



(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)



1-0027339

(51)⁷ C07D 403/06; A61P 9/00; A61K
31/4196; A61P 13/00

(13) B

(21) 1-2017-01478

(22) 30/10/2015

(86) PCT/EP2015/075200 30/10/2015

(87) WO2016/071212 12/05/2016

(30) 14191491.1 03/11/2014 EP

(45) 25/02/2021 395

(43) 25/07/2017 352A

(73) BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

Müllerstrasse 178, 13353 Berlin, Germany

(72) SCHMECK, Carsten (DE); GERISCH, Michael (DE); GRIEBENOW, Nils (DE);

KOLKHOF, Peter (DE); KÖLLING, Florian (DE); ENGELN, Anna (DE);

KRETSCHMER, Axel (DE); LANG, Dieter (DE); LUSTIG, Klemens (DE);

MONDRITZKI, Thomas (DE); POOK, Elisabeth (DE); BECK, Hartmut (DE);

SÜSSMEIER, Frank (DE); VOLLMER, Sonja (DE); WASNAIRE, Pierre (DE).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT 5-(HYDROXYALKYL)-1-PHENYL-1,2,4-TRIAZOL, QUY TRÌNH
ĐIỀU CHẾ VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất 5-(hydroxyalkyl)-1-phenyl-1,2,4-triazol, quy trình điều chế hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, đặc biệt là để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh tim mạch và bệnh thận.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất 5-(hydroxyalkyl)-1-phenyl-1,2,4-triazol, quy trình điều chế các hợp chất này, và dược phẩm chứa các hợp chất này. Các hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, đặc biệt là để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh tim mạch và bệnh thận.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Lượng thể dịch trong cơ thể con người phụ thuộc vào các cơ chế kiểm soát sinh lý khác nhau, mục đích của các cơ chế này là để giữ lượng thể dịch trong cơ thể ổn định không thay đổi (cân bằng thể tích nội môi). Trong xử lý, cả việc làm đầy thể tích của hệ thống mạch máu và áp lực thẩm thấu máu của huyết tương được ghi lại liên tục bằng các cảm biến thích hợp (các thụ cảm áp lực và thụ cảm áp lực thẩm thấu). Thông tin mà các cảm biến này cung cấp đến các trung tâm thích hợp trong não bộ điều khiển hành vi uống và kiểm soát sự bài tiết dịch thông qua thận nhờ các tín hiệu dịch thể và thần kinh. Hocmon peptit vasopressin cực kỳ quan trọng trong quá trình này [Schrier R.W., Abraham W.T., *New Engl. J. Med.* 341, 577-585 (1999)].

Vasopressin được sản xuất ra trong các tế bào thần kinh nội tiết chuyên biệt ở nhân trên thị (*Nucleus supraopticus*) và nhân cạnh thất (*N. paraventricularis*) nằm ở vách của não thất ba (third ventricle) vùng dưới đồi (hypothalamus) và được vận chuyển từ đó dọc các gai thần kinh vào các thùy sau của tuyến yên (neurohypophysis). Ở đó, hocmon được giải phóng vào trong dòng máu đáp ứng lại kích thích. Mất khối lượng tuần hoàn, ví dụ do hậu quả của mất máu cấp, ra nhiều mồ hôi, khát nước hoặc tiêu chảy kéo dài, là yếu tố kích thích để giải phóng tăng cường hocmon. Trái lại, sự tiết vasopressin bị ức chế bởi sự gia tăng về thể tích nội huyết quản, ví dụ do hậu quả của việc hấp thu nước tăng lên.

Vasopressin chủ yếu tác động thông qua việc gắn kết với ba thụ thể, chúng được phân thành các thụ thể V1a, V1b và V2 và các thụ thể này thuộc họ thụ thể bất cặp với protein G. Thụ thể V1a chủ yếu nằm ở các tế bào của hệ cơ trơn mạch máu. Việc hoạt hóa chúng dẫn tới sự gia tăng co mạch máu, hậu quả là sức cản ngoại vi và

huyết áp tăng lên. Ngoài vị trí nêu trên, thụ thể V1a cũng được phát hiện ở trong gan. Thụ thể V1b (còn được gọi là thụ thể V3) có thể được phát hiện ở hệ thần kinh trung ương. Cùng với hocmon giải phóng corticotropin (CRH), vasopressin điều hòa sự bài tiết cơ bản và bài tiết cảm ứng kích thích của hocmon hướng thượng thận (ACTH) thông qua thụ thể V1b. Thụ thể V2 nằm ở biểu mô ống lượn xa và biểu mô của các ống góp ở thận. Việc kích hoạt chúng dẫn đến nước có thể thấm qua các biểu mô này. Hiện tượng này là do sự kết hợp của các kênh vận chuyển nước (aquaporin) (các kênh nước chuyên biệt) ở màng đỉnh của các tế bào biểu mô.

Tầm quan trọng của vasopressin trong việc tái hấp thu nước từ nước tiểu ở thận trở nên rõ ràng từ hình ảnh lâm sàng của bệnh đái tháo nhạt, bệnh này được gây ra do thiếu hocmon, ví dụ do tổn thương tuyến yên. Bệnh nhân mà bị bệnh này bài tiết tới 20 lít nước tiểu trong 24 giờ nếu như họ không được dùng hocmon thay thế. Thể tích này tương đương với khoảng 10% lượng nước tiểu đầu. Do tầm quan trọng to lớn của nó trong tái hấp thu nước từ nước tiểu, nên vasopressin cũng được gọi theo nghĩa là hocmon chống bài niệu (antidiuretic hormone: ADH). Do đó, sự ức chế dược lý đối với hoạt động của vasopressin/ADH trên thụ thể V2 dẫn đến tăng bài tiết nước tiểu. Tuy nhiên, trái ngược với tác dụng của các thuốc lợi niệu khác (thiazide và các thuốc lợi niệu “quai”), các thuốc đối kháng thụ thể V2 gây ra tăng bài tiết nước, cơ bản không làm tăng bài tiết các chất điện giải. Điều này có nghĩa là, với các thuốc đối kháng V2, cân bằng thể tích nội môi có thể được phục hồi mà không ảnh hưởng đến cân bằng điện giải nội môi. Do đó, các thuốc có hoạt tính đối kháng V2 hình như đặc biệt thích hợp để điều trị tất cả các tình trạng bệnh mà chúng được kết hợp với sự quá tải nước trong cơ thể, mà không làm tăng các chất điện giải tương ứng song song.

Bất thường quan trọng về chất điện giải có thể đo được trong hóa lâm sàng là giảm natri huyết (nồng độ natri $<135\text{mmol/L}$); đây là sự bất thường quan trọng nhất về chất điện giải ở bệnh nhân nội trú, với tỷ lệ gặp khoảng 5% hoặc 250000 ca mỗi năm chỉ tính riêng ở Mỹ. Nếu như nồng độ natri trong huyết tương giảm xuống dưới 115mmol/L , tình trạng hôn mê và tử vong sẽ xảy ra. Tùy thuộc vào nguyên nhân ẩn dưới, cần phải phân biệt giữa giảm natri huyết thể tích máu giảm, thể tích máu bình thường và thể tích máu tăng. Các dạng tăng thể tích máu có tạo ra phù là rất quan trọng trên lâm sàng. Ví dụ điển hình về các dạng này đó là hội chứng tiết ADH/vaso-

pressin không thích hợp (SIADH) (ví dụ, sau chấn thương sọ não hoặc ở dạng rối loạn cận ung thư trong các bệnh ung thư) và giảm natri huyết tăng thể tích máu trong bệnh xơ gan, các bệnh thận khác nhau và trong suy tim [De Luca L. et al., *Am. J. Cardiol.* **96** (suppl.), 19L-23L (2005)]. Cụ thể, bệnh nhân bị suy tim, bất luận giảm natri huyết và tăng thể tích máu liên quan của họ thể nào, thường biểu hiện mức nồng độ vasopressin tăng cao, các mức này được xem là hậu quả của sự điều tiết thần kinh thể dịch rối loạn toàn thân trong suy tim [Francis G.S. et al., *Circulation* **82**, 1724-1729 (1990)].

Bản thân sự điều tiết thần kinh thể dịch rối loạn chủ yếu biểu hiện về tăng trương lực giao cảm và sự hoạt hóa hệ renin-angiotensin-aldosterone không thích hợp. Trong khi một mặt, việc ức chế các thành phần này bằng các chất chẹn thụ thể beta, và mặt khác, bằng các chất ức chế ACE hoặc chất chẹn thụ thể angiotensin hiện nay là một phần cố hữu của việc điều trị suy tim bằng dược phẩm, sự gia tăng bài tiết vasopressin không thích hợp trong suy tim tiến triển hiện tại vẫn không thể được điều trị một cách tương xứng. Ngoài việc giữ nước được trung gian bởi thụ thể V2 và các hậu quả huyết động học không thuận lợi kết hợp với quá trình này liên quan đến sự tăng hậu tải, sự tổng xuất của thất trái, áp lực trong các mạch máu phổi và cung lượng tim cũng chịu tác động bất lợi bởi sự co mạch máu trung gian bởi V1a. Ngoài ra, trên cơ sở dữ liệu thử nghiệm trên động vật, sự tác động thúc đẩy phì đại trực tiếp trên cơ tim cũng là do vasopressin. Trái với tác dụng ở thận của sự gia tăng thể tích, quá trình này được trung gian bởi sự hoạt hóa của thụ thể V2, sự tác động trực tiếp lên cơ tim được khởi phát bởi sự hoạt hóa của thụ thể V1a.

Vì những lý do này, các thuốc mà ức chế sự tác động của vasopressin lên thụ thể V2 và/hoặc V1a có vẻ thích hợp để điều trị suy tim. Cụ thể, các hợp chất có hoạt tính kết hợp trên cả hai thụ thể vasopressin (V1a và V2) cần phải có cả tác dụng trên thận cũng như tác dụng huyết động học mong muốn và do đó, mang đến một phương thức đặc biệt lý tưởng để điều trị cho bệnh nhân bị suy tim. Việc cung cấp các thuốc đối kháng vasopressin kết hợp như vậy cũng có vẻ hợp lý cũng như sự giảm thể tích chỉ được trung gian thông qua việc phong bế thụ thể V2 có thể gây ra sự kích thích các thụ cảm áp lực thẩm thấu và kết quả, có thể dẫn đến gia tăng bù về sự giải phóng vasopressin. Thông qua quá trình này, khi không có mặt thành phần đồng thời phong bế thụ

thể V1a, các tác dụng gây hại của vasopressin, ví dụ như co mạch máu và phì đại cơ tim, có thể được tăng cường hơn nữa [Saghi P. et al., *Europ. Heart J.* 26, 538-543 (2005)].

Một số dẫn xuất 4-phenyl-1,2,4-triazol-3-yl đã được mô tả trong tài liệu WO 2005/063754-A1 và WO 2005/105779-A1 tác động ở dạng các chất đối kháng thụ thể vasopressin V1a hữu dụng để điều trị các rối loạn phụ khoa, nhất là các rối loạn kinh nguyệt như chứng đau kinh.

Trong tài liệu WO 2011/104322-A1, một nhóm cụ thể trong số các nhóm 1,2,4-triazol-3-on liên kết với bis-aryl, bao gồm cả các dẫn xuất 5-phenyl-1,2,4-triazol-3-yl và 1-phenyl-1,2,3-triazol-4-yl của nó, đã được bộc lộ làm các chất đối kháng của vasopressin V1a và/hoặc thụ thể V2 hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh tim mạch. Tuy nhiên, trong quá trình khảo sát thêm về loại cấu trúc này, thấy rằng, các hợp chất ứng cử viên thường bị tổn hại bởi hiệu lực bài tiết nước nhưng không làm mất điện giải không thỏa mãn khi được đánh giá *in vivo* sau khi dùng theo đường uống cho chuột tỉnh táo. Tuy nhiên, như đã nêu ở trên, hiệu quả bài tiết nước nhưng không làm mất điện giải mạnh là điều kiện tiên quyết mong muốn để điều trị các tình trạng bệnh mà được kết hợp với sự quá tải nước trong cơ thể, ví dụ như trong suy tim xung huyết.

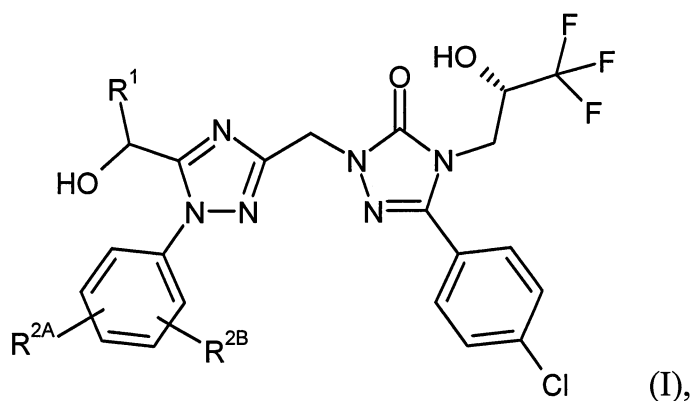
Sự gia tăng đáng kể về hiệu quả bài tiết nước nhưng không làm mất điện giải cũng sẽ giúp làm giảm lượng chất cần thiết để đạt được và duy trì tác dụng trị liệu mong muốn, do đó làm hạn chế tiềm tàng về các tác dụng phụ không thể chấp nhận được và/hoặc các tương tác thuốc - thuốc không mong muốn trong quá trình điều trị cho bệnh nhân mà những bệnh nhân này có thể đã có nguy cơ cao, ví dụ như bị suy tim hoặc suy thận cấp tính hoặc mãn tính.

Do đó, các vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết theo sáng chế có thể được thực hiện bằng cách nhận diện và đề cập đến các hợp chất mới mà chúng tác động ở dạng các chất đối kháng mạnh của cả hai thụ thể vasopressin V1a và V2 và ngoài ra, các hợp chất nêu trên còn làm gia tăng đáng kể về hiệu quả bài tiết nước nhưng không làm mất điện giải *in vivo*.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Bất ngờ là, đã phát hiện ra rằng, một số dẫn xuất 5-(hydroxyalkyl)-1-phenyl-1,2,4-triazol là các chất đối kháng kép hiệu lực cao của các thụ thể vasopressin V1a và V2 thể hiện hiệu lực bài tiết nước tăng cao đáng kể nhưng không làm mất điện giải *in vivo* sau khi dùng theo đường uống. Đặc tính hoạt tính cải thiện này khiến cho các hợp chất theo sáng chế đặc biệt hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh tim mạch và bệnh thận.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các dẫn xuất 5-(hydroxyalkyl)-1-phenyl-1,2,4-triazol có công thức chung (I):



trong đó:

R^1 là hydro hoặc metyl,

và

R^{2A} và R^{2B} được chọn độc lập từ nhóm bao gồm hydro, flo, clo, xyano, metyl, flo-metyl, diflometyl, triflometyl, etyl, metoxy, diflometoxy và triflometoxy.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế này cũng có thể có mặt ở dạng các muối, solvat và/hoặc solvat của các muối của các hợp chất này.

Hợp chất theo sáng chế là hợp chất có công thức (I) và các muối, solvat và solvat của các muối này, các hợp chất được bao gồm trong công thức (I) của các công thức được nêu trong phần sau và các muối, solvat và solvat của các muối này, và các hợp chất được bao gồm trong công thức (I) và được nêu trong phần sau ở dạng các sản phẩm quy trình và/hoặc các phương án ví dụ và các muối, solvat và solvat của các

muối này, trong đó các hợp chất được bao gồm trong công thức (I) và được nêu trong phần sau không phải là các muối, solvat và solvat của các muối này.

Các muối theo mục đích của sáng chế tốt hơn là muối được dụng của hợp chất theo sáng chế (ví dụ, xem trong S. M. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19). Các muối mà bản thân chúng không thích hợp trong các sử dụng được, nhưng có thể được sử dụng, ví dụ, để tách, tinh chế hoặc bảo quản các hợp chất theo sáng chế cũng được bao gồm.

Các muối được dụng bao gồm các muối cộng axit của các axit vô cơ, các axit cacboxylic và axit sulfonic, ví dụ các muối của axit clohydric, axit bromhydric, axit sulfuric, axit phosphoric, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit benzensulfonic, axit toluensulfonic, axit naphtalendisulfonic, axit formic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit propionic, axit lactic, axit tartaric, axit malic, axit xcitric, axit fumaric, axit maleic và axit benzoic.

Các muối được dụng cũng bao gồm các muối của các bazơ thông thường, ví dụ như các muối kim loại kiềm (ví dụ các muối natri và kali), các muối kim loại kiềm thổ (ví dụ các muối canxi và magie), và các muối amoni được dẫn xuất từ amoniac hoặc các amin hữu cơ, như theo cách minh họa và tốt hơn là etylamin, dietylamín, trietylamin, N,N-diisopropyletylamin, monoetanolamin, dietanolamin, trietanolamin, dimetylaminoetanol, dietylaminoetanol, procain, dixyclohexylamin, dibenzylamin, N-metylmorpholin, N-metylpiperidin, arginin, lysin, và 1,2-etylendiamin.

Các solvat trong bối cảnh theo sáng chế được chỉ định là các dạng của hợp chất theo sáng chế mà dạng này tạo ra phức hợp ở trạng thái rắn hoặc lỏng bằng cách phối trí hợp thức với các phân tử dung môi. Các hydrat là dạng đặc biệt của solvat, trong đó sự phối trí xảy ra với nước. Các hydrat là các solvat được ưu tiên theo sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế này có thể, theo bản chất của các tâm không đối xứng hoặc bằng cách quay giới hạn, có mặt ở dạng các chất đồng phân (các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang). Chất đồng phân bất kỳ có thể có mặt, trong đó tâm không đối xứng là các cấu hình (R)-, (S)-, hoặc (R,S).

Cũng được hiểu rằng, khi hai hoặc nhiều tâm không đối xứng có mặt trong các hợp chất theo sáng chế, một số chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân đối ảnh có các cấu trúc minh họa thường sẽ có thể và các chất đồng phân không đối quang tinh khiết và các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết là các phương án ưu tiên. Dự định rằng, các chất đồng phân lập thể tinh khiết, các chất đồng phân không đối quang tinh khiết, các chất đồng phân đối ảnh tinh khiết, và các hỗn hợp của chúng, đều nằm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Tất cả các chất đồng phân, được tách, tinh khiết, tinh khiết một phần hoặc ở dạng hỗn hợp triệt quang, của các hợp chất theo sáng chế này đều được bao gồm trong phạm vi bảo hộ của sáng chế này. Việc tinh chế các chất đồng phân nêu trên và tách các hỗn hợp đồng phân nêu trên có thể được hoàn thành bằng các kỹ thuật chuẩn đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ, các hỗn hợp đồng phân không đối quang có thể được tách thành các chất đồng phân riêng biệt bằng các quy trình sắc ký hoặc kết tinh, và các chất triệt quang có thể được tách thành các chất đồng phân đối ảnh tương ứng bằng các quy trình sắc ký trên các pha không đối xứng hoặc bằng cách tách phân giải.

Ngoài ra, tất cả các các dạng hổ biến của các hợp chất mô tả ở trên được bao gồm theo sáng chế.

Sáng chế cũng bao hàm tất cả các biến thể đồng vị có thể của hợp chất theo sáng chế. Biến thể đồng vị của hợp chất theo sáng chế được hiểu có nghĩa là một hợp chất, trong đó ít nhất một nguyên tử nằm trong hợp chất theo sáng chế đã được trao đổi bằng nguyên tử khác có cùng số nguyên tử, nhưng có khối lượng nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử mà thường thấy hoặc chủ yếu xuất hiện trong tự nhiên. Ví dụ về các chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào hợp chất theo sáng chế là các chất đồng vị hydro, cacbon, nitơ, oxy, flo, clo, brom và iot, như ^2H (đơteri), ^3H (triti), ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{129}I và ^{131}I . Các biến thể đồng vị cụ thể của hợp chất theo sáng chế, nhất là các biến thể trong đó một hoặc nhiều chất đồng vị phóng xạ đã được kết hợp, có thể có lợi, ví dụ, để kiểm tra cơ chế hoạt động hoặc kiểm tra sự phân bố hoạt chất trong cơ thể. Do khả năng điều chế hoặc khả năng phát hiện tương đối dễ dàng, nhất là các hợp chất được đánh dấu bằng các chất đồng vị ^3H , ^{14}C và/hoặc ^{18}F là thích hợp cho mục đích này. Ngoài ra, việc kết hợp các chất đồng vị, ví dụ

đoteri, có thể đưa đến các lợi ích điều trị cụ thể là kết quả của tính ổn định chuyển hóa cao hơn của hợp chất, ví dụ kéo dài thời gian bán hủy trong cơ thể hoặc giảm liều lượng hoạt tính cần thiết. Do đó, trong một số trường hợp, những sự cải biến như vậy của các hợp chất theo sáng chế cũng có thể cấu thành một phương án ưu tiên của sáng chế. Các biến thể đồng vị của hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng các quy trình đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực, ví dụ bằng các phương pháp được mô tả dưới đây và các phương pháp được mô tả trong phần ví dụ thực hiện sáng chế, bằng cách sử dụng những sự cải biến đồng vị tương ứng của các tác nhân phản ứng cụ thể và/hoặc các hợp chất khởi đầu trong các phương pháp này.

Theo một phương án riêng biệt, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I), trong đó R^1 là metyl.

Theo phương án riêng biệt khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I), trong đó ít nhất một trong số R^{2A} và R^{2B} không phải là hydro.

Theo một phương án riêng biệt khác, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I), trong đó:

R^1 là hydro hoặc metyl,

và

R^{2A} và R^{2B} được chọn độc lập từ nhóm bao gồm hydro, flo, clo, metyl và metoxy, trong đó ít nhất một trong số R^{2A} và R^{2B} không phải hydro.

Theo một phương án ưu tiên, sáng chế đề cập đến các hợp chất theo công thức (I) được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất sau:

5-(4-clophenyl)-2-{{[1-(3-clophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-{{[1-(3-flophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-{{[5-(hydroxymetyl)-1-(2-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

2-({1-(2-clo-4-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

2-{{1-(2-clo-4-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 1);

2-{{1-(2-clo-4-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 2);

2-({1-(2-clo-5-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

2-{{1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 1);

2-{{1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 2);

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1R)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1S)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1R)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

và

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.

Theo phương án đặc biệt ưu tiên, sáng chế đề cập đến các hợp chất theo công thức (I) được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất sau:

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

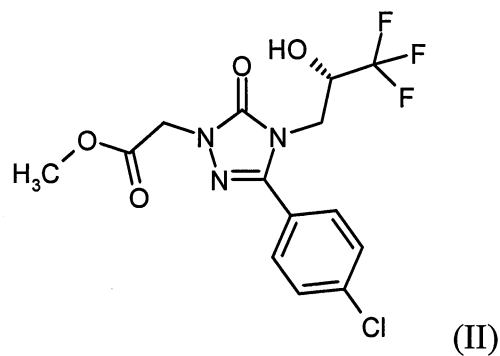
5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

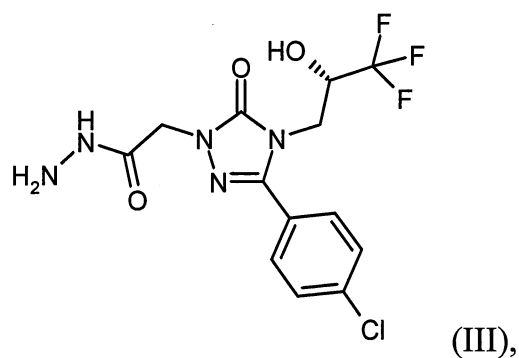
và

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.

