



(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
(51)⁷ C07D 239/70; A61K 31/517; A61P 29/00 (13) B

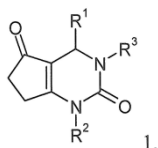


1-0029875

(21) 1-2017-00386 (22) 30/07/2015
(86) PCT/EP2015/067501 30/07/2015 (87) WO2016/016365 04/02/2016
(30) 14179288.7 31/07/2014 EP
(45) 25/10/2021 403 (43) 25/05/2017 350A
(73) BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)
Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim Am Rhein, Germany
(72) OOST, Thorsten (DE); ANDERSKEWITZ, Ralf (DE); GNAMM, Christian (DE);
HOESCH, Holger (DE); MORSCHHAEUSER, Gerd (DE); PETERS, Stefan (DE);
RIES, Uwe Joerg (DE).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT DIHYDROPYRIMIDINON HAI VÒNG ĐƯỢC THỂ DÙNG LÀM
CHẤT ỨC CHẾ HOẠT TÍNH MEN ELASTAZA CỦA BẠCH CẦU TRUNG TÍNH
VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

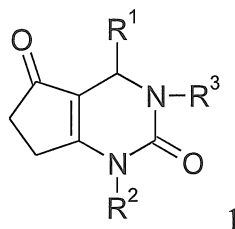
(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất dihydropyrimidinon hai vòng được thể có công thức 1:



trong đó hợp chất này là hữu dụng để làm chất ức chế hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính, và dược phẩm chứa hợp chất nêu trên. Hợp chất này là hữu dụng để làm dược phẩm để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh về phổi, dạ dày - ruột và sinh dục - tiết niệu, các bệnh viêm ở da và mắt và các rối loạn tự miễn và dị ứng khác, thải ghép tế bào đồng loại, và các bệnh ung thư.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất dihydropyrimidinon hai vòng được thể có công thức 1:



hữu ích làm chất ức chế hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính, và được phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất này hữu ích làm được phẩm để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh về phổi, dạ dày - ruột và sinh dục - tiết niệu, các bệnh viêm ở da và mắt, các rối loạn tự miễn và các dị ứng khác, thải ghép đồng loài, và các bệnh ung thư.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

- Các tài liệu tham khảo dưới đây mô tả các chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính có nhân dihydro-pyrimidinon một vòng: GB2392910, WO04024700, WO05082864, WO05082863, DE102006031314, US100010024, WO10115548, WO09080199, DE102007061766, WO06136857, WO06082412, WO12002502.
- Các tài liệu tham khảo dưới đây mô tả các chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính có nhân tetrahydropyrolpyrimidindion hai vòng: WO07129060, WO08135537, US090093477, WO09013444, WO09060206, WO09060203, WO09060158, US110034433.
- Các tài liệu tham khảo dưới đây mô tả các chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính có cấu trúc nhân khác với các hợp chất được nêu ở trên: WO04020412, WO04020410, WO03053930, WO10078953, WO09135599, DE102009004197, WO11110858, WO11110859, WO09060158, WO09037413, WO04024701, US130065913, WO13018804, WO12002502, US 2014/0171414, WO14009425,

WO2014029831, WO2014029832 và WO2014029830, WO14122160, WO14135414.

- Để xem xét về các chất ức chế khác nhau đối với men elastaza của bạch cầu trung tính, tham khảo trong tài liệu: P. Sjö (*Future Med. Chem.* 2012, 4, 651-660).

Men elastaza của bạch cầu trung tính (NE) là một serin proteaza 29 kDa. Men này được biểu hiện trong tế bào tiền thân tủy xương, được lưu giữ trong hạt bạch cầu hạt trong máu ngoại vi với nồng độ cao và nó được giải phóng khi kích hoạt tế bào. Các yếu tố chính của chất nền ngoại bào (ECM): elastin, fibronectin, laminin, collagen và proteoglycan thuộc về các chất nền của NE. Hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính dẫn đến sự thoái biến ECM, làm gia tăng sự di chuyển và hóa hướng động của bạch cầu đơn nhân to và tế bào cơ trơn mạch máu và tác động trực tiếp lên các thành phần của con đường đông máu và phân hủy fibrin (PAI-1 và TFPI). Hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính tăng cao liên quan đến các bệnh viêm mãn tính và xơ hóa của một số cơ quan. Tiềm năng của chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính dưới dạng liệu pháp chống viêm đã được xem xét bởi tác giả P. A. Henriksen trong tài liệu *Current Opinion in Hematology* 2014, 21, 23-28. Do đó, các chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính sẽ có vai trò quan trọng trong điều trị các bệnh khác nhau như bệnh COPD, bệnh xơ hóa phổi tự phát và các bệnh xơ hóa khác, ung thư, tổn thương phổi cấp tính, hội chứng suy hô hấp cấp tính, giãn phế quản, bệnh xơ nang, bệnh thiếu hụt men alpha1-antitrypsin và các bệnh khác.

Vấn đề giải quyết bởi sáng chế này đó là điều chế các hợp chất mới mà, trên cơ sở tính hiệu quả dược lý của chúng ở dạng chất ức chế hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính, có thể được sử dụng về mặt trị liệu, dùng trong điều trị các quá trình sinh lý bệnh học gây ra bởi hoạt tính men elastaza của bạch cầu trung tính tăng cao.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Đã bất ngờ phát hiện ra rằng, hợp chất theo sáng chế có các đặc tính dưới đây mà các đặc tính này có lợi xét theo các dấu hiệu của sáng chế này.

Hợp chất theo sáng chế, bao gồm cả các muối sinh lý, hữu hiệu làm chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính và thể hiện hiệu quả ức chế có lợi, khi được xác định bằng nồng độ ức chế tối đa một nửa (IC_{50}), trong thử nghiệm ức chế enzym.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, còn hữu hiệu làm chất ức chế men serin proteaza proteinaza 3 của bạch cầu trung tính và thể hiện hiệu quả ức chế có lợi, khi được xác định bằng nồng độ ức chế tối đa một nửa (IC_{50}), trong thử nghiệm ức chế enzym. Hoạt tính ức chế này trên men serin proteaza bạch cầu trung tính thứ hai có thể có lợi về hiệu quả được lý.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện hiệu quả ức chế có lợi, khi được xác định bằng nồng độ tác dụng tối đa 50% (EC_{50}), trong huyết tương hoặc thử nghiệm máu toàn phần, ví dụ như được mô tả trong tài liệu của tác giả T. Stevens et al. J. Pharm. Exp. Ther. 2011, 339, 313-320).

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện hiệu lực có lợi *in vivo*, ví dụ, khi được xác định bằng liều lượng hiệu quả tối đa 50% (ED_{50}), trong các mẫu tổn thương phổi gây ra bởi elastaza của bạch cầu trung tính người trên chuột nhắt hoặc chuột cống, ví dụ như được mô tả trong tài liệu của tác giả Tremblay et al. (Chest 2002, 121, 582-588) hoặc của tác giả T. Stevens et al. J. Pharm. Exp. Ther. 2011, 339, 313-320).

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện độ ổn định chuyển hóa thuận lợi trong thử nghiệm phân tích tiểu thể *in vitro* về độ ổn định chuyển hóa như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 29 và các tham khảo trong đó.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện độ ổn định chuyển hóa thuận lợi trong thử nghiệm phân tích tế bào gan *in vitro* về độ ổn định chuyển hóa như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 29 và các tham khảo trong đó.

Độ ổn định chuyển hóa cải thiện trong hệ thử nghiệm *in vitro* được kỳ vọng có nghĩa là độ thanh thải (CL) *in vivo* giảm, do sự chuyển đổi chuyển hóa ở gan giảm. Dựa vào phương trình dược động học $CL/F_{\text{uống}} = \text{Liều lượng} / \text{AUC}$ ($F_{\text{uống}}$: sinh khả dụng đường uống, AUC: diện tích dưới đường cong), độ thanh thải *in vivo* giảm được kỳ vọng dẫn đến sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng cao hơn (AUC) của thuốc.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện tính thấm thuận lợi trong phương pháp lớp tế bào Caco-2 *in vitro* về tính thấm như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 26 và các tham khảo trong đó. Đối với một thuốc uống, tính thấm cải thiện được kỳ vọng có nghĩa là phân đoạn thuốc hấp thu trong đường ruột cao hơn, do đó dẫn đến sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng cao hơn (AUC).

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện thuận lợi, tức là tỷ lệ vận chuyển ra thấp (tính thấm theo chiều vận chuyển ra chia cho tính thấm theo chiều vận chuyển vào) trong phương pháp lớp tế bào Caco-2 hoặc MDCK *in vitro* như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 26 và 27 và các tham khảo trong đó. Đối với một thuốc uống, cải thiện, tức là tỷ lệ vận chuyển ra giảm được kỳ vọng có nghĩa là phân đoạn thuốc hấp thụ trong đường ruột cao hơn, do đó, dẫn đến sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng cao hơn (AUC).

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện độ hòa tan trong nước thuận lợi trong phương pháp hòa tan động hoặc nhiệt động học như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, 15 structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 25 và các tham khảo trong đó. Đối với một thuốc uống, độ hòa tan trong nước cải thiện được kỳ vọng có nghĩa là phân đoạn thuốc hấp thụ trong đường ruột cao hơn, dẫn đến sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng cao hơn (AUC) và/hoặc sinh khả dụng đường uống ($F_{\text{uống}}$) và/hoặc nồng độ đỉnh trong huyết tương sau khi sử dụng (C_{max}). Ngoài ra, độ hòa tan trong nước cải thiện được kỳ vọng làm giảm nguy cơ

các thách thức phát triển, như các chế phẩm đất đỏ, thời gian phát triển tăng lên, tải nạp thuốc cao.

Sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng tương đối cao hơn (AUC) có thể có lợi thế theo nhiều cách: (1) Nếu sự tiếp xúc toàn thân xác định (AUC) cần đạt được về tính hiệu quả, thuốc có thể được định liều với lượng thấp hơn. Liều lượng thấp hơn có lợi thế về tải lượng thuốc thấp hơn (thuốc gốc và các sản phẩm chuyển hóa của nó) đối với bệnh nhân, dẫn đến tác dụng phụ tiềm tàng ít hơn và chi phí sản xuất sản phẩm thuốc thấp hơn. (2) Sự tiếp xúc toàn thân chuẩn hóa theo liều lượng tương đối cao hơn (AUC) có thể dẫn đến hiệu quả tăng lên hoặc thời gian tác động của thuốc kéo dài hơn khi liều lượng tương tự được áp dụng.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện độ ổn định chuyển hóa thuận lợi, tính thẩm thuận lợi và độ hòa tan trong nước thuận lợi. Do đó, một số hợp chất theo sáng chế được kỳ vọng thể hiện các đặc tính dược động học (PK) thuận lợi sau khi định liều theo đường uống, nhất là sự tiếp xúc toàn thân thuận lợi (diện tích dưới đường cong, AUC), do đó dẫn đến hiệu quả có lợi *in vivo*.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện các đặc tính dược động học (PK) thuận lợi. Các đặc tính PK có thể được xác định ở các loài động vật tiền lâm sàng, ví dụ chuột nhắt, chuột cống, chuột đồng, chó, chuột lang, lợn nhỏ, khỉ cynomolgus, khỉ rhesus. Các đặc tính PK của một hợp chất có thể được mô tả, ví dụ, bằng các thông số sau: Thời gian lưu thuốc thông thường (MRT), thời gian bán thải ($t_{1/2}$), thể tích phân bố (V_D), diện tích dưới đường cong (AUC), độ thanh thải (CL) và sinh khả dụng sau khi sử dụng theo đường uống ($F_{\text{uống}}$), nồng độ đỉnh trong huyết tương sau khi sử dụng (C_{max}), thời gian đạt tới C_{max} (T_{max}).

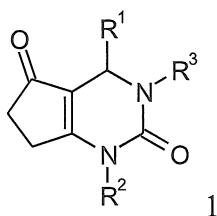
Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện thuận lợi, tức là, sự ức chế yếu các isozym cytochrom P450 (CYP) trong các thử nghiệm *in vitro* tương ứng về sự ức chế isozym CYP như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 32 và các tham khảo trong đó. Sự ức chế các isozym CYP giảm được kỳ vọng có nghĩa là giảm thiểu nguy cơ về tương tác

thuốc - thuốc không mong muốn mà đó là sự can thiệp của một thuốc với đặc tính chuyển hóa hoặc dược động học thông thường của thuốc đồng sử dụng.

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện thuận lợi, tức là tiềm ẩn cảm ứng cytochrom P450 (CYP) thấp. Sự cảm ứng CYP có thể tác động đến dược động học của phân tử thuốc khi định liều nhiều lần, điều này có thể dẫn tới tương tác dược động học thuốc - thuốc không mong muốn với các thuốc đồng sử dụng. Sự cảm ứng CYP có thể dẫn đến giảm tiếp xúc của hợp chất cảm ứng (ví dụ, tự cảm ứng) hoặc giảm tiếp xúc của hợp chất đồng sử dụng được chuyển hóa bởi enzym cảm ứng. Sự cảm ứng CYP cũng có thể dẫn đến sự gia tăng chuyển hóa thuốc gây ra những thay đổi về hiệu quả dược lý (sản phẩm chuyển hóa hoạt tính) và hậu quả độc tính (sản phẩm chuyển hóa gây hại).

Một số hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối sinh lý, thể hiện sự ức chế thuận lợi, tức là thấp, ức chế kênh hERG trong thử nghiệm cặp rập nổi như được mô tả trong tài liệu của tác giả E. Kerns & L. Di (*Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization*, Elsevier, 1st ed, 2008), chapter 34 và các tham khảo viện dẫn trong đó.

Hợp chất có công thức 1:



trong đó,

R¹ là phenyl, được thế bằng CN và được thế bằng nhóm thế thứ hai R^{1.1},

R¹ được chọn từ nhóm gồm

-CH₂OH, -CH(CH₃)OH, -C(CH₃)₂OH, -SO₂-CH₂CH₃, -SO₂-CH₃, -SO₂-CH₂CH₂-OCH₃, -SO₂-CH₂CH₂-OH, -SO₂-CH₂CH₂CH₂-OH và -SO-CH₂CH₃, -SO-CH₃,

R² là phenyl hoặc pyridyl, mỗi một vòng được thế bằng R^{2.1},

R^1 được chọn từ nhóm gồm CF_3 , CHF_2 , Br và Cl,

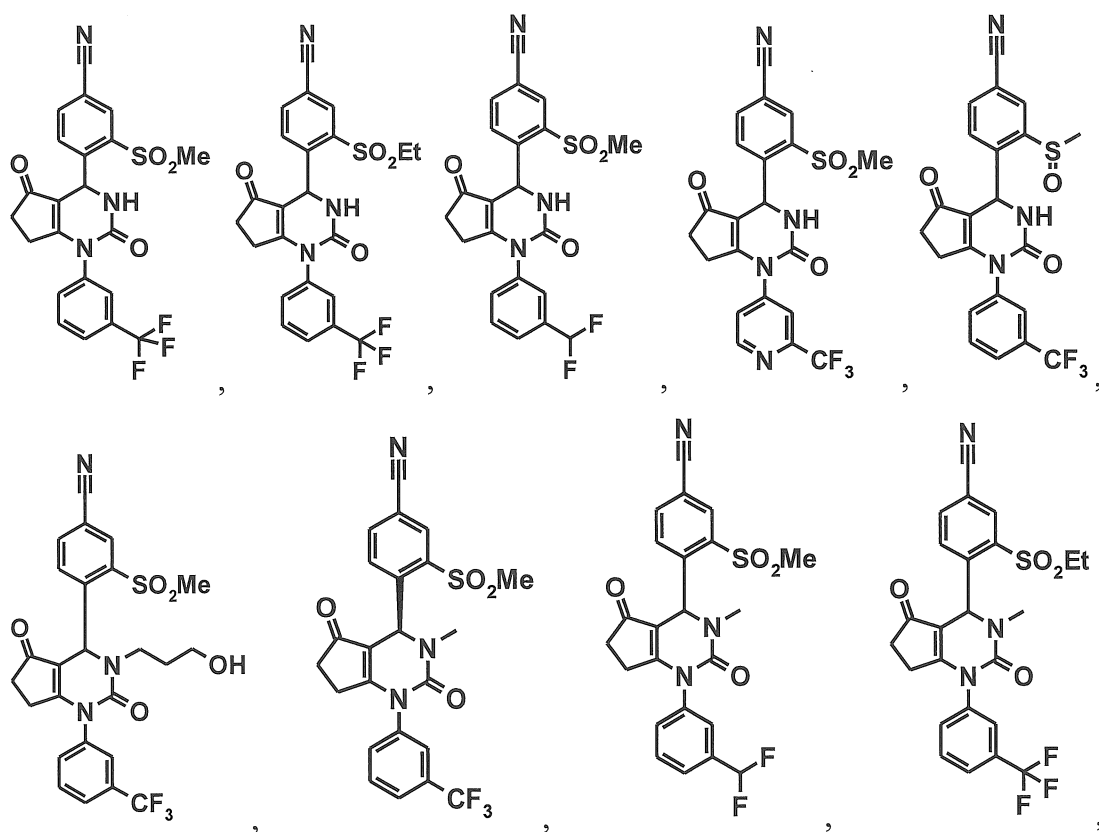
R^1 được chọn từ nhóm bao gồm

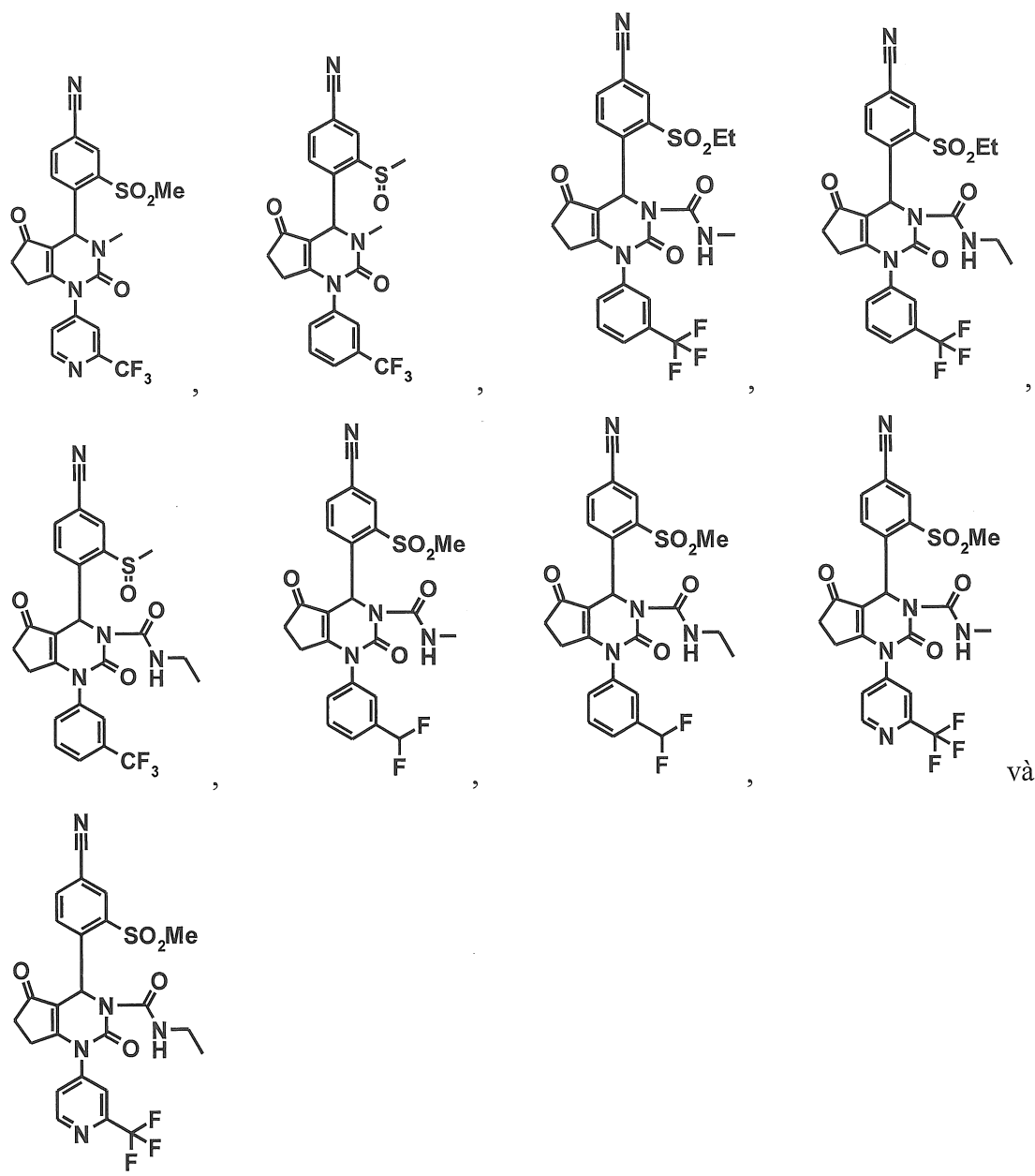
H, CH_3 , $-CO-NH-CH_3$, $-CO-NH-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2-OH$, $-CH_2CH_2CH_2-OH$, và

$-CH_2$ -oxetan

hoặc các chất đồng phân quang học và hình học, solvat, hydrat hoặc muối, tốt hơn là muối được dụng của nó,

với điều kiện là, hợp chất có công thức 1 không phải là hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm





Mô tả chi tiết sáng chế

Các thuật ngữ và định nghĩa được sử dụng

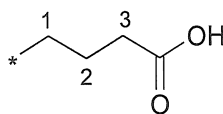
Các thuật ngữ không được xác định cụ thể ở đây nên lấy nghĩa được gán cho chúng bởi một người có kỹ năng trong lĩnh vực theo bậc lộ và ngữ cảnh. Tuy nhiên, theo sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi được xác định ngược lại, các thuật ngữ sau đây có ý nghĩa được chỉ rõ và những quy ước sau đây được tuân thủ.

