đối quang *cis*. ESI MS (M+H)⁺ = 519,1.

Ví dụ 152 (a), (b), (c), và (d)

(*S*)-*N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(6-iodoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit và (*R*)- *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-(6-iodoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit và (*S*)- *N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(6-iodoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit và (*R*)- *N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-(6-iodoquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit (chất đồng phân quang học đồng nhất, hóa lập thể tuyệt đối và hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý).



Hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang theo ví dụ 9 (khoảng 65,1mg) được phân giải. Hỗn hợp đồng phân này được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: OJ-H, 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 150mL/phút. Các phân đoạn (152(a) “píc-1” tr = 4,64 phút, 152(b) “píc-2” tr = 5,35 phút, 152(c) và 152(d) “píc-3” tr = 6,43 phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của píc 1 và 2 được xác định là lớn hơn 95% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Píc 3 được tinh chế lại bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau để thu được chất đồng phân 3 và 4: cột: Lux-Xenluloza, 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 75/25 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 180mL/phút. Các phân đoạn (152(a) “píc-1” tr = 7,63 phút và 152(b) “píc-2” tr = 8,6 phút) được thu nhận trong MeOH. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của các phân đoạn được xác định là lớn hơn 95% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Mỗi chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế:

Hợp chất theo ví dụ 152(a), chất đồng phân rửa giải thứ nhất: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 50-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 1 (14,5mg, 12%). ESI MS (M+H)⁺ = 519,2. Thời gian lưu píc HPLC = 2,530 phút. Độ tinh khiết = 92%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 152(b), chất đồng phân rửa giải thứ hai: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 50-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 2 (8,1mg, 7,3%). ESI MS (M+H)⁺ = 519,1. Thời gian lưu píc HPLC = 2,470 phút. Độ tinh khiết = 100%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

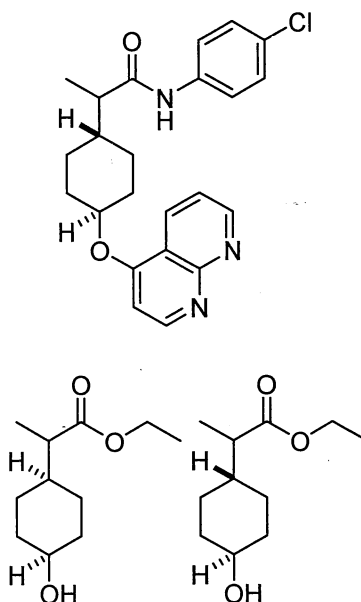
Hợp chất theo ví dụ 152(c), chất đồng phân rửa giải thứ ba: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 50-100% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 3 (13,7mg, 12%). ESI MS (M+H)⁺ = 519,1. Thời gian lưu píc HPLC = 2,481 phút. Độ tinh khiết = 97%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 152(d), chất đồng phân rửa giải thứ tư: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 × 200mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 50-100% B trong

20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 4 (7,5mg, 6,7%). ESI MS (M+H)⁺ = 518,9. Thời gian lưu píc HPLC = 2,361 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Ví dụ 153

(±)-2-((*trans*)-4-((1,8-naphthyridin-4-yl)oxy)cyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit



Hợp chất trung gian 153A và 153B. Ethyl 2-((*cis*)-4-hydroxycyclohexyl)propanoat (minor) và ethyl 2-((*trans*)-4-hydroxycyclohexyl)propanoat (hợp chất chính)

Bổ sung natri borohyđrua (0,047g, 1,240mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 143C (0,241g, 1,216mmol) trong MeOH (6,08mL). Phản ứng được để khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (2X). Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cặn. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-100% EtOAc trong hexan trong 19 phút, t_r = 10,5 phút = *cis*, 12 phút = *trans*) để thu được 153A (173mg, 71%) và 153B (37mg, 15%). Hợp chất chính là chất đồng phân *trans*. Hợp chất phụ là chất đồng phân *cis*. Chất đồng phân *cis* rửa giải thứ nhất. Chất đồng phân *trans* rửa giải thứ hai. ESI MS (M+H)⁺ = 201,1.

Hợp chất trung gian 153C. Ethyl 2-((*trans*)-4-((1,8-naphthyridin-4-yl)oxy)cyclohexyl)propanoat

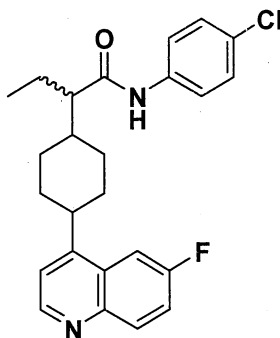
Bổ sung NaH (19,80mg, 0,495mmol) vào dung dịch chứa 153B (59,5mg, 0,297mmol) trong DMF (495 μ L). Sau 30 phút, 4-bromo-1,8-naphthyridin (51,8mg, 0,248mmol) được bổ sung vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (2X). Các pha hữu cơ thu gom được rửa bằng nước, làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cần màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-20% MeOH trong CH₂Cl₂ trong 9 phút, t_r = 7,5 phút) để thu được hợp chất trung gian 153C (59,8mg, 0,182mmol, hiệu suất = 73,5%) dưới dạng phần cần không màu. ESI MS (M+H)⁺ = 329,2. Thời gian lưu píc HPLC = 0,72 phút. Điều kiện HPLC: phương pháp A.

($\pm$)-2-((*trans*)-4-((1,8-naphthyridin-4-yl)oxy)cyclohexyl)-N-(4-clophenyl)propanamit

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (0,314mL, 0,628mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (0,080g, 0,628mmol) trong THF (0,1mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 153C (0,0516g, 0,157mmol) trong THF (0,38mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cần. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 $\times$ 200mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 20-60% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất theo ví dụ 153 dưới dạng raxemat (6,7mg, 10%). ESI MS (M+H)⁺ = 410,2. Thời gian lưu píc HPLC = 1,803 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: phương pháp B.

Ví dụ 154

N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)cyclohexyl)butanamit (hỗn hợp bốn chất đồng phân)



Hợp chất trung gian 154A. Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yliden)axetat

Bổ sung THF (1200mL) vào bình phản ứng chứa natri hydrua (46,1g, 1153mmol) ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ, sau đó triethyl phosphonoaxetat (258g, 1153mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút, sau đó 1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-on (150g, 960mmol) được bổ sung vào và được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được dừng bằng nước (500mL) và hỗn hợp được cô trong điều kiện chân không. Phần cặn được chiết bằng ethyl axetat (3 × 1000mL). Lớp hữu cơ thu gom được rửa liên tiếp bằng nước (500mL) và nước muối (500mL). Dịch lọc được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0-30% ethyl axetat trong ete dầu hỏa để thu được hợp chất trung gian 154A (dầu màu vàng nhạt, 135g, 597mmol, hiệu suất = 62,1%). ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ: 5,66 (s, 1H), 4,14 (q, *J*=7,2 Hz, 2H), 4,02 - 3,82 (m, 4H), 3,24 - 2,86 (m, 2H), 2,63 - 2,27 (m, 2H), 1,98 - 1,68 (m, 4H), 1,27 (t, *J*=7,2 Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 154B. Ethyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yl)axetat

Hợp chất trung gian 154A (13,88g, 61,3mmol) được hòa tan trong EtOAc (61,3mL) và được bổ sung vào bình hydro hóa Parr chứa paladi cacbon (1,306g, 12,27mmol) (54% khối lượng/khối lượng nước) 10% Pd/C trong điều kiện khí nitơ. Bình phản ứng được súc với khí nitơ, sau đó với hydro. Sau khi nạp đầy bình phản ứng bằng khí hydro to 50 psi, bình phản ứng được đặt vào máy lắc Parr và lắc. Sau 4 giờ, hỗn hợp

phản ứng được lọc nén qua đệm CELITE® và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất trung gian 154B etyl 2-(1,4-đioxaspiro[4,5]đecan-8-yl)axetat (dầu không màu, 13,78g, 60,4mmol, hiệu suất = 98%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{12}H_{20}O_4$ 228,14, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 229,1. T_r = 0,83 phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 4,31 - 4,08 (m, 2H), 4,00 - 3,86 (m, 4H), 2,22 (d, $J=7,0$ Hz, 2H), 1,91 - 1,79 (m, 1H), 1,78 - 1,70 (m, 4H), 1,63 - 1,50 (m, 2H), 1,37 - 1,14 (m, 5H).

Hợp chất trung gian 154C. Etyl 2-(4-oxocyclohexyl)axetat

Hợp chất trung gian 154B (67,5g, 296mmol) trong axeton (5000mL) được bổ sung vào bình phản ứng dung tích 10L. Bổ sung dung dịch HCl 1M (1183mL, 1183mmol) vào hỗn hợp phản ứng và hỗn hợp thu được được gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô để loại bỏ axeton. Phần cặn được chiết bằng etyl axetat (3×1000 mL). Lớp hữu cơ thu gom được được rửa bằng nước và nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0-20% etyl axetat trong ete dầu hỏa để thu được hợp chất trung gian 154C (chất lỏng màu vàng nhạt, 40g, 217mmol, hiệu suất = 73,4%). Phân tích GC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{10}H_{16}O_3$, 184,11, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 184. T_r = 10,03 phút (phương pháp C).

Hợp chất trung gian 154D. Etyl 2-(4-(triflometylsulfonyloxy)cyclohex-3-enyl)axetat

Hợp chất 2,6-đi-tert-butyl-4-methylpyridin (84g, 407mmol) trong điclorometan (500mL) được bổ sung vào bình phản ứng 4 cổ dung tích 2L trong điều kiện khí nitơ. Triflic anhydrit (55,0mL, 326mmol) được bổ sung nhỏ giọt vào, sau đó dung dịch chứa hợp chất trung gian 154C (50g, 271mmol) trong điclorometan (500mL) được bổ sung từ từ vào. Sau khi bổ sung hoàn toàn, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 1000mL điclorometan và rửa bằng nước và dung dịch natri carbonat, sau đó bằng nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0-10% etyl axetat trong ete dầu hỏa để thu được hợp chất trung gian 154D (dầu màu vàng nhạt, 65g, 206mmol, hiệu suất = 76%). Phân tích GC-MS.

Tính toán theo lý thuyết cho $C_{11}H_{15}F_3O_5S$, 316,06, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 317. $T_r = 10,16$ phút (phương pháp C).

Hợp chất trung gian 154E. Ethyl 2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)xyclohex-3-enyl)axetat

Hợp chất trung gian 154D (120g, 379mmol), bis(pinacolato)điboron (106g, 417mmol), và kali axetat (112g, 1138mmol) trong 1,4-dioxan (1200mL) được bổ sung vào bình phản ứng 4 cổ dung tích 2L trong điều kiện khí nitơ. Nitơ được sục vào hỗn hợp phản ứng trong 10 phút, sau đó phức chất 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferocen-paladi diclorua điclometan (15,49g, 18,97mmol) được bổ sung vào. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô. Phần cặn được phân lớp bằng ethyl axetat và nước, lọc qua đệm CELITE®. Lớp hữu cơ được phân tách và lớp nước được chiết bằng ethyl axetat (3X). Lớp hữu cơ thu gom được rửa bằng nước, nước muối, và làm khô bằng natri sulfat và cô trong điều kiện chân không. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh, rửa giải bằng 0-10% ethyl axetat trong ete dầu hỏa để thu được hợp chất trung gian 154E (dầu màu vàng nhạt, 56g, 190mmol, hiệu suất = 50,2%). Phân tích GC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{16}H_{27}BO_4$, 294,20, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 295,3. $T_r = 1,10$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 6,52 (dd, $J=4,1, 1,9$ Hz, 1H), 4,14 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 2,62 - 1,97 (m, 6H), 1,94 - 1,68 (m, 2H), 1,33 - 1,21 (m, 16H)

Hợp chất trung gian 154F. Ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohex-3-en-1-yl)axetat

Ethyl 2-(4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)xyclohex-3-en-1-yl)axetat (hợp chất trung gian 154E) (5g, 17,00mmol) được hòa tan trong dioxan (28,3mL) và nước (7,08mL). 4-clo-6-floquinolin (2,57g, 14,15mmol) được bổ sung vào, sau đó bổ sung K_2CO_3 (5,87g, 42,5mmol). Hỗn hợp được sục với khí nitơ trong 5 phút trước khi bổ sung $Pd(Ph_3P)_4$ (0,327g, 0,283mmol). Sau khi bổ sung, phản ứng được xả và nạp đầy trở lại với N_2 ba lần, sau đó đậy kín bằng màng parafin và gia nhiệt đến nhiệt độ 100°C trong 16 giờ. Phản ứng được cô trong điều kiện chân không và tinh chế trực tiếp bằng phương pháp sắc ký cột nhanh silicagel để thu được hợp chất trung gian 154F (4,22g, 13,47mmol, hiệu suất = 95%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{19}H_{20}FNO_2$ 313,15, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]^+$ 314,1 $T_r = 0,75$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 154G. Ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)axetat

Hợp chất trung gian 154F (4,22g, 13,47mmol) được hòa tan trong MeOH (67,3mL) và amoni format (4,25g, 67,3mmol) được bổ sung vào. Bình phản ứng được trang bị bộ phận ngưng tụ hồi lưu và được xả và sục với khí nitơ 3 lần. Sau đó, paladi cacbon (0,143g, 1,347mmol) (loại Degussa ướt) được bổ sung vào và phản ứng được gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu trong 1 giờ. Phản ứng được làm nguội, cô trong điều kiện chân không, và pha loãng bằng DCM. Chất rắn được lọc ra và dịch lọc được cô để thu được hợp chất trung gian thô 154G (4,20g, 13,32mmol, hiệu suất = 99%) dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang cis và trans. Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{19}H_{22}FNO_2$ 315,16, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 316,2 T_r = 0,76 phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 154H. Ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanoat

Bổ sung lithi diisopropylamit (2,0M solution trong THF) (3,17mL, 6,34mmol) vào bình phản ứng chứa THF (6mL) ở nhiệt độ $-78^{\circ}C$, sau đó bổ sung nhỏ giọt 1,3-dimetyltetrahydropyrimidin-2(1H)-on (0,573mL, 4,76mmol) và dung dịch chứa hợp chất trung gian 154G (1,0g, 3,17mmol) trong THF (10mL) ở nhiệt độ $-78^{\circ}C$. Hỗn hợp thu được được chuyển thành dung dịch màu nâu và khuấy ở nhiệt độ $-78^{\circ}C$ trong 1 giờ, sau đó iodoetan (0,51mL, 6,34mmol) được bổ sung từ từ vào. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ của bể nước đá trong 1 giờ, làm ấm đến nhiệt độ phòng qua đêm. Phản ứng được dừng bằng cách rót vào nước và chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ thu gom được rửa bằng nước muối, làm khô bằng $MgSO_4$, lọc và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn được hòa tan trong DCM và tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel, rửa giải bằng 0-20% ethyl axetat trong hexan để thu được hợp chất trung gian 154H (dầu, 0,81g, 2,359mmol, hiệu suất = 74,4%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho $C_{21}H_{26}FNO_2$, 343,19, tính toán theo thực nghiệm $[M+H]$ 344,3. T_r = 0,87-0,88 phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ : 8,88 - 8,77 (m, 1H), 8,18 - 8,06 (m, 1H), 7,66 (dd, $J=10,6, 2,6$ Hz, 1H), 7,47 (ddd, $J=9,2, 8,0, 2,9$ Hz, 1H), 7,36 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 4,25 - 4,15 (m, 2H), 3,34 - 3,09 (m, 1H), 2,70 - 2,16 (m, 1H), 2,13 - 1,49 (m, 13 H), 1,36 - 1,24 (m, 3H), 1,00 - 0,90 (m, 3H)

Hợp chất trung gian 154I. axit 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanoic

Bổ sung từ từ dung dịch LiOH 2,0M (7,1mL, 14,2mmol) vào dung dịch chứa ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanoat (0,81g, 2,359mmol) trong THF (4mL) và

MeOH (7mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Vào ngày hôm sau, bổ sung thêm dung dịch LiOH solution (7,1mL, 14,2mmol) vào hỗn hợp phản ứng và hỗn hợp phản ứng thu được được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 28 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội và bổ sung ethyl axetat vào hỗn hợp. Lớp nước được phân tách và lớp nước được bổ sung dung dịch HCl 1N để điều chỉnh độ pH đến 5-6. Hỗn hợp thu được được pha loãng bằng nước và CHCl₃: 2-propanol (2:1). Lớp hữu cơ được phân tách và làm khô bằng MgSO₄. Dịch lọc được cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất trung gian 154I dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân *cis* và *trans* (3:2) (0,64g, 2,029mmol, hiệu suất = 86%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho C₁₉H₂₂FNO₂ 315,16, tính toán theo thực nghiệm [M+H] 316,3. T_r = 0,72 phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ: 8,83 (d, J=4,4 Hz, 1H), 8,30 - 8,03 (m, 1H), 7,67 (dd, J=10,6, 2,4 Hz, 1H), 7,48 (ddd, J=9,2, 7,9, 2,6 Hz, 1H), 7,38 (d, J=4,6 Hz, 1H), 7,32 - 7,27 (m, 1H), 3,37 - 3,07 (m, 1H), 2,77 - 2,21 (m, 1H), 2,11 - 1,30 (m, 11H), 1,07 - 1,00 (m, 3H).

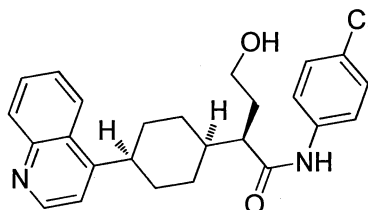
N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit

Bổ sung thionyl clorua (0,21mL, 2,85mmol) và DMF (1 giọt) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 154I (60mg, 0,190mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ, và hỗn hợp được pha loãng bằng toluen (5mL) và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn được làm khô trong điều kiện chân không cao trong 1 giờ. Bổ sung axetonitril (3mL), 4-cloanilin (36,4mg, 0,285mmol) và 4-metylmorpholin (0,13mL, 1,14mmol) vào phần cặn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 0,6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Bổ sung thêm 4-metylmorpholin (0,13mL, 1,14mmol) vào hỗn hợp phản ứng và hỗn hợp phản ứng thu được được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng ethyl axetat và nước muối. Lớp hữu cơ được phân tách và cô trong điều kiện chân không. Phần cặn được hòa tan trong MeOH, lọc, và tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế để thu được hợp chất theo ví dụ 154 dưới dạng hỗn hợp bốn chất đồng phân (7,1mg, 0,017mmol, hiệu suất = 8,8%). Phân tích LC-MS. Tính toán theo lý thuyết cho C₂₅H₂₆ClFN₂O, 424,17, tính toán theo thực nghiệm [M+H] 425,3. T_r = 1,72 phút (phương pháp K). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ: 10,31 - 9,93 (m, 1H), 9,00 - 8,68 (m, 1H), 8,09 (dd, J=8,9, 5,9 Hz, 1H), 7,97 (d, J=9,3 Hz, 1H), 7,66 (d, J=8,7 Hz, 3H), 7,61 - 7,42

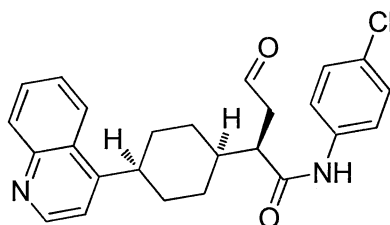
(m, 1H), 7,34 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 3,40 - 3,31 (m, 1H), 2,84 - 2,64 (m, 1H), 2,05 - 1,15 (m, 11H), 0,96 - 0,70 (m, 3H).

Ví dụ 155

(R)-N-(4-clophenyl)-4-hydroxy-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit



Hợp chất trung gian 155A: (R)-N-(4-clophenyl)-4-oxo-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit



Bổ sung NaIO_4 (1,28g, 6mmol) và 2,6-lutidin (0,32g, 3mmol) vào dung dịch chứa hợp chất theo ví dụ 224 (0,63g, 1,5mmol) trong hỗn hợp đioxan và nước (15mL, 3:1) để thu được hỗn dịch đặc màu trắng. Sau đó, OsO_4 (5% thể tích, 0,15mL) được bổ sung vào. Sau 2 giờ, phản ứng kết thúc như được xác định bằng phương pháp TLC. Phản ứng được dừng bằng nước và chiết ba lần bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ thu gom được được rửa một lần bằng nước muối, sau đó làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất trung gian thô 155A dưới dạng dầu màu nâu được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

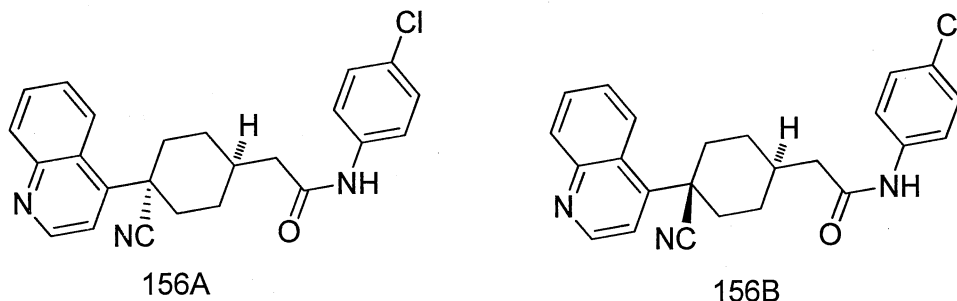
(R)-N-(4-clophenyl)-4-hydroxy-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)butanamit

Bổ sung natri borohyđrua (0,043g, 1,14 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 155A (0,16g, 0,38mmol) trong MeOH (3,8mL). Sau 1 giờ, phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và chiết bằng dung dịch chứa 10% MeOH trong EtOAc. Tinh chế bằng sắc ký nhanh silicagel để thu được 2,2mg hợp chất

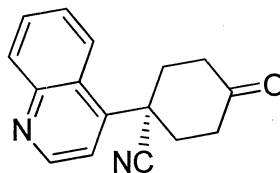
theo ví dụ 155 dưới dạng chất rắn màu trắng. MS(ES): $m/z = 443,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,72$ phút (phương pháp L).