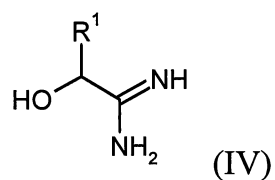
Theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất có công thức chung (I), khác biệt ở chỗ, hợp chất có công thức (II):



trước tiên được phản ứng với hydrazin để tạo ra hydrazit có công thức (III):



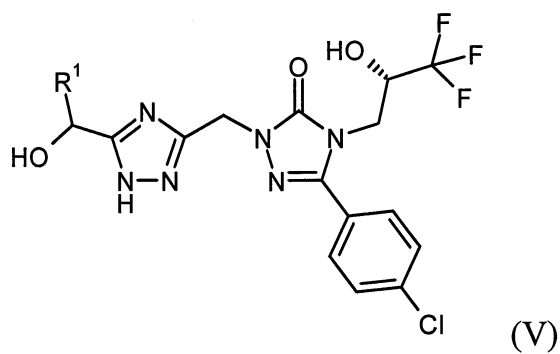
tiếp theo được ngưng tụ với amidin có công thức (IV):



hoặc muối của nó,

trong đó, R¹ có ý nghĩa như được mô tả ở trên,

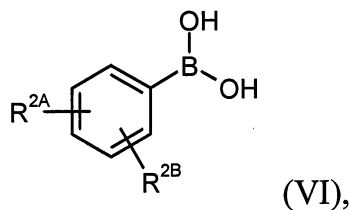
với sự có mặt của bazơ để tạo ra dẫn xuất 1,2,4-triazol có công thức (V):



và/hoặc chất hỗn biến của nó,

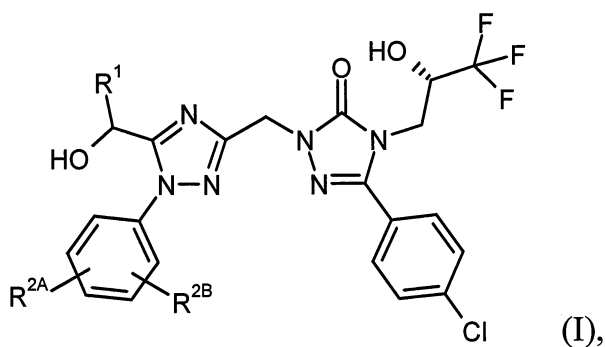
trong đó, R¹ có ý nghĩa như được mô tả ở trên,

và sau đó, được liên hợp với axit phenylboronic có công thức (VI):



trong đó, R^{2A} và R^{2B} có ý nghĩa như được mô tả ở trên,

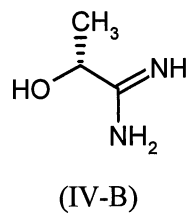
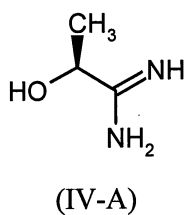
với sự có mặt của chất xúc tác đồng và bazơ amin để tạo ra hợp chất đích có công thức (I):



trong đó R^1 , R^{2A} và R^{2B} có ý nghĩa như được mô tả ở trên,

tùy ý nếu thích hợp, được tiếp theo bằng cách (i) tách các hợp chất có công thức (I) thu được theo cách như vậy thành các chất đồng phân không đối quang tương ứng của chúng, tốt hơn là sử dụng các phương pháp sắc ký, và/hoặc (ii) chuyển đổi các hợp chất có công thức (I) thành các hydrat, solvat của chúng, các muối và/hoặc hydrat hoặc solvat của các muối của chúng bằng cách xử lý bằng các dung môi và/hoặc axit hoặc bazơ tương ứng.

Các hợp chất có công thức (I), trong đó R^1 là methyl, cũng có thể thu được ở dạng tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang bằng cách sử dụng chất đồng phân đối ảnh thích hợp của amidin (IV) [R^1 = methyl], tức là, (IV-A) hoặc (IV-B):

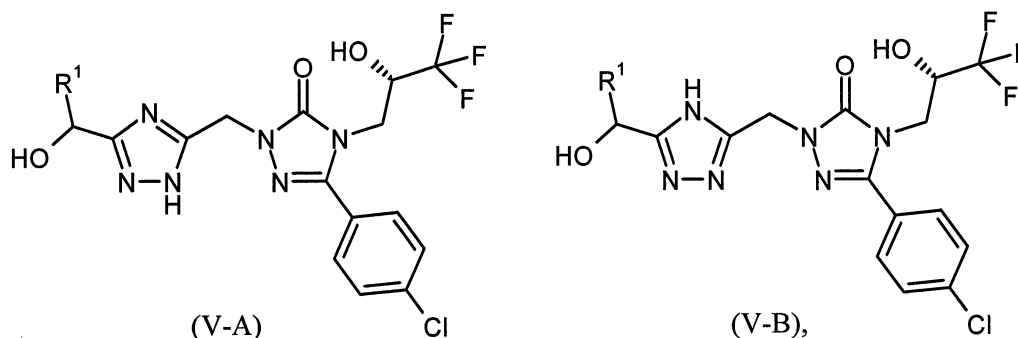


hoặc muối của nó, trong phản ứng ngưng tụ mô tả ở trên.

Phản ứng chuyển dạng (II) $\rightarrow$ (III) được thực hiện theo cách thông thường bằng cách xử lý methyl este (II) bằng hydrazin hoặc hydrazin hydrat trong dung môi rượu, như metanol, etanol, *n*-propanol, isopropanol hoặc *n*-butanol, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ +20°C đến +100°C.

Phản ứng ngưng tụ (III) + (IV) $\rightarrow$ (V) thông thường được thực hiện trong dung môi trợ lưỡng cực không proton, như *N,N*-dimethylformamit (DMF), *N,N*-dimethylaxetamit (DMA), dimetylsulfoxit (DMSO), *N*-metylpyrrolidinon (NMP) hoặc *N,N'*-dimetylpropylen ure (DMPU), với sự có mặt của bazơ đủ mạnh, như natri hydrua hoặc natri hoặc kali alkoxit, ví dụ natri hoặc kali metoxit, natri hoặc kali etoxit, hoặc natri hoặc kali *tert*-butoxit. Amidin (IV) có thể được sử dụng như vậy trong phản ứng này hoặc ở dạng muối, ví dụ như muối hydroclorua. Trong trường hợp nói sau, lượng bazơ dư được sử dụng. Phản ứng thông thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ +80°C đến +150°C. Gia nhiệt bằng thiết bị phản ứng vi sóng có thể có tác dụng có lợi đối với phản ứng ngưng tụ này.

Dẫn xuất 1,2,4-triazol có công thức (V) được tạo ra bằng phản ứng này cũng có thể có mặt ở các dạng đồng phân khác, như (V-A) hoặc (V-B):



hoặc ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân.

Phản ứng liên hợp (V) + (VI) $\rightarrow$ (I) điển hình được thực hiện với sự trợ giúp của chất xúc tác đồng và bazơ amin ["Chan-Lam coupling" conditions; ví dụ, xem trong D. M. T. Chan et al., *Tetrahedron Lett.* **44** (19), 3863-3865 (2003); J. X. Qiao and P. Y. S. Lam, *Synthesis*, 829-856 (2011); K. S. Rao and T.-S. Wu, *Tetrahedron* **68**, 7735-7754 (2012)]. Các chất xúc tác đồng thích hợp cho quy trình này tốt hơn là các muối đồng(II), như đồng(II) axetat, đồng(II) triflometansulfonat hoặc đồng(II) bromua. Các bazơ amin bao gồm, ví dụ, trietylamin, *N,N*-diisopropyletylamin, pyridin

và 4-(*N,N*-dimethylamino)pyridin. Phản ứng được tiến hành trong dung môi hữu cơ trơ, như diclometan, 1,2-dicloetan, methyl *tert*-butyl ete, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, 1,2-di-metoxietan, toluen, pyridin, etyl axetat, axetonitril hoặc *N,N*-dimetylformamit, hoặc trong hỗn hợp của các dung môi này. Tốt hơn pyridin được sử dụng cả ở dạng dung môi và bazơ. Phản ứng liên hợp thông thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ +20°C đến +120°C, tốt hơn ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ +20°C đến +70°C. Sự chiếu xạ vi sóng đồng thời cũng có thể có tác dụng có lợi trong phản ứng này.

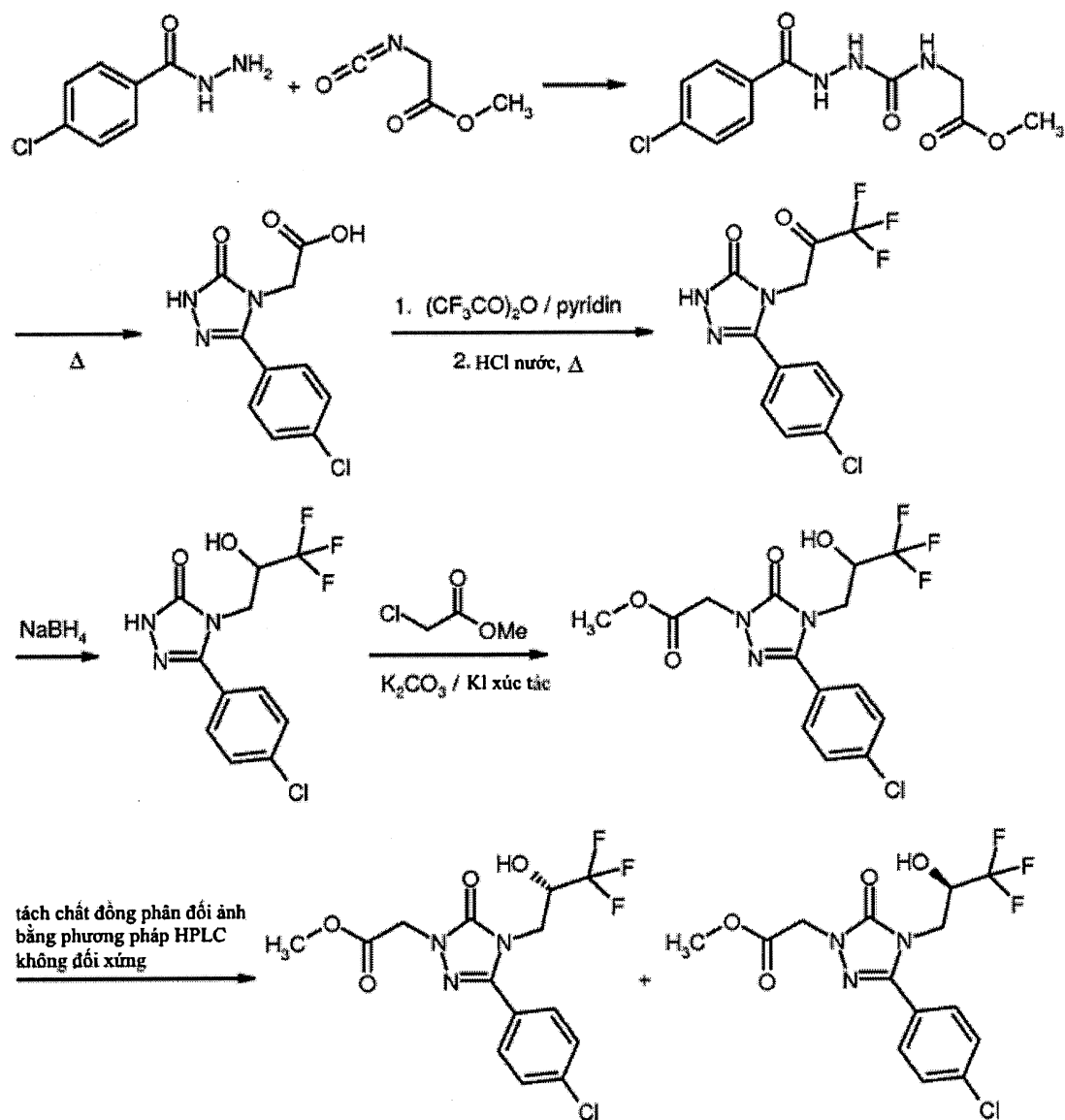
Các dẫn xuất phenyltriazol đồng phân vị trí mà chúng có thể xuất phát từ phản ứng liên hợp xuất hiện tại các nguyên tử nitơ triazol khác [gọi là các chất hỗn biến (V-A), (V-B)] ví dụ, có thể được tách một cách dễ dàng từ sản phẩm đích (I) bằng phương pháp sắc ký HPLC.

Hợp chất có công thức (II) có thể được tổng hợp theo các phương thức được mô tả trong tài liệu Int. Pat. Appl. WO 2011/104322-A1 (cũng xem trong các sơ đồ tổng hợp 1a và 1b dưới đây).

Các hợp chất có công thức (IV), (IV-A), (IV-B) và (VI) là có sẵn trên thị trường, đã biết trong tài liệu hoặc có thể được điều chế dễ dàng từ các nguyên liệu khởi đầu có sẵn bằng cách thích ứng theo các phương pháp chuẩn được mô tả trong tài liệu. Phương thức chi tiết và tài liệu tham khảo để điều chế các nguyên liệu khởi đầu cũng có thể được tìm thấy trong phần thực nghiệm ở phần điều chế các nguyên liệu khởi đầu và các hợp chất trung gian.

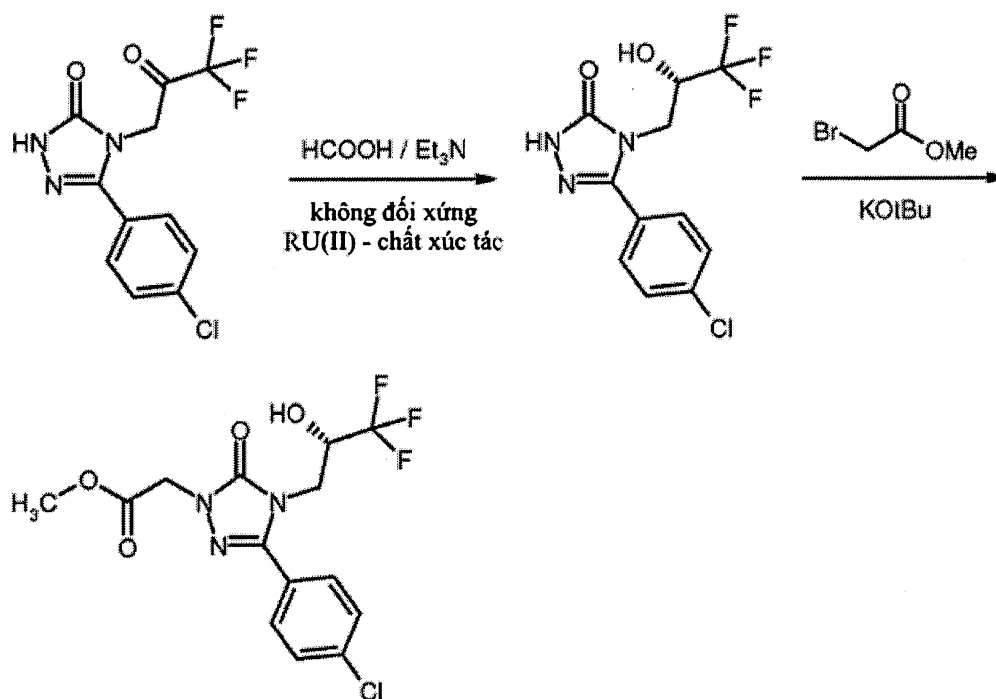
Việc điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể được minh họa bằng các sơ đồ tổng hợp sau:

Sơ đồ 1a



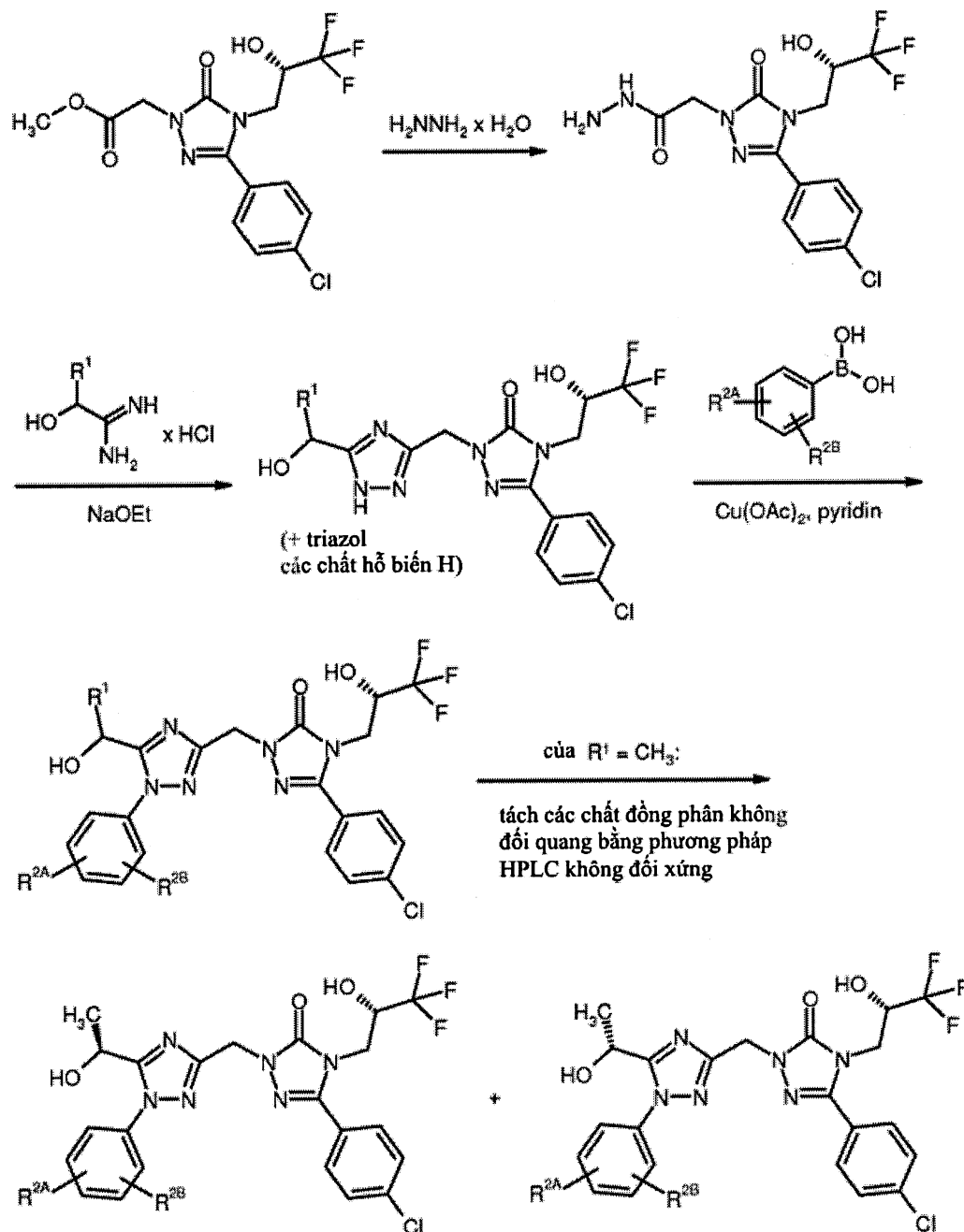
[tham khảo đơn yêu cầu cấp patent Quốc tế số WO 2011/104322-A1].

Sơ đồ 1b



[tham khảo đơn yêu cầu cấp patent Quốc tế số WO 2011/104322-A1].

Sơ đồ 2



Các hợp chất theo sáng chế có các đặc tính dược lý giá trị và có thể được sử dụng trong phòng ngừa và/hoặc điều trị các bệnh và các tình trạng gây ra bởi bệnh khác nhau ở người và động vật có vú khác.

Trong bối cảnh theo sáng chế, thuật ngữ "việc điều trị" hoặc "điều trị" bao gồm ức chế, làm chậm, làm nhẹ, làm dịu bớt, làm dừng, làm giảm hoặc gây ra sự thoái lui

bệnh, rối loạn, tình trạng hoặc trạng thái, sự phát triển và/hoặc sự tiến triển của bệnh và/hoặc các triệu chứng của bệnh. Thuật ngữ "sự phòng ngừa" hoặc "phòng ngừa" bao gồm việc làm giảm nguy cơ bị, mắc hoặc trải qua bệnh, rối loạn, tình trạng hoặc trạng thái, the sự phát triển và/hoặc tiến triển của bệnh và/hoặc các triệu chứng của bệnh. Thuật ngữ phòng ngừa gồm cả việc điều trị dự phòng. Điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn, bệnh, tình trạng hoặc trạng thái có thể là một phần hoặc hoàn toàn.

Trong toàn bộ bản mô tả, với mục đích làm đơn giản hóa, việc sử dụng ngôn ngữ số ít cũng tham chiếu đến số nhiều, nhưng thường dự định bao gồm ngôn ngữ số nhiều nếu không được nêu rõ theo cách khác. Ví dụ, cách diễn đạt "phương pháp điều trị bệnh ở bệnh nhân, bao gồm bước cho bệnh nhân dùng một lượng hiệu quả của hợp chất có công thức (I)" được dự định bao gồm việc điều trị đồng thời cho nhiều hơn một bệnh cũng như dùng nhiều hơn một hợp chất có công thức (I).

Các hợp chất theo sáng chế là các chất đối kháng kép hiệu lực cao của các thụ thể vasopressin V1a và V2. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế thể hiện tác dụng bài tiết nước nhưng không bài tiết chất điện giải mạnh *in vivo* sau khi dùng theo đường uống. Do đó, các hợp chất theo sáng chế được kỳ vọng có giá trị cao làm các tác nhân trị liệu để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, đặc biệt là để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh tim mạch và bệnh thận.

Các bệnh tim mạch trong ngữ cảnh này mà có thể được điều trị và/hoặc phòng ngừa bằng các hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không bị giới hạn bởi, các bệnh sau: suy tim cấp tính và mãn tính bao gồm suy tim mãn tính tiến triển xấu đi (hoặc phải nhập viện đối với suy tim) và suy tim xung huyết, tăng huyết áp động mạch, tăng huyết áp kháng trị, tăng áp động mạch phổi, bệnh tim mạch vành, cơn đau thắt ngực ổn định và không ổn định, các loạn nhịp nhĩ và thất, các rối loạn nhịp nhĩ và thất và các rối loạn dẫn truyền, ví dụ các block nhĩ thất độ I-III (AVB I-III), loạn nhịp nhanh trên thất, rung nhĩ, cuồng động nhĩ, rung thất, cuồng động thất, loạn nhịp nhanh thất, nhịp nhanh xoắn đỉnh, ngoại tâm thu nhĩ và thất, ngoại tâm thu nút nhĩ thất, hội chứng nút xoang bệnh lý, ngắt, nhịp nhanh vào lại nút nhĩ thất và hội chứng Wolff-Parkinson-White, hội chứng mạch vành cấp (ACS), bệnh tim tự miễn (viêm ngoại tâm mạc, viêm nội tâm mạc, viêm van tim, viêm động mạch chủ, bệnh cơ tim), sốc như sốc

tim, sốc nhiễm trùng và sốc phản vệ, phình mạch, bệnh cơ tim giãn (co bóp thất sớm), ngoài ra các bệnh huyết khối tắc mạch và thiếu máu cục bộ như rối loạn tưới máu ngoại vi, tổn thương tái tưới máu, huyết khối động mạch và tĩnh mạch, suy cơ tim, rối loạn chức năng nội mô, tổn thương mạch máu nhỏ và mạch máu lớn (viêm mạch máu) và trong phòng ngừa tái phát hẹp như sau các liệu pháp tiêu huyết khối, nong tạo hình trong lòng mạch qua da (PTA), nong tạo hình mạch vành trong lòng mạch qua da (PTCA), ghép tim và các phẫu thuật nối tắt, xơ cứng động mạch, các rối loạn chuyển hóa lipid, giảm lipoprotein huyết, rối loạn lipid huyết, tăng triglycerit huyết, tăng lipid huyết và tăng lipid huyết kết hợp, tăng cholesterol huyết, bệnh không có betalipoprotein huyết, rối loạn chuyển hóa lipid liên quan di truyền trên nhiễm sắc thể thường, bệnh u vàng, bệnh Tangier, bệnh siêu béo phì, bệnh béo phì, hội chứng chuyển hóa, cơn thiếu máu tạm thời và thiếu máu cục bộ, đột quỵ, các bệnh viêm tim mạch, các bệnh ngoại vi và tim mạch, rối loạn tuần hoàn ngoại vi, co thắt động mạch vành và động mạch ngoại biên và phù ví dụ như phù phổi, phù não, phù thận và phù do suy tim.

Theo sáng chế, thuật ngữ suy tim cũng bao gồm các dạng bệnh cụ thể hơn hoặc có liên quan như suy tim phải, suy tim trái, suy tổng thể, bệnh cơ tim thiếu máu cục bộ, bệnh cơ tim giãn, các dị tật tim bẩm sinh, các dị tật van tim, suy tim kèm dị tật van tim, hẹp van hai lá, suy van hai lá, hẹp van động mạch chủ, suy van động mạch chủ, hẹp van ba lá, suy van ba lá, hẹp van động mạch phổi, suy van động mạch phổi, các dị tật van tim kết hợp, viêm cơ tim (bệnh viêm cơ tim), viêm cơ tim mãn, viêm cơ tim cấp, viêm cơ tim do virus, suy tim tiểu đường, bệnh cơ tim do rượu, các bệnh về lưu trữ của tim, suy tim với phân suất tống máu bảo tồn (HFpEF hoặc suy tim tâm trương), và suy tim với phân suất tống máu giảm (HFrEF hoặc suy tim tâm thu).