Trong các nhóm, các gốc hoặc các phần định nghĩa dưới đây, số lượng nguyên tử cacbon thường được xác định ở trước nhóm, ví dụ, C₁₋₆-alkyl có nghĩa là nhóm hoặc gốc alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

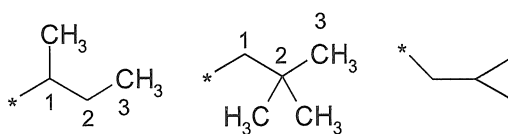
Nói chung trong các nhóm đơn như HO, H₂N, S(O), S(O)₂, NC (xyano), HOOC, F₃C hoặc nhóm tương tự, người có kỹ năng có thể thấy (các) điểm liên kết gốc với phân tử từ các hóa trị tự do của bản thân nhóm. Đối với các nhóm kết hợp gồm hai hoặc nhiều phân nhóm, phân nhóm gọi tên cuối cùng là điểm liên kết gốc, ví dụ, nhóm thế "aryl-C₁₋₃-alkyl" nghĩa là nhóm aryl mà được liên kết với nhóm C₁₋₃-alkyl, nhóm này được liên kết với nhân hoặc với nhóm mà nhóm thế được liên kết với nó.

Nếu hợp chất theo sáng chế được mô tả ở dạng tên hóa học và dạng công thức, trong trường hợp có bất kỳ sự không nhất quán nào, thì công thức chiếm ưu thế. Ký hiệu dấu sao có thể được sử dụng trong các công thức phụ để chỉ liên kết mà liên kết này được kết nối với phân tử lõi khi được xác định.

Ví dụ, thuật ngữ "nhóm 3-cacboxypropyl" đại diện cho nhóm thế sau:



trong đó, nhóm cacboxy được gắn với nguyên tử cacbon thứ ba của nhóm propyl. Các thuật ngữ nhóm "1-metylpropyl-", "2,2-dimetylpropyl" hoặc nhóm "xyclopropylmetyl-" là các nhóm sau:



Ký hiệu sao có thể được sử dụng trong các công thức phụ để chỉ liên kết mà kết nối với phân tử lõi khi được xác định.

Nhiều thuật ngữ sau đây có thể được sử dụng lặp lại khi định nghĩa về công thức hoặc nhóm và trong mỗi trường hợp, có một trong số các ý nghĩa đưa ra ở trên, một cách độc lập với nhau.

Thuật ngữ "được thế" theo sử dụng ở đây, có nghĩa là bất kỳ một hoặc nhiều hydro trên nguyên tử xác định được thay thế bằng một phân tử lựa chọn từ nhóm xác định, với điều kiện hóa trị bình thường của nguyên tử xác định không được vượt quá và sự thế dẫn đến một hợp chất ổn định.

Cách diễn giải "phòng ngừa", "dự phòng", "điều trị dự phòng" hoặc "điều trị phòng ngừa" sử dụng ở đây cần được hiểu là đồng nghĩa và với nghĩa là, làm giảm nguy cơ phát triển một tình trạng đã nêu trước đó trong tài liệu này, nhất là ở bệnh nhân có nguy cơ cao về các tình trạng nêu trên hoặc tiền sử bệnh tương ứng, ví dụ, nguy cơ cao phát triển rối loạn chuyển hóa như bệnh tiểu đường hoặc béo phì hoặc rối loạn khác đã nêu ở đây. Do đó, cách diễn giải "phòng ngừa bệnh" theo sử dụng ở đây có nghĩa là việc quản lý và chăm sóc một cá thể có nguy cơ phát triển bệnh trước khi bệnh ập tới về mặt lâm sàng. Mục đích của phòng ngừa là chống lại sự phát triển bệnh, tình trạng hoặc rối loạn và bao gồm việc sử dụng các hợp chất hoạt tính để phòng ngừa hoặc làm chậm sự ập tới của triệu chứng hoặc biến chứng và để phòng ngừa hoặc làm chậm sự phát triển của bệnh, tình trạng hoặc rối loạn. Sự thành công của việc điều trị nêu trên được phản ánh về mặt thống kê bởi tần số mắc tình trạng nêu trên giảm ở một quần thể bệnh nhân có nguy cơ về tình trạng này so với quần thể bệnh nhân tương đương không được điều trị phòng ngừa.

Cách diễn giải "điều trị" hoặc "trị liệu" có nghĩa là điều trị cho bệnh nhân đã phát triển một hoặc nhiều tình trạng nêu trên ở dạng rõ ràng, cấp tính hoặc mãn tính, bao gồm cả điều trị triệu chứng để làm giảm các triệu chứng của một chỉ định cụ thể hoặc điều trị nguyên nhân để làm đảo ngược hoặc đảo ngược một phần tình trạng bệnh hoặc để làm chậm sự tiến triển của tình trạng chỉ định trong chừng mực có thể, tùy thuộc vào tình trạng và mức độ trầm trọng của tình trạng này. Do đó, cách diễn giải "điều trị bệnh" theo sử dụng ở đây có nghĩa là, việc quản lý và chăm sóc cho một bệnh nhân đã phát triển bệnh, tình trạng hoặc rối loạn. Mục đích của điều trị là chống lại bệnh, tình trạng hoặc rối loạn. Việc điều trị bao gồm bước sử dụng các hợp chất hoạt tính để loại trừ hoặc kiểm soát bệnh, tình trạng hoặc rối loạn cũng như để làm giảm các triệu chứng hoặc biến chứng kết hợp với bệnh, tình trạng hoặc rối loạn.

Trừ khi được chỉ ra cụ thể, trong toàn bộ phần mô tả và yêu cầu bảo hộ, một tên hoặc công thức hóa học xác định sẽ bao hàm cả các tautome và tất cả các chất đồng phân lập thể, quang học và hình học (ví dụ, các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang, các chất đồng phân E/Z, v.v.) và các chất triệt quang của chúng cũng như các hỗn hợp với tỷ lệ khác nhau của các chất đồng phân đối ảnh riêng biệt, hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang, hoặc hỗn hợp của dạng bất kỳ trong số các dạng nêu trên khi các chất đồng phân và các chất đồng phân đối ảnh như vậy tồn tại, cũng như các muối, bao gồm cả muối được dụng của chúng và các solvat của chúng, ví dụ như các hydrat bao gồm cả các solvat của các hợp chất tự do hoặc các solvat của muối của hợp chất.

Tất cả các dạng đồng phân (nhất là tất cả các dạng đồng phân lập thể, ví dụ, tất cả các dạng đồng phân không đối xứng, đồng phân đối ảnh, đồng phân không đối quang và dạng triệt quang, tất cả các dạng đồng phân hổ biến và đồng phân hình học) của hợp chất theo sáng chế được dự định trong sáng chế này, trừ khi chất đồng phân cụ thể được chỉ ra một cách cụ thể. Một cách rõ ràng, chất đồng phân mà có hiệu lực hơn và/hoặc hiệu quả hơn về mặt dược lý sẽ được ưu tiên hơn.

Có thể hiểu rằng, hợp chất theo sáng chế chứa ít nhất một nguyên tử cacbon được thể không đối xứng và do đó, có thể được tách ở dạng chất đồng phân đối ảnh tinh khiết hoặc ở dạng hỗn hợp triệt quang hoặc không triệt quang của cả hai chất đồng phân đối ảnh. Có thể hiểu rằng, một số hợp chất theo sáng chế chứa nhiều hơn một nguyên tử cacbon không đối xứng, tức là nhiều hơn một nguyên tử cacbon hoặc lưu huỳnh được thể không đối xứng và do đó, có thể được tách ở dạng các chất đồng phân không đối quang tinh khiết hoặc ở dạng hỗn hợp đồng phân không đối quang, cả ở dạng có hoạt tính quang hoặc dạng triệt quang.

Sáng chế dự định bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể, đặc biệt là các chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân đối ảnh đã nêu ở đây, ví dụ, ở dạng cơ bản tinh khiết, ở dạng được làm giàu (ví dụ, cơ bản không chứa bất kỳ hoặc toàn bộ các chất đồng phân đối ảnh và/hoặc các chất đồng phân không đối quang không mong muốn khác và/hoặc theo tỷ lệ kết hợp bất kỳ, bao gồm cả các dạng triệt quang, cũng như các muối của chúng).

Nói chung, các chất đồng phân lập thể cơ bản tinh khiết có thể thu được theo các nguyên lý tổng hợp đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực, ví dụ, bằng kỹ thuật tách các hỗn hợp tương ứng, bằng cách sử dụng các nguyên liệu khởi đầu tinh khiết về mặt hóa học lập thể và/hoặc bằng kỹ thuật tổng hợp lập thể chọn lọc. Trong lĩnh vực, đã biết về cách làm thể nào để điều chế các dạng có hoạt tính quang, như bằng cách tách các dạng triệt quang hoặc bằng cách tổng hợp, ví dụ, khởi đầu từ các nguyên liệu khởi đầu hoạt quang và/hoặc bằng cách sử dụng các chất phản ứng không đối xứng.

Các hợp chất tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh theo sáng chế này hoặc các hợp chất trung gian có thể được điều chế thông qua kỹ thuật tổng hợp không đối xứng, ví dụ bằng cách điều chế và sau đó, tách các hợp chất đồng phân không đối quang hoặc các hợp chất trung gian thích hợp mà chúng có thể được tách bằng các phương pháp đã biết (ví dụ, bằng kỹ thuật tách hoặc kết tinh sắc ký) và/hoặc bằng cách sử dụng các chất phản ứng không đối xứng, như nguyên liệu khởi đầu không đối xứng, chất xúc tác không đối xứng hoặc các chất phụ gia không đối xứng.

Ngoài ra, người có kỹ năng trong lĩnh vực đã biết cách làm thế nào để điều chế hợp chất tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh từ các hỗn hợp triệt quang tương ứng, như bằng kỹ thuật tách sắc ký các hỗn hợp triệt quang tương ứng trên các pha tĩnh không đối xứng; hoặc bằng cách tách hỗn hợp triệt quang nhờ sử dụng chất tách thích hợp, ví dụ, thông qua việc tạo ra muối đồng phân không đối quang của hợp chất triệt quang với các axit hoặc bazơ hoạt quang, sau đó tách các muối và giải phóng hợp chất mong muốn ra khỏi muối; hoặc bằng kỹ thuật dẫn xuất hóa các hợp chất triệt quang tương ứng với các chất phản ứng phụ gia không đối xứng hoạt quang, sau đó tách chất đồng phân không đối quang và loại bỏ nhóm phụ không đối xứng; hoặc bằng kỹ thuật tách động lực chất triệt quang (ví dụ, bằng kỹ thuật tách enzym); bằng kỹ thuật kết tinh chọn lọc chất đồng phân đối ảnh từ khối kết tập của các tinh thể đồng phân đối hình trong các điều kiện thích hợp; hoặc bằng kỹ thuật kết tinh (phân đoạn) từ dung môi thích hợp với sự có mặt của chất phụ gia không đối xứng hoạt quang.

Thuật ngữ halogen thường để chỉ flo, clo, brom và iot.

Theo sử dụng ở đây, thuật ngữ "tiền dược chất" để chỉ (i) dạng bất hoạt của một thuốc mà thuốc này thực hiện các tác dụng của nó sau các quá trình chuyển hóa bên

trong cơ thể chuyển hóa nó thành dạng có thể sử dụng được hoặc dạng hoạt tính hoặc (ii) một chất mà chất này làm nảy sinh sản phẩm chuyển hóa có hoạt tính dược lý, mặc dù bản thân nó không có hoạt tính (tức là một tiền chất bất hoạt).

Thuật ngữ "tiền dược chất" hoặc "dẫn xuất tiền dược chất" có nghĩa là dẫn xuất, chất mang hoặc tiền chất liên kết theo kiểu đồng hóa trị của hợp chất gốc hoặc dược chất thuốc hoạt tính mà nó ít nhất trải qua một sự chuyển dạng sinh học nào đó trước khi thể hiện (các) tác dụng dược lý của nó. Các tiền dược chất như vậy có các nhóm các thể tách ra được về theo cách chuyển hóa hoặc theo cách khác, có thể chuyển đổi được và được chuyển dạng nhanh chóng *in vivo* để tạo ra hợp chất gốc, ví dụ, bằng quá trình thủy phân trong máu hoặc bằng cách kích hoạt thông qua phản ứng oxy hóa như trong trường hợp các nhóm thioete. Các tiền dược chất phổ biến nhất bao gồm este và các chất tương tự amit của hợp chất gốc. Tiền dược chất được phối chế với các mục đích cải thiện độ ổn định hóa học, cải thiện khả năng chấp nhận và tính tuân thủ của bệnh nhân, cải thiện sinh khả dụng, kéo dài thời gian tác động, cải thiện khả năng chọn lọc của cơ quan, cải thiện công thức phối chế (ví dụ, độ hòa tan trong nước tăng lên), và/hoặc giảm các tác dụng phụ (ví dụ, độc tính). Nói chung, bản thân các tiền dược chất có hoạt tính sinh học yếu hoặc không có hoạt tính sinh học và ổn định trong các điều kiện thường. Tiền dược chất có thể được điều chế một cách dễ dàng từ các hợp chất gốc sử dụng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực, như các phương pháp được mô tả trong tài liệu A Textbook of Drug Design and Development, Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard (eds.), Gordon & Breach, 1991, particularly Chapter 5: "Design and Applications of Prodrugs"; Design of Prodrugs, H. Bundgaard (ed.), Elsevier, 1985; Prodrugs: Topical and Ocular Drug Delivery, K.B. Sloan (ed.), Marcel Dekker, 1998; Methods in Enzymology, K. Widder *et al.* (eds.), Vol. 42, Academic Press, 1985, particularly pp. 309-396; Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5th Ed., M. Wolff (ed.), John Wiley & Sons, 1995, particularly Vol. 1 and pp. 172-178 and pp. 949-982; Pro-Drugs as Novel Delivery Systems, T. Higuchi and V. Stella (eds.), Am. Chem. Soc., 1975; Bioreversible Carriers in Drug Design, E.B. Roche (ed.), Elsevier, 1987, toàn bộ nội dung của mỗi tài liệu nêu trên được kết hợp tham khảo trong tài liệu này.

Thuật ngữ "tiền dược chất được dụng" theo sử dụng ở đây có nghĩa là tiền dược chất của hợp chất theo sáng chế mà nó, trong phạm vi đánh giá y tế thích hợp, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với các mô của người và động vật bậc thấp mà không gây ra độc tính, kích thích, phản ứng dị ứng quá mức và tương tự, tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý và hữu hiệu cho việc sử dụng dự định của chúng, cũng như các dạng ion lưỡng tính, trong trường hợp có thể.

Thuật ngữ "dược dụng" được dùng ở đây để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, chế phẩm và/hoặc các dạng liều mà, trong phạm vi của đánh giá y tế thích hợp, thích hợp để dùng tiếp xúc với mô người và động vật mà không gây độc hại, kích ứng, phản ứng dị ứng quá mức hoặc không gây ra vấn đề hoặc biến chứng khác và tương xứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ hợp lý.

Theo sử dụng ở đây, "muối dược dụng" được dùng để chỉ các dẫn xuất của các hợp chất được bộc lộ ở đây, trong đó hợp chất gốc được cải biến bằng cách tạo ra các muối axit hoặc bazơ của nó. Ví dụ về các muối dược dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các muối axit vô cơ hoặc hữu cơ của các gốc bazơ như các amin; các muối kiềm hoặc hữu cơ của các gốc axit như các axit cacboxylic; và muối tương tự. Ví dụ, các muối như vậy bao gồm các muối từ amoniac, L-arginin, betain, benetamin, benzathin, canxi hydroxit, cholin, deanol, dietanolamin (2,2'-iminobis(etanol)), dietylamin, 2-(dietylamin)-etanol, 2-aminoetanol, etylendiamin, N-etyl-glucamin, hydrabamin, 1H-imidazol, lysin, magie hydroxit, 4-(2-hydroxyetyl)-morpholin, piperazin, kali hydroxit, 1-(2-hydroxyetyl)-pyrolidin, natri hydroxit, trietanolanin (2,2',2''-nitritotris(etanol)), trometamin, kẽm hydroxit, axit axetic, axit 2.2-diclo-axetic, axit adipic, axit alginic, axit ascorbic, axit L-aspartic, axit benzensulfonic, axit benzoic, axit 2,5-dihydroxybenzoic, axit 4-axetamido-benzoic, axit (+)-camphoric, axit (+)-camphor-10-sulfonic, axit cacbonic, axit xinnamic, axit xitric, axit xyclamic, axit decanoic, axit dodexylsulfuric, axit etan-1,2-disulfonic, axit etansulfonic, axit 2-hydroxy-etansulfonic, axit etylendiamintetraaxetic, axit formic, axit fumaric, axit galactaric, axit gentisic, axit D-glucoheptonic, axit D-gluconic, axit D-glucuronic, axit glutamic, axit glutaric, axit 2-oxo-glutaric, axit glyxerophosphoric, glyxin, axit glycolic, axit hexanoic, axit hippuric, axit hydrobromic, axit clohydric, axit isobutyric, axit DL-

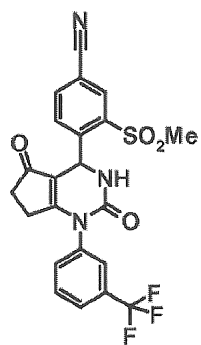
lactic, axit lactobionic, axit lauric, lysin, axit maleic, axit (-)-L-malic, axit malonic, axit DL-mandelic, axit metansulfonic, axit galactaric, axit naphtalen-1,5-disulfonic, axit naphtalen-2-sulfonic, axit 1-hydroxy-2-naphthoic, axit nicotinic, axit nitric, axit octanoic, axit oleic, axit orotic, axit oxalic, axit palmitic, axit pamoic (axit embonic), axit phosphoric, axit propionic, axit (-)-L-pyroglutamic, axit salixylic, axit 4-amino-salixylic, axit sebacic, axit stearic, axit succinic, axit sulfuric, axit tannic, axit (+)-L-tartaric, axit thioxyanic, axit p-toluensulfonic và axit undexylenic. Các muối được dùng khác có thể được tạo ra nhờ các cation từ các kim loại như nhôm, canxi, lithi, magie, kali, natri, kẽm và các kim loại tương tự. (Tương tự, xem trong tài liệu Pharmaceutical salts, Birge, S.M. et al., J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19).

