



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

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



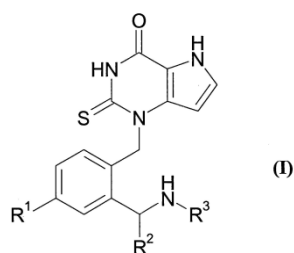
1-0027550

(51)⁸ C07D 487/04; A61K 31/519; A61P 9/10 (13) B

- (21) 1-2017-02019 (22) 30/11/2015
(86) PCT/EP2015/077998 30/11/2015 (87) WO2016/087338 09/06/2016
(30) 62/085,722 01/12/2014 US; 62/166,808 27/05/2015 US
(45) 25/02/2021 395 (43) 25/10/2017 355A
(73) ASTRAZENECA AB (SE)
S-151 85 Södertälje, Sweden
(72) INGHARDT Tord Bertil (SE); TOMKINSON Nicholas (GB); GAN Li-Ming (SE);
STONEHOUSE Jeffrey Paul (GB); JOHANNESSON Petra (SE); JURVA Ulrik
(SE); MICHAËLSSON Erik (SE); LINDSTEDT-ALSTERMARK Eva-Lotte (SE).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT 1-[2-(AMINOMETYL)BENZYL]-2-THIOXO-1,2,3,5-TETRAHYĐRO-4H-PYROLO[3,2-D]PYRIMIDIN-4-ON VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất 1-[2-(aminometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on nhất định có công thức (I):



và muối dược dụng của chúng, cùng với dược phẩm chứa chúng và mô tả việc sử dụng chúng trong trị liệu. Hợp chất này là chất ức chế enzym MPO và do đó đặc biệt hữu dụng trong việc điều trị hoặc phòng ngừa rối loạn tim mạch, ví dụ, các tình trạng bệnh có liên quan đến chứng suy tim và bệnh động mạch vành.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến các hợp chất 1-[2-(aminometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on nhất định có công thức (I), mô tả chúng để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh có liên quan đến myeloperoxidaza, ví dụ, các tình trạng bệnh có liên quan đến chứng suy tim và bệnh động mạch vành, và đề cập đến được phẩm chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Myeloperoxidaza (MPO) là enzym chứa hem được tìm thấy ở bạch cầu hạt trung tính (bạch cầu trung tính) và bạch cầu đơn nhân. MPO là một thành viên của họ protein đa dạng của peroxidaza động vật có vú mà cũng bao gồm peroxidaza ưa eozin (EPO), peroxidaza tuyến giáp (TPO), peroxidaza nước bọt (SPS), lactoperoxidaza (LPO), prostaglandin H syntaza (PGHS), và các chất khác. Enzym trưởng thành là dimer của các nửa giống nhau. Mỗi nửa phân tử chứa hem được liên kết cộng hóa trị mà thể hiện tính chất phổ không bình thường chịu trách nhiệm về màu xanh lá cây đặc trưng của MPO. Sự phân cắt của cầu disulphua nối hai nửa của MPO tạo ra bán enzym mà thể hiện tính chất phổ và tính chất xúc tác không thể phân biệt được với các tính chất này của enzym nguyên vẹn. Enzym này được hoạt hóa bởi hydro peroxit, nguồn của chúng có thể là anion superoxit có nguồn gốc từ NADPH được xúc tác bởi superoxit dismutaza (SOD) và anion superoxit có nguồn gốc từ xantin được tạo thành khi oxidaza và hydro peroxit được tạo thành khi oxy hóa purin. Các chất nền sinh lý chính của MPO là halua (ví dụ, clorua) và giả halua (như thioxyanat), tạo thành axit hypohalous diệt khuẩn như axit hipoclorơ (chất tẩy trắng) và axit hypothioxyanous (*J. Clin. Biochem. Nutr.*, 2011, 48, 8–19).

Bạch cầu trung tính đóng vai trò diệt khuẩn quan trọng bằng cách thực bào (nhấn chìm) và giết chết vi sinh vật. Lượng bị nhấn chìm được kết hợp vào

không bào, được gọi là phagosome, mà dung hợp với các hạt chứa myeloperoxidase để tạo thành phagolysosome. Trong phagolysosome hoạt tính enzym của myeloperoxidase dẫn đến sự tạo thành của axit

hipoclorơ, hợp chất diệt khuẩn tiềm năng (*Free Radical Biology & Medicine*, **2010**, *49*, 1834–1845). Axit hipoclorơ oxy hóa trong bản thân nó, và phản ứng nhiều nhất với thiol và thioete, nhưng cũng chuyển hóa amin thành cloramin, và clo hóa axit amin thơm.

MPO cũng có thể được giải phóng ra bên ngoài tế bào nơi mà phản ứng với clorua có thể gây ra tổn hại cho mô liền kề. Ngoài sự giải phóng có kiểm soát này của MPO, bạch cầu trung tính cũng có thể thả mạng lưới ADN không ngưng tụ được đặt rải rác với protein nội bào, ví dụ, MPO vào không gian ngoại bào, gọi là bẫy ngoại bào trung tính (NET). Các NET này được cho là đóng vai trò trong việc bảo vệ vật chủ trong mối quan hệ với vi sinh vật ngoại bào và cũng đã được đề xuất là cơ cấu sinh lý bệnh học quan trọng trong các bệnh viêm cấp tính, ví dụ, chứng huyết khối miễn dịch xảy ra ở sự nhiễm trùng (*Nature Rev. Immunol.*, 2013, *13*, 34) và ở sự tự miễn dịch, ví dụ, ở luput ban đỏ toàn thân (SLE) (*J. Immunol.*, 2011, *187*, 538-552). Đáng chú ý là, MPO cần thiết cho sự tạo thành NET (*Blood*, 2011, *117*, 953).

Hàm lượng toàn thân của MPO là yếu tố nguy cơ đã biết rõ đối với các bệnh tim mạch khác nhau (ví dụ, các tình trạng bệnh có liên quan đến chứng suy tim, hội chứng động mạch vành cấp tính, nhồi máu cơ tim, bệnh động mạch vành ổn định và chứng vữa xơ động mạch (*Circulation*, 2003, *108*, 1440-1445; *N. Engl. J. Med.*, 2003, *349*, 1595-604; *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2007, *49*, 2364–70). Vai trò của MPO trong bệnh suất này không chỉ liên quan đến sự tổn hại oxy hóa gây ra bởi các sản phẩm enzym, mà còn do sự tiêu thụ nitric oxit, chất điều hòa quan trọng của sự giãn mạch và tế bào cơ tim. Quan trọng là, sự đóng góp của MPO vào bệnh tim mạch không chỉ thông qua sự thâm nhập của bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân vào hệ mạch và cơ tim, mà còn thông qua sự lắng đọng chiến lược của MPO ngoại bào trên proteoglycan lên mặt đáy bên của màng trong (*Science*, 2002, *296*, 2391).

Vai trò nguyên nhân của MPO đối với sự phát triển của bệnh tim mạch còn được hỗ trợ bởi bệnh suất tim mạch thấp hơn ở các đối tượng khiếm khuyết MPO (*Acta Haematol.*, 2000, 104, 10–15) và nguồn dự trữ dòng máu qua động mạch vành giảm (*J. Biomed. Sci.*, 2004, 11, 59–64) và bệnh suất tăng ở các đối tượng mang đột biến tăng chức năng ở vùng khởi động MPO (*New Engl. J. Med.*, 2004, 350, 517; *Free Rad. Biol. & Med.*, 2009, 47, 1584; *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 14412-14420). Tác dụng trực tiếp lên dòng chảy và sự giãn mạch cũng được quan sát thấy sau khi dùng MPO ở lợn (*Eur. Heart J.*, 2011, 33, 1625).

Do đó, sự liên kết của hoạt tính MPO với các bệnh đã được ngụ ý ở bệnh tim mạch với viêm vi mạch và xơ hóa phản ứng bao gồm chứng suy tim, ví dụ, chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn, chứng suy tim với phân suất tống máu giảm, hội chứng động mạch vành cấp tính, nhồi máu cơ tim, bệnh động mạch vành ổn định và tình trạng bệnh có liên quan đến chứng vữa xơ động mạch.

Mặc dù đã tiến hành quy trình đáng kể để hiểu và điều trị chứng suy tim (HF), bệnh suất và tỉ lệ tử vong do HF vẫn còn cao. Nguyên nhân chính của việc tái cấu trúc tim, mà là nền tảng cho sự phát triển HF, là áp lực thành tâm thất tăng là kết quả của chứng tăng huyết áp liên tục, nhồi máu cơ tim, thiếu năng van hoặc các vấn đề khác. Tái cấu trúc tim dùng để chỉ sự thay đổi bất kỳ ở cấu trúc, kích thước, khối lượng hoặc chức năng tim và, mặc dù ban đầu nó là cơ chế bù trừ để duy trì công suất tim nó có thể dẫn đến sự mất bù và sự phát triển HF (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000, 35, 569-582). Các quy trình chính mà góp phần vào sự tái cấu trúc tim là phì đại (phát triển), xơ hóa và viêm tế bào cơ tim (*Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2006, 7, 589-600; *Circ. Res.*, 2010, 106, 47-57).

Hiện nay, nền tảng của sự điều trị HF dựa trên sự giảm đi của áp lực thành tâm thất và nó chủ yếu bao gồm việc sử dụng chất ức chế của hệ renin-angiotensin-aldosterone, ví dụ, angiotensin-enzym chuyển hóa-chất ức chế (ACE-I), của chất phong bế gây tiết β -adrenalin và của thuốc lợi tiểu (*Eur. Heart J.*, 2012, 14, 803-869). Mặc dù được điều trị, bệnh suất HF vẫn còn cao và khoảng 50% của tất cả các bệnh nhân chết trong vòng 5 năm sau khi chẩn đoán lần thứ

nhất (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999, 33, 734-742). Do đó, có nhu cầu bức thiết về các lựa chọn điều trị mới tập trung trực tiếp vào các quy trình phân tử và tế bào chính gây ra sự tái cấu trúc tim.

Chứng suy tim có thể được chia nhỏ thành HF với phân suất tổng máu giảm (HFrEF) và với phân suất tổng máu bảo tồn (HFpEF) (*Curr. Heart Fail. Rep.*, 2012, 9, 363-368). HFrEF và HFpEF khác nhau về sinh lý bệnh học, đặc điểm lâm sàng và điều trị. HFrEF thường dùng để chỉ HF tâm thu và điều trị bằng chất ức chế ACE, chất phong bế β và thuốc lợi tiểu đã làm giảm thành công tỉ lệ tử vong và bệnh suất ở bệnh nhân mắc HFrEF. Ngược lại, đối với HFpEF, mà thường được biểu thị là HF tâm trương, cho đến nay không có sự điều trị nào thể hiện một cách thuyết phục là làm giảm tỉ lệ tử vong hoặc bệnh suất. Điều này gây lo ngại, vì tỉ lệ mắc mới và tỉ lệ hiện hành của HFpEF đang tăng lên, cả ở thời hạn tuyệt đối và tương đối với HFrEF (*Eur. Heart J.*, 2013, 34, 1424-1431). Đặc điểm then chốt của HFpEF là sự co lại và sự giãn ra của thành tâm thất giảm đi. Xơ hóa tim là thành phần đóng góp quan trọng của sự tăng cứng này của thành tâm thất. Do đó, việc nhắm đích vào sự xơ hóa tim là chiến lược trị liệu tiềm năng đối với bệnh nhân HFpEF, cũng như là ở bệnh nhân HFrEF mà xơ hóa đóng vai trò quan trọng. Hơn nữa, HFpEF có thể chuyển tiếp thành sự giãn tim và thành HFrEF. Do đó điều quan trọng là phải nghiên cứu xem việc hướng đích được lý của sự xơ hóa tim có thể làm ngừng hoặc làm thuyên giảm HFpEF và sự chuyển tiếp tiềm năng của nó thành HFrEF hay không.

Vi mạch, dẫn đến sự xơ hóa kẽ đường như đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển HFpEF (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 2013, 62, 263-271) và đã chứng minh được là có sự liên đới giữa HF và enzym viêm, myeloperoxidaza (MPO) (*J. Am. Coll. Cardiol.*, 2007, 49, 2364-2370). Theo quan điểm về sự xơ hóa, có dữ liệu cho thấy rằng sản phẩm MPO axit hipoclorơ (HOCl), là khóa chuyển đổi điều hòa quan trọng điều biến các protein nền ngoại bào, bao gồm metalloproteinaza (MMP) (*J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 41279-41287; *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 28403-28409). Điều này còn được hỗ trợ bởi sự thuyên giảm của sự xơ hóa tâm nhĩ do angiotensin II gây ra và hoạt tính MMP giảm quan sát thấy ở sự thiếu hụt MPO. Hơn nữa, việc bổ sung MPO tái tổ hợp vào chuột

Mpo-/- dẫn đến sự xơ hóa tâm nhĩ chỉ ra rằng hoạt tính MPO tăng là đủ để gây ra sự xơ hóa (*Nat. Med.*, 2010, 16, 470-474). Ở mẫu hậu nhồi máu cơ tim (MI) con chuột Mpo-/- cũng thể hiện sự tái cấu trúc tâm thất được giảm bớt và chức năng được cải thiện (*J. Exp. Med.*, 2003, 197, 615-624). Các kết quả này cùng nhau chỉ ra rằng hoạt tính MPO là thành phần đóng vai trò then chốt đối với sự tái cấu trúc của cơ tim trong điều kiện bệnh lý.

Sự ức chế được lý của hoạt tính MPO có thể làm thuyên giảm sự xơ hóa tim và bảo toàn chức năng tim trong điều kiện có thể làm khởi phát HFpEF (tâm trương) và HFrEF (tâm thu). Cụ thể là sự tăng cứng của tim như là kết quả của sự xơ hóa bao quát có thể được ngăn chặn và có thể bảo toàn chức năng tim.

Có nhu cầu về chất ức chế có hoạt tính qua đường miệng của MPO để điều trị ví dụ như các tình trạng bệnh có liên quan đến chứng suy tim và bệnh động mạch vành. Để làm tăng chỉ số trị liệu của thuốc này, cần phải thu được chất ức chế MPO chọn lọc đối với MPO hơn là các peroxidaza khác, ví dụ, TPO để làm giảm nguy cơ về các vấn đề có hại liên quan đến tuyến giáp. Coi như là độ chọn lọc cao đối với MPO hơn là TPO có thể làm giảm nguy cơ phát triển của tuyến giáp (*Pharm. Res.*, 2013, 30, 1513-24. Ngoài ra, điều mong muốn là chất ức chế MPO để sử dụng trong trị liệu tim mạch sẽ làm hạn chế tính chất xuyên qua hàng rào máu não để làm giảm thiểu ảnh hưởng của nó ở hệ thần kinh trung ương (CNS).

WO2003/089430, WO2005/037835, WO2007/120097, WO2007/120098 và WO2007/142576 bộc lộ dẫn xuất thioxantin và việc sử dụng chúng làm chất ức chế MPO trong trị liệu.

WO2006/062465 và WO2007/142577 bộc lộ dẫn xuất 2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on được yêu cầu bảo hộ là chất ức chế của MPO. Đã nêu rằng hợp chất này có thể thể hiện độ chọn lọc chống lại các enzym liên quan, ví dụ, TPO.

WO2009/025618 bộc lộ thioxantin và dẫn xuất 2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on và việc sử dụng chất ức chế MPO để

điều trị bệnh teo đa hệ thống (MSA) và bệnh Huntington (HD) và để bảo vệ thần kinh.

J. Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals, 2012, 55, 393-399, bộc lộ một số dẫn xuất thioxantin được đánh dấu ^{13}C và ^{14}C , được triti hóa cũng như là hợp chất pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on được đánh dấu ^{14}C . Các hợp chất này được nêu là các chất làm bất hoạt của MPO.

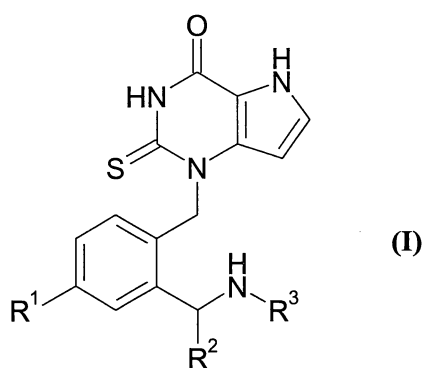
J. Biol. Chem., 2011, 286, 37578-37589, bộc lộ các dẫn xuất thioxantin nhất định. Các hợp chất này được nêu là làm ức chế MPO trong huyết tương và làm giảm sự clo hóa protein ở mẫu chuột. Các hợp chất này cũng được cho là chất ức chế kém của TPO.

WO2013/068875 bộc lộ dẫn xuất thiopyrimidon được cho là chất ức chế MPO.

Mục đích của sáng chế này là đề xuất chất ức chế MPO mới hữu dụng trong trị liệu. Mục đích khác là đề xuất hợp chất mới có độ chọn lọc được cải thiện đối với enzym MPO hơn là enzym TPO và/hoặc có tính chất xuyên qua hàng rào máu não hạn chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

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



trong đó:

R^1 là H, F, Cl hoặc CF_3 ,

R^2 là H, CH_3 hoặc C_2H_5 , và

R^3 là H, CH_3 , C_2H_5 , n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, xyclopropyl, xyclopropylmetyl, xyclobutyl, xyclobutylmetyl hoặc xyclopentyl, hoặc muối được dụng của chúng.

Hợp chất có công thức (I) là chất ức chế MPO. Do đó, hợp chất có công thức (I) có thể được dùng làm thuốc, cụ thể là đối với rối loạn, bệnh hoặc tình trạng bệnh chịu trách nhiệm đối với sự ức chế của MPO, và cụ thể hơn là tình trạng bệnh tim mạch, bao gồm bệnh động mạch vành, chứng suy tim (HF), chứng suy tim với phân suất tống máu giảm (HFrEF) và chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn (HFpEF), trong đó MPO có đóng vai trò nào đó.

Cần hiểu rằng khi cấu hình tuyệt đối (*R* hoặc *S*) của chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ của hợp chất được bộc lộ ở đây được xác định trong bản mô tả này, nó là nguyên tử cacbon mà R^2 được gắn vào mà là tâm lập thể (tâm bất đối xứng) đang xem xét.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1 thể hiện các giá trị lượng tải của các chất chỉ thị sinh học liên quan đến MPO để dự đoán mức độ nghiêm trọng của triệu chứng của bệnh nhân HFpEF (nhóm NYHA). Để cho rõ ràng, các giá trị lượng tải của các biến còn lại ($n=240$) đã được bỏ qua trong hình vẽ này. Để đưa các giá trị lượng tải đã được thể hiện trong phối cảnh của phần còn lại của dữ liệu, các giá trị lượng tải lớn nhất và nhỏ nhất trong bộ dữ liệu này được chỉ ra bằng đường chấm chấm. Cột màu đen biểu thị giá trị lượng tải đối với NT-proBNP được thể hiện để so sánh.

Hình 2 thể hiện sự giảm phụ thuộc liều lượng của axit uric bởi chất ức chế MPO AZD3241 ở các Tình Nguyên Viên Khỏe Mạnh. Các đối tượng tiếp nhận giả dược hoặc liều lượng hàng ngày nhất định trong thời gian 10 ngày, và sự khác biệt của hàm lượng urat trong huyết tương so với đường cơ sở được tính. Mỗi ký hiệu chỉ một đối tượng.

Hình 3 thể hiện rằng MPO đã được hoạt hóa gây ra sự sản xuất urat in vitro. MPO đã được hoạt hóa được ủ với xantin và lượng đã chuẩn độ của Ví dụ 3: 1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on trong thời gian 80 phút, sau đó hàm lượng urat

được định lượng bằng LC-MS. Đường chấm chấm biểu thị urat tạo thành trong sự có mặt của MPO chưa được hoạt hóa.

Hình 4 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với Ví dụ 3(j): 1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.

Hình 5 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X đối với Ví dụ 7: 1-[2-(Aminometyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để tránh sự không rõ ràng cần hiểu rằng trong bản mô tả này khi một nhóm được nêu là "được xác định ở trên" thì nhóm này bao hàm định nghĩa xuất hiện đầu tiên và rộng nhất cũng như là mỗi và tất cả các định nghĩa khác của nhóm đó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, trong đó R^1 biểu thị H, F, Cl hoặc CF_3 .

Theo phương án khác, R^1 biểu thị Cl.

Theo một phương án, R^2 biểu thị H, CH_3 hoặc C_2H_5 .

Theo phương án khác, R^2 biểu thị CH_3 hoặc C_2H_5 .

Theo phương án khác nữa, R^2 biểu thị CH_3 .

Theo một phương án, R^3 biểu thị H, CH_3 , C_2H_5 , *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, xyclopropyl, xyclopropylmetyl, xyclobutyl, xyclobutylmetyl hoặc xyclopentyl.

Theo phương án khác, R^3 biểu thị H.

Theo phương án khác nữa, nguyên tử cacbon mà R^2 được gắn vào có cấu hình *R* khi R^2 biểu thị CH_3 hoặc C_2H_5 .

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) được chọn từ:

1-{2-[(1*R*)-1-aminopropyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;

1-[2-(1-aminoethyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on.

1-{2-[(1*S*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{4-clo-2-[1-(metilamino)etil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{4-clo-2-[(etilamino)metil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-[2-(Aminometil)-4-clobenzil]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on.