Các hợp chất theo sáng chế cũng thích hợp để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh về thận, nhất là thiếu năng thận cấp và mãn và suy thận cấp và mãn. Theo sáng chế, thuật ngữ suy thận bao gồm cả các biểu hiện cấp và mãn của suy thận, cũng như các bệnh thận nằm dưới hoặc liên quan như giảm tưới máu thận, hạ huyết áp trong lọc máu, bệnh nghẽn đường niệu, bệnh tiểu cầu thận, bệnh viêm thận tiểu cầu, bệnh viêm thận tiểu cầu cấp, bệnh xơ cứng tiểu cầu thận, bệnh ống thận kẽ, các bệnh ở thận như bệnh thận nguyên phát và bẩm sinh, viêm thận, bệnh thận miễn dịch như đào thải ghép

thận, bệnh thận do phức hợp miễn dịch gây ra, bệnh thận gây ra bởi các chất độc, bệnh thận do chất cản quang, bệnh thận do tiểu đường và không do tiểu đường, viêm thận - bể thận, nang thận, xơ cứng thận, xơ cứng thận cao huyết áp và hội chứng thận hư, về mặt chẩn đoán hội chứng này có thể được đặc trưng, ví dụ, bằng sự bài tiết creatinin và/hoặc nước giảm một cách bất thường, các nồng độ ure, nitơ, kali và/hoặc creatinin trong máu giảm một cách bất thường, hoạt tính của các enzym thận thay đổi, ví dụ như glutamyl synthetaza, áp lực thẩm thấu nước tiểu hoặc thể tích nước tiểu thay đổi, tăng albumin niệu vi lượng, albumin niệu đại thể, tổn thương cuộn tiểu cầu và tiểu động mạch, giãn tiểu quản, tăng phosphat huyết và/hoặc cần phải lọc máu. Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng hợp chất theo sáng chế để điều trị và/hoặc phòng ngừa các di chứng của suy thận, ví dụ phù phổi, suy tim, ure huyết, thiếu máu, rối loạn điện giải (ví dụ, tăng kali huyết, giảm natri huyết) và các rối loạn về xương và sự chuyển hóa cacbon hydrat.

Các hợp chất theo sáng chế có thể đặc biệt hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa hội chứng tim thận (CRS) và các kiểu phụ khác nhau của hội chứng này. Thuật ngữ này bao hàm cả một số rối loạn về tim và thận, do đó rối loạn chức năng cấp hoặc mãn ở một cơ quan có thể gây ra rối loạn chức năng cấp hoặc mãn đối với cơ quan khác. CRS được phân loại thành 5 kiểu dựa vào cơ quan khởi đầu tổn thương cũng như tính cấp tính và tính mãn tính của bệnh (kiểu 1: phát triển suy thận xuất phát từ suy tim mất bù cấp tính; kiểu 2: suy tim xung huyết mãn tính dẫn đến rối loạn chức năng thận tiến triển; kiểu 3: rối loạn chức năng tim cấp tính xuất phát từ giảm chức năng thận đột ngột; kiểu 4: bệnh thận mãn tính dẫn đến tái cấu trúc tim; kiểu 5: bệnh hệ thống liên quan đến cả tim và thận) [ví dụ, xem trong M. R. Kahn et al., *Nature Rev. Cardiol.* 10, 261-273 (2013)].

Các hợp chất theo sáng chế cũng thích hợp để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh thận đa nang (PCKD) và hội chứng bài tiết ADH không phù hợp (SIADH). Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế thích hợp để sử dụng làm thuốc lợi tiểu để điều trị phù và trong rối loạn điện giải, nhất là trong giảm natri huyết thể tích máu tăng và thể tích máu bình thường.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa hiện tượng Raynaud tiên phát và thứ phát, rối loạn vi tuần hoàn, chứng đi cà nhắc, bệnh thần kinh ngoại biên và tự động, bệnh vi mạch do tiểu đường, bệnh vồng mạc do tiểu đường, loét chi do tiểu đường, chứng hoại thư, hội chứng CREST, rối loạn ban đỏ, bệnh nấm móng, bệnh thấp khớp và để thúc đẩy sự chữa lành vết thương.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế thích hợp để điều trị các bệnh về tiết niệu và các bệnh của hệ tiết niệu - sinh dục nam và nữ, ví dụ như hội chứng tiền liệt tuyến lành tính (BPS), phì đại tiền liệt tuyến lành tính (BPH), tiền liệt tuyến lớn lành tính (BPE), tắc nghẽn cổ bàng quang (BOO), các hội chứng đường tiết niệu dưới (LUTS), bàng quang thần kinh tăng hoạt (OAB), viêm bàng quang kẽ (IC), bệnh són tiểu (UI), ví dụ són tiểu hỗn hợp, cấp, tăng áp lực trong ổ bụng và són tiểu khi đầy bàng quang (MUI, UUI, SUI, OUI), đau khung chậu, rối loạn chức năng cương cứng và rối loạn chức năng tình dục nữ.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh viêm, các bệnh hen, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), hội chứng suy hô hấp cấp tính (ARDS), tổn thương phổi cấp (ALI), bệnh thiếu alpha-1-antitrypsin (AATD), bệnh xơ phổi, bệnh khí phế thũng (ví dụ, bệnh khí phế thũng do hút thuốc lá) và xơ nang (CF). Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa tăng huyết áp động mạch phổi (PAH) và các dạng khác của tăng áp phổi (PH), bao gồm tăng áp phổi kết hợp với bệnh thất trái, nhiễm trùng HIV, thiếu máu tế bào hình liềm, huyết khối tắc mạch (CTEPH), bệnh sarcoit, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD) hoặc bệnh xơ phổi.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh xơ gan, cổ chướng, bệnh đái tháo đường và các biến chứng của đái tháo đường ví dụ như bệnh thần kinh và bệnh thận. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế thích hợp để điều trị và/hoặc phòng ngừa các rối loạn thần kinh trung ương như trạng thái lo âu và trầm cảm, để điều trị và/hoặc phòng ngừa tăng nhãn áp và để điều trị và/hoặc phòng ngừa ung thư, nhất là khối u phổi và trong quản lý hiện tượng sai lệch nhịp ngày đêm như hiện tượng rối loạn nhịp sinh học sau chuyến bay dài (jet lag) và công việc theo ca.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa các tình trạng đau, các bệnh về thượng thận ví dụ như u tế bào ưa crôm và ngập máu tuyến thượng thận, các bệnh về đường ruột ví dụ như bệnh Crohn và tiêu chảy, các rối loạn kinh nguyệt ví dụ như chứng đau kinh, hoặc bệnh lạc nội mạc tử cung, sinh non và trong chống co thắt tử cung.

Nhờ các đặc tính về hoạt tính và khả năng chọn lọc của chúng, hợp chất theo sáng chế được cho là đặc biệt thích hợp để điều trị và/hoặc phòng ngừa suy tim cấp tính và mãn tính, hội chứng tim thận (các kiểu từ 1 đến 5), giảm natri huyết thể tích máu tăng và thể tích máu bình thường, bệnh xơ gan, cổ chướng, phù và hội chứng bài tiết ADH không phù hợp (SIADH).

Các bệnh nêu trên đã được mô tả rõ ràng ở người, nhưng cũng tồn tại với nguyên nhân có thể so sánh được ở các động vật có vú khác và có thể được điều trị ở những động vật này bằng các hợp chất và phương pháp theo sáng chế.

Do đó, phần mô tả sáng chế còn bộc lộ việc sử dụng các hợp chất theo sáng chế để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là đối với các bệnh nêu trên.

Phần mô tả sáng chế còn bộc lộ việc sử dụng các hợp chất theo sáng chế để điều chế được phẩm để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là các bệnh nêu trên.

Phần mô tả sáng chế còn bộc lộ việc sử dụng các hợp chất theo sáng chế trong phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là các bệnh nêu trên.

Phần mô tả sáng chế còn bộc lộ phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là các bệnh nêu trên, bằng cách sử dụng lượng hiệu quả của ít nhất một trong các hợp chất theo sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở dạng dược phẩm duy nhất hoặc ở dạng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung miễn là sự kết hợp này không dẫn đến các tác dụng phụ không mong muốn và/hoặc không thể chấp nhận được. Liệu pháp điều trị kết hợp này bao gồm bước dùng dược phẩm bào chế liều đơn mà chứa hợp chất có công thức (I), như được xác định ở trên, và một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung, cũng như bước dùng hợp chất có công thức (I) và mỗi một tác nhân trị liệu bổ sung ở dạng dược phẩm bào chế liều riêng biệt của nó. Ví dụ, hợp chất

có công thức (I) và tác nhân trị liệu có thể được dùng cho bệnh nhân cùng nhau ở dạng bào chế uống liều đơn (cố định) như viên nén hoặc viên nang, hoặc mỗi một tác nhân có thể được dùng trong các dạng bào chế liều lượng riêng biệt.

Nếu dạng bào chế liều lượng riêng biệt được sử dụng, hợp chất có công thức (I) và một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung có thể được dùng cơ bản cùng thời điểm (tức là, đồng thời) hoặc tại các thời điểm xen kẽ riêng biệt (tức là, lần lượt).

Cụ thể, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng kết hợp cố định hoặc riêng biệt với

- các hợp chất nitrat hữu cơ và các chất cho NO, ví dụ natri nitroprusside, nitroglycerin, isosorbide mononitrat, isosorbide dinitrat, molsidomine hoặc SIN-1, và dạng NO xông hít;
- các hợp chất ức chế sự thoái biến của guanosin monophosphat vòng (cGMP), ví dụ các chất ức chế men phosphodiesteraza (PDE) 1, 2 và/hoặc 5, đặc biệt là các chất ức chế PDE-5 như sildenafil, vardenafil, tadalafil, udenafil, dasantafil, avanafil, mirodenafil hoặc lodenafil;
- các tác nhân co cơ dương tính, ví dụ như các glycosid trợ tim (digoxin) và chất chủ vận beta-adrenergic và dopaminergic như isoproterenol, adrenalin, noradrenalin, dopamin hoặc dobutamin;
- các peptit lợi tiểu natri, ví dụ như peptit lợi tiểu natri tâm nhĩ (ANP, anaritide), peptit lợi tiểu natri typ B hoặc peptit lợi tiểu natri não (BNP, nesiritide), peptit lợi tiểu natri typ C (CNP) hoặc urodilatin;
- các chất tăng nhạy canxi, ví dụ như và tốt hơn là levosimendan;
- các chất hoạt hóa không phụ thuộc NO và heme thuộc men guanylat xyclaza hòa tan (sGC), đặc biệt như cinaciguat và cả các hợp chất được mô tả trong tài liệu WO 01/19355, WO 01/19776, WO 01/19778, WO 01/19780, WO 02/070462 và WO 02/070510;
- các chất kích thích không phụ thuộc NO, nhưng phụ thuộc heme thuộc men guanylat xyclaza (sGC), đặc biệt như riociguat, vericiguat và cả các hợp chất được

mô tả trong tài liệu WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301, WO 03/095451, WO 2011/147809, WO 2012/004258, WO 2012/028647 và WO 2012/059549;

- các chất ức chế men elastaza bạch cầu trung tính người (HNE), ví dụ như sivelestat hoặc DX-890 (reltran);
- các hợp chất ức chế các chuỗi dẫn truyền tín hiệu, đặc biệt là các chất ức chế tyrosin và/hoặc serin/treonin kinaza, ví dụ như nintedanib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, regorafenib, sorafenib, sunitinib, cediranib, axitinib, telatinib, imatinib, brivanib, pazopanib, vatalanib, gefitinib, erlotinib, lapatinib, canertinib, lestaurtinib, pelitinib, semaxanib hoặc tandutinib;
- các hợp chất tác động lên sự chuyển hóa năng lượng của tim, ví dụ như và tốt hơn là etomoxir, dicloaxetat, ranolazine hoặc trimetazidin hoặc các chất chủ vận thụ thể adenosin A1 hoàn toàn hoặc một phần;
- các hợp chất tác động lên nhịp tim, ví dụ như và tốt hơn là ivabradine;
- chất hoạt hóa myosin tim, ví dụ như và tốt hơn là omecamtiv mecarbil (CK-1827452);
- các tác nhân chống huyết khối, ví dụ và tốt hơn từ nhóm gồm các chất ức chế kết tập tiểu cầu, các chất chống đông và các chất tiền tiêu sợi huyết;
- các tác nhân làm giảm huyết áp, ví dụ và tốt hơn từ nhóm gồm các chất đối kháng canxi, chất đối kháng angiotensin AII, các chất ức chế ACE, các chất ức chế men vasopeptidaza, các chất đối kháng endothelin, các chất ức chế renin, các chất chẹn alpha, các chất chẹn beta, các chất đối kháng thụ thể mineralocorticoid và các chất lợi tiểu; và/hoặc
- các chất làm thay đổi chuyển hóa chất béo, ví dụ và tốt hơn từ nhóm gồm các chất chủ vận thụ thể tuyến giáp, các chất ức chế tổng hợp cholesterol, ví dụ như và tốt hơn là các chất ức chế men HMG-CoA-reductaza hoặc ức chế tổng hợp squalen, các chất ức chế ACAT, các chất ức chế CETP, các chất ức chế MTP, các chất chủ vận PPAR-alpha, PPAR-gama và/hoặc PPAR-delta, các chất ức chế hấp thu cholesterol, các chất ức chế lipaza, các chất hấp phụ axit mật dạng polyme, các chất ức chế tái hấp thu axit mật và các chất đối kháng lipoprotein(a).

Các tác nhân chống huyết khối tốt hơn được hiểu là các hợp chất từ nhóm của các chất ức chế kết tập tiểu cầu, các chất chống đông và các chất tiền tiêu sợi huyết.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế kết tập tiểu cầu, ví dụ và tốt hơn là aspirin, clopidogrel, ticlopidin hoặc dipyridamole.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế thrombin, ví dụ và tốt hơn là ximelagatran, dabigatran, melagatran, bivalirudin hoặc enoxaparin.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng GPIIb/IIIa, ví dụ và tốt hơn là tirofiban hoặc abciximab.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế yếu tố Xa, ví dụ và tốt hơn là rivaroxaban, apixaban, otamixaban, fidexaban, razaxaban, fondaparinux, idraparinux, DU-176b, PMD-3112, YM-150, KFA-1982, EMD-503982, MCM-17, MLN-1021, DX 9065a, DPC 906, JTV 803, SSR-126512 hoặc SSR-128428.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với heparin hoặc dẫn xuất heparin trọng lượng phân tử thấp (low molecular weight - LMW).

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng vitamin K, ví dụ và tốt hơn là coumarin.

Các tác nhân làm giảm huyết áp tốt hơn được hiểu là các hợp chất từ nhóm của các chất đối kháng canxi, chất đối kháng angiotensin AII, các chất ức chế ACE, các chất ức chế men vasopeptidaza, chất đối kháng endothelin, các chất ức chế renin, các chất chặn alpha, các chất chặn beta, các chất đối kháng thụ thể mineralocorticoid và các chất lợi tiểu.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng canxi, ví dụ và tốt hơn là nifedipine, amlodipine, verapamil hoặc diltiazem.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất chẹn thụ thể alpha-1, ví dụ và tốt hơn là prazosin hoặc tamsulosin.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất chẹn beta, ví dụ và tốt hơn là propranolol, atenolol, timolol, pindolol, alprenolol, oxprenolol, penbutolol, bupranolol, metipranolol, nadolol, mepindolol, carazolol, sotalol, metoprolol, betaxolol, celiprolol, bisoprolol, carteolol, esmolol, labetalol, carvedilol, adaprolol, landiolol, nebivolol, epanolol hoặc bucindolol.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể angiotensin AII, ví dụ và tốt hơn là losartan, candesartan, valsartan, telmisartan, irbesartan, olmesartan, eprosartan hoặc azilsartan.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế men vasopectidaza hoặc chất ức chế men endopeptidaza trung tính (NEP), ví dụ như và tốt hơn là sacubitril, omapatrilat hoặc AVE-7688.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể angiotensin AII/chất ức chế NEP kép (ARNI), ví dụ và tốt hơn là LCZ696.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế ACE, ví dụ và tốt hơn là enalapril, captopril, lisinopril, ramipril, delapril, fosinopril, quinopril, perindopril hoặc trandopril.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng endothelin, ví dụ và tốt hơn là bosentan, darusentan, ambrisentan, tezosentan hoặc sitaxsentan.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế renin, ví dụ và tốt hơn là aliskiren, SPP-600 hoặc SPP-800.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng thụ thể mineralocorticoid, ví dụ và tốt hơn là finerenone, spironolactone, canrenone, kali canrenoate hoặc eplerenone.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với tác nhân lợi tiểu, ví dụ như và tốt hơn là furosemide, bumetanide, piretanide,

torsemide, bendroflumethiazide, clothiazide, hydroclothiazide, xipamide, indapamide, hydroflumethiazide, methyclothiazide, polythiazide, triclomethiazide, clothalidone, metolazone, quinethazone, acetazolamide, diclophenamide, methazolamide, glyxerine, isosorbide, manitol, amiloride hoặc triamterene.

Các chất làm thay đổi chuyển hóa chất béo tốt hơn được hiểu là các hợp chất từ nhóm của các chất ức chế CETP, các chất chủ vận thụ thể tuyến giáp, các chất ức chế tổng hợp cholesterol như các chất ức chế men HMG-CoA-reductaza hoặc ức chế tổng hợp squalen, các chất ức chế ACAT, các chất ức chế MTP, các chất chủ vận PPAR-alpha, PPAR-gama và/hoặc PPAR-delta, các chất ức chế hấp thu cholesterol, các chất hấp phụ axit mật dạng polyme, các chất ức chế tái hấp thu axit mật, các chất ức chế lipaza và các chất đối kháng lipoprotein(a).

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế CETP, ví dụ và tốt hơn là dalcetrapib, anacetrapib, BAY 60-5521 hoặc vacxin CETP (Avant).

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể tuyến giáp, ví dụ và tốt hơn là D-thyroxin, 3,5,3'-triiodothyronin (T3), CGS 23425 hoặc axitirome (CGS 26214).

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế men HMG-CoA-reductaza từ nhóm các statin, ví dụ và tốt hơn là lovastatin, simvastatin, pravastatin, fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin hoặc pitavastatin.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế tổng hợp squalen, ví dụ và tốt hơn là BMS-188494 hoặc TAK-475.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế ACAT, ví dụ và tốt hơn là avasimibe, melinamide, pactimibe, eflucimibe hoặc SMP-797.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế MTP, ví dụ và tốt hơn là implitapide, R-103757, BMS-201038 hoặc JTT-130.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất chủ vận PPAR-gama, ví dụ và tốt hơn là pioglitazone hoặc rosiglitazone.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất chủ vận PPAR-delta, ví dụ và tốt hơn là GW 501516 hoặc BAY 68-5042.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế hấp thu cholesterol, ví dụ và tốt hơn là ezetimibe, tiqueside hoặc pamaqueside.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế men lipaza, ví dụ và tốt hơn là orlistat.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất hấp phụ axit mật dạng polyme, ví dụ và tốt hơn là cholestyramin, colestipol, colesolvam, CholestaGel hoặc colestimide.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất ức chế tái hấp thu axit mật, ví dụ và tốt hơn là các chất ức chế ASBT (= IBAT) như AZD-7806, S-8921, AK-105, BARI-1741, SC-435 hoặc SC-635.

Theo một phương án của sáng chế, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với chất đối kháng lipoprotein(a), ví dụ và tốt hơn là gemcabene canxi (CI-1027) hoặc axit nicotinic.

Theo phương án đặc biệt ưu tiên, các hợp chất theo sáng chế được dùng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm các chất lợi tiểu, chất đối kháng angiotensin AII, các chất ức chế ACE, các chất chẹn thụ thể beta, các chất đối kháng thụ thể mineralocorticoid, các nitrat hữu cơ, các chất cho NO, các chất hoạt hóa guanylat xyclaza hòa tan (sGC), các chất kích thích guanylat xyclaza hòa tan và các tác nhân co cơ dương tính.

Do đó, theo một phương án khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa ít nhất một trong số các hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là các bệnh nêu trên.

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng, ở dạng như vậy hoặc trong các hỗn hợp, trong nghiên cứu và chẩn đoán hoặc ở dạng làm tiêu chuẩn tham chiếu phân tích và tương tự, những dạng này cũng đã biết trong lĩnh vực.

Khi các hợp chất theo sáng chế được dùng làm dược phẩm, cho người hoặc các động vật có vú khác, bản thân các hợp chất này có thể được dùng hoặc ở dạng dược phẩm chứa, ví dụ, từ 0,1% đến 99,5% (tốt hơn nữa từ 0,5% đến 90%) thành phần hoạt tính kết hợp với một hoặc nhiều tá dược được dùng.

Do đó, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa ít nhất một trong số các hợp chất theo sáng chế, thông thường cùng với một hoặc nhiều tá dược trợ, không độc tính và được dùng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh, nhất là các bệnh nêu trên.

Các hợp chất theo sáng chế có thể tác động trên toàn thân và/hoặc tác động tại chỗ. Nhằm mục đích này, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng theo cách thích hợp ví dụ như theo đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, đường phổi, đường mũi, đường lưỡi, đường dưới lưỡi, đường miệng má, đường trực tràng, đường da, đường qua da, đường kết mạc, đường tai hoặc đường tại chỗ, hoặc ở dạng cấy ghép hoặc đặt stent.

Đối với các đường dùng này, các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng ở dạng áp dụng thích hợp.

Thích hợp để dùng theo đường uống là các dạng áp dụng mà các dạng này hoạt động tuân theo tình trạng kỹ thuật trước đây và phân phối hợp chất theo sáng chế một cách nhanh chóng và/hoặc theo phương thức cải biến và các dạng này chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng kết tinh, vô định hình và/hoặc dạng hòa tan, ví dụ như viên nén (viên nén không có bọc hoặc có bọc, ví dụ có lớp bọc tan trong ruột hoặc có lớp bọc không hòa tan hoặc hòa tan chậm và kiểm soát sự giải phóng hợp chất theo sáng chế), viên nén phân hủy nhanh chóng trong miệng hoặc dạng màng/ viên nhện, màng/dạng

đông khô, viên nang (ví dụ, viên nang gelatin cứng hoặc mềm), viên nén bọc đường, dạng hạt, viên kết, dạng bột, nhũ tương, huyền phù, sol khí hoặc dung dịch.

Áp dụng ngoài đường tiêu hóa có thể được thực hiện để tránh được bước hấp thụ (theo đường tĩnh mạch, theo đường động mạch, theo đường trong tim, theo đường trong cột sống hoặc trong ống sống thắt lưng) hoặc bao gồm bước hấp thụ (theo đường trong cơ, theo đường dưới da, theo đường trong da, theo đường qua da hoặc theo đường trong phúc mạc). Các dạng áp dụng theo đường ngoài tiêu hóa thích hợp bao gồm các chế phẩm tiêm và truyền ở dạng dung dịch, huyền phù, nhũ tương, dạng đông khô và dạng bột vô trùng.

Dạng thích hợp đối với các đường áp dụng khác bao gồm, ví dụ, các dạng dược phẩm xông (ví dụ, các dụng cụ xông, phun bột), dạng nhỏ mũi, dung dịch hoặc dạng phun, viên nén hoặc viên nang để dùng theo đường lưỡi, dưới lưỡi hoặc miệng má (ví dụ, viên ngậm dẹp, viên ngậm hình thoi), dạng đặt, các chế phẩm dùng cho tai và mắt (ví dụ, nhỏ giọt, mỡ bôi), viên nang âm đạo, huyền phù nước (dầu xức, hỗn hợp lắc), huyền phù ưa chất béo, mỡ bôi, kem bôi, dạng sữa, dạng bột nhào, dạng bột, dạng bột bụi mịn, các hệ trị liệu qua da (ví dụ, tấm dán), dạng cấy ghép và stent đặt.

Theo một phương án ưu tiên, dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định ở trên được cung cấp ở dạng thích hợp để dùng theo đường uống. Theo phương án ưu tiên khác, dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) như được xác định ở trên được cung cấp ở dạng thích hợp để dùng theo đường tĩnh mạch.

Hợp chất theo sáng chế có thể được chuyển đổi thành các dạng áp dụng nêu trên theo cách đã biết bằng cách trộn kết hợp với tá dược trợ, không độc tính, dược dụng. Các tá dược này bao gồm chất mang (ví dụ, xenluloza, lactoza, manitol vi tinh thể), dung môi (ví dụ, polyetylen glycol lỏng), nhũ tương (ví dụ, natri dodecyl sulfat), chất hoạt diện (ví dụ, polyoxysorbitan oleat), chất phân tán (ví dụ, polyvinylpyrrolidon), các polyme tổng hợp và tự nhiên (ví dụ, albumin), chất làm ổn định (ví dụ, chất chống oxy hóa ví dụ như axit ascorbic), chất tạo màu (ví dụ, các chất màu vô cơ ví dụ như sắt oxit), và hương vị và/hoặc các chất che dấu mùi.

Liều lượng ưu tiên của hợp chất theo sáng chế là liều tối đa mà bệnh nhân có thể dung nạp và không gây ra các tác dụng phụ nghiêm trọng. Theo cách minh họa,

hợp chất theo sáng chế có thể được dùng theo đường ngoài tiêu hóa ở mức liều lượng từ khoảng 0,001mg/kg đến khoảng 10mg/kg, tốt hơn từ khoảng 0,01mg/kg đến khoảng 1mg/kg thể trọng. Trong trường hợp dùng theo đường uống, khoảng liều lượng minh họa từ khoảng 0,01 đến 100mg/kg, tốt hơn từ khoảng 0,01 đến 20mg/kg, và tốt hơn nữa từ khoảng 0,1 đến 10mg/kg thể trọng. Các khoảng trung gian của các giá trị nêu trên cũng được dự định là một phần của sáng chế.