Các muối được dùng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ hợp chất gốc mà chứa gốc axit hoặc bazơ bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nói chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho các dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng đủ của bazơ hoặc axit thích hợp trong nước hoặc trong chất pha loãng hữu cơ như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril, hoặc hỗn hợp của chúng.

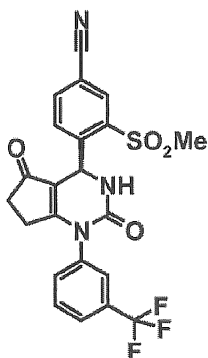
Các muối của các axit khác các axit được đề cập trên đây mà, ví dụ hữu dụng trong tinh chế hoặc tách các hợp chất của sáng chế (ví dụ các muối triflo axetat), cũng là một phần của sáng chế.

Với thuật ngữ "halo" được bổ sung vào nhóm "alkyl", "alkylen" hoặc "xycloalkyl" (no hoặc không no) là nhóm alkyl hoặc xycloalkyl, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro được thay thế bằng nguyên tử halogen được chọn từ trong số flo, clo hoặc brom, tốt hơn là flo và clo, tốt nhất là flo. Các ví dụ bao gồm: $\text{H}_2\text{FC-}$, $\text{HF}_2\text{C-}$, $\text{F}_3\text{C-}$

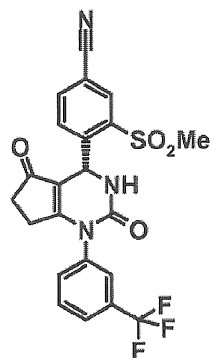
Với điều kiện rằng, hợp chất có công thức 1 không phải là hợp chất được chọn từ nhóm nêu trên cụ thể có nghĩa là, hợp chất có công thức 1 không phải là hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm



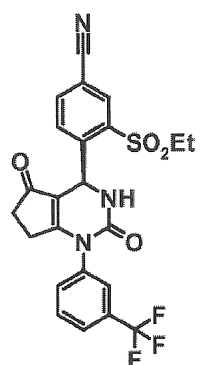
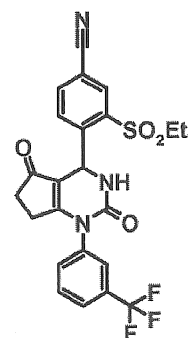
(chất triệt quang) ,



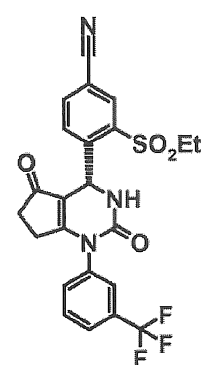
,



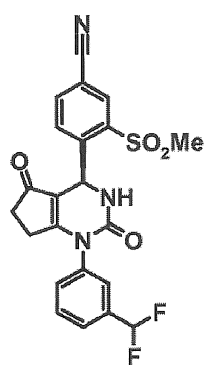
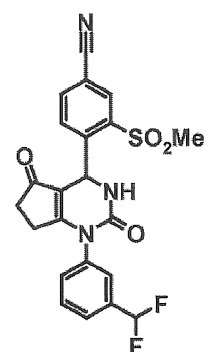
, (Chất triệt quang) ,



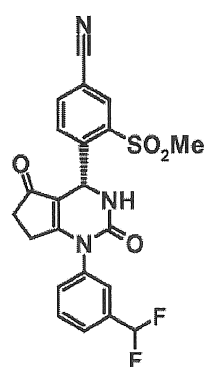
,



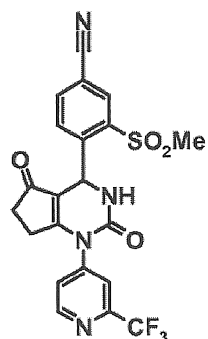
, (Chất triệt quang) ,



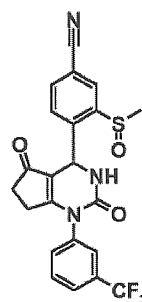
,



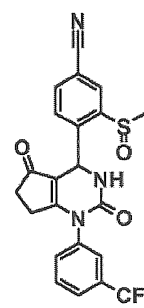
, (Chất triệt quang),

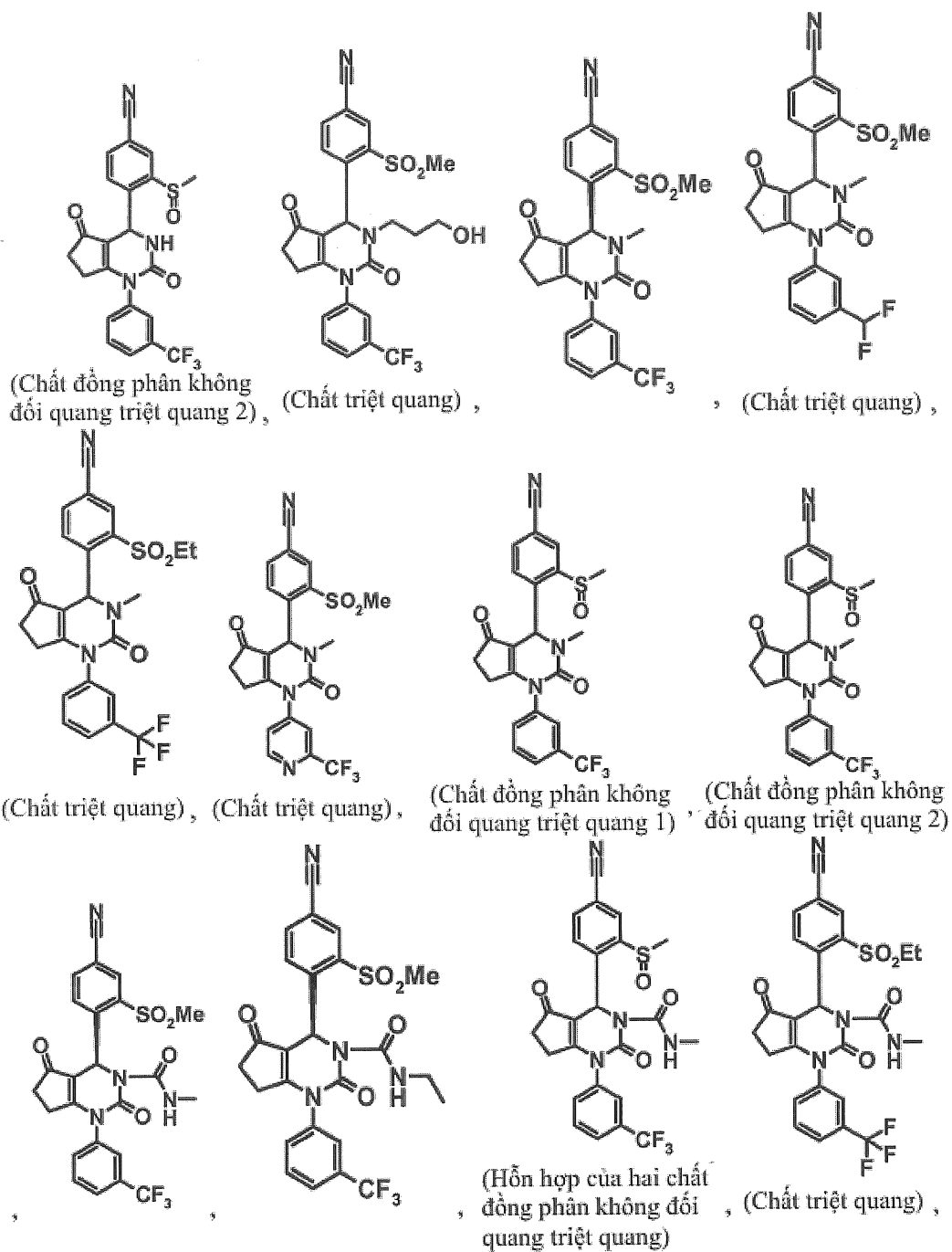


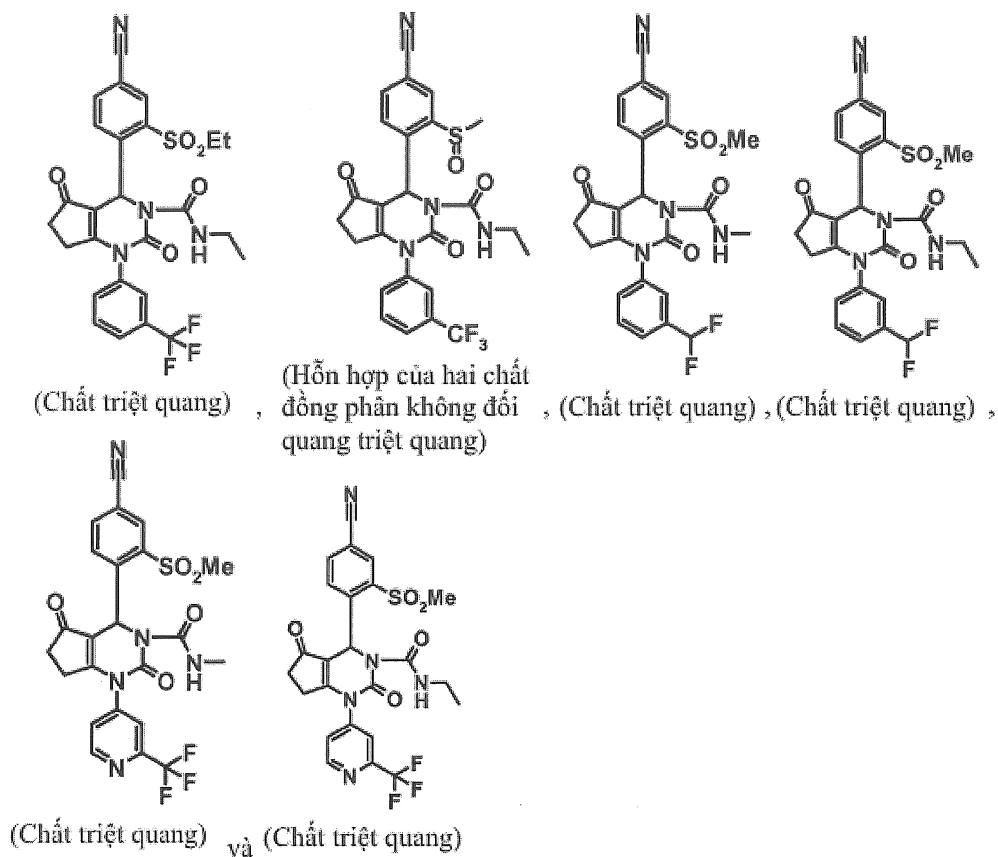
(Hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang triệt quang) ,



(Chất đồng phân không đối quang triệt quang 1),







các nhóm này được bộc lộ trong đơn yêu cầu cấp patent châu Âu số 13154256.5.

Các phương án của sáng chế

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó

R^1 là phenyl, được thế bằng CN và được thế bằng nhóm thế thứ hai $R^{1.1}$,

$R^{1.1}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$,

R^2 là phenyl được thế bằng $R^{2.1}$,

$R^{2.1}$ được chọn từ nhóm bao gồm CF_3 và CHF_2 ,

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm H và CH_3 ,

hoặc muối được dựng của hợp chất này.

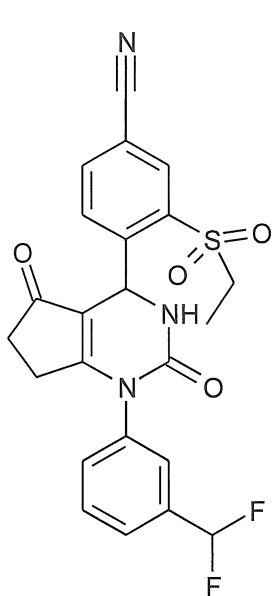
Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó

R^1 là phenyl, được thế bằng CN và được thế bằng nhóm thế thứ hai $R^{1.1}$,

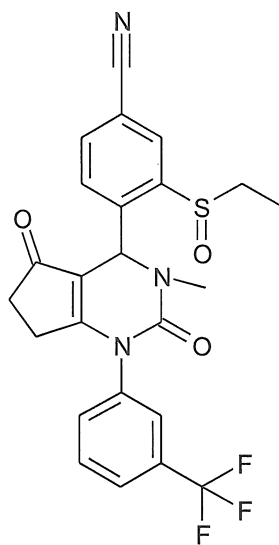
$R^{1.1}$ là $-CH_2OH$,

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

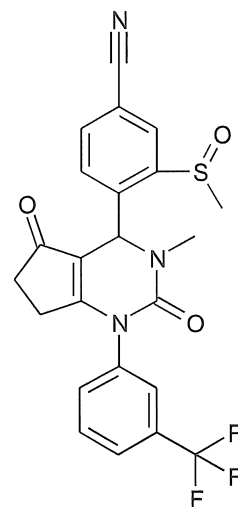
Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất từ 1.a đến 1.h.



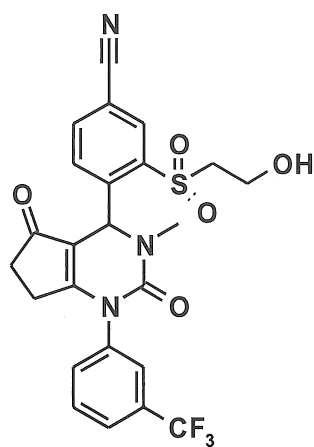
1.a



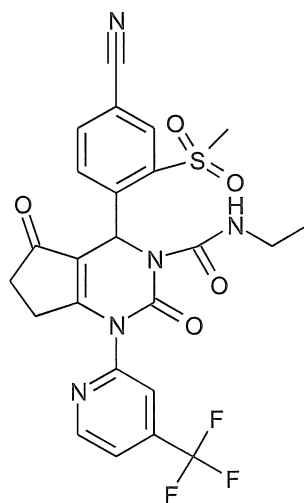
1.b



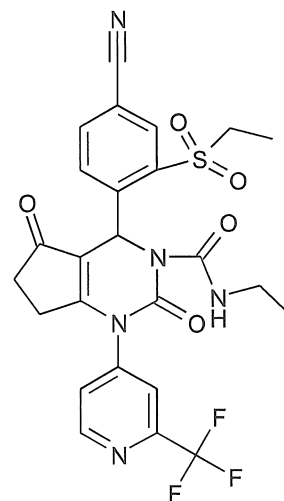
1.c



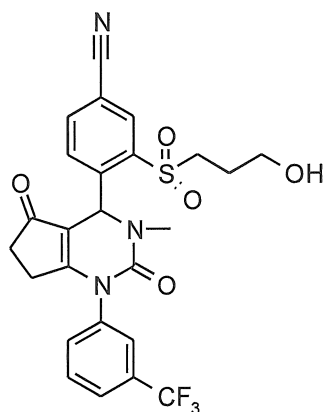
1.d



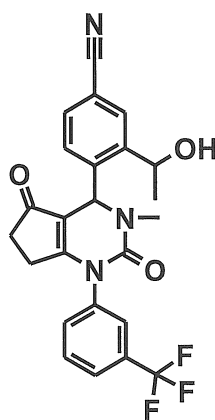
1.e



1.f



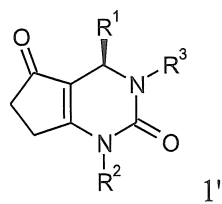
1.g



1.h

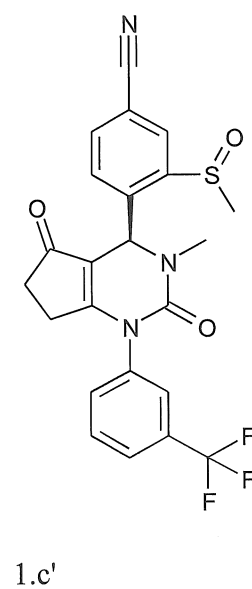
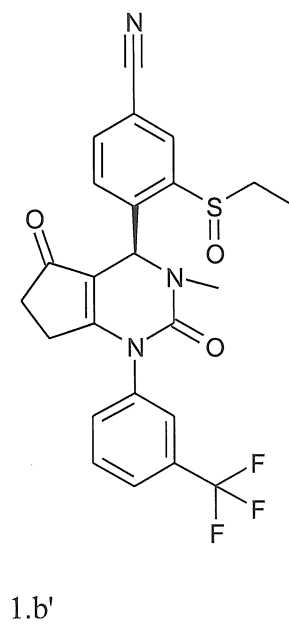
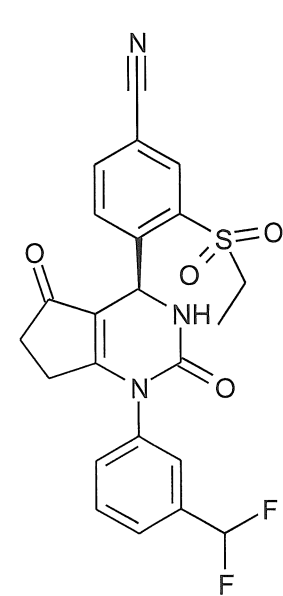
hoặc muối được dựng của hợp chất này.