1-{4-clo-2-[(metilamino)metil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-(2-{[(xyclobutylmetil)amino]metil}benzil)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{2-[(xyclobutylamino)metil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{2-[(xyclopentylamino)metil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-(2-{[(2-metilpropil)amino]metil}benzil)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{2-[(propan-2-ylamino)metil]benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-[2-(aminometil)-4-(triflometil)benzil]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on;

1-{2-[(metilamino)metil]-4-(triflometil)benzil}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-on; và

muối được dụng của chúng.

Cần lưu ý rằng một hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất cụ thể này có thể được loại bỏ khỏi phương án bất kỳ trong số các phương án đã nêu ở đây.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), và các hợp chất trung gian được dùng trong việc điều chế chúng.

Phương án khác là sản phẩm có thể thu được bằng quy trình hoặc ví dụ bất kỳ được bộc lộ trong bản mô tả này.

Ngoài ra, vì thực tế là cấu hình tuyệt đối của chất đồng phân đối ảnh của hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này được xác định bằng nghiên cứu quang phổ, chứ không phải là bằng, ví dụ, nghiên cứu tia X (xem Ví dụ thực hiện 3(b)), cần hiểu rằng kí hiệu *R* và *S* sẽ được đảo ngược nếu kết quả từ nghiên cứu quang phổ vì lí do này hay lí do khác được xác thực sai.

SỬ DỤNG TRONG Y HỌC VÀ DƯỢC HỌC

Hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của chúng hữu dụng bởi vì chúng mang hoạt tính được dùng làm chất ức chế của enzym MPO.

Hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của chúng được chỉ định để sử dụng trong việc điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh trong đó sự điều biến hoạt tính enzym myeloperoxidaza (MPO) là điều mong muốn. Cụ thể là, sự liên kết của hoạt tính MPO với bệnh đã được ngụ ý trong bệnh tim mạch. Do đó hợp chất được bộc lộ này được chỉ định cụ thể để sử dụng trong việc điều trị các tình trạng bệnh hoặc rối loạn bệnh động mạch vành và suy tim ở động vật có vú bao gồm người. Ngoài ra, hợp chất được bộc lộ được chỉ định cụ thể để sử dụng trong việc điều trị các tình trạng bệnh hoặc các rối loạn bệnh thận mạn tính (CKD), hội chứng tim-thận (CRS), viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH) và chứng loạn nhịp tim ở động vật có vú bao gồm người.

Tình trạng bệnh hoặc rối loạn mà có thể đã được đề cập cụ thể bao gồm bệnh động mạch vành, hội chứng động mạch vành cấp tính, chứng suy tim,

chứng suy tim với phân suất tống máu giảm và chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn.

Phòng ngừa được dự tính là có liên quan cụ thể đến việc điều trị cho người bị mắc giai đoạn sớm của, hoặc theo cách khác được coi như là có nguy cơ tăng về, bệnh hoặc tình trạng bệnh đang quan tâm. Người có nguy cơ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh cụ thể thường bao gồm những người có tiền sử gia đình mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh này, hoặc những người đã được xác định bằng thử nghiệm hoặc sàng lọc di truyền hoặc được xác định thông qua các mô hình đánh dấu sinh học cụ thể là đặc biệt dễ phát triển bệnh hoặc tình trạng bệnh này.

Đối với các chỉ dẫn trị liệu nêu trên, liều lượng được dùng, tất nhiên, sẽ thay đổi tùy theo hợp chất được sử dụng, phương thức dùng và việc điều trị mong muốn. Tuy nhiên, nhìn chung, kết quả thỏa mãn thu được khi hợp chất được dùng ở liều lượng của dạng rắn nằm trong khoảng từ 1 mg đến 2000 mg mỗi ngày.

Hợp chất có công thức (I), và dẫn xuất được dùng của chúng, có thể được dùng ở dạng nguyên bản, hoặc ở dạng dược phẩm thích hợp trong đó hợp chất hoặc dẫn xuất được trộn lẫn với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dùng. Do đó, khía cạnh khác đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất mới có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dùng. Việc dùng có thể là, nhưng không giới hạn ở, qua đường tiêu hóa (bao gồm miệng, dưới lưỡi hoặc trực tràng), trong mũi, xông, trong tĩnh mạch, tại chỗ hoặc các đường dùng ngoài đường tiêu hóa khác. Quy trình thông thường để lựa chọn và điều chế các dược phẩm thích hợp được mô tả trong tài liệu, ví dụ, *Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs*, M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 2nd Ed. 2002. Tốt hơn là, dược phẩm chứa ít hơn 80% và tốt hơn nữa là ít hơn 50% hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án sáng, chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể

là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh tim mạch ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị tình trạng bệnh mà sự ức chế của MPO là có lợi.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh động mạch vành ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị hội chứng động mạch vành cấp tính ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim với phân suất tổng máu giảm ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim với phân suất tổng máu bảo tồn ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị CKD ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị CRS ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị NASH ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng loạn nhịp tim ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ của, bệnh hoặc tình trạng bệnh trong đó sự ức chế của enzym MPO là có lợi mà bao gồm bước dùng cho người bị mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, rối loạn tim mạch, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, bệnh động mạch vành, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, hội chứng động mạch vành cấp tính, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao

gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, chứng suy tim, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, chứng suy tim với phân suất tống máu giảm, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, CKD, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, CRS, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, NASH, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng

lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp điều trị, hoặc làm giảm nguy cơ mắc, chứng loạn nhịp tim, ở người mắc hoặc có nguy cơ mắc, bệnh hoặc tình trạng bệnh này, trong đó phương pháp này bao gồm bước cho người này dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), và chất pha loãng, tá dược lỏng và/hoặc chất mang trợ dược dụng.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị tình trạng bệnh mà sự ức chế của MPO là có lợi.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh động mạch vành ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị hội chứng động mạch vành cấp tính ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim với phân suất tống máu giảm ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị CKD ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị CRS ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị NASH ở động vật có vú, cụ thể là người.

Theo phương án khác nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của hợp chất có công thức (I), trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang được dụng, để sử dụng trong trị liệu, cụ thể là trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị loạn nhịp tim ở động vật có vú, cụ thể là người.

Sáng chế còn đề xuất quy trình điều chế được phẩm này mà bao gồm bước trộn các thành phần.

Theo một phương án, hàm lượng urat trong huyết tương có thể được dùng làm công cụ phân tầng và chất đánh dấu sinh học được động học đối với việc điều trị chất ức chế MPO.

Để đặt MPO vào ngữ cảnh của sinh lý bệnh học HFpEF, tập hợp chất chỉ thị sinh học liên quan đến MPO được định lượng trong huyết tương từ bệnh nhân HFpEF, tức là đoàn hệ KaRen (*Eur. J. Heart Failure*, 2009, 11, 198-204). Đoàn hệ này biểu thị các bệnh nhân được chẩn đoán mắc HFpEF mà được theo dõi biến cố 18 tháng sau khi tham gia vào nghiên cứu. Ngoài dữ liệu ECG và siêu âm tim ký khi tham gia vào nghiên cứu, sổ đăng ký còn bao gồm dữ liệu về thuốc, tiền sử y tế và dữ liệu hóa học lâm sàng. Ngoài hàm lượng của MPO và hoạt tính của chúng, các chất chỉ thị sinh học sau đây được định lượng (cơ sở cơ giới/đường dẫn trong ngoặc đơn): calprotectin, lipocalin-2 (NGAL), sTNFR1 (sự tham gia của bạch cầu trung tính/bạch cầu đơn nhân), arginin (Arg), dimetyl arginin không đối xứng (ADMA) và đối xứng (SDMA), endothelin-1 (sức khỏe mạch); urat và alantoin (dị hóa purin và tình trạng oxy hóa), TIMP-1, TIMP-4 và osteopontin (tái cấu trúc mô).

Việc phân tích thành phần chính có giám sát - sự bảo vệ trực giao đối với các cấu trúc bên bằng phân tích bình phương tối thiểu một phần (OPLS) - được thực hiện để xác định và xếp hạng các biến (n=256) giải thích mức độ nghiêm trọng của triệu chứng của bệnh (điểm NYHA (The Criteria Committee of the New York Heart Association. Nomenclature and Criteria for the Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels. 9th ed. Boston, Mass: Little, Brown & Co; 1994: 253-256)). Bộ dữ liệu đăng ký KaRen được hợp nhất với dữ liệu chất đánh dấu sinh học có liên quan đến MPO thu được từ huyết tương được lấy khi tham gia nghiên cứu của bệnh nhân. Tất cả dữ liệu được chia tỉ lệ thành biến thiên đơn vị và tâm trung bình. Ngoài ra, các biến với tỉ lệ lớn nhất/trung bình >10, được quy đổi log để làm tăng tác dụng đòn bẩy ngang bằng của tất cả các biến. Điều này tạo ra ma trận dữ liệu gồm có 257 biến ở 86 bệnh nhân mà được đưa đi phân tích thành phần chính bằng cách sử dụng Simca 13 (Umetrics,

Umeå, Thụy Điển). Trong phân tích OPLS, các biến (các lượng tải) đóng góp vào đáp ứng đã được dự đoán, trong trường hợp này là điểm NYHA, có thể được tách khỏi các lượng tải thay đổi một cách độc lập của đáp ứng, do đó tách khỏi các biến trực giao. Các biến thông tin đến lượt mình có thể tương quan dương hoặc âm với đáp ứng. Độ lớn của giá trị lượng tải (dương hay âm) càng cao, độ tương quan với đáp ứng đã được dự đoán càng tốt. Mẫu OPLS dự đoán điểm NYHA giải thích 50% ($R^2Y=0,50$) của sự biến đổi của điểm NYHA, với giá trị Q^2 bằng 0,26 sau sự đánh giá chéo dao Jack đầy đủ như được thực hiện trong phần mềm SIMCA.

Như được chỉ ra bởi biên độ của các giá trị lượng tải thể hiện trên Hình 1, phần lớn các chất chỉ thị sinh học liên quan đến MPO là các chất dự đoán tốt của điểm NYHA, chứng tỏ rằng các chất chỉ thị sinh học này tham gia tích cực trong sinh lý bệnh học, và không chỉ đóng vai trò làm người ngoài cuộc (như có thể được gợi ý bởi các giá trị lượng tải gần bằng không). Điều thú vị là, tất cả các chất chỉ thị sinh học chứ không chỉ là osteopontin, Arg, và ADMA thực hiện tốt hơn so với NT-proBNP trong việc dự đoán điểm NYHA.

Sự đồng kết cụm của các chất chỉ thị sinh học liên quan đến MPO với urat và sản phẩm oxy hóa của nó alantoin (còn được chứng tỏ bởi sự tương quan đáng kể giữa urat và tất cả các chất chỉ thị sinh học đơn lẻ khi được phân tích theo kiểu đơn biến, Bảng 1) cho thấy rằng trên thực tế urat có thể là chất đánh dấu sinh học đối với sự viêm và sự giảm oxy mô do chức năng mạch kém.

	Khối lượng	Arg/
	Khối lượng	Arg/

[illegible]

Chúng tôi giả thiết rằng sự giảm oxy mô, mà mức độ của nó sẽ được xác định bằng mức độ của sự viêm và chức năng mạch, có ảnh hưởng lên nồng độ urat trong huyết tương. Chứng thiếu máu cơ tim dẫn đến sự mất nhanh của ATP và sự tích tụ tương ứng của hàm lượng urat ở tim chuột (*Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004, 286, H677-H684; *J. Biol. Chem.*, 1995, 270, 18797-18803). Ngoài ra, sự sản xuất urat ở cơ tim tăng lên góp phần vào hàm lượng urat toàn thân và tương quan với nhóm NYHA ở bệnh nhân suy tim (*Circ. J.*, 2006, 70, 1006-1011).

Myeloperoxidaza lắng đọng ở thành mạch (*J. Clin. Invest.*, 2001, 108, 1759-1770) đã được chứng minh là gây ra sự mất chức năng mạch cả ở cá thể khỏe mạnh (*Eur. Heart J.*, 2012, 33, 1625-1634) và ở cá thể mắc bệnh (*Circulation*, 2004, 110, 1134-1139; *Circulation*, 2006, 113, 1871-1878). Do đó chúng tôi đề xuất rằng sự ức chế myeloperoxidaza sẽ dẫn đến chức năng mạch được cải thiện (như được chứng tỏ bởi dữ liệu từ người thiếu hụt MPO, *Eur. Heart J.*, 2012, 33, 1625-1634), mà sẽ làm cải thiện sự tưới máu mô và sự cung cấp oxy và bằng cách đó làm giảm sự sản xuất cục bộc và do đó làm giảm nồng độ toàn thân của urat. Giả thuyết này còn được hỗ trợ bởi dữ liệu từ các thử nghiệm lâm sàng bằng cách sử dụng hai chất ức chế myeloperoxidaza khác biệt (AZD5904 (http://openinnovation.astrazeneca.com/what-we-offer/compound/azd5904/?_sm_au_=isH0QK1bJkWQtMf7) và AZD3241 (*Nuclear Medicine and Biology*, 2015, 42, 555-560), cả hai chất này làm giảm theo cách phụ thuộc liều lượng hàm lượng urat ở các đối tượng khỏe mạnh (dữ liệu được thể hiện đối với AZD3241 trên Hình 2 (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00914303)).

Ngoài vai trò của MPO trong việc duy trì hàm lượng urat tăng do sự tưới máu kém như đã thảo luận ở trên, chúng tôi còn đề xuất rằng MPO *thực chất* có thể tạo ra urat bằng cách oxy hóa xantin trong sự phối hợp với xantin oxidaza. Điều này xảy ra khi MPO đã được hoạt hóa gặp xantin *in vitro*, và sự sản xuất urat tăng lên có thể bị ức chế theo cách phụ thuộc nồng độ bởi Ví dụ 3 (Hình 3).

Theo phương án khác, hàm lượng urat trong huyết tương có thể được dùng làm công cụ phân tầng và chất đánh dấu sinh học được động học đối với

việc điều trị chất ức chế MPO kết hợp với các chất chỉ thị sinh học khác hoặc các đặc điểm lâm sàng để xác định bệnh nhân có chức năng mạch kém (và do đó mức độ viêm cao theo phân tích OPLS ở trên).

Theo phương án khác nữa, sáng chế mô tả phương pháp xác định bệnh nhân thích hợp đối với việc điều trị chất ức chế MPO bao gồm việc đo hàm lượng urat trong huyết tương.

Hợp chất có công thức (I) được lấy ví dụ ở đây, khi được thử nghiệm trong thử nghiệm liên kết MPO, ví dụ, Thử nghiệm A được mô tả dưới đây, tốt hơn là có IC₅₀ nhỏ hơn 50 μ M. Hợp chất có công thức (I) còn thể hiện biên dạng dược lý hứa hẹn bằng cách tách riêng các tác dụng mong muốn và không mong muốn *in vivo*.

Các phương án này và các phương án khác sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây, trong đó các khía cạnh khác sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực khi đọc phần mô tả này.

ĐẶC ĐIỂM DƯỢC LÝ

Hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng được tin là hữu dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị tình trạng bệnh tim mạch, bao gồm nhưng không giới hạn ở bệnh động mạch vành, hội chứng động mạch vành cấp tính, chứng suy tim, chứng suy tim với phân suất tống máu giảm và chứng suy tim với phân suất tống máu bảo tồn ở động vật có vú, cụ thể là người.

Để tránh sự không rõ ràng, như dùng trong bản mô tả này, thuật ngữ "điều trị" bao gồm điều trị trị liệu và/hoặc phòng ngừa.

Khi hợp chất hoặc muối được mô tả ở đây được dùng dưới dạng liệu pháp để điều trị rối loạn, "lượng hữu hiệu để điều trị" là lượng đủ để làm giảm hoặc làm thuyên giảm hoàn toàn các triệu chứng hoặc các ảnh hưởng có hại khác của rối loạn, chữa trị rối loạn, làm đảo ngược, làm ngừng hoàn toàn, hoặc làm chậm sự tiến triển của rối loạn hoặc làm giảm nguy cơ xấu đi của rối loạn.

Do đó hợp chất được mô tả ở đây được chỉ định cả trong điều trị trị liệu và/hoặc phòng ngừa các tình trạng bệnh này.

Hợp chất được mô tả ở đây có ưu điểm là chúng có thể hữu hiệu hơn, ít độc hơn, chọn lọc tốt hơn, hiệu nghiệm hơn, tạo ra ít tác dụng phụ hơn, được hấp thụ dễ dàng hơn, và/hoặc có biên dạng dược động học tốt hơn (ví dụ, độ sinh khả dụng qua đường miệng cao hơn và/hoặc độ thanh thải thấp hơn), so với các hợp chất đã biết trong tình trạng kỹ thuật.

LIỆU PHÁP KẾT HỢP

Hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, có thể còn được dùng kết hợp với hợp chất khác dùng để điều trị các tình trạng bệnh nêu trên.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất liệu pháp kết hợp trong đó hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, và thành phần hoạt tính thứ hai được dùng đồng thời, liên tiếp hoặc trong hỗn hợp pha trộn, để điều trị một hoặc nhiều tình trạng bệnh liệt kê ở trên. Dạng kết hợp này có thể được dùng kết hợp với một hoặc nhiều thành phần hoạt tính khác.

Hợp chất được mô tả ở đây có thể được dùng để điều trị các bệnh tim mạch, chuyển hóa và thận kết hợp với các chất là:

- thuốc điều trị bệnh tim,
- thuốc chống tăng huyết áp,
- thuốc lợi tiểu,
- tác nhân gây giãn mạch máu ngoại vi,
- tác nhân điều biến lipit,
- thuốc chống tiểu đường,
- thuốc chống viêm, hoặc
- chất chống đông.

Ví dụ về các chất trên bao gồm, nhưng không giới hạn ở, glycosit cây địa hoàng, chất chống loạn nhịp tim, chất đối kháng kênh canxi, chất ức chế ACE, chất phong bế thụ thể angiotensin (ví dụ, Valsartan), chất phong bế thụ thể endothelin, chất phong bế β , thuốc lợi tiểu thiazit, thuốc lợi tiểu móc, chất ức chế tổng hợp cholesterol, ví dụ, statin (ví dụ, Rosuvastatin), chất ức chế hấp thụ cholesterol, chất ức chế protein vận chuyển cholesteryleste (CETP), thuốc chống

tiểu đường, ví dụ, insulin và các chất tương tự, các chất tương tự GLP-1, sulphonamit, chất ức chế dipeptidyl peptidaza 4, thiazolidinedion, chất ức chế SGLT-2, và thuốc chống viêm, ví dụ, chất đối kháng NSAID và CCR2, chất chống đông, ví dụ, heparin, chất ức chế thrombin và chất ức chế của yếu tố Xa, chất ức chế kết tụ tiểu cầu, chất đối kháng P2X7 và chất ức chế neprilysin (ví dụ, Sacubitril).

Khi được dùng trong trị liệu kết hợp, dự tính rằng hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của chúng và các thành phần hoạt tính khác có thể được dùng trong hợp phần đơn lẻ, các hợp phần hoàn toàn riêng rẽ, hoặc dạng kết hợp của chúng. Cũng dự định rằng các thành phần hoạt tính có thể được sử dụng đồng thời, cùng một lúc, theo tuần tự, hoặc riêng rẽ. (Các) hợp phần và (các) tần suất dùng liều lượng cụ thể của liệu pháp kết hợp phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm, ví dụ, đường dùng, tình trạng bệnh cần điều trị, kiểu bệnh nhân, các tương tác có thể có bất kỳ giữa các thành phần hoạt tính khi được kết hợp vào hợp phần đơn lẻ, tương tác bất kỳ giữa các thành phần hoạt tính khi chúng được dùng cho con vật mắc bệnh, và nhiều yếu tố khác đã biết đối với thầy thuốc (trong trường hợp bệnh nhân là người), bác sĩ thú y (trong trường hợp bệnh nhân không phải là người), và những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực khác.

DƯỢC PHẨM

Sáng chế mô tả phương pháp điều trị tình trạng bệnh mà đòi hỏi sự ức chế của MPO, mà phương pháp này bao gồm bước dùng lượng hữu hiệu để điều trị của hợp chất có công thức (I) cho người mắc, hoặc dễ bị mắc, tình trạng bệnh này.

Hợp chất có công thức (I) thường được dùng qua đường miệng, tại chỗ, ngoài đường tiêu hóa, trong tĩnh mạch, trong cơ, dưới da hoặc theo đường có thể tiêm được khác, má, trực tràng, âm đạo, qua da và/hoặc đường mũi và/hoặc bằng cách xông, ở dạng dược phẩm chứa thành phần hoạt tính hoặc muối được dụng của chúng, ở dạng liều lượng được dụng. Tùy thuộc vào rối loạn và bệnh nhân cần điều trị và đường dùng, hợp phần có thể được dùng ở các liều lượng thay đổi. Quy trình thông thường để lựa chọn và điều chế các dược phẩm thích hợp

được mô tả trong tài liệu, ví dụ, *Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs*, M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 2nd Ed. 2002.

Liều lượng hàng ngày thích hợp của hợp chất có công thức (I) trong việc điều trị triệu chứng cho người là khoảng 0,0001-100 mg/kg khối lượng cơ thể, tốt hơn là 0,01-10 mg/kg khối lượng cơ thể.

Chế phẩm dùng theo đường miệng được ưu tiên, cụ thể là viên nén hoặc viên nang mà có thể được tạo chế phẩm bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực để cung cấp liều lượng của hoạt chất nằm trong khoảng từ 0,007 mg đến 700 mg ví dụ 1 mg, 3 mg, 5 mg, 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg và 250 mg.