Ví dụ 156(a) và 156(b)

N-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit và N-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)

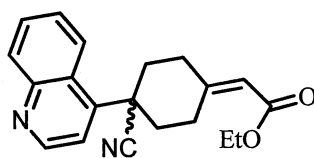


Hợp chất trung gian 156A: 4-oxo-1-(quinolin-4-yl)xyclohexan-1-carbonitril



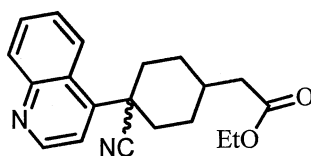
Bổ sung ethyl acrylat (2,38g, 23,8mmol) vào dung dịch chứa 2-(quinolin-4-yl)axetonitril (2,0g, 11,4mmol) trong THF (30mL), sau đó bổ sung kali tert-butoxit (1,6g, 14,3mmol) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ, nước (200mL) được bổ sung vào, sau đó gia nhiệt đến nhiệt độ 85°C trong 18 giờ. Sau đó, phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng và chiết ba lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ thu gom được rửa một lần bằng nước muối và làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất thô dưới dạng dầu màu nâu. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel (0-100% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất trung gian 156A (800mg) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Hợp chất trung gian 156B: ethyl 2-(4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyliden)axetat



Bổ sung natri tert-butoxit (0,32g, 3,36mmol) vào dung dịch chứa etyl 2-(diethoxyphosphoryl)axetat (0,75g, 3,36mmol) trong THF (7mL) ở nhiệt độ 0°C. Sau 10 phút, dung dịch chứa hợp chất trung gian 156A (0,80g, 3,2mmol) trong THF (3mL) được bổ sung vào phản ứng. Sau 2 giờ nữa, phản ứng được dừng bằng nước, chiết ba lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ thu gom được được rửa một lần bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄ và lọc để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel (85% EtOAc/hexan) để thu được hợp chất trung gian 156B (1,0g) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Hợp chất trung gian 156C: etyl 2-(4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetat



Bổ sung Pd/C (loại Degussa, 0,10g, 10% Pd) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian 156 B (1,00g, 3,13mmol) trong MeOH (31mL). Hydro được nạp vào bằng bình cầu. Sau 16 giờ ở nhiệt độ phòng, phản ứng được sục với khí argon, sau đó lọc qua CELITE®, rửa bằng DCM. Cô để thu được hợp chất trung gian thô 156 C dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân cis và chất đồng phân trans được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 156(a) và 156(b): *N*-(4-clophenyl)-2-((*cis*)-4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit và *N*-(4-clophenyl)-2-((*trans*)-4-xyano-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (hóa lập thể tương đối không được xác định và bố trí tùy ý)

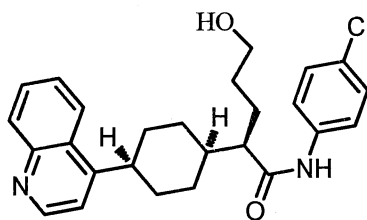
Hợp chất theo ví dụ 156A và 156B được điều chế bằng phương pháp G để thu được hỗn hợp chứa chất đồng phân cis và trans. Các chất này được phân tách bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel để thu được hợp chất theo ví dụ 156A và hợp chất theo ví dụ 156B.

Ví dụ 156A MS(ES): $m/z = 393,2$ $[M+H]^+$. $T_r = 0,84$ phút (phương pháp M).

Ví dụ 156B MS(ES): $m/z = 393,2$ $[M+H]^+$. $T_r = 2,77$ phút (phương pháp L).

Ví dụ 157

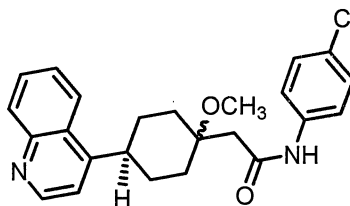
(R)-*N*-(4-clophenyl)-5-hydroxy-2-((*cis*)-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)pentanamit



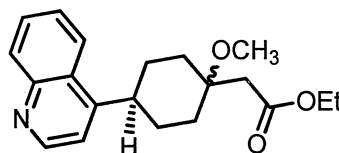
Bổ sung $\text{BH}_3\text{-DMS}$ (0,189mL, 0,37mmol, dung dịch 2,0M) vào dung dịch chứa hợp chất theo ví dụ 224 (0,140g, 0,33mmol) trong THF (3,3mL) ở nhiệt độ -78°C , sau đó làm ấm đến nhiệt độ phòng. Sau 2 giờ ở nhiệt độ phòng, dung dịch được làm lạnh đến nhiệt độ -78°C và NaOH 1N (5mL) và hydro peroxit 30% (5mL) được bổ sung vào, sau đó làm ấm đến nhiệt độ phòng. Sau 5 giờ, phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và chiết ba lần bằng EtOAc. Các pha hữu cơ thu gom được được rửa một lần bằng nước muối và làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel để thu được hợp chất theo ví dụ 157 dưới dạng chất rắn màu trắng. MS(ES): $m/z = 394,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_r = 0,81$ phút (phương phápM).

Ví dụ 158

N-(4-clophenyl)-2-(1-metoxi-4-(quinolin-4-yl)xcyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định)



Hợp chất trung gian 158A: etyl 2-(1-metoxi-4-(quinolin-4-yl)xcyclohexyl)axetat



Bổ sung KHMDs (1,5mL, 0,5M trong toluen, 0,756mmol) vào dung dịch chứa etyl 2-(1-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat (0,22g, 0,69mmol), điều chế bằng phương pháp trong ví dụ 30, trong DME (3mL) ở nhiệt độ -78°C , sau đó bổ sung 18-crown-6 (0,20g, 0,756mmol). Sau 30 phút, MeI (0,057mL, 0,756mmol) được bổ sung vào. Sau 30 phút nữa, phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa

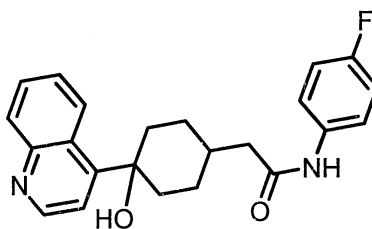
và nước. Chiết ba lần bằng EtOAc, các pha hữu cơ thu gom được được rửa một lần bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất trung gian thô 158 A dưới dạng chất đồng phân đơn, hóa lập thể không được xác định.

N-(4-clophenyl)-2-(1-metoxi-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit

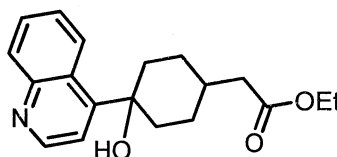
Hợp chất theo ví dụ 158 được điều chế từ hợp chất trung gian 158A bằng phương pháp trong ví dụ 30 dưới dạng chất đồng phân đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định. MS(ES): $m/z = 379,2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_r = 2,29$ phút (phương pháp L).

Ví dụ 159

N-(4-flophenyl)-2-(4-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)xyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định)



Hợp chất trung gian 159A: etyl 2-(4-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)acetat



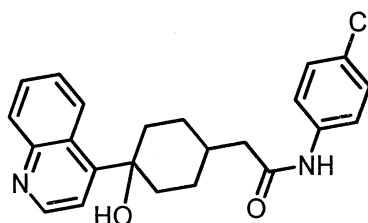
Bổ sung tert-butyl lithi (1,7M solution, 2,1mL, 3,51mmol) vào dung dịch chứa 4-bromoquinolin (0,36g, 1,75mmol) trong THF (8mL) ở nhiệt độ -78°C . Sau 5 phút, dung dịch chứa etyl 2-(4-oxocyclohexyl)acetat (0,294g, 1,60mmol) trong THF (2mL) được bổ sung vào. Sau 1 giờ, NaOH 1N được bổ sung vào, sau đó làm ấm đến nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp được chiết ba lần bằng EtOAc và các pha hữu cơ thu gom được được rửa một lần bằng nước muối. Sau đó, các pha hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh silicagel rửa giải bằng 0-100% EtOAc trong hexan để thu được hợp chất trung gian 159A (214mg) dưới dạng dầu màu vàng.

N-(4-flophenyl)-2-(4-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định)

Hợp chất theo ví dụ 159 được điều chế từ hợp chất trung gian 159A và 4-floanilin bằng phương pháp G. Hợp chất theo ví dụ 159 được phân lập dưới dạng chất đồng phân đơn khi kết tinh sau khi cô, hóa lập thể không được xác định. MS(ES): $m/z = 393,2[M+H]^+$. $T_r = 2,77$ phút (phương pháp L).

Ví dụ 160

N-(4-clophenyl)-2-(4-hydroxy-4-(quinolin-4-yl)cyclohexyl)axetamit (chất đồng phân không đối quang đơn, hóa lập thể tương đối không được xác định)

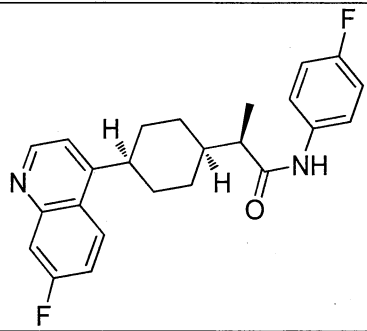
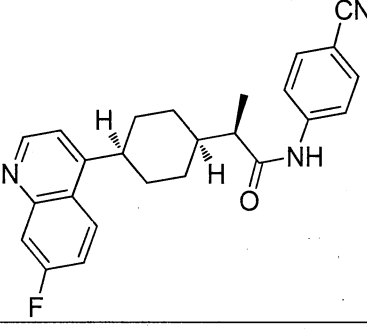
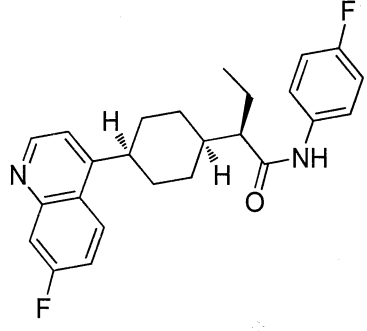
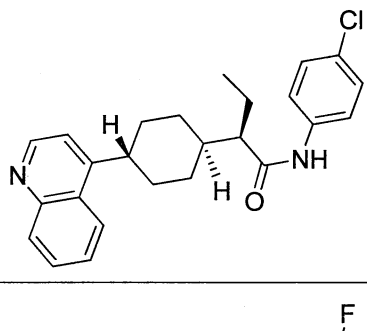
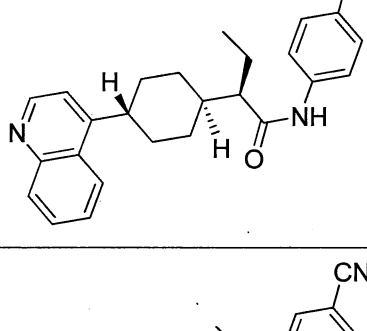
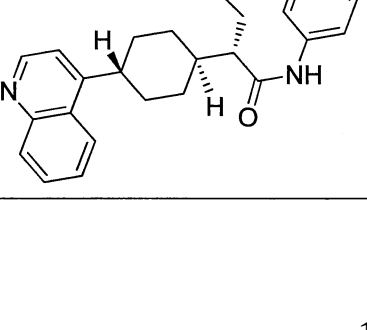


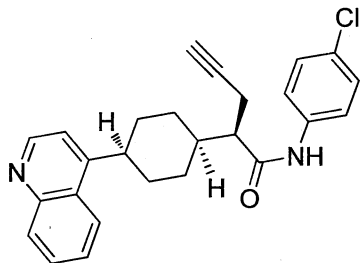
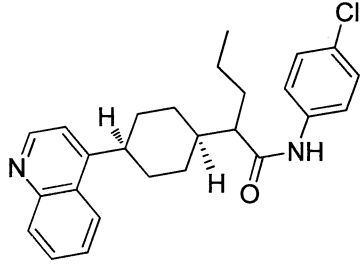
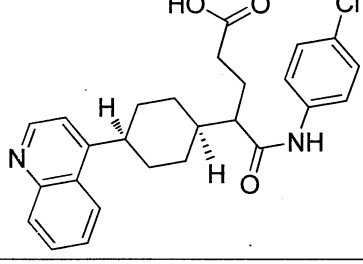
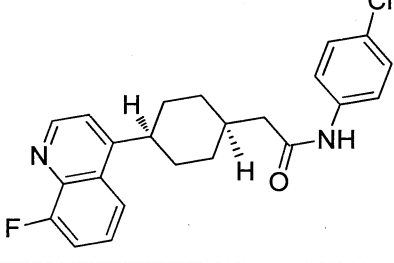
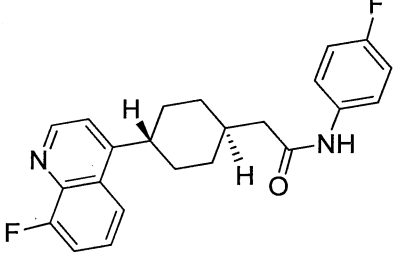
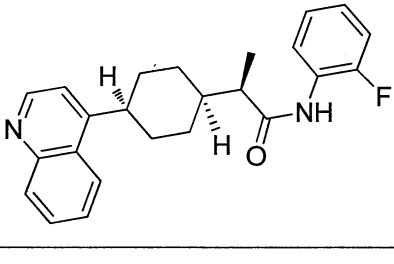
Hợp chất theo ví dụ 160 được điều chế từ hợp chất trung gian 159A và 4-cloanilin bằng phương pháp G. Hợp chất theo ví dụ 160 được phân lập dưới dạng chất đồng phân đơn khi kết tinh sau khi cô, hóa lập thể không được xác định. MS(ES): $m/z = 431,3$ $[M+H]^+$. $T_r = 0,85$ phút (phương pháp M).

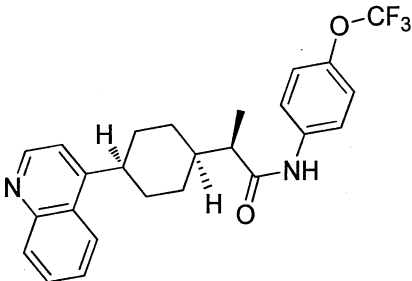
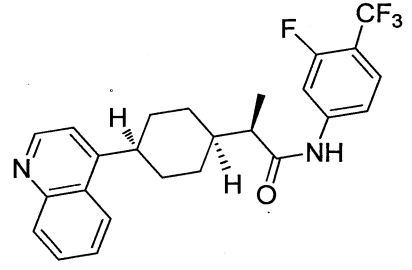
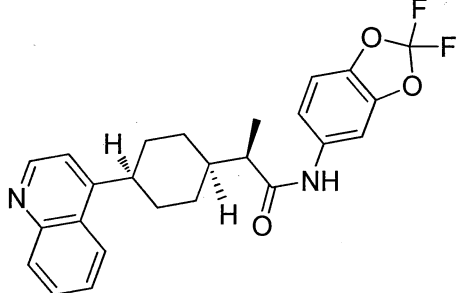
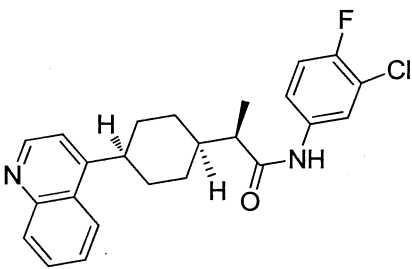
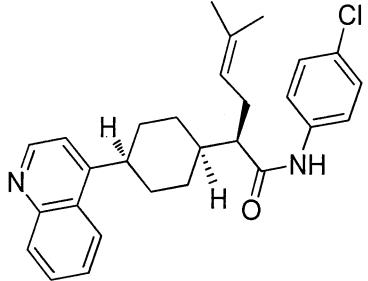
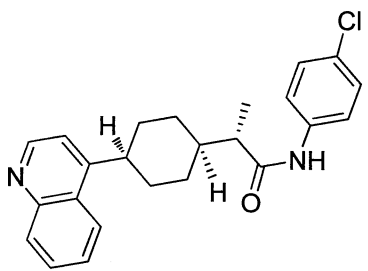
Bảng 7.

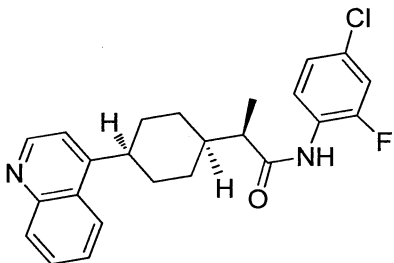
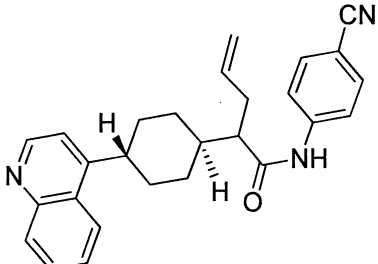
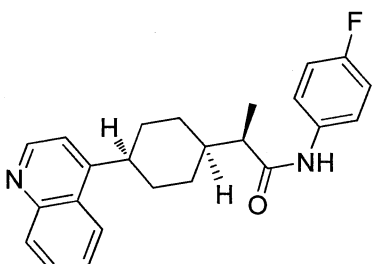
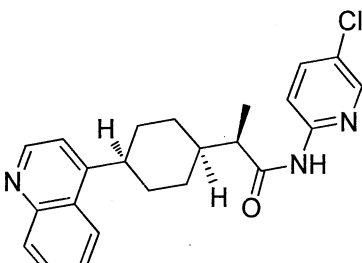
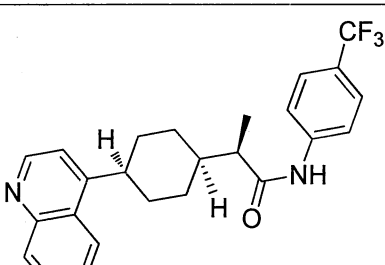
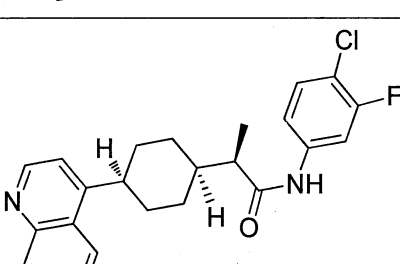
Hợp chất theo ví dụ 161-218 được điều chế bằng các phương pháp mô tả nêu trên.