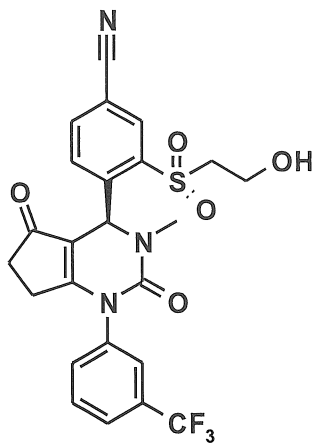
Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó cấu hình có công thức 1 là công thức 1'



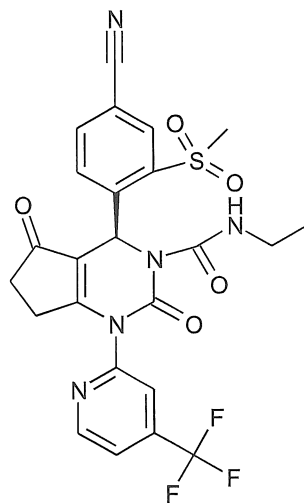
hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1' nêu trên, được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất từ 1.a' đến 1.h'

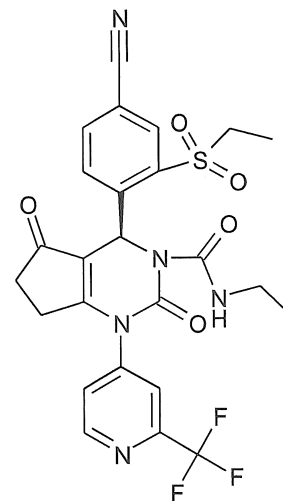




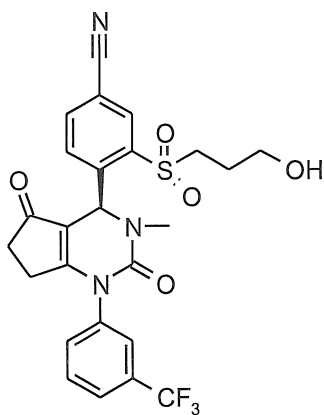
1.d'



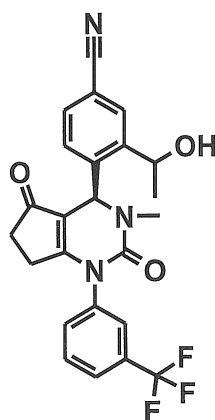
1.e'



1.f'



1.g'



1.h'

hoặc muối được dựng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^{1.1} là R^{1.1.a}, và

$R^{1.1.a}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó trong đó $R^{1.1}$ là $R^{1.1.b}$, và

$R^{1.1.b}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó trong đó $R^{1.1}$ là $R^{1.1.b}$, và

$R^{1.1.b}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_3$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OCH}_3$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó $R^{1.1}$ là $R^{1.1.c}$, và

$R^{1.1.c}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó $R^{1.1}$ là $R^{1.1.c}$, và

$R^{1.1.c}$ được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{SO}_2-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{SO}-\text{CH}_2\text{CH}_3$ và $-\text{SO}-\text{CH}_3$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^2 là $R^{2.a}$, và

$R^{2.a}$ là phenyl hoặc pyridyl, mỗi một vòng được thế bằng $R^{2.1}$,

$R^{2.1}$ được chọn từ nhóm bao gồm CF_3 , CHF_2 , Br và Cl

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^2 là $R^{2.b}$, và

$R^{2.b}$ là phenyl, được thế bằng $R^{2.1}$,

$R^{2.1}$ được chọn từ nhóm bao gồm CF_3 và CHF_2

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^2 là $R^{2.c}$, và

$R^{2.c}$ là pyridyl, được thế bằng $R^{2.1}$,

$R^{2.1}$ được chọn từ nhóm bao gồm CF_3 và CHF_2

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó $R^{2.1}$ là CF_3

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó $R^{2.1}$ là CHF_2

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^3 là $R^{3.a}$ và

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm H, CH_3 , $-CO-NH-CH_3$, $-CO-NH-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2-OH$, và $-CH_2CH_2CH_2-OH$ và $-CH_2-oxetan$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^3 là $R^{3.b}$ và

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm H, CH_3 , $CO-NH-CH_3$, $-CO-NH-CH_2CH_3$, và $-CH_2CH_2CH_2-OH$

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó R^3 là $R^{3.c}$ và

R^1 được chọn từ nhóm bao gồm H và CH_3

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó các hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm các ví dụ A.1A, A.2, A.3, B.1.2B, B.1.3A, C.1B, C.2A, C5.1, C.5.2, D.1A, D.3B, D.4.1A, D.4.4, D.4.5 và D.5A

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó các hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm các ví dụ A.2, A.3, B.1.2B, B.1.3A, C.1B, C.2A, C5.1, C.5.2, D.1A, D.3B, D.4.1A, D.4.4, D.4.5 và D.5A

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó các hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm các ví dụ A.1A, A.3, B.1.2B, B.1.3A, C.1B, C.2A, C5.1, C.5.2, D.4.1A, D.4.5 và D.5A

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Được thể hiện minh họa là các hợp chất có công thức 1 nêu trên, trong đó các hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm các ví dụ A.3, B.1.2B, B.1.3A, C.1B, C.2A, C5.1, C.5.2, D.4.1A, D.4.5 và D.5A

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

Bất kỳ và mỗi một định nghĩa khác trong số các định nghĩa về R^1 , $R^{1.1}$, $R^{1.1.a}$, $R^{1.1.b}$, $R^{1.1.c}$, R^2 , $R^{2.a}$, $R^{2.b}$, $R^{2.c}$, $R^{2.1}$, R^3 , $R^{3.a}$, $R^{3.b}$ và $R^{3.c}$ có thể được kết hợp với nhau.

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 nêu trên, để sử dụng làm thuốc.

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 nêu trên, để sử dụng làm thuốc trong điều trị các bệnh hen và dị ứng, các bệnh viêm dạ dày - ruột, bệnh viêm cầu thận, các bệnh bạch cầu ưa eosin, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, nhiễm trùng do các vi khuẩn gây bệnh và bệnh viêm khớp dạng thấp.

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 nêu trên, để sử dụng làm thuốc trong điều trị các bệnh bạch cầu trung tính, bệnh xơ nang (CF), chứng giãn phế quản không có xơ hóa kén, xơ hóa phổi tự phát, viêm mạch liên quan đến kháng thể ANCA, ung thư phổi, chứng giãn phế quản không xơ hóa kén, khí phế thũng, viêm phế quản mãn tính, tổn thương phổi cấp tính (ALI), hội chứng suy hô hấp cấp tính (ARDS), tăng áp phổi, tăng áp lực động mạch phổi (PAH) và bệnh thiếu men Alpha-1-antitrypsin (AATD).

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 nêu trên, để sử dụng làm thuốc trong điều trị béo phì và bệnh viêm liên quan, chứng kháng insulin, bệnh tiểu đường, bệnh gan nhiễm mỡ và gan thâm mỡ.

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 nêu trên, để sử dụng làm thuốc trong điều trị tổn thương não do chấn thương, hình thành động mạch chủ bụng và bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ (GvHD).

Phương án khác theo sáng chế đề cập đến dược phẩm, chứa một hoặc nhiều hợp chất có công thức 1 nêu trên hoặc muối có hoạt tính dược của nó.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa bệnh, trong đó chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính có lợi ích trị liệu, phương pháp này bao gồm bước sử dụng một lượng có tác dụng điều trị hoặc phòng ngừa của hợp chất có công thức 1 nêu trên cho bệnh nhân cần điều trị hoặc phòng ngừa.

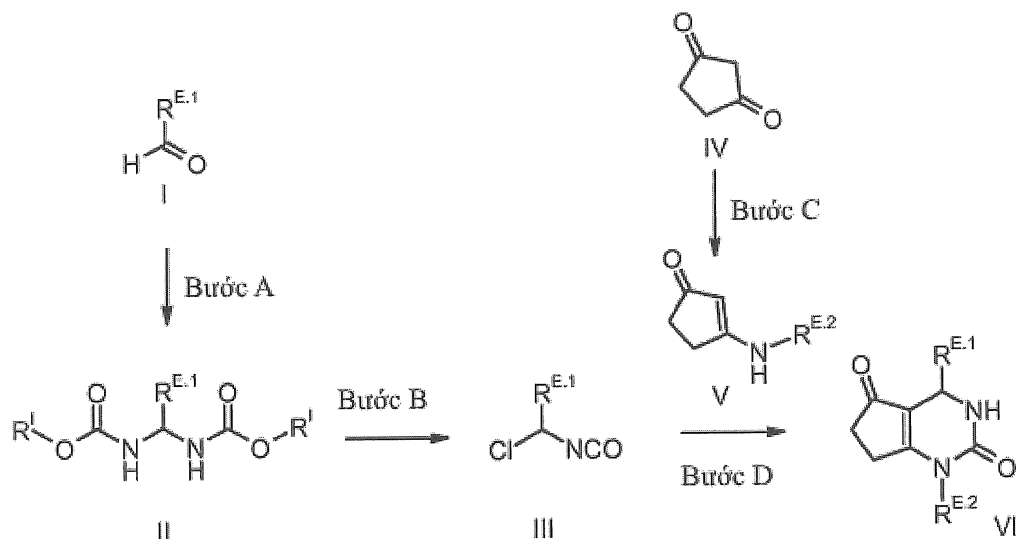
Phương án khác theo sáng chế đề cập đến dược phẩm mà ngoài hợp chất có công thức 1 nêu trên, còn chứa hợp chất có hoạt tính dược lý được chọn từ nhóm bao gồm các chất hướng giao cảm (betamimetic), chất kháng cholin (anticholinergic), corticosteroid, chất ức chế PDE4, chất đối kháng LTD4, chất ức chế EGFR, chất ức chế Cathepsin C, chất ức chế CRTH2, chất ức chế 5-LO, chất đối kháng thụ thể Histamin và chất ức chế SYK, mà cả hỗn hợp của hai hoặc ba hoạt chất.

Điều chế

Hợp chất theo sáng chế và các hợp chất trung gian của chúng có thể thu được sử dụng các phương pháp tổng hợp đã biết đối với một người có kỹ năng trong lĩnh vực và được mô tả trong tài liệu về tổng hợp hữu cơ. Các hợp chất tốt hơn thu được theo cách tương tự như các phương pháp điều chế được giải thích đầy đủ hơn sau đây, đặc biệt là như được mô tả trong phần thực nghiệm. Trong một số trường hợp, thứ tự thực hiện các bước phản ứng có thể thay đổi. Các biến thể về phương pháp phản ứng mà đã biết đối với một người có kỹ năng trong lĩnh vực nhưng không được mô tả chi tiết ở đây cũng có thể được sử dụng. Các quy trình chung để điều chế hợp chất theo sáng chế sẽ trở nên rõ ràng đối với một người có kỹ năng trong lĩnh vực nghiên cứu các sơ đồ sau. Nguyên liệu khởi đầu có sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu hoặc ở đây hoặc có thể được điều chế theo cách tương tự hoặc giống hệt. Nhóm chức bất kỳ trong các nguyên liệu khởi đầu hoặc các hợp chất trung gian có thể được bảo vệ sử dụng các nhóm bảo vệ thông thường. Các nhóm bảo vệ này có thể lại được tách ra ở giai đoạn thích hợp trong trình tự phản ứng sử dụng các phương pháp đã biết đối với một người có kỹ năng trong lĩnh vực.

Các hợp chất theo sáng chế VI có thể đạt được sử dụng con đường tổng hợp được minh họa trong sơ đồ 1; R^I , $R^{E.1}$, $R^{E.2}$ có ý nghĩa như được xác định ở trên và dưới đây.

Sơ đồ 1



Các hợp chất trung gian II (Bước A, hợp chất trung gian I $\rightarrow$ hợp chất trung gian II) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Vovk et al. (*Synlett* 2006, 3, 375-378) hoặc trong tài liệu PL2004/369318, bằng cách gia nhiệt aldehyt béo hoặc thơm I với cacbamat, ví dụ metyl cacbamat, etyl cacbamat (uretan) hoặc benzyl cacbamat với sự có mặt của axit Brønsted mạnh hoặc axit Lewis, ví dụ axit sulfuric, hydro clorua, axit *p*-toluensulfonic, Amberlyst 15, axit tetrafloboric, axit trifloaxetic hoặc bo triflorua, không cần dung môi ở dạng nóng chảy hoặc trong dung môi thích hợp, như benzen, toluen, axetonitril, dietyl ete, cloroform, anhydrit axetic hoặc các hỗn hợp của chúng. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn lần lượt nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến 160°C hoặc điểm sôi của dung môi, một cách riêng biệt. Phản ứng tốt hơn được thực hiện với etyl cacbamat nóng chảy làm chất phản ứng và lượng xúc tác của axit sulfuric đặc ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 140 đến 160°C không cần bất kỳ dung môi bổ sung nào.

Phản ứng clo hóa (Bước B, hợp chất trung gian II $\rightarrow$ hợp chất trung gian III) có thể được tiến hành thực hiện như được mô tả trong tài liệu của tác giả Vovk et al. (*Synlett* 2006, 3, 375-378) và Sinitsa et al. (*J. Org. Chem. USSR* 1978, 14, 1107) bằng cách gia nhiệt hợp chất trung gian II cùng với tác nhân clo hóa, ví dụ phospho pentaclohua, phosphoryl clorua hoặc sulfuryl clorua trong dung môi hữu cơ, ví dụ benzen hoặc toluen.

Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 50°C đến 150°C.

Theo cách khác, các hợp chất trung gian III có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Jochims et al. (*Chem. Ber.* 1982, 115, 860-870) bằng phản ứng α -halogen hóa của các isoxyanat béo, ví dụ benzyl isoxyanat, ví dụ sử dụng tác nhân brom hóa, ví dụ *N*-bromosuxinimit. Các isoxyanat có thể được tổng hợp như được mô tả trong tài liệu US6207665 và trong tài liệu của tác giả Charalambides et al. (*Synth. Commun.* 2007, 37, 1037-1044), bằng cách cho tiền chất amin phản ứng với phosgen.

Các hợp chất trung gian V (Bước C, hợp chất trung gian IV $\rightarrow$ các hợp chất trung gian V) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Chen et al. (*Synth. Commun.* 2010, 40, 2506-2510) và của tác giả Tietcheu et al. (*J. Heterocyclic Chem.* 2002, 39, 965-973) bằng các tiến hành phản ứng giữa xyclopentan-1,3-dion (IV) và một amin béo hoặc thơm với sự có mặt của chất xúc tác, ví dụ ytterbi triflat [$\text{Yb}(\text{OTf})_3$] hoặc axit, ví dụ hydro clorua, axit axetic hoặc axit *p*-toluensulfonic, tùy ý trong dung môi, ví dụ nước, axit axetic, axetonitril, benzen, toluen. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến 120°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

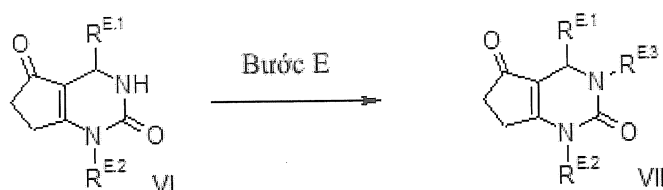
Theo cách khác, các hợp chất trung gian V có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Scott et al. (*J. Med. Chem.* 1993, 36, 1947-1955) bằng phản ứng ngưng tụ trực tiếp hợp chất 1,3-dicacbonyl với một amin béo hoặc thơm dưới điều kiện hồi lưu trong dung môi thích hợp, ví dụ benzen hoặc toluen với việc loại bỏ nước kiểu đồng sôi. Theo cách khác, các hợp chất trung gian V có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Mariano et al. (*J. Org. Chem.* 1984, 49, 220-228) bằng cách tiến hành phản ứng giữa một amin béo hoặc thơm với 3-clo-2-xyclopenten-1-on, hợp chất này có thể được điều chế từ xyclopentan-1,3-dion.

Hợp chất theo sáng chế (Bước D, các hợp chất trung gian III $\rightarrow$ hợp chất theo sáng chế VI) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Vovk et al. (*Synlett* 2006, 3, 375-378), Vovk et al. (*Russ. J. Org. Chem.* 2010, 46, 709-715) và tác giả Kushnir et al. (*Russ. J. Org. Chem.* 2011, 47, 1727-1732) bằng cách tiến hành phản ứng giữa hợp chất trung gian III với hợp chất trung gian V trong dung môi hữu cơ, ví

dịclometan, cloroform, benzen hoặc toluen. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C.

Các hợp chất theo sáng chế VII có thể đạt được thông qua con đường tổng hợp được mô tả trong sơ đồ 2; $R^{E.1}$, $R^{E.2}$, $R^{E.3}$ có ý nghĩa như được xác định ở trên và dưới đây.

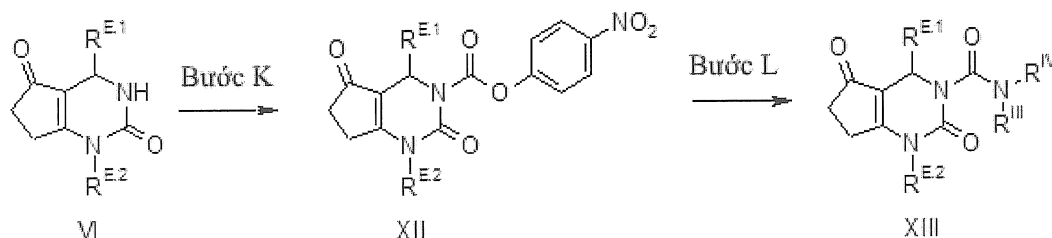
Sơ đồ 2



Các hợp chất theo sáng chế VII (Bước E, các hợp chất theo sáng chế VI → các hợp chất theo sáng chế VII, $R^{E.3}$ = alkyl hoặc alkyl được thế) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu WO04024700 bằng cách cho hợp chất theo sáng chế VI phản ứng với tác nhân alkyl hóa, ví dụ dialkyl sulfat, ví dụ dimetyl sulfat, alkyl halogenua, ví dụ metyl iodua hoặc alkyl sulfonylat, ví dụ benzyl tosylat, với sự có mặt của kiềm thích hợp, ví dụ natri hydrua, natri hydroxit, xesi cacbonat, lithi diisopropylamit, kali hexametyldisilazit, lithi hexametyldisilazit, chất phản ứng hữu cơ lithi, ví dụ *tert*-butyllithi hoặc chất phản ứng Grignard, ví dụ isopropylmagieclorua, trong dung môi hữu cơ, ví dụ tetrahydrofuran, *N,N*-dimetylformamit, axetonitril, 1,4-dioxan, dịclometan hoặc toluen. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C.

Các hợp chất theo sáng chế XIII có thể đạt được thông qua con đường tổng hợp được mô tả trong sơ đồ 3; R^{III} , R^{IV} , $R^{E.1}$, $R^{E.2}$ có ý nghĩa như được xác định ở trên và dưới đây.

Sơ đồ 3

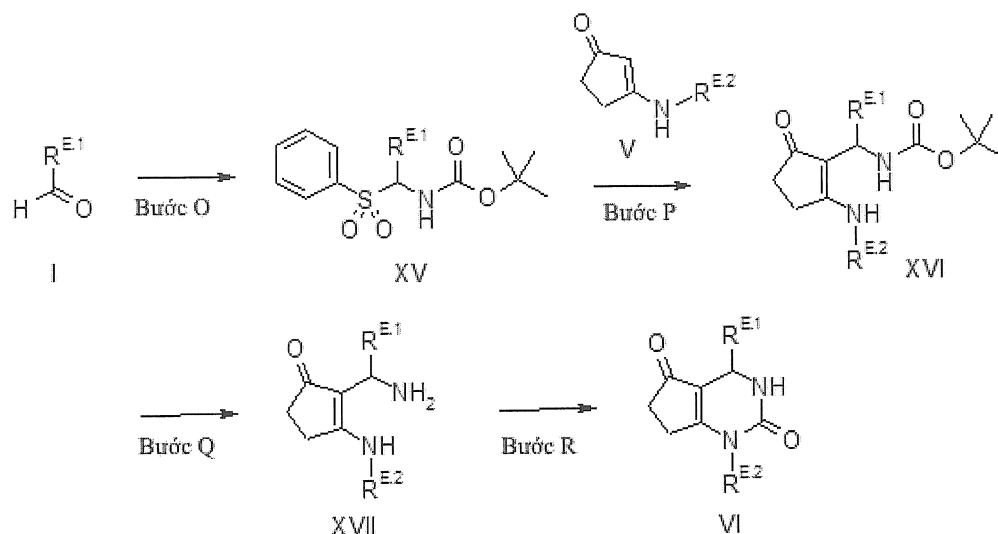


Các hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbammat XII (Bước K, các hợp chất theo sáng chế VI → các hợp chất trung gian XII) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu WO09080199, bằng cách cho hợp chất theo sáng chế VI phản ứng với 4-nitrophenyl cloroformat với sự có mặt của kiềm, ví dụ triethylamin, *N,N*-diisopropyletylamin hoặc *N*-metylmorpholin, tùy ý với sự có mặt của chất xúc tác, ví dụ 4-dimetylaminopyridin, trong dung môi hữu cơ, ví dụ diclometan, tetrahydrofuran, axetonitril hoặc *N,N*-dimetylformamit. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất theo sáng chế XIII (Bước L, các hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbammat XII → các hợp chất theo sáng chế XIII) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu WO09080199, bằng cách cho hợp chất trung gian XII phản ứng với amin $R^{III}NH_2$ hoặc $R^{III}R^{IV}NH$ trong dung môi hữu cơ, ví dụ diclometan, axetonitril, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, toluen hoặc *N,N*-dimetylformamit. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Ngoài con đường tổng hợp được mô tả trong sơ đồ 1, các hợp chất theo sáng chế VI cũng có thể đạt được sử dụng con đường tổng hợp được mô tả trong sơ đồ 4, $R^{E.1}$, $R^{E.2}$ có ý nghĩa như được xác định ở trên và dưới đây.