Liều lượng và tần suất sử dụng tối ưu sẽ phụ thuộc vào tình trạng bệnh cụ thể được điều trị và độ nghiêm trọng của nó; kiểu bệnh nhân; tuổi, giới tính, kích thước và khối lượng, chế độ ăn, và tình trạng sức khỏe chung của bệnh nhân cụ thể; tỉ lệ khối lượng não/cơ thể; các thuốc khác mà bệnh nhân có thể đang dùng; đường dùng; chế phẩm; và nhiều yếu tố khác đã biết đối với thầy thuốc và những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực khác.

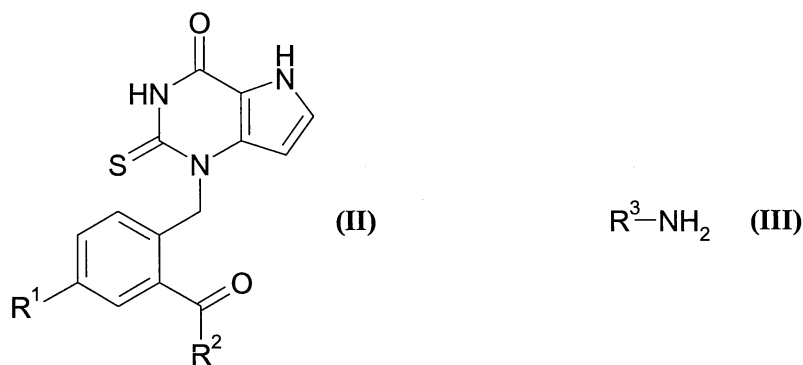
Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc dẫn xuất dược dụng của chúng, trong hỗn hợp với tá dược, chất pha loãng và/hoặc chất mang dược dụng.

Hợp chất có công thức (I) có thể có mặt trong dược phẩm ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 99,5%, ví dụ, từ 0,5 đến 95%, theo khối lượng của tổng chế phẩm.

ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, mà quy trình này bao gồm các bước:

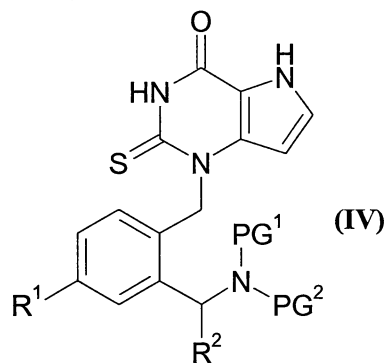
- a) cho hợp chất có công thức (II) phản ứng với hợp chất có công thức (III):



trong đó R^1 , R^2 và R^3 như được xác định trong công thức (I) và điều kiện sao cho sự alkyl hóa khử của hợp chất có công thức (III) tạo thành liên kết N-C giữa nguyên tử nitơ của hợp chất có công thức (III) và nguyên tử cacbon của nhóm aldehyt, hoặc nhóm keton, của hợp chất có công thức (II), và nơi mà cần chuyển hóa hợp chất thu được có công thức (I) thành muối được dụng của chúng, và nơi mà mong muốn tách hợp chất thu được có công thức (I) thành các chất đồng phân quang học riêng rẽ của nó; hoặc

b) cho hợp chất có công thức (II), trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I), phản ứng với hydroxylamin hoặc muối của chúng sau đó hợp chất trung gian oxime được tạo thành được xử lý bằng chất khử và điều kiện sao cho liên kết đơn được tạo thành giữa nguyên tử nitơ của hợp chất hydroxylamin và nguyên tử cacbon của nhóm aldehyt, hoặc nhóm keton, của hợp chất có công thức (II) và đồng thời nhóm hydroxyl, mà được gắn vào nguyên tử nitơ, được thay thế bằng nguyên tử hydro, và dẫn xuất amin bậc một thu được tùy ý được chuyển hóa thành hợp chất amin bậc hai để đưa phần tử thế R^3 , mà được xác định trong công thức (I) vào, bằng quy trình alkyl hóa khử thông thường bằng cách sử dụng hợp chất aldehyt hoặc keton thích hợp và chất khử, và khi cần chuyển hóa hợp chất thu được có công thức (I) thành muối được dụng của chúng, và nếu muốn tách hợp chất thu được có công thức (I) thành các chất đồng phân quang học riêng rẽ của nó; hoặc

c) xử lý hợp chất có công thức (IV) bằng chất phản ứng khử bảo vệ:



trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I) và PG^1 và PG^2 là các nhóm bảo vệ, mà có thể giống nhau, và dẫn xuất amin bậc một thu được tùy ý được chuyển hóa thành hợp chất amin bậc hai để đưa phần tử thế R^3 , mà được xác định trong công thức (I) vào, bằng quy trình alkyl hóa khử thông thường bằng cách sử dụng hợp chất aldehyt hoặc keton thích hợp và chất khử, và ở đó cần chuyển hóa hợp chất thu được có công thức (I) thành muối được dùng của chúng, và nơi mà mong muốn tách hợp chất thu được có công thức (I) thành các chất đồng phân quang học riêng rẽ của nó.

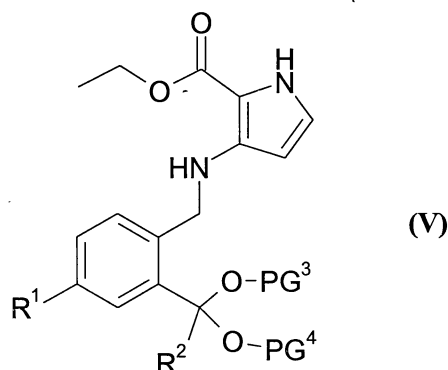
Hợp chất có công thức (II) và (III) được cho phản ứng với nhau trong điều kiện alkyl hóa khử. Phản ứng thường được thực hiện ở nhiệt độ không cực đoan, ví dụ, 0 - 40°C, trong dung môi về cơ bản là trơ, ví dụ, *N*-methylpyrrolidon. Hỗn hợp phản ứng có thể còn được gia nhiệt bằng cách chiếu xạ vi sóng ở nhiệt độ cao hơn, ví dụ, trên 100°C. Các chất khử thông thường bao gồm borohyđrua, ví dụ, natri xyanoborohyđrua. Phản ứng khử có thể còn được xúc tác bằng kim loại bằng cách sử dụng, ví dụ, tetraisopropoxytitan.

Hợp chất có công thức (II) và hợp chất hydroxylamin được cho phản ứng với nhau trong điều kiện tạo thành oxime sau đó là khử. Phản ứng thường được thực hiện ở nhiệt độ không cực đoan, ví dụ, 20 – 70°C, trong dung môi về cơ bản là trơ ví dụ HOAc. Các chất khử thông thường bao gồm kim loại, ví dụ, kẽm.

Hợp chất có công thức (IV) được cho phản ứng với chất phản ứng khử bảo vệ trong điều kiện thông thường để loại bỏ các nhóm bảo vệ. Thông thường, các nhóm bảo vệ là hai nhóm *tert*-butyloxycarbonyl và các chất khử bảo vệ

thông thường bao gồm axit, ví dụ, hydro clorua. Phản ứng thường được thực hiện ở nhiệt độ bằng khoảng 30-50°C, trong dung môi hữu cơ, ví dụ, MeOH.

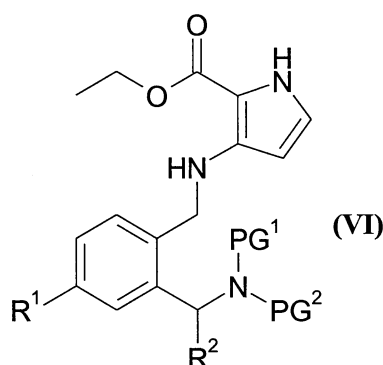
Hợp chất có công thức (II) có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách cho hợp chất có công thức (V) phản ứng với benzoyl isothioxyanat:



trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I) và PG^3 và PG^4 là các nhóm bảo vệ, mà có thể giống nhau hoặc không giống nhau, và, mà có thể được nối hoặc không được nối với nhau để tạo thành vòng. Điều kiện phản ứng là điều kiện sao cho vòng 2-thiopyrimidinon sáu cạnh được tạo thành, và cuối cùng hợp chất trung gian thu được được xử lý bằng chất phản ứng khử bảo vệ để loại bỏ các nhóm bảo vệ PG^3 và PG^4 để tạo ra hợp chất có công thức (II).

Hợp chất có công thức (III) có sẵn trên thị trường, đã biết trong lĩnh vực hoặc có thể được điều chế theo cách thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Hợp chất có công thức (IV) có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách cho hợp chất có công thức (VI) phản ứng với benzoyl isothioxyanat:

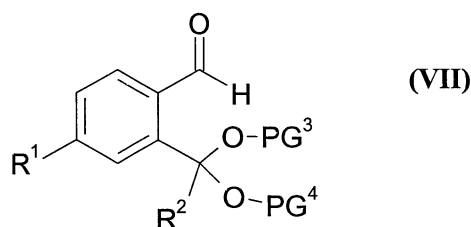


trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I) và PG^1 và PG^2 như được xác định trong công thức (IV) và điều kiện phản ứng là điều kiện sao cho

vòng 2-thiopyrimidinon sáu cạnh được tạo thành để tạo ra hợp chất có công thức (IV).

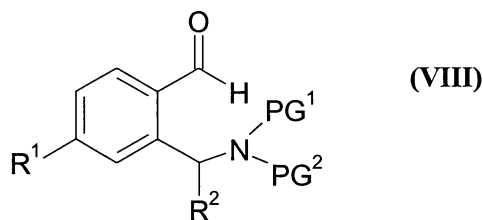
Trong phản ứng khép vòng như nêu ở trên bổ sung từ từ hợp chất có công thức (V), hoặc hợp chất có công thức (VI), và benzoyl isothioxyanat cùng nhau trong dung môi hữu cơ thích hợp, ví dụ, MeOH, và khuấy đến khi phản ứng hoàn thành, thường là ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian từ 5 phút đến 4 giờ, và nếu cần, qua đêm. Thường là sau đó bazơ, ví dụ, Cs_2CO_3 , được bổ sung vào và hỗn hợp có thể được khuấy ở nhiệt độ cao trong thời gian kéo dài, ví dụ, ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 3-4 giờ. Sau khi phản ứng hoàn thành, hỗn hợp thường được xử lý bằng axit, ví dụ, HOAc, để tạo ra hợp chất yêu cầu có công thức (II) hoặc có công thức (IV).

Hợp chất có công thức (V) có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách cho ethyl 3-amino-1H-pyrol-2-carboxylat phản ứng với hợp chất có công thức (VII):



trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I) và PG^3 và PG^4 như được xác định trong công thức (V) và điều kiện phản ứng là điều kiện alkyl hóa thông thường. Thông thường, hợp chất amin, như muối hydroclorua, được xử lý bằng *N,N*-diisopropyletylamin và HOAc trong dung môi hữu cơ ví dụ etanol, và sau đó hợp chất aldehyt có công thức (VII) được bổ sung. Sau khi khuấy hỗn hợp một thời gian, ví dụ, ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ, chất khử, ví dụ, natri xyanoborohyđrua, được bổ sung và hỗn hợp thu được được khuấy đến khi phản ứng hoàn thành, ví dụ, ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1-20 giờ, để tạo ra hợp chất có công thức (V).

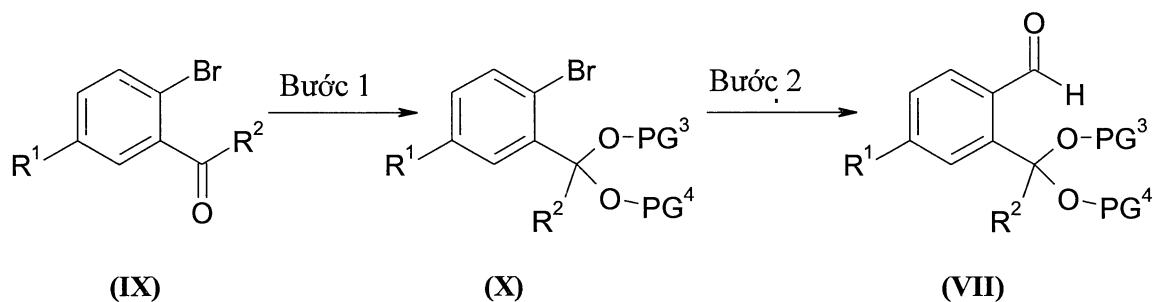
Hợp chất có công thức (VI) có thể được điều chế, ví dụ, bằng cách cho phản ứng trong điều kiện alkyl hóa ethyl 3-amino-1H-pyrol-2-carboxylat với hợp chất có công thức (VIII):



trong đó R^1 và R^2 như được xác định trong công thức (I) và PG^1 và PG^2 như được xác định trong công thức (IV). Thông thường, hợp chất amin được đưa vào dưới dạng muối hydroclorua, mà sau đó được xử lý bằng lượng dư của *N,N*-diisopropyletylamin trước khi bổ sung hợp chất aldehyt. Tốt hơn là, chất khử, ví dụ, natri xyanoborohydrua, được bổ sung sau khi hỗn hợp của amino hợp chất và hợp chất aldehyt được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian kéo dài, ví dụ, trong thời gian 18 giờ. Phản ứng thường là được thực hiện trong dung môi rượu, ví dụ, MeOH hoặc etanol, ở nhiệt độ trong phòng và trong sự có mặt của HOAc.

Hợp chất có công thức (VII) có thể được điều chế như được thể hiện trên Sơ đồ 1 dưới đây và bằng các phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả trong các ví dụ.

Sơ đồ 1



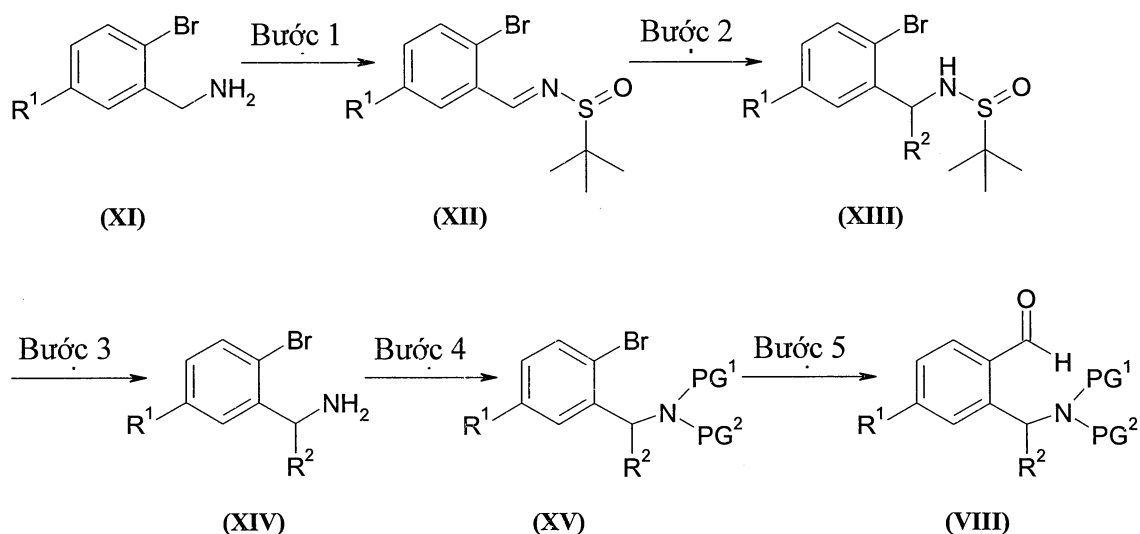
Bước 1: Hợp chất có công thức (X), trong đó R^1 , R^2 , PG^3 và PG^4 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách cho phản ứng hợp chất có công thức (IX) trong đó R^1 và R^2 như đã được xác định từ trước với rượu hoặc diol thích hợp, ví dụ, etan-1,2-diol trong sự có mặt của axit, ví dụ, axit 4-metylbensensulfonic, trong dung môi thích hợp, ví dụ, toluen. Hợp chất có công thức (IX), trong đó R^1 và R^2 như đã được xác định từ trước, là đã biết trong lĩnh vực hoặc có thể được điều chế theo cách thông thường đã biết bởi nhà hóa học có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Bước 2: Hợp chất có công thức (VII), trong đó R^1 , R^2 , PG^3 và PG^4 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức (X) trong đó R^1 , R^2 , PG^3 và PG^4 như đã được xác định từ trước, bằng bazơ mạnh, ví dụ, butyllithi trong dung môi trơ, ví dụ, THF, và sau đó xử lý hỗn hợp thu được bằng DMF. Tốt hơn là phản ứng được thực hiện ở nhiệt độ thấp, ví dụ, ở nhiệt độ

– 78°C.

Hợp chất có công thức (VIII) có thể được điều chế như được thể hiện trên Sơ đồ 2 dưới đây và bằng các phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả trong các ví dụ.

Sơ đồ 2



Bước 1: Hợp chất có công thức (XII) có thể thu được bằng cách cho hợp chất có công thức (XI), trong đó R^1 như đã được xác định từ trước, phản ứng với một trong số các chất đồng phân đối ảnh của 2-methylpropan-2-sulfonamide trong sự có mặt của bazơ, ví dụ, xesi cacbonat trong dung môi hữu cơ, ví dụ, điclorometan. Hợp chất có công thức (XI), là đã biết hoặc có thể được điều chế theo cách thông thường đã biết bởi nhà hóa học có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực.

Bước 2: Hợp chất có công thức (XIII), trong đó R^1 và R^2 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách cho phản ứng hợp chất có công thức (XII) với chất phản ứng Grignard, ví dụ, R^2MgBr , trong đó R^2 như đã được xác

định từ trước, trong dung môi trơ, ví dụ, điclorometan, và tùy ý tách hợp chất trung gian thu được thành các chất đồng phân không đối quang của nó bằng các phương pháp thông thường, ví dụ, bằng cách sắc ký trên silicagel.

Bước 3: Hợp chất có công thức (XIV), trong đó R^1 và R^2 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức (XIII) bằng chất phản ứng khử bảo vệ, ví dụ, hydro clorua trong dung môi hữu cơ, ví dụ, MeOH. Thường là, bổ sung axit trong khi để nguội và sau đó khuấy dung dịch thu được đến khi phản ứng hoàn thành ví dụ ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1-3 giờ.

Bước 4: Hợp chất có công thức (XV), trong đó R^1 , R^2 , PG^1 và PG^2 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức (XIV) bằng chất phản ứng thích hợp để đưa liên tiếp các nhóm bảo vệ thích hợp PG^1 và PG^2 vào. Thường là, hợp chất amin được xử lý liên tiếp bằng hai phần của di-tert-butyl dicacbonat trong sự có mặt của *N,N*-đimetylpyridin-4-amin. Phản ứng thường được thực hiện trong dung môi hữu cơ, ví dụ, điclorometan hoặc 2-metyltetrahydrofuran, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ khoảng nhiệt độ trong phòng đến khoảng 80°C.

Bước 5: Hợp chất có công thức (VIII), trong đó R^1 , R^2 , PG^1 và PG^2 như đã được xác định từ trước, có thể thu được bằng cách xử lý hợp chất có công thức (XV) bằng khí tổng hợp trong sự có mặt của chất xúc tác, mà có thể là, ví dụ, hỗn hợp của điaxetoxypalađi, di((3*S*,5*S*,7*S*)-adamantan-1-yl)(butyl)-phosphin và tetrametyletylenđiamin, trong dung môi hữu cơ, ví dụ, toluen. Thường là, phản ứng được thực hiện ở áp suất khoảng 5 bar và ở nhiệt độ khoảng 100°C trong thời gian khoảng 21 giờ. Theo cách khác, hợp chất có công thức (XV) được xử lý bằng cacbon monoxit trong sự có mặt của điclôbis (p-đimetylamino phenylditbutylphosphin) palađi (II), trietylsilan và bazơ, ví dụ, *N,N*-điisopropyletylamin. Phản ứng đó thường được thực hiện trong DMSO làm dung môi và nó thường được thực hiện ở nhiệt độ cao và ở áp suất tăng trong thời gian kéo dài, ví dụ, ở nhiệt độ bằng, hoặc hơn, 90°C, ở áp suất bằng khoảng 4-5 bar và trong thời gian 24 giờ.

Sự bảo vệ và sự khử bảo vệ của các nhóm chức được mô tả trong *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed, T.W. Greene và P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (2006) và *Protecting Groups*, 3rd Ed, P.J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (2005).

Phương án khác bao hàm muối được dùng của hợp chất có công thức (I).

Muối của hợp chất có công thức (I) có thể có lợi do một hoặc nhiều tính chất hóa học hoặc vật lý của nó, ví dụ, độ ổn định ở các nhiệt độ và độ ẩm khác nhau, hoặc độ hòa tan mong muốn trong H₂O, dầu, hoặc dung môi khác. Trong một số trường hợp, muối có thể được sử dụng để hỗ trợ quá trình tách hoặc tinh chế hợp chất. Trong một số phương án (cụ thể là khi muối được dự định để dùng cho động vật, ví dụ, người, hoặc là chất phản ứng để sử dụng trong việc tạo ra hợp chất hoặc muối dự định dùng cho động vật), muối là được dùng.