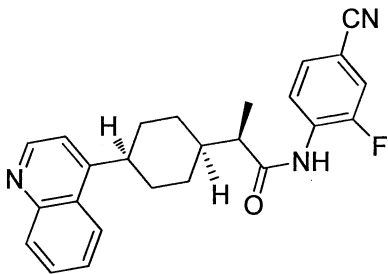
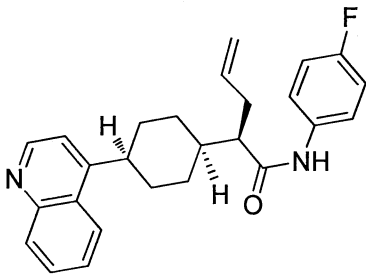
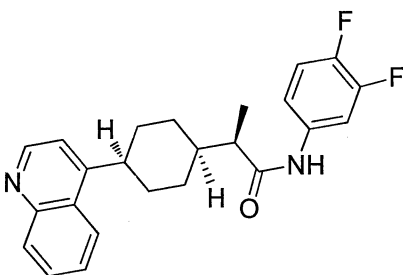
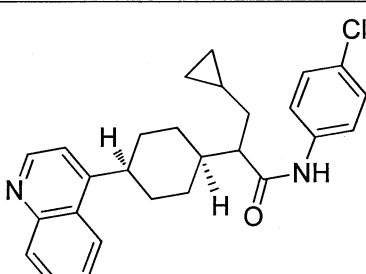
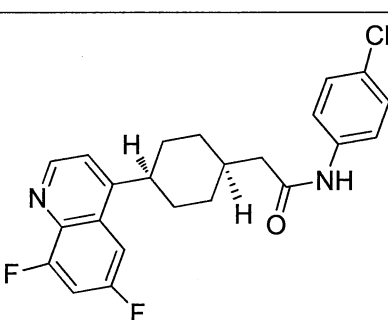
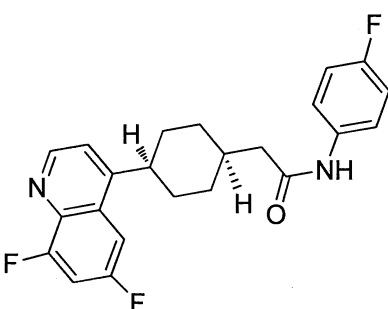
Ví dụ	Công thức cấu tạo	Điều chế bằng phương pháp tương tự ví dụ	Phương pháp HPLC	Thời gian lưu LC-MS	$[M+H]^+$
161		24	L	2,93	411,2

162		24	L	2,8	395,3
163		24	L	2,75	402,3
164		25	L	3,01	409,3
165		25	L	2,68	407,3
166		25	L	2,53	391,3
167		26	L	2,54	398,3

168		25	L	2,67	417,2
169		16	L	2,8	421,3
170		157	L	2,42	451,3
171		4	L	2,99	397,2
173		5	L	2,86	381,2
174		24	L	2,42	377,3

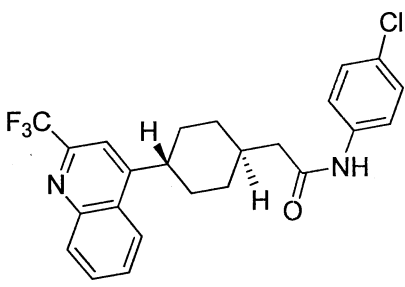
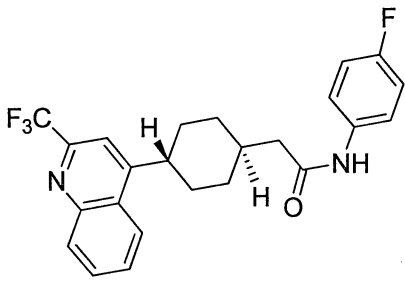
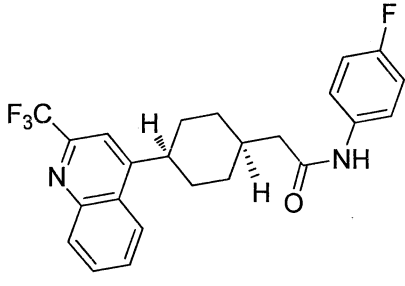
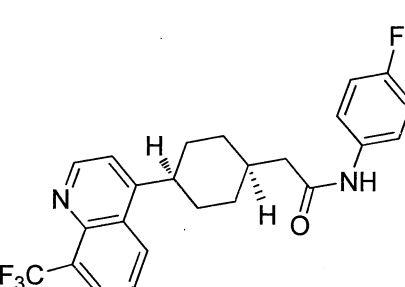
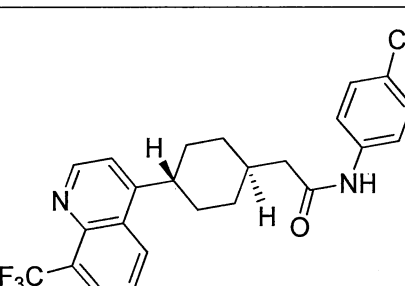
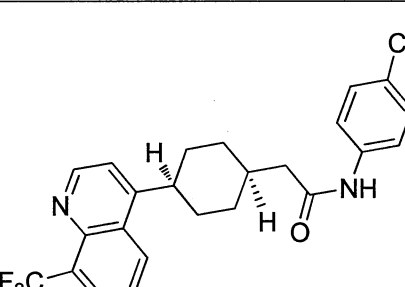
175		24	L	2,72	443,3
176		24	L	2,81	445,2
177		24	L	2,7	439,2
178		24	L	2,65	411,2
179		2524	L	3,01	447,3
180		26	M	0,84	395,2

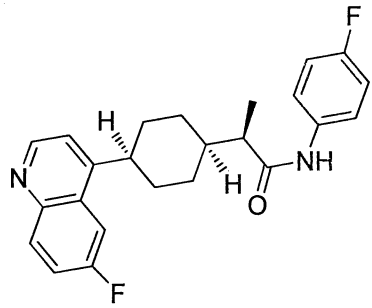
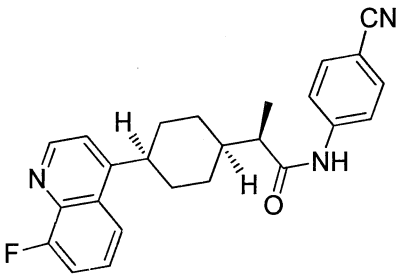
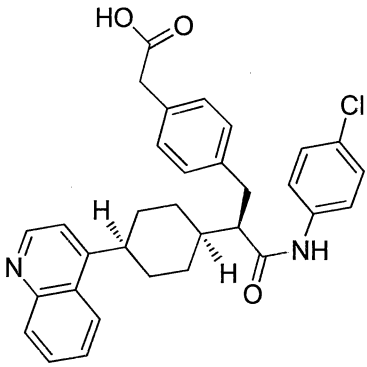
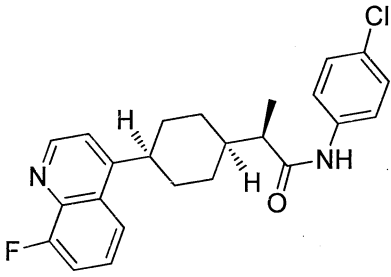
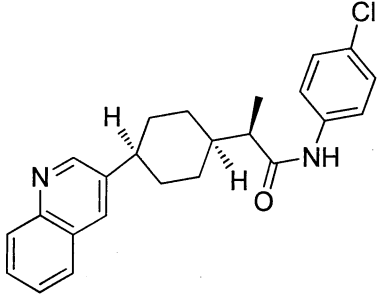
181		24	M	0,8	411,2
182		57	M	0,84	410,2
183		24	M	0,86	377,2
184		24	M	0,81	394,2
185		24	M	0,78	427,2
186		24	M	0,81	411,2

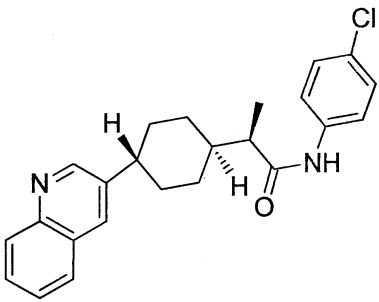
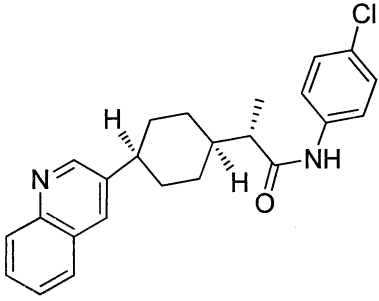
187		24	M	0,79	402,2
188		25	L	2,67	403,3
189		24	L	2,71	395,3
190		57	L	2,95	433,3
191		4	L	3,13	415,2
192		4	L	2,98	399,2

193		3	L	2,94	399,2
194		32	L	2,47	395,2
195		31	L	2,49	395,2
196		36	L	2,28	395,2
198		32	L	2,24	386,2
199		36	L	2,24	379,2

200		36	L	2,15	379,2
201		36	L	2,29	379,2
202		36	L	2,37	409,2
203		36	L	2,23	393,3
204		36	L	2,3	400,2
205		4	M	0,89	447,2

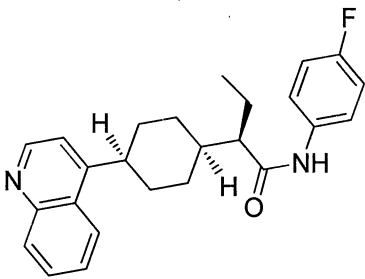
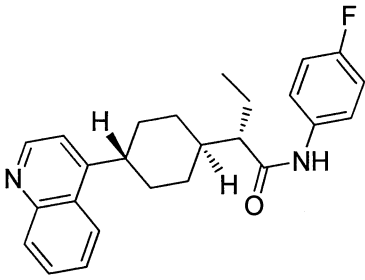
206		1	M	0,86	447,1
207		1	M	0,85	431,3
208		4	M	0,87	431,2
209		4	M	0,85	431,2
210		4	M	0,86	447,2
211		4	M	0,87	447,2

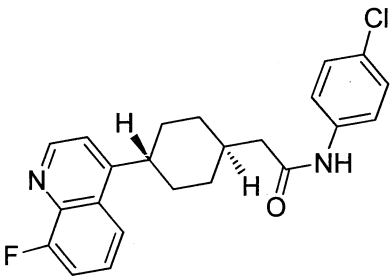
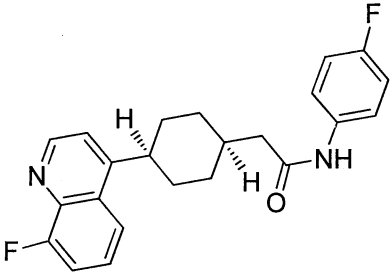
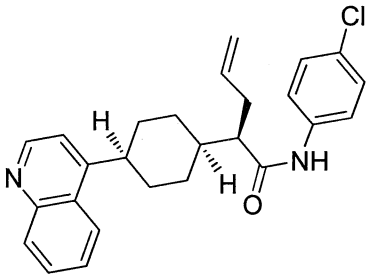
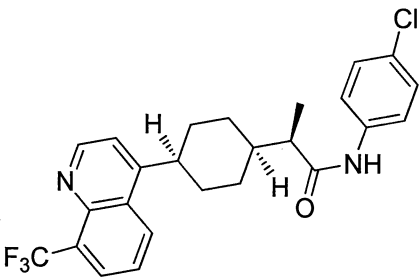
212		24	M	0,88	395,3
213		24	M	0,96	402,3
214		137	L	2,516	527,3
215		24	M	0,91	411,2
216		56	M	0,83	393,2

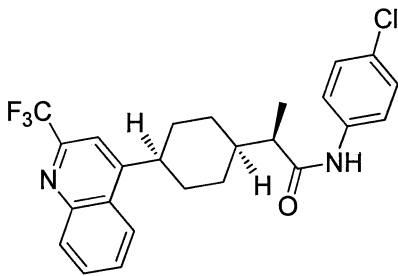
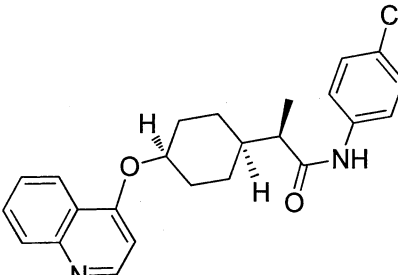
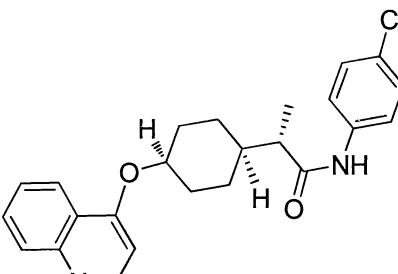
217		20	M	0,84	393,2
218		20	M	0,817	393,3

Bảng 8

Hợp chất theo ví dụ 220-228 được điều chế bằng các phương pháp mô tả nêu trên

Ví dụ	Công thức cấu tạo	Điều chế bằng phương pháp tương tự ví dụ	¹ H NMR
220		25	¹ H-NMR (400MHz; CDCl ₃): δ 8,84 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 8,12 (dd, J = 8,5, 0,8 Hz, 1H), 8,07 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,70 (ddd, J = 8,4, 6,9, 1,4 Hz, 1H), 7,61-7,47 (m, 4H), 7,32 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 7,11-6,91 (m, 2H), 3,51-3,43 (m, 1H), 2,41 (td, J = 11,0, 4,2 Hz, 1H), 2,17- 2,14 (m, 1H), 1,97-1,58 (m, 10H), 1,01 (t, J = 7,4 Hz, 3H).
221		26	¹ H NMR (400MHz; CDCl ₃): δ 8,84 (d, J = 4,6 Hz, 1H), 8,11 (dd, J = 8,5, 1,0 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,69 (ddd, J = 8,3, 6,8, 1,3 Hz, 1H), 7,59-7,50 (m, 3H), 7,25 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,08-6,98 (m, 2H), 3,30 (tt, J = 11,9,

			2,7 Hz, 1H), 2,17-1,92 (m, 4H), 1,86-1,70 (m, 2H), 1,69-1,51 (m, 2H), 1,51-1,11 (m, 4H), 1,00 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).
222		3	^1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 8,79 (d, $J = 12,3$ Hz, 1H), 8,01 (d, $J = 7,4$ Hz, 1H), 7,64-7,53 (m, 4H), 7,52-7,43 (m, 1H), 7,31-7,24 (m, 2H), 3,53-3,38 (m, 1H), 2,58 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,52-2,44 (m, 1H), 2,03-1,70 (m, 8H).
223		4	^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 8,90 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 7,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,54-7,44 (m, 3H), 7,39 (ddd, $J = 10,3, 7,7, 1,2$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,08-6,98 (m, 2H), 3,36-3,20 (m, 1H), 2,35 (d, $J = 6,6$ Hz, 2H), 2,16-2,01 (m, 5H), 1,75-1,59 (m, 2H), 1,45-1,28 (m, 2H).
224		25	^1H -NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,86 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 8,25 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 8,08-8,06 (m, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,61 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,52-7,48 (m, 2H), 7,28-7,26 (m, 1H), 7,26-7,22 (m, 2H), 3,43-3,37 (m, 1H), 2,66-2,59 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 1H), 1,94-1,62 (m, 9H), 1,26 (d, $J = 6,8$ Hz, 4H).
225		23	^1H -NMR (400MHz; CDCl_3): δ 8,15 (dd, $J = 8,5, 0,9$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,75 (ddd, $J = 8,4, 6,9, 1,4$ Hz, 1H), 7,65 (ddd, $J = 8,4, 7,0, 1,4$ Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,55-7,51 (m, 2H), 7,24-7,20 (m, 2H), 3,48-3,41 (m, 1H), 2,71-2,63 (m, 1H), 2,22-2,17 (m, 1H),

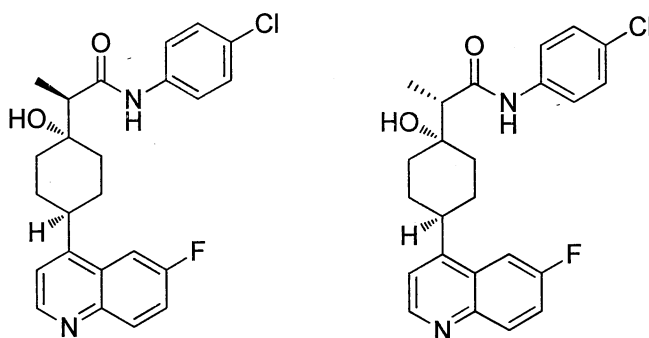
			2,02-1,98 (m, 1H), 1,89-1,57 (m, 8H), 1,29 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).
226		23	$^1\text{H-NMR}$ (400MHz; CDCl_3): δ 8,86 (d, $J =$ 4,6 Hz, 1H), 8,25 (d, $J =$ 8,2 Hz, 1H), 8,08- 8,06 (m, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,61 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,52-7,48 (m, 2H), 7,28-7,26 (m, 1H), 7,26-7,22 (m, 2H), 3,43-3,37 (m, 1H), 2,66-2,59 (m, 1H), 2,17-2,10 (m, 1H), 1,94-1,62 (m, 8H), 1,26 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).
227		27	$^1\text{H NMR}$ (400MHz; CDCl_3): 8,69 (d, $J =$ 6,5 Hz, 1H), 8,17 (dd, $J =$ 1,5, 10,5 Hz, 1H), 8,00 (d, $J = 10,5$ Hz, 1H), 7,85 (br s, 1H), 7,66 (dt, $J = 2,0, 8,5$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J =$ 11,5 Hz, 2H), 7,43 (dt, $J = 1,0, 10,0$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J = 11$ Hz, 2H), 6,68 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,83 (br s, 1H), 2,24-2,12 (m, 3H), 1,79-1,46 (m, 7H), 1,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 3H).
228		27	$^1\text{H NMR}$ (400MHz; CDCl_3): 8,69 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 8,18 (dd, 1,5, 10,5 Hz, 1H), 8,01 (dd, $J = 1,0, 10,5$ Hz, 1H), 7,69-7,65 (m, 2H), 7,49 (d, $J = 11$ Hz, 2H), 7,44 (dt, $J = 1,0, 10,0$ Hz, 1H), 7,24 (d, $J = 11,5$ Hz, 2H), 6,68 (d, $J =$ 7,0 Hz, 1H), 4,83 (br s, 1H), 2,25-2,15 (m, 3H), 1,82-1,44 (m, 7H), 1,24 (d, $J = 8,5$ Hz, 3H).

Ví dụ 229 và 230

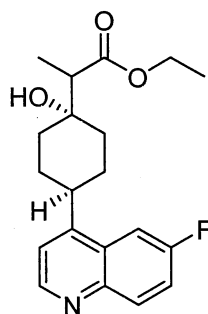
Ví dụ 229: N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1- hydroxyxyclohexyl)
propanamit

Ví dụ 230: N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl)
propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)

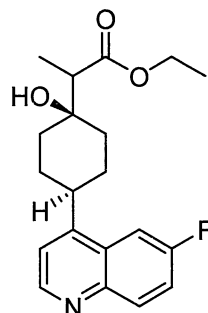
27075



Hợp chất trung gian 229A: methyl 2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl) propanoat



Hợp chất trung gian 229B: methyl 2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl) propanoat



Bổ sung tris(triphenylphosphin)rodi(I) clorua (45,6mg, 0,049mmol) vào dung dịch chứa 4-(6-floquinolin-4-yl) xyclohexanon (200mg, 0,822mmol), methyl 2-bromopropanoat (275mg, 1,644mmol) trong CH_3CN (6mL) ở nhiệt độ 0°C . Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 30 phút, sau đó thêm diethylat (dung dịch 1,0M trong heptan) (1,726mL, 1,726mmol) được bổ sung vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Phản ứng được pha loãng bằng EtOAc và dung dịch amoni clorua bão hòa. Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô để thu được hợp chất thô. Hợp chất thô này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO 24g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100%

EtOAc/Hexan trong 50 phút. Hợp chất trung gian 229A (87mg, 0,26mmol, 32%) được rửa giải bằng 50% EtOAc/Hexan. Hợp chất trung gian 229B (122mg, 0,364mmol, 44%) được rửa giải bằng 60% EtOAc/Hexan.

Hợp chất trung gian 229A: ^1H NMR (400MHz, cloroform- d) δ 8,83 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J=10,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,50 (ddd, $J=9,2, 8,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,65 (s, 1H), 3,36 - 3,23 (m, 1H), 3,08 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 2,18 - 2,08 (m, 1H), 2,06 - 1,94 (m, 2H), 1,94 - 1,81 (m, 2H), 1,79 - 1,68 (m, 3H), 1,68 - 1,51 (m, 1H), 1,36 - 1,23 (m, 3H) LC-MS: $M+H=332,2$ (tr=0,59 phút) (phương pháp A)

Hợp chất trung gian 229B: ^1H NMR (400MHz, cloroform- d) δ 8,84 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,68 (dd, $J=10,6, 2,8$ Hz, 1H), 7,49 (ddd, $J=9,1, 8,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,39 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,21 - 3,04 (m, 2H), 2,56 (q, $J=7,2$ Hz, 1H), 2,18 - 1,97 (m, 3H), 1,93 - 1,67 (m, 5H), 1,65 (s, 2H), 1,55 - 1,41 (m, 1H), 1,36 - 1,23 (m, 3H)

Ví dụ 229 và 230

Bổ sung nhỏ giọt $i\text{PrMgCl}$ (2,0M trong THF) (0,415mL, 0,830mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (63,5mg, 0,498mmol) trong THF (1mL) ở nhiệt độ phòng. Các bọt khí được bốc lên. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 229A (55mg, 0,166mmol) trong THF (0,3mL) được bổ sung vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Phản ứng được pha loãng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và EtOAc. Lốp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô đến khô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO, cột 24g, tốc độ dòng bằng 35mL/phút, gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% EtOAc/Hexan trong 30 phút. Hợp chất mong muốn được rửa giải bằng 80% EtOAc/Hexan để thu được N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxycyclohexyl)propanamit (58mg, 0,135mmol, hiệu suất = 81%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Raxemat được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral OD-H 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μm ; pha động A: 70/30 CO_2/MeOH ; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 100mL/phút. Các phân đoạn ("píc-1" tr = 3,98 phút (ví dụ 229) và "píc-2" tr = 4,99 phút (ví dụ 230);

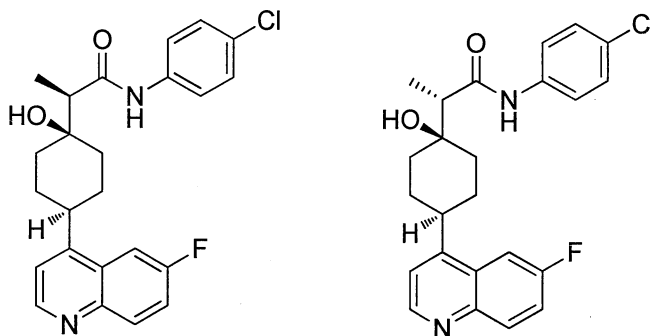
Hợp chất theo ví dụ 229: ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,83 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J=10,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,50 (ddd, $J=9,2, 8,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,65 (s, 1H), 3,36 - 3,23 (m, 1H), 3,08 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 2,18 - 2,08 (m, 1H), 2,06 - 1,94 (m, 2H), 1,94 - 1,81 (m, 2H), 1,79 - 1,68 (m, 3H), 1,68 - 1,51 (m, 1H), 1,36 - 1,23 (m, 3H) LC-MS: $M+H=332,2$ (tr=0,59 phút).