Sơ đồ 4



Các hợp chất trung gian XV (Bước O, hợp chất trung gian I $\rightarrow$ hợp chất trung gian XV) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Best et al. (*J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 18193-18196) hoặc trong tài liệu của tác giả Yang et al. (*Org. Synth.* 2009, 86, 11-17), bằng cách cho một aldehyt thơm I phản ứng với sulfinat thích hợp, ví dụ axit natri benzensulfinic và cacbamat thích hợp, ví dụ methyl cacbamat hoặc *tert*-butyl cacbamat, với sự có mặt của axit thích hợp, ví dụ axit formic, trong dung môi thích hợp, ví dụ tetrahydrofuran, etanol, metanol hoặc hỗn hợp của các dung môi, ví dụ tetrahydrofuran và nước. Theo cách khác, như được mô tả trong tài liệu của tác giả Reingruber et al. (*Adv. Synth. Catal.* 2009, 351, 1019-1024) hoặc trong tài liệu WO06136305, axit Lewis thích hợp, ví dụ trimetylsilyl clorua, có thể được sử dụng làm axit và axetonitril hoặc toluen có thể được sử dụng làm dung môi. Phản ứng diễn ra trong thời gian từ 1 đến 6 ngày. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất trung gian XVI (Bước P, hợp chất trung gian XV $\rightarrow$ hợp chất trung gian XVI) có thể được điều chế tương tự như phương pháp được mô tả trong phương pháp điều hợp chất theo sáng chế VI (Sơ đồ 1, Bước D, hợp chất trung gian III $\rightarrow$ hợp chất theo sáng chế VI), bằng cách cho hợp chất trung gian XV phản ứng với hợp chất trung gian V với sự có mặt của kiềm thích hợp, ví dụ natri hydrua hoặc natri *tert*-butoxit,

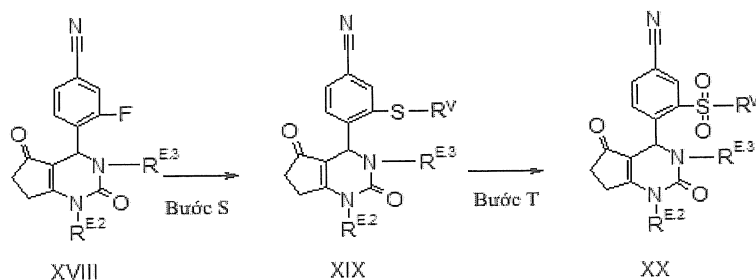
trong dung môi hữu cơ thích hợp, ví dụ tetrahydrofuran hoặc 2-metyltetrahydrofuran. Phản ứng diễn ra trong thời gian từ 1 đến 24 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất trung gian XVII (Bước Q, hợp chất trung gian XVI → hợp chất trung gian XVII) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian XVI phản ứng với axit thích hợp, ví dụ hydro clorua, trong dung môi thích hợp, ví dụ 1,4-dioxan. Phản ứng diễn ra trong thời gian từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến nhiệt độ trong phòng, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất theo sáng chế VI (Bước R, hợp chất trung gian XVII → hợp chất theo sáng chế VI) có thể được điều chế như được mô tả trong tài liệu của tác giả Csütörtöki et al. (*Tetrahedron Lett.* 2011, 67, 8564-8571) hoặc trong tài liệu WO11042145, bằng cách cho hợp chất trung gian XVII phản ứng với chất phản ứng thích hợp, ví dụ phosgen, triphosgen hoặc cacbonyl diimidazol, với sự có mặt của kiềm thích hợp, ví dụ trietylamin, *N,N*-diisopropyletylamin, pyridin hoặc natri cacbonat, trong dung môi thích hợp, ví dụ axetonitril, diclometan hoặc toluen. Phản ứng diễn ra trong thời gian từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, tốt nhất là nhiệt độ trong phòng.

Các hợp chất theo sáng chế XX có thể đạt được thông qua con đường tổng hợp được mô tả trong sơ đồ 5; R^V , $R^{E.2}$, $R^{E.3}$ có ý nghĩa như được xác định ở trên và dưới đây.

Sơ đồ 5



Các hợp chất trung gian XIX (Bước S, các hợp chất XVIII $\rightarrow$ các hợp chất XIX, $R^{E.3} = H$ hoặc alkyl) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất trung gian flo XVIII phản ứng với thiol $R^V\text{-SH}$ với sự có mặt của kiềm thích hợp, ví dụ natri hydrua, natri hydroxit, xesi cacbonat, lithi diisopropylamit, kali hexametyldisilazit, lithi hexametyldisilazit, chất phản ứng hữu cơ lithi, ví dụ *tert*-butyllithi hoặc chất phản ứng Grignard, ví dụ isopropylmagieclorua, trong dung môi hữu cơ, ví dụ *N,N*-dimetylformamit, tetrahydrofuran, axetonitril, 1,4-dioxan, diclometan hoặc toluen. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C .

Các hợp chất theo sáng chế XX có thể được điều chế bằng phản ứng oxy hóa của các hợp chất trung gian sulfua XIX (Bước T, các hợp chất trung gian XIX $\rightarrow$ các hợp chất theo sáng chế XX, $R^{E.3} = H$ hoặc alkyl) với tác nhân oxy hóa, ví dụ hydro peroxit, axit 3-clo-perbenzoic, axit periodic, natri periodat, kali permanganat, sản phẩm cộng ure-hydro peroxit, tùy ý với sự có mặt của chất xúc tác kim loại, trong dung môi thích hợp, ví dụ diclometan, cloroform, metanol, etanol, nước hoặc hỗn hợp của chúng. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến điểm sôi của dung môi được sử dụng.

Các hợp chất theo sáng chế mang nhóm sulfoxit có thể được điều chế bằng phản ứng oxy hóa của các hợp chất trung gian sulfua tương ứng với tác nhân oxy hóa, ví dụ hydro peroxit, axit 3-clo-perbenzoic, axit periodic, natri periodat, *tert*-butyl hydroperoxit, sản phẩm cộng ure-hydro peroxit, tùy ý với sự có mặt của chất xúc tác kim loại, ví dụ metyltrioxoreni, FeCl_3 , $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, các phức titan (IV), trong dung môi

thích hợp, ví dụ diclometan, cloroform, metanol etanol, nước hoặc hỗn hợp của chúng. Phản ứng diễn ra trong vòng từ 1 đến 72 giờ. Nhiệt độ phản ứng tốt hơn nằm trong khoảng từ nhiệt độ trong phòng đến điểm sôi của dung môi được sử dụng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các nhận xét sơ bộ

Thuật ngữ nhiệt độ trong phòng để chỉ nhiệt độ khoảng 20°C. Theo nguyên tắc, phổ ^1H NMR và/hoặc phổ khối đã thu được từ các hợp chất được điều chế. Thời gian duy trì xác định được đo trong các điều kiện sau (TFA: axit trifloaxetic, DEA: dietylamin, scCO_2 : cacbon dioxit siêu tới hạn):

Tên phương pháp:		V011_S01		
Cột:		XBridge C18, 4,6 x 30mm, 3,5 μm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, NH ₃ 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	97	3	5	60
0,2	97	3	5	60
1,6	0	100	5	60
1,7	0	100	5	60

Tên phương pháp:		V012_S01		
Cột:		XBridge C18, 4,6 x 30mm, 3,5µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	97	3	5	60
0,2	97	3	5	60
1,6	0	100	5	60
1,7	0	100	5	60

Tên phương pháp:		X012_S01		
Cột:		Xbridge BEH C18, 2,1 x 30mm, 1,7µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	99	1	1,6	60
0,02	99	1	1,6	60
1,00	0	100	1,6	60
1,10	0	100	1,6	60

Tên phương pháp:		X012_S02		
Cột:		Xbridge BEH C18, 2,1 x 30mm, 1,7µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	99	1	1,3	60
0,02	99	1	1,3	60
1,00	0	100	1,3	60
1,10	0	100	1,3	60

Tên phương pháp:		Z011_S03		
Cột:		XBridge C18, 3 x 30mm, 2,5µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, NH ₃ 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Tên phương pháp:		Z017_S04		
Cột:		ZORBAX™ SB-C ₁₈ , 3 x 30mm, 1,8μm		
Nhà cung cấp cột:		Agilent		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Tên phương pháp:		Z018_S04		
Cột:		Sunfire, 3 x 30 mm, 2,5μm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Tên phương pháp:		005_CA01		
Cột:		SunFire C18, 3,0 x 30mm, 2,5µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	98	2	2,0	60,0
1,2	0	100	2,0	60,0
1,4	0	100	2,0	60,0

Tên phương pháp:		005_CA07		
Cột:		SunFire C18, 3,0 x 30mm, 2,5µm		
Nhà cung cấp cột:		Waters		
Gradient/Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [H ₂ O, TFA 0,1%]	% dung môi [axetonitril]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]
0,0	95	5	1,5	60,0
1,3	0	100	1,5	60,0
1,5	0	100	1,5	60,0
1,6	95	5	1,5	60,0

Tên phương pháp:		I IA 20_MeOH_NH3			
Cột:		Chiralpak IA 4,6 x 250mm, 5µm			
Nhà cung cấp cột:		Daicel			
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đổi kháng [bar]
10 phút	20	80	4	40	150

Tên phương pháp:			I_IA_25_MeOH_NH3		
Cột:			Chiralpak IA 4,6 x 250mm, 5µm		
Nhà cung cấp cột:			Daicel		
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	25	75	4	40	150

Tên phương pháp:			I_IB_20_MeOH_DEA		
Cột:			Chiralpak IB 4,6 x 250mm, 5µm		
Nhà cung cấp cột:			Daicel		
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, DEA 0,2%]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	20	80	4	40	150

Tên phương pháp:			I_IB_20_MeOH_NH3		
Cột:			Chiralpak IB 4,6 x 250mm, 5µm		
Nhà cung cấp cột:			Daicel		
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	20	80	4	40	150

Tên phương pháp:				I_IC_25_MeOH_NH3	
Cột:				Chiralpak IC 4,6 x 250mm, 5µm	
Nhà cung cấp cột:				Daicel	
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	25	75	4	40	150

Tên phương pháp:				I_IC_30_MeOH_NH3	
Cột:				Chiralpak IC 4,6 x 250mm, 5µm	
Nhà cung cấp cột:				Daicel	
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	30	70	4	40	150

Tên phương pháp:				I_IC_40_MeOH_NH3	
Cột:				Chiralpak IC 4,6 x 250mm, 5µm	
Nhà cung cấp cột:				Daicel	
Gradient/ Dung môi Thời gian [phút]	% dung môi [MeOH, 20mM NH ₃]	% dung môi [scCO ₂]	Dòng chảy [ml/phút]	Nhiệt độ [°C]	Áp suất đối kháng [bar]
10 phút	40	60	4	40	150

Tổng hợp nguyên liệu khởi đầu

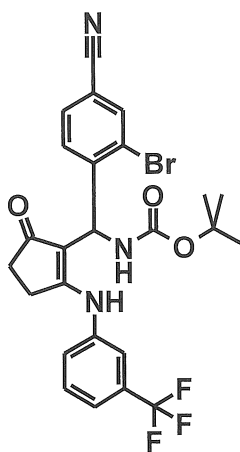
Các nguyên liệu khởi đầu sau được điều chế như được mô tả trong tài liệu viện dẫn:

3-(3-(Triflometyl)phenylamino)xylopent-2-enon: *Aust. J. Chem.* 2005, 58, 870-876.

Tổng hợp các hợp chất trung gian

Hợp chất trung gian A.1

tert-butyl este của axit {(2-bromo-4-xyano-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xylopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic



Bước 1:

tert-butyl este của axit [benzensulfonyl-(2-bromo-4-xyano-phenyl)-metyl]-cacbamic

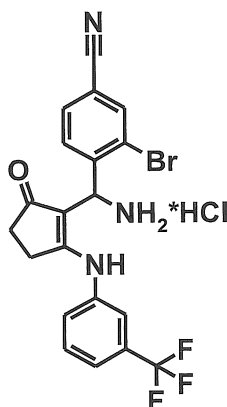
Axit formic (3,9mL, 104mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của *tert*-butyl cacbamat (1,90g, 16,2mmol), 2-bromo-4-xyanobenzaldehyt (CAS# 89891-69-0, 3,41g, 16,2mmol) và natri benzensulfinat (2,67g, 16,2mmol) trong hỗn hợp của THF (7,0mL) và nước (60mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 6 ngày. Nước (180mL) được bổ sung vào đó và chất kết tủa được lọc ra và được rửa bằng nước. Chất kết tủa được xử lý bằng *tert*-butyl metyl ete (30mL), và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 30 phút. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng *tert*-butyl metyl ete và làm khô. Hiệu suất: 3,35g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 451$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 0,66 phút (X012_S01).

Bước 2:

tert-butyl este của axit {(2-bromo-4-xyano-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xylopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic

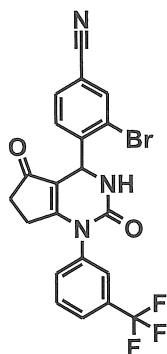
Natri hydrua (60% trong dầu khoáng, 360mg, 9,00mmol) được bổ sung theo các phần nhỏ vào hỗn hợp của 3-(3-(triflometyl)phenylamino)xylopent-2-enon (2,16g, 8,96mmol) và 2-metyltetrahydrofuran (30mL). Sau thời gian 30 phút, *tert*-butyl este của axit [benzensulfonyl-(2-bromo-4-xyano-phenyl)-metyl]-cacbamic (Bước 1, 3,35g, 7,43mmol) được bổ sung vào đó và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Nước được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Pha nước được chiết bằng etyl axetat và các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO_4 và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được xử lý bằng *tert*-butyl metyl ete và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 15 phút. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng *tert*-butyl metyl ete và làm khô. Hiệu suất: 3,18g. Phổ khối ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 550$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 0,73 phút (X012_S01).

Hợp chất trung gian A.2



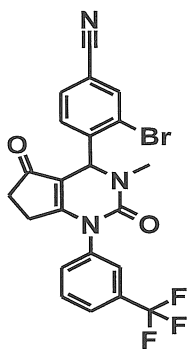
4-{Amino-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xylopent-1-enyl]-metyl}-3-bromo-benzonitril hydroclorua

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4M, 15,2mL, 61mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của *tert*-butyl este của axit {(2-bromo-4-xyano-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xylopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic (Hợp chất trung gian A.1, 6,71g, 12,2mmol) trong 1,4-dioxan (30mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ và sau đó, được làm lạnh trong chậu nước đá. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng axetonitril lạnh và dietyl ete và làm khô. Hiệu suất: 5,90g. Phổ khối ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 450$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 1,17 phút (V011_S01).

Hợp chất trung gian A.3

3-Bromo-4-[2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Trietylamin (4,11mL, 29,3mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-{amino-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-3-bromo-benzonitril hydroclorua (Hợp chất trung gian A.2, 28,5g, 58,6mmol) và 1,1'-cacbonyldiimidazol (11,9g, 73,2mmol) trong axetonitril (290mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Nước (1,5L) được bổ sung vào đó và chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và làm khô. Hiệu suất: 24,5g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 476$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 1,11 phút (V011_S01).

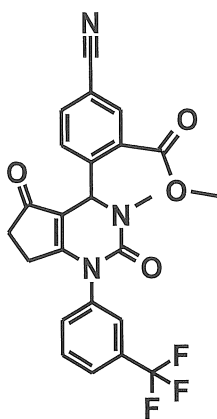
Hợp chất trung gian A.4

3-Bromo-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Metyliodua (3,61mL, 58,0mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 3-bromo-4-(2,5-dioxo-1-(3-(trifluorometyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-

yl)benzonitril (Hợp chất trung gian A.3, 23,0g, 48,3mmol) và xesi cacbonat (20,5g, 62,8mmol) trong DMF (230mL) và Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Nước và etyl axetat được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Pha hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO_4 và cô đặc. Hiệu suất: 24,0g. Phổ khối ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 490$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 1,18 phút (V011_S01).

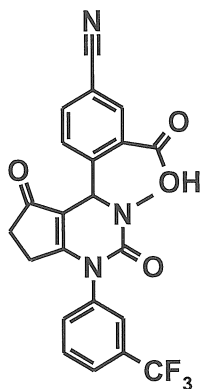
Hợp chất trung gian A.5



Metyl este của axit 5-xyano-2-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzoic

Dung dịch chứa 3-bromo-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril (Hợp chất trung gian A.4, 11,85g, 24,2mmol), 1,1-bis(diphenylphosphino)-feroxen (1,34g, 2,42mmol), paladi axetat (0,27g, 1,21mmol) và natri axetat (5,95g, 72,5mmol) được xử lý bằng cacbon monoxit tại áp suất 5 bar và nhiệt độ 100°C trong thời gian 40 giờ. Sau khi làm bay hơi các chất dễ bay hơi trong điều kiện áp suất giảm, nước và etyl axetat được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Làm khô pha hữu cơ trên MgSO_4 và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (xyclohexan/etyl axetat 1:1). Hiệu suất: 8,0g. Phổ khối ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 470$; thời gian duy trì HPLC: 1,15 phút (V011_S01).

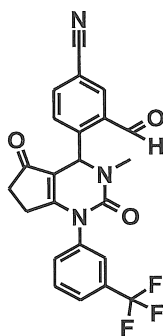
Hợp chất trung gian A.6



Axit 5-xyano-2-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzoic

Hỗn hợp của metyl este của axit 5-xyano-2-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzoic (Hợp chất trung gian A.5, 6,70g, 14,3mmol) và lithi hydroxit (1,03g, 42,8mmol) trong 1,4-dioxan (135mL) và nước (67,0mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 90 phút. Nước (250mL) và axit clohydric (1,0M, 44mL) được bổ sung vào đó và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO_4 và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hiệu suất: 6,2g. Phổ khối ESI: $[\text{M}+\text{H}]^+ = 456$; thời gian duy trì HPLC: 0,63 phút (X012_S01).

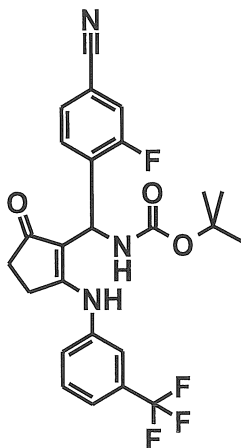
Hợp chất trung gian A.7



3-Formyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Dess-Martin periodinan (2,36g; 5,57mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 3-hydroxymetyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril (ví dụ A.1; 2,05g; 4,644mmol) trong diclometan (100mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 90 phút. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng hỗn hợp của dung dịch natri thiosulfat 10% (50mL) và dung dịch NaHCO₃ bão hòa (50mL) và các pha được tách riêng. Lớp nước được chiết bằng diclometan. Rửa lớp hữu cơ kết hợp bằng nước, làm khô trên MgSO₄ và cô đặc trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (diclometan/ metanol 98:2). Hiệu suất: 510mg; Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 440; thời gian duy trì HPLC: 0,63 phút (X012_S02).