Thuật ngữ "được dùng" được dùng để xác định gốc (ví dụ, muối, dạng liều lượng, hoặc tá dược lỏng) là thích hợp để sử dụng tuân theo đánh giá y tế cẩn thận. Nhìn chung, gốc được dùng có một hoặc nhiều lợi ích có nhiều giá trị hơn so với tác động bất lợi bất kỳ mà gốc này có thể có. Các tác động bất lợi có thể bao gồm, ví dụ, tính độc quá mức, kích ứng, đáp ứng dị ứng, và các vấn đề và biến chứng khác.

Khi hợp chất có tính bazơ đủ, muối được dùng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, muối cộng axit vô cơ hoặc hữu cơ.

Để xem thêm về các muối thích hợp, xem tài liệu Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19 hoặc *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, selection and use*, P.H. Stahl, P.G. Vermuth, IUPAC, Wiley-VCH, 2002.

Khi chất đồng tạo thành axit ở thể rắn ở nhiệt độ trong phòng và không có hoặc chỉ có sự chuyển proton một phần giữa hợp chất có công thức (I) và chất đồng tạo thành axit này, đồng tinh thể của chất đồng tạo thành và hợp chất có công thức (I) có thể thu được chứ không phải là muối. Tất cả các dạng đồng tinh thể này của hợp chất có công thức (I) được bao hàm trong sáng chế.

Cũng cần hiểu rằng các hợp chất nhất định có công thức (I) có thể tồn tại ở dạng được solvat hóa, ví dụ, hydrat, bao gồm solvat của muối được dung của hợp chất có công thức (I).

Theo phương án khác, các hợp chất nhất định có công thức (I) có thể tồn tại dưới dạng chất triệt quang và hỗn hợp triệt quang, chất đồng phân đối ảnh đơn lẻ, các chất đồng phân không đối quang riêng lẻ và hỗn hợp đồng phân không đối quang. Các hợp chất nhất định có công thức (I) cũng có thể chứa các liên kết (ví dụ, liên kết cacbon-cacbon, liên kết cacbon-nitơ, ví dụ, liên kết amit) trong đó sự quay liên kết bị hạn chế quanh liên kết cụ thể đó, ví dụ, sự hạn chế bắt nguồn từ sự có mặt của liên kết vòng hoặc liên kết kép. Các chất đồng phân lập thể có thể được tách bằng cách sử dụng kỹ thuật thông thường, ví dụ, sắc ký hoặc kết tinh phân đoạn, hoặc các chất đồng phân lập thể này có thể được tạo ra bằng cách tổng hợp chọn lọc lập thể.

Theo phương án khác, hợp chất có công thức (I) bao hàm dẫn xuất được đánh dấu đồng vị (hoặc "được đánh dấu phóng xạ") bất kỳ của hợp chất có công thức (I). Dẫn xuất này là dẫn xuất của hợp chất có công thức (I) trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có nguyên tử khối hoặc số khối khác với nguyên tử khối hoặc số khối thường được tìm thấy trong tự nhiên. Ví dụ về chất đồng vị mà có thể được kết hợp bao gồm ^2H (còn được viết là "D" đối với đơteri).

Theo phương án khác, hợp chất có công thức (I) có thể được dùng ở dạng tiền dược chất mà bị phá vỡ trong cơ thể người hoặc động vật để tạo ra hợp chất có công thức (I).

Các dạng khác nhau của tiền dược chất đã được biết trong lĩnh vực. Ví dụ về dẫn xuất tiền dược chất, xem tài liệu: *Nature Reviews Drug Discovery* 2008, 7, 255 và các tài liệu tham khảo được viện dẫn trong đó.

Hợp chất trung gian cũng có thể tồn tại ở dạng đồng phân đối ảnh và có thể được dùng dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đã được tinh chế, các chất đồng phân không đối quang, chất triệt quang hoặc hỗn hợp.

HOẠT TÍNH DƯỢC

Phương pháp xác định hoạt tính ức chế MPO được bộc lộ trong WO 02/090575. Hoạt tính được của hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này được thử nghiệm trong sàng lọc sau đây (Thử nghiệm A) trong đó hợp chất được thử nghiệm trong sự có mặt của ascorbat, mà phản ứng với axit hipoclorơ (HOCl) có nguồn gốc từ MPO để tạo thành dehydro-ascorbat. Sự mất ascorbat được theo dõi bằng cách đo độ hấp thụ ở 260 nm.

Chất đệm thử nghiệm: 100 μ M axit dietyl triamin pentaaxetic (DTPA) trong chất đệm gồm có 10 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, 3 mM KCl trong 140 mM NaCl, độ pH 7,4.

Dung dịch enzym: MPO được tinh chế từ dòng tế bào người HL60, 1,38 nM (nồng độ cuối cùng 0,7 nM) và L-ascorbat, 100 μ M (nồng độ cuối cùng 50 μ M) trong chất đệm thử nghiệm

Dung dịch chất nền: H_2O_2 , 98 μ M (nồng độ cuối cùng 49 μ M)

Bổ sung bốn mươi μ l dung dịch enzym vào 0,6 μ l hợp chất được pha loãng theo dãy trong DMSO. Đo độ hấp thụ ở 260 nm để thu được giá trị không có hợp chất. Sau 10 phút nữa, bổ sung 40 μ l dung dịch chất nền và ghi lại độ hấp thụ ở 260 nm giữa 4 và 40 phút để thu được số ghi động học của hoạt tính enzym. Thu được giá trị IC₅₀ của hợp chất được thử nghiệm bằng cách ghi lại độ hấp thụ ở 260 nm 20 phút sau khi bổ sung chất nền và tính bằng cách sử dụng các quy trình tiêu chuẩn.

Để phát hiện hoạt tính ức chế peroxidaza tuyến giáp (TPO), sự sản xuất axit hypoiodous (HOI) được định lượng. HOI được phát hiện bằng cách cho nó phản ứng với methionin, mà được chuyển hóa thành dehydro-methionin, mà đến lượt nó được phát hiện bằng cách cho nó phản ứng với ioduua dư ở độ pH axit. Phản ứng này chuyển hóa I^- thành I_3^- mà có độ hấp thụ ở 353 nm. Tóm lại, 0,6 μ l hợp chất được pha loãng theo dãy trong DMSO được bổ sung vào 25 μ l 50 nM TPO ở người tái tổ hợp được biểu hiện ở baculovirut (thu được từ RSR Ltd, Cardiff, Anh) trong chất đệm thử nghiệm (100 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, độ pH 7,4), sau đó độ hấp thụ ở 353 nm được đọc để thu được giá trị không có hợp

chất. Phản ứng enzym được bắt đầu bằng cách bổ sung 25 μ l hỗn hợp gồm có 2mM methionin, 20 μ M NaI và 100 μ M H₂O₂ trong chất đệm thử nghiệm, và được làm ngừng bằng cách bổ sung 10 μ l catalaza, 0,25 mg/ml. Sau 5 phút nữa, 25 μ l 600 mM axit sulphuric sau đó là 25 μ l 100 mM KI được bổ sung, và độ hấp thụ ở 353 nm được đọc 5 phút sau sự bổ sung này. Giá trị IC₅₀ của hợp chất được thử nghiệm được thu lấy bằng cách sử dụng các quy trình tiêu chuẩn.

Nhìn chung, hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này, mà được thử nghiệm, có độ chọn lọc cao đáng kinh ngạc đối với enzym MPO hơn là enzym TPO nằm trong khoảng từ 220-1600 đối với tỉ lệ IC₅₀ (TPO)/IC₅₀ (MPO). Phần lớn hợp chất (80%) chứng tỏ tỉ lệ tương ứng của các giá trị IC₅₀ của các enzym này mà cao hơn 500. Mặt khác, hợp chất trong tình trạng kỹ thuật theo WO 2006/062465, mà được thử nghiệm, chứng tỏ tỉ lệ tương ứng nằm trong khoảng từ 1 - 92 và phần lớn các hợp chất này (92%) có tỉ lệ mà nhỏ hơn 50. Theo đó, hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này thể hiện độ chọn lọc MPO/TPO cao hơn xấp xỉ mười lần so với độ chọn lọc của hợp chất trong tình trạng kỹ thuật theo WO 2006/062465.

Các giá trị IC₅₀ (MPO và TPO) đối với Hợp chất ví dụ được nêu trong Bảng 2 dưới đây. Ngoài ra, tỉ lệ TPO với MPO, mà chứng tỏ độ chọn lọc đối với MPO hơn là TPO, đối với mỗi Hợp chất ví dụ, được nêu trong Bảng 2.

Bảng 2:

Ví dụ số	Sự ức chế của MPO IC ₅₀ (μ M)	Sự ức chế của TPO IC ₅₀ (μ M)	IC ₅₀ (TPO)/IC ₅₀ (MPO)
1	0,0086	4,4	512
2	0,007	8,8	1257
3	0,007	4,3	614
4b	0,042	68	1620
5	0,019	8,9	468
6	0,022	10	455
7	0,015	11	710
8	0,013	13	952
9	0,029	16	552

10	0,01	11	1100
11	0,014	19	1357
12	0,054	46	852
13	0,024	38	1609
14	0,04	28	697
15	0,049	11	224

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây là các ví dụ không làm giới hạn sáng chế.

Các chữ viết tắt sau đây được sử dụng trong bản mô tả này:

APCI	sự ion hóa hóa học áp xuất khí quyển
aq	trong nước
Cs ₂ CO ₃	xesi cacbonat
CH ₂ Cl ₂	điclometan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropyletylamin
DMAP	<i>N,N</i> -dimethylpyridin-4-amin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamit
DMSO	dimetyl sulfoxit
Et ₂ O	dietyl ete
EtOAc	etyl axetat
EtOH	etanol
FA	axit formic
h	giờ
HOAc	axit axetic
HPLC	sắc ký lỏng cao áp
HCl	hydro clorua
KHSO ₄	kali hydrosulfat

K_2CO_3	kali cacbonat
MeCN	axetonitril
MeOH	metanol
$MgSO_4$	magie sulfat
min	phút
MS	phổ khối
Na_2SO_4	natri sulfat
$NaHCO_3$	natri bicacbonat
NMP	N-metylpyrrolidon
NH_3	amoniac
NH_4OAc	amoni axetat
NMR	cộng hưởng từ nhân
r.t.	nhiệt độ trong phòng
sat.	bão hòa
TEA	trietylamin
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TMEDA	tetrametyletylenđiamin

Các quy trình thí nghiệm chung sau đây được sử dụng:

(i) Máy Tách Pha dùng trong thí nghiệm là cột Máy Tách Pha ISOLUTE®.

(ii) Sắc ký nhanh Pha Thẳng được thực hiện bằng cách sử dụng hệ thống Tinh Chế SP1TM của hãng BiotageTM bằng cách sử dụng FLASH+TM (40M, 25M hoặc 12M) hoặc SNAPTM KP-Sil Cartridges (340, 100, 50 hoặc 10) silic oxit pha thường.

(iii) Tinh chế bằng HPLC đảo pha điều chế được thực hiện bằng cách sử dụng cột Kromasil® prep C8 10 μ M 250x50 mm thường là bằng cách sử dụng gradien của MeCN trong nước/MeCN/HOAc 95/5/0,2 làm pha động, hoặc cột SunFire™ Prep C18 5 μ M OBD 19x150 mm bằng cách sử dụng gradien của MeCN trong nước/MeCN/FA 95/5/0,2 làm pha động, hoặc bằng cách sử dụng gradien của MeCN trong nước/MeCN/NH₄OAc 0,1 M làm pha động.

(iv) Các phép đo ¹H NMR được thực hiện trên các quang phổ kế Varian INOVA 400, 500 và 600 hoặc các quang phổ kế Bruker Avance 400, 500 và 600 hoạt động ở tần số ¹H lần lượt là 400, 500 và 600 MHz. Các thí nghiệm thường được ghi lại ở nhiệt độ 25°C.

(v) Nhìn chung, tất cả các dung môi được dùng là loại phân tích và các dung môi khan có trên thị trường thường được dùng cho các phản ứng này.

Phân tích nhiễu xạ tia X được thực hiện theo phương pháp tiêu chuẩn, mà có thể được tìm thấy ở ví dụ Kitaigorodsky, A.I. (1973), *Molecular Crystals and Molecules*, Academic Press, New York; Bunn, C.W. (1948), *Chemical Crystallography*, Clarendon Press, London; hoặc Klug, H.P. & Alexander, L.E. (1974), *X-ray Diffraction Procedures*, John Wiley & Sons, New York.

Dữ liệu nhiễu xạ bột tia X được đo bằng Corundum làm tham chiếu nội tại. Mẫu nhiễu xạ bột tia X (trong bản mô tả này được gọi là XRPD) được xác định bằng cách đặt mẫu lên vật giữ nền không, tinh thể silic đơn lẻ, và trải mẫu ra thành lớp mỏng.

Nhiễu xạ bột tia X được ghi lại bằng Theta-Theta PANalytical X'Pert PRO (chiều dài bước sóng của tia X 1,5418 Å bức xạ Cu được lọc bằng niken, Điện áp 45 kV, phát xạ sợi nung 40 mA). Phân kỳ khả biến tự động và khe chống phân tán được sử dụng và mẫu được quay trong quá trình đo. Các mẫu được quét từ 2 - 50° 2-teta bằng cách sử dụng chiều rộng bước 0,013° và thời gian đếm 44,37 s, cùng với bộ phát hiện PIXCEL (chiều dài hoạt động 3,35° 2-teta).

Mẫu nhiễu xạ bột tia X (XRPD) thu được trong hình học Bragg-Brentano.

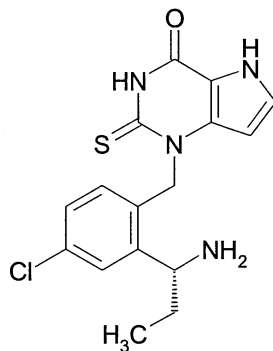
Đã biết rằng mẫu nhiễu xạ bột tia X có thể thu được mà có một hoặc nhiều sai số đo tùy thuộc vào điều kiện đo, ví dụ, thiết bị hoặc máy được dùng (Jenkins, R & Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, London; Klug, H. P. & Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực nhiễu xạ bột tia X sẽ nhận ra rằng cường độ tương đối của các đỉnh có thể bị ảnh hưởng bởi, ví dụ, hạt có kích thước trên 30 micromét và các tỉ lệ mặt không đơn nhất mà có thể ảnh hưởng đến việc phân tích các mẫu. Ngoài ra, cần hiểu rằng cường độ có thể dao động tùy thuộc vào điều kiện thí nghiệm và việc chuẩn bị mẫu (ví dụ, sự định hướng được ưu tiên). Các định nghĩa sau đây được dùng đối với cường độ tương đối (%): 25 – 100%, vs (rất mạnh); 10 – 25%, s (mạnh); 3 – 10%, m (trung bình); 1 – 3%, w (yếu).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực cũng sẽ nhận ra rằng vị trí phản xạ có thể bị ảnh hưởng bởi chiều cao chính xác mà tại đó mẫu nằm trong nhiễu xạ kế và sự định cỡ ở mức không của nhiễu xạ kế. Tính phẳng bề mặt của mẫu cũng có thể có ảnh hưởng nhỏ. Do đó dữ liệu mẫu nhiễu xạ được thể hiện không được lấy dưới dạng giá trị tuyệt đối. Thông thường, sai số đo của góc nhiễu xạ trong biểu đồ nhiễu xạ bột tia X có thể xấp xỉ cộng hoặc trừ $0,2^\circ$ 2-teta, và mức độ sai số đo này cần phải được tính đến khi xem xét dữ liệu nhiễu xạ bột tia X.

Tên IUPAC hóa học được tạo ra bằng phần mềm ACD/Labs 2012 cung cấp bởi Advanced Chemistry Development, Inc. Toronto, Ontario, Canada M5C 1B5.

Ví dụ 1

1-{2-[(1*R*)-1-aminopropyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;



(a) *tert*-Butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-chlorophenyl)propyl]carbamate

Bổ sung TEA (1,42 ml, 10,21 mmol) và di-*tert*-butyl đicacbonat (0,82 g, 3,74 mmol) vào dung dịch của (*R*)-1-(2-bromo-5-chlorophenyl)propan-1-amin hydroclorua (thu được theo cách tương tự như hợp chất trung gian (*R*)-1-(2-bromo-5-chlorophenyl)ethanamin thu được trong Ví dụ 3(c) nhưng bằng cách sử dụng etylmagie bromua chứ không phải là metylmagie bromua) (0,97 g, 3,40 mmol) trong CH₂Cl₂ (15 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và sau đó rửa bằng dung dịch trong nước của KHSO₄. Chiết pha nước bằng CH₂Cl₂ (20 ml) và cô các dung dịch hữu cơ kết hợp trong chân không. Tinh chế phân cận trên cột silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp của heptan và EtOAc (gradient, từ 0 đến 15% EtOAc) làm dung môi rửa giải, thu được 1,42 g (hiệu suất định lượng) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. MS (APCI+) *m/z* 349 [M+H]

(b) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-chlorophenyl)propyl]imidodicacbonat

Bổ sung vào dung dịch của *tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-chlorophenyl)propyl]carbamate (1,19 g, 3,40 mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (32 ml) di-*tert*-butyl đicacbonat (1,49 g, 6,81 mmol) và DMAP (0,83 g, 6,81 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C và sau đó bổ sung di-*tert*-butyl đicacbonat (0,75 g, 3,40 mmol) và một phần khác của DMAP (0,42 g, 3,40 mmol). Sau khi khuấy 4 giờ nữa ở nhiệt độ 50°C, bổ sung một phần khác nữa của di-*tert*-butyl đicacbonat (0,37 g, 1,70 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Bổ sung thêm di-*tert*-butyl đicacbonat (0,75 g, 3,40 mmol) và DMAP (0,42 g, 3,40 mmol) và tiếp tục khuấy trong thời gian 30 phút. Rửa hỗn hợp bằng dung dịch trong nước của KHSO₄ (1 M), làm khô qua máy tách pha và

sau đó làm bay hơi. Tinh chế sản phẩm thô trên cột silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa heptan và EtOAc làm dung môi rửa giải (gradient, từ 0 đến 12% EtOAc). Thu được 1,10 g (hiệu suất 72%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng dầu không màu. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0,93 (t, 3H), 1,37 (d, 18H), 1,8 - 2,19 (m, 2H), 5,17 (dd, 1H), 7,33 (dd, 1H), 7,57 (d, 1H), 7,65 (d, 1H).

(c) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(5-clo-2-formylphenyl)propyl]imidodicacbonat

Hòa tan hỗn hợp của di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)propyl]-imidodicacbonat (1,05 g, 2,34 mmol), điaxetoxypalađi (0,053 g, 0,23 mmol), đi((3*S*,5*S*,7*S*)-adamantan-1-yl)(butyl)phosphin (0,26 g, 0,70 mmol) và TMEDA (0,26 ml, 1,75 mmol) trong toluen (4 ml) và bịt kín dung dịch thu được trong nồi hấp. Làm đầy nồi hấp bằng khí tổng hợp (cacbon monoxit/hydrogen, 1:1) ở áp suất 5 bar và sau đó gia nhiệt trong bể dầu trong thời gian 21 giờ ở nhiệt độ 100°C. Tinh chế sản phẩm thô bằng cách sắc ký trên silicagel bằng cách sử dụng gradient của heptan và EtOAc làm dung môi rửa giải (từ 0 đến 18% EtOAc) để thu được 0,53 g (hiệu suất 57%) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0,95 (t, 3H), 1,35 (s, 18H), 1,85 - 2,02 (m, 1H), 2,03 - 2,19 (m, 1H), 5,90 (dd, 1H), 7,60 (dd, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,87 (d, 1H), 10,22 (s, 1H).

(d) Etyl 3-[(2-{(1*R*)-1-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-4-clobenzyl)amino]-1*H*-pyrrol-2-carboxylat

Bổ sung vào hỗn hợp của etyl 3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat hydroclorua (0,29 g, 1,53 mmol) và EtOH (99,5%, 4 ml) DIPEA (0,46 ml, 2,66 mmol) và di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(5-clo-2-formylphenyl)propyl]-imidodicacbonat (0,53 g, 1,33 mmol) hòa tan trong EtOH (99,5%, 2,5 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung HOAc (0,23 ml, 4,00 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2,5 giờ sau đó bổ sung từng phần natri xyanotrihydroborat (0,088 g, 1,40 mmol) trong khoảng thời gian 3 phút. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 45 phút và sau đó pha loãng bằng nước. Sau khi chiết hai lần bằng EtOAc, kết hợp các dung dịch hữu cơ và sau đó rửa hai lần bằng dung dịch trong nước của axit xitric (0,5 M), hai lần bằng dung dịch trong nước của bicacbonat và cuối cùng bằng nước muối (nửa bão hòa). Làm khô dung dịch trên MgSO_4 và loại bỏ dung môi

bằng cách làm bay hơi để tạo ra 0,68 g (hiệu suất 95%) hợp chất nêu ở đề mục.
 ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H), 1,27 (t, 3H), 1,32 (s, 18H), 1,98 - 2,05 (m, 1H), 2,09 - 2,23 (m, 1H), 4,16 - 4,28 (m, 3H), 4,41 (dd, 1H), 5,26 - 5,33 (m, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,82 (bs, 1H), 6,68 (t, 1H), 7,32 (s, 2H), 7,42 (s, 1H), 10,77 (s, 1H).