Hợp chất theo ví dụ 230: ^1H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,83 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J=10,5, 2,8$ Hz, 1H), 7,50 (ddd, $J=9,2, 8,0, 2,8$ Hz, 1H), 7,33 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,65 (s, 1H), 3,36 - 3,23 (m, 1H), 3,08 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 2,18 - 2,08 (m, 1H), 2,06 - 1,94 (m, 2H), 1,94 - 1,81 (m, 2H), 1,79 - 1,68 (m, 3H), 1,68 - 1,51 (m, 1H), 1,36 - 1,23 (m, 3H) LC-MS: $M+H=332,2$ (tr=0,59 phút) (phương pháp A).

Ví dụ 231 và 232

Ví dụ 231: N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl)propanamit

Ví dụ 232: N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl)propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)



Bổ sung nhỏ giọt $i\text{PrMgCl}$ (2,0M trong THF) (0,400mL, 0,800mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (61,2mg, 0,480mmol) trong THF (2mL) ở nhiệt độ phòng. Các bọt khí được bốc lên. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 229B (53mg, 0,160mmol) được bổ sung vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Làm lạnh đến nhiệt độ phòng. Hỗn hợp được pha loãng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và EtOAc. Lốp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô đến khô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương

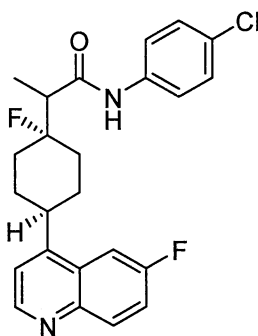
pháp sắc ký ISCO, cột 24g, tốc độ dòng bằng 35mL/phút, gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% EtOAc/Hexan trong 45 phút. Hợp chất mong muốn được rửa giải bằng 75% EtOAc/Hexan để thu được N-(4-clophenyl)-2-((1s, 4s)-4-(6-floquinolin-4-yl)-1-hydroxyxyclohexyl) propanamit (55mg, 0,128mmol, hiệu suất = 80%) dưới dạng chất rắn màu trắng. Raxemat được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Chiral OD-H 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 70/30 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 100mL/phút. Các phân đoạn (“píc-1” tr = 4,58 phút (ví dụ 231) và “píc-2” tr = 5,33 phút (ví dụ 232);

Hợp chất theo ví dụ 231: ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,83 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,66 (dd, $J=10,6, 2,8$ Hz, 1H), 7,55 - 7,45 (m, 3H), 7,38 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 7,35 - 7,31 (m, 2H), 3,60 (br. s, 1H), 3,24 - 3,02 (m, 1H), 2,38 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 2,21 - 1,95 (m, 3H), 1,95 - 1,83 (m, 2H), 1,80 - 1,64 (m, 2H), 1,49 (td, $J=13,3, 4,1$ Hz, 1H), 1,42 (d, $J=7,1$ Hz, 3H) LC-MS: M+H=332,2 (tr=0,78 phút) (phương pháp A)

Hợp chất theo ví dụ 232: ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,83 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 8,14 (dd, $J=9,2, 5,7$ Hz, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,66 (dd, $J=10,6, 2,8$ Hz, 1H), 7,55 - 7,45 (m, 3H), 7,38 (d, $J=4,6$ Hz, 1H), 7,35 - 7,31 (m, 2H), 3,60 (br. s, 1H), 3,24 - 3,02 (m, 1H), 2,38 (q, $J=7,1$ Hz, 1H), 2,21 - 1,95 (m, 3H), 1,95 - 1,83 (m, 2H), 1,80 - 1,64 (m, 2H), 1,49 (td, $J=13,3, 4,1$ Hz, 1H), 1,42 (d, $J=7,1$ Hz, 3H) LC-MS: M+H=332,2 (tr=0,78 phút) (phương pháp A)

Ví dụ 233

(+/-)-N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-1-flo-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl) propanamit

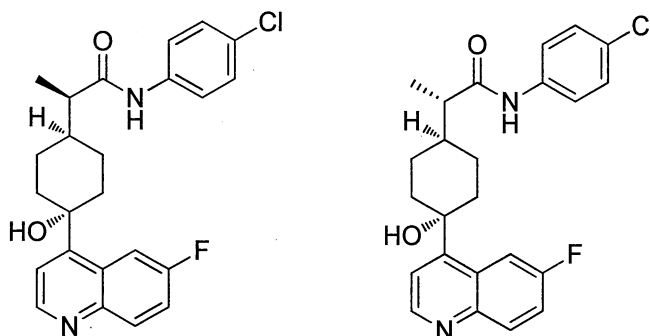


Bổ sung diethylaminoluru huỳnh triflorua (0,019mL, 0,141mmol) vào dung dịch chứa 229B (20mg, 0,047mmol) trong CH₂Cl₂ (1mL) ở nhiệt độ phòng. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Phản ứng được pha loãng bằng nước và EtOAc. Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô đến khô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 0,1% axit trifloaxetic; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 0,1% axit trifloaxetic; gradien: 25-50% B trong 25 phút, sau đó duy trì trong 2 phút ở 50% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm. Hợp chất này được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 50-75% B trong 25 phút, sau đó duy trì trong 2 phút ở 75% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất theo ví dụ 233 (0,5mg, 1,17mmol, 2,5%) ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 10,13 (s, 1H), 8,84 (d, *J*=4,4 Hz, 1H), 8,15 - 8,00 (m, 2H), 7,72 - 7,55 (m, 4H), 7,36 (d, *J*=8,7 Hz, 2H), 3,21 - 3,12 (m, 1H), 2,15 (br. s, 1H), 2,06 (br. s, 1H), 1,94 (d, *J*=9,0 Hz, 3H), 1,88 (br. s, 2H), 1,66 (d, *J*=11,4 Hz, 1H), 1,24 (d, *J*=6,9 Hz, 3H) LC-MS: M+H=429,0 (tr=0,82 phút) (phương pháp A).

Ví dụ 234, 235, 236, 237

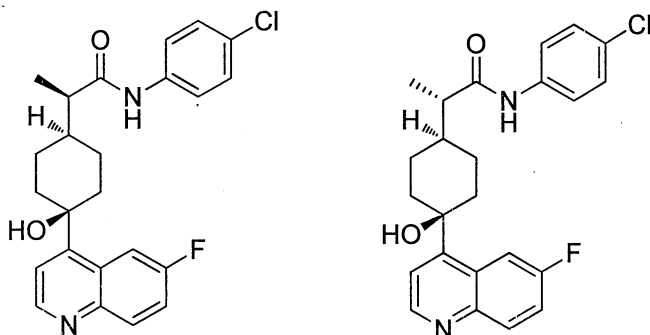
Ví dụ 234: N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxycyclohexyl)propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)

Ví dụ 235: N-(4-clophenyl)-2-(*trans*-4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxycyclohexyl)propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)

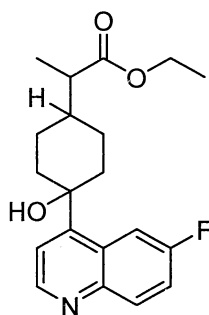


Ví dụ 236: N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxyxyclohexyl)propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)

Ví dụ 237: N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxyxyclohexyl)propanamit (hóa lập thể tuyệt đối chưa biết)

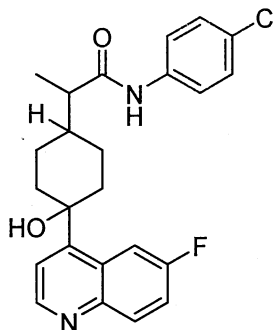


Hợp chất trung gian 234A: ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxyxyclohexyl)propionat



Bổ sung nhỏ giọt t-BuLi (1,7M-3,2M trong heptan) (0,849mL, 1,443mmol) vào dung dịch chứa 4-bromo-6-floquinolin (163mg, 0,721mmol) trong THF (5mL) ở nhiệt độ -78°C. Phản ứng chuyển từ trong suốt sang màu nâu sẫm. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -78°C trong 3 phút, sau đó ethyl 2-(4-oxoxyclohexyl) propanoat (130mg, 0,656mmol) trong THF (1mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ. Phản ứng được pha loãng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và EtOAc. Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô để thu được hợp chất thô. Hợp chất này được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, gradient: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% EtOAc/Hexan trong 35 phút. Hợp chất mong muốn được rửa giải bằng 55% EtOAc/Hexan để thu được hợp chất trung gian 234A (100mg, 0,290mmol, 44%) dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang.

Hợp chất trung gian 234B: N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)-4-hydroxyxyclohexyl)propanamit



Bổ sung nhỏ giọt iPrMgBr (2,0M trong THF) (0,724mL, 1,448mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (111mg, 0,869mmol) trong THF (2mL) ở nhiệt độ phòng. Các bọt khí được bốc lên. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 234A (100mg, 0,29mmol) trong THF (1mL) được bổ sung vào. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ, sau đó làm lạnh đến nhiệt độ phòng và pha loãng bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và EtOAc. Lớp hữu cơ được phân tách và rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô đến khô. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp sắc ký ISCO, cột 24g, tốc độ dòng bằng 35mL/phút, gradien: nằm trong khoảng từ 0% đến 100% EtOAc/Hexan trong 30 phút. Hợp chất mong muốn được rửa giải bằng 80% EtOAc/Hexan để thu được hợp chất trung gian 234B (110mg, 0,258mmol, 89%) dưới dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang.

Hỗn hợp chất đồng phân không đối quang 234B được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: cột: Whelk-O R, R Kromasil 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 75/25 CO₂/MeOH; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 100mL/phút. Các phân đoạn ("píc-1" tr = 9,94 phút (ví dụ 234) và "píc-2" tr = 11,49 phút (ví dụ 236); "píc-3" tr = 13,23 phút (ví dụ 235) và "píc-4" tr = 14,63 phút (ví dụ 237);

Hợp chất theo ví dụ 234 và 235: (mỗi hợp chất 5mg, 0,011mmol, 4,44%) ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,86 - 8,74 (m, 1H), 8,53 (dd, J=11,7, 2,8 Hz, 1H), 8,13 (dd, J=9,2, 5,9 Hz, 1H), 7,57 - 7,39 (m, 4H), 7,35 - 7,26 (m, 2H), 7,22 (s, 1H), 2,59 (d, J=7,3 Hz, 2H), 2,27 - 2,16 (m, 1H), 2,09 - 1,86 (m, 5H), 1,38 - 1,18 (m, 6H); LC-MS: M+H=427,1 (tr=0,78 phút) (phương pháp A).

Hợp chất theo ví dụ 236 và 237: (mỗi hợp chất 40mg, 0,093mmol, 36,2%) ¹H NMR (400MHz, cloroform-d) δ 8,83 (d, J=4,6 Hz, 1H), 8,52 (dd, J=11,7, 2,8 Hz, 1H),

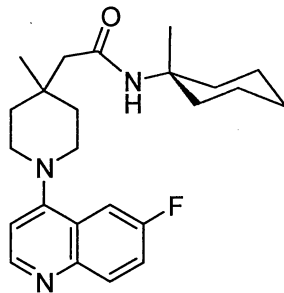
8,14 (dd, $J=9,3$, 6,0 Hz, 1H), 7,58 - 7,53 (m, $J=8,8$ Hz, 2H), 7,49 (ddd, $J=9,2$, 7,6, 2,8 Hz, 1H), 7,42 (d, $J=4,5$ Hz, 1H), 7,39 - 7,30 (m, 2H), 7,20 (s, 1H), 2,38 - 2,16 (m, 3H), 2,09 - 1,91 (m, 3H), 1,88 - 1,71 (m, 5H), 1,40 - 1,30 (m, 3H); LC-MS: $M+H=427,1$ (tr=0,78 phút) (phương pháp A).

Hợp chất theo ví dụ 238 - 241 được điều chế bằng phương pháp theo ví dụ 58 bằng cách sử dụng axit và anilin tương ứng.

Ví dụ	Danh pháp	R	Thời gian lưu (phút) ^{phương pháp}	[M + H] ⁺
238	(R)-N-(4-clo-2-hydroxyphenyl)-2-(<i>cis</i> -4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		0,83 ^a	427,2
239	(R)-N-(4-clo-3-hydroxyphenyl)-2-(<i>cis</i> -4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		0,76 ^a	427,2
240	(2R)-N-((2S)-bicyclo[2,2,1]heptan-2-yl)-2-(<i>cis</i> -4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit		2,02 ^b	395,0
241	(R)-N-(2-amino-4-clophenyl)-2-(<i>cis</i> -4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)pent-4-enamit		0,80 ^a	452,3

Ví dụ 242

2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)-N-(1-metylcyclohexyl)axetamit



Hợp chất trung gian 242A. Metyl 2-(4-metylpiperidin-4-yl)axetat

Bổ sung từ từ axetyl clorua (1,1mL, 15,2mmol) vào bình phản ứng được nạp với MeOH (7,5mL), ở nhiệt độ 0°C trong điều kiện khí nitơ. Sau khi bổ sung hoàn toàn, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút trước khi hỗn hợp đồng nhất chứa axit 2-(4-metylpiperidin-4-yl) axetic, HCl (675,0mg, 3,5mmol) trong MeOH (1,5mL) được bổ sung từ từ nhỏ giọt vào. Hỗn hợp đồng nhất thu được được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút, sau đó ở nhiệt độ 60°C trong 8 giờ, trước khi cô trong điều kiện chân không để thu được muối HCl của hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng (718,0mg; hiệu suất = 99%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 9,41 - 9,12 (m, 1H), 3,60 (s, 3H), 3,25 - 3,15 (m, 2H), 2,93 - 2,82 (m, 2H), 2,39 - 2,30 (m, 2H), 1,74 - 1,64 (m, 4H), 1,02 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 242B. Metyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetat

Bổ sung muối HCl của metyl 2-(4-metylpiperidin-4-yl)axetat (hợp chất trung gian 242A, 480,0mg, 2,3mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa 4-clo-6-floquinolin (350,0mg, 1,9mmol) trong NMP khan (5mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (1,6mL, 9,2mmol). Bình phản ứng được đậy kín và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 120°C. Sau 26 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng, sau đó phân lớp bằng nước và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, sau đó cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được metyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetat dưới dạng dầu (565,8mg; hiệu suất = 93%). MS (ES): $m/z = 317$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_R = 0,66$ phút (phương pháp

A). ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 8,38 (d, $J=5,4$ Hz, 1H), 7,96 (dd, $J=11,7, 2,8$ Hz, 1H), 7,89 - 7,84 (m, 1H), 7,55-7,49 (m, 1H), 6,54 (d, $J=5,5$ Hz, 1H), 3,82 - 3,63 (m, 2H), 3,59 (s, 3H), 3,54 - 3,34 (m, 2H), 2,45 - 2,38 (m, 2H), 1,87 - 1,72 (m, 4H), 1,05 (s, 3H).

Hợp chất trung gian 242C. axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetic

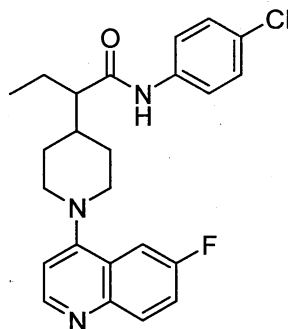
Bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước NaOH 2M (1mL, 2,0mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa methyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetat (321,0mg, 1,0mmol) trong MeOH (5mL), trong điều kiện khí nitơ. Sau đó, phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 20 giờ trước khi xử lý bằng dung dịch nước HCl 1N cho đến khi độ pH =6 chuyển sang độ pH của thiết bị cất. Sau đó, hỗn hợp được phân lớp bằng nước và EtOAc, các lớp được phân tách và lớp nước được chiết hai lần bằng EtOAc. Lớp nước chiết được được đông khô để thu được hợp chất thô dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (302,1mg, hiệu suất = 98%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. MS (ES): $m/z = 303$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_R = 0,58$ phút (phương pháp A). ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ 12,12 (br.s, 1H), 8,41 (d, $J=6,1$ Hz, 1H), 8,14-8,08 (m, 1H), 8,00 (dd, $J=9,3, 5,7$ Hz, 1H), 7,75 - 7,64 (m, 1H), 6,64 (d, $J=6,2$ Hz, 1H), 3,98 - 3,87 (m, 1H), 3,87 - 3,78 (m, 1H), 3,69-3,49 (m, 2H), 2,38 - 2,29 (m, 2H), 1,92 - 1,70 (m, 4H), 1,06 (s, 3H).

2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)-N-(1-metylcyclohexyl)axetamid

Bổ sung PyBOP (45,6mg, 0,09mmol) vào hỗn hợp chứa axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)-4-metylpiperidin-4-yl)axetic (26,5mg, 0,09mmol) trong DMF khan (1mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (0,06mL, 0,34mmol). Hỗn hợp được khuấy trong 15 phút trước khi bổ sung 1-metylcyclohexanamin, HCl (15,7mg, 0,11mmol) và bình phản ứng được đậy kín. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 21 giờ, trước khi pha loãng bằng DMF, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn (17,2mg; hiệu suất = 38%). MS (ES): $m/z = 398$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. $T_R = 1,61$ phút (phương pháp B). ^1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 8,38 (d, $J=5,6$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J=9,7$ Hz, 1H), 7,90 - 7,84 (m, 1H), 7,60 (t, $J=7,6$ Hz, 1H), 7,19 (s, 1H), 6,57 (d, $J=5,8$ Hz, 1H), 3,94 - 3,64 (m, 2H), 2,16 (t, $J=7,8$ Hz, 2H), 2,02 - 1,92 (m, 2H), 1,88 - 1,73 (m, 2H), 1,67 (t, $J=7,3$ Hz, 2H), 1,47 - 1,31 (m, 5H), 1,30 - 1,10 (m, 8H), 1,04 (s, 3H).

Ví dụ 243

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanamit



Hợp chất trung gian 243A. Tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yliden)piperidin-1-carboxylat

Bổ sung triethyl 2-phosphonobutyrate (1,81g, 7,18mmol) vào hỗn dịch chứa NaH (0,29g, 7,18mmol) trong THF khan (10mL), trong điều kiện khí nitơ trong 5 phút. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 20 phút, hỗn hợp trở nên đồng nhất trong thời gian này. Bổ sung nhỏ giọt hỗn hợp đồng nhất chứa 1-Boc-4-piperidon (1,10g, 5,52mmol) trong THF khan (2,5mL) vào dung dịch này. Sau khi khuấy trong 1,5 giờ, phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa trước khi chiết kỹ bằng EtOAc. Các phân đoạn hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô (MgSO₄), lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yliden)piperidin-1-carboxylat dưới dạng dầu trong suốt (1,64 g; hiệu suất = 100%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 4,13 (q, J=7,1 Hz, 2H), 3,39 - 3,35 (m, 2H), 3,35 - 3,31 (m, 2H), 2,45 - 2,39 (m, 2H), 2,31 - 2,22 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 1,21 (t, J=7,2 Hz, 3H), 0,93 (t, J=7,5 Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 243B. Tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yl)piperidin-1-carboxylat

Bổ sung platin (IV) oxit (0,07g, 0,31mmol) vào bình phản ứng được nạp với tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yliden)piperidin-1-carboxylat (1,64g, 5,52mmol) và trong điều kiện khí nitơ, sau đó bổ sung từ từ EtOH (5mL). Sau đó, dòng nitơ được thay bằng bình cầu hydro và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường. Sau 15 giờ, hỗn hợp phản ứng được sục với khí nitơ trước khi lọc qua đệm CELITE®. Đệm này được rửa kỹ bằng EtOAc trước khi các dịch lọc thu gom được cô trong điều kiện chân không để thu được tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yl)piperidin-1-carboxylat dưới dạng dầu trong suốt (1,65 g; hiệu suất = 100%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR

(400MHz, DMSO- d_6) δ 4,08 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,98 - 3,83 (m, 2H), 2,78 - 2,52 (m, 2H), 2,13 - 2,03 (m, 1H), 1,69 - 1,62 (m, 1H), 1,52 - 1,43 (m, 2H), 1,38 (s, 9H), 1,28 - 1,13 (m, 5H), 1,10 - 0,98 (m, 2H), 0,80 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 243C. Ethyl 2-(piperidin-4-yl)butanoat

Bổ sung HCl (4N trong đioxan, 10mL, 40,0mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa tert-butyl 4-(1-etoxy-1-oxobutan-2-yl)piperidin-1-carboxylat (1,65g, 5,52mmol) trong đioxan khan (5mL), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2 giờ trước khi cô trong điều kiện chân không để loại bỏ các chất dễ bay hơi. Dầu thu được được xử lý với dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa cho đến khi độ pH = 5, sau đó với dung dịch nước NaOH 1N cho đến khi độ pH = 8, trước khi hỗn hợp được chiết kỹ bằng EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được đông khô để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (1,20g; hiệu suất = 92%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS (ES): $m/z = 200$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,57$ phút (phương pháp A). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 4,07 (q, $J=7,2$ Hz, 2H), 3,01 - 2,78 (m, 2H), 2,48 - 2,29 (m, 3H), 2,07 - 1,98 (m, 1H), 1,60 - 1,35 (m, 5H), 1,18 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 1,11 - 0,88 (m, 2H), 0,80 (t, $J=7,4$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 243D. Ethyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanoat

Bổ sung ethyl 2-(piperidin-4-yl)butanoat (hợp chất trung gian 243C, 544,0mg, 2,31mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa 4-clo-6-floquinolin (365,0mg, 2,01mmol) trong NMP khan (5mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (1,6mL, 9,16mmol). Bình phản ứng được đậy kín và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong 3 giờ trước khi để nguội đến nhiệt độ phòng. Sau khi khuấy 7 ngày, hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C trong 3 ngày, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng, trước khi phân lớp bằng nước và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng EtOAc. Dịch chiết hữu cơ này được kết hợp với lớp hữu cơ ban đầu và rửa bằng nước, sau đó cô trong điều kiện chân không để thu được phần cặn màu nâu sẫm. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được ethyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanoat dưới dạng dầu màu vàng (76,1mg; hiệu suất = 11%). MS (ES): $m/z = 345$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,77$ phút (phương pháp A). 1H NMR (400MHz, cloroform- d) δ 8,68 (d, $J=5,0$ Hz, 1H), 8,06 - 8,03 (m, 1H), 7,59-7,55 (m, 1H), 7,43-7,38 (m, 1H), 6,84 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 4,21 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,62 - 3,52 (m, 2H), 2,84 - 2,71 (m, 2H), 2,29 - 2,20 (m,

1H), 2,01 - 1,93 (m, 1H), 1,82 - 1,60 (m, 6H), 1,31 (t, $J=7,2$ Hz, 3H), 0,94 (t, $J=7,4$ Hz, 3H).