Tuy nhiên, các mức liều thực tiễn và tiến trình thời gian dùng các thành phần hoạt tính trong dược phẩm theo sáng chế có thể thay đổi sao cho thu được lượng thành phần hoạt tính mà lượng này có hiệu quả đạt được đáp ứng điều trị mong muốn đối với một bệnh nhân cụ thể, thành phần và phương thức dùng, mà không gây độc cho bệnh nhân. Do đó, trường hợp thích hợp, lượng này cần thiết có thể khác với các lượng đã nêu, đặc biệt theo sự thay đổi về tuổi tác, giới tính, thể trọng, chế độ ăn và tình trạng sức khỏe chung của bệnh nhân, các đặc tính khả dụng sinh học và dược động học của hợp chất cụ thể và phương thức và đường dùng của hợp chất này, thời gian hoặc khoảng giãn cách mà việc dùng diễn ra, phác đồ liều lượng lựa chọn, đáp ứng của từng bệnh nhân riêng biệt với thành phần hoạt tính, bệnh vụ thể liên quan, mức độ hoặc sự liên quan hoặc độ nặng của bệnh, loại điều trị đồng thời (tức là, sự tương tác của hợp chất theo sáng chế với các thuốc điều trị dùng đồng thời khác), và các tình huống liên quan khác.

Do đó, trong một số trường hợp, có thể thỏa mãn khi quản lý bằng lượng thấp hơn lượng tối thiểu nêu trên, trong khi đó ở những trường hợp khác, cần phải vượt trên giới hạn trên đã nêu. Việc điều trị có thể được khởi đầu bằng liều lượng thấp hơn liều tối ưu của hợp chất. Sau đó, liều lượng có thể được tăng lên với các lượng gia nhỏ cho tới khi đạt được tác dụng tối ưu trong các tình huống này. Để thuận tiện, tổng liều lượng hằng ngày có thể được phân chia và dùng theo các phần riêng biệt trong cả ngày.

Các phương án minh họa sau đây để minh họa cho sáng chế. Sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Trừ khi được xác định theo cách khác, tỷ lệ % trong các thử nghiệm và ví dụ sau là theo trọng lượng; các phần là theo trọng lượng. Tỷ lệ dung môi, tỷ lệ pha loãng

và nồng độ được thông báo đối với dịch lỏng/dung dịch lỏng mỗi loại được căn vù vào thể tích.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các chữ và cụm chữ viết tắt:

Ac	axetyl
aq.	dạng nước (dung dịch)
br.	vạch rộng (tín hiệu ^1H NMR)
cat.	có xúc tác
conc.	đậm đặc
d	vạch đôi (tín hiệu ^1H NMR)
DCI	ion hóa hóa học trực tiếp (MS)
d.e.	lượng dư chất đồng phân không đối quang
DMF	<i>N,N</i> -dimetylformamit
DMSO	dimetylsulfoxit
EI	ion hóa va chạm điện tử (MS)
eq.	(các) đương lượng
ESI	ion hóa phun điện tử (MS)
Et	etyl
h	(nhiều) giờ
^1H NMR	phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton
HPLC	phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao
LC/MS	Phổ khối kết hợp sắc ký lỏng
m	đa vạch (tín hiệu ^1H NMR)
Me	metyl
phút	(nhiều) phút
MS	phổ khối
MTBE	metyl <i>tert</i> -butyl ete
m/z	tỷ lệ khối lượng trên điện tích (MS)
theo lý thuyết	theo lý thuyết (hiệu suất)
q	vạch bốn (tín hiệu ^1H NMR)

quant.	định lượng (hiệu suất)
<i>rac</i>	triệt quang
R _f	yếu tố duy trì TLC
RP	pha đảo (HPLC)
rt	Nhiệt độ phòng
R _t	thời gian duy trì (HPLC)
s	vạch đơn (tín hiệu ¹ H NMR)
sat.	bão hòa (dung dịch)
SFC	sắc ký lỏng siêu tới hạn
t	vạch ba (tín hiệu ¹ H NMR)
tBu	<i>tert</i> -butyl
<i>tert</i>	bậc ba
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TLC	sắc ký lớp mỏng
UV	cực tím

Các phương pháp LC/MS và HPLC:

Phương pháp 1 (LC/MS):

Thiết bị: Hệ thống Waters Acquity SQD UPLC; cột: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 μ, 50mm x 1mm; dung môi rửa giải A: 1 L nước + 0,25mL axit formic 99%, dung môi rửa giải B: 1 L axetonitril + 0,25mL axit formic 99%; gradient: 0,0 phút 90% A → 1,2 phút 5% A → 2,0 phút 5% A; lò điều nhiệt: 50°C; lưu lượng: 0,40mL/phút; phát hiện UV: 208-400 nm.

Phương pháp 2 (LC/MS):

Thiết bị: Hệ thống Waters Acquity SQD UPLC; cột: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 μ, 50mm x 1mm; dung môi rửa giải A: 1 L nước + 0,25mL axit formic 99%, dung môi rửa giải B: 1 L axetonitril + 0,25mL axit formic 99%; gradient: 0,0 phút 95% A → 6,0 phút 5% A → 7,5 phút 5% A; lò điều nhiệt: 50°C; lưu lượng: 0,35mL/phút; phát hiện UV: 210-400 nm.

Phương pháp 3 (LC/MS):

Thiết bị MS: Agilent MS Quad 6150; Dụng cụ HPLC: Agilent 1290; cột: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 μ , 50mm x 2,1mm; dung môi rửa giải A: 1 L nước + 0,25mL axit formic 99%, dung môi rửa giải B: 1 L axetonitril + 0,25mL axit formic 99%; gradient: 0,0 phút 90% A $\rightarrow$ 0,3 phút 90% A $\rightarrow$ 1,7 phút 5% A $\rightarrow$ 3,0 phút 5% A; lò điều nhiệt: 50°C; lưu lượng: 1,20mL/phút; phát hiện UV: 205-305 nm.

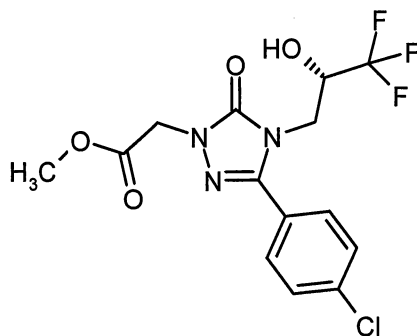
Phương pháp 4 (HPLC điều chế):

Cột: Chromatorex C18 10 μ m, 125mm x 30mm; dung môi rửa giải A: nước + TFA 0,05%, dung môi rửa giải B: axetonitril + TFA 0,05%; gradient: 20% B $\rightarrow$ 45% B, 45% B isocratic, 45% B $\rightarrow$ 80% B; nhiệt độ cột: nhiệt độ trong phòng; tốc độ dòng: 50mL/phút; phát hiện UV: 210nm.

Nguyên liệu khởi đầu và hợp chất trung gian:

Ví dụ 1A

Metyl {3-(4-clophenyl)-5-oxo-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-1-yl}axetat



Trong môi trường argon, kali *tert*-butoxit (9,118 g, 81,26mmol) được bổ sung theo từng phần ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 5A trong tài liệu WO 2011/104322-A1; 20 g, 65,01mmol) trong THF (40mL). Bổ sung metyl bromoaxetat (10,939 g, 71,51mmol) vào dung dịch này và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. hỗn hợp phản ứng sau đó được pha loãng bằng nước và được chiết bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô

trong chân không. Thu được 16,4 g (30,23mmol) hợp chất mong muốn (hiệu suất 46,5%, độ tinh khiết 70%).

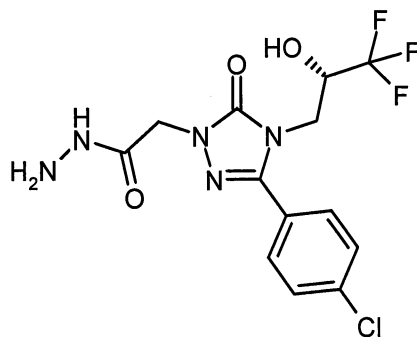
LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 0,90$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 380$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 3,70 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,19-4,33 (m, 1H), 4,72 (s, 2H), 6,92 (d, 1H), 7,60-7,69 (m, 2H), 7,73-7,81 (m, 2H).

Hợp chất nêu ở tiêu đề cũng có thể được tổng hợp theo phương thức được mô tả trong tài liệu WO 2011/104322-A1 (ví dụ 7A).

Ví dụ 2A

2-{3-(4-clophenyl)-5-oxo-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl}axetohydrazit



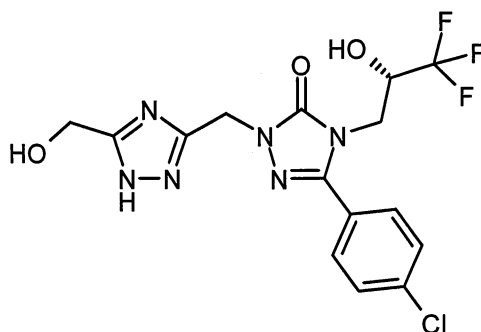
7,2 g (18,96mmol) metyl {3-(4-clophenyl)-5-oxo-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl}axetat được hòa tan trong 60mL etanol tuyệt đối. Bổ sung 2,088 g (41,71mmol) hydrazin hydrat vào dung dịch này và hỗn hợp được khuấy trong điều kiện hồi lưu trong thời gian 5 giờ và sau đó, ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp tạo ra được cô một phần trong chân không và sau đó, pha loãng bằng nước và được chiết bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Phần cặn cô được hòa tan trong diclometan và sau khi kết tinh, chất rắn màu trắng được lọc ra và được sấy khô trong điều kiện chân không cao. Thu được 7,02 g (18,49mmol) hợp chất mong muốn (hiệu suất 97,5%).

LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 0,73$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 380$ (M+H)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\square$ [ppm] 3,82 (dd, 1H), 3,96 (dd, 1H), 4,24-4,34 (m, 3H), 4,38 (d, 2H), 6,90 (d, 1H), 7,61-7,66 (m, 2H), 7,73-7,78 (m, 2H), 9,23 (t, 1H).

Ví dụ 3A

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



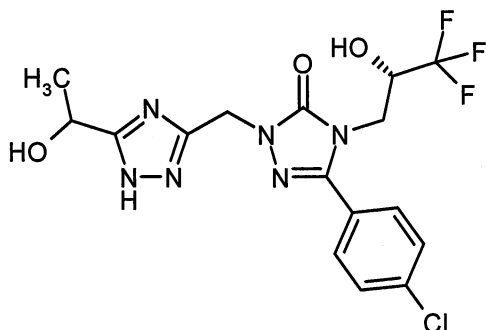
Trong môi trường argon, natri etoxit (2,987 g, 42,14mmol, độ tinh khiết 96%) được bổ sung theo từng phần ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 2-{3-(4-clophenyl)-5-oxo-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl}axetohydrazit (8,0 g, 21,07mmol) và 2-hydroxyacetamidin hydroclorua (2,329 g, 21,07mmol) trong DMF (200mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 100°C qua đêm. Sau khi làm lạnh, hỗn hợp phản ứng được cô một phần trong chân không và sau đó, pha loãng bằng etyl axetat. Hỗn hợp tạo ra được rửa bằng nước, và sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Làm khô chất rắn tạo ra trong điều kiện chân không cao để có được 8,69 g (độ tinh khiết 89%, 18,47mmol) hợp chất mong muốn mà hợp chất này được sử dụng không cần tinh chế thêm (hiệu suất ~88%).

LC/MS [phương pháp 1]: R_t = 0,74 phút; MS [ESIpos]: m/z = 419 ($M+H$)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\square$ [ppm] 3,83 (dd, 1H), 3,98 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,53 (br. s, 2H), 4,96 (br. s, 2H), 5,64 (br. s, 1H), 6,91 (d, 1H), 7,58-7,67 (m, 2H), 7,72-7,78 (m, 2H), 13,75 (br. s, 1H).

Ví dụ 4A

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



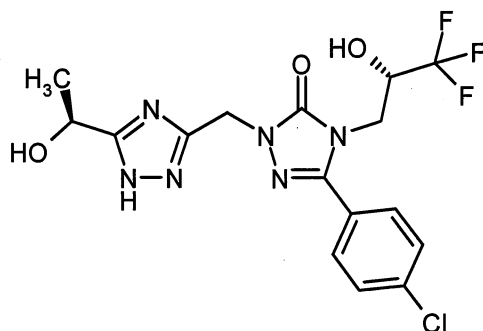
Trong môi trường argon, natri etoxit (1,531 g, 21,59mmol, độ tinh khiết 96%) được bổ sung theo từng phần ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 2-{3-(4-clophenyl)-5-oxo-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazol-1-yl}axetohydrazit (4,1 g, 10,80mmol) và 2-hydroxypropanimidamit hydroclorua (1,480 g, 11,88mmol) trong DMF (110mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 4,5 giờ. Sau khi làm lạnh, hỗn hợp phản ứng được cô một phần trong chân không và sau đó, pha loãng bằng etyl axetat. Hỗn hợp tạo ra được rửa bằng nước, và sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Làm khô chất rắn tạo ra trong điều kiện chân không cao để có được 4,90 g (độ tinh khiết 92%, 10,42mmol) hợp chất mong muốn ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang mà chúng được sử dụng không cần tinh chế thêm.

LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 0,82$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 433$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): □ [ppm] 1,39 (d, 3H), 3,79-3,88 (m, 1H), 3,93-4,02 (m, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,80 (vạch năm, 1H), 4,89-5,00 (m, 2H), 5,73 (d, 1H), 6,93 (d, 1H), 7,58-7,65 (m, 2H), 7,70-7,77 (d, 2H), 13,68 (s, 1H).

Ví dụ 5A

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



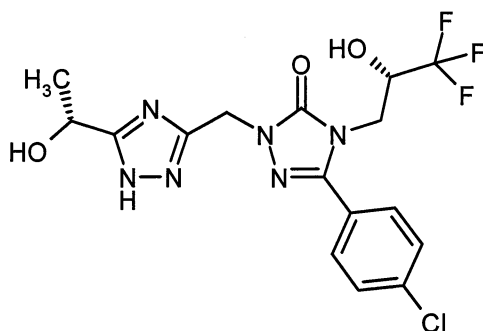
Hợp chất nêu ở tiêu đề được tổng hợp tương tự như trong ví dụ 4A khởi đầu từ (2*S*)-2-hydroxypropanimidamit hydroclorua (1,1 đương lượng), chỉ sử dụng duy nhất 1,1 đương lượng của natri etoxit ở dạng bazơ (nhiệt độ phản ứng: 100°C).

LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 0,81$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 433$ (M+H)⁺.

(2*S*)-2-hydroxypropanimidamit hydroclorua, hợp chất này có sẵn trên thị trường, cũng được tổng hợp từ (2*S*)-2-hydroxypropanamit [l-(-)-lactamit] theo phương thức được mô tả trong tài liệu WO 00/ 59510-A1 (ví dụ điều chế 11, bước A) và tài liệu WO 2013/138860-A1 (hợp chất trung gian cho tiền chất 82, trang 101-102).

Ví dụ 6A

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



Hợp chất nêu ở tiêu đề được tổng hợp tương tự như trong ví dụ 4A khởi đầu từ (2*R*)-2-hydroxypropanimidamit hydroclorua (1,1 đương lượng), chỉ sử dụng duy nhất 1,1 đương lượng của natri etoxit làm bazơ (nhiệt độ phản ứng: 100°C).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,00$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 433$ (M+H)⁺.

(2*R*)-2-hydroxypropanimidamit hydroclorua, hợp chất này có sẵn trên thị trường, cũng được tổng hợp từ (2*R*)-2-hydroxypropanamit [r-(+)-lactamit] theo

phương thức được mô tả trong tài liệu WO 00/ 59510-A1 (ví dụ điều chế 11, bước A) và tài liệu WO 2013/138860-A1 (hợp chất trung gian cho tiền chất 82, trang 101-102).

Các ví dụ điều chế:

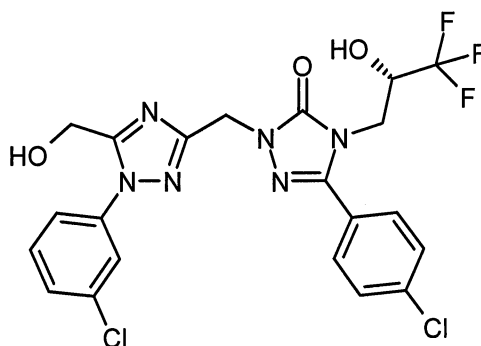
Các hợp chất ví dụ mang phần tử thế 1-hydroxyetyl [R^1 trong công thức (I) = CH_3] trong phần sau lần lượt được gọi là "chất đồng phân không đối quang 1" và "chất đồng phân không đối quang 2", là các cặp chất đồng phân không đối quang được tách mà cấu hình tuyệt đối của nó liên quan đến phần 1-hydroxyetyl (1*R* hoặc 1*S*) còn chưa được xác định.

Các giá trị về lượng dư chất đồng phân không đối quang (d.e.) được xác định theo cách thông thường bằng việc phân tích các diện tích đỉnh HPLC theo công thức sau:

$$d.e. = \left| \frac{\text{chất đồng phân không đối quang 1 (\% diện tích đỉnh)} - \text{chất đồng phân không đối quang 2 (\% diện tích đỉnh)}}{\text{chất đồng phân không đối quang 1 (\% diện tích đỉnh)} + \text{chất đồng phân không đối quang 2 (\% diện tích đỉnh)}} \right| \times 100\%$$

Ví dụ 1

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3-clophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



Bổ sung axit (3-clophenyl)boronic (298,74mg, 1,91mmol) và đồng(II) axetat (347mg, 1,91mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,96mmol) trong pyridin (12mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (74,7mg,

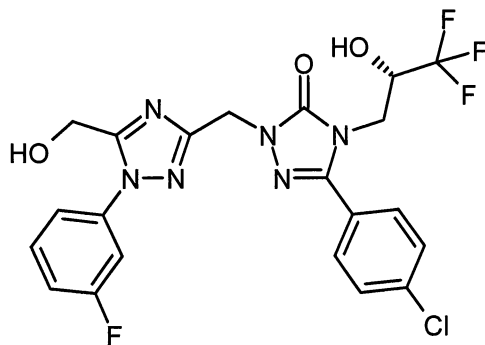
0,48mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (113mg, 0,21mmol) (hiệu suất 22,4%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,07$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 529$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,58 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,90 (br. d, 1H), 7,55-7,64 (m, 4H), 7,65-7,69 (m, 1H), 7,73-7,78 (m, 2H), 7,78-7,81 (m, 1H).

Ví dụ 2

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3-flophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



Bổ sung axit (3-flophenyl)boronic (66,83mg, 0,48mmol) và đồng(II) axetat (86,75mg, 0,48mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (100mg, 0,24mmol) trong pyridin (3mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (16,72mg, 0,12mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat,

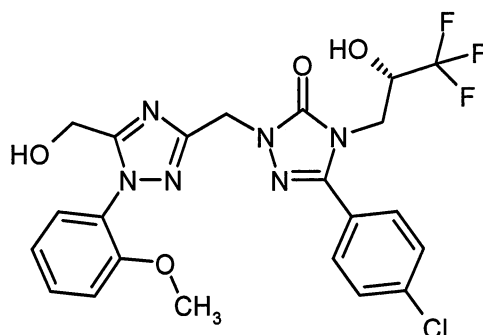
lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (25mg, 0,05mmol) (hiệu suất 20,2%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,87$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 513$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,59 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,90 (br. d, 1H), 7,37 (td, 1H), 7,51-7,66 (m, 5H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 3

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1-(2-metoxypheyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



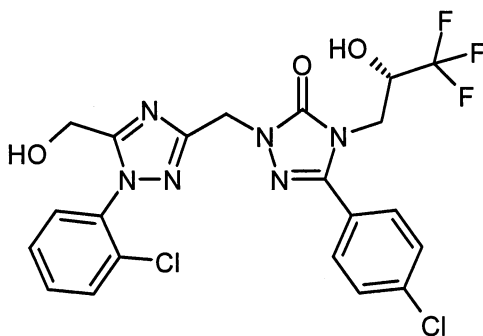
Bổ sung axit (2-metoxypheyl)boronic (217,72mg, 1,43mmol) và đồng(II) axetat (260,25mg, 1,43mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (300mg, 0,72mmol) trong pyridin (9mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (54,4mg, 0,36mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (73mg, 0,14mmol) (hiệu suất 22,4%, độ tinh khiết 98%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,18$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 525$ (M+H)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 3,77 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,31 (br. s, 1H), 4,35 (s, 2H), 5,04 (s, 2H), 6,91 (br. s, 1H), 7,09 (t, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,37 (dd, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,63 (d, 2H), 7,76 (d, 2H).

Ví dụ 4

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2-clophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



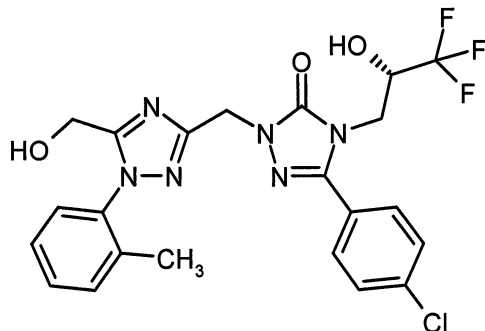
Bổ sung axit (2-clophenyl)boronic (930mg, 5,946mmol) và đồng(II) axetat (2,16 g, 11,89mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (3 g, 5,946mmol, 83% độ tinh khiết) trong pyridin (75mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, sau đó lượng dư axit boronic (500mg, 3,20mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 9 ngày. Trong thời gian này, ba phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 1,5g, 9,6mmol) được bổ sung vào đó. Sau khi bổ sung, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (1,44 g, 2,72mmol) (hiệu suất 45,7%).

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 2,79 phút; MS [ESIpos]: m/z = 529 ($M+H$) $^+$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,31 (br. s, 1H), 4,41 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 6,91 (d, 1H), 7,49-7,67 (m, 5H), 7,68-7,80 (m, 3H).

Ví dụ 5

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1-(2-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



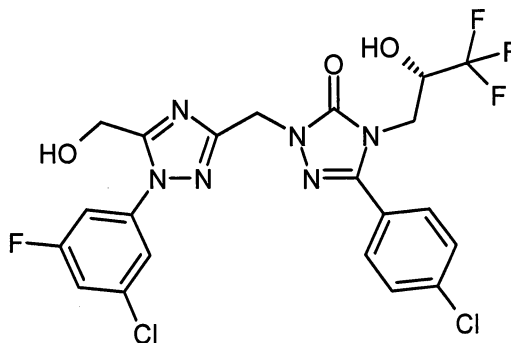
Bổ sung axit (2-metylphenyl)boronic (259,7mg, 1,91mmol) và đồng(II) axetat (347mg, 1,91mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,96mmol) trong pyridin (12mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (64,9mg, 0,48mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (58mg, 0,11mmol) (hiệu suất 11,9%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,85$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 509$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 2,01 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,34 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,32-7,50 (m, 4H), 7,62 (br. d, 2H), 7,75 (br. d, 2H).

Ví dụ 6

2-{[1-(3-clo-5-flophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



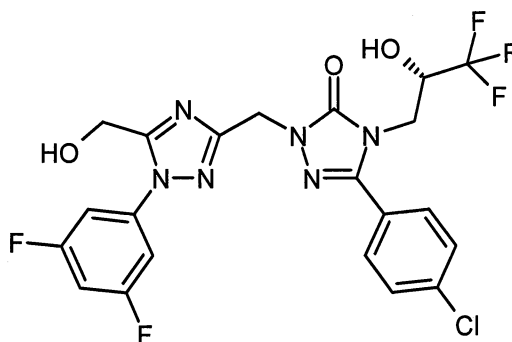
Bổ sung axit (3-clo-5-flophenyl)boronic (333,1mg, 1,91mmol) và đồng(II) axetat (347mg, 1,91mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,96mmol) trong pyridin (12mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (83,2mg, 0,48mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MTBE và sau đó, được làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (91mg, 0,17mmol) (hiệu suất 17,4%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,31$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 547$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,63 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,59-7,66 (m, 4H), 7,67-7,71 (m, 1H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 7

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3,5-diflophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



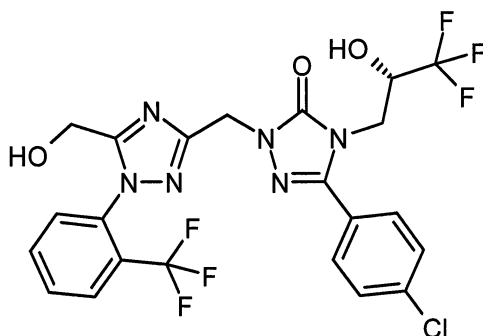
Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế tương tự như trong ví dụ 1 khởi đầu từ 360mg (0,86mmol) 5-(4-clophenyl)-2-{{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on. Thu được 61mg (0,11mmol) hợp chất mong muốn (hiệu suất 13,4%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,25$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 531$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 3,86 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,25-4,38 (m, 1H), 4,64 (d, 2H), 5,08 (s, 2H), 5,94 (t, 1H), 6,92 (d, 1H), 7,46 (tt, 1H), 7,49-7,55 (m, 2H), 7,62 (br. d, 2H), 7,76 (br. d, 2H).