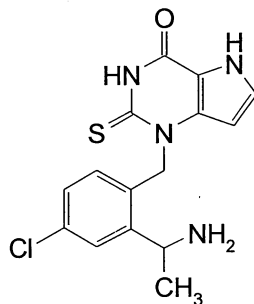
(e) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-{5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]phenyl}propyl]imidodicacbonat

Bổ sung từng giọt benzoyl isothioxyanat (0,20 ml, 1,51 mmol) vào dung dịch của etyl 3-[(2-{(1*R*)-1-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]propyl}-4-clobenzyl)amino]-1*H*-pyrol-2-carboxylat (0,68 g, 1,26 mmol) trong MeOH (4 ml) được bổ sung. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 giờ và sau đó bổ sung Cs_2CO_3 (0,86 g, 2,64 mmol). Gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ 65°C trong thời gian 2 giờ và sau đó để nguội xuống nhiệt độ 10°C. Bổ sung từ từ HOAc (0,32 ml, 5,67 mmol) sau đó bổ sung từ từ nước (8 ml). Chiết hỗn hợp bằng EtOAc và làm khô dung dịch hữu cơ (Na_2SO_4). Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi và thu được 0,94 g (hiệu suất định lượng) hợp chất nêu ở đề mục.

Bổ sung HCl (1,25 M trong MeOH, 7,05 ml, 8,81 mmol) vào hỗn hợp thô của di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-{5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]phenyl}propyl]imidodicacbonat (0,69 g, 1,26 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ và sau đó để nguội xuống nhiệt độ 10°C. Bổ sung từ từ nước (2 ml) và sau đó là dung dịch trong nước của NH_3 (25%, 0,63 ml, 8,81 mmol) để điều chỉnh độ pH về 9,2. Thu gom chất kết tủa tạo thành bằng cách lọc và rửa bằng hỗn hợp của nước và MeOH (2:1, 2 ml). Thu được 0,15 g (hiệu suất 34,6%) hợp chất nêu ở đề mục với độ dôi đồng phân đối ảnh bằng 98,8%. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 0,91 (t, 3H), 1,52 - 1,72 (m, 2H), 4,08 (t, 1H), 5,73 (dd, 2H), 6,03 (d, 1H), 6,59 (d, 1H), 7,11 (dd, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,58 (d, 1H). $[\alpha]_D^{20} = +37,2^\circ$ ($c=0,5$, EtOH). MS (APCI+) m/z 349 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 2

1-[2-(1-aminoethyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;



(a) 2-(2-Bromo-5-clophenyl)-2-metyl-1,3-đioxolan

Hòa tan 1-(2-bromo-5-clophenyl)etanon (8,29 g, 35,50 mmol) trong toluen (180 ml) trong bình thót cổ đáy tròn được lắp với bẫy Dean-Stark. Bổ sung etan-1,2-điol (5,96 ml, 106,51 mmol) và axit 4-metylbenzensulfonic (0,67 g, 3,91 mmol) và gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở dòng hồi lưu trong thời gian 3,5 giờ. Để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ trong phòng, bổ sung dung dịch trong nước của K_2CO_3 (1 M) và các lớp được tách riêng. Chiết pha nước bằng toluen và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước và bằng nước muối. Làm khô dung dịch ($MgSO_4$), lọc và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm để tạo ra 9,29 g (hiệu suất 94%) hợp chất nêu ở đề mục. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 1,80 (s, 3H), 3,78 (m, 2H), 4,08 (m, 2H), 7,13 (m, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,66 (m, 1H).

(b) 4-Clo-2-(2-metyl-1,3-đioxolan-2-yl)benzaldehyt

Dưới khí nitơ và ở nhiệt độ $-78^\circ C$, bổ sung từng giọt butyllithi (2,5 M trong hexan, 14,73 ml, 36,82 mmol) vào dung dịch của 2-(2-bromo-5-clophenyl)-2-metyl-1,3-đioxolan (9,29 g, 33,47 mmol) trong THF (100 ml) trong thời gian 30 phút và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ $-78^\circ C$ trong thời gian 30 phút. Bổ sung từng giọt DMF (3,87 ml, 50,21 mmol) ở nhiệt độ $-78^\circ C$. Sau khi hoàn thành việc bổ sung, để phản ứng ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và tiếp tục khuấy trong thời gian 10 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch trong nước của NH_4Cl (bão hòa) và các pha được tách riêng. Chiết pha nước hai lần bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô ($MgSO_4$) và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký nhanh (silicagel, rửa giải bằng gradien của EtOAc và heptan từ 10% đến 20%) để tạo ra 5,95 (hiệu suất 78%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng dầu không màu

trong suốt. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 1,68 (s, 3H), 3,64 - 3,66 (m, 2H), 3,94 - 3,97 (m, 2H), 7,24 - 7,28 (m, 1H), 7,52 - 7,54 (m, 1H), 7,74 - 7,77 (m, 1H), 10,52 - 10,53 (m, 1H).

(c) Ethyl 3- $\{[4\text{-clo-2-(2-metyl-1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}\}$ -1*H*-pyrrol-2-carboxylat

Hòa tan ethyl 3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat hydroclorua (3,65 g, 19,17 mmol) trong EtOH (99,5%, 100 ml) và bổ sung DIPEA (3,34 ml, 19,17 mmol) sau đó là HOAc (1,99 ml, 34,85 mmol) vào dung dịch này. Để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ 10°C và sau đó bổ sung 4-clo-2-(2-metyl-1,3-đioxolan-2-yl)benzaldehyt (3,95 g, 17,43 mmol) hòa tan trong EtOH (99,5%, 10 ml). Để hỗn hợp phản ứng đạt đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Bổ sung natri xyanotrihydroborat (1,31 g, 20,91 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước (50 ml) và điều chỉnh độ pH về ~ 11 bằng NaOH. Chiết hỗn hợp hai lần bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô (MgSO_4) và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm bằng sắc ký nhanh (đăng dòng, heptan/ EtOAc, 90/10) để tạo ra 4,61 g (hiệu suất 72%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng gồm không màu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,3 - 1,37 (m, 3H), 1,71 (s, 3H), 3,79 - 3,85 (m, 2H), 4,05 - 4,1 (m, 2H), 4,25 - 4,35 (m, 2H), 4,51 - 4,57 (m, 2H), 5,64 - 5,71 (m, 1H), 6,66 - 6,73 (m, 1H), 7,2 - 7,24 (m, 1H), 7,4 - 7,45 (m, 1H), 7,57 - 7,6 (m, 1H).

(d) 1-[4-Clo-2-(2-metyl-1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung từng giọt benzoyl isothioxyanat (1,70 ml, 12,64 mmol) vào dung dịch của ethyl 3- $\{[4\text{-clo-2-(2-metyl-1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}\}$ -1*H*-pyrrol-2-carboxylat (4,61 g, 12,64 mmol) trong MeOH (14 ml) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 10 phút. Bổ sung một phần khác của benzoyl isothioxyanat (0,17 ml, 1,26 mmol) và khuấy phản ứng trong thời gian 30 phút. Bổ sung Cs_2CO_3 (8,85 g, 27,17 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 1,5 giờ. Loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Bổ sung nước (30 ml) và EtOAc (70 ml) và tách chất kết tủa được tạo thành trong pha hữu cơ bằng cách lọc. Sau khi rửa chất rắn này bằng Et_2O , thu được 4,71 g (hiệu suất 99%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,75 (s, 3H), 3,78 - 3,83 (m, 2H), 4,05 - 4,11 (m, 2H),

5,63 - 5,67 (m, 1H), 6,56 - 6,63 (m, 1H), 6,93 - 6,98 (m, 1H), 7,17 - 7,22 (m, 1H), 7,45 - 7,5 (m, 1H). MS (APCI-) m/z 376 [M-H]⁻.

(e) 1-(2-Axetyl-4-clobenzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

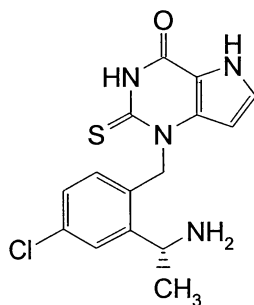
Bổ sung TFA (9,26 ml, 124,65 mmol) vào huyền phù của 1-[4-clo-2-(2-metyl-1,3-dioxolan-2-yl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (4,71 g, 12,47 mmol) trong CH₂Cl₂ (25 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ và sau đó bổ sung dung dịch trong nước của NaOH (3,8 M) cho đến khi đạt đến độ pH bằng xấp xỉ 11. Tách chất rắn tạo thành bằng cách lọc và rửa sản phẩm bằng CH₂Cl₂ và sau đó bằng Et₂O. Thu được 3,49 g (hiệu suất 84%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,69 (s, 3H), 5,63 - 5,7 (m, 1H), 5,79 - 5,83 (m, 2H), 6,79 - 6,86 (m, 1H), 6,89 - 6,95 (m, 1H), 7,4 - 7,5 (m, 1H), 7,96 - 8,04 (m, 1H). MS (APCI-) m/z 332 [M-H]⁻.

(f) 1-[2-(1-Aminoetyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung hydroxylamin hydroclorua (0,78 g, 11,18 mmol) vào hỗn hợp của 1-(2-Axetyl-4-clobenzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (3,39 g, 10,16 mmol), HOAc (20 ml) và NMP (40 ml) và sau đó khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 18 giờ. Bổ sung kẽm (1,02 g, 15,59 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 4 giờ. Bổ sung một phần khác của kẽm (1 g, 15,30 mmol) và sau đó khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 4 giờ nữa. Bổ sung một phần khác của kẽm (1 g, 15,30 mmol) và sau khi khuấy 20 giờ nữa ở nhiệt độ 80°C bổ sung một phần khác nữa của kẽm (3 g, 45,89 mmol). Sau đó khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 40 giờ và lọc chất rắn còn lại ra. Tinh chế sản phẩm bằng HPLC điều chế (3 lần phun) trên cột C8 bằng cách sử dụng gradien của 0-70% MeCN trong hỗn hợp của nước/MeCN/HOAc (95/5/0,2) trong 15 phút (sự rửa giải bắt đầu với 0% MeCN trong thời gian 5 phút). Thu được 0,86 g (hiệu suất 25%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆, 40°C): δ 1,33 - 1,37 (m, 3H), 4,38 - 4,45 (m, 1H), 5,64 - 5,85 (m, 2H), 6,01 - 6,05 (m, 1H), 6,59 - 6,64 (m, 1H), 7,1 - 7,15 (m, 1H), 7,27 - 7,31 (m, 1H), 7,64 - 7,66 (m, 1H). MS (APCI-) m/z 333 [M-H]⁻.

Ví dụ 3

1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.



(a) *S*-(*E* hoặc *Z*)-*N*-(2-Bromo-5-clobenzyliden)-2-metylpropan-2-sulfinamit

Hòa tan 2-bromo-5-clobenzaldehyt (4 g, 18,23 mmol) trong CH₂Cl₂ (130 ml) và bổ sung (*S*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (2,32 g, 19,14 mmol) sau đó là xesi cacbonat (5,94 g, 18,23 mmol) vào dung dịch này. Làm hồi lưu hỗn hợp qua đêm và sau đó pha loãng bằng nước muối và CH₂Cl₂. Làm khô lớp hữu cơ qua máy tách pha và sau đó làm bay hơi. Tinh chế sản phẩm bằng cách sắc ký trên silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa EtOAc và heptan làm dung môi rửa giải (gradient, 0%-25% EtOAc) để tạo ra 5,60 g (hiệu suất 95%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 1,21 (s, 9H), 7,61 (dd, 1H), 7,84 (d, 1H), 7,98 (d, 1H), 8,75 (s, 1H).

(b) (*S*)-*N*-[(1*R*)-1-(2-Bromo-5-clophenyl)etyl]-2-metylpropan-2-sulfinamit

Hòa tan *S*-(*E* hoặc *Z*)-*N*-(2-Bromo-5-clobenzyliden)-2-metylpropan-2-sulfinamit (5,41 g, 16,78 mmol) trong CH₂Cl₂ (200 ml) dưới khí nitơ và bổ sung metylmagie bromua (11,18 ml, 33,55 mmol) ở nhiệt độ -45°C vào dung dịch thu được. Khuấy hỗn hợp giữa -40°C và -50°C trong thời gian 4 giờ và sau đó để cho từ từ đạt đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung dung dịch NH₄Cl (bão hòa, 50 ml) sau đó là nước (100 ml). Tách riêng các lớp bằng cách sử dụng máy tách pha và chiết lớp nước ba lần bằng CH₂Cl₂ (150 ml). Cô các lớp hữu cơ kết hợp trong chân không. Tinh chế phần cặn bằng cách sắc ký trên silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa heptan và EtOAc (gradient, từ 10% đến 60% EtOAc). Gom các phân đoạn chứa chất đồng phân không đối quang chính - mà được rửa giải lần cuối từ cột - và loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi. Thu được 5,28 g (hiệu suất 93%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,15 (s, 9H), 1,30 (d, 3H), 4,65 (m, 1H), 6,10 (d, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,70 (s, 1H). MS (APCI+) *m/z* 340 [M+H]⁺.

Cấu hình tuyệt đối hợp chất nêu ở đề mục được xác định bằng quang phổ lưỡng sắc tròn dao động (VCD) bằng cách sử dụng nguyên liệu thu được từ thí nghiệm tương tự như trong Ví dụ 3(b). Dựa trên kết quả từ việc so sánh phổ thí nghiệm thu được với các phổ mô phỏng của hai chất đồng phân không đối quang có thể có bằng cách sử dụng phép tính lý thuyết phiếm hàm mật độ, có sự thống nhất rõ ràng giữa phổ thí nghiệm và phổ mô phỏng của chất đồng phân không đối quang có cấu hình *R* ở nguyên tử cacbon không đối xứng.

(c) (*R*)-1-(2-Bromo-5-clophenyl)ethanamin

Xử lý (*S*)-N-[(1*R*)-1-(2-Bromo-5-clophenyl)etyl]-2-metylpropan-2-sulfinamit (5,25 g, 15,50 mmol) bằng dung dịch MeOH của HCl (1,25 M, 150 ml, 187,50 mmol) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi. Hòa tan phần còn lại trong CH₂Cl₂ (200 ml) và rửa dung dịch bằng NaHCO₃ trong nước (100 ml). Chiết pha nước bằng CH₂Cl₂ (200 ml) và cô các lớp hữu cơ kết hợp trong chân không để tạo ra 4,02 g (hiệu suất định lượng) hợp chất nêu ở đề mục, mà được dùng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,40 (d, 3H), 4,40 (q, 1H), 7,10 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,60 (s, 1H).

(d) *tert*-Butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]carbamát

Bổ sung vào dung dịch của (*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)ethanamin (3,64 g, 15,52 mmol) trong CH₂Cl₂ (150 ml) TEA (2,58 ml, 18,63 mmol) và di-*tert*-butyl đicacbonat (3,73 g, 17,07 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3,5 giờ và sau đó rửa bằng dung dịch trong nước của KHSO₄ (1M, 100 ml). Chiết pha nước bằng CH₂Cl₂ (100 ml) và cô các dung dịch hữu cơ kết hợp trong chân không để tạo ra 5,83 g (hiệu suất định lượng) hợp chất thô nêu ở đề mục. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,25-1,50 (d, 3H), 1,60 (s, 9H), 4,75-5,00 (m, 1H), 7,10 (dd, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,50 (d, 1H).

(e) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]imidodicacbonat

Bổ sung vào dung dịch của *tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]carbamát (5,19 g, 15,51 mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (150 ml) di-*tert*-butyl đicacbonat (5,08 g, 23,26 mmol) và DMAP (2,84 g, 23,26 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 16 giờ sau đó bỏ

sung thêm di-*tert*-butyl dicacbonat (1,69 g, 7,75 mmol) và DMAP (0,95 g, 7,75 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 4,5 giờ và sau đó cô trong chân không. Hòa tan phần còn lại trong CH₂Cl₂ (150 ml) và rửa dung dịch bằng KHSO₄ (1M, 100 ml) bằng cách sử dụng máy tách pha. Chiết pha nước bằng CH₂Cl₂ (20 ml) và cô các dung dịch hữu cơ kết hợp trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô hai lần bằng sắc ký trên silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp của heptan và EtOAc làm dung môi rửa giải (gradient, từ 30% đến 70% của EtOAc). Thu được 5,05 g (hiệu suất 75%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,2-1,4 (m, 21H), 4,70 (m, 1H), 7,25 (dd, 1H), 7,55 (d, 1H), 7,65 (d, 1H).

(f) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(5-clo-2-formylphenyl)etyl]imidodiacbonat

Hòa tan di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]imidodiacbonat (4,27 g, 9,83 mmol), điaxetoxypalađi (0,22 g, 0,98 mmol), đi((3*S*,5*S*,7*S*)-ađamantan-1-yl)(butyl)phosphin (1,06 g, 2,95 mmol) và TMEDA (1,10 ml, 7,37 mmol) trong toluen (18 ml) và bịt kín dung dịch thu được trong nồi hấp. Làm đầy nồi hấp bằng khí tổng hợp (cacbon monoxit/hydrogen, 1:1) ở áp suất 5 bar và sau đó gia nhiệt trong bể dầu trong thời gian 21 giờ ở nhiệt độ 100°C. Tinh chế sản phẩm thô bằng cách sắc ký trên silicagel bằng cách sử dụng gradient của heptan và EtOAc làm dung môi rửa giải (từ 0 đến 20% EtOAc) để thu được 2,15 g (hiệu suất 57%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,34 (s, 18H), 1,58 (d, 3H), 6,06 (q, 1H), 7,61 (dd, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,87 (d, 1H), 10,14 (s, 1H).

(g) Etyl 3-[(2-[(1*R*)-1-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]etyl]-4-clobenzyl)amino]-1*H*-pyrol-2-carboxylat

Bổ sung vào hỗn hợp của etyl 3-amino-1*H*-pyrol-2-carboxylat hydroclorua (1,14 g, 5,99 mmol) và EtOH (99,5%, 20 ml) N-etyl-N-isopropylpropan-2-amin (1,82 ml, 10,42 mmol) sau đó là di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(5-clo-2-formylphenyl)etyl]-imidodiacbonat (2,00 g, 5,21 mmol) hòa tan trong EtOH (99,5%, 5 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung HOAc (0,90 ml, 15,63 mmol) và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 giờ sau đó bổ sung từng phần natri xyanotrihydroborat (0,34 g, 5,47 mmol) trong khoảng thời gian 3 phút. Sau đó khuấy hỗn hợp phản ứng ở

nhệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ và sau đó pha loãng bằng nước. Sau khi chiết với hỗn hợp của EtOAc (25 ml) và toluen (25 ml), chiết dung dịch trong nước bằng EtOAc (25 ml). Rửa các dung dịch hữu cơ kết hợp hai lần bằng dung dịch trong nước của axit xitric (0,5 M, 25 ml), hai lần bằng dung dịch trong nước của bicacbonat và cuối cùng bằng nước muối (nửa bão hòa). Làm khô dung dịch trên MgSO_4 và sau đó loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi ở nhiệt độ 40°C để tạo ra 2,93 g (hiệu suất định lượng) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,27 (t, 3H), 1,31 (s, 18H), 1,59 (d, 1H), 4,21 (m, 3H), 4,37 (dd, 1H), 5,43 (m, 1H), 5,51 (q, 1H), 5,82 (bs, 1H), 6,69 (t, 1H), 7,32 (s, 2H), 7,43 (s, 1H), 10,79 (s, 1H). MS (APCI+) m/z 522 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(h) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-{5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]phenyl}etyl]imidodicacbonat

Bổ sung từng giọt benzoyl isothioxyanat (0,79 g, 4,81 mmol) vào dung dịch của etyl 3-[(2-{(1*R*)-1-[bis(*tert*-butoxycarbonyl)amino]etyl}-4-clobenzyl)amino]-1*H*-pyrol-2-carboxylat (2,79 g, 4,01 mmol) trong MeOH (12 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và sau đó bổ sung Cs_2CO_3 (2,74 g, 8,42 mmol). Gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 3 giờ và sau đó để nguội xuống nhiệt độ 10°C . Bổ sung từ từ HOAc (1,03 ml, 18,05 mmol) sau đó là bổ sung từ từ nước (24 ml). Thu gom chất kết tủa tạo thành bằng cách lọc và sau đó rửa bằng MeOH để tạo ra 2,09 g (hiệu suất 97%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu be. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,33 (s, 18H), 1,67 (d, 3H), 5,48 - 5,7 (m, 3H), 5,91 (d, 1H), 6,67 (d, 1H), 7,25 (dd, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,48 (d, 1H), 12,43 (s, 2H).

MS (APCI+) m/z 533 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

(i) 1-{2-[(1*R*)-1-Aminoetyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung HCl (1,25 M, 24,37 ml, 30,46 mmol) vào hỗn hợp thô của di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-{5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]phenyl}etyl]imidodicacbonat (1,67 g, 1,74 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 1 giờ và sau đó làm nguội bằng bể đá. Bổ sung nước (3 ml) và bổ sung từ từ dung dịch trong nước của NH_3 (25%) đến độ pH 9,3. Thu gom chất kết tủa tạo thành bằng cách lọc để thu được 0,39 g (hiệu suất 67%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu be với độ đôi đồng phân đối ảnh bằng 99,9%. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,32 (d, 3H), 4,36 (m, 1H), 5,74 (dd, 1H), 6,04 (d, 1H), 6,59 (d, 1H),

7,11 (dd, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,65 (d, 1H). $[\alpha]_D^{20} = +76,8^\circ$ (c=0,3, MeOH). MS (APCI+) m/z 335 $[M+H]^+$.