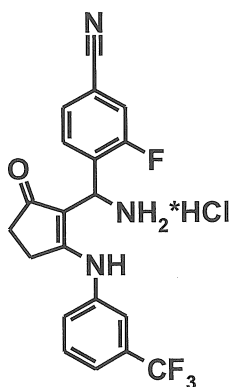
Hợp chất trung gian B.1



tert-butyl este của axit {(4-xyano-2-flo-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic

Hợp chất trung gian B.1 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.1, thay thế 2-bromo-4-xyanobenzaldehyt bằng 3-flo-4-formyl-benzonitril (CAS# 105942-10-7) làm nguyên liệu khởi đầu. Tiến hành tinh chế nguyên liệu thô bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFireTM-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, axit formic 0,1%). Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 490; thời gian duy trì HPLC: 1,13 phút (Z018_S04).

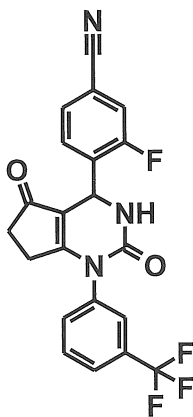
Hợp chất trung gian B.2



4-{Amino-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-cyclopent-1-enyl]-methyl}-3-fluorobenzonitril hydrochlorua

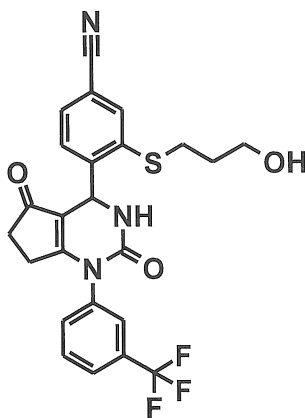
Hợp chất trung gian B.2 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.2, thay thế hợp chất trung gian A.1 bằng hợp chất trung gian B.1 làm nguyên liệu khởi đầu. Phổ khối ESI: $[M+H-NH_3]^+ = 373$; thời gian duy trì HPLC: 0,81 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian B.3



4-[2,5-Dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-fluorobenzonitril

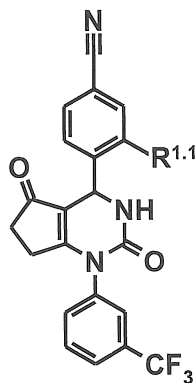
Hợp chất trung gian B.3 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.3, thay thế hợp chất trung gian A.2 bằng hợp chất trung gian B.2 làm nguyên liệu khởi đầu. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 416$; thời gian duy trì HPLC: 0,97 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian B.4

4-[2,5-Dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-(3-hydroxy-propylsulfanyl)-benzonitril

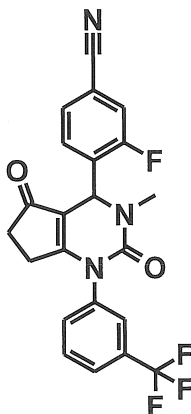
Bổ sung 3-mercapto-1-propanol (55 μ L, 0,64mmol) ở nhiệt độ 0°C vào hỗn hợp của natri hydrua (55% trong dầu khoáng, 32mg, 0,73mmol) trong DMF (0,30mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 25 phút. Dung dịch chứa 4-[2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-flo-benzonitril (Hợp chất trung gian B.3, 110mg, 0,21mmol) trong DMF (0,30mL) được bổ sung vào đó và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2,5 giờ. Làm dừng hỗn hợp phản ứng bằng nước, axit hóa bằng axit axetic loãng và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 13mg. Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 488; thời gian duy trì HPLC: 0,93 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian B.4.1 sau đây được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian B.4, thay thế 3-mercapto-1-propanol bằng 2-metoxylethanthiol làm nguyên liệu khởi đầu.



Hợp chất trung gian	R ^{1.1}	MS [M+H] ⁺	Thời gian duy trì [phút]	Phương pháp HPLC:
B.4.1		488	1,00	Z018_S04

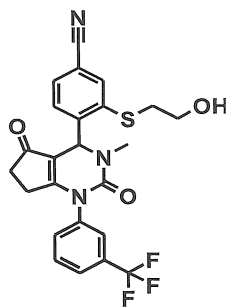
Hợp chất trung gian B.5



3-fluoro-4-[3-methyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Hợp chất trung gian B.5 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.4, thay thế hợp chất trung gian A.3 bằng hợp chất trung gian B.3. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp HPLC pha đảo (Agilent ZORBAX™ SB-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 430; thời gian duy trì HPLC: 1,02 phút (Z018_S04).

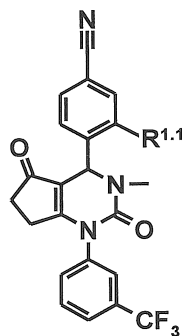
Hợp chất trung gian B.6



3-(2-Hydroxy-ethylsulfanyl)-4-[3-methyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

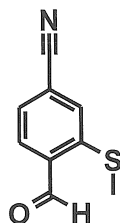
Hợp chất trung gian B.6 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian B.4, thay thế hợp chất trung gian B.3 bằng hợp chất trung gian B.5 và 3-mercapto-1-propanol bằng 2-mercaptoetanol lần lượt làm nguyên liệu khởi đầu. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 488$; thời gian duy trì HPLC: 0,97 phút (Z018_S04).

Các hợp chất trung gian B.6.1 và B.6.2 sau đây được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian B.6, lần lượt sử dụng thiol thích hợp làm nguyên liệu khởi đầu.



Hợp chất trung gian	R ^{1.1}	MS [M+H] ⁺	Thời gian duy trì [phút]	Phương pháp HPLC:
B.6.1		502	0,98	Z018_S04
B.6.2		502	1,07	Z018_S04

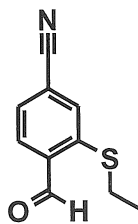
Hợp chất trung gian C.1



4-Formyl-3-methylsulfanyl-benzonitril

Kali cacbonat (3,8g; 27,2mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 3-flo-4-formyl-benzonitril (2,0g; 13,4mmol) và natri thiometanolat (1,175g; 16,77mmol) trong DMF (10mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong thời gian 2 giờ. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng bằng chậu nước đá. Nước được bổ sung vào đó và chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và làm khô. Hiệu suất: 1,98g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 178$; thời gian duy trì HPLC: 0,73 phút (Z011_S03).

Hợp chất trung gian C.2

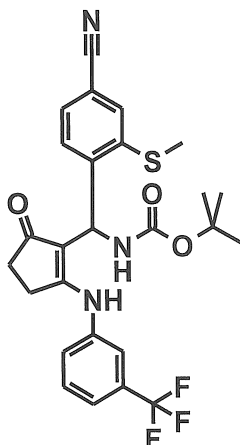


3-Etylsulfanyl-4-formyl-benzonitril

Hợp chất trung gian C.2 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian C.1, thay thế natri thiometanolat bằng natri thioetanolat (nhiệt độ phản ứng 50°C). Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 192$; thời gian duy trì HPLC: 0,81 phút (Z011_S03).

Hợp chất trung gian C.3

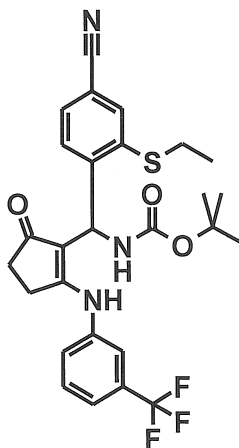
tert-butyl este của axit {(4-xyano-2-methylsulfanyl-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic



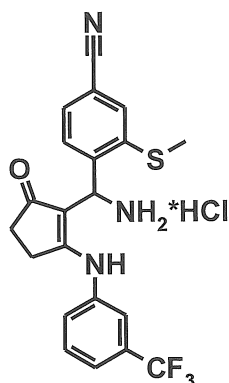
Hợp chất trung gian C.3 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.1, thay thế 2-bromo-4-xyanobenzaldehyt bằng 4-formyl-3-methylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.1). Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 518$; thời gian duy trì HPLC: 1,14 phút (Z017_S04).

Hợp chất trung gian C.4

tert-butyl este của axit {(4-xiano-2-etylsulfanyl-phenyl)-[5-oxo-2-(3-triflometyl-phenylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic

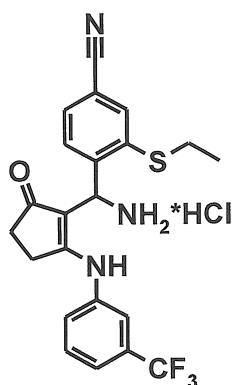


Hợp chất trung gian C.4 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian A.1, thay thế 2-bromo-4-xyanobenzaldehyt bằng 3-etylsulfanyl-4-formyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.2). Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 532$; thời gian duy trì HPLC: 1,19 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian C.5

4-{Amino-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-cyclopent-1-enyl]-methyl}-3-methylsulfanyl-benzonitril hydrochloride

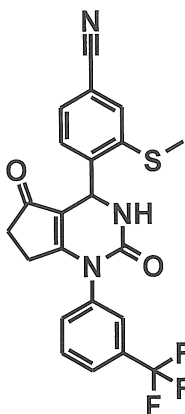
Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4M, 5mL, 20mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của *tert*-butyl este của axit {(4-cyano-2-methylsulfanyl-phenyl)-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-cyclopent-1-enyl]-methyl}-cacbamic (Hợp chất trung gian C.3, 4,3g, độ tinh khiết 80%, 6,7mmol) trong axetonitril (10mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng axetonitril lạnh và làm khô. Hiệu suất: 4,14g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 418$; thời gian duy trì HPLC: 0,90 phút (Z011_S03).

Hợp chất trung gian C.6

4-{Amino-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-cyclopent-1-enyl]-methyl}-3-ethylsulfanyl-benzonitril hydrochloride

Hợp chất trung gian C.6 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian C.5, thay thế hợp chất trung gian C.3 bằng hợp chất trung gian C.4. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 432$; thời gian duy trì HPLC: 0,94 phút (Z011_S03).

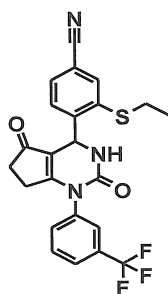
Hợp chất trung gian C.7



4-[2,5-Dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-methylsulfanyl-benzonitril

Triethylamin (95 μ L, 0,68mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-{amino-[5-oxo-2-(3-trifluoromethyl-phenylamino)-xyclopent-1-enyl]-methyl}-3-methylsulfanyl-benzonitril hydroclorua (Hợp chất trung gian C.5, 570mg, 1,13mmol dựa vào độ tinh khiết 90%) và 1,1'-carbonyldiimidazol (220mg, 1,36mmol) trong axetonitril (3mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm, và phần còn lại được xử lý bằng nước. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và làm khô. Hiệu suất: 460mg; Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 444$; thời gian duy trì HPLC: 0,98 phút (Z017_S04).

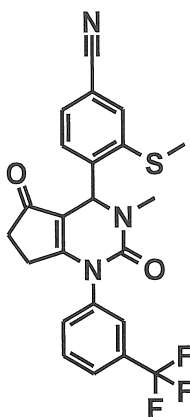
Hợp chất trung gian C.8



4-[2,5-Dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etylsulfanyl-benzonitril

Hợp chất trung gian C.8 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian C.7, thay thế hợp chất trung gian C.5 bằng hợp chất trung gian C.6. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 458$; thời gian duy trì HPLC: 1,03 phút (Z018_S04).

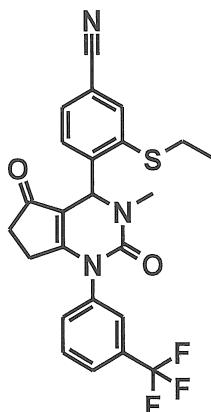
Hợp chất trung gian C.9



4-[3-Metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metylsulfanyl-benzonitril

Metyliodua (834 μ L, 13,4mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.7; 1,981g; 4,467mmol) và xesi cacbonat (2,911g, 8,935mmol) trong DMF (5mL) và Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Tinh chế hỗn hợp bằng phương pháp HPLC pha đảo (Stablebond, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 1,145g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 458$; thời gian duy trì HPLC: 1,03 phút (Z017_S04).

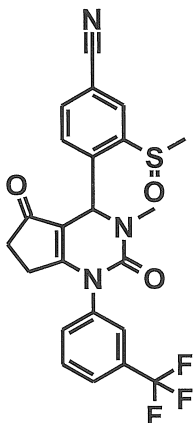
Hợp chất trung gian C.10



4-[3-Metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etylsulfanyl-benzonitril

Hợp chất trung gian C.10 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian C.9, thay thế hợp chất trung gian C.7 bằng hợp chất trung gian C.8. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 472$; thời gian duy trì HPLC: 1,09 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian C.11.1 và hợp chất trung gian C.11.2



3-Metansulfinyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluorometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Axit 3-cloperoxybenzoic (77%, 46mg, 0,203mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluorometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.9, 93mg, 0,203mmol) trong diclometan (5mL), và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất

giảm và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%) tạo ra 2 chất đồng phân không đối quang.

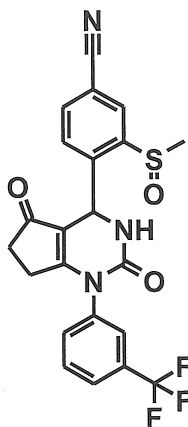
Hợp chất trung gian C.11.1:

Hiệu suất: 46mg; Phở khối ESI $[M+H]^+ = 474$; thời gian duy trì HPLC: 0,94 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm) (Z018_S04).

Hợp chất trung gian C.11.2:

Hiệu suất: 46mg; Phở khối ESI $[M+H]^+ = 474$; thời gian duy trì HPLC: 0,96 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn) (Z018_S04).

Hợp chất trung gian C.12.1 và hợp chất trung gian C.12.2



4-[2,5-Dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfinyl-benzonitril

Axit 3-cloperoxybenzoic (77%, 51mg, 0,226mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 4-[2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.7, 100mg, 0,226mmol) trong diclometan (3mL) và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%) tạo ra 2 chất đồng phân không đối quang.

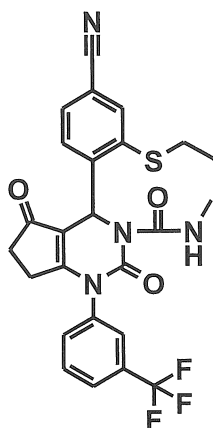
Hợp chất trung gian C.12.1:

Hiệu suất: 35mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 460$; thời gian duy trì HPLC: 0,90 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm) (Z018_S04).

Hợp chất trung gian C.12.2:

Hiệu suất: 26mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 460$; thời gian duy trì HPLC: 0,92 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn) (Z018_S04).

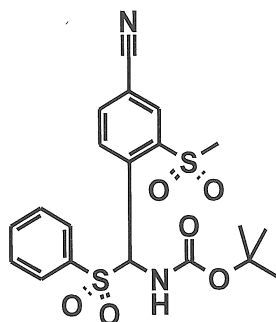
Hợp chất trung gian C.13



Metylamin của axit 4-(4-xyano-2-etylsulfanyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-cacboxylic

Bổ sung 4-nitrophenylcloformat (160mg; 0,79mmol) và 4-dimetylaminopyridin (140mg; 1,15mmol) ở nhiệt độ trong phòng theo từng phần nhỏ trong thời gian 5 giờ vào hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.8; 100mg; độ tinh khiết 90%; 0,20mmol) và diisopropyletylamin (130 μ L; 0,76mmol) trong axetonitril (1mL). Metylamin (1M trong THF; 1mL; 1,00mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbamat và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 58 mg. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 515$; thời gian duy trì HPLC: 1,08 phút (Z018_S04).

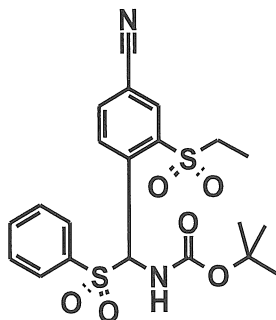
Hợp chất trung gian D.1



tert-butyl este của axit [benzensulfonyl-(4-xyano-2-metansulfonyl-phenyl)-metyl]-cacbamic

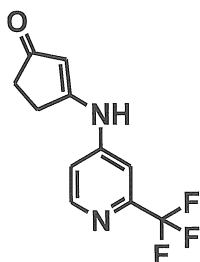
Axit formic (6,2mL, 164mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của *tert*-butyl cacbamat (3,05g, 26,0mmol), 4-formyl-3-(metylsulfonyl)benzonitril (điều chế theo tài liệu US 2011/34433, 5,44g, 26,0mmol) và natri benzensulfinat (4,27g, 26,0mmol) trong THF (10,0mL) và nước (25,0mL) và Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 ngày. Nước được bổ sung vào đó và chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và axetonitril và làm khô. Hiệu suất: 5,10g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 451$; thời gian duy trì HPLC: 0,59 phút (X012_S01).

Hợp chất trung gian D.2



tert-butyl este của axit [benzensulfonyl-(4-xyano-2-etansulfonyl-phenyl)-metyl]-cacbamic

Hợp chất trung gian D.2 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian D.1, thay thế 4-formyl-3-(metylsulfonyl)benzonitril bằng 3-etansulfonyl-4-formyl-benzonitril (điều chế theo tài liệu US 2011/34433). Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 465$; thời gian duy trì HPLC: 1,03 phút (Z017_S04).

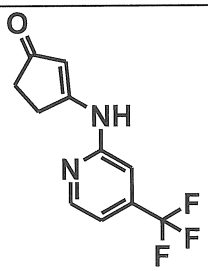
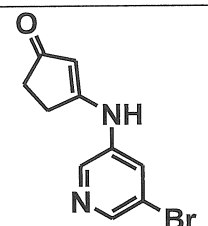
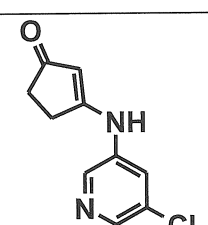
Hợp chất trung gian D.3**3-(2-Trifluoromethyl-pyridin-4-ylamino)-cyclopent-2-en-1-one**

Dung dịch chứa 1,3-cyclopentandion (3,03g, 30,8mmol) và 4-amino-2-trifluoromethylpyridin (5,00g, 30,8mmol) trong axit axetic (15,0mL) được khuấy ở nhiệt độ 130°C trong lò vi sóng trong thời gian 5 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng metanol và nước và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, axit formic 0,1%). Hiệu suất: 4,52g; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 243; thời gian duy trì HPLC: 0,77 phút (Z018_S04).

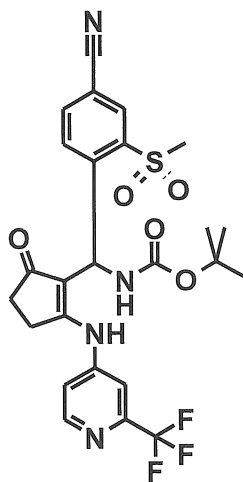
Các hợp chất trung gian D.3.1 đến D.3.4 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian D.3, lần lượt sử dụng amin thích hợp làm nguyên liệu khởi đầu.