Ví dụ 8

5-(4-clophenyl)-2-({[5-(hydroxymetyl)-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



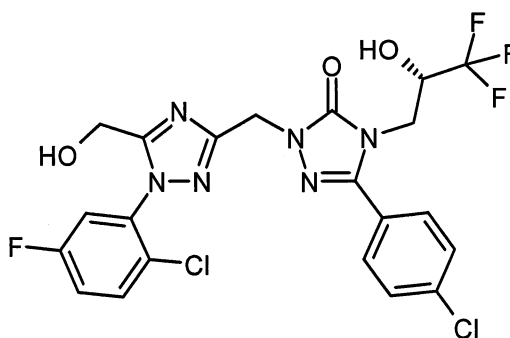
Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế tương tự như trong ví dụ 1 khởi đầu từ 500mg (1,19mmol) 5-(4-clophenyl)-2-{{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on. Thu được 104mg (0,18mmol) hợp chất mong muốn (hiệu suất 15,5%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,24$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 563$ ($M+H$)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,39 (s, 2H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,53 (br. s, 1H), 6,92 (d, 1H), 7,63 (d, 2H), 7,70 (d, 1H), 7,75 (d, 2H), 7,78-7,91 (m, 2H), 7,97 (d, 1H).

Ví dụ 9

2-{[1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



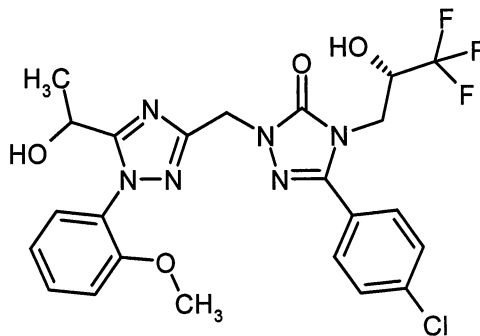
Hợp chất nêu ở tiêu đề được điều chế tương tự như trong ví dụ 1 khởi đầu từ 500mg (1,19mmol) 5-(4-clophenyl)-2-{[5-(hydroxymetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on. Thu được 8,7mg (0,02mmol) hợp chất mong muốn (hiệu suất 1,3%, độ tinh khiết 95%).

LC/MS [phương pháp 3]: R_t = 1,23 phút; MS [ESIpos]: m/z = 547 ($M+H$) $^+$

^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 3,86 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,46 (s, 2H), 5,03-5,11 (m, 2H), 6,92 (br. d, 1H), 7,53 (td, 1H), 7,61-7,65 (m, 2H), 7,68 (dd, 1H), 7,73-7,80 (m, 3H).

Ví dụ 10

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1-(2-metoxyphephenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2-metoxyphenyl)boronic (351,1mg, 2,31mmol) và đồng(II) axetat (419,7mg, 2,31mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (500mg, 1,16mmol) trong pyridin (15mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (87mg, 0,58mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (132mg, 0,22mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 19,1%, độ tinh khiết 90%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,87$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 539$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,36 (d, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,47-4,61 (m, 1H), 4,98-5,10 (m, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,09 (td, 1H), 7,24 (dd, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,49-7,55 (m, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,73-7,79 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: 128mg được hòa tan trong 10mL metanol; thể tích bơm: 0,3mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/metanol tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 80mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 210 nm]. Sau khi tách, 43,6mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 11) được rửa

giải trước, và 45,1mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 12) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 11

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-(2-metoxyphephenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 3,08$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% → 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,36 (d, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,52 (vạch năm, 1H), 4,96-5,11 (m, 2H), 5,37 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,09 (td, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,73-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 12

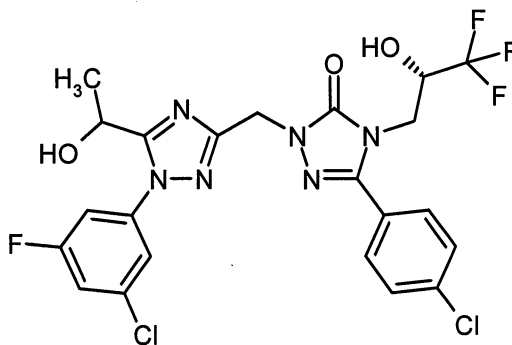
5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-(2-metoxyphephenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 3,38$ phút, d.e. = 91,1% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% → 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\square$ [ppm] 1,36 (d, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,31 (br. s, 1H), 4,52 (vạch năm, 1H), 4,99-5,09 (m, 2H), 5,37 (d, 1H), 6,91 (d, 1H), 7,09 (td, 1H), 7,24 (d, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,74-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 13

2-({1-(3-clo-5-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-clo-5-flophenyl)boronic (346,49mg, 1,99mmol) và đồng(II) axetat (360,9mg, 1,99mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (430mg, 0,99mmol) trong pyridin (12,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (86,7mg, 0,497mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (148mg, 0,26mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 26,5%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,28$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,29 (br. s, 1H), 4,83-4,91 (m, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,55-7,70 (m, 5H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng (SFC) [điều chế mẫu: 143mg được hòa tan trong 15mL metanol; thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 80mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 210 nm]. Sau khi tách, 70mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 14) được rửa giải trước, và 60mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 15) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 14

2- $\{[1-(3\text{-clo-5-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clo-phenyl)-4- $[(2S)\text{-}3,3,3\text{-triflo-2-hydroxypropyl}]$ -2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 4,45$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% $\rightarrow$ 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,87 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,83 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,58-7,69 (m, 5H), 7,71-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 15

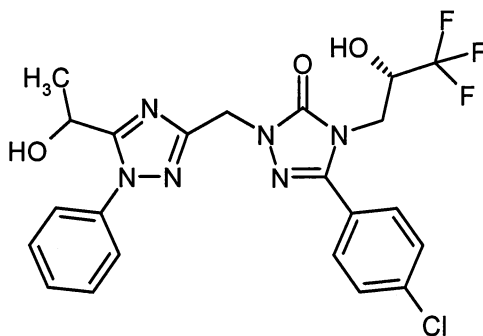
2- $\{[1-(3\text{-clo-5-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clo-phenyl)-4- $[(2S)\text{-}3,3,3\text{-triflo-2-hydroxypropyl}]$ -2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 4,80$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% $\rightarrow$ 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,87 (vạch năm, 1H), 5,02-5,12 (m, 2H), 5,83 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,57-7,70 (m, 5H), 7,71-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 16

5-(4-clophenyl)-2- $\{5-[(1RS)\text{-}1\text{-hydroxyetyl}]\text{-}1\text{-phenyl-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-3-yl}\}metyl\}$ -4- $[(2S)\text{-}3,3,3\text{-triflo-2-hydroxypropyl}]$ -2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit phenylboronic (112,69mg, 0,92mmol) và đồng(II) axetat (167,9mg, 0,92mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (250mg, 0,462mmol, độ tinh khiết 80%) trong pyridin (6mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (28,2mg, 0,23mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau thời gian 4 giờ nữa ở nhiệt độ 60°C, tiếp theo bằng cách khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian hai ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (42,5mg, 0,08mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 18,1%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,21$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 509$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,45 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,77 (q, 1H), 4,99-5,13 (m, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,47-7,66 (m, 7H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 38,9mg trong 1mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 75:25; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 13mg chất đồng phân không đối quang 1

(ví dụ 17) được rửa giải trước, và 14mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 18) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 17

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 8,18$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,45 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,77 (vạch năm, 1H), 4,98-5,14 (m, 2H), 5,68 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,48-7,65 (m, 7H), 7,72-7,80 (m, 2H).

Ví dụ 18

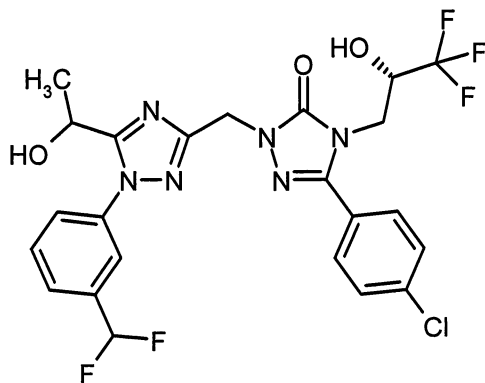
5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-phenyl-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 11,40$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,45 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,77 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,68 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,47-7,65 (m, 7H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 19

5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometyl)phenyl]-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit [3-(diflometyl)phenyl]boronic (254,26mg, 1,48mmol) và đồng(II) axetat (268,6mg, 1,48mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,74mmol, độ tinh khiết 80%) trong pyridin (9,6mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (47mg, 0,08mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 11,3%).

LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 1,04$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 559$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,81 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 5,74 (br. s, 1H), 6,89 (br. s, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,69-7,78 (m, 4H), 7,81-7,87 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 45mg trong 1mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 75:25; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 20mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 20) được rửa giải trước, và 20mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 21) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 20

5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometyl)phenyl]-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 6,72$ phút, d.e. = 99% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,81 (vạch năm, 1H), 5,02-5,14 (m, 2H), 5,74 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,14 (t, 1H), 7,59-7,64 (m, 2H), 7,69-7,79 (m, 4H), 7,80-7,87 (m, 2H).

Ví dụ 21

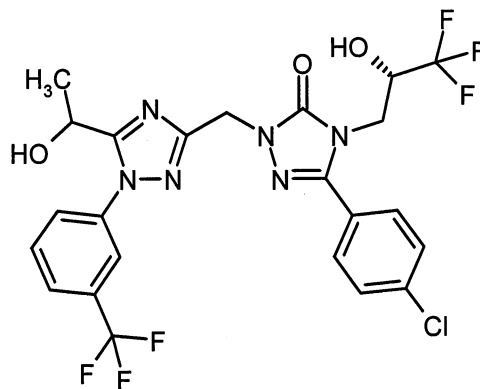
5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometyl)phenyl]-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 9,36$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,37 (m, 1H), 4,81 (vạch năm, 1H), 5,08 (s, 2H), 5,74 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,13 (t, 1H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,69-7,79 (m, 4H), 7,81-7,87 (m, 2H).

Ví dụ 22

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1-[3-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit [3-(triflometyl)phenyl]boronic (280,86mg, 1,48mmol) và đồng(II) axetat (268,6mg, 1,48mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,74mmol, 80% độ tinh khiết) trong pyridin (9,6mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (70,2mg, 0,37mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau thời gian 4 giờ nữa ở nhiệt độ 60°C, tiếp theo bằng cách khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (58,2mg, 0,10mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 13,6%).

LC/MS [phương pháp 1]: $R_t = 1,06$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,83 (q, 1H), 5,02-5,15 (m, 2H), 5,79 (br. s, 1H), 6,85-6,94 (m, 1H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,71-7,85 (m, 3H), 7,86-7,92 (m, 1H), 7,94-8,01 (m, 1H), 8,04 (s, 1H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 58mg trong 2mL ethanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/ethanol theo tỷ lệ 75:25; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C;

phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 19,5mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 23) được rửa giải trước, và 19,2mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 24) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 23

5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[3-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 4,94$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,83 (q, 1H), 5,03-5,13 (m, 2H), 5,79 (br. s, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,85 (m, 3H), 7,86-7,92 (m, 1H), 7,95-8,01 (m, 1H), 8,04 (br. s, 1H).

Ví dụ 24

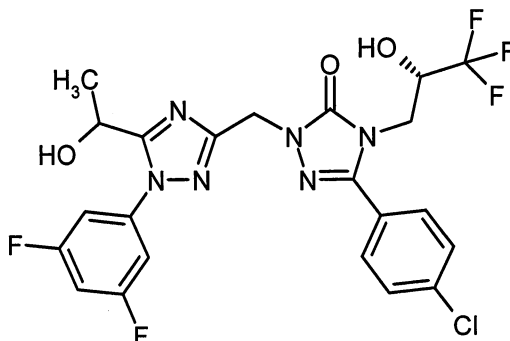
5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[3-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 6,13$ phút, d.e. = 98,6% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,83 (vạch năm, 1H), 5,09 (s, 2H), 5,78 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,62 (d, 2H), 7,71-7,77 (m, 2H), 7,78-7,85 (m, 1H), 7,86-7,92 (m, 1H), 7,94-8,01 (m, 1H), 8,04 (br. s, 1H).

Ví dụ 25

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3,5-diflophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit (3,5-diflophenyl)boronic (291,9mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,7mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (72,98mg, 0,46mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau thời gian 2 giờ nữa ở nhiệt độ 60°C, tiếp theo bằng cách khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (114,3mg, 0,21mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 22,7%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,28$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 545$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,49 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,88 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,41-7,54 (m, 3H), 7,62 (d, 2H), 7,75 (d, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 110mg trong 7mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 0,6mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 20mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 42mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 26) được rửa giải trước, và 44mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 27) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 26

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3,5-diflophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,10$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 545$ (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 1,09$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,49 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,88 (vạch năm, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 5,84 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,41-7,54 (m, 3H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,73-7,76 (m, 2H).

Ví dụ 27

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3,5-diflophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

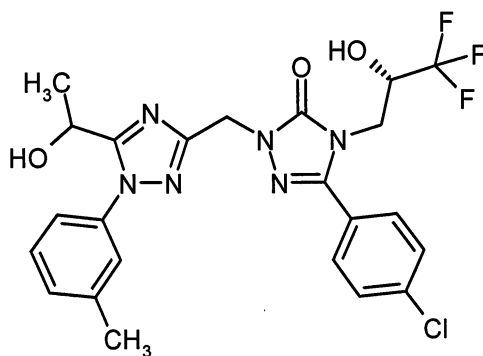
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,09$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 545$ (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 1,28$ phút, d.e. = 99% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,88 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,83 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,42-7,54 (m, 3H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 28

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1-(3-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-metylphenyl)boronic (251,32mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,7mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (59,6mg, 0,11mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 12,3%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,44 (d, 3H), 2,38 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,29 (br. s, 1H), 4,76 (q, 1H), 5,01-5,11 (m, 2H), 5,66 (br. s, 1H), 6,90 (t, 1H), 7,29-7,35 (m, 1H), 7,38-7,47 (m, 3H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 56mg trong 2mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 22mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 29) được rửa giải trước, và 24mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 30) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 29

5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-(3-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 7,97$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,44 (d, 3H), 2,38 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,76 (vạch năm, 1H), 5,00-5,11 (m, 2H), 5,67 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,30-7,35 (m, 1H), 7,38-7,47 (m, 3H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 30

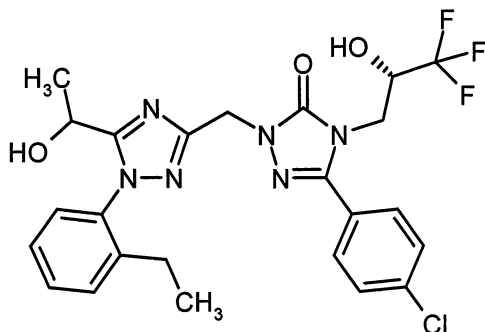
5-(4-clophenyl)-2-{[5-(1-hydroxyetyl)-1-(3-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 11,44$ phút, d.e. = 99,1% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,44 (d, 3H), 2,38 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,77 (vạch năm, 1H), 5,01-5,10 (m, 2H), 5,67 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,29-7,35 (m, 1H), 7,38-7,47 (m, 3H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,73-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 31

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-etylphenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2-etylphenyl)boronic (415,87mg, 2,77mmol) và đồng(II) axetat (503,6mg, 2,77mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (600mg, 1,39mmol) trong pyridin (18mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (69,4mg, 0,13mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 9,1%).

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 3,16 phút; MS [ESIpos]: m/z = 537 ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 0,98 (t, 3H), 1,37 (d, 3H), 2,27 (qd, 2H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,21-4,37 (m, 1H), 4,52 (q, 1H), 5,00-5,13 (m, 2H), 5,48 (br. s, 1H), 6,90 (dd, 1H), 7,32-7,40 (m, 2H), 7,41-7,54 (m, 2H), 7,58-7,65 (m, 2H), 7,70-7,77 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 65mg trong 4mL etanol/isohexan (tỷ

lệ 1:1); thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 50:50; tốc độ dòng: 20mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 25mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 32) được rửa giải trước, và 25mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 33) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 32

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2-etylphenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,15$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 537$ (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 0,96$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol tỷ lệ 50:50; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 0,98 (t, 3H), 1,37 (d, 3H), 2,27 (qd, 2H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,52 (vạch năm, 1H), 5,00-5,12 (m, 2H), 5,48 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,32-7,40 (m, 2H), 7,42-7,53 (m, 2H), 7,59-7,66 (m, 2H), 7,71-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 33

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2-etylphenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,15$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 537$ (M+H)⁺

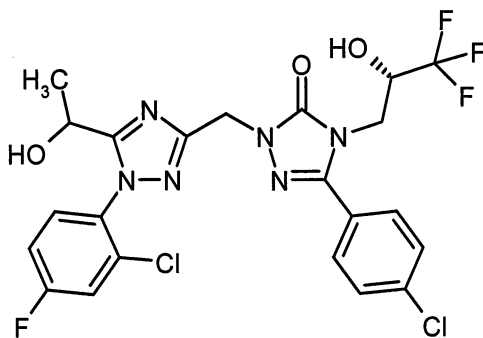
Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 1,09$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol tỷ lệ 50:50; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 0,98 (t, 3H), 1,37 (d, 3H), 2,27 (qd, 2H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,52 (vạch năm, 1H), 5,07 (s,

2H), 5,48 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,32-7,40 (m, 2H), 7,42-7,54 (m, 2H), 7,59-7,66 (m, 2H), 7,71-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 34

2-({1-(2-clo-4-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2-clo-4-flophenyl)boronic (483mg, 2,77mmol) và đồng(II) axetat (503,6mg, 2,77mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (600mg, 1,39mmol) trong pyridin (18mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (242mg, 1,39mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 ngày. Trong thời gian này, hai phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 483mg, 2,77mmol) được bổ sung vào đó. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (107mg, 0,19mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 13,7%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,02$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ ($M+H$)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,57-4,67 (m, 1H), 5,00-5,12 (m, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,42 (td, 1H), 7,57-7,79 (m, 6H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 104mg trong 5mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 20mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 56mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 35) được rửa giải trước, và 29mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 36) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 35

2- $\{[1-(2\text{-clo-4-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H-1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 1,36 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μm , 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,61 (vạch năm, 1H), 5,01-5,11 (m, 2H), 5,51 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,42 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,66-7,72 (m, 1H), 7,72-7,78 (m, 3H).

Ví dụ 36

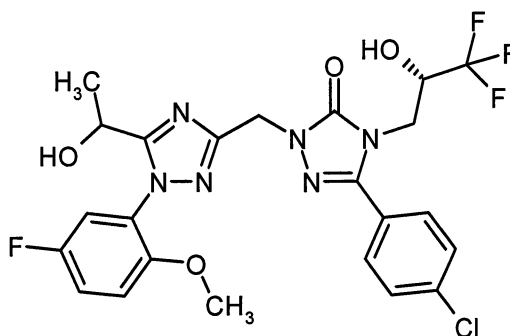
2- $\{[1-(2\text{-clo-4-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H-1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 1,72 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μm , 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,37 (m, 1H), 4,61 (vạch năm, 1H), 5,06 (s, 2H), 5,51 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,42 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,66-7,72 (m, 1H), 7,72-7,78 (m, 3H).

Ví dụ 37

5-(4-clophenyl)-2-({1-(5-flo-2-metoxypheyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit (5-flo-2-metoxypheyl)boronic (471,22mg, 2,77mmol) và đồng(II) axetat (503,6mg, 2,77mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (600mg, 1,39mmol) trong pyridin (18mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (62,2mg, 0,11mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 8,1%).

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 2,93 phút; MS [ESIpos]: m/z = 557 ($M+H$) $^+$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,37 (d, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,80-3,89 (m, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,52-4,62 (m, 1H), 4,99-5,04 (m, 2H), 6,90

(t, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,37-7,44 (m, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,73-7,78 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 55,4mg trong 6mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 2mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 20mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 23mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 38) được rửa giải trước, và 21mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 39) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 38

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(5-flo-2-metoxyphephenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 2,91 phút; MS [ESIpos]: m/z = 557 (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 2,13 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,37 (d, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,81-3,89 (m, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,25-4,35 (m, 1H), 4,53-4,62 (m, 1H), 4,99-5,10 (m, 2H), 5,40 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,41 (td, 1H), 7,60-7,66 (m, 2H), 7,73-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 39

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(5-flo-2-metoxyphephenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

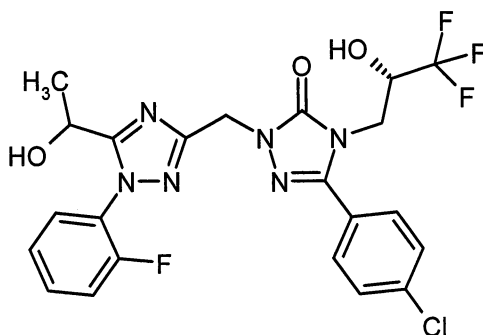
LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 2,90 phút; MS [ESIpos]: m/z = 557 (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 2,75$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,37 (d, 3H), 3,75 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,57 (vạch năm, 1H), 4,99-5,10 (m, 2H), 5,40 (d, 1H), 6,91 (d, 1H), 7,26 (dd, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,41 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,73-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 40

5-(4-clophenyl)-2-($\{1-(2\text{-flophenyl})-5-[(1R\text{S})-1\text{-hydroxyetyl}]-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}\}$ -metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2-flophenyl)boronic (387,96mg, 2,77mmol) và đồng(II) axetat (503,6mg, 2,77mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-($\{5-[(1R\text{S})-1\text{-hydroxyetyl}]-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}\}$ -metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (600mg, 1,39mmol) trong pyridin (18mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 ngày. Trong thời gian này, hai phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 387,96mg, 2,77mmol) được bổ sung vào đó. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (30,1mg, 0,06mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 4,1%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,84$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 527 (M+H)^+$

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,29 (br. s, 1H), 4,69 (q, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,57-7,66 (m, 4H), 7,71-7,80 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 26mg trong 4mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 2mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 25mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 11mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 41) được rửa giải trước, và 9mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 42) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 41

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,83$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 527 (M+H)^+$

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 2,32$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μ m, 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,69 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,57-7,66 (m, 4H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 42

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

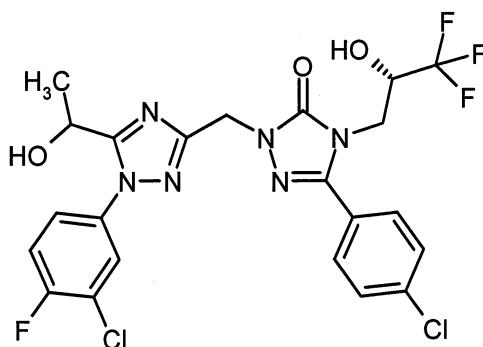
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,82$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 527 (M+H)^+$

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 3,23$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μm , 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,69 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,57-7,67 (m, 4H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Ví dụ 43

2-({1-(3-clo-4-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-clo-4-flophenyl)boronic (322,6mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,7mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (99,1mg, 0,18mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 19,1%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,31$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ ($M+H$) $^+$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,46 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,80 (q, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 6,90 (br. s, 1H), 7,59-7,70 (m, 4H), 7,72-7,78 (m, 2H), 7,93 (dd, 1H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 97,1mg trong 3mL etanol; thể tích bơm: 0,3mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 40mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 44) được rửa giải trước, và 42mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 45) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 44

2- $\{[1-(3\text{-clo-4-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H-1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 3,22 phút; MS [ESIpos]: m/z = 561 (M+H) $^+$

Phương pháp HPLC điều chế không đối xứng: R_t = 9,97 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,46 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,22-4,36 (m, 1H), 4,80 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,75 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,58-7,70 (m, 4H), 7,71-7,78 (m, 2H), 7,93 (dd, 1H).

Ví dụ 45

2- $\{[1-(3\text{-clo-4-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H-1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

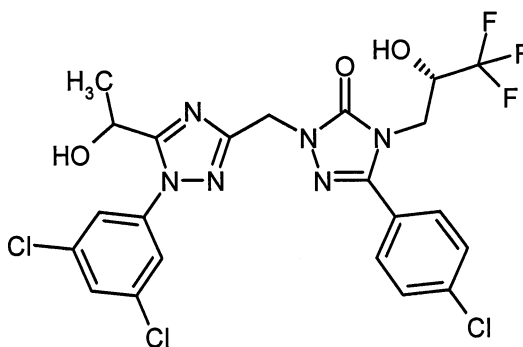
LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 3,22 phút; MS [ESIpos]: m/z = 561 (M+H) $^+$

Phương pháp HPLC điều chế không đối xứng: $R_t = 11,35$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,46 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,25-4,35 (m, 1H), 4,81 (vạch năm, 1H), 5,06 (s, 2H), 5,74 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,59-7,70 (m, 4H), 7,73-7,78 (m, 2H), 7,93 (dd, 1H).