(j) Bổ sung 1-{2-[(1*R*)-1-Aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (ví dụ, 3j, được điều chế như mô tả ở trên) (690 g, 2,06 mol), ethanol (11040 ml) và nước (2760 ml) vào bình 50 l dưới khí nitơ. Gia nhiệt bột nhão động và di chuyển tự do đến nhiệt độ 70 °C trong thời gian 2,5 giờ. Để phản ứng nguội xuống nhiệt độ trong phòng sau khi khuấy ở nhiệt độ 70 °C trong thời gian 2,5 giờ. Lọc hỗn hợp (mất xấp xỉ 2 giờ vào máy lọc) và sau đó rửa bằng 20% nước/ethanol (690 ml/2760 ml). Sau đó làm khô chất rắn trong lò trong chân không ở nhiệt độ 50 °C trong thời gian 3 ngày để tạo ra 633 g (hiệu suất 91%). ^1H NMR cho thấy độ tinh sạch >95%. Thử nghiệm ^1H NMR cho thấy độ tinh sạch 101% $\pm$ 2%, LC cho thấy độ tinh sạch 99,7%, chuẩn độ Karl Fischer cho thấy 0,86% nước, hàm lượng Pd cho thấy 3 phần triệu và độ tinh sạch bất đối xứng cho thấy 99,9% độ tinh sạch đồng phân đối ảnh.

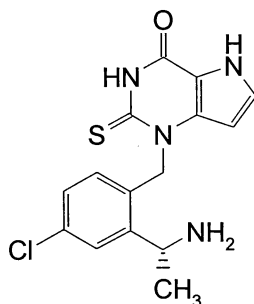
Phát hiện thấy phần cặn rắn kết tinh bằng XRPD và biểu đồ nhiễu xạ điển hình được thể hiện trên Hình 4. Các vị trí đỉnh đặc trưng được liệt kê dưới đây.

Mẫu XRPD 2-teta (°) 7,4 (vs), 9,0 (s), 10,8 (vs), 14,8 (vs), 20,2 (vs), 22,7 (vs), 23,5 (vs), 25,0 (vs), 30,7 (vs).

Cấu hình tuyệt đối của hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phân tích tia X tinh thể đơn của muối mesylat của Ví dụ 3.

Ví dụ 3. Phương pháp điều chế thay thế

1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.



(a) *S*-(*E* hoặc *Z*)-*N*-(2-Bromo-5-clobenzyliden)-2-metylpropan-2-sulfinamit

Khuấy huyền phù của xesi cacbonat (148,5 g, 0,46 mol), 2-bromo-5-clobenzaldehyt (100,0 g, 0,46 mmol) và (*S*)-2-metylpropan-2-sulfinamit (55,1 g,

0,46 mol) trong toluen (600 ml) trong thời gian 2 giờ ở nhiệt độ $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ sau đó để nguội xuống nhiệt độ $30\pm 5^{\circ}\text{C}$. Lọc hỗn hợp và rửa bánh bằng toluen (200 ml). Kết hợp các dịch lọc và cô trong chân không. Bổ sung heptan (1 l) và cô hỗn hợp trong chân không. Lặp lại bước này cho đến khi hàm lượng của toluen không lớn hơn 15,0%. Để dung dịch nguội xuống nhiệt độ $15\pm 5^{\circ}\text{C}$ và khuấy trong thời gian 1 giờ. Lọc hỗn hợp và rửa bánh bằng heptan. Làm khô chất rắn trong chân không để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục (141,0 g, hiệu suất 95,2%).

(b) (*S*)-N-[(1*R*)-1-(2-Bromo-5-clophenyl)etyl]-2-metylpropan-2-sulfinamit

Nạp MeMgBr (2,8 M trong 2-MeTHF, 0,34 mmol) vào dung dịch của *S*-(E hoặc Z)-N-(2-bromo-5-clobenzyliden)-2-metylpropan-2-sulfinamit (100,0 g, 0,31 mol) trong DCM (1,5 l) ở nhiệt độ $0\pm 5^{\circ}\text{C}$ trong thời gian 12 giờ. Sau 14 giờ nữa bổ sung amoni clorua trong nước (20% theo khối lượng, 2 l) ở nhiệt độ $0\pm 10^{\circ}\text{C}$. Rửa lớp hữu cơ hai lần bằng dung dịch NaCl bão hòa (500 ml) và cô trong chân không. Nạp heptan (500 ml) và hỗn hợp cô trong chân không. Lặp lại bước này cho đến khi hàm lượng của cả DCM và 2-MeTHF không lớn hơn 5,0%. Bổ sung ete dầu mỏ $60-90^{\circ}\text{C}$ (800 ml) và gia nhiệt lượng được chứa này đến nhiệt độ $70-80^{\circ}\text{C}$ sau đó để nguội xuống nhiệt độ $31-35^{\circ}\text{C}$. Lọc hỗn hợp và rửa bằng ete dầu mỏ $60-90^{\circ}\text{C}$ (100 ml). Sau khi làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C thu được 74,0 g, (hiệu suất 70,5%) hợp chất nêu ở đề mục.

(c) *tert*-Butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]carbammat

Bổ sung HCl đặc (574,0 ml, 6,8 mol) vào (*S*)-N-[(1*R*)-1-(2-Bromo-5-clophenyl)etyl]-2-metylpropan-2-sulfinamit (720 g, 2,1 mol) và 2-MeTHF (3,6 l) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ $25\pm 5^{\circ}\text{C}$. Khuấy dung dịch trong thời gian 2 giờ sau đó bổ sung NaOH trong nước (15% theo khối lượng, 1,8 l) cho đến khi đạt đến độ pH bằng 9. Bổ sung BOC₂O (485,3 g, 2,2mol) ở nhiệt độ $20\pm 10^{\circ}\text{C}$ và khuấy hỗn hợp trong thời gian 4 giờ. Hỗn hợp được phân tách và lớp hữu cơ được rửa bằng NaOH trong nước (4% theo khối lượng, 2,0 l) sau đó bằng NaCl trong nước (20% theo khối lượng, 2,0 l), hai lần. Cô lớp hữu cơ trong chân không và bổ sung heptan (3,6 l). Cô lại hỗn hợp này. Lặp lại quy trình này cho đến khi hàm lượng 2-MeTHF không lớn hơn 5,0%. Để dung dịch nguội xuống nhiệt độ $10\pm 5^{\circ}\text{C}$. Lọc hỗn hợp và rửa bằng heptan. Sau khi làm khô trong chân không ở nhiệt độ 40°C thu được 645,0 g (hiệu suất 90,7%) hợp chất nêu ở đề mục.

(d) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]imidodicacbonat

Gia nhiệt *tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]carbammat (640 g, 1,913 mol), DMAP (350,1 g, 2,870 mol) và 2-MeTHF (3,8 l) đến nhiệt độ 75-80°C. Bổ sung từng giọt BOC₂O (542,1 g, 2,487 mol). Khuấy dung dịch ở nhiệt độ 75-80°C trong thời gian 4 giờ sau đó để nguội xuống nhiệt độ 25-30°C. Rửa lớp hữu cơ bằng NaOH trong nước (4% theo khối lượng, 2 l) sau đó là hai lần bằng NaCl trong nước (20% theo khối lượng, 2 l). Cô lớp hữu cơ trong chân không sau đó bổ sung EtOH (3,2 l). Cô hỗn hợp trong chân không. Lặp lại quy trình này cho đến khi hàm lượng 2-MeTHF không lớn hơn 5,0%. Gia nhiệt dung dịch đến nhiệt độ 40±5°C và bổ sung nước (1,6 l). Để hỗn hợp nguội xuống nhiệt độ 10±5°C. Lọc hỗn hợp và rửa bằng EtOH:nước 1:1 (1,9 l). Sau khi làm khô trong chân không thu được hợp chất nêu ở đề mục, 770,0 g, (hiệu suất 92,0%).

(e) Di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(5-clo-2-formylphenyl)etyl]imidodiacbonat

Khuấy mạnh hỗn hợp của DMSO (800 ml), N-etyl-N-isopropyl-propan-2-amin (48,1 ml, 276,0 mmol) và trietylsilan (103 ml, 644,0 mmol) và đặt trong chân không (100 mbar) và nén lại bằng nitơ, ba lần. Chuyển hỗn hợp vào bình chứa di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-(2-bromo-5-clophenyl)etyl]imidodiacbonat (80,00 g, 184,0 mmol). Bổ sung bis(di-*tert*-butyl(4-đimetylaminophenyl)phosphin) điclopaladi(II) 6,514 g, 9,20 mmol). Nén lượng được chứa này bằng nitơ đến áp suất 2 bar và xả trở lại áp suất khí quyển ba lần, sau đó nén bằng cacbon monoxit đến áp suất 2 bar và giải phóng trở lại áp suất khí quyển ba lần. Nén bình đến áp suất 4 bar bằng cacbon monoxit, bắt đầu khuấy mạnh và sau đó gia nhiệt đến nhiệt độ 90°C trong thời gian 24 giờ. Để lượng được chứa này nguội xuống nhiệt độ 20°C và lọc. Lấy lớp bên dưới ra và bổ sung vào hỗn hợp của heptan (400 ml) và nước (400 ml). Giữ lại lớp bên trên và chiết lớp bên dưới bằng heptan (200 ml). Lấy lớp bên dưới ra. Kết hợp hai lớp bên trên và rửa bằng nước (400 ml) sau đó cô thành dầu chứa hợp chất nêu ở đề mục, (66,5 g, hiệu suất 94,0%).

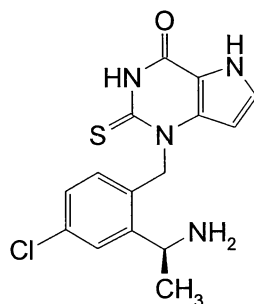
(f) 1-{2-[(1*R*)-1-Aminoetyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung 4,0 M HCl trong metanol (79,2 ml, 316,8 mmol) vào bột nhão của di-*tert*-butyl [(1*R*)-1-{5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]phenyl}etyl]imidodiacbonat (30,0 g, 52,1 mmol) trong metanol (200 ml) ở nhiệt độ 40-45°C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 40-45°C trong thời gian 1 giờ sau đó để

nguội xuống nhiệt độ 20-25°C. Bổ sung nước (96,5 ml). Để dung dịch nguội xuống nhiệt độ 0-10°C và bổ sung amoni hydroxit (56,6%, 31,5 ml, 448 mmol) đến độ pH 8,5-10. Lọc bột nhão và rửa bằng metanol (60 ml) sau đó là nước (60 ml) sau đó là metanol (60 ml). Sau khi làm khô ở nhiệt độ 70°C trong chân không thu được 16,14 g (hiệu suất 92,2%) hợp chất nêu ở đề mục.

Ví dụ 4a

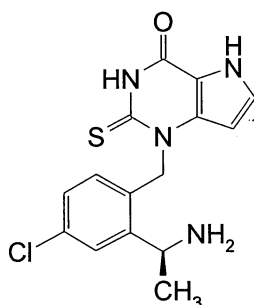
1-{2-[(1*S*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;



Hai chất đồng phân đối ảnh của 1-[2-(1-aminoethyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (ví dụ, 2) được thu lấy bằng sắc ký bất đối xứng bằng cách sử dụng cột Chiralpak® IA (250×4,6 mm, 5 μm) bằng cách sử dụng pha động chứa heptan, EtOH và TEA (80/20/0,1). Bắt đầu với 0,66 g của hợp chất triệt quang theo Ví dụ 2, thu được 0,28 g hợp chất nêu ở đề mục với độ dôi đồng phân đối ảnh bằng 84%. $[\alpha]_D^{20} = -14,9^\circ$ (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 4b

1-{2-[(1*S*)-1-Aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

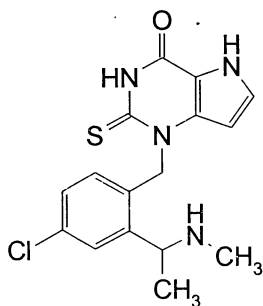


Bắt đầu với 2,0 g 2-bromo-5-clobenzaldehyt và bằng cách sử dụng quy trình tương tự như mô tả trong Ví dụ 3 nhưng sử dụng chất đồng phân đối ảnh *R* của 2-metylpropan-2-sulfinamit chứ không phải là chất đồng phân đối ảnh *S* tạo ra 0,40 g hợp

chất nêu ở đề mục với độ dôi đồng phân đối ảnh bằng 99,2%. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1,34 (d, 3H), 1,91 (s, 3H), 4,41 (q, 1H), 5,57 - 5,87 (m, 2H), 6,04 (d, 1H), 6,60 (d, 1H), 7,13 (dd, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,66 (d, 1H). $[\alpha]_D^{20} = -43,9^\circ$ (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 5

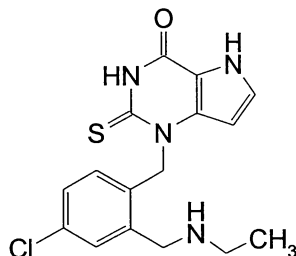
1-{4-clo-2-[1-(metylamin)etyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on;



Tạo huyền phù 1-(2-Axetyl-4-clobenzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on (0,29 g, 0,88 mmol) trong EtOH (99,5%, 2,0 ml) và bổ sung tetraisopropoxytitan (0,52 ml, 1,79 mmol) và methanamin (2 M trong THF, 2,68 ml, 5,36 mmol) vào hỗn hợp này. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 giờ và sau đó bổ sung natri tetrahydroborat (66,9 mg, 1,77 mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút, bổ sung nước và NH_3 (2 M trong MeOH) để điều chỉnh độ pH về 11. Khuấy huyền phù ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút và sau đó lọc chất kết tủa ra và rửa bằng MeOH và EtOAc. Lấy dịch lọc ra dưới áp suất giảm và sau đó tinh chế sản phẩm bằng HPLC điều chế trên cột C18 bằng cách sử dụng gradien (0-30% MeCN trong nước, MeCN và FA, 95/5/0,2) làm pha động. Thu được 0,13 g (hiệu suất 43%) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 1,35 (d, 3H), 2,29 (s, 3H), 4,14 (q, 1H), 5,73 (q, 2H), 6,00 (d, 1H), 6,65 (d, 1H), 7,18 (dd, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,60 (d, 1H), 8,17 (s, 1H), 12,50 (s, 1H). MS (APCI+) m/z 349 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 6

1-{4-clo-2-[(etylamin)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on;



(a) 1-Bromo-4-clo-2-(đietoxymetyl)benzen

Nạp bình phản ứng (5 l) bằng triethyl orthoformat (379 ml, 2278 mmol) dưới khí nitơ và sau đó trong khi khuấy, bổ sung từng phần 2-bromo-5-clobenzaldehyt (250 g, 1139 mmol) trong thời gian 50 phút. Làm nguội bình phản ứng trong quá trình bổ sung để giữ nhiệt độ phản ứng ở dưới 21°C. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 17°C trong thời gian 3 giờ, bổ sung một phần khác của triethyl orthoformat (100 ml, 601 mmol) và sau đó tiếp tục khuấy trong thời gian 3,5 nữa. Bổ sung heptan (300 ml) và lọc hỗn hợp qua xelit. Rửa bánh lọc bằng heptan (200 ml) và làm bay hơi các dung dịch kết hợp. Làm đồng bay hơi phần cặn bốn lần bằng heptan (200 ml) và sau đó tinh chế từng phần bằng sắc ký nhanh silicagel bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa EtOAc và hexan làm pha động (gradient, 0%-50% EtOAc). Thu được 280 g (hiệu suất 84%) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,13 (t, 6H), 3,43 - 3,69 (m, 4H), 5,51 (s, 1H), 7,36 (dd, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,63 (d, 1H).

(b) 4-Clo-2-(đietoxymetyl)benzaldehyt

Nạp bình phản ứng (5 l) bằng 1-bromo-4-clo-2-(đietoxymetyl)benzen (251 g, 855 mmol) và 2-metyltetrahydrofuran (3 l) dưới khí nitơ và để hỗn hợp nguội xuống nhiệt độ -60°C. Bổ sung n-butyllithi (2,5 M trong hexan, 342 ml, 855 mmol) vào dung dịch này qua ống dẫn. Sau khi khuấy trong thời gian 40 phút, bổ sung DMF (73 ml, 940 mmol) trong khoảng thời gian 12 phút. Nhiệt độ của hỗn hợp tăng lên đến -49°C trong quá trình bổ sung này. Khuấy hỗn hợp trong thời gian 40 phút và sau đó tăng nhiệt độ lên 0°C. Sau khi khuấy 30 phút nữa, bổ sung nước (300 ml) trong thời gian 5 phút sau đó là dung dịch nửa bão hòa của nước muối (1,5 l). Các lớp được tách riêng và pha nước được chiết bằng 2-metyltetrahydrofuran (1 l). Rửa các dung dịch hữu cơ bằng nước muối bão hòa, làm khô (MgSO_4) và làm bay hơi qua đêm ở nhiệt độ 30°C. Thu được 193 g

hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng dầu màu nâu nhạt với độ tinh sạch 87% (hiệu suất thực tế 81%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,15 (m, 6H), 3,50 - 3,70 (m, 4H), 5,90 (s, 1H), 7,40 (dd, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,80 (d, 1H).

(c) Ethyl 3-{[4-clo-2-(diethoxymetyl)benzyl]amino}-1*H*-pyrrol-2-carboxylat

Nạp bình phản ứng (10 l) bằng 4-clo-2-(diethoxymetyl)benzaldehyt (181 g, 649 mmol) và MeOH (1 l) và bổ sung DIPEA (92 g, 714 mmol) hòa tan trong MeOH (100 ml) vào hỗn hợp này. Bổ sung ethyl 3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat hydroclorua (132 g, 648 mmol) cùng với MeOH (700 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 20°C qua đêm và sau đó bổ sung HOAc (78 g, 1298 mmol). Bổ sung natri xyanoborohyđrua (41 g, 649 mmol) trong vài phần trong khoảng thời gian 7 phút có khuấy và làm nguội, sao cho nhiệt độ không tăng lên trên 27°C. Khuấy dung dịch trong thời gian 40 phút và sau đó bổ sung nước (1,8 l). Chiết hỗn hợp hai lần bằng CH_2Cl_2 (1 l) và làm khô (K_2CO_3) các dung dịch hữu cơ kết hợp và cô đến thể tích 1300 ml. Sau bốn ngày cô hỗn hợp trong sự có mặt của MeOH để tạo ra dung dịch MeOH (xấp xỉ 1 l) của hợp chất nêu ở đề mục. Nguyên liệu được dùng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. ^1H NMR (400 MHz, $\text{MeOH}-d_4$): δ 1,20 (t, 6H), 1,30 (t, 3H), 3,25 (m, 1H), 3,40-3,60 (m, 5H), 4,20 (q, 2H), 4,40 (s, 2H), 5,60 (d, 1H), 5,65 (s, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,50 (d, 1H).

(d) 1-[4-Clo-2-(diethoxymetyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung từ từ benzoyl isothioxyanat (89 g, 677 mmol) vào dung dịch MeOH (xấp xỉ 1 l) của ethyl 3-{[4-clo-2-(diethoxymetyl)-benzyl]amino}-1*H*-pyrrol-2-carboxylat (550 mmol) sao cho nhiệt độ phản ứng được giữ trong khoảng từ 17°C đến 22°C. Khuấy hỗn hợp trong thời gian 15 phút và bổ sung một phần khác của benzoyl isothioxyanat (13,5 g, 82,5 mmol) và sau khi khuấy tiếp trong thời gian 50 phút, bổ sung một phần khác nữa của benzoyl isothioxyanat (8 g, 50 mmol). Khuấy hỗn hợp trong thời gian 30 phút và sau đó bổ sung Cs_2CO_3 (383 g, 1177 mmol) trong khoảng thời gian 15 phút. Nhiệt độ được tăng lên đến 30°C trong thời gian 30 phút và sau đó đến 40°C trong thời gian 20 phút. Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 4 giờ và sau đó ở nhiệt độ 10°C qua đêm. Bổ sung HOAc (140 ml) ở nhiệt độ 10°C trong khoảng thời gian 20 phút và sau đó nhiệt độ của hỗn hợp được tăng lên đến 19°C. Bổ sung từ từ nước (1,4 l) vào chất kết tủa tạo thành và tách nguyên liệu rắn bằng cách lọc. Rửa bánh lọc bằng toluen (2 l) và sau đó làm khô trong chân không trong thời gian 3 ngày. Thu được 201 g

(hiệu suất 80%, hai bước) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1,20 (m, 6H), 3,50-3,70 (m, 4H), 5,80 (s, 2H), 6,00 (s, 1H), 6,75 (d, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,50 (s, 1H), 11,70-12,70 (b, 2H). MS (APCI+) m/z 395 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(e) 5-Clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt

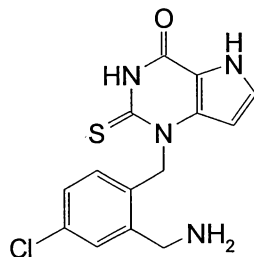
Bổ sung 1-[4-clo-2-(diethoxymetyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (1 g, 2,54 mmol) vào hỗn hợp đã được làm nguội của TFA (1,89 ml, 25,39 mmol) và CH_2Cl_2 (8 ml). Lấy bể đá ra và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2,5 giờ. Tách chất kết tủa tạo thành bằng cách lọc và rửa bằng CH_2Cl_2 để thu được 0,69 g (hiệu suất 85%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 6,02 (s, 2H), 6,09 (s, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,31 (t, 1H), 7,60 (dd, 1H), 8,09 (d, 1H), 10,24 (s, 1H), 12,41 (s, 1H), 12,51 (s, 1H). MS (APCI+) m/z 320 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

(f) 1-{4-Clo-2-[(etylaminometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Hòa tan 5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (22 mg, 0,68 mmol) và ethanamin (2 M trong THF, 3,39 ml, 6,79 mmol) trong MeOH (5 ml) trong lọ vi sóng. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng bằng cách chiếu xạ vi sóng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 5 phút và sau đó ở nhiệt độ 140°C trong thời gian 75 phút. Bổ sung natri tetrahydroborat (205 mg, 5,43 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 ngày. Làm dừng hỗn hợp bằng cách bổ sung nước. Làm bay hơi dung môi và tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC điều chế bằng cách sử dụng gradien của 0-30% MeCN trong nước/MeCN/FA (95/5/0,2). ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6): δ 1,10 (t, 3H), 2,65 (q, 2H), 3,85 (s, 2H), 5,76 (s, 2H), 6,10 (d, 1H), 6,69 (d, 1H), 7,19 (dd, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,45 (d, 1H). MS (APCI+) m/z 349 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 7

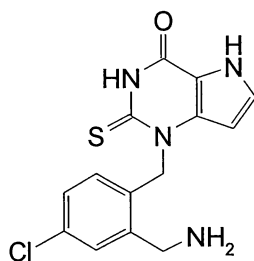
1-[2-(Aminometyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.