Hợp chất trung gian 243E. axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanoic

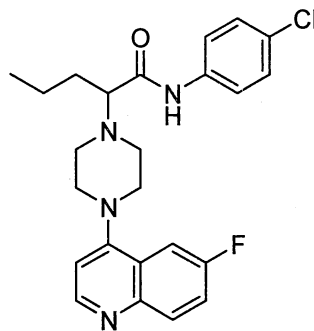
Bổ sung NaOH (dung dịch nước 2M, 0,2mL, 0,40mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa ethyl 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanoat (76,1mg, 0,22mmol) trong EtOH (4mL), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 21 giờ trước khi NaOH (dung dịch nước 2M, 0,2mL, 0,40mmol) được bổ sung vào và tiếp tục khuấy. Sau 22 giờ, NaOH (dung dịch nước 2M, 0,2mL, 0,40mmol) được bổ sung vào và phản ứng được làm ấm đến 40°C. Phản ứng được khuấy trong 4 ngày trước khi NaOH (dung dịch nước 2M, 0,2mL, 0,40mmol) được bổ sung vào và tiếp tục khuấy trong 21 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ phòng, phản ứng được dừng và HCl 4N trong đioxan (cho đến khi độ pH của dịch cất thử nghiệm = 5-6), khuấy trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS (ES): $m/z = 317$ $[M+H]^+$. $T_R = 0,63$ phút (phương pháp A).

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)-butanamit

Bổ sung DIPEA (0,1mL, 0,57mmol) vào hỗn hợp chứa axit 2-(1-(6-floquinolin-4-yl)piperidin-4-yl)butanoic (35,0mg, 0,11mmol) và 4-cloanilin (17,0mg, 0,13mmol) trong DMF khan, trong điều kiện khí nitơ, sau đó bổ sung PyBOP (57,6mg, 0,11mmol). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 98 giờ trước khi pha loãng bằng DMF, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn (2,5mg; hiệu suất = 3%). MS (ES): $m/z = 426$ $[M+H]^+$. $T_R = 2,22$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,15 (s, 1H), 8,64 (d, $J=4,9$ Hz, 1H), 8,00 (dd, $J=9,0, 5,7$ Hz, 1H), 7,67 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,64 - 7,51 (m, 2H), 7,35 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,07 - 6,96 (m, $J=4,9$ Hz, 1H), 3,52 - 3,43 (m, 1H), 2,84 - 2,66 (m, 2H), 2,55 - 2,53 (m, 1H), 2,27 - 2,18 (m, 1H), 2,02 - 1,92 (m, $J=11,9$ Hz, 1H), 1,78 - 1,43 (m, 6H), 0,86 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Ví dụ 244

(±)-N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit



Hợp chất trung gian 244A. Tert-butyl 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat

Bổ sung 1-Boc-piperazin (750,0mg, 4,0mmol) vào hỗn hợp chứa 4-clo-6-floquinolin (500,0mg, 2,8mmol) trong NMP khan (5mL) trong bình có thể đậy kín được, sau đó bổ sung DIPEA (2,0mL, 11,5mmol). Bình phản ứng này được đậy nắp và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong 15,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng trước khi phân lớp bằng nước và Et₂O. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết hai lần nữa bằng Et₂O. Các dịch chiết hữu cơ này được kết hợp với lớp hữu cơ ban đầu và rửa bằng nước muối, làm khô (Na₂SO₄), lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng phương pháp sắc ký Isco để thu được tert-butyl 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat dưới dạng dầu (719,3mg; hiệu suất = 77%). MS (ES): m/z = 332 [M+H]⁺. T_R = 0,70 phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,70 (d, J=4,9 Hz, 1H), 8,09 - 8,00 (m, 1H), 7,77-7,67 (m, 1H), 7,67 - 7,62 (m, 1H), 7,07 (d, J=4,9 Hz, 1H), 3,67 - 3,57 (m, 4H), 3,15 - 3,06 (m, 4H), 1,44 (s, 9H).

Hợp chất trung gian 244B. 6-flo-4-(piperazin-1-yl)quinolin

Bổ sung HCl 4M trong đioxan (10mL, 40,0mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa tert-butyl 4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-carboxylat (600,0mg, 1,8mmol) trong đioxan (4mL), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 2,5 giờ, kết tủa xuất hiện trong thời gian này. Hỗn hợp không đồng nhất này được cô đến thể tích bằng khoảng 1/2 thể tích ban đầu và lọc trong điều kiện chân không để thu được muối HCl của hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt (490,0mg; hiệu suất = 100%) được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. MS (ES): m/z = 232 [M+H]⁺. T_R = 0,38 phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 244C. (±)-Etyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanoat

Bổ sung K_2CO_3 (288,0mg, 2,08mmol) vào hỗn hợp không đồng nhất chứa muối HCl của 6-flo-4-(piperazin-1-yl)quinolin (hợp chất trung gian 244B, 200,0mg, 0,75mmol) trong DMF khan (5mL) trong bình phản ứng có thể đậy kín, sau đó bổ sung ethyl 2-bromovalerat (234,0mg, 1,12mmol). Sau đó, bình phản ứng được đậy kín và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 60°C. Sau 16 giờ, phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ nhiệt độ phòng, sau đó phân lớp bằng nước và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được kết hợp, rửa bằng nước muối, làm khô (natri sulfat khan), lọc và cô trong điều kiện chân không để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng dầu màu vàng được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. MS (ES): $m/z = 360 [M+H]^+$. $T_R = 0,62$ phút (phương pháp A).

Hợp chất trung gian 244D. axit ($\pm$)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanoic

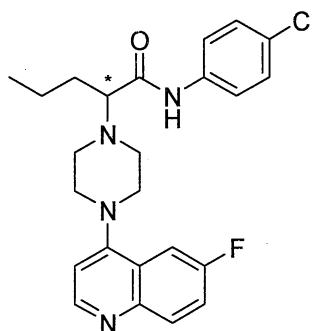
Bổ sung nhỏ giọt dung dịch nước NaOH 2M (0,8mL, 1,6mmol) vào hỗn hợp đồng nhất chứa ethyl 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)propanoat (hợp chất trung gian 244C, 0,75mmol) trong MeOH (4mL), trong điều kiện khí nitơ. Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 64 giờ trước khi dung dịch nước NaOH 2M (0,8mL, 1,6mmol) được bổ sung vào. Sau 6 giờ khuấy, dung dịch nước NaOH 2M (0,8mL, 1,6mmol) được bổ sung vào và tiếp tục khuấy. Sau 115 giờ, phản ứng được xử lý với HCl (4N trong đioxan) cho đến khi độ pH của dịch cất thử nghiệm bằng 5. Sau đó, hỗn hợp được phân lớp bằng nước và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được đông khô để thu được chất rắn màu vàng nhạt. Tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế pha đảo (YMC-ODS 5 μ 250 x 30 column. Điều kiện: tốc độ dòng bằng 30mL/phút; gradien 30-100%B trong 40 phút (dung môi A = 95:5 H₂O/MeCN chứa 0,05%TFA. Dung môi B = 5:95 H₂O/MeCN chứa 0,05%TFA) để thu được muối TFA của axit 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanoic dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (160,0mg; hiệu suất = 58%). MS (ES): $m/z = 332 [M+H]^+$. $T_R = 0,46$ phút (phương pháp A). ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ 8,77 (d, $J=6,4$ Hz, 1H), 8,10 (dd, $J=10,1, 5,2$ Hz, 1H), 7,93 - 7,86 (m, 2H), 7,28 (d, $J=6,5$ Hz, 1H), 3,84 - 3,73 (m, 4H), 3,72 - 3,51 (m, 1H), 3,38 - 2,99 (m, 4H), 1,86 - 1,68 (m, 2H), 1,46 - 1,33 (m, 2H), 0,94 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

($\pm$)-N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit

Bổ sung PyBOP (50,3mg, 0,10mmol) vào hỗn hợp chứa muối của axit ($\pm$)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanoic (hợp chất trung gian 244D, 32,0mg, 0,10mmol) trong DMF khan (1,5mL) trong bình có thể đậy kín, sau đó bổ sung DIPEA (0,06mL, 0,34mmol). Hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 10 phút trước khi 4-cloanilin (14,8mg, 0,12mmol) được bổ sung vào. Bình phản ứng được đậy kín và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ môi trường trong 63 giờ, trước khi pha loãng bằng DMF, lọc qua bộ lọc xi-lanh, sau đó tinh chế bằng phương pháp HPLC/MS điều chế để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng raxemat (15,9mg; hiệu suất = 37%). MS (ES): $m/z = 441$ $[M+H]^+$. $T_R = 2,24$ phút (phương pháp B). 1H NMR (500MHz, DMSO- d_6) δ 10,15 (s, 1H), 8,66 (d, $J=4,8$ Hz, 1H), 8,08 - 7,95 (m, 1H), 7,68 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,64 - 7,53 (m, 2H), 7,37 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 7,02 (d, $J=4,8$ Hz, 1H), 3,57 - 3,43 (m, 1H), 3,35 - 3,08 (m, 4H), 2,94 - 2,78 (m, 4H), 1,81 - 1,58 (m, 2H), 1,40 - 1,24 (m, 2H), 0,92 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

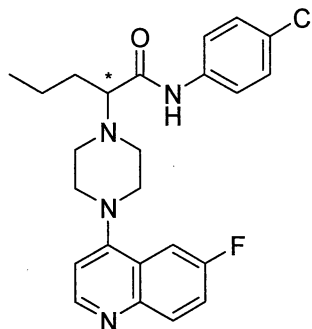
Ví dụ 245

N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 1, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



và ví dụ 246

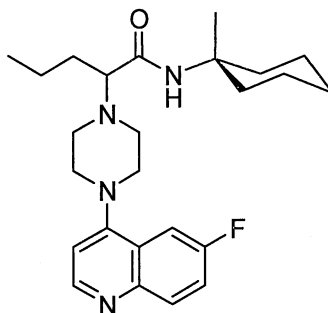
N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 2, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



Hỗn hợp raxemic theo ví dụ 244 (15,9mg) được tinh chế bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học (82/18 CO₂/MeOH chứa 0,1% DEA; pha động, cột Chiral OJ 25 X 3cm, 5µm, tốc độ dòng bằng 85mL/phút; bước sóng phát hiện = 220nm). Các phân đoạn thích hợp (rửa giải sớm hơn) để thu được hợp chất theo ví dụ 245 (6,7mg) được xác định là N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 1). MS (ES): m/z = 441 [M+H]⁺. T_r = 2,21 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR. Các phân đoạn rửa giải lâu hơn để thu được hợp chất theo ví dụ 246 (6,8mg) được xác định là N-(4-clophenyl)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 2). MS (ES): m/z = 441 [M+H]⁺. T_r = 2,21 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Ví dụ 247

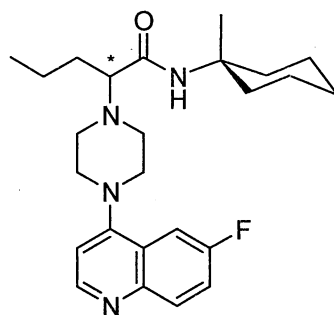
(±)-2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-(1-metylxclohexyl)pentanamit



Hợp chất theo ví dụ 247 (17,5mg; hiệu suất = 42%) được điều chế theo phương pháp tương tự để điều chế hợp chất theo ví dụ 244 chỉ khác là 1-metylxclohexanamin, HCl (17,3mg, 0,12mmol) được sử dụng thay cho 4-cloanilin. MS (ES): m/z = 427 [M+H]⁺. T_r = 2,23 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆) δ 8,64 (d, J=4,8 Hz, 1H), 8,01 (dd, J=9,0, 5,7 Hz, 1H), 7,68 - 7,52 (m, 2H), 7,35 - 7,23 (m, 1H), 7,03 (d, J=4,9 Hz, 1H), 3,19 - 3,09 (m, 4H), 2,90 - 2,77 (m, 3H), 2,56 - 2,51 (m, 2H), 2,11 - 2,00 (m, 2H), 1,70 - 1,58 (m, 1H), 1,53 - 1,35 (m, 6H), 1,30 - 1,19 (m, 8H), 0,88 (t, J=7,2 Hz, 3H).

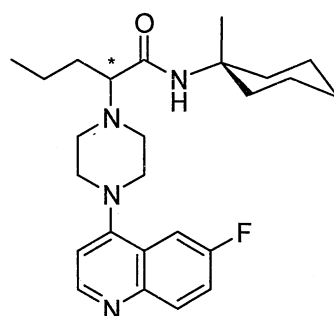
Ví dụ 248

2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-(1-metylxclohexyl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 1, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



và ví dụ 249

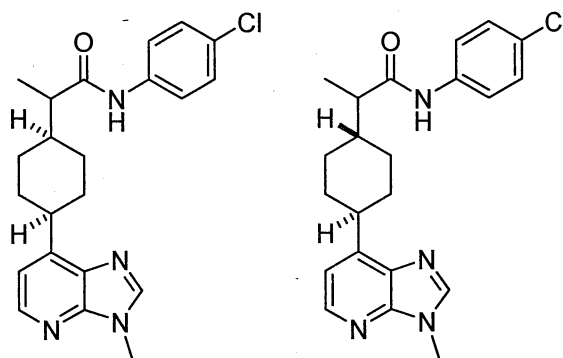
2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-(1-metylxcyclohexyl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 2, hóa lập thể tuyệt đối không được xác định)



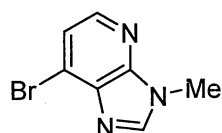
Hỗn hợp raxemic theo ví dụ 247 (16,7mg) được tinh chế bằng phương pháp SFC phân tách đồng phân quang học (80/20 CO₂/MeOH chứa 0,1% DEA; pha động, cột Chiral AD 25 X 3cm, 5μm, tốc độ dòng bằng 85mL/phút; bước sóng phát hiện = 220nm). Cô các phân đoạn thích hợp (rửa giải sớm hơn) để thu được hợp chất theo ví dụ 248 (7,4mg) được xác định là 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-(1-metylxcyclohexyl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 1). MS (ES): m/z = 427 [M+H]⁺. T_r = 2,28 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR. Cô các phân đoạn rửa giải lâu hơn để thu được hợp chất theo ví dụ 249 (6,5mg) được xác định là 2-(4-(6-floquinolin-4-yl)piperazin-1-yl)-N-(1-metylxcyclohexyl)pentanamit (chất đồng phân đối ảnh 2). MS (ES): m/z = 427 [M+H]⁺. T_r = 2,28 phút (phương pháp B). ¹H NMR (500MHz, DMSO-d₆): raxemat đồng phân đối ảnh NMR.

Ví dụ 250

(+/-)-cis và trans-N-(4-clophenyl)-2-(4-(3-metyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)xcyclohexyl)propanamit

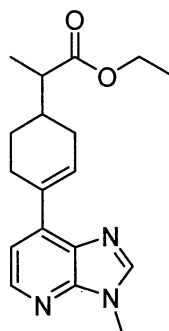


Hợp chất trung gian 250A. 7-clo-3-metyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin



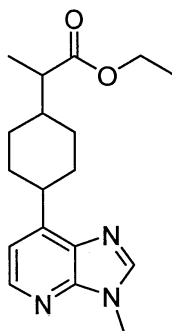
Bổ sung xeri carbonat (0,534g, 1,639mmol) và iôđometan (0,054mL, 0,860mmol) vào dung dịch chứa 7-clo-3H-imidazo[4,5-b]pyridin, muối của axit formic (0,2g, 0,820mmol) trong DMSO (4,10mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 28 giờ, sau đó dừng bằng H₂O và chiết bằng EtOAc (5X). Các lớp hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được chất lỏng màu cam được tiếp tục làm khô trong điều kiện chân không cao qua đêm. Phân tích TLC và LC-MS cho thấy hợp chất mong muốn/SM ở tỷ lệ khoảng 1:1. Hợp chất thô được hòa tan trong lượng tối thiểu của CH₂Cl₂ và chạy sắc ký. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-20% MeOH trong CH₂Cl₂ trong 24 phút, t_r = 17 phút) để thu được hợp chất mong muốn (0,0729g, 0,344mmol, hiệu suất = 42,0%) dưới dạng chất rắn màu trắng và hỗn hợp chất đồng phân ở tỷ lệ 2,8:1. ESI MS (M+H)⁺ = 212,0. Thời gian lưu pic HPLC = 0,55 phút. Điều kiện HPLC: Phương pháp A.

Hợp chất trung gian 250B. Ethyl 2-(4-(3-metyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)cyclohex-3-en-1-yl)propanoat



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 250A (0,0729g, 0,435mmol), ethyl 2-(4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)xylohex-3-en-1-yl)propanoat (0,138g, 0,448mmol), Na_2CO_3 (0,184g, 1,740mmol), và $\text{Pd}(\text{Ph}_3\text{P})_4$ (0,025g, 0,022mmol) trong dioxan (3,5mL) và nước (0,5mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Phản ứng được dừng bằng nước và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các lớp hữu cơ được thu gom, làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được phần cặn màu nâu. Tinh chế hợp chất thô bằng phương pháp sắc ký silicagel sử dụng thiết bị ISCO (cột 40g, tốc độ dòng bằng 40mL/phút, 0-20% MeOH trong CH_2Cl_2 trong 25 phút, $t_r = 12, 16$ phút) để thu được hợp chất mong muốn (79mg, 0,253mmol, hiệu suất = 58%) dưới dạng phần cặn không màu và chất đồng phân vị trí (21mg, 0,067mmol, hiệu suất = 15,41%) dưới dạng phần cặn không màu. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 314,3$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,75 phút. Điều kiện HPLC: Phương pháp A.

Hợp chất trung gian 250C. ethyl 2-(4-(3-methyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)xylohexyl)propanoat



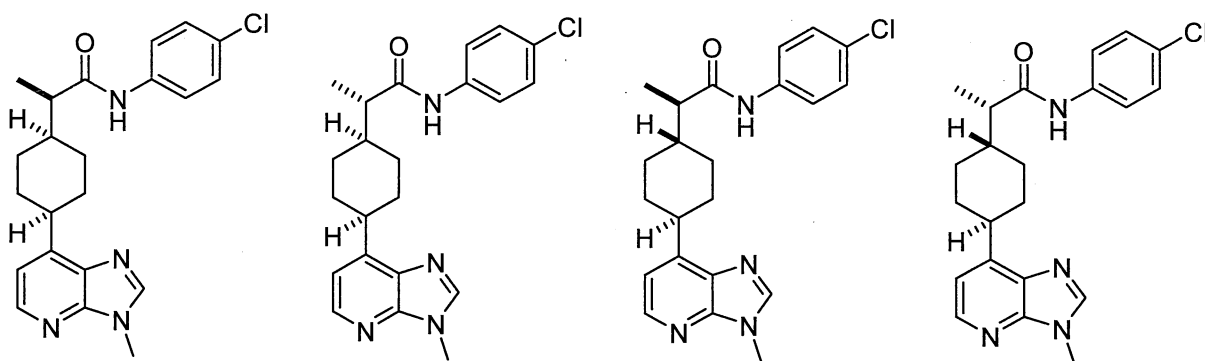
Bổ sung amoni format (0,080g, 1,264mmol) vào dung dịch chứa Hợp chất trung gian 250B (0,0792g, 0,253mmol) trong MeOH (1,264mL), sau đó bổ sung Pd/C (7,26mg, 0,068mmol). Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 1 giờ. Phản ứng được lọc qua đệm CELITE® và bánh lọc rửa bằng CH_2Cl_2 . Dịch lọc được cô. Hợp chất thô được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (2X). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc, và cô để thu được hợp chất mong muốn (59,7mg, 0,180mmol, hiệu suất = 71%) dưới dạng phần cặn màu xanh lá cây. ESI MS $(\text{M}+\text{H})^+ = 316,2$. Thời gian lưu píc HPLC = 0,72 phút. Điều kiện HPLC: Phương pháp A.