Ví dụ 46

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3,5-diclophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3,5-diclophenyl)boronic (352,73mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,7mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (105,5mg, 0,18mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 19,8%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,39$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ ($M+H$)⁺

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,82-4,90 (m, 1H), 5,02-5,12 (m, 2H), 6,84-6,94 (m, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,82 (m, 5H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 103,5mg trong 14mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 2mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 20mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 29,2mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 47) được rửa giải trước, và 28,9mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 48) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 47

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3,5-diclophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 1,49 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μm , 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,86 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,82 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,72-7,82 (m, 5H).

Ví dụ 48

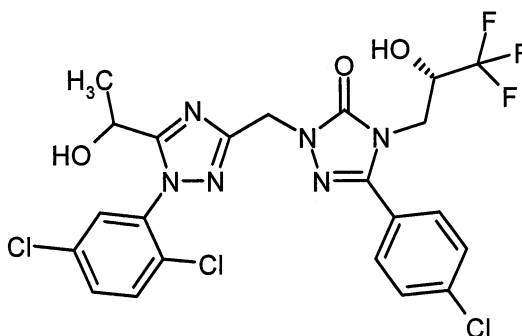
5-(4-clophenyl)-2-{[1-(3,5-diclophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 2,02 phút, d.e. = 99,8% [cột: Daicel Chiralpack OX-3 3 μm , 50 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,48 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,86 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,82 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,72-7,81 (m, 5H).

Ví dụ 49

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2,5-diclophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2,5-diclophenyl)boronic (352,73mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian ba ngày, sau đó lượng dư axit boronic (100mg, 0,52mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày. Trong thời gian này, phần axit boronic khác (100mg, 0,52mmol) được bổ sung vào đó. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (52,8mg, 0,09mmol, độ tinh khiết 97%) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 9,6%).

LC/MS [phương pháp 3]: R_t = 1,33 phút; MS [ESIpos]: m/z = 577 ($M+H$) $^+$

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,63-4,72 (m, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,67-7,78 (m, 4H), 7,81 (br. d, 1H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng (SFC) [điều chế mẫu: Hòa tan 50mg trong 10mL metanol; thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μm , 250 x 20mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol tỷ lệ 82:18; tốc độ dòng: 80mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 210 nm]. Sau khi tách, 20,3mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 50) được rửa giải trước, và 24,1mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 51) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 50

5-(4-clophenyl)-2- $\{[1-(2,5\text{-diclophenyl})\text{-}5\text{-(1-hydroxyetyl)}\text{-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl)]\text{metyl}\}$ -4- $[(2S)\text{-}3,3,3\text{-triflo-}2\text{-hydroxypropyl}]\text{-}2,4\text{-dihydro-}3H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-on}$ (chất đồng phân không đối quang 1)

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,30$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ (M+H) $^+$

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 2,87$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3, 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% $\rightarrow$ 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,67 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,67-7,78 (m, 4H), 7,81 (br. d, 1H).

Ví dụ 51

5-(4-clophenyl)-2- $\{[1-(2,5\text{-diclophenyl})\text{-}5\text{-(1-hydroxyetyl)}\text{-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl)]\text{metyl}\}$ -4- $[(2S)\text{-}3,3,3\text{-triflo-}2\text{-hydroxypropyl}]\text{-}2,4\text{-dihydro-}3H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-on}$ (chất đồng phân không đối quang 2)

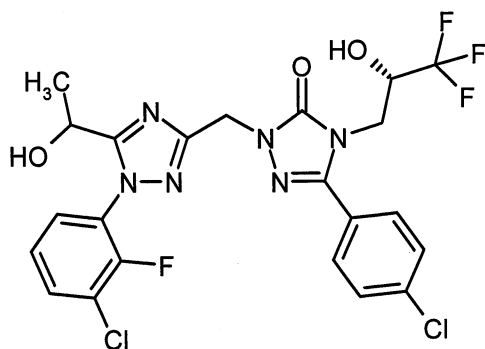
LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,30$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ (M+H) $^+$

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 3,11$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3, 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% → 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,67 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,66-7,78 (m, 4H), 7,81 (br. d, 1H).

Ví dụ 52

2-({1-(3-clo-2-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-clo-4-flophenyl)boronic (322,31mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-2-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 12 ngày. Trong thời gian này, lượng dư axit boronic (tổng cộng 322,31mg, 1,85mmol) được bổ sung theo từng phần theo kiểu hàng ngày. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (15,9mg, 0,03mmol, độ

tinh khiết 97%) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 3%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,12$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ (M+H)⁺

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,75 (q, 1H), 5,02-5,12 (m, 2H), 5,57 (br. s, 1H), 6,89 (br. d, 1H), 7,40 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 3H), 7,72-7,77 (m, 2H), 7,81 (ddd, 1H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 14mg trong 1mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 6mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 53) được rửa giải trước, và 6mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 54) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 53

2- $\{[1-(3\text{-clo-2-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}]metyl\}$ -5-(4-clo-phenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,14$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 5,49$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,34 (m, 1H), 4,75 (vạch năm, 1H), 5,03-5,11 (m, 2H), 5,57 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,40 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 3H), 7,73-7,77 (m, 2H), 7,81 (ddd, 1H).

Ví dụ 54

2-{[1-(3-clo-2-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

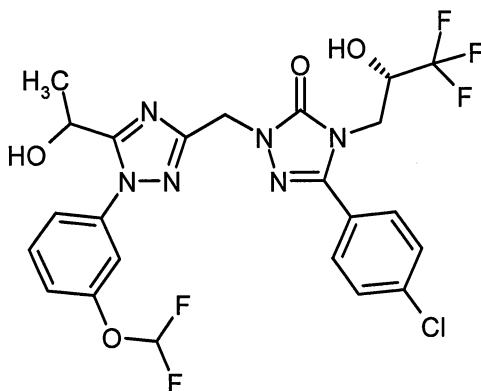
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,13$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ ($M+H$)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 6,16$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,25-4,34 (m, 1H), 4,75 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,57 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,40 (td, 1H), 7,60-7,65 (m, 3H), 7,73-7,77 (m, 2H), 7,81 (ddd, 1H).

Ví dụ 55

5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometoxy)phenyl]-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit [3-(diflometoxy)phenyl]boronic (347,40mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày, sau đó lượng dư axit boronic

(100mg, 0,53mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian hai ngày nữa. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng ethyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng ethyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (60,3mg, 0,10mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 11,4%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,28$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 575$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,25-4,35 (m, 1H), 4,78-4,85 (m, 1H), 5,03-5,12 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,31-7,35 (m, 1H), 7,48-7,56 (m, 2H), 7,59-7,65 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 58mg trong 2mL etanol; thể tích bơm: 0,7mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 20,7mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 56) được rửa giải trước, và 17,7mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 57) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 56

5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometoxy)phenyl]-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 5,57$ phút, d.e. = 98,7% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,81 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 6,88 (br. s, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,30-7,35 (m, 1H), 7,48-7,56 (m, 2H), 7,59-7,65 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 57

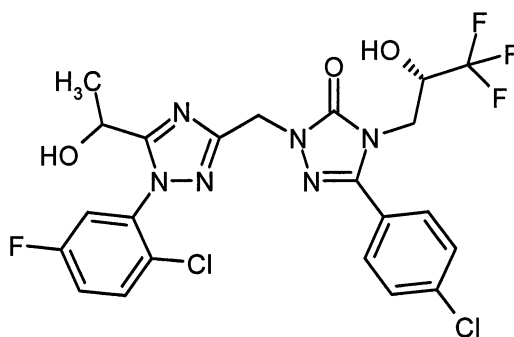
5-(4-clophenyl)-2-({1-[3-(diflometoxy)phenyl]-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 6,70 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,82 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,75 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,33 (t, 1H), 7,30-7,35 (m, 1H), 7,48-7,56 (m, 2H), 7,59-7,65 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 58

2-({1-(2-clo-5-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-clo-4-flophenyl)boronic (322,31mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-2-[(2*S*)-3,3,2-triflo-5-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt

hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 ngày. Trong thời gian này, lượng dư axit boronic (tổng cộng 322,31mg, 1,85mmol) được bổ sung theo từng phần theo kiểu hàng ngày. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng etyl axetat và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng etyl axetat. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (61mg, 0,11mmol, độ tinh khiết 98%) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 11,5%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,02$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,63-4,72 (m, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 5,52 (br. s, 1H), 6,90 (dd, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,60-7,69 (m, 3H), 7,73-7,79 (m, 3H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 58mg trong 3mL etanol/isohexan (tỷ lệ 2:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 25°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 25mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 59) được rửa giải trước, và 25mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 60) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 59

2- $\{[1-(2\text{-clo-5-flophenyl})-5-(1\text{-hydroxyetyl})-1H-1,2,4\text{-triazol-3-yl}]metyl\}$ -5-(4-clo-phenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 1*)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,02$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ (M+H)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 5,43$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,67 (vạch năm, 1H), 5,01-5,12 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,60-7,68 (m, 3H), 7,72-7,79 (m, 3H).

Ví dụ 60

2-([1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

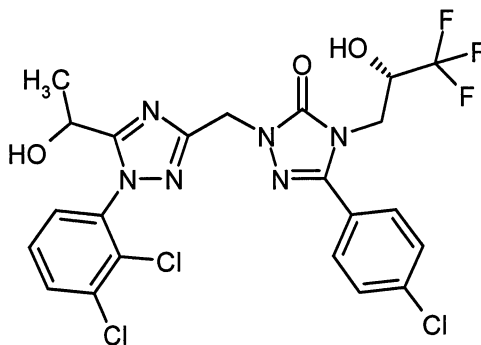
LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 3,02 phút; MS [ESIpos]: m/z = 561 ($M+H$) $^+$

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 6,11 phút, d.e. = 100%
[cột: Daicel Chiralcel[®] OX-H 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,67 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,52 (td, 1H), 7,60-7,68 (m, 3H), 7,73-7,79 (m, 3H).

Ví dụ 61

5-(4-clophenyl)-2-([1-(2,3-diclophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2,3-diclophenyl)boronic (176,36mg, 0,92mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-([5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-

dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (500mg, 0,92mmol, 80% độ tinh khiết) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 1 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ, sau đó lượng dư axit boronic (80mg, 0,42mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày. Trong thời gian này, hai phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 160mg, 0,84mmol) được bổ sung vào đó. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (148mg, 0,25mmol, độ tinh khiết 97,3%) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 27%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,19$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ (M+H)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,39 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,60-4,71 (m, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 5,52 (br. s, 1H), 6,89 (dd, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,59-7,66 (m, 3H), 7,73-7,78 (m, 2H), 7,87 (dd, 1H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng (SFC) [điều chế mẫu: Hòa tan 141mg trong 18mL metanol; thể tích bơm: 0,3mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 80mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 210 nm]. Sau khi tách, 58,5mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 62) được rửa giải trước, và 53mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 63) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 62

5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2,3-diclophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,21$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ (M+H)⁺; 95% độ tinh khiết

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 3,09$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% → 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,39 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,65 (br. s, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 5,52 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,59-7,66 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H), 7,87 (dd, 1H).

Ví dụ 63

5-(4-clophenyl)-2-([1-(2,3-diclophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

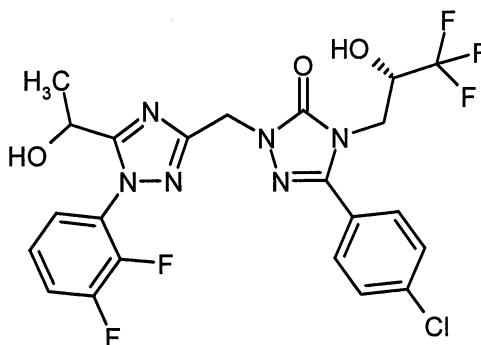
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,20$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577$ (M+H)⁺; 95% độ tinh khiết

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng (SFC): $R_t = 3,38$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-3 250 x 4mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol (5% → 60%); tốc độ dòng: 3ml/phút; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,39 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,65 (br. s, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,52 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,59-7,66 (m, 3H), 7,72-7,79 (m, 2H), 7,87 (dd, 1H).

Ví dụ 64

5-(4-clophenyl)-2-([1-(2,3-diflophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2,3-diflophenyl)boronic (156,89mg, 0,99mmol) và đồng(II) axetat (360,94mg, 1,99mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (430mg, 0,99mmol) trong pyridin (12,5mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 1 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ, sau đó lượng dư axit boronic (80mg, 0,51mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày. Trong thời gian này, 5 phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 400mg, 2,54mmol) được bổ sung. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (44mg, 0,08mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 8,1%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,97$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 545$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,76 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,35-7,43 (m, 1H), 7,45-7,51 (m, 1H), 7,59-7,71 (m, 3H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 40mg trong 1mL etanol; thể tích bơm: 0,5mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 18mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 65) được rửa giải trước, và 16mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 66) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 65

5-(4-clophenyl)-2-[[1-(2,3-diflophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 5,74$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,76 (vạch năm, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 5,58 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,35-7,44 (m, 1H), 7,45-7,52 (m, 1H), 7,59-7,72 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 66

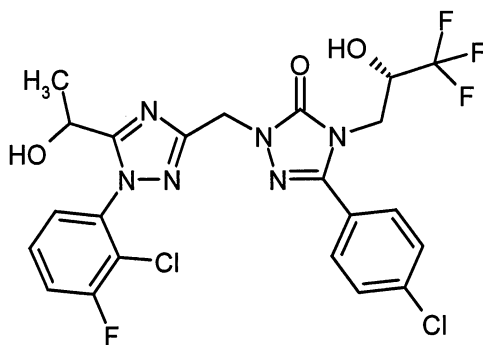
5-(4-clophenyl)-2-{[1-(2,3-diflophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 6,59$ phút, d.e. = 99,2% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,42 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,76 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,58 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,35-7,43 (m, 1H), 7,44-7,51 (m, 1H), 7,59-7,72 (m, 3H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 67

2-{[1-(2-clo-3-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 1)



Bổ sung axit (2-clo-3-flophenyl)boronic (161,15mg, 0,92mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (500mg, 0,92mmol, độ tinh khiết 80%) trong pyridin (12mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 1 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ, sau đó lượng dư axit boronic (75mg, 0,43mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày. Trong thời gian này, 5 phần axit boronic bổ sung (tổng cộng 375mg, 2,15mmol) được bổ sung. Sau khi bổ sung, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và 91mg hợp chất mong muốn ở dạng hỗn hợp chất đồng phân không đối quang còn chứa một số tạp chất được phân tách.

Tinh chế thêm bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng tạo ra hai chất đồng phân không đối quang tách riêng tinh khiết [điều chế mẫu: Hòa tan 90mg trong 3mL etanol; thể tích bơm: 0,3mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 20mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 67) được rửa giải trước, và 21mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 68) được rửa giải sau, được tách riêng.

LC/MS [phương pháp 2]: R_t = 3,01 phút; MS [ESIpos]: m/z = 561 ($M+H$)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 6,22 phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,39 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,66 (vạch năm, 1H), 5,01-5,14 (m, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,48-7,70 (m, 5H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 68

2-([1-(2-clo-3-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl]metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*chất đồng phân không đối quang 2*)

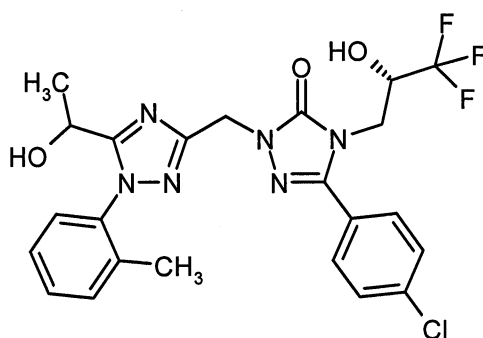
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,01$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 561$ ($M+H$)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 7,94$ phút, d.e. = 100% [cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30 + TFA 0,2% và 1% nước; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,40 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,66 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,53 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,49-7,70 (m, 5H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 69

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1-(2-metylphenyl)-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit (3-metylphenyl)boronic (251,32mg, 1,85mmol) và đồng(II) axetat (335,75mg, 1,85mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,2-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (400mg, 0,92mmol) trong pyridin (12mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (62,8mg, 0,46mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy trong thời gian hai ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng trong

chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (100mg, 0,17mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 17,2%, 90% độ tinh khiết).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,24$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 523$ ($M+H$)⁺

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 98mg trong 2mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 75:25; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 37mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 70) được rửa giải trước, và 39mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 71) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 70

5-(4-clophenyl)-2- $\{[5-(1\text{-hydroxyetyl})-1-(2\text{-metylphenyl})-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}]metyl\}$ -4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,24$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 523$ ($M+H$)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 7,65$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,36 (d, 3H), 1,98 (s, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,35 (m, 1H), 4,54 (vạch năm, 1H), 5,00-5,12 (m, 2H), 5,48 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,31-7,49 (m, 4H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,71-7,77 (m, 2H).

Ví dụ 71

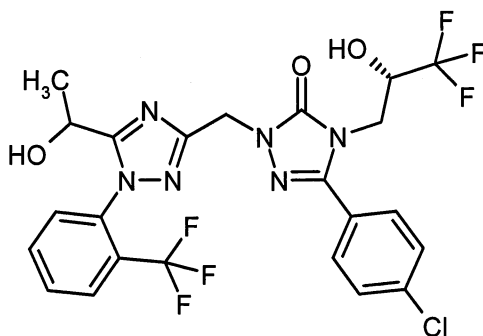
5-(4-clophenyl)-2- $\{[5-(1\text{-hydroxyetyl})-1-(2\text{-metylphenyl})-1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}]metyl\}$ -4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 10,27$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,37 (d, 3H), 1,98 (s, 3H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,54 (vạch năm, 1H), 5,06 (s, 2H), 5,48 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,31-7,49 (m, 4H), 7,58-7,66 (m, 2H), 7,71-7,78 (m, 2H).

Ví dụ 72

5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (*hỗn hợp chất đồng phân không đối quang*)



Bổ sung axit [3-(triflometyl)phenyl]boronic (421,30mg, 2,22mmol) và đồng(II) axetat (402,9mg, 2,22mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,2-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (600mg, 1,11mmol, 80% độ tinh khiết) trong pyridin (14,5mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (105mg, 0,55mmol, 0,5 đương lượng) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy thêm ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (80mg) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 12,4%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,19$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 577 (M+H)^+$

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 78mg trong 2mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 75:25; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 34mg chất đồng phân không đối quang 1 (ví dụ 73) được rửa giải trước, và 30mg chất đồng phân không đối quang 2 (ví dụ 74) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 73

5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 1)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 6,16$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,36 (d, 3H), 3,84 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,57 (vạch năm, 1H), 4,99-5,12 (m, 2H), 5,50 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,59-7,65 (m, 2H), 7,66-7,71 (m, 1H), 7,72-7,76 (m, 2H), 7,77-7,90 (m, 2H), 7,93-7,99 (m, 1H).

Ví dụ 74

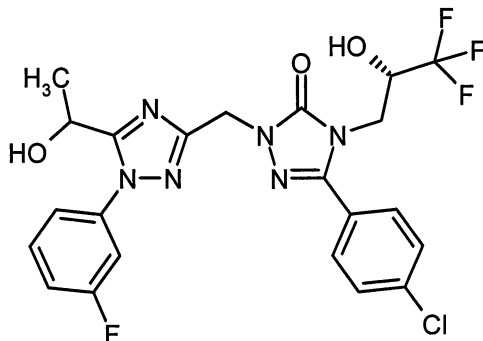
5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on
(chất đồng phân không đối quang 2)

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 8,67$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,36 (d, 3H), 3,84 (dd, 1H), 3,99 (dd, 1H), 4,24-4,35 (m, 1H), 4,54-4,62 (m, 1H), 5,05 (s, 2H), 5,50 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,67-7,71 (m, 1H), 7,72-7,90 (m, 4H), 7,93-7,98 (m, 1H).

Ví dụ 75

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-flophenyl)boronic (222,432mg, 1,59mmol) và đồng(II) axetat (288,75mg, 1,59mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (430mg, 0,795mmol, 80% độ tinh khiết) trong pyridin (10mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (55,6mg, 0,40mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng lại được gia nhiệt tới nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ, tiếp theo bằng cách khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (100mg, 0,19mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 23,9%).

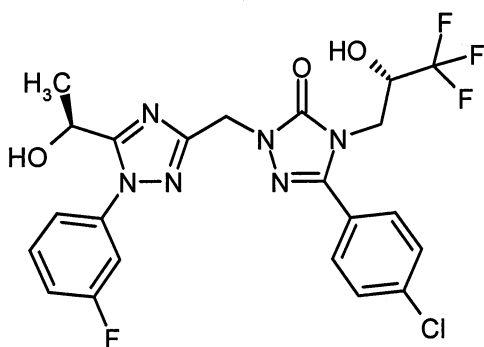
LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,99$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 527$ ($M+H$)⁺

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,83 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,38 (td, 1H), 7,48-7,66 (m, 5H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 97mg trong 4mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 36mg chất đồng phân không đối quang (1*S*) (ví dụ 76) được rửa giải trước, và 40mg chất đồng phân không đối quang (1*R*) (ví dụ 77) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 76

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



LC/MS [phương pháp 3]: R_t = 1,24 phút; MS [ESIpos]: m/z = 527 ($M+H$)⁺

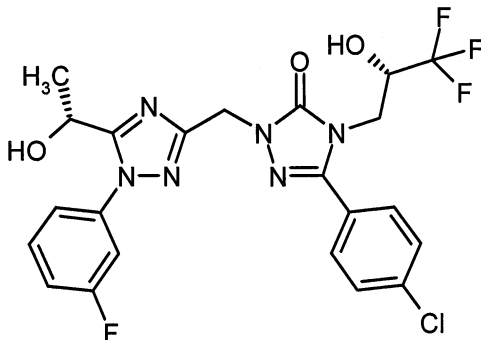
Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 9,71 phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,23-4,37 (m, 1H), 4,82 (vạch năm, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 5,76 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,38 (td, 1H), 7,48-7,66 (m, 5H), 7,72-7,79 (m, 2H).

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 5A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

Ví dụ 77

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 2,93$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 527$ ($M+H$)⁺

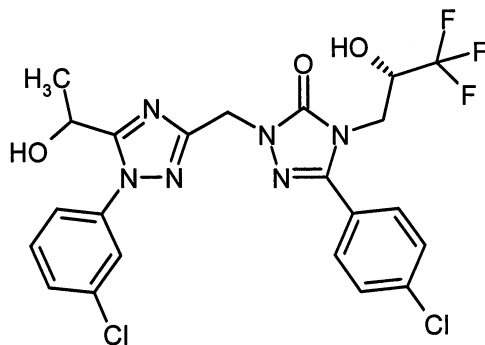
Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 13,60$ phút, d.e. = 100%
[cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,83 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,76 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,38 (td, 1H), 7,48-7,65 (m, 5H), 7,72-7,78 (m, 2H).

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 6A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

Ví dụ 78

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (3-clophenyl)boronic (248,59mg, 1,59mmol) và đồng(II) axetat (288,75mg, 1,59mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (430mg, 0,795mmol, độ tinh khiết 80%) trong pyridin (10mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (62,1mg, 0,40mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Hỗn hợp phản ứng lại được gia nhiệt tới nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ, tiếp theo bằng cách khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (130mg, 0,24mmol) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 30,1%).

LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,19$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 543$ ($M+H$)⁺

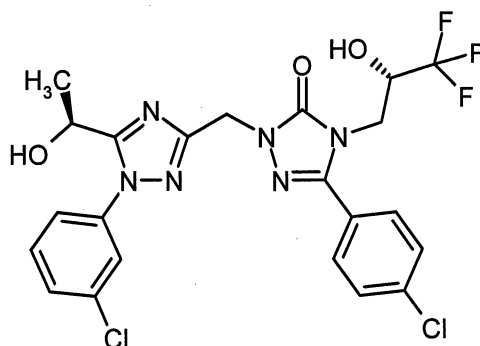
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,81 (q, 1H), 5,02-5,13 (m, 2H), 6,89 (br. s, 1H), 7,56-7,67 (m, 5H), 7,72-7,79 (m, 3H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng [điều chế mẫu: Hòa tan 128mg trong 4mL etanol/isohexan (tỷ lệ 1:1); thể tích bơm: 1mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 15mL/phút; nhiệt độ: 30°C; phát hiện UV: 220 nm]. Sau khi tách, 52mg chất đồng phân không đối quang

(1*S*) (ví dụ 79) được rửa giải trước, và 49mg chất đồng phân không đối quang(1*R*) (ví dụ 80) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 79

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,14$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 543$ ($M+H$)⁺

Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 9,96$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

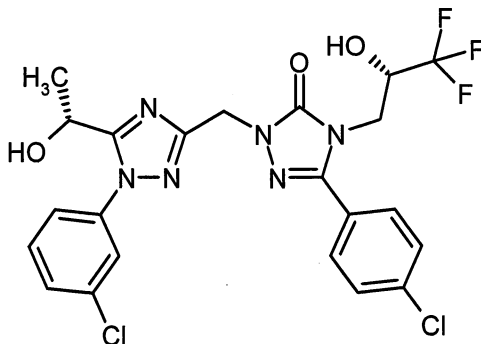
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,23-4,36 (m, 1H), 4,81 (vạch năm, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 5,76 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,56-7,66 (m, 5H), 7,71-7,79 (m, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 21,3, 42,1, 42,2, 59,6, 65,5, 123,0, 124,5, 124,6, 125,3, 128,5, 128,9 (2x), 130,0 (2x), 130,7, 133,0, 135,2, 138,2, 144,8, 153,1, 157,8, 158,6.