Bổ sung 5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (xem Ví dụ 6(e)) (194 mg, 0,61 mmol) vào hỗn hợp của hydroxylamin hydroclorua (46 mg, 0,67 mmol) và HOAc (hiệu suất 80%, 4 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 giờ và sau đó bổ sung kẽm (198 mg, 3,03 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 2 giờ. Bổ sung dung dịch trong nước của NaOH (1 M) để điều chỉnh độ pH về 12. Loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm và tinh chế phân cặn bằng HPLC điều chế trên cột C8 bằng cách sử dụng gradien của 5-45% MeCN trong nước, MeCN và chất đệm FA (95/5/0,2). ¹H NMR (500 MHz, MeOH-*d*₄) δ 4,40 (s, 2H), 5,75 (s, 2H), 6,15 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,34 (dd, 1H), 7,53 (d, 1H). MS (APCI⁺) *m/z* 321 [M+H]⁺.

Ví dụ 7. Phương pháp điều chế thay thế

1-[2-(Aminometyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.



Gia nhiệt huyền phù của 5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (xem Ví dụ 6(e)) (500 g) và hydroxylamin hydroclorua (88,1 g, 1,1 đương lượng) trong DMF (5000 ml) ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 3 giờ. Để phản ứng nguội xuống nhiệt độ 18-25°C qua đêm và loại bỏ dung môi trong chân không (nhiệt độ bể nước lớn nhất 55°C) và bổ sung nước (7500 ml) vào phân cặn. Sau đó bổ sung NaOH 1 M (trong nước) vào huyền phù để điều chỉnh độ pH về 10 (2000 ml được sử dụng). Sau

khi khuấy trong thời gian 1 giờ, lọc chất rắn, rửa bằng nước (2 x 1785 ml) và hút khô. Làm khô thêm trong lò chân không ở nhiệt độ 45°C tạo ra hợp chất trung gian oxime dưới dạng chất rắn màu trắng (395,0 g). Bổ sung kẽm (50 g) vào huyền phù của mẻ kết hợp của nguyên liệu này (450,7 g) trong axit axetic (6760 ml) ở nhiệt độ 18-25°C. Sau đó phản ứng ấm lên đến nhiệt độ 50-60°C. Bổ sung từng phần kẽm nữa (830,3 g, tổng cộng là 880,3 g, 10 đương lượng) ở nhiệt độ 50-60°C. Khuấy phản ứng ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 18 giờ. Lọc (nóng) phản ứng và cô dịch lọc trong chân không (nhiệt độ bể nước lớn nhất 55°C). Chất rắn thu được được tạo thành bột nhão trong 20% HCl (trong nước, 3755 ml) trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ 18-25°C sau đó lọc, rửa bằng 20% HCl (trong nước, 1500 ml) sau đó là nước (2 x 1500 ml) và hút khô. Sau đó hấp thụ chất rắn trong nước (9014 ml) và MeCN (3155 ml). Điều chỉnh độ pH về 9-10 bằng cách bổ sung NaOH 1 M (trong nước, 1120 ml). Khuấy huyền phù đặc trong thời gian 30 phút và lọc chất rắn, rửa bằng nước (2 x 1300 ml) và hút khô. Làm khô thêm trong lò chân không ở nhiệt độ 45°C tạo ra chất rắn màu trắng (390,9 g, hiệu suất 91%). Hòa tan mẻ kết hợp của nguyên liệu này (1098,1 g) trong DMSO (5490 ml) ở nhiệt độ 100-105°C. Để dung dịch nguội xuống nhiệt độ 70-80°C và lọc sạch vào bình thứ hai. Điều chỉnh nhiệt độ của dung dịch về 75-80°C và bổ sung từng giọt EtOH (6560 ml) ở nhiệt độ 75-80°C trong thời gian 1 giờ (sự kết tinh diễn ra trong thời gian bổ sung). Khuấy huyền phù ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 14 giờ trước khi làm nguội xuống nhiệt độ 18-25°C ở tốc độ 10°C/giờ sau đó khuấy trong thời gian 1 giờ. Lọc chất rắn, rửa bằng etanol (4 x 3660 ml) và hút khô. Làm khô thêm trong lò chân không tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ (870 g). Huyền phù của (635,6 g) của nguyên liệu này trong nước (9534 ml)/MeCN (3432 ml) được axit hóa đến độ pH 1 bằng HCl 2 M trong nước (1907 ml). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 18-25°C trong thời gian 1 giờ, lọc chất rắn, rửa bằng nước (3180 ml sau đó 2 x 1990 ml) và hút khô. Tạo huyền phù bánh ướt trong nước (9534 ml)/EtOH (3432 ml) và điều chỉnh độ pH về 9-10 (theo dõi bằng máy đo độ pH) bằng cách bổ sung NaOH 1 M trong nước (~2 l). Khuấy huyền phù ở nhiệt độ 18-25°C trong thời gian 1 giờ duy trì độ pH ở 9-10 như yêu cầu (bằng cách sử dụng NaOH 1 M trong nước). Lọc chất rắn, rửa bằng nước (3150 ml sau đó là 2 x 1574 ml) và hút

khô. Làm khô thêm trong lò chân không ở nhiệt độ 45°C tạo ra hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng tinh thể màu trắng (533,9 g). ^1H NMR (500 MHz, MeOH- d_4) δ 4,40 (s, 2H), 5,75 (s, 2H), 6,15 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,34 (dd, 1H), 7,53 (d, 1H). MS (APCI+) m/z 321 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

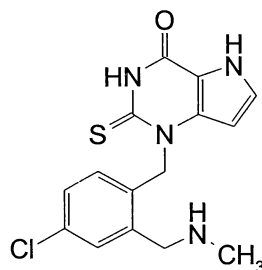
LC cho thấy độ tinh sạch 98,4% với không có độ không tinh khiết đơn >0,5%. Chuẩn độ Karl Fischer cho thấy 1,19% nước.

Phát hiện thấy phần cặn rắn kết tinh bằng XRPD và biểu đồ nhiễu xạ điển hình được thể hiện trên Hình 5. Các vị trí đỉnh đặc trưng được liệt kê dưới đây.

Mẫu XRPD 2-teta ($^\circ$) 6,5 (m), 9,0 (m), 12,8 (vs), 16,8 (m), 18,0 (s), 23,5 (s), 25,6 (s), 26,3 (w), 30,5 (w), 34,0 (w).

Ví dụ 8

1-{4-clo-2-[(metylaminometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on;

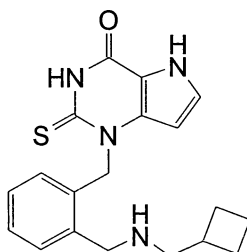


Gia nhiệt hỗn hợp của 5-clo-2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (xem Ví dụ 6(e)) (1,00 g, 3,13 mmol) và methanamin (20 ml, 40,00 mmol) trong lò vi sóng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 20 phút. Pha loãng hỗn hợp bằng MeOH và khuấy ở nhiệt độ trong phòng sau đó bổ sung từng phần natri tetrahydroborat (0,95 g, 25 mmol) trong thời gian 5 phút. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ, gia nhiệt hỗn hợp đến hồi lưu trong thời gian 2 giờ. Bổ sung một phần khác của natri tetrahydroborat (0,47 g, 12,5 mmol) và làm hồi lưu hỗn hợp trong thời gian 15 phút nữa. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi và bổ sung nước (20 ml) và dung dịch trong nước của HCl (1 M, 10 ml) vào phần cặn để điều chỉnh độ pH về 1. Làm nguội hỗn hợp bằng bể đá và lọc chất kết tủa tạo thành ra và rửa bằng nước (100 ml). Làm nguội dịch lọc bằng bể đá và điều chỉnh độ pH đến độ pH 9 bằng cách sử dụng dung dịch NH_3 trong nước (12%, 6 ml). Tách chất kết tủa bằng cách lọc. Sau khi làm khô trong chân không, thu được 700 mg (hiệu suất

67%) sản phẩm mong muốn dưới dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2,34 (d, 3H), 3,78 (s, 2H), 5,72 (s, 2H), 6,04 (t, 1H), 6,66 (d, 1H), 7,16 (dd, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,41 (d, 1H). MS (APCI+) m/z 335 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 9

1-(2-[(xyclobutylmetyl)amino]metyl}benzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on;



(a) Etyl 3-[[2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}-1H-pyrol-2-carboxylat

Xử lý dung dịch etyl 3-amino-1H-pyrol-2-carboxylat hydroclorua (5,66 g, 29,69 mmol) trong EtOH (30 ml) bằng DIPEA (6,22 ml, 35,63 mmol) và khuấy trong thời gian 10 phút trước khi bổ sung HOAc (4,08 ml, 71,25 mmol) và natri xyanoborohyđrua (2,80 g, 44,53 mmol). Sau đó bổ sung từng giọt dung dịch 2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzalđehyt (5,29 g, 29,69 mmol) trong EtOH (20 ml) trong khoảng thời gian 15 phút. Khuấy huyền phù thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Làm bay hơi hỗn hợp phản ứng trong chân không và xử lý phần cặn bằng nước (200 ml) và chiết bằng điclorometan (3 x 150 ml). Lọc dung dịch hữu cơ qua cột silicagel bằng cách sử dụng gradien của EtOAc và CH_2Cl_2 (0-100% EtOAc). Thu được 12,63 g hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng sản phẩm thô.

(b) Etyl 3-[(benzoylcarbamothioyl)[2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}-1H-pyrol-2-carboxylat

Tạo huyền phù etyl 3-[[2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}-1H-pyrol-2-carboxylat (12,63 g, 39,92 mmol) trong CH_2Cl_2 (60 ml) và xử lý huyền phù này bằng DIPEA (7,09 ml, 39,92 mmol). Khuấy hỗn hợp trong thời gian 0,25 giờ ở nhiệt độ trong phòng và sau đó bổ sung benzoyl isothioxyanat (5,37 ml, 39,92 mmol). Sau khi khuấy trong thời gian 18 giờ, loại bỏ dung môi trong chân không. Thu được 24,8 g hợp chất thô nêu ở đề mục mà được dùng mà không cần tinh chế trong bước tiếp theo.

(c) 1-[2-(1,3-Đioxolan-2-yl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Hòa tan etyl 3-{(benzoylcarbamoithiyl)[2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]amino}-1*H*-pyrol-2-carboxylat (24,8 g, 51,72 mmol) trong MeOH (100 ml) và xử lý dung dịch này bằng natri hydroxit (10,34 g, 258,6 mmol). Gia nhiệt hỗn hợp đến hồi lưu nhẹ và khuấy trong thời gian 3,5 giờ. Sau khi làm nguội, loại bỏ dung môi trong chân không. Hấp thụ phần cặn trong nước, trung hòa bằng cách sử dụng HCl (2 M) và chiết hỗn hợp bằng CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Rửa dịch chiết kết hợp bằng nước (2 x 30 ml), làm khô (MgSO₄), lọc và làm bay hơi. Khuấy phần cặn với Et₂O và thu gom chất kết tủa và làm khô trong chân không. Thu được 1,2 g (hiệu suất 12,3% qua 3 bước) hợp chất nêu ở đề mục. MS (APCI+) *m/z* 330 [M+H]⁺.

(d) 2-[(4-Oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt

Bổ sung dung dịch TFA (5,0 ml, 64,90 mmol) trong CH₂Cl₂ (30 ml) vào dung dịch của 1-[2-(1,3-đioxolan-2-yl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on (1,2 g, 3,64 mmol) và khuấy hỗn hợp qua đêm. Làm hồi lưu hỗn hợp phản ứng trong thời gian 7 giờ và sau đó cô trong chân không. Bổ sung toluen để làm đồng bay hơi TFA. Khuấy chất thô khô với Et₂O để nghiền nhỏ sản phẩm mà được thu gom bằng cách lọc và làm khô trong chân không. Thu được 1,02 g (hiệu suất 98%) hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn. MS (APCI+) *m/z* 286 [M+H]⁺.

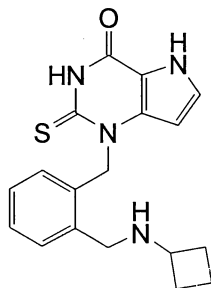
(e) 1-(2-[(Xyclobutylmetyl)amino]metyl)benzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Khuấy dung dịch 2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (100 mg, 0,35 mmol), DIEA (0,184 ml, 1,05 mmol) và xyclobutylmethanamin (128 mg, 1,05 mmol) trong NMP khô (3 ml) trong thời gian 60 phút sau đó xử lý bằng natri borohyđrua (19,89 mg, 0,53 mmol) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Hấp thụ dung dịch bằng trọng lực lên trên cột 10 g SCX đã trương nở trước trong NMP và sau đó rửa cột bằng MeOH (100 ml). Rửa giải sản phẩm thô bằng cách sử dụng dung dịch NH₃ trong MeOH (3 M, 50 ml). Loại bỏ dung môi trong chân không và tinh chế phần cặn trên cột C8 rửa giải với gradien của MeOH trong nước (0,1% TFA). Sản phẩm được tạo thành bột nhão trong điclometan (2 ml) để tạo ra 48 mg (hiệu suất 38%) hợp chất mong muốn dưới dạng chất rắn. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,70-3,20 (m, 9H), 4,35 (m, 2H), 5,78 (s, 2H),

6,06 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,35 (m, 2H), 7,54 (d, 1H), 8,8 (b, 2H). MS (APCI+) m/z 355 $[M+H]^+$.

Ví dụ 10

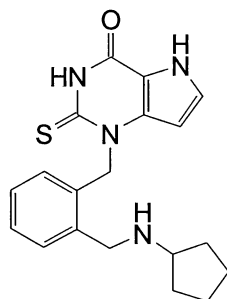
1-{2-[(xyclobutylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on;



Thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn ở hiệu suất 49% bắt đầu từ 2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (100 mg, 0,35 mmol) và xyclobutanamin (249 mg, 3,50 mmol) bằng cách sử dụng quy trình được mô tả trong Ví dụ 9. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1,74 - 1,94 (m, 2H), 2,17-2,30 (m, 4H), 3,88 (s, 1H), 4,26 (s, 2H), 5,78 (s, 2H), 6,04 (t, 1H), 6,77 (d, 1H), 7,26 - 7,39 (m, 3H), 7,52 (dd, 1H), 9,09 (s, 2H), 12,41 (s, 1H), 12,52 (s, 1H). MS (APCI+) m/z 341 $[M+H]^+$.

Ví dụ 11

1-{2-[(xyclopentylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-4-on;

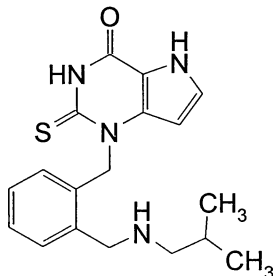


Thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn ở hiệu suất 54% bắt đầu từ 2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrol[3,2-d]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (100 mg, 0,35 mmol) và xyclopentanamin (0,35 ml, 3,50 mmol) bằng cách sử dụng quy trình được mô tả trong Ví dụ 9. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,40-2,80 (m, 8H),

3,70 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 5,79 (s, 2H), 6,04 (t, 1H), 6,79 (d, 1H), 7,20-7,40 (m, 3H), 7,54 (d, 1H) 8,85 (b, 2H). MS (APCI+) m/z 355 $[M+H]^+$.

Ví dụ 12

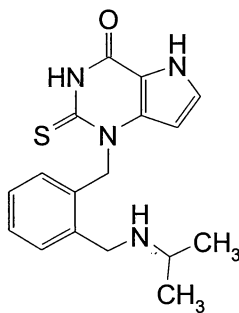
1-(2-{[(2-metylpropyl)amino]metyl}benzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on;



Thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn ở hiệu suất 71% bắt đầu từ 2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (100 mg, 0,35 mmol) và 2-metylpropan-1-amin (0,35 ml, 3,50 mmol) bằng cách sử dụng quy trình được mô tả trong Ví dụ 9. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,00 (d, 6H), 2,05 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 4,40 (m, 2H), 5,79 (s, 1H), 6,06 (dd, 1H), 6,78 (d, 1H), 7,28 (t, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,58 (dd, 1H), 8,78 (b, 2H). MS (APCI+) m/z 343 $[M+H]^+$.

Ví dụ 13

1-{2-[(propan-2-ylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on;

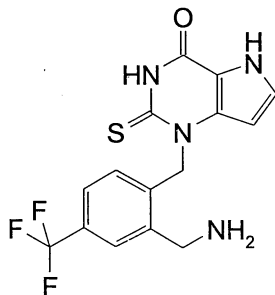


Thu được hợp chất nêu ở đề mục dưới dạng chất rắn ở hiệu suất 33% bắt đầu từ 2-[(4-oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-1-yl)metyl]benzaldehyt (100 mg, 0,35 mmol) và 2-metylpropan-1-amin propan-2-amin (0,45 ml, 5,61 mmol) bằng cách sử dụng quy trình được mô tả trong Ví dụ 9. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-

d6): δ 1,36 (d, 6H), 3,55 (m, 1H), 4,39 (m, 2H), 5,79 (s, 1H), 6,05 (d, 1H), 6,78 (d, 1H), 7,27 (t, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,54 (dd, 1H), 8,76 (b, 2H). MS (APCI+) m/z 329 $[M+H]^+$.

Ví dụ 14

1-[2-(aminometyl)-4-(triflometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-on;



(a) 1-Bromo-2-(diethoxymetyl)-4-(triflometyl)benzen

Khuấy dung dịch 2-bromo-5-(triflometyl)benzaldehyt (0,60 ml, 3,95 mmol), trietyl orthoformat (1,316 ml, 7,90 mmol) và tetrabutylamoni tribromua (0,019 g, 0,04 mmol) trong EtOH (hiệu suất 99,5%, 6 ml) ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 8 giờ. Bổ sung thêm trietyl orthoformat (1,32 ml, 7,90 mmol) và tetrabutylamoni tribromua (0,019 g, 0,04 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 15 giờ nữa.

Loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm và bổ sung dung dịch trong nước của NaHCO_3 bão hòa và EtOAc vào phần cặn. Các lớp được tách riêng và pha nước được chiết hai lần bằng EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô bằng máy tách pha và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm để thu được 0,94 g (hiệu suất 72%) hợp chất nêu ở đề mục. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 1,27 (t, 6H), 3,58 - 3,73 (m, 4H), 5,67 (s, 1H), 7,45 (dd, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,93 (d, 1H).

(b) 2-(Điethoxymetyl)-4-(triflometyl)benzaldehyt

Bổ sung từng giọt butyllithi (2,5 M trong hexan, 15,47 ml, 38,67 mmol) vào dung dịch của 1-bromo-2-(diethoxymetyl)-4-(triflometyl)benzen (11,5 g, 35,15 mmol) trong THF (130 ml) ở nhiệt độ -78°C dưới khí nitơ và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ -78°C trong thời gian 30 phút. Bổ sung từng giọt DMF (4,06 ml, 52,73 mmol) ở nhiệt độ -78°C . Để hỗn hợp phản ứng ấm lên đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong thời gian 2 giờ. Bổ sung dung dịch trong nước của NH_4Cl bão hòa và các pha được tách riêng. Chiết lớp nước hai lần bằng

EtOAc. Rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô (máy tách pha) và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Thu được 9,0 g (hiệu suất 33%) hợp chất nêu ở đề mục.