(+/-)-cis và trans-N-(4-clophenyl)-2-(4-(3-metyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)xylohexyl)propanamit

Bổ sung dung dịch chứa isopropylmagie clorua (0,379mL, 0,757mmol) vào dung dịch chứa 4-cloanilin (0,097g, 0,757mmol) trong THF (0,4mL) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 phút, sau đó hợp chất trung gian 250C (0,0597g, 0,189mmol) trong THF (0,6mL) được bổ sung nhỏ giọt vào. Phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C trong 2,5 giờ, sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng. Phản ứng được dừng bằng dung dịch nước amoni clorua bão hòa và pha loãng bằng EtOAc. Các lớp được phân tách. Pha nước được chiết bằng EtOAc (3X). Các pha hữu cơ thu gom được được làm khô bằng Na₂SO₄, lọc, và cô để thu được phần cần. Hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được hợp chất mong muốn dưới dạng hỗn hợp bốn chất đồng phân (26,6mg, 35%). ESI MS (M+H)⁺ = 397,3. Thời gian lưu píc HPLC = 1,775 phút và 1,793 phút. Độ tinh khiết = 99%. Điều kiện HPLC: Phương pháp B.

Ví dụ 251

N-(4-clophenyl)-2-(4-(3-metyl-3H-imidazo[4,5-b]pyridin-7-yl)xyclohexyl)propanamit, hóa lập thể tuyệt đối và hóa lập thể tương đối không được xác định



Hỗn hợp raxemic và đồng phân không đối quang theo ví dụ 250 (khoảng 25,4mg) được phân giải. Hỗn hợp đồng phân này được tinh chế bằng phương pháp SFC điều chế với các điều kiện sau: Cột: Chiral OZ-H, 25 x 3cm ID, hạt kích cỡ 5µm; pha động A: 82/18 CO₂/MeOH chứa 0,1% DEA; bước sóng phát hiện: 220nm; tốc độ dòng: 100mL/phút. Các phân đoạn (“píc-1” t_r = 11,910 phút, “píc-2” t_r = 15,648 phút, “píc-3” t_r

= 16,927 phút, “píc-4” t_r = 19,403; điều kiện phân tích: cột: Chiral OZ-H, 250 x 4,6mm ID, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 80/20 CO₂/MeOH chứa 0,1% DEA; tốc độ dòng: 2,0mL/phút) được thu nhận trong MeOH chứa 0,1% DEA. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang của mỗi phân đoạn được xác định là lớn hơn 99% dựa trên sắc ký đồ SFC điều chế. Mỗi chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế:

Hợp chất theo ví dụ 250a, chất đồng phân rửa giải thứ nhất: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm. Hợp chất này được tiếp tục tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 35-60% B trong 25 phút, sau đó duy trì trong 2 phút ở 60% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 1 (3,1mg, 4%). ESI MS (M+H)⁺ = 397,3. Thời gian lưu píc HPLC = 1,840 phút. Độ tinh khiết = 95%. Điều kiện HPLC: Phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 250b, chất đồng phân rửa giải thứ hai: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: Cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 2 (3,0mg, 4%). ESI MS (M+H)⁺ = 397,3. Thời gian lưu píc HPLC = 1,804 phút. Độ tinh khiết = 93%. Điều kiện HPLC: Phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 250c, chất đồng phân rửa giải thứ ba: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: cột: XBridge C18, 19 x

200Mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 3 (3,2mg, 4%). ESI MS (M+H)⁺ = 397,3. Thời gian lưu píc HPLC = 1,806 phút. Độ tinh khiết = 96%. Điều kiện HPLC: Phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Hợp chất theo ví dụ 250d, chất đồng phân rửa giải thứ tư: hợp chất thô được tinh chế bằng phương pháp LC/MS điều chế với các điều kiện sau: Cột: XBridge C18, 19 x 200Mm, hạt kích cỡ 5 μ m; pha động A: 5:95 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; pha động B: 95:5 axetonitril: nước chứa 10mM amoni axetat; gradien: 30-70% B trong 20 phút, sau đó duy trì 5 phút ở 100% B; tốc độ dòng: 20mL/phút. Các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn được kết hợp và làm khô bằng phương pháp bay hơi ly tâm để thu được chất đồng phân 4 (3,0mg, 4%). ESI MS (M+H)⁺ = 397,2. Thời gian lưu píc HPLC = 1,841 phút. Độ tinh khiết = 94%. Điều kiện HPLC: Phương pháp B. Hóa lập thể tuyệt đối không được xác định.

Ví dụ thử nghiệm sinh học

Ví dụ 251

Đánh giá hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza trong thử nghiệm tế bào HeLa

Tế bào HeLa (ATCC® CCL-2) do ATCC cung cấp được nuôi cấy trên môi trường Dulbecco Eagle cải tiến có bổ sung 4,5g/L glucoza, 4,5g/L L-glutamin và 4,5g/L natri pyruvat (#10-013-CV, Corning), 2mM L-alanyl-L-glutamin dipeptit (#35050-061, Gibco), 100U/mL penicilin, 100 μ g/mL streptomycin (#SV30010, Hyclone) và 10% huyết thanh bào than bò (#SH30071,03 Hyclone). Các tế bào được duy trì trong thiết bị nuôi cấy được điều chỉnh độ ẩm ở nhiệt độ 37°C trong 5% CO₂.

Hoạt tính ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza được đánh giá dưới dạng chức năng sản sinh kynurenin như sau: các tế bào HeLa được tạo mầm trong đĩa nuôi cấy 96 giếng ở mật độ bằng 5000 tế bào/giếng và để cân bằng qua đêm. Sau 24 giờ, môi trường được hút ra và thay bằng môi trường chứa IFN γ (#285-IF/CF, R&D Systems) ở nồng độ cuối cùng

bằng 25ng/mL. Dung dịch pha loãng liên tiếp chứa mỗi hợp chất thử nghiệm được bổ sung vào các tế bào ở tổng thể tích bằng 200 μ L môi trường nuôi cấy. Sau 48 giờ ủ nữa, 170 μ L dịch nổi được chuyển từ mỗi giếng sang đĩa 96 giếng mới. Axit tricloaxetic 6,1N (12,1 μ L, #T0699, Sigma-Aldrich) được bổ sung vào mỗi giếng và trộn, sau đó ủ ở nhiệt độ 65°C trong 20 phút để thủy phân N-formylkynurenin, sản phẩm của indolamin 2,3-dioxygenaza, thành kynurenin. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được ly tâm trong 10 phút ở tốc độ bằng 500xg để lắng kết tủa. 100 μ L dịch nổi được chuyển từ mỗi đĩa sang đĩa 96 giếng mới. 100 μ L p-dimethylaminobenzaldehyt 2% (khối lượng/thể tích) (#15647-7, Sigma-Aldrich) trong axit axetic (#A6283, Sigma-Aldrich) được bổ sung vào mỗi giếng được trộn và ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Nồng độ kynurenin được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 480nm và hiệu chuẩn theo đường chuẩn L-kynurenin (#K8625, Sigma-Aldrich) sử dụng thiết bị đọc vi đĩa SPECTRAMAX® M2e (Molecular Devices). Tỷ lệ phần trăm hoạt tính ở mỗi nồng độ ức chế được xác định và nồng độ IC₅₀ được xác định bằng cách sử dụng phương pháp hồi quy không tuyến tính.

Hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế được thể hiện trên Fig.1A-Fig.1P, trong đó hoạt lực được thể hiện như sau: (hoạt lực ức chế indolamin 2,3-dioxygenaza: IC₅₀: A < 0,1 μ M; B < 1 μ M; C < 10 μ M).

Ví dụ 252

Các tế bào 1HEK293 được chuyển nạp với vector biểu hiện của động vật có vú mang ADN bổ sung mã hóa IDO1 (NM 002164,2) bằng phương pháp xung điện. Các tế bào này được nuôi cấy trên môi trường DMEM có bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò chứa 1mg/mL G418 trong 2 tuần. Các dòng tế bào HEK293 biểu hiện ổn định protein IDO1 của người được chọn và sử dụng trong thử nghiệm ức chế IDO.

Các tế bào IDO1/HEK293 của người được tạo mầm ở mật độ bằng 10000 tế bào/50 μ L/giếng bằng môi trường không chứa RPMI/phenol đỏ chứa 10% FBS trong đĩa nuôi cấy mô 384 giếng thành đen đáy trong suốt (Matrix Technologies LLC), sau đó 100nL hợp chất ở nồng độ xác định được bổ sung vào mỗi giếng bằng cách sử dụng hệ thống xử lý chất lỏng ECHO. Các tế bào được ủ trong 20 giờ trong thiết bị nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂.

Các hợp chất được dùng xử lý bằng cách bổ sung axit tricloaxetic (Sigma-Aldrich) đến nồng độ cuối cùng bằng 0,2%. Đĩa tế bào này được tiếp tục ủ ở nhiệt độ 50°C trong

30 phút. Thể tích dịch nổi tương đương (20 μ L) và thuốc thử Ehrlich 0,2% (khối lượng/thể tích)(4-dimethylaminobenzaldehyt, Sigma-Aldrich) trong axit axetic băng được trộn trong đĩa 384 giếng đáy trong suốt mới. Sau đó, đĩa này được ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Độ hấp thụ ở bước sóng 490nm được đo bằng thiết bị đọc đĩa Envision.

Nồng độ IC₅₀ của các hợp chất được tính toán bằng cách sử dụng nồng độ của chuẩn đối chiếu bằng 500nM có tỷ lệ ức chế bằng 100%, và nồng độ của DMSO có tỷ lệ ức chế bằng 0%.

Hợp chất có nồng độ IC₅₀ lớn hơn 250nM được thể hiện bằng (C), hợp chất có nồng độ IC₅₀ nhỏ hơn 250nM được thể hiện bằng (B) và hợp chất có nồng độ IC₅₀ nhỏ hơn 50nM được thể hiện bằng (A) trong Bảng X.

Bảng X

Hoạt tính sinh học của các hợp chất thử nghiệm trong ví dụ 252.

Ví dụ	Hoạt tính ức chế HEK IDO-1 của người
58	A
59	C
60	A
61	A
62	B
63	A
64	B
65	A
66	A
67	A
68	A
69	C
70	A
71	A
72	A
73	B
73a	C
74	A
75	B
76	A
77	A
78	A
79	B
80	A
82	B
83	B
83a	C
83b	B
84	C
85	A
86	A

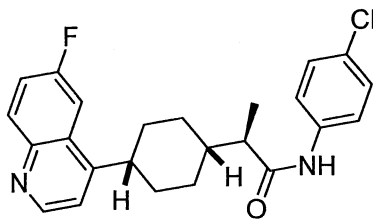
87a	A
87b	A
88	A
88a	A
88b	B
89	C
89a	B
89b	C
90	C
92	C
93	A
94	B
95	B
96	A
97	B
98	B
99	A
100	A
101	A
102	C
103	B
104	A
105	A
106	C
107	A
108	B
109	A
110	C
111	B
112	C
113	A
114	B
115	C
116	C
117	C
118	C
119	C
120	C
121	C
122	C
123	A
124	C
125	B
126	C
127	C
128	C
129	B
130	C
131	A
132	C
133	C
134	B
135	C
136	C

137	A
138	A
139	A
140	A
141	A
142	B
143	B
144a	A
144b	C
144c	B
144d	C
147	A
148a	C
148b	A
148c	A
148d	B
149	A
150a	A
150b	C
150c	C
150d	A
152a	A
152b	A
152c	B
152d	A
153	A
154	A
229	A
230	B
231	B
232	A
233	A
234	
235	
236	
237	
238	A
239	A
240	B
241	A
242	A
243	C
244	B
245	B
246	C
247	C
248	C
249	A
250	B
251a	A
251b	C
251c	A
251d	C

Các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm các phương án tốt nhất để thực hiện sáng chế. Dựa vào phần mô tả nêu trên, các biến thể của các phương án đã bộc lộ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể sử dụng các biến thể này khi cần. Do đó, sáng chế bao gồm toàn bộ các cải biến và phương án tương đương của đối tượng nêu trong bộ yêu cầu bảo hộ kèm theo. Hơn nữa, tổ hợp bất kỳ của các dấu hiệu nêu trên trong toàn bộ các biến thể có thể của chúng cũng nằm trong phạm vi của sáng chế, trừ khi có quy định khác. Toàn bộ các đơn công bố, đơn patent, mã đăng ký, và các tài liệu tham khảo khác được kết hợp vào kháng chế bằng cách viện dẫn.

YÊU CẦU BẢO HỘ

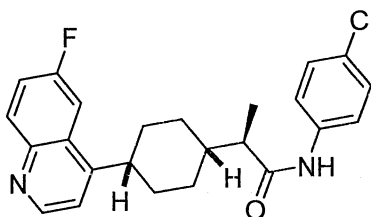
1. Hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



hoặc muối được dụng của nó.

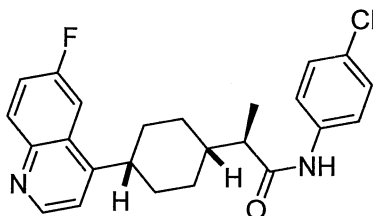
2. Hợp chất (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là muối được dụng của (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

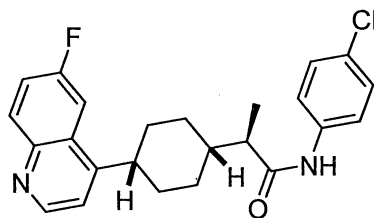
5. Dược phẩm chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



hoặc muối được dụng của nó, và tá được dụng.

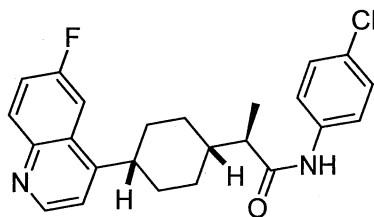
6. Dược phẩm chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối được dụng của nó, và tá được dụng.

7. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



8. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này chứa muối dược dụng của (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

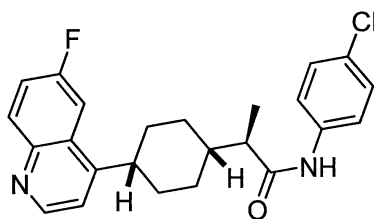
9. Chế phẩm kết hợp chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một dược chất bổ sung là dược chất hóa trị liệu, dược chất điều hòa miễn dịch và/hoặc dược chất điều hòa viêm, dược chất chống tăng cholesterol máu, dược chất chống nhiễm trùng hoặc dược chất kháng ung thư miễn dịch.

10. Chế phẩm kết hợp chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit hoặc chất đồng phân lập thể hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một dược chất bổ sung là dược chất hóa trị liệu, dược chất điều hòa miễn dịch và/hoặc dược chất điều hòa viêm, dược chất chống tăng cholesterol máu, dược chất chống nhiễm trùng hoặc dược chất kháng ung thư miễn dịch.

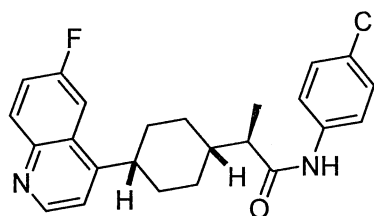
11. Chế phẩm kết hợp theo điểm 9, trong đó chế phẩm kết hợp này chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit



12. Chế phẩm kết hợp theo điểm 9, trong đó chế phẩm kết hợp này chứa muối dược dụng của (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit.

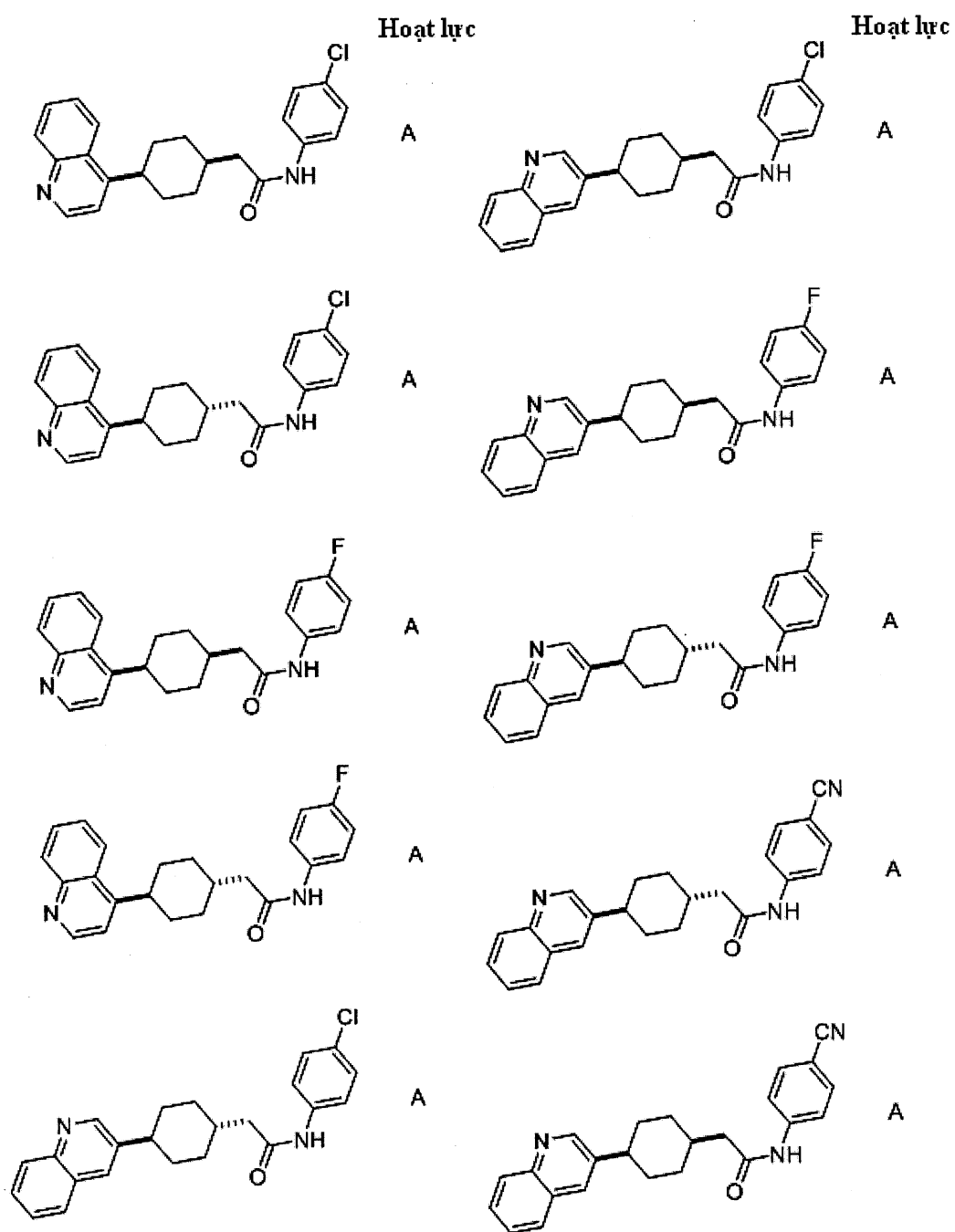
13. Chế phẩm kết hợp theo điểm 9, trong đó được chất bổ sung là được chất kháng ung thư miễn dịch.
14. Chế phẩm kết hợp theo điểm 13, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch được chọn từ chất đối kháng CTLA-4, chất đối kháng PD-1, chất đối kháng PD-L1, chất đối kháng LAG-3, chất chủ vận CD137, chất chủ vận GITR, chất chủ vận OX40, chất đối kháng OX40L, chất chủ vận hoặc chất đối kháng CD40, chất chủ vận CD27, chất đối kháng BTLA, chất đối kháng TIM-3, chất đối kháng A2aR, chất đối kháng thụ thể ức chế gây chết, hoặc kháng thể B7H3.
15. Chế phẩm kết hợp theo điểm 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng CTLA-4.
16. Chế phẩm kết hợp theo điểm 15, trong đó chất đối kháng CTLA-4 là ipilimumab.
17. Chế phẩm kết hợp theo điểm 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-1.
18. Chế phẩm kết hợp theo điểm 17, trong đó chất đối kháng PD-1 là nivolumab.
19. Chế phẩm kết hợp theo điểm 17, trong đó chất đối kháng PD-1 là pembrolizumab, MEDI-0680 hoặc pidilizumab.
20. Chế phẩm kết hợp theo điểm 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng PD-L1.
21. Chế phẩm kết hợp theo điểm 20, trong đó chất đối kháng PD-L1 là BMS-936559.
22. Chế phẩm kết hợp theo điểm 14, trong đó được chất kháng ung thư miễn dịch là chất đối kháng LAG-3.
23. Chế phẩm kết hợp theo điểm 22, trong đó chất đối kháng LAG-3 là BMS-986016.
24. Chế phẩm kết hợp theo điểm 9, trong đó được chất bổ sung là tremelimumab, MPDL3280A, durvalumab, MSB0010718C, IMP-731, IMP-321, urelumab, PF-05082566, BMS-986153, BMS-986156, TRX-518, MK-4166, MEDI-6383, MEDI-6469, RG-7888, lucatumumab, dacetuzumab, varlilumab, hoặc MGA271.
25. Chế phẩm kết hợp chứa (R)-N-(4-clophenyl)-2-(*cis*-4-(6-floquinolin-4-yl)xyclohexyl)propanamit