Bảng 1

Hợp chất trung gian	R	MS [M+H] ⁺	Thời gian duy trì [phút]	Phương pháp HPLC:
D.3.1		243	0,77	Z018_S04

D.3.2		243	0,86	Z018_S04
D.33		253 (mẫu đồng vị brom)	0,72	Z018_S04
D.3.4		209 (mẫu đồng vị clo)	0,68	Z017_S04

Hợp chất trung gian D.4

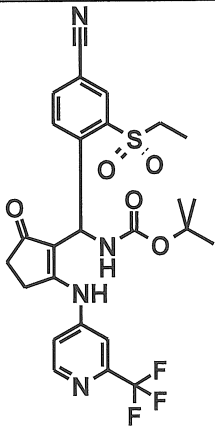


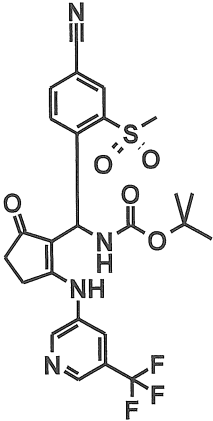
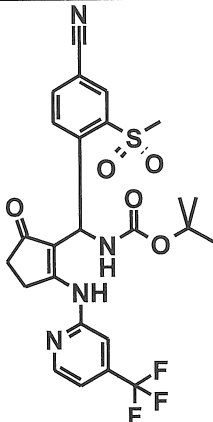
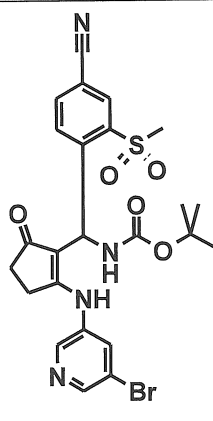
tert-butyl este của axit {(4-xyano-2-metansulfonyl-phenyl)-[5-oxo-2-(2-triflometyl-pyridin-4-ylamino)-cyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic

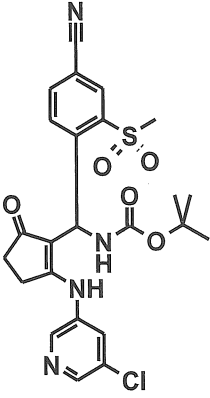
Natri hydrua (60% trong dầu khoáng, 515mg, 12,9mmol) được bổ sung theo các phần nhỏ vào hỗn hợp của 3-(2-(triflormetyl)pyridin-4-ylamino)xyclopent-2-enon (Hợp chất trung gian D.3, 2,60 g, 10,7mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (40,0mL). Sau thời gian 10 phút, *tert*-butyl este của axit [benzensulfonyl-(4-xyano-2-metansulfonyl-phenyl)-metyl]-cacbamic (Hợp chất trung gian D.1, 4,83g, 10,7mmol) được bổ sung vào đó và Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Nước và etyl axetat được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Pha hữu cơ được rửa bằng nước và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hiệu suất: 6,20g; Phổ khối ESI $[M+H]^+$ = 551; thời gian duy trì HPLC: 1,12 phút (Z018_S04).

Các hợp chất trung gian D.4.1 đến D.4.5 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian D.4, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu được chỉ ra trong bảng sau.

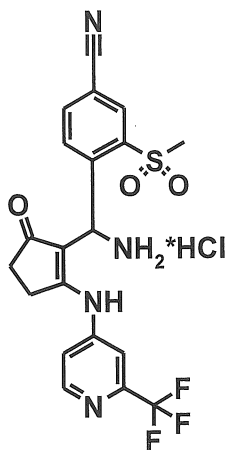
Bảng 2

Hợp chất trung gian	Starting Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS $[M+H]^+$	Retention Thời gian duy trì [phút]	HPLC-Phương pháp HPLC
D.4.1	Các hợp chất trung gian D.2 và D.3		565	1,15	Z018_S04

D.4.2	Các hợp chất trung gian D.1 và D.3.1		551	1,12	Z018_S 04
D.4.3	Các hợp chất trung gian D.1 và D.3.2		551	1,23	Z018_S 04
D.4.4	Các hợp chất trung gian D.1 và D.3.3		561 (mẫu đồng vị brom)	1,08	Z018_S 04

D.4.5	Các hợp chất trung gian D.1 và D.3.4		517 (mẫu đồng vị clo)	1,06	Z017_S 04
-------	--------------------------------------	---	--------------------------	------	--------------

Hợp chất trung gian D.5

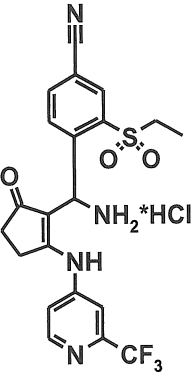
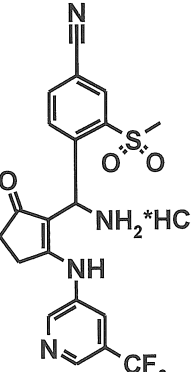


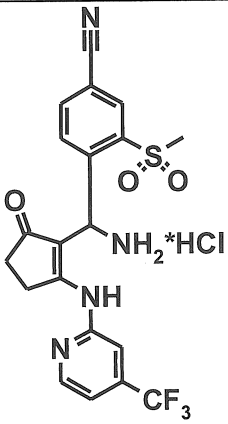
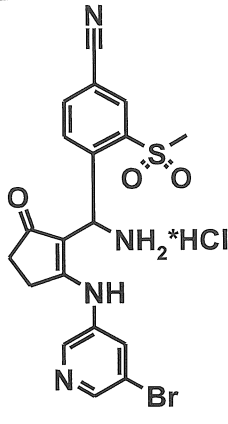
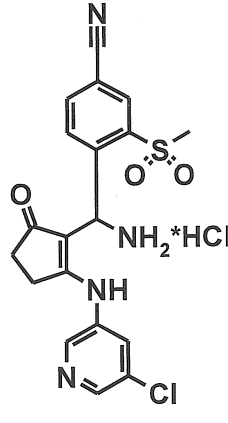
4-{Amino-[5-oxo-2-(2-triflormetyl-pyridin-4-ylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-3-metansulfonyl-benzonitril hydroclorua

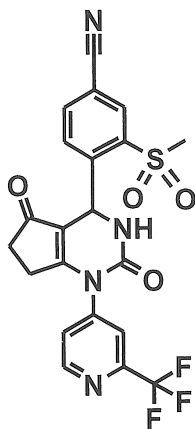
Bổ sung hydro clorua trong 1,4-dioxan (4M, 50,0mL, 200mmol) vào dung dịch chứa *tert*-butyl este của axit {(4-xyano-2-metansulfonyl-phenyl)-[5-oxo-2-(2-triflometyl-pyridin-4-ylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic (Hợp chất trung gian D.4, 5,20g, 9,45mmol) trong 1,4-dioxan (100mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng metyl-*tert*-butylete và chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng metyl-*tert*-butylete và làm khô. Hiệu suất: 4,40g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 451$; thời gian duy trì HPLC: 0,78 phút (Z018_S04).

Các hợp chất trung gian D.5.1 đến D.5.5 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả đối với hợp chất trung gian D.5, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu được nêu rõ trong bảng sau.

Bảng 3

Hợp chất trung gian	Starting Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS [M+H] ⁺	Retention Thời gian duy trì [phút]	HPLC-Phương pháp HPLC
D.5.1	Hợp chất trung gian D.4.1		465	1,82	Z018_S04
D.5.2	Hợp chất trung gian D.4.2		451	0,78	Z018_S04

D.5.3	Hợp chất trung gian D.4.3		451	0,84	Z018_S04
D.5.4	Hợp chất trung gian D.4.4		461 (mẫu đồng vị brom)	0,74	Z018_S04
D.5.5	Hợp chất trung gian D.4.5		417 (mẫu đồng vị clo)	0,74	Z011_S03

Hợp chất trung gian D.6

4-[2,5-Dioxo-1-(2-trifluoromethyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfonyl-benzonitril

Bổ sung 1,1'-cacbonyldiimidazol (1,99g, 12,3mmol) và trietylamin (0,34mL, 2,45mmol) vào dung dịch chứa 4-{amino-[5-oxo-2-(2-trifluoromethyl-pyridin-4-ylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-3-metansulfonyl-benzonitril hydroclorua (Hợp chất trung gian D.5, 4,78g, 9,81mmol) trong axetonitril (100mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được xử lý bằng nước, chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng nước và làm khô. Hiệu suất: 3,73 g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 477$; thời gian duy trì HPLC: 0,90 phút (Z018_S04).

Hợp chất trung gian D.6A và hợp chất trung gian D.6B: các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian triệt quang D.6

Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian triệt quang D.6 (300mg, 0,63mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IC, 20 x 250 mm, 5 μ m, MeOH 20% + 20mM amoniac trong CO₂ siêu tới hạn, nhiệt độ 40°C, áp suất đối kháng 120 bar).

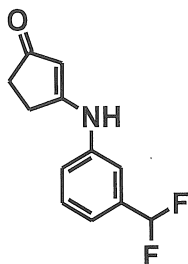
Hợp chất trung gian D.6A:

Hiệu suất: 92mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 477$; thời gian duy trì: 2,67 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MeOH_NH₃).

Hợp chất trung gian D.6B:

Hiệu suất: 96mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 477$; thời gian duy trì: 3,03 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MeOH_NH₃).

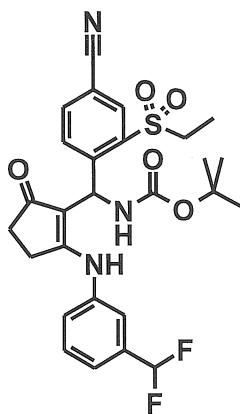
Hợp chất trung gian D.7



3-(3-(Difluoromethyl)phenylamino)cyclopent-2-en-1-one

Hỗn hợp của cyclopentan-1,3-dione (2,00g, 20,4mmol), 3-(difluoromethyl)anilin (2,92g, 20,4mmol) và ytterbi(III) trifluorometansulfonat (63mg, 0,10mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Metanol và nước được bổ sung vào đó và chất kết tủa tạo ra được lọc ra và làm khô. Hiệu suất: 2,75g; Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 224$; thời gian duy trì HPLC: 0,82 phút (V012_S01).

Hợp chất trung gian D.8

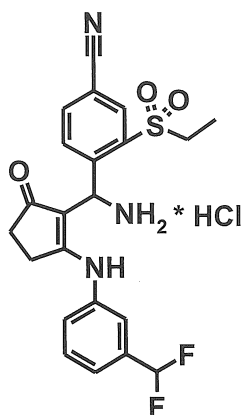


tert-butyl este của axit {(4-cyano-2-ethanesulfonyl-phenyl)-[2-(3-difluoromethyl-phenylamino)-5-oxo-cyclopent-1-enyl]-methyl}-cyclohexanecarboxylic

Natri hydrua (60% trong dầu khoáng, 155mg, 3,88mmol) được bổ sung theo các phần nhỏ vào hỗn hợp của 3-(3-(difluoromethyl)phenylamino)cyclopent-2-enon (Hợp chất

trung gian D.7; 936mg, 4,20mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (10mL). Sau thời gian 30 phút, *tert*-butyl este của axit [benzensulfonyl-(4-xyano-2-etansulfonyl-phenyl)-metyl]-cacbamic (Hợp chất trung gian D.2, 1,50g, 3,23mmol) được bổ sung vào đó và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Etyl axetat và nước được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Pha hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO₄ và cô trong điều kiện áp suất giảm. Hiệu suất: 2,35g. Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 546; thời gian duy trì HPLC: 1,14 phút (Z017_S04).

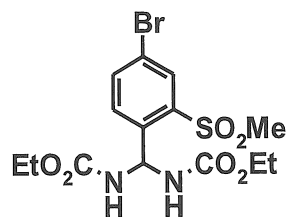
Hợp chất trung gian D.9



4-{Amino-[2-(3-difluoromethyl-phenylamino)-5-oxo-cyclopent-1-enyl]-methyl}-3-etansulfonyl-benzonitril hydrochlorua

Dung dịch chứa hydro clorua trong 1,4-dioxan (4 M, 3,0mL, 12,0mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa *tert*-butyl este của axit {(4-xyano-2-etansulfonyl-phenyl)-[2-(3-difluoromethyl-phenylamino)-5-oxo-cyclopent-1-enyl]-metyl}-cacbamic (Hợp chất trung gian D.8, 2,35g, độ tinh khiết 75%, 3,23mmol) trong axetonitril (6mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ và sau đó, được làm lạnh trong chậu nước đá. Chất kết tủa được lọc ra, được rửa bằng axetonitril lạnh và làm khô. Hiệu suất: 1,52g. Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 446; thời gian duy trì HPLC: 0,86 phút (Z017_S04).

Hợp chất trung gian E.1

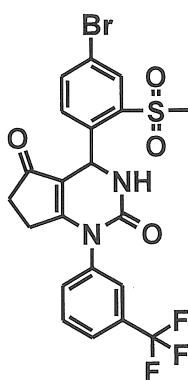


Diethyl (4-bromo-2-methylsulfonyl)phenyl)methylendicacamat

Trong một bình thót cổ đáy tròn ba cổ có trang bị một ống sấy khô được nạp canxi clorua và có một cửa vào đối với nitơ, 4-bromo-2-metansulfonyl-benzaldehyt (4,50 g, 17,10mmol) và etyl cacbamat (3,35g, 37,63mmol) được gia nhiệt ở nhiệt độ 145°C trong thời gian 5 giờ. Bình thót cổ được làm sạch bằng dòng nitơ, và axit sulfuric đặc (khoảng 200μL, khoảng 3mmol) được bổ sung từ từ theo từng giọt. Sau thời gian 7 giờ, hỗn hợp phản ứng rắn hóa được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng, được nghiền, kết hợp đều với nước và làm khô. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (gradient diclometan chuyển sang diclometan/metanol 95:5). Hiệu suất: 5,05g; Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 423$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 0,77 phút (Z011_S03).

Hợp chất trung gian E.2

4-(4-Bromo-2-metansulfonyl-phenyl)-1-(3-triflometyl-phenyl)-3,4,6,7-tetrahydro-1H-xyclopentapyrimidin-2,5-dion



Bước 1:

4-Bromo-1-(clo(isocyanato)metyl)-2-(methylsulfonyl)benzen

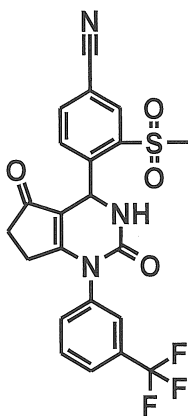
Phospho pentaclorua (5,47g, 26,2mmol) được bổ sung vào huyền phù chứa diethyl (4-bromo-2-metylsulfonyl)phenyl)metylendicacamat (Hợp chất trung gian E.1, 5,05g, 11,9mmol) trong toluen (30mL) và gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ hồi lưu trong thời gian 3 giờ. Toluene được làm bay hơi trong điều kiện áp suất giảm và sau đó, tinh chế hỗn hợp bằng phương pháp chưng cất trong điều kiện áp suất giảm (khoảng 160°C, 0,1 mbar). Hiệu suất: 945mg.

Bước 2:

4-(4-Bromo-2-metansulfonyl-phenyl)-1-(3-triflometyl-phenyl)-3,4,6,7-tetrahydro-1H-xyclopentapyrimidin-2,5-dion

3-(3-(Triflometyl)phenylamino)xyclopent-2-enon (234mg, 0,97mmol) được bổ sung vào dung dịch chứa 4-bromo-1-(clo(isocyanato)metyl)-2-(metylsulfonyl)benzen (Bước 1, 945 mg, 2,91mmol) trong diclometan (10mL). Gia nhiệt hỗn hợp ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm và sau đó, cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Agilent ZORBAX™ SB-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, axit formic 0,1%). Hiệu suất: 110mg; Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 529$ (mẫu đồng vị brom); thời gian duy trì HPLC: 1,21 phút (Z017_S04).

Hợp chất trung gian E.3



4-(2,5-Dioxo-1-(3-(triflometyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl)-3-(metylsulfonyl)benzonitril

Trong môi trường argon, hỗn hợp của 4-(4-bromo-2-(metylsulfonyl)phenyl)-1-(3-(triflometyl)phenyl)-3,4,6,7-tetrahydro-1H-xyclopentapyrimidin-2,5-dion (Hợp chất

trung gian E.2, 110mg, 0,21mmol), kẽm xyanua (32mg, 0,27mmol) và tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (24mg, 21 μ mol) trong DMF (2mL) được gia nhiệt ở nhiệt độ 110°C qua đêm và sau đó, được làm mát xuống nhiệt độ trong phòng. Nước được bổ sung vào đó và hỗn hợp được lọc. Tinh chế chất kết tủa bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (gradient bằng xyclohexan/ etyl axetat từ 8:2 đến 3:7). Hiệu suất: 40mg; Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 476$; thời gian duy trì HPLC: 0,94 phút (Z017_S04).

Hợp chất trung gian E.3A và hợp chất trung gian E.3B: Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian E.3

Các chất đồng phân đối ảnh của 4-(2,5-dioxo-1-(3-(triflometyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl)-3-(metylsulfonyl)benzonitril triệt quang (Hợp chất trung gian E.3, 1,82g, 3,83mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IB, 20 x 250mm, 5 μ m, MeOH 15% + diethylamin 0,2% trong CO₂ siêu tới hạn, nhiệt độ 40°C, áp suất đối kháng 120 bar).

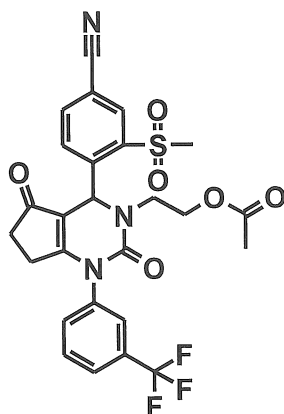
Hợp chất trung gian E.3A:

Hiệu suất 620mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 476$; thời gian duy trì: 2,52 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MeOH_DEA).

Hợp chất trung gian E.3B:

Hiệu suất 554mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 476$; thời gian duy trì: 2,78 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MeOH_DEA).

Hợp chất trung gian E.4

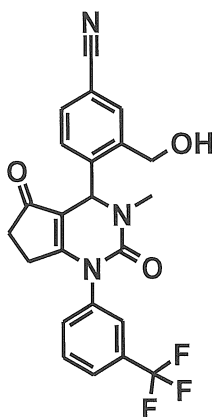


2-[4-(4-cyano-2-methylsulfonyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-(trifluoromethyl)-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-yl]-ethyl ester của axit axetic

Bổ sung 2-bromoethylacetat (0,20mL, 1,82mmol) vào hỗn hợp của 4-(2,5-dioxo-1-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl)-3-(methylsulfonyl)benzonitril (Hợp chất trung gian E.3, 300mg, 0,57mmol) và xesi cacbonat (463mg, 1,42mmol) trong DMF (5,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 3 ngày. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng axetonitril và nước và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 104mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 562; thời gian duy trì HPLC: 1,03 phút (Z018_S04).

Các ví dụ tổng hợp

Ví dụ A.1



3-Hydroxymethyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Bổ sung 1,1'-cacbonyldiimidazol (274mg; 1,691mmol) vào dung dịch chứa axit 5-xyano-2-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzoic (Hợp chất trung gian A.6; 700mg; 1,537mmol) trong THF (10,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ và làm lạnh xuống nhiệt độ 5°C. Natri bohýdrua (87mg; 2,31mmol) trong nước (1,4mL) được bổ sung từng giọt, duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ 5°C đến 10°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong thời gian 45 phút và làm ngừng bằng HCl nước 1M. Etyl axetat và nước được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO₄ và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (diclometan/metanol 95:5 → 75:25). Hiệu suất: 390mg; Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 442; thời gian duy trì HPLC: 0,61 phút (X012_S02).

Các ví dụ A.1A và A.1B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ A.1

Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ A.1 (1220mg) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IC, 20 x 250 mm, 5µm, MeOH 30% + 20mM amoniác trong CO₂ siêu tới hạn, tốc độ dòng 10mL/phút; áp suất đối kháng 150 bar).

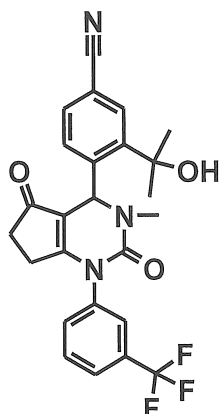
Ví dụ A.1A :

Hiệu suất 330mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 442; thời gian duy trì: 2,93 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IC_40_MEOH_NH3).