(c) Etyl 3-{[2-(đietoxymetyl)-4-(triflometyl)benzyl]amino}-1*H*-pyrrol-2-carboxylat

Hòa tan etyl 3-amino-1*H*-pyrrol-2-carboxylat (5,02 g, 32,58 mmol) trong EtOH (99,5%, 110 ml) và bổ sung DIPEA (5,67 ml, 32,58 mmol) sau đó là HOAc (3,73 ml, 65,16 mmol) vào dung dịch thu được. Để hỗn hợp phản ứng nguội xuống nhiệt độ -10°C và sau đó bổ sung natri xyanotrihydroborat (2,46 g, 39,09 mmol). Sau đó bổ sung từ từ 2-(đietoxymetyl)-4-(triflometyl)benzaldehyt (9 g, 32,58 mmol) hòa tan trong EtOH (hiệu suất 99,5%, 10 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C và sau đó khuấy trong thời gian 16 giờ, trong thời gian đó để nhiệt độ tăng lên đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nước và chiết hỗn hợp bằng toluen. Chiết pha nước thêm hai lần bằng toluen và rửa các lớp hữu cơ kết hợp bằng nước muối, làm khô qua máy tách pha và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Tinh chế sản phẩm bằng HPLC điều chế bằng cách sử dụng cột C8 và bằng cách sử dụng hỗn hợp chứa gradien (50%-100%) MeCN trong nước, MeCN và chất đệm amoni axetat (0,1 M). Sau bốn lần phun, thu được 4,5 g (hiệu suất 33%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 1,25 (td, 4H), 1,34 (t, 3H), 3,51 - 3,7 (m, 5H), 4,31 (dd, 2H), 4,57 (s, 2H), 5,60 (dd, 1H), 5,66 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 7,53 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,09 (d, 1H). MS (APCI+) *m/z* 414 [M+H]⁺.

(d) 1-[2-(Đietoxymetyl)-4-(triflometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Hòa tan etyl 3-{[2-(đietoxymetyl)-4-(triflometyl)benzyl]amino}-1*H*-pyrrol-2-carboxylat (4,3 g, 10,38 mmol) trong MeOH (40 ml) và bổ sung benzoyl isothioxyanat (1,40 ml, 10,38 mmol) vào dung dịch thu được. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 phút và sau đó bổ sung Cs₂CO₃ (7,27 g, 22,31 mmol). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 6 giờ và sau đó loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm. Bổ sung nước và diclometan và chiết pha nước thêm hai lần bằng CH₂Cl₂. Kết hợp các lớp hữu cơ và loại bỏ

dung môi dưới áp suất giảm. Nghiền nhỏ phân cận bằng Et₂O. Khuấy huyền phù tạo thành trong thời gian 4 giờ và tách chất rắn bằng cách lọc. Rửa chất rắn bằng Et₂O để tạo ra 3,46 g (hiệu suất 78%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 1,22 (t, 6H), 3,55 - 3,72 (m, 4H), 5,89 (s, 3H), 5,95 (s, 1H), 6,94 (d, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,59 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 12,38 (s, 2H). MS (APCI-) *m/z* 426 [M-H]⁻.

(e) 2-[(4-Oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)methyl]-5-(triflometyl)benzaldehyt

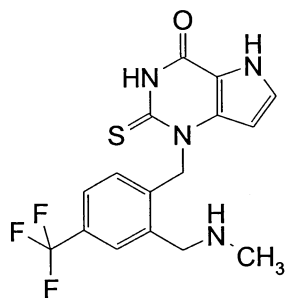
Để hỗn hợp của TFA (2,90 ml, 39,07 mmol) và CH₂Cl₂ (12 ml) nguội xuống nhiệt độ 0°C và bổ sung 1-(2-(diethoxymetyl)-4-(triflometyl)benzyl)-2-thioxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4(5*H*)-on (1,67 g, 3,91 mmol) vào dung dịch này. Lấy bể đá ra và khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2,5 giờ. Lọc chất rắn thu được và rửa bằng CH₂Cl₂ để thu được 1,31 g (hiệu suất 95%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 6,09 - 6,16 (m, 3H), 7,08 (d, 1H), 7,31 (t, 1H), 7,89 (dd, 1H), 8,41 (d, 1H), 10,34 (s, 1H), 12,44 (s, 1H), 12,52 (s, 1H). MS (APCI+) *m/z* 352 [M-H]⁻.

(f) 1-[2-(Aminometyl)-4-(triflometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on

Bổ sung 2-[(4-Oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)methyl]-5-(triflometyl)benzaldehyt (195 mg, 0,55 mmol) vào hỗn hợp của hydroxylamin hydroclorua (42 mg, 0,61 mmol) trong HOAc (hiệu suất 80%, 4 ml). Khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ và bổ sung kẽm (181 mg, 2,76 mmol). Sau khi khuấy ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 1,5 giờ, làm nguội hỗn hợp và điều chỉnh độ pH về 12 bằng NaOH trong nước (1 M). Thu gom chất kết tủa thu được bằng cách lọc. Tinh chế sản phẩm bằng HPLC điều chế trên cột C8 bằng cách sử dụng gradien của 5-45% MeCN trong nước, MeCN và FA (95/5/0,2). Thu được 70 mg (hiệu suất 36%) hợp chất mong muốn. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ 4,37 (s, 2H), 5,81 (s, 2H), 6,11 (s, 1H), 6,93 (d, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,63 (d, 1H), 7,89 (s, 1H), 8,36 (s, 2H), 12,47 (s, 1H), 12,56 (s, 1H).

Ví dụ 15

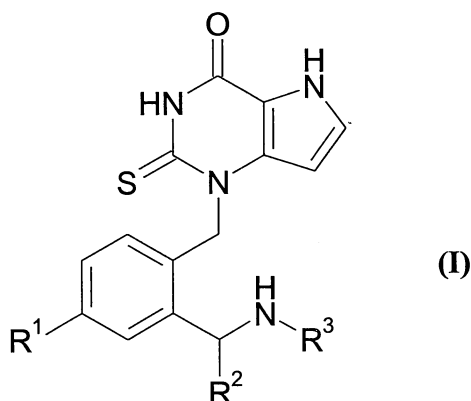
1-{2-[(Metylaminometyl)-4-(triflometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on



Hòa tan 2-[(4-Oxo-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,2-*d*]pyrimidin-1-yl)methyl]-5-(trifluoromethyl)benzaldehyt (214 mg, 0,61 mmol) và methanamin (2 M trong MeOH, 3,03 ml, 6,06 mmol) trong MeOH (5 ml) và chuyển dung dịch thu được vào lọ vi sóng. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 5 phút và sau đó pha loãng bằng THF (5 ml). Bổ sung natri tetrahydroborat (183 mg, 4,85 mmol) trong các phần nhỏ trong thời gian 2 phút. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút và sau đó làm dừng bằng cách bổ sung nước. Làm bay hơi dung môi và tinh chế sản phẩm thô bằng HPLC điều chế trên cột C18 bằng cách sử dụng gradien của 15-55% MeCN trong nước, MeCN và chất đệm 0,1 M NH₄OAc (95/5/0,2), sau đó tinh chế lại bằng cách sử dụng gradien của 0-30% MeCN trong nước, MeCN và FA (95/5/0,2). Thu được 62 mg (hiệu suất 28%) hợp chất nêu ở đề mục. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 2,42 (s, 3H), 3,94 (s, 2H), 5,85 (s, 2H), 6,10 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,51 (d, 1H), 7,76 (s, 1H), 8,19 (s, 1H). MS (APCI+) *m/z* 369 [M+H]⁺.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



trong đó:

R^1 là H, F, Cl hoặc CF_3 ,

R^2 là H, CH_3 hoặc C_2H_5 , và,

R^3 là H, CH_3 , C_2H_5 , n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, xyclopropyl, xyclopropylmetyl, xyclobutyl, xyclobutylmetyl hoặc xyclopentyl, hoặc muối được dụng của nó.

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

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^2 là CH_3 .

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

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^3 là H.

6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó nguyên tử cacbon mà R^2 được gắn vào có cấu hình R khi R^2 là CH_3 hoặc C_2H_5 .

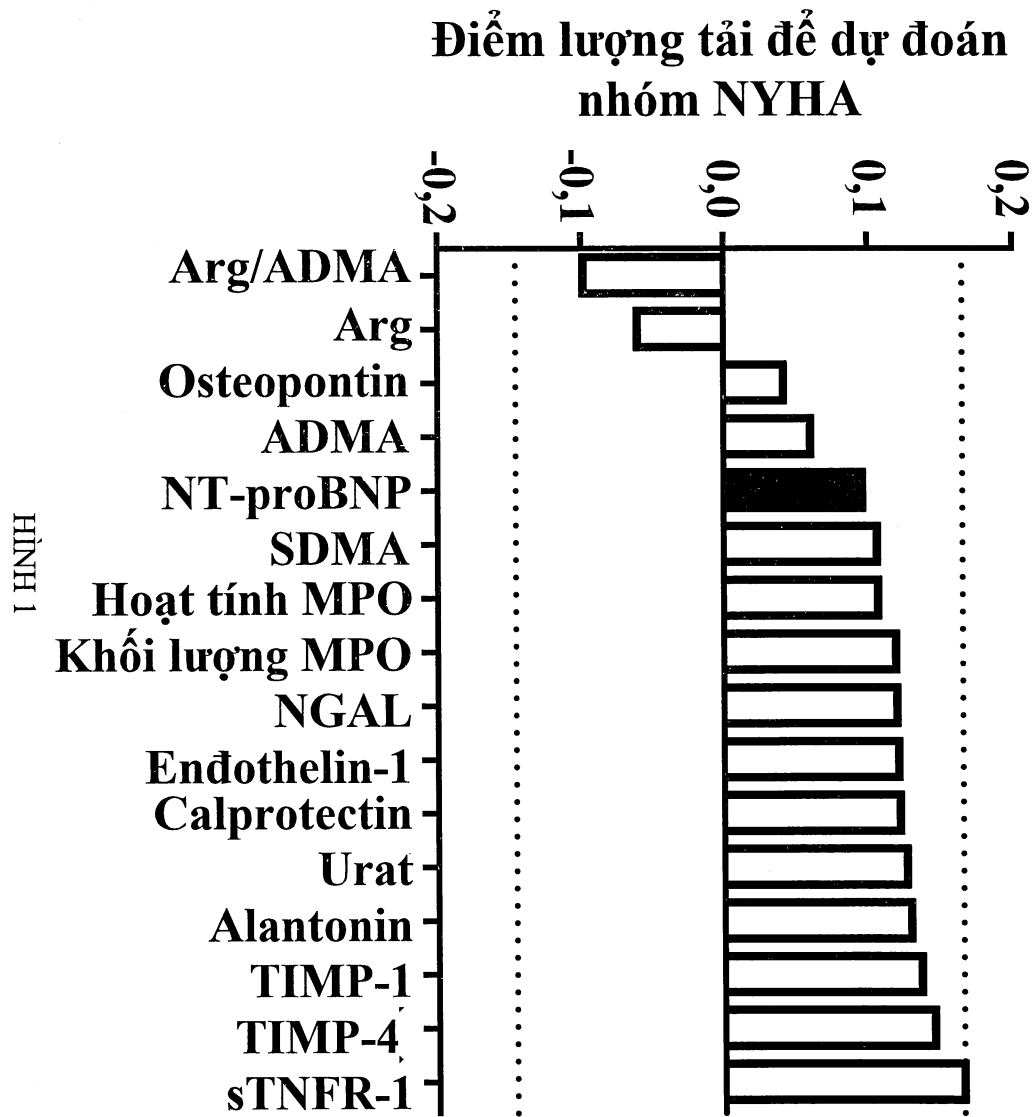
7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ:

1-{2-[(1*R*)-1-aminopropyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;

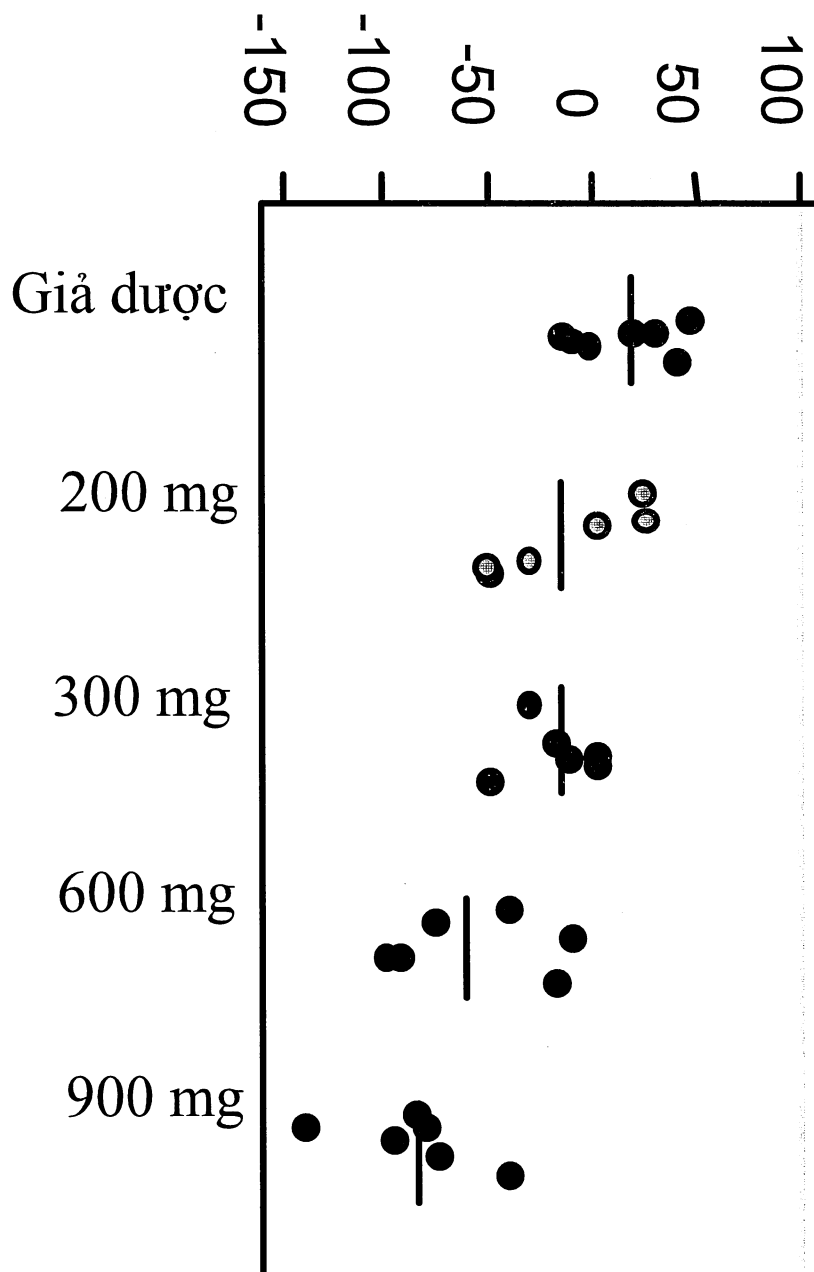
1-[2-(1-aminoetyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;

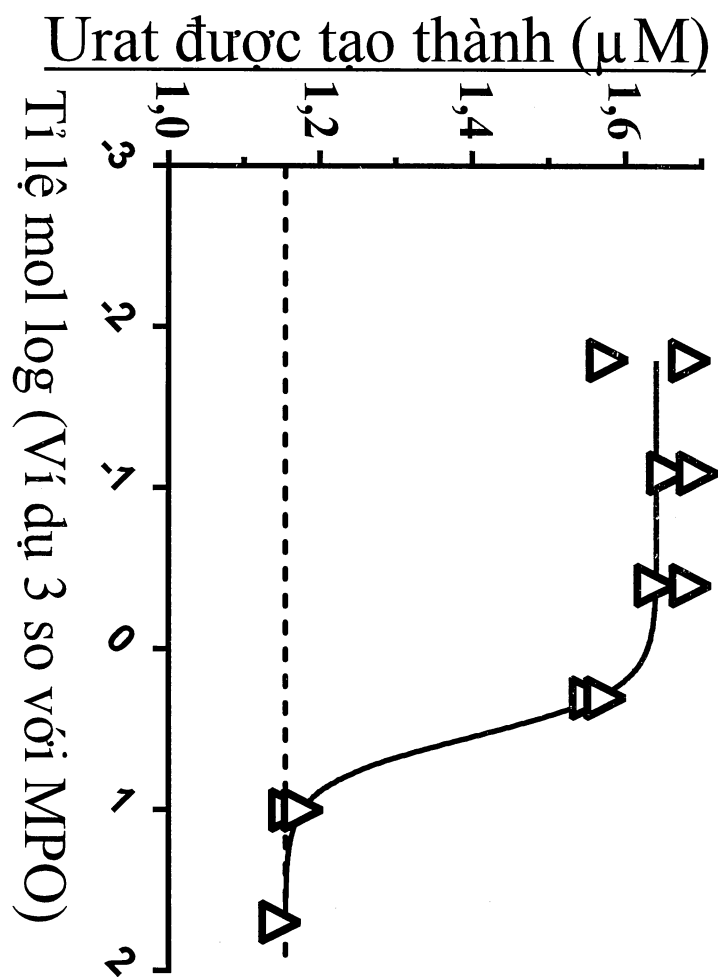
- 1-{2-[(1*R*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.
- 1-{2-[(1*S*)-1-aminoethyl]-4-clobenzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{4-clo-2-[1-(metylamino)etyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{4-clo-2-[(etylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-[2-(aminometyl)-4-clobenzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on.
- 1-{4-clo-2-[(metylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-(2-{[(xyclobutylmetyl)amino]metyl}benzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{2-[(xyclobutylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{2-[(xyclopentylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-(2-{[(2-metylpropyl)amino]metyl}benzyl)-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{2-[(propan-2-ylamino)metyl]benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-[2-(aminometyl)-4-(triflometyl)benzyl]-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on;
- 1-{2-[(metylamino)metyl]-4-(triflometyl)benzyl}-2-thioxo-1,2,3,5-tetrahydro-4*H*-pyrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-on
- hoặc muối được dụng của chúng.

8. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, hoặc muối dược dụng của chúng, tùy ý kết hợp với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

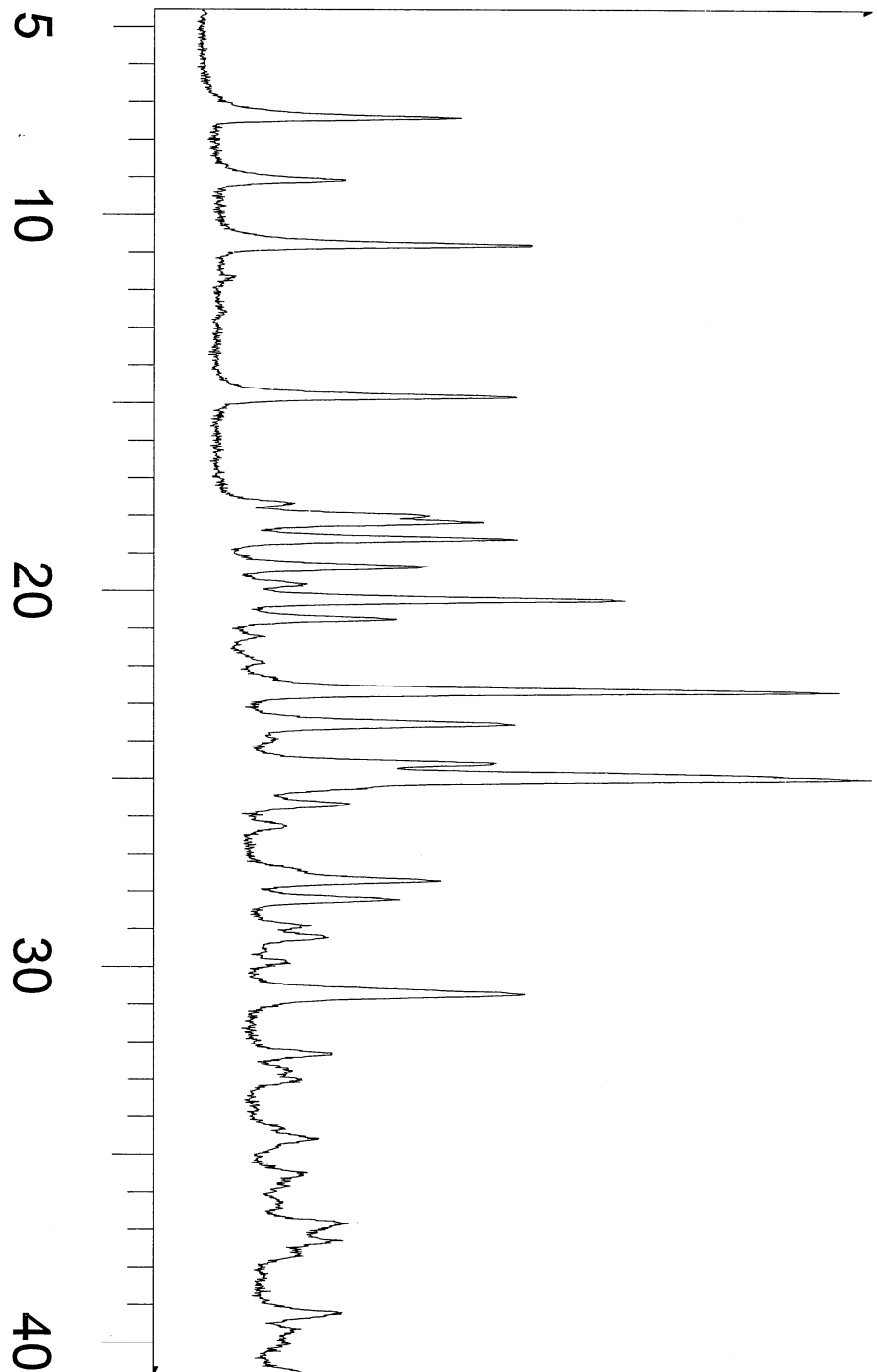


**Axit uric (μM)
khác biệt so với đường cơ sở
vào ngày 11**





HÌNH 3



Thang 2-Teta

HÌNH 4