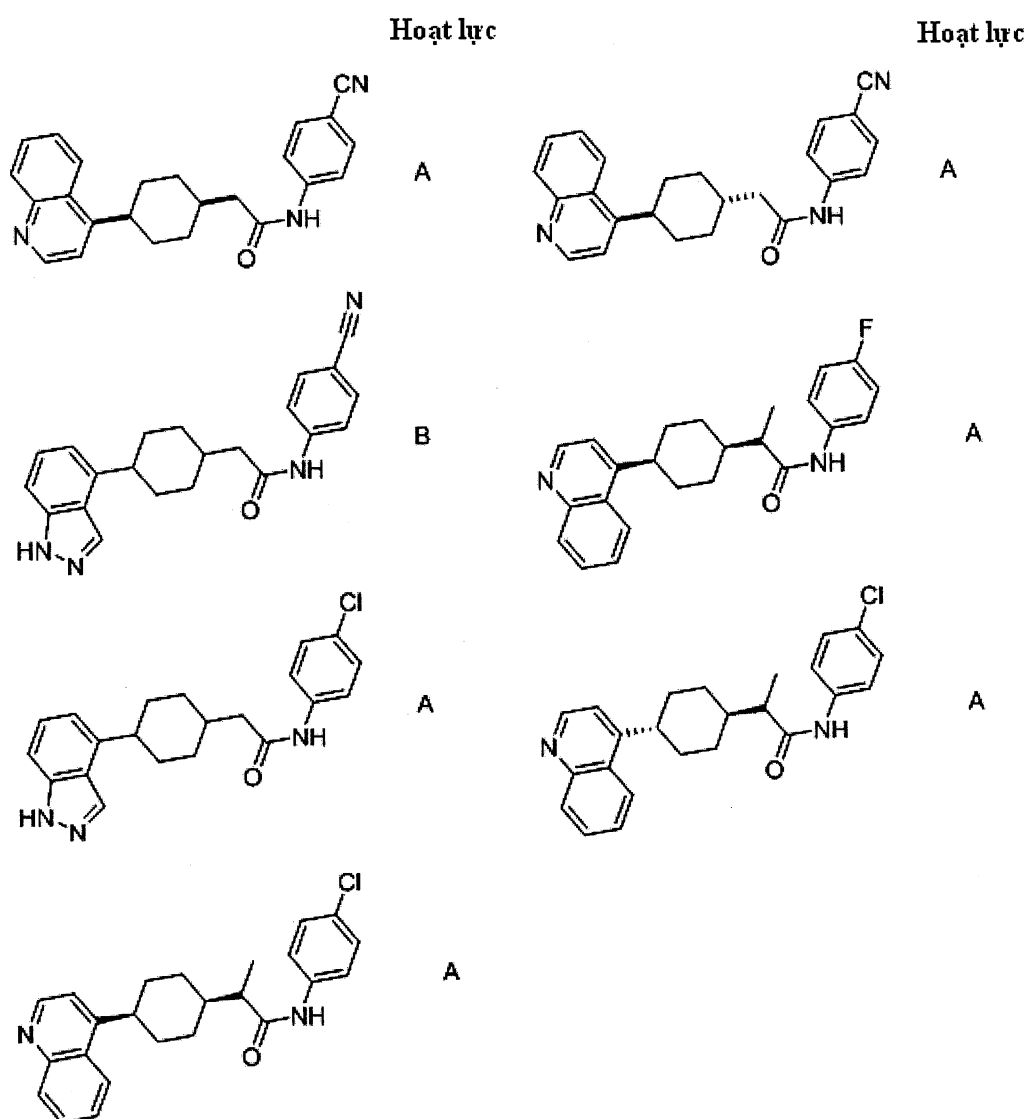
27075

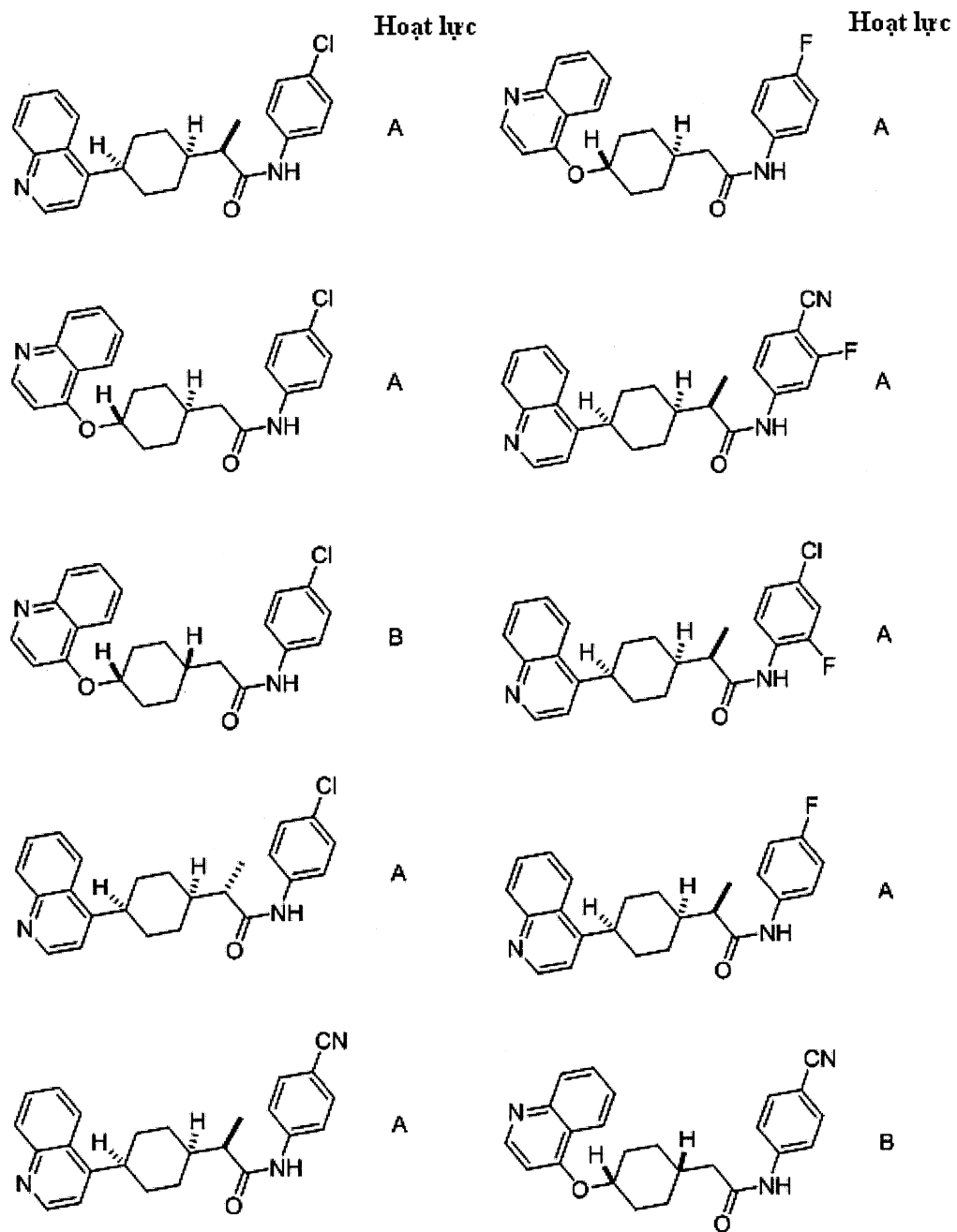


hoặc muối dược dụng của nó, và ít nhất một dược chất kháng ung thư miễn dịch và ít nhất một dược chất hóa trị liệu.

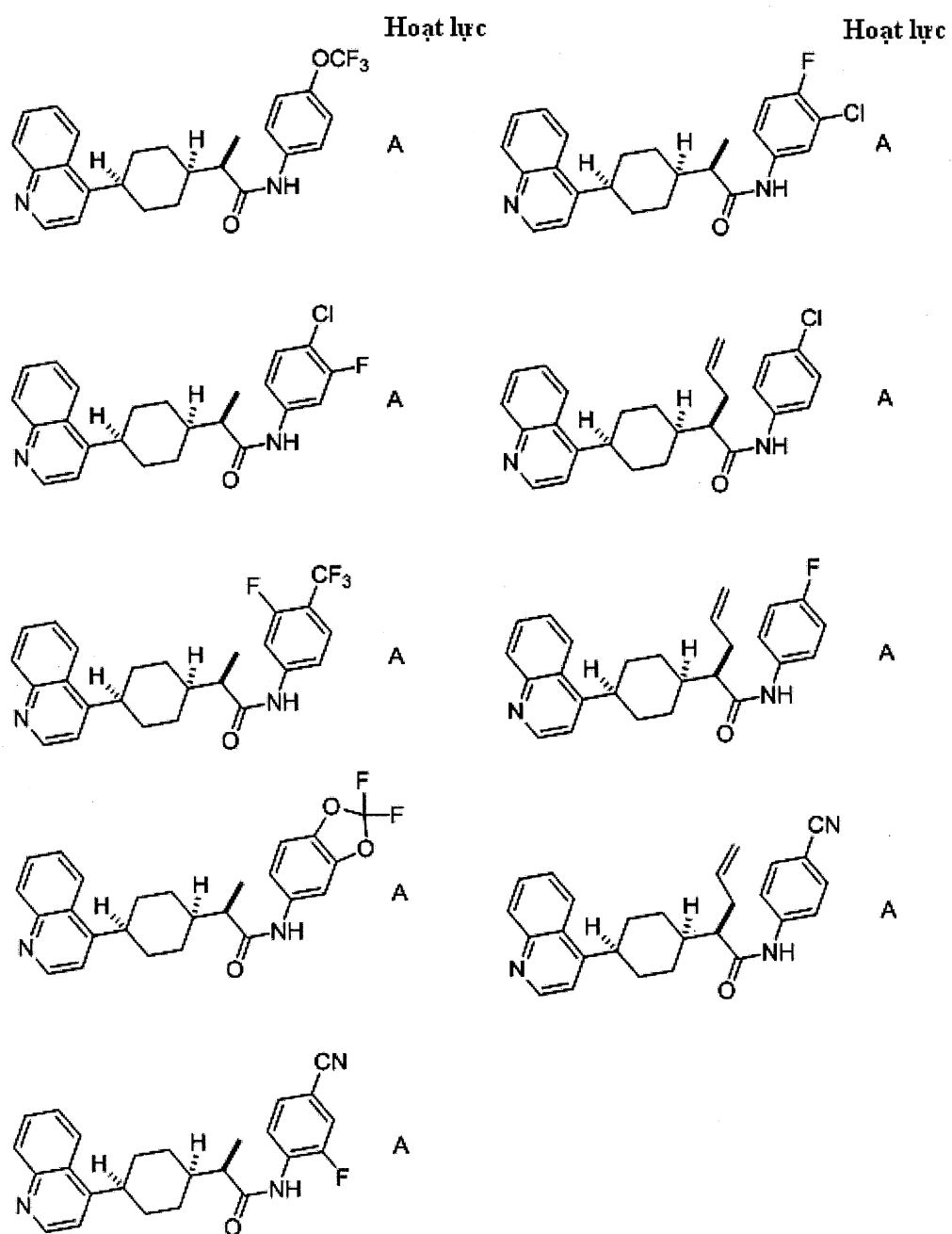
26. Chế phẩm kết hợp theo điểm 25, trong đó dược chất kháng ung thư miễn dịch là nivolumab.

**Fig.1A**

**Fig.1B**

**Fig.1C**



**Fig.1E**

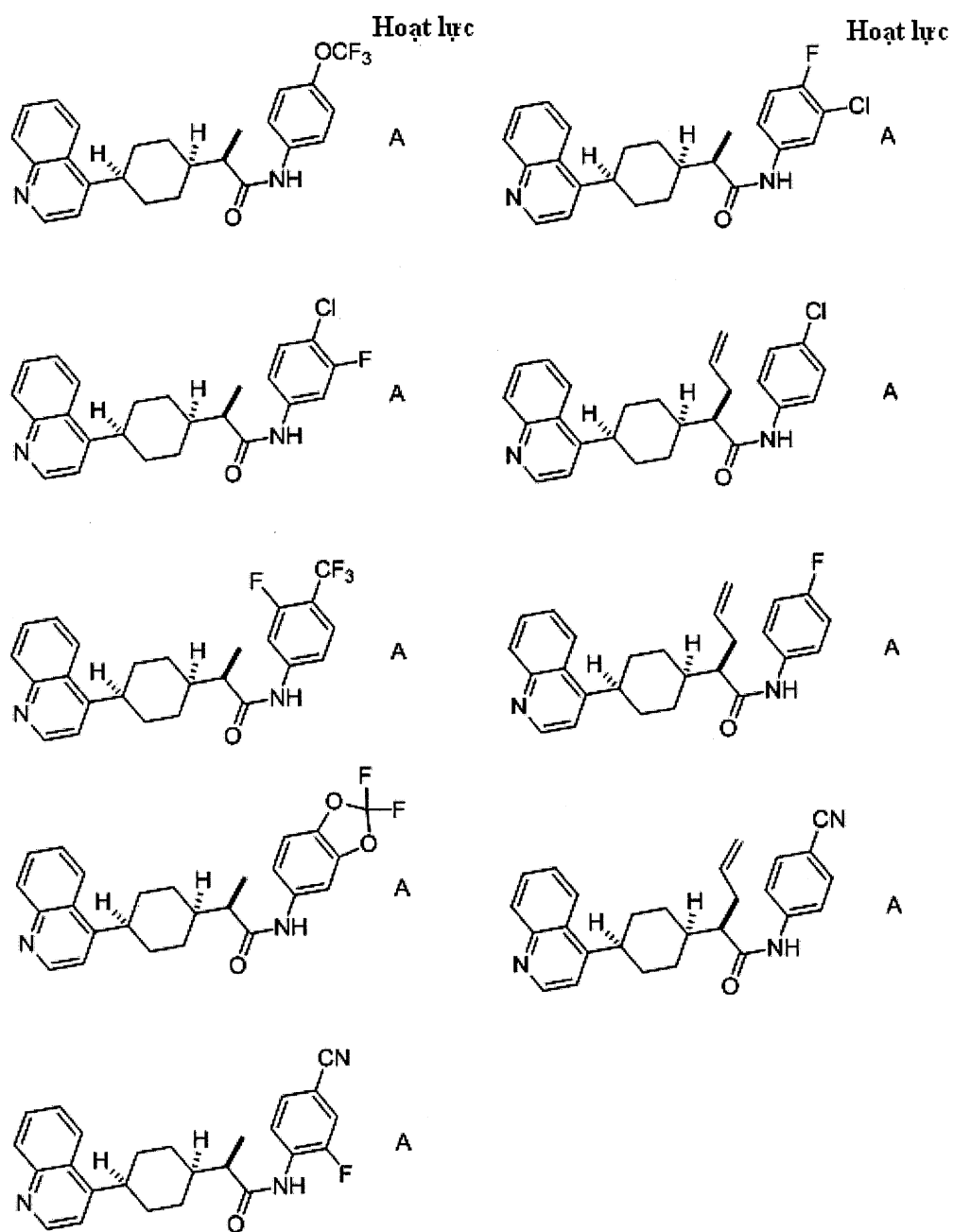
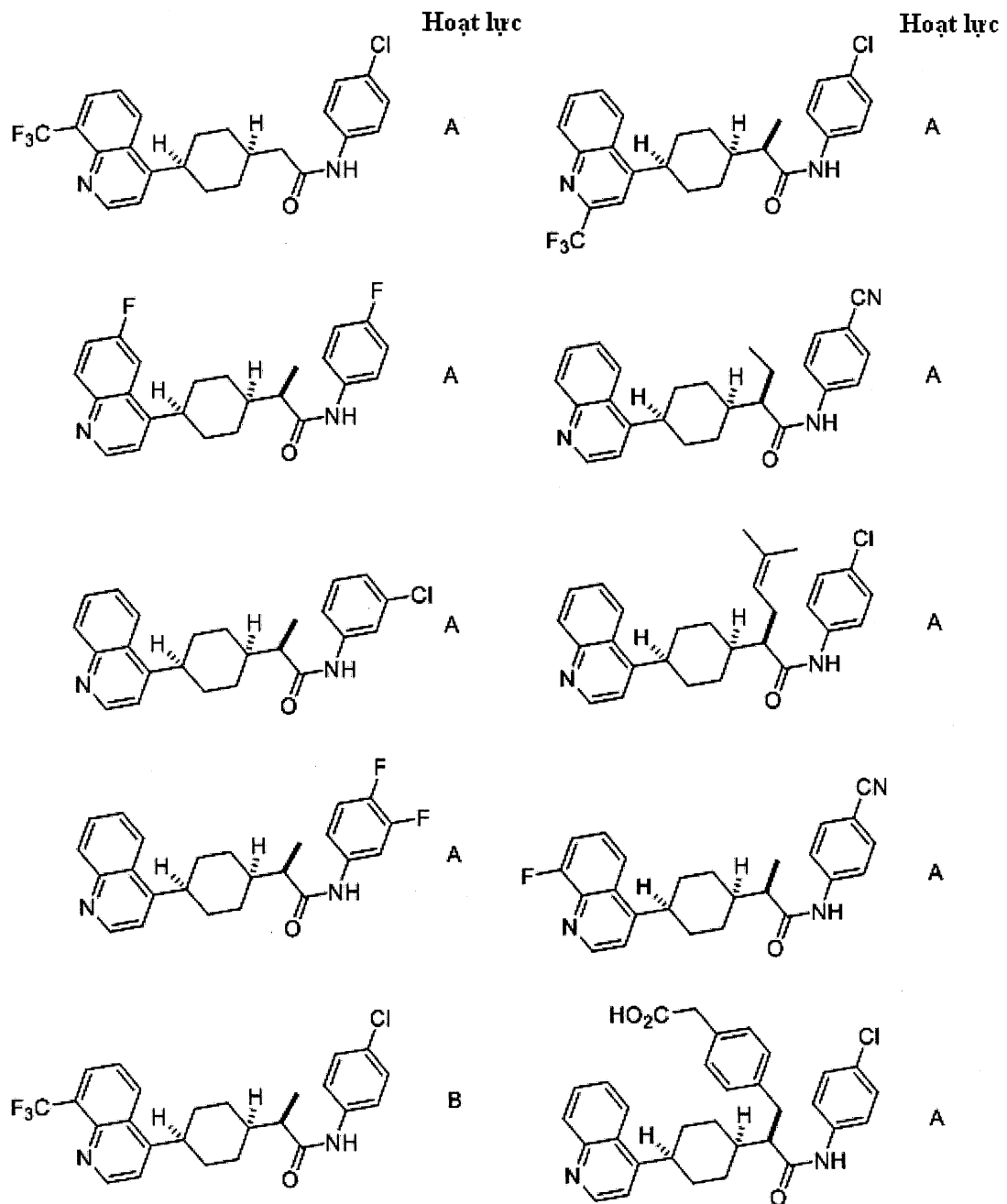
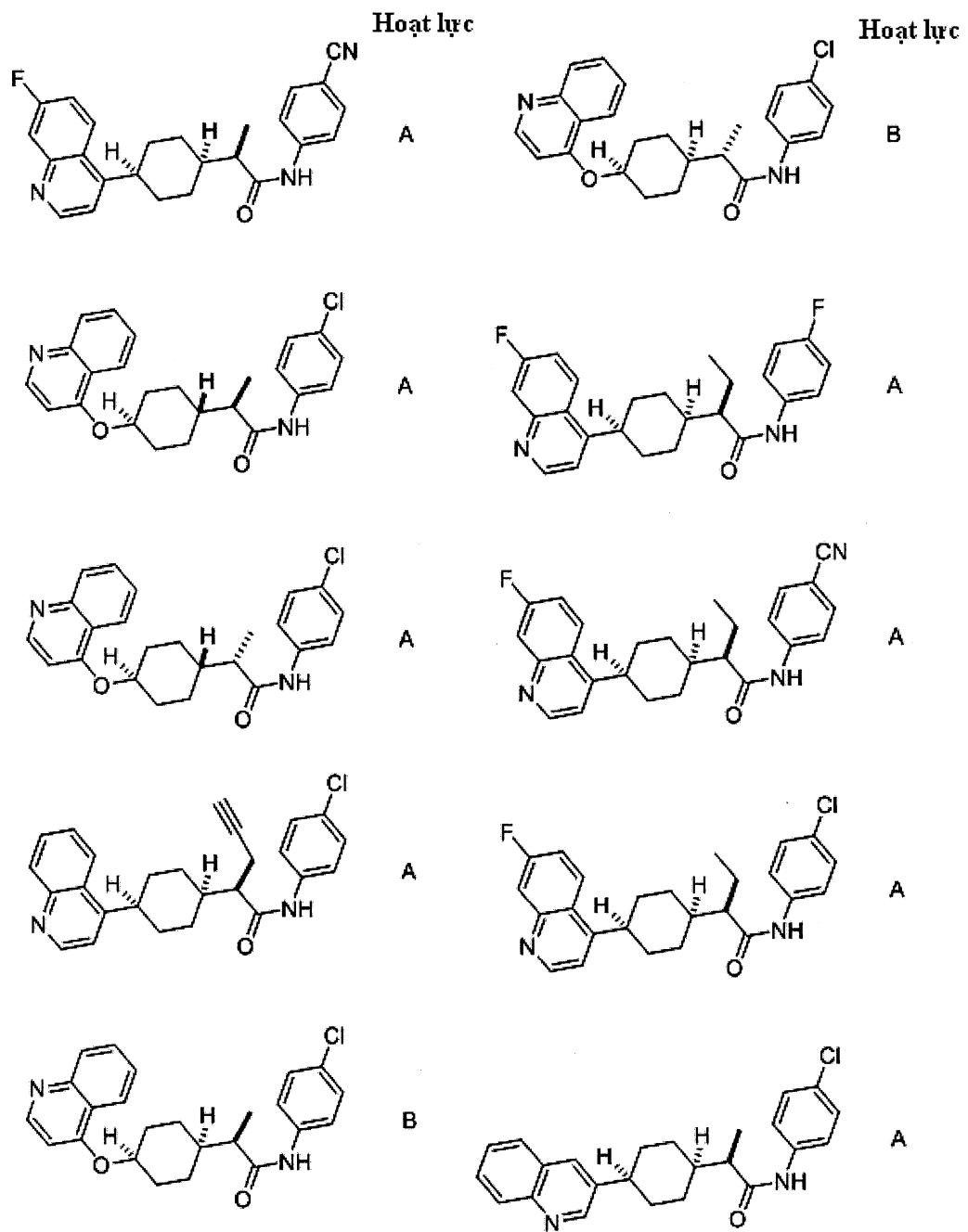