Ví dụ A.1B :

Hiệu suất 314mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 442; thời gian duy trì: 4,54 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IC_40_MEOH_NH3).

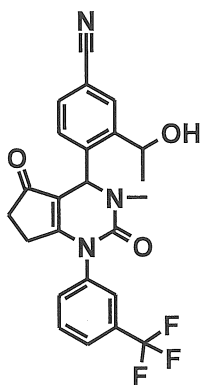
Ví dụ A.2



3-(1-Hydroxy-1-methyl-ethyl)-4-[3-methyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Bổ sung dung dịch chứa metylmagieclorua trong THF (3M, 625 μ L; 1,875mmol) từng giọt ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch chứa metyl este của axit 5-xyano-2-[3-methyl-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzoic (Hợp chất trung gian A.5; 400mg; 0,852mmol) trong THF (5ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và làm ngừng bằng HCl 1M. Etyl axetat và nước được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước, làm khô trên MgSO₄ và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters Xbridge™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 90mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 470; thời gian duy trì HPLC: 0,69 phút (X012_S02).

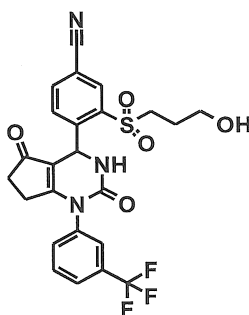
Ví dụ A.3



3-(1-Hydroxy-ethyl)-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Dung dịch chứa metylmagieclorua trong THF (3M, 0,239mL; 0,717mmol) được bổ sung ở nhiệt độ 5°C vào dung dịch chứa 3-formyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril (Hợp chất trung gian A.7, 300mg; 0,683mmol) trong dietylete (3mL) và THF (2,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C trong thời gian 15 phút và 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Nước và HCl nước 1M được bổ sung cho tới khi độ pH là axit. Etyl axetat được bổ sung vào đó và các pha được tách riêng. Làm khô lớp hữu cơ trên MgSO₄ và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp sắc ký nhanh trên silic oxit (mẻ thứ nhất: diclometan/ metanol 98:2, mẻ thứ hai: xyclohexan/ etyl axetat 2:8). Hiệu suất: 112mg; Phổ khối ESI: [M+H]⁺ = 456; thời gian duy trì HPLC: 0,62 phút (X012_S02).

Ví dụ B.1



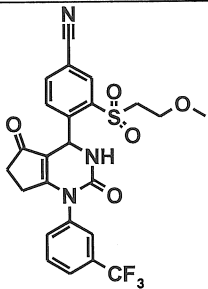
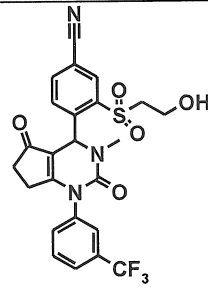
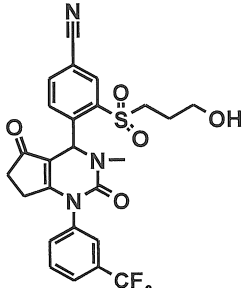
4-[2,5-Dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-(3-hydroxy-propan-1-sulfonyl)-benzonitril

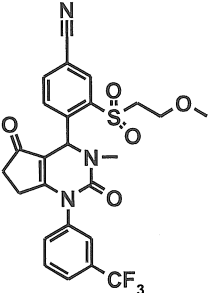
Bổ sung axit 3-cloperoxybenzoic (40mg, 0,18mmol) vào dung dịch chứa 4-[2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-(3-hydroxy-propylsulfanyl)-benzonitril (Hợp chất trung gian B.4, 13mg, 0,027mmol) trong diclometan (2,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Agilent ZORBAXTM SB-C₁₈, gradient của axetonitril

trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 5mg. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 520$; thời gian duy trì HPLC: 0,93 phút (Z018_S04).

Các ví dụ từ B.1,1 đến B.1.4 dưới đây được điều chế theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ B.1, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu được nêu rõ trong bảng sau.

Bảng 4

Ví dụ	Starting Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS $[M+H]^+$	Retention Thời gian duy trì [phút]	HPLC-Phương pháp HPLC
B.1.1	Hợp chất trung gian B.4.1		520	0,99	Z018_S04
B.1.2	Hợp chất trung gian B.6		520	0,96	Z018_S04
B.1.3	Hợp chất trung gian B.6.1		534	0,99	Z018_S04

B.1.4	Hợp chất trung gian B.6.2		534	1,04	Z018_S04
-------	------------------------------------	---	-----	------	----------

Ví dụ B.1,2A và ví dụ B.1.2B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ B.1.2

Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ B.1.2 (142mg) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IB, 10 x 250mm, 5 μ m, MeOH 20% + 20mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, dòng 10mL/phút, áp suất đối kháng 120 bar, 40°C).

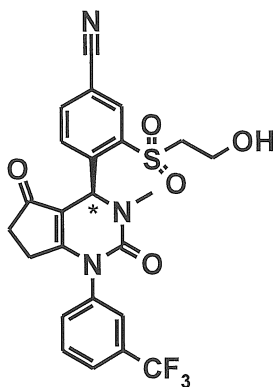
Ví dụ B.1.2A:

Hiệu suất 65mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 520; thời gian duy trì: 2,15 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Ví dụ B.1.2B:

Hiệu suất 63mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 520; thời gian duy trì: 2,77 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Cấu trúc tia x của ví dụ hợp chất trong B.1.2B liên kết với elastaza của bạch cầu trung tính đã bộc lộ cấu trúc và cấu hình sau tại nguyên tử cacbon được đánh dấu hoa thị:



Ví dụ B.1.3A và ví dụ B.1.3B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ B.1.3

Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ B.1.3 (120mg) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IB, 20 x 250mm, 5 μ m, MeOH 15% + 20mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, dòng 60mL/phút, áp suất đối kháng 150 bar, 40°C).

Ví dụ B.1.3A:

Hiệu suất 60mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 534; thời gian duy trì: 2,03 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Ví dụ B.1.3B:

Hiệu suất 54mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 534; thời gian duy trì: 2,27 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Ví dụ C.1A và ví dụ C.1B: Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian C.11,1

Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian C.11,1 (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm, 490mg, 1,035mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IB, 10 x 250mm, 5 μ m, MeOH 20% + 20 mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, dòng 10mL/phút, áp suất đối kháng 120 bar).

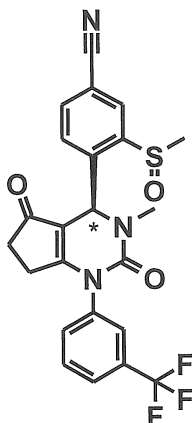
Ví dụ C.1A:

Hiệu suất 167mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 474; thời gian duy trì: 2,83 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Ví dụ C.1B:

Hiệu suất 170mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 474; thời gian duy trì: 3,25 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MEOH_NH3).

Cấu trúc tia x của ví dụ hợp chất trong C.1B liên kết với elastaza của bạch cầu trung tính đã bộc lộ cấu trúc và cấu hình sau tại nguyên tử cacbon được đánh dấu hoa thị:



Ví dụ C.1B

Ví dụ C.2A và ví dụ C.2B: Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian C.11.2

Các chất đồng phân đối ảnh của hợp chất trung gian C.11,2 (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn, 317mg, 0,670mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IA, MeOH 20% + 20 mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, dòng 60mL/phút, áp suất đối kháng 150 bar).

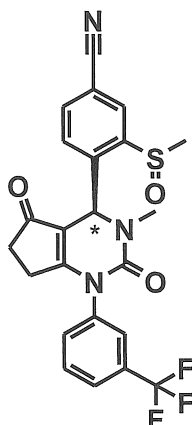
Ví dụ C.2A

Hiệu suất 126mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 474; thời gian duy trì: 1,58 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IA_20_MEOH_NH3).

Ví dụ C.2B

Hiệu suất 126mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 474; thời gian duy trì: 2,33 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IA_20_MEOH_NH3).

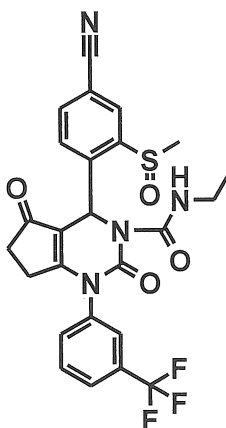
Cấu trúc tia x của ví dụ hợp chất trong C.2A liên kết với elastaza của bạch cầu trung tính đã bộc lộ cấu trúc và cấu hình sau tại nguyên tử cacbon được đánh dấu hoa thị:



Ví dụ C.2A

Như vậy, ví dụ C.1B và ví dụ C.2A có cấu hình tương tự tại nguyên tử cacbon được đánh dấu hoa thị và khác với cấu hình của nguyên tử lưu huỳnh. Do đó, ví dụ C.1B và ví dụ C.2A là các chất đồng phân không đối quang.

Ví dụ C.3

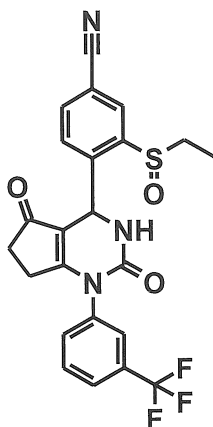


Etylaminit của axit 4-(4-xyano-2-metansulfinyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xylopentapyrimidin-3-cacboxylic

Bổ sung 4-nitrophenylcloformat (12,6mg; 0,062mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xylopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfinyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.12,2, chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn, 26mg; 0,057mmol), diisopropyletylamin (38μL; 0,23mmol) và 4-dimetylaminopyridin (8mg; 0,06mmol) trong axetonitril (3mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong thời gian 5 giờ. Etylamin

(2M trong THF; 114 μ L; 0,228mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng chứa hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbamat và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 4mg. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 531$; thời gian duy trì HPLC: 1,02 phút (Z018_S04).

Ví dụ C.4.1 và ví dụ C.4.2



4-[2,5-Dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-ethylsulfanyl-benzonitril

Axit 3-cloperoxybenzoic (77%, 45mg, 0,201mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 4-[2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-ethylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.8, 106mg, 0,210mmol) trong diclometan (2mL), và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%) tạo ra 2 chất đồng phân không đối quang.

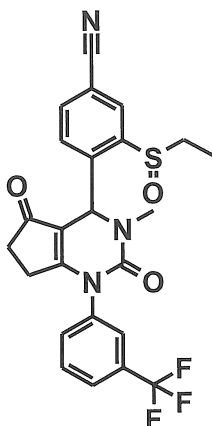
Ví dụ C.4.1:

Hiệu suất: 15mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 474$; thời gian duy trì HPLC: 0,91 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm) (Z018_S04).

Ví dụ C.4.2:

Hiệu suất: 32mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 474$; thời gian duy trì HPLC: 0,93 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn) (Z018_S04).

Ví dụ C.5.1 và ví dụ C.5.2



3-etansulfinyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Axit 3-cloperoxybenzoic (77%, 24mg, 0,107mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa 4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etylsulfanyl-benzonitril (Hợp chất trung gian C.10, 53mg, 0,112mmol) trong diclometan (1mL) và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm, và phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%) tạo ra 2 chất đồng phân không đối quang.

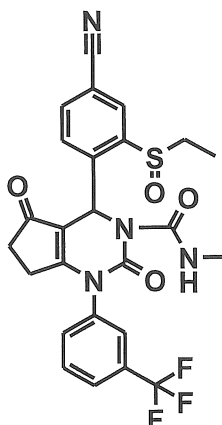
Ví dụ C.5.1:

Hiệu suất: 26mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 488$; thời gian duy trì HPLC: 0,96 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm) (Z018_S04).

Ví dụ C.5.2:

Hiệu suất: 17mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 488$; thời gian duy trì HPLC: 0,97 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn) (Z018_S04).

Ví dụ C.6.1 và ví dụ C.6.2



Metylomit của axit 4-(4-xyano-2-etansulfinyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-cacboxylic

Axit 3-cloperoxybenzoic (77%, 24mg, 0,107mmol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch chứa metylomit của axit 4-(4-xyano-2-etylsulfanyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-cacboxylic (Hợp chất trung gian C.13, 58mg, 0,113mmol) trong diclometan (2mL), và hỗn hợp được khuấy trong thời gian 20 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm, và phần còn lại được tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Sunfire, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%) tạo ra 2 chất đồng phân không đối quang.

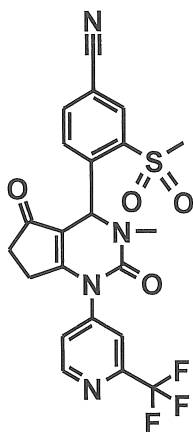
Ví dụ C.6.1:

Hiệu suất: 7mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 531$; thời gian duy trì HPLC: 0,98 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải sớm) (Z018_S04).

Ví dụ C.6.2:

Hiệu suất: 15mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 531$; thời gian duy trì HPLC: 1,00 phút (chất đồng phân không đối quang rửa giải muộn) (Z018_S04).

Ví dụ D.1A

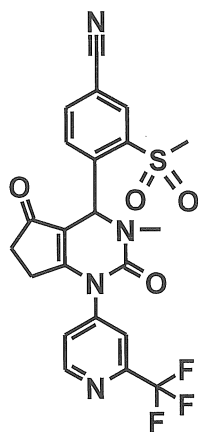


Chất đồng phân đối ảnh 1

3-Metansulfonyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Bổ sung dung dịch chứa metyl iodua trong metyl-*tert*-butylete ($c = 2$ mol/L, 116 μ L, 0,23mmol) vào hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfonyl-benzonitril (Hợp chất trung gian D.6A, chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm, 92mg, 0,19mmol) và xesi cacbonat (126mg, 0,39mmol) trong DMF (3,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 giờ. Nước đá được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng, hỗn hợp được axit hóa bằng axit trifloaxetic và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 54mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 491$; thời gian duy trì HPLC: 0,98 phút (Z018_S04). Vì nguyên liệu khởi đầu là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, giả sử rằng, hợp chất trong ví dụ D.1A là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh và có cấu hình tương tự như nguyên liệu khởi đầu.

Ví dụ D.1B

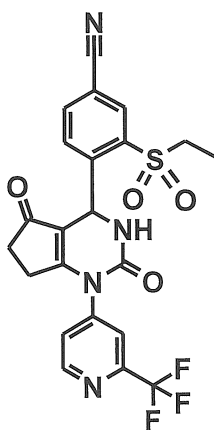


Chất đồng phân đối ảnh 2

3-Metansulfonyl-4-[3-methyl-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Hợp chất trong ví dụ D.1B được điều chế theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ D.1A, thay thế hợp chất trung gian D.6A (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) bằng hợp chất trung gian D.6B (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) làm nguyên liệu khởi đầu. Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 491$; thời gian duy trì HPLC: 0,98 phút (Z018_S04). Ví dụ D.1B là chất đồng phân đối ảnh của ví dụ D.1A. Vì nguyên liệu khởi đầu là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, giả sử rằng, hợp chất trong ví dụ D.1B là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh và có cấu hình tương tự như nguyên liệu khởi đầu.

Ví dụ D.2

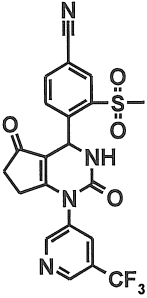
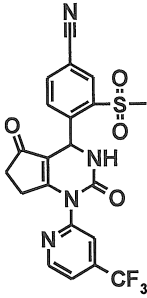


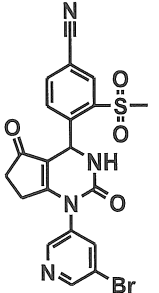
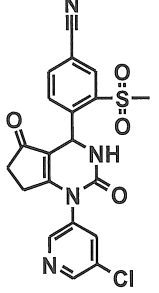
4-[2,5-Dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril

Bổ sung 1,1'-cacbonyldiimidazol (260mg, 1,60mmol) vào dung dịch chứa 4-{amino-[5-oxo-2-(2-triflometyl-pyridin-4-ylamino)-xyclopent-1-enyl]-metyl}-3-etansulfonyl-benzonitril hydroclorua (Hợp chất trung gian D.5.1, 706mg, 1,41mmol) và triethylamin (50µL, 0,36mmol) trong axetonitril (3,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 phút. Tiến hành cô hỗn hợp phản ứng trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, axit formic 0,1%). Hiệu suất: 562mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 491; thời gian duy trì HPLC: 0,94 phút (Z018_S04).

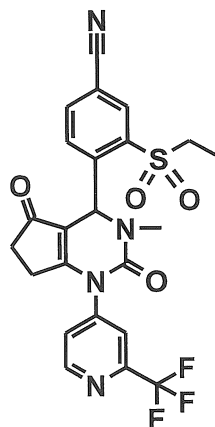
Các ví dụ từ D.2.1 đến D.2.4 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ D.2, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu lần lượt được nêu rõ trong bảng sau.

Bảng 5

Ví dụ	Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS [M+ H] ⁺	Thời gian duy trì [phút]	HPLC- Phương pháp HPLC
D.2.1	Hợp chất trung gian D.5.2		477	0,89	Z018_S04
D.2.2	Hợp chất trung gian D.5.3		477	0,91	Z018_S04

D.2.3	Hợp chất trung gian D.5.4		487 (mẫu đồng vị brom)	0,85	Z018_S04
D.2.4	Hợp chất trung gian D.5.5		443 (mẫu đồng vị clo)	0,62	005_CA07

Ví dụ D.3



3-etansulfonyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Dung dịch chứa metyliodua trong metyl-*tert*-butylete ($c = 2 \text{ mol/L}$, $97 \mu\text{L}$, $0,19\text{mmol}$) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril (ví dụ D.2, 80mg , $0,16\text{mmol}$) và xesi cacbonat (97mg , $0,30\text{mmol}$) trong DMF ($1,0\text{mL}$) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng

axit axetic và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 63mg. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 505$; thời gian duy trì HPLC: 1,02 phút (Z018_S04).

Ví dụ D.3A và ví dụ D.3B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ D.3

Các chất đồng phân đối ảnh của 3-etansulfonyl-4-[3-metyl-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril triệt quang (ví dụ D.3, 104mg, 0,206mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IC, 10 x 250mm, 5 μ m, MeOH 30% + 20mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, nhiệt độ 40°C, áp suất đối kháng 120 bar).

Ví dụ D.3A:

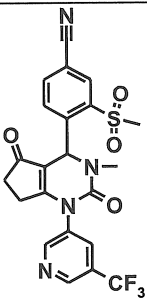
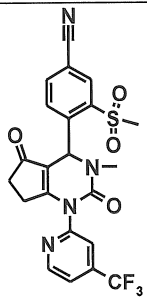
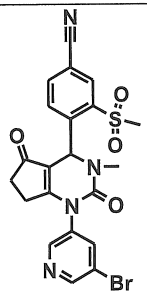
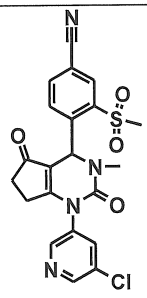
Hiệu suất 45mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 505$; thời gian duy trì: 1,94 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IC_30_MeOH_NH₃).

Ví dụ D.3B:

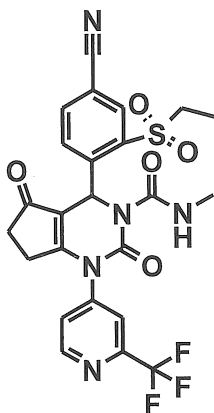
Hiệu suất 47mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 505$; thời gian duy trì: 2,36 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IC_30_MeOH_NH₃).

Các ví dụ