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 5A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

Ví dụ 80

5-(4-clophenyl)-2-($\{1-(3\text{-clophenyl})\text{-}5\text{-}[(1R)\text{-}1\text{-hydroxyetyl}]\text{-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}\}$ -metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on



LC/MS [phương pháp 2]: $R_t = 3,15$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 543$ ($M+H$)⁺

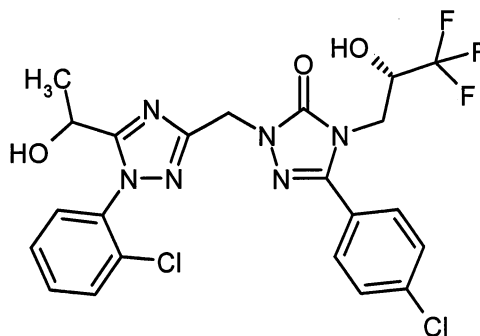
Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 14,41$ phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 80:20; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 35°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,47 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,24-4,37 (m, 1H), 4,81 (vạch năm, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,76 (d, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,56-7,66 (m, 5H), 7,71-7,79 (m, 3H).

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-clophenyl)-2-($\{5\text{-}[(1R)\text{-}1\text{-hydroxyetyl}]\text{-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}\}$ -metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 6A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

Ví dụ 81

5-(4-clophenyl)-2-($\{1-(2\text{-clophenyl})\text{-}5\text{-}[(1RS)\text{-}1\text{-hydroxyetyl}]\text{-}1H\text{-}1,2,4\text{-triazol-}3\text{-yl}\}$ -metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (hỗn hợp chất đồng phân không đối quang)



Bổ sung axit (2-clophenyl)boronic (1,214 g, 7,76mmol) và đồng(II) axetat (1,410 g, 7,76mmol) vào dung dịch chứa 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (2,10 g, 3,88mmol, độ tinh khiết 80%) trong pyridin (50mL). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ 60°C trong thời gian 1 giờ và sau đó, khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, sau đó lượng dư axit boronic (303mg, 1,94mmol) được bổ sung do chuyển hóa không hoàn toàn. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian hai ngày nữa, cô hỗn hợp phản ứng tạo ra trong chân không, sau đó, pha loãng bằng MTBE và làm dừng bằng dung dịch nước axit clohydric (0,5 M). Sau khi tách pha, chiết pha nước hai lần bằng MTBE. Làm khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc và cô trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô bằng phương pháp HPLC điều chế [phương pháp 4], và thu được hợp chất mong muốn (580mg, 1,01mmol, 95% độ tinh khiết) ở dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (hiệu suất 26,1%).

LC/MS [phương pháp 3]: $R_t = 1,24$ phút; MS [ESIpos]: $m/z = 543$ ($M+H$)⁺.

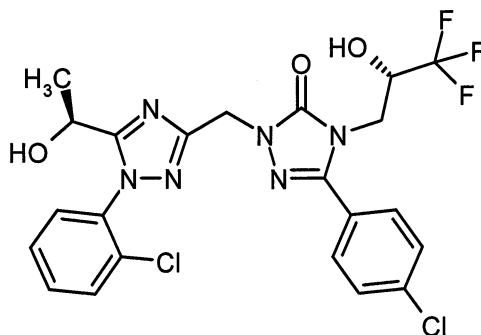
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,55-4,64 (m, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 6,85-6,94 (m, 1H), 7,50-7,65 (m, 5H), 7,67-7,78 (m, 3H).

Hai chất đồng phân không đối quang được tách riêng bằng phương pháp HPLC điều chế không đối xứng (SFC) [điều chế mẫu: Hòa tan 575mg trong 35mL metanol; thể tích bơm: 0,4mL; cột: Daicel Chiralcel® OX-H 5 μ m, 250 x 20mm; dung môi rửa giải: cacbon dioxit/metanol tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 80mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 210 nm]. Sau khi tách, 206mg chất đồng phân không đối quang (1*S*) (ví dụ

82) được rửa giải trước, và 189mg chất đồng phân không đối quang(1*R*) (ví dụ 83) được rửa giải sau, được tách riêng.

Ví dụ 82

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



LC/MS [phương pháp 3]: R_t = 1,24 phút; MS [ESIpos]: m/z = 543 ($M+H$)⁺

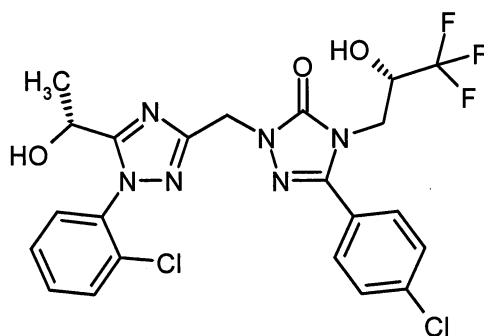
Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: R_t = 8,34 phút, d.e. = 100% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μ m, 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,30 (br. s, 1H), 4,59 (q, 1H), 5,01-5,13 (m, 2H), 5,50 (br. s, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,50-7,65 (m, 5H), 7,67-7,78 (m, 3H).

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-clophenyl)-2-({5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 5A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

Ví dụ 83

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on



Phương pháp HPLC phân tích không đối xứng: $R_t = 11,88$ phút, d.e. = 98,1% [cột: LUX xenluloza-4, 5 μm , 250 x 4,6mm; dung môi rửa giải: isohexan/etanol theo tỷ lệ 70:30; tốc độ dòng: 1mL/phút; nhiệt độ: 40°C; phát hiện UV: 220 nm].

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] 1,38 (d, 3H), 3,85 (dd, 1H), 4,00 (dd, 1H), 4,24-4,36 (m, 1H), 4,54-4,65 (m, 1H), 5,07 (s, 2H), 5,51 (br. s, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,50-7,65 (m, 5H), 7,68-7,79 (m, 3H).

Hóa học lập thể tuyệt đối của hợp chất được xác định bằng cách thực hiện thêm phản ứng tương tự với chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học 5-(4-chlorophenyl)-2-({5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on (ví dụ 6A) làm nguyên liệu khởi đầu và so sánh hai sản phẩm riêng biệt bằng phương pháp HPLC phân tích không đối xứng.

B. Đánh giá hoạt tính sinh học

Các chữ và cụm chữ viết tắt:

Acc. No.	mã số truy cập
AVP	arginin vasopressin
B_{max}	khả năng liên kết phối tử cực đại
BSA	albumin huyết thanh bò
cAMP	adenosin monophosphat vòng
Cat. No.	số danh mục
cDNA	axit deoxyribonucleic bổ trợ
CHO	buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (chinese hamster ovary)

CRE	yếu tố đáp ứng cAMP (cAMP response element)
Ct	ngưỡng chu kỳ (cycle threshold)
DMEM/F12	Môi trường tăng trưởng (Dulbecco's modified Eagle's medium) / môi trường Ham's F12 (tỷ lệ 1:1)
ADN	axit deoxyribonucleic
DTT	dithiothreitol
EC ₅₀	nồng độ hữu hiệu bán tối đa
EDTA	axit etylendiamin-tetraaxetic
FAM	este cacboxyfloresxein suxinimidyl
f.c.	nồng độ cuối
FCS	huyết thanh thai bò (fetal calf serum)
HEPES	axit 4-(2-hydroxyetyl)piperazin-1-etansulfonic
IC ₅₀	Nồng độ ức chế bán tối đa
K _d	Hệ số phân ly
K _i	hệ số phân ly của một chất ức chế
mRNA	axit ribonucleic thông tin
PBS	muối đệm photphat
p.o.	theo đường uống
RNA	axit ribonucleic
RTPCR	phản ứng chuỗi polymeraza thời gian thực
SPA	thử nghiệm độ lân cận nhấp nháy
TAMRA	cacboxytetrametylrodamin
TRIS	2-amino-2-hydroxymetylpropan-1,3-diol

Việc chứng minh hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế có thể được hoàn thành thông qua các thử nghiệm *in vitro*, *ex vivo*, và *in vivo* mà các thử nghiệm này đã được biết rõ trong lĩnh vực. Ví dụ, để chứng minh hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế, các thử nghiệm sau có thể được sử dụng.

B-1. Thử nghiệm tế bào in vitro để xác định hoạt tính của thụ thể vasopressin

Việc nhận dạng các chất chủ vận và các chất đối kháng của các thụ thể vasopressin V1a và V2 từ người, chuột và chó cũng như việc xác định hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế được thực hiện nhờ sử dụng các dòng tế bào tái tổ hợp. Các dòng tế bào này nguồn gốc xuất phát từ tế bào biểu mô buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese Hamster Ovary, CHO K1, ATCC: American Type Culture Collection, Manassas, VA 20108, USA). Các dòng tế bào thử nghiệm biểu hiện cơ định các thụ thể V1a hoặc V2 người, chuột hoặc chó. Trường hợp thụ thể V1a liên hợp $G_{\alpha q}$, các tế bào cũng được gây nhiễu ổn định bằng dạng biến đổi của các photoprotein nhạy canxi aequorin (V1a người và chuột) hoặc obelin (V1a chó), mà các loại này sau khi hoàn nguyên bằng đồng yếu tố coelenterazin, sẽ phát ra ánh sáng khi có sự gia tăng về nồng độ canxi tự do [Rizzuto R, Simpson AW, Brini M, Pozzan T, *Nature* **358**, 325-327 (1992); Illarionov BA, Bondar VS, Illarionova VA, Vysotski ES, *Gene* **153** (2), 273-274 (1995)]. Các tế bào thụ thể vasopressin tạo ra phản ứng với sự kích thích của các thụ thể V1a biểu hiện tái tổ hợp bằng việc giải phóng các ion canxi nội bào mà có thể định lượng được thông qua sự phát quang của photoprotein tạo ra. Các thụ thể V2 liên hợp G_s được gây nhiễu một cách ổn định vào trong các dòng tế bào biểu hiện gen phát sáng trong đom đóm luciferaza dưới sự kiểm soát của gen khởi động chịu trách nhiệm về CRE. Việc kích hoạt thụ thể V2 gây ra sự kích hoạt gen khởi động đáp ứng CRE thông qua sự gia tăng cAMP, bằng cách đó gây ra sự biểu hiện gen phát sáng luciferaza đom đóm. Ánh sáng được phát ra bởi các photoprotein của các dòng tế bào V1a cũng như ánh sáng phát ra bởi gen phát sáng luciferaza đom đóm của các dòng tế bào V2 tương ứng với sự kích hoạt hoặc ức chế của thụ thể vasopressin tương ứng. Sự phát quang sinh học của các dòng tế bào được phát hiện sử dụng quang kế thích hợp [Milligan G, Marshall F, Rees S, *Trends in Pharmacological Sciences* **17**, 235-237 (1996)].

Quy trình thử nghiệm:

Các dòng tế bào thụ thể vasopressin V1a:

Vào ngày trước khi thử nghiệm, các tế bào được cấy vào trong môi trường nuôi cấy (DMEM/F12, 2% FCS, 2 mM glutamin, 10 mM HEPES, 5 μ g/ml coelenterazin)

trong các đĩa vi chuẩn độ 384 lỗ và được giữ trong tủ ủ tế bào (độ ẩm 96%, 5% CO₂ thể tích/thể tích, nhiệt độ 37°C). Vào ngày thử nghiệm, các hợp chất thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau được đặt trong các lỗ của đĩa vi chuẩn độ trong thời gian 10 phút trước khi chất chủ vận [Arg⁸]-vasopressin ở nồng độ EC₅₀ được bổ sung vào đó. Tín hiệu ánh sáng thu được được xác định ngay trong quang kế.

Các dòng tế bào thụ thể vasopressin V2:

Vào ngày trước khi thử nghiệm, các tế bào được cấy vào trong môi trường nuôi cấy (DMEM/F12, 2% FCS, 2 mM glutamin, 10 mM HEPES) trong các đĩa vi chuẩn độ 384 lỗ và được giữ trong tủ ủ tế bào (độ ẩm 96%, 5% CO₂ thể tích/thể tích, nhiệt độ 37°C). Vào ngày thử nghiệm, các hợp chất thử nghiệm ở các nồng độ khác nhau và chất chủ vận [Arg⁸]-vasopressin ở nồng độ EC₅₀ được bổ sung cùng nhau vào trong các lỗ và các đĩa được ủ trong thời gian 3 giờ trong tủ ủ tế bào. Khi bổ sung chất phản ứng phân giải tế bào Triton™ và chất nền luciferin, sự phát quang của gen phát sáng luciferaza đom đóm được xác định bằng quang kế.

Bảng 1A dưới đây liệt kê các giá trị IC₅₀ riêng biệt của các hợp chất theo sáng chế (bao gồm các hỗn hợp đồng phân không đối quang cũng như các chất đồng phân không đối quang tinh khiết quang học tách riêng) thu được từ các dòng tế bào được gây nhiễm bằng thụ thể V1a hoặc V2 người:

Bảng 1A

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
1	0,0060	0,0025
2	0,0050	0,0087
3	0,0010	0,0056
4	0,0004	0,0053
5	0,0004	0,0018
6	0,0106	0,0017
7	0,0076	0,0026
8	0,0012	0,0107

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
9	0,0004	0,0023
10	0,0014	0,0014
11	0,0004	0,0003
12	0,0013	0,0011
13	0,0062	0,0014
14	0,0013	0,0004
15	0,0384	0,0041
16	0,0031	0,0060

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
17	0,0027	0,0034
18	0,0141	0,0086
19	0,0124	0,0014
20	0,0038	0,0008
21	0,0578	0,0022
22	0,0244	0,0023
23	0,0122	0,0009
24	0,1200	0,0020
25	0,0072	0,0036
26	0,0031	0,0030
27	0,0437	0,0077
28	0,0013	0,0002
29	0,0029	0,0002
30	0,0716	0,0004
31	0,0016	0,0009
32	0,0009	0,0010
33	0,0016	0,0023
34	0,0004	0,0012
35	0,0005	0,0016
36	0,0008	0,0028
37	0,0005	0,0007
38	0,0006	0,0009
39	0,0015	0,0035
40	0,0015	0,0072
41	0,0018	0,0079
42	0,0051	0,0127
43	0,0062	0,0012
44	0,0061	0,0012

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
45	0,0921	0,0033
46	0,0063	0,0021
47	0,0189	0,0037
48	0,0032	0,0024
49	0,0018	0,0126
50	0,0013	0,0100
51	0,0030	0,0223
52	0,0039	0,0004
53	0,0079	0,0018
54	0,0397	0,0016
55	0,0148	0,0042
56	0,0024	0,0014
57	0,0382	0,0082
58	0,0002	0,0015
59	0,0005	0,0024
60	0,0005	0,0052
61	0,0032	0,0002
62	0,0078	0,0009
63	0,0516	0,0019
64	0,0081	0,0051
65	0,0025	0,0033
66	0,0040	0,0019
67	0,0021	0,0027
68	0,0033	0,0013
70	0,0005	0,0011
71	0,0006	0,0021
73	0,0011	0,0070
74	0,0022	0,0247

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
75	0,0029	0,0066
76	0,0025	0,0051
77	0,0125	0,0135
78	0,0104	0,0031

Ví dụ số	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
79	0,0036	0,0017
80	0,0463	0,0051
82	0,0007	0,0023
83	0,0010	0,0067

Dữ liệu IC₅₀ liệt kê trong bảng 1A chứng minh rằng, các hợp chất theo sáng chế hoạt động ở dạng các chất đối kháng kép hiệu lực cao của các thụ thể vasopressin V1a và V2.

Để nhằm mục đích so sánh, các dẫn xuất phenyl-triazol và imidazol chọn lọc mà các dẫn xuất này được xem là đại diện cho tình trạng kỹ thuật gần nhất (xem trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Quốc tế số WO 2011/104322-A1 và các hợp chất ví dụ mô tả trong tài liệu này) cũng được thử nghiệm trong thử nghiệm V1a và V2 tế bào mô tả ở trên. Giá trị IC₅₀ của các hợp chất này thu được từ các dòng tế bào được gây nhiễm bằng thụ thể V1a hoặc V2 người được liệt kê trong bảng 1B dưới đây:

Bảng 1B

Ví dụ số WO 2011/104322	IC ₅₀ hV1a [μM]	IC ₅₀ hV2 [μM]
54	0,0166	0,0564
56	0,0013	0,0067
60	0,0542	0,0326
68	0,0060	0,0083
101	0,0422	0,0238
110	0,0152	0,0043

B-2. Thử nghiệm về liên kết phóng xạ

Các giá trị IC₅₀ và K_i được xác định trong thử nghiệm SPA cạnh tranh liên kết phóng xạ sử dụng các đoạn màng của các dòng tế bào CHO tái tổ hợp lần lượt biểu hiện các thụ thể vasopressin V1a và V2 người, chuột hoặc chó. Các tế bào này nguồn

gốc từ tế bào biểu mô buồng trứng chuột đồng Trung Quốc (Chinese Hamster Ovary, CHO K1, ATCC: American Type Culture Collection, Manassas, VA 20108, USA). Ngoài ra, các tế bào được gây nhiễm ổn định bằng thụ thể V1a hoặc V2 người, chuột hoặc chó. Các chế phẩm màng được cho tiến hành thử nghiệm cạnh tranh liên kết thụ thể phóng xạ được mô tả dưới đây.

Các tế bào CHO gây nhiễm bằng thụ thể vasopressin tương ứng được cấy với lượng thích hợp vào trong các bình thót cổ T-175 chứa DMEM/F12, FCS 10%, 15 mM HEPES, 1mg/ml G418 và được giữ trong tủ ủ tế bào (độ ẩm 96%, 5% CO₂ thể tích/thể tích, nhiệt độ 37°C). Sau khi đạt tới hợp dòng thích hợp, tiến hành thu hoạch tế bào để điều chế màng. Tế bào được bảo vào trong môi trường PBS và được tạo viên kết bằng cách ly tâm nhẹ nhàng ở tốc độ 200 x g trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Các viên kết được tái tạo huyền phù trong PBS và lại được ly tâm. Sau khi lặp lại bước này một lần nữa, viên kết tạo ra được làm sốc lạnh ở nhiệt độ -80°C trong thời gian 30 phút. Viên kết đông lạnh được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm điều chế làm lạnh bằng nước đá (50 mM TRIS, 2 mM EDTA, 2 mM DTT, dung dịch hỗn hợp chất ức chế proteaza hoàn toàn) và được đồng nhất hóa ở tốc độ 2000 vòng/phút trong thời gian 35 giây (Polytron PT3000, Kinematica). Dịch đồng nhất được làm lạnh xuống trong thời gian 2 phút bằng nước đá và quá trình đồng nhất được lặp lại hai lần. Dịch đồng nhất tạo ra được ly tâm ở tốc độ 500 x g trong thời gian 10 phút ở nhiệt độ 4°C. Màng được tạo viên kết ở tốc độ 4500 x g trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 4°C, được tái huyền phù trong dung dịch đệm lưu giữ (7,5 mM TRIS, 12,5 mM MgCl₂, 0,3 mM EDTA, 250 mM sucroza, dung dịch hỗn hợp chất ức chế proteaza hoàn toàn) và được đồng nhất hóa ở tốc độ 2000 vòng/phút trong thời gian 2 giây (Polytron PT3000, Kinematica). Nồng độ protein được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm protein BCA (Thermo Scientific Pierce), và các chế phẩm màng được lưu giữ ở nhiệt độ -80°C. Vào ngày sử dụng, các phân phân ước được giải đông và được tạo xoáy nhanh.

Để xác định ái lực gắn kết thụ thể của các hợp chất thử nghiệm, thử nghiệm SPA được thiết lập như sau. Đối với mỗi một chế phẩm màng, các giá trị K_d và B_{max} được xác định. Từ các dữ liệu này, số lượng hạt SPA (hạt WGA PVT, PerkinElmer, 200 µg/lỗ), nồng độ của phối tử phóng xạ (³H-AVP, PerkinElmer, 2,431 TBq/mmol, f.c. 1-2 x K_d) và lượng chế phẩm màng tương ứng (10 µg protein/lỗ) được làm phù

hợp với thể tích thử nghiệm (100 μ l) trong dung dịch đệm liên kết (50 mM TRIS, 0,2% BSA) trong một đĩa 96 lỗ. Các hợp chất thử nghiệm được pha loãng trong dung dịch đệm liên kết (f.c. 10^{-4} M đến 10^{-12} M) và được cho tiến hành thử nghiệm. Lắc nhẹ nhàng các đĩa trong thời gian 1-3 giờ ở nhiệt độ trong phòng và ủ thêm trong thời gian 1-2 giờ. Các tín hiệu sinh ra bởi ^3H -AVP liên kết được xác định nhờ sử dụng bộ đếm β (1450 Microbeta Trilux). Từ các kết quả này, các giá trị IC_{50} và K_i của các hợp chất thử nghiệm được tính toán nhờ sử dụng GraphPad Prism.

B-3. Thử nghiệm tế bào in vitro để phát hiện sự tác động của các chất đối kháng thụ thể vasopressin V1a lên sự điều hòa các gen thúc đẩy quá trình xơ hóa

Dòng tế bào H9C2 (American Type Culture Collection No. CRL-1446), được mô tả thuộc loại tế bào cơ tim được phân lập từ mô tim chuột, biểu hiện thụ thể vasopressin V1a AVPR1A theo kiểu nội sinh với số lượng bản sao lớn, trong khi đó sự biểu hiện AVPR2 không thể phát hiện được. Đối với các thử nghiệm tế bào để ức chế sự điều hòa phụ thuộc thụ thể AVPR1A của sự biểu hiện gen bởi các chất đối kháng thụ thể, phương thức như sau:

Các tế bào H9C2 được cấy vào các đĩa vi chuẩn độ 6 lỗ để nuôi cấy tế bào ở mật độ tế bào 50000 tế bào/ lỗ trong 2,0mL môi trường Opti-MEM (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA, USA, Cat. No. 11058-021) và được giữ trong tủ ủ tế bào (độ ẩm 96%, 8% CO_2 thể tích/thể tích, nhiệt độ 37°C). Sau thời gian 24 giờ, các tập hợp gồm 3 lỗ (bộ ba lỗ) được nạp bằng dung dịch chất mang (đối chứng âm) và dung dịch vasopressin ($[\text{Arg}^8]$ -vasopressin axetat, Sigma, Cat. No. V9879), hoặc hợp chất thử nghiệm (được hòa tan trong chất mang: nước cùng với etanol 20% thể tích/thể tích) và dung dịch vasopressin. Trong nuôi cấy tế bào, nồng độ vasopressin cuối là 1 nM. Dung dịch hợp chất thử nghiệm được bổ sung vào nuôi cấy tế bào với các thể tích nhỏ, sao cho không vượt quá nồng độ cuối 0,03% của etanol trong thử nghiệm tế bào. Sau thời gian ủ 5 giờ, lớp nổi trên bề mặt nuôi cấy được rút ra bằng cách hút, các tế bào dính kết được phân giải trong 350 μ l dung dịch đệm RLT (Qiagen, Cat. No. 79216), và ARN được phân lập ra khỏi dịch phân giải nhờ sử dụng bộ kit RNeasy (Qiagen, Cat. No. 74104). Tiếp theo bằng cách cắt nhờ men DNase (Invitrogen, Cat. No. 18068-015), tổng hợp ADN bổ trợ (Promega, ImProm-II Reverse Transcription System, Cat.

No. A3800) và RTPCR (pPCR MasterMix RT-QP2X-03-075, Eurogentec, Seraing, Belgium). Tất cả các bước phương thức diễn ra phù hợp với các bước thao tác của các nhà sản xuất chất phản ứng thử nghiệm. Các tập hợp mồi của RTPCR được lựa chọn trên cơ sở các trình tự gen ARN thông tin (NCBI GenBank Entrez Nucleotide Data Base) sử dụng chương trình Primer3Plus với các đoạn dò đánh dấu bằng 6-FAM TAMRA. RTPCR để xác định sự biểu hiện ARN thông tin tương đối trong các tế bào của các lô thử nghiệm khác nhau được thực hiện sử dụng bộ phát hiện trình tự Applied Biosystems ABI Prism 7700 Sequence Detector trong khuôn khổ đĩa vi chuẩn độ 384 lỗ theo các hướng dẫn thao tác dụng cụ. Sự biểu hiện gen tương đối được biểu diễn bằng giá trị delta-delta Ct [Applied Biosystems, User Bulletin No. 2 ABI Prism 7700 SDS, December 11, 1997 (cập nhật 10/2001)] với việc tham chiếu mức biểu hiện của gen protein L-32 ribosom (GenBank Acc. No. NM_013226) và giá trị Ct ngưỡng của Ct = 35.