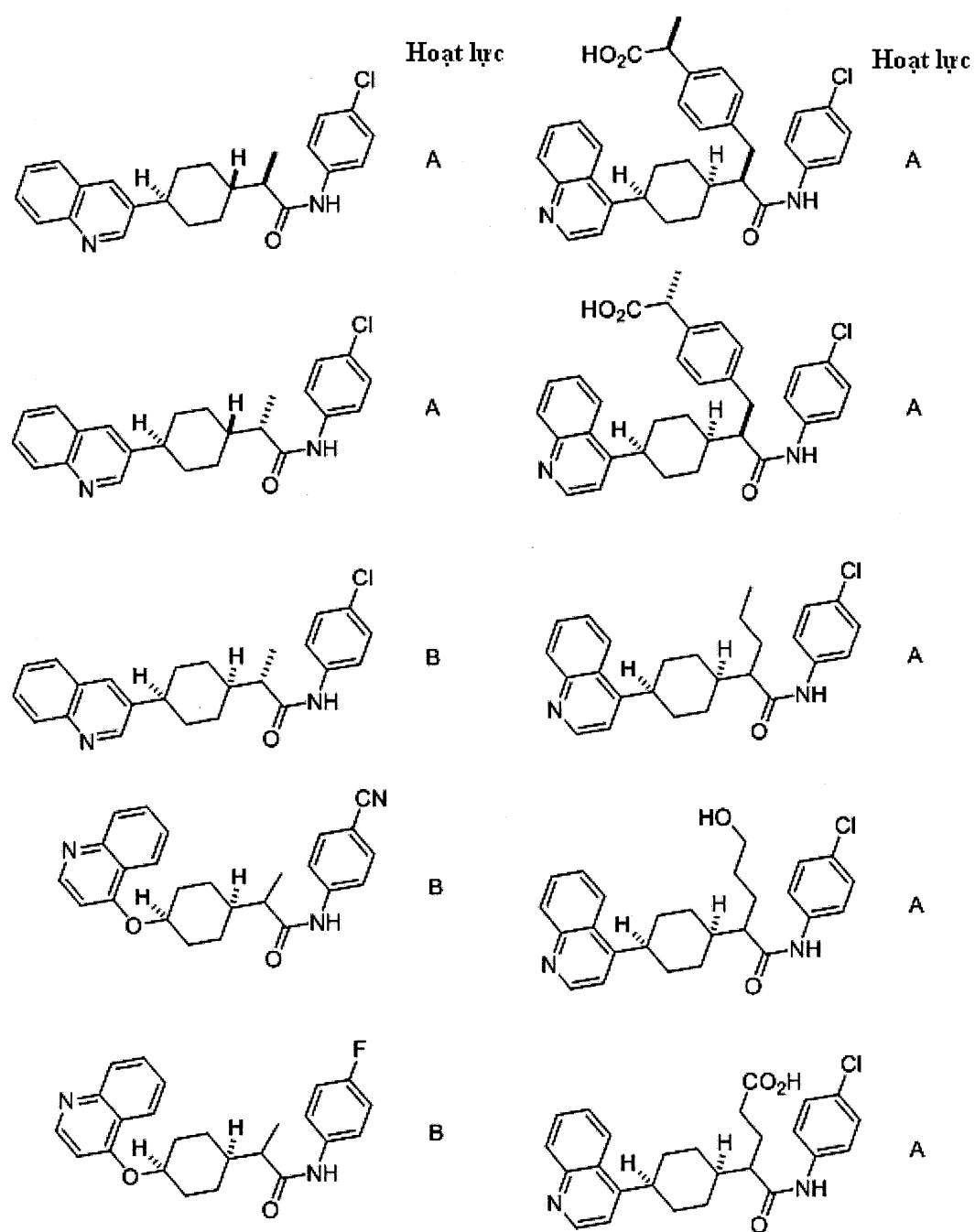
Fig.1F

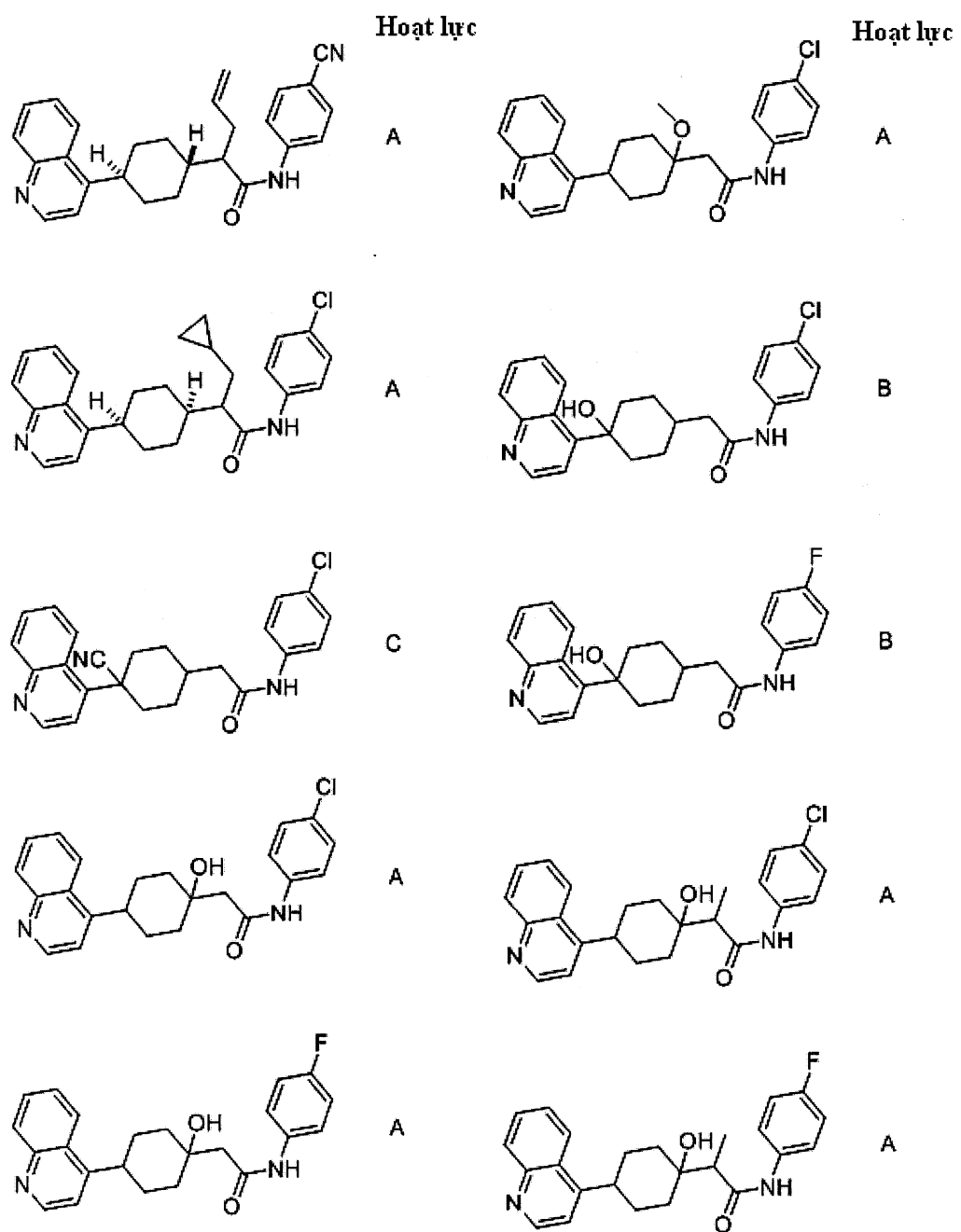
**Fig.1G**



8/15

**Fig.1I**

**Fig.1J**

**Fig.1K**

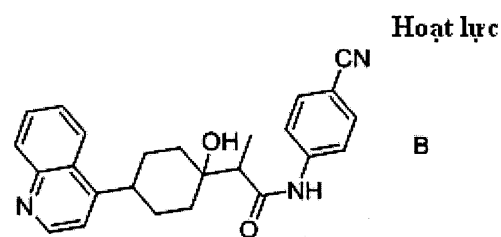


Fig.1L

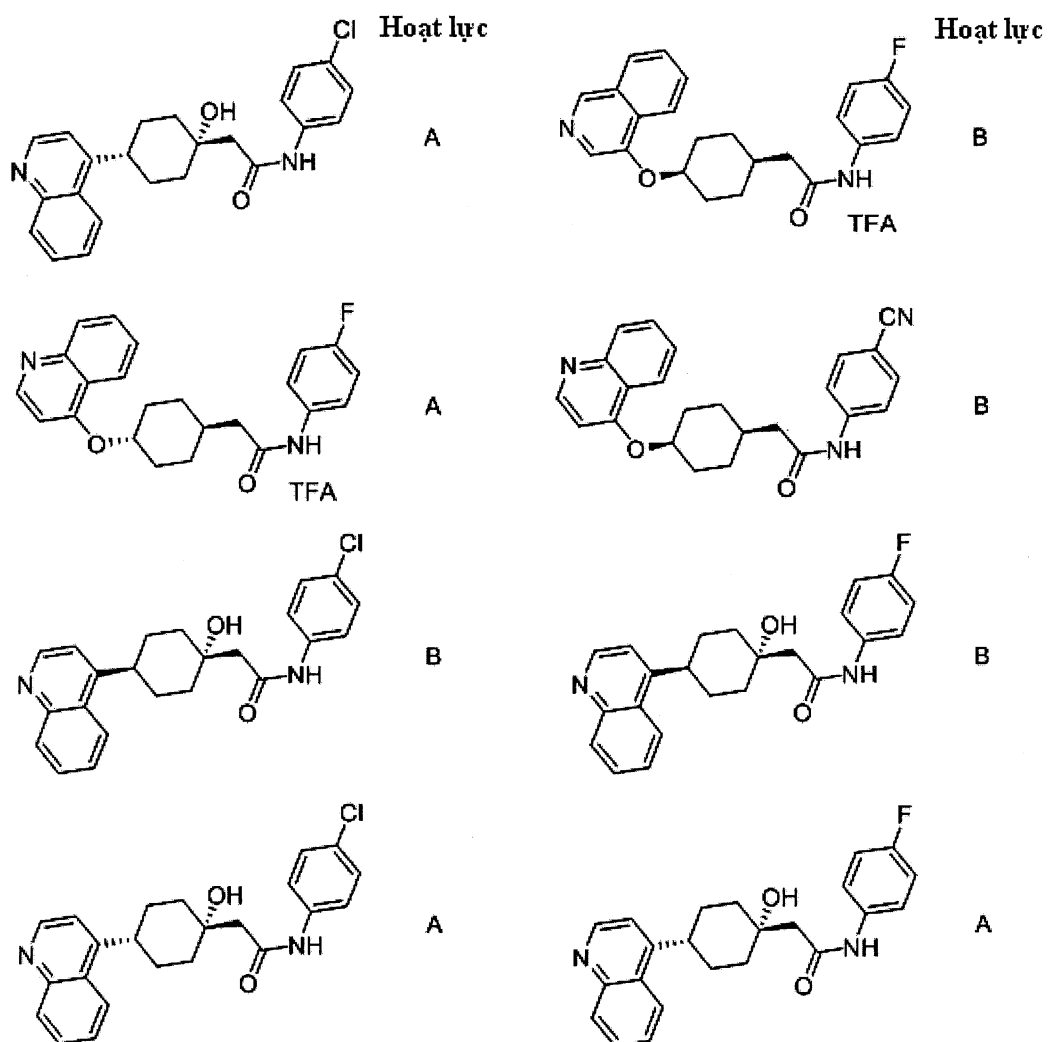


Fig.1M

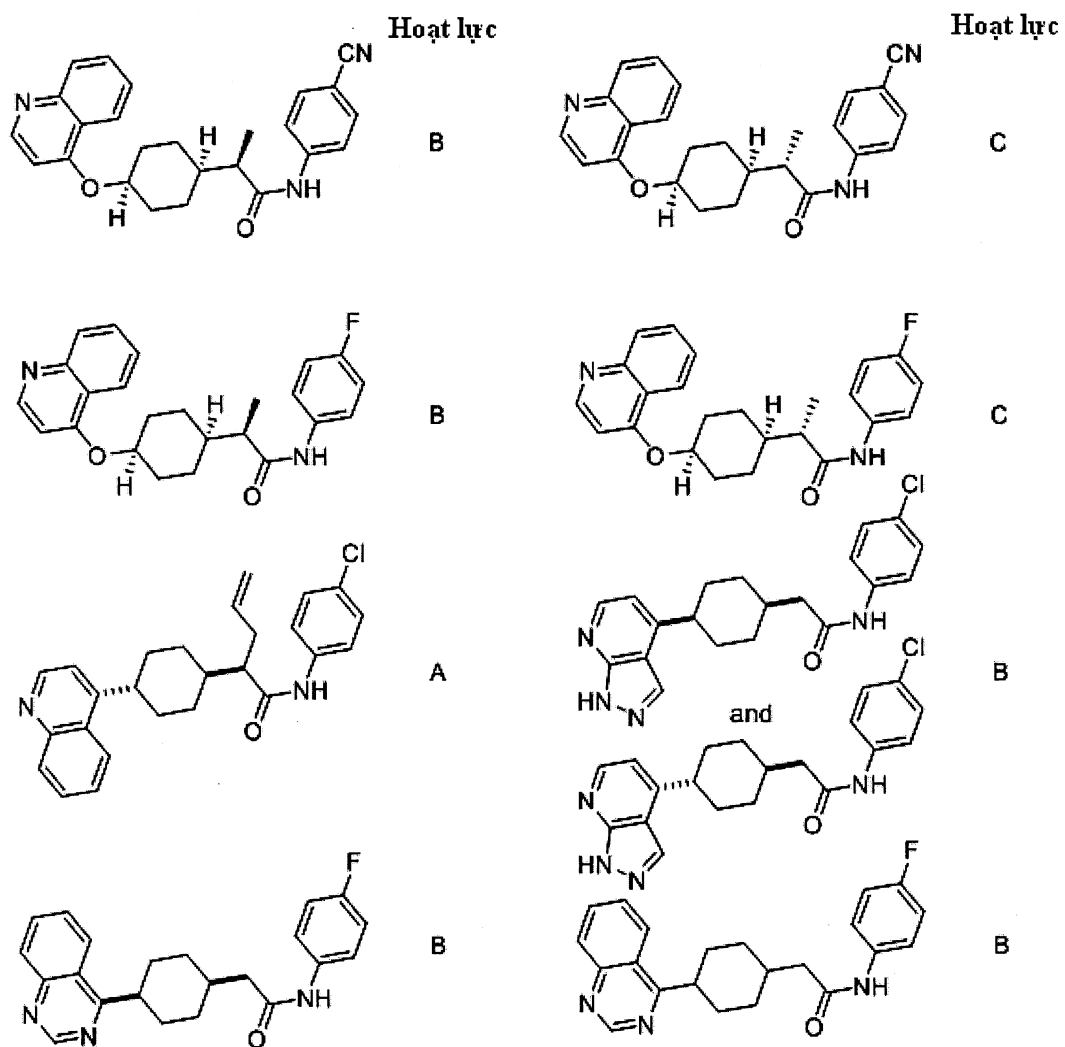
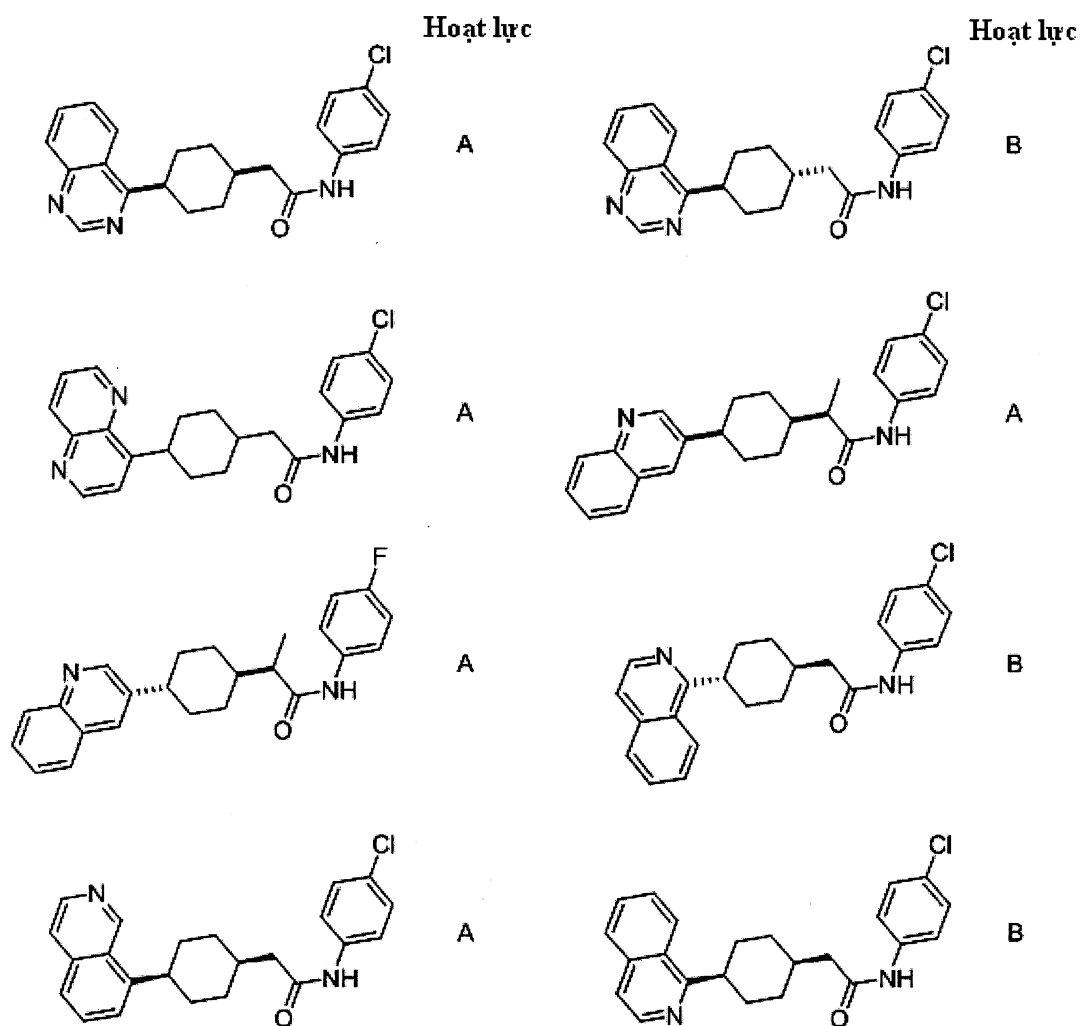
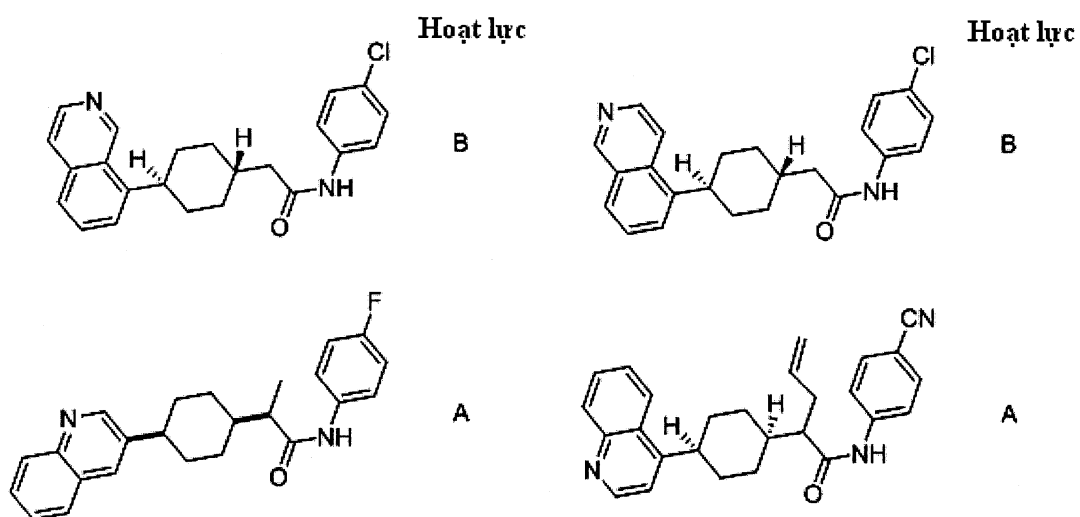


Fig.1N

**Fig.10**

**Fig.1P**