B-4. Thử nghiệm in vivo để phát hiện các tác dụng trên tim mạch: đo huyết áp ở chuột được gây mê (mẫu 'thách thức' vasopressin)

Ở các chuột đực Sprague-Dawley (thể trọng 250-350g) trong điều kiện gây mê tiêm ketamin/xylazine/pentobarbital, các ống polyetylen (PE-50, Intramedic®) mà các ống này được nạp trước bằng dung dịch natri clorua đẳng trương chứa heparin (500 IU/ml) được đưa vào trong tĩnh mạch cảnh và tĩnh mạch đùi và sau đó, được gắn lại. Thông qua cửa tiếp cận tĩnh mạch, với sự hỗ trợ bằng bơm tiêm, Arg-vasopressin được tiêm vào tĩnh mạch; chất thử nghiệm được dùng thông qua cửa tiếp cận tĩnh mạch thứ hai. Để xác định huyết áp tâm thu, ống thông áp lực (Millar SPR-320 2F) được gắn vào trong động mạch cảnh. Ống thông động mạch được gắn với cảm biến đo áp lực mà bộ cảm biến này cung cấp các tín hiệu của nó tới máy vi tính ghi có trang bị phần mềm ghi thích hợp. Trong một thực nghiệm điển hình, động vật thực nghiệm được dùng 3-4 đợt tiêm nhanh (bolus) liên tục với khoảng giãn cách 10-15 phút bằng lượng Arg-vasopressin xác định (30 ng/kg) trong dung dịch natri clorua đẳng trương. Khi huyết áp đạt tới các mức khởi đầu, chất thử nghiệm được dùng ở dạng tiêm nhanh (bolus), cùng với việc truyền liên tục sau đó, trong dung môi thích hợp. Sau đó, tại các khoảng giãn cách xác định (10-15 min), lượng Arg-vasopressin tương tự như lúc khởi đầu lại được dùng. Trên cơ sở các giá trị huyết áp, việc xác định được thực hiện trong

phạm vi chất thử nghiệm làm mất tác dụng gây cao huyết áp của Arg-vasopressin. Các động vật đối chứng chỉ tiếp nhận dung môi thay cho chất thử nghiệm.

Sau khi dùng theo đường tĩnh mạch, các hợp chất theo sáng chế, so với các đối chứng dung môi, gây ra ức chế sự gia tăng huyết áp do Arg-vasopressin gây ra.

B-5. Thử nghiệm in vivo để phát hiện các tác dụng trên tim mạch: các khảo sát về sự bài niệu ở chuột tỉnh táo được giữ trong lồng chuyển hóa

Chuột Wistar (thể trọng 220-450g) được nuôi giữ có thể tiếp cận tự do với thức ăn (Altromin) và nước uống. Trong khi thử nghiệm, động vật được nuôi giữ tiếp cận tự do với nước uống trong thời gian 4 đến 8 hoặc lên tới 24 giờ riêng biệt trong các lồng chuyển hóa thích hợp cho chuột thuộc loại thể trọng này (Tecniplast Deutschland GmbH, D-82383 Hohenpeißenberg). Tại thời điểm bắt đầu thực nghiệm, động vật được dùng chất thử nghiệm với thể tích dung môi thích hợp từ 1 đến 3mL/kg thể trọng thông qua ống thông đặt dạ dày. Động vật đối chứng chỉ tiếp nhận dung môi. Các thử nghiệm đối chứng và thử nghiệm chất được tiến hành song song vào cùng ngày. Các nhóm đối chứng và các nhóm định liều chất thử nghiệm mỗi nhóm gồm 4 đến 8 động vật. Trong quá trình thử nghiệm, nước tiểu động vật bài tiết ra được gom lại liên tục trong dụng cụ chứa ở đáy lồng. Thể tích nước tiểu theo mỗi đơn vị thời gian được xác định riêng biệt đối với mỗi một động vật, và nồng độ của các chất điện giải trong nước tiểu được xác định bằng các phương pháp trắc quang ngọn lửa chuẩn. Trước khi bắt đầu thực nghiệm, thể trọng của từng động vật được xác định.

Sau khi dùng theo đường uống, so với các áp dụng đối chứng dung môi, các hợp chất theo sáng chế gây ra sự bài tiết nước tiểu tăng, sự bài tiết nước tiểu tăng này chủ yếu dựa vào sự bài tiết nước tăng (bài tiết nước nhưng không bài tiết chất điện giải - aquaresis).

Bảng 2A dưới đây thể hiện những sự thay đổi quan sát được về sự bài tiết nước tiểu so với đối chứng dung môi (= 100%) đối với các hợp chất minh họa theo sáng chế ở hai mức liều lượng khác nhau:

Bảng 2A

Ví dụ số	Liều lượng uống [mg/kg]	Thể tích nước tiểu [% so với đối chứng = 100%]	Liều lượng uống [mg/kg]	Thể tích nước tiểu [% so với đối chứng = 100%]
1	0,3	194	3,0	588
2	0,3	194	3,0	588
3	0,3	89	3,0	450
4	0,3	91	1,0	190
5	0,3	166	1,0	438
6	0,3	132	1,0	439
11	0,3	159	3,0	443
12	0,3	96	3,0	323
14	-	-	1,0	753
15	0,3	412	3,0	1085
17	0,3	404	1,0	819
29	0,3	404	1,0	983
70	0,3	139	3,0	595
76	0,3	350	3,0	1257
79	0,3	612	3,0	1312
82	0,3	220	3,0	828
83	0,3	279	3,0	1094

Để nhằm mục đích so sánh, các dẫn xuất phenyl-triazol và imidazol chọn lọc mà các dẫn xuất này được xem là đại diện cho tình trạng kỹ thuật gần nhất (xem trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Quốc tế số WO 2011/104322-A1 và các hợp chất ví dụ được mô tả trong tài liệu này) cũng được thử nghiệm về tác dụng lợi niệu trong thử nghiệm này. Những thay đổi quan sát được về sự bài tiết nước tiểu so với đối chứng dung môi (= 100%) ở hai mức liều lượng khác nhau được thể hiện trong bảng 2B dưới đây:

Bảng 2B

Ví dụ số WO 2011/104322	Liều lượng uống [mg/kg]	Thể tích nước tiểu [% so với đối chứng = 100%]	Liều lượng uống [mg/kg]	Thể tích nước tiểu [% so với đối chứng = 100%]
54	0,3	85	3,0	188
56	0,3	128	3,0	85
60	0,3	96	3,0	84
68	0,3	87	3,0	121
101	0,3	111	3,0	255
110	0,3	114	3,0	274

Các kết quả thể hiện trong bảng 2A và 2B chứng minh rằng, các hợp chất theo sáng chế thể hiện hiệu lực cao hơn đáng kể *in vivo*: Các ví dụ thử nghiệm theo sáng chế thể hiện sự tăng cao hơn gấp ba lần, trong một số trường hợp tăng cao hơn gấp 10 lần về thể tích nước tiểu so với nhóm đối chứng chất mang ở mức liều lượng theo đường uống 3mg/kg, và hầu hết các ví dụ đã thể hiện hoạt tính bài tiết nước nhưng không bài tiết chất điện giải cao đáng kể ở mức liều uống là 0,3mg/kg hoặc 1mg/kg. Điều này ngược lại với các dẫn xuất phenyl-triazol và imidazol được coi là tình trạng kỹ thuật gần nhất mà chúng không có hoạt tính ở mức liều lượng theo đường uống dưới 3mg/kg và có ít hoạt tính ở mức liều lượng 3mg/kg.

B-6. Thử nghiệm *in vivo* để phát hiện các tác dụng trên tim mạch: các khảo sát về huyết động học ở chỗ được gây mê

Chó săn đực (Beagle, Marshall BioResources) có trọng lượng nằm trong khoảng 10 đến 15 kg được gây mê bằng pentobarbital (30mg/kg theo đường tĩnh mạch, Narcoren[®], Merial, Germany) cho các can thiệp ngoại khoa và các thăm khám huyết động học và chức năng. Pancuroni bromua (2mg/động vật theo đường tĩnh mạch, Ratiopharm, Germany) dùng bổ sung làm chất giãn cơ. Chó được đặt nội khí quản và thông khí bằng hỗn hợp oxy/không khí môi trường (tỷ lệ 40/60%, khoảng 3-4 L/phút). Việc thông khí được thực hiện nhờ sử dụng thiết bị thông khí từ GE

Healthcare (Avance) và được giám sát theo dõi sử dụng thiết bị phân tích (Datex-Ohmeda, GE). Việc gây mê được duy trì bằng cách truyền liên tục pentobarbital (50µg/kg/phút); fentanyl sử dụng làm giảm đau (10-40 µg/kg/giờ). Một lựa chọn khác thay cho pentobarbital đó là sử dụng isoflurane (1-2% theo thể tích).

Trong các can thiệp chuẩn bị, cho được làm thích nghi với thiết bị tạo nhịp tim. Tài thời điểm 21 ngày trước khi thử nghiệm thuốc thứ nhất (tức là bắt đầu thử nghiệm), thiết bị tạo nhịp tim từ Biotronik (Logos®) được cấy vào túi dưới da và được tiếp xúc với tim thông qua điện cực của thiết bị tạo nhịp mà điện cực này được đặt trước thông qua tĩnh mạch cảnh ngoài, với ánh sáng xuyên qua, vào trong tâm thất phải. Sau đó, tất cả các đường tiếp cận được loại bỏ và cho tỉnh tự nhiên sau khi hết thuốc mê. Sau thời gian 7 ngày nữa (tức là 14 ngày trước khi thử nghiệm thuốc thứ nhất), thiết bị tạo nhịp mô tả ở trên được kích hoạt và tim được kích thích với tần số 220 nhịp trên phút.

Các thử nghiệm chất hiện tại được thực hiện 14 và 28 ngày sau khi bắt đầu kích thích thiết bị tạo nhịp, sử dụng các trang bị dụng cụ sau:

- đặt ống thông bàng quang để làm giảm áp suất bàng quang và để đo dòng nước tiểu;
- gắn các đầu ECG với các chi để đo ECG;
- đưa ống Fluidmedic® PE 300 được nạp dung dịch natri clorua vào trong động mạch đùi; ống này được nối với bộ cảm nhận áp suất (Braun Melsungen, Germany) để đo huyết áp hệ thống;
- đưa ống thông Millar Tip (kiểu 350 PC, Millar Instruments, Houston, USA) qua tâm nhĩ trái hoặc qua một cửa được cố định tại động mạch cảnh, để đo huyết động học tim;
- đưa ống thông Swan-Ganz (CCOmbo 7,5F, Edwards, Irvine, USA) thông qua tĩnh mạch cảnh vào trong động mạch phổi, để đo cung lượng tim, độ bão hòa oxy, áp lực động mạch phổi và áp lực tĩnh mạch trung tâm;
- đặt ống thông tĩnh mạch vào tĩnh mạch đầu, để truyền pentobarbital, để thay thế dịch và để lấy mẫu máu (xác định các mức huyết tương của chất thử nghiệm hoặc các giá trị huyết học lâm sàng khác);

- đặt ống thông tĩnh mạch vào trong tĩnh mạch hiển, để truyền fentanyl và để sử dụng chất thử nghiệm;
- truyền vasopressin liên tục (Sigma, 4 mU/kg/phút); sau đó, các hợp chất thử nghiệm được sử dụng và được đánh giá ở các liều lượng khác nhau trong điều kiện truyền vasopressin này.

Các tín hiệu cơ bản được khuếch đại nếu cần thiết (bộ khuếch đại ACQ 7700, DataSciences Inc., Minneapolis, USA, hoặc Edwards-Vigilance-Monitor, Edwards, Irvine, USA) và sau đó được cấp vào hệ Ponemah (DataSciences Inc., Minneapolis, USA) để đánh giá. Các tín hiệu được ghi liên tục trong suốt toàn bộ thời gian thử nghiệm và được xử lý tiếp bằng kỹ thuật số nhờ bởi phần mềm vi tính và lấy giá trị trung bình trong thời gian 30 giây.

Mặc dù sáng chế đã được bộc lộ với việc tham chiếu các phương án cụ thể, nhưng rõ ràng là, các phương án và những thay đổi khác về sáng chế có thể được nghĩ ra bởi những người khác có kỹ năng trong lĩnh vực mà không đi trạch khỏi tinh thần và phạm vi thực của sáng chế. Phần yêu cầu bảo hộ dự định được hiểu là bao gồm tất cả các phương án này và các biến đổi tương đương.

C. Các ví dụ về được phẩm

Được phẩm theo sáng chế có thể được minh họa như dưới đây:

Dung dịch vô trùng dùng theo đường tĩnh mạch:

Dung dịch 5mg/mL chứa hợp chất mong muốn theo sáng chế có thể được tạo ra nhờ nước cất tiêm vô trùng và độ pH được hiệu chỉnh nếu cần thiết. Dung dịch được pha loãng để đưa vào 1-2mg/mL bằng dextroza 5% vô trùng và được dùng ở dạng truyền tĩnh mạch trong thời gian khoảng 60 phút.

Bột đông khô để dùng theo đường tĩnh mạch:

Chế phẩm vô trùng có thể được điều chế bằng (i) 100–1000mg hợp chất mong muốn theo sáng chế ở dạng bột đông khô, (ii) 32–327mg/mL natri xitrat, và (iii) 300–3000mg Dextran 40. Chế phẩm được hoàn nguyên bằng nước muối tiêm vô trùng hoặc dextroza 5% tới nồng độ nằm trong khoảng từ 10 đến 20mg/mL, nồng độ này

được pha loãng thêm bằng nước muối hoặc dextroza 5% tới nồng độ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,4mg/mL, và được dùng theo cách tiêm nhanh bolus hoặc truyền tĩnh mạch trong thời gian 15–60 phút.

Huyền phù dùng theo đường trong cơ:

Dung dịch hoặc huyền phù sau có thể được điều chế dùng để tiêm theo đường trong cơ:

50mg/mL của hợp chất theo sáng chế mong muốn, có thể hòa tan trong nước; 5mg/mL natri cacboxymetylxenluloza; 4mg/mL Tween 80; 9mg/mL natri clorua; 9mg/mL rượu benzylic.

Viên nang vỏ cứng:

Số lượng nhiều viên nang đơn vị được điều chế bằng cách nạp đầy viên nang gelatin cứng hai nửa mỗi viên bằng 100mg hợp chất theo sáng chế mong muốn ở dạng bột, 150mg lactoza, 50mg xenluloza và 6mg magie stearat.

Viên nang gelatin mềm:

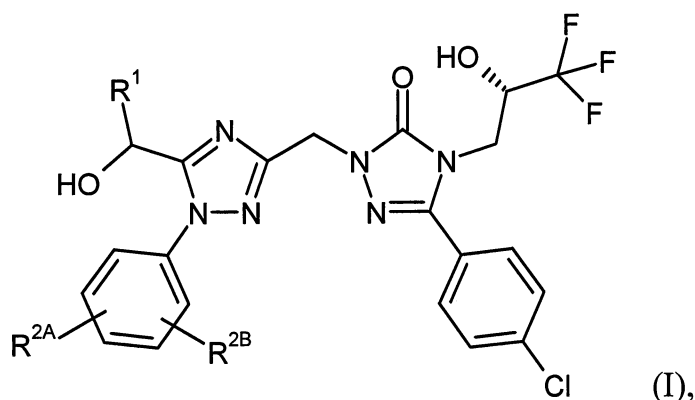
Hỗn hợp của hợp chất mong muốn theo sáng chế trong dầu ăn, như dầu đậu tương, dầu hạt bông hoặc dầu ôliu được điều chế và được bơm nhờ bởi một bơm dịch chuyển dương vào trong gelatin nóng chảy để tạo ra viên nang gelatin mềm chứa 100mg hoạt chất. Viên nang được rửa và làm khô. Hợp chất mong muốn theo sáng chế có thể được hòa tan trong hỗn hợp của polyetylen glycol, glyxerin và sorbitol để điều chế hỗn hợp thuốc trộn lẫn được với nước.

Viên nén:

Số lượng lớn viên nén được điều chế theo phương thức thông thường sao cho, đơn vị liều lượng là 100mg hợp chất mong muốn theo sáng chế, 0,2mg keo silic dioxit, 5mg magie stearat, 275mg xenluloza vi tinh thể, 11mg tinh bột và 98,8mg lactoza. Nguyên liệu bọc dạng nước và không ở dạng nước thích hợp có thể được phủ lên để tăng cường vị dễ chịu, cải thiện vẻ bên ngoài và tính ổn định hoặc sự trì hoãn hấp thu.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



trong đó:

R^1 là hydro hoặc metyl,

và

R^{2A} và R^{2B} được chọn độc lập từ nhóm bao gồm hydro, flo, clo, xyano, metyl, flometyl, diflometyl, triflometyl, etyl, metoxy, diflometoxy và triflometoxy,

hoặc muối, hydrat và/hoặc solvat được dụng của hợp chất này.

2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó:

R^1 là hydro hoặc metyl,

và

R^{2A} và R^{2B} được chọn độc lập từ nhóm bao gồm hydro, flo, clo, metyl và metoxy, trong đó ít nhất một trong số R^{2A} và R^{2B} không phải là hydro,

hoặc muối, hydrat và/hoặc solvat được dụng của hợp chất này.

3. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 hoặc 2, trong đó hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

5-(4-clophenyl)-2-[[1-(3-clophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-{{1-(3-flophenyl)-5-(hydroxymetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-{{5-(hydroxymetyl)-1-(2-metylphenyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

2-({1-(2-clo-4-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

2-{{1-(2-clo-4-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 1);

2-{{1-(2-clo-4-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 2);

2-({1-(2-clo-5-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

2-{{1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 1);

2-{{1-(2-clo-5-flophenyl)-5-(1-hydroxyetyl)-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl}-5-(4-clophenyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on (chất đồng phân không đối quang 2);

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1RS)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1R)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1S)-1-hydroxyetyl]-1H-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2S)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*R*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

và

5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

hoặc muối, hydrat và/hoặc solvat được dùng của hợp chất này.

4. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, 2 hoặc 3, trong đó hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-flophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

5-(4-clophenyl)-2-({1-(3-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

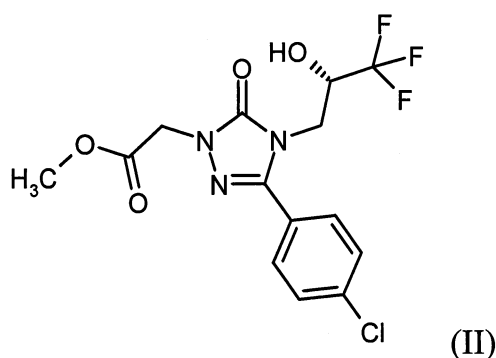
5-(4-clophenyl)-2-({1-(2-clophenyl)-5-[(1*RS*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

và

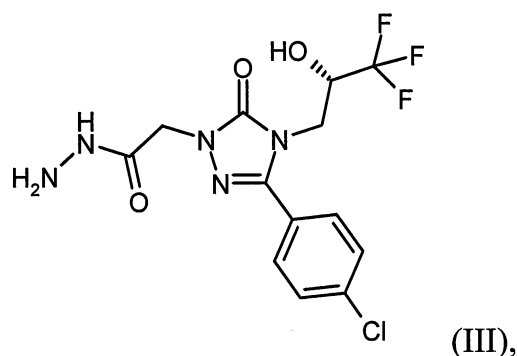
5-(4-clophenyl)-2-({ 1-(2-clophenyl)-5-[(1*S*)-1-hydroxyetyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}-metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on;

hoặc muối, hydrat và/hoặc solvat được dụng của hợp chất này.

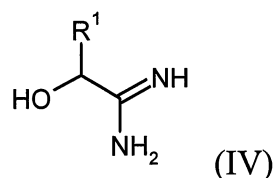
5. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, khác biệt ở chỗ, hợp chất có công thức (II):



trước tiên được phản ứng với hydrazin để tạo ra hydrazit có công thức (III):



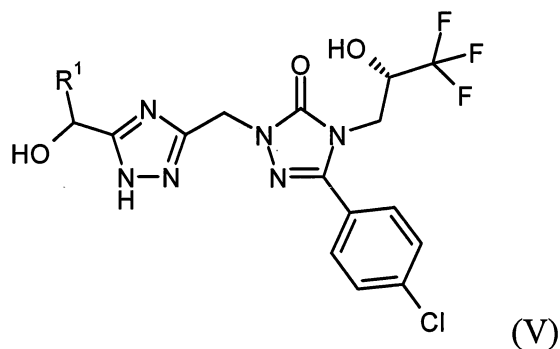
tiếp theo được ngưng tụ với amidin có công thức (IV):



hoặc muối của nó,

trong đó R¹ có ý nghĩa như được xác định trong các điểm từ 1 đến 4,

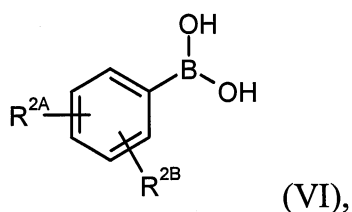
với sự có mặt của bazơ để tạo ra dẫn xuất 1,2,4-triazol có công thức (V):



và/hoặc chất hồ biến của nó,

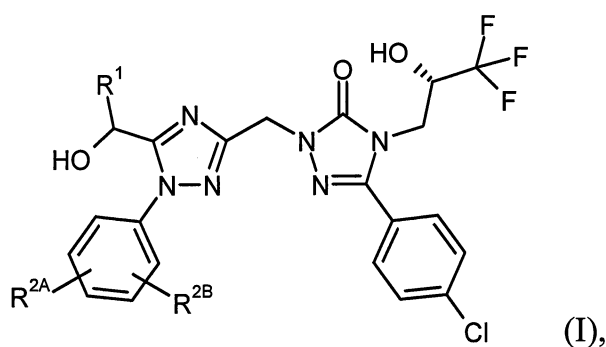
trong đó, R¹ có ý nghĩa như được xác định trong các điểm từ 1 đến 4,

và sau đó, được liên hợp với axit phenylboronic có công thức (VI):



trong đó, R^{2A} và R^{2B} có ý nghĩa như được xác định trong các điểm từ 1 đến 4,

với sự có mặt của chất xúc tác đồng và bazơ amin để tạo ra hợp chất đích có công thức (I):



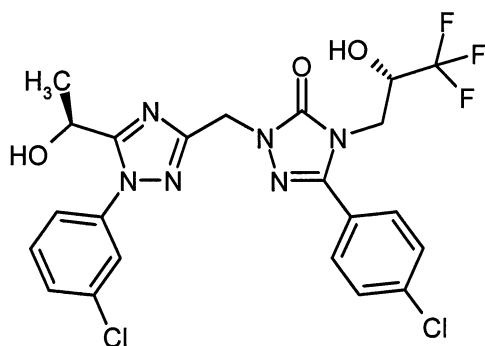
trong đó, R¹, R^{2A} và R^{2B} có ý nghĩa như được xác định trong các điểm từ 1 đến 4,

tùy ý nếu thích hợp, được tiếp theo bằng cách (i) tách các hợp chất có công thức (I) thu được theo cách như vậy thành các chất đồng phân không đối quang tương ứng của chúng, và/hoặc (ii) chuyển đổi các hợp chất có công thức (I) thành các hydrat, solvat của chúng, các muối và/hoặc hydrat hoặc solvat của các muối của chúng bằng cách xử lý bằng các dung môi và/hoặc axit hoặc bazơ tương ứng.

6. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 và một hoặc nhiều tá dược được dụng.

7. Dược phẩm theo điểm 6, còn chứa thêm một hoặc nhiều tác nhân trị liệu bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm các chất lợi tiểu, chất đối kháng angiotensin AII, các chất ức chế ACE, các chất chặn thụ thể beta, các chất đối kháng thụ thể mineralocorticoid, các nitrat hữu cơ, các chất cho NO, các chất hoạt hóa các men guanylat xyclaza hòa tan được, các chất kích thích men guanylat xyclaza hòa tan được và các tác nhân co cơ dương tính.

8. Hợp chất 5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on có công thức:



hoặc muối, hydrat và/hoặc solvat được dụng của hợp chất này.

9. Hợp chất theo điểm 8, trong đó hợp chất này là 5-(4-clophenyl)-2-({5-(1-hydroxyetyl)-1-[2-(triflometyl)phenyl]-1*H*-1,2,4-triazol-3-yl}metyl)-4-[(2*S*)-3,3,3-triflo-2-hydroxypropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on có công thức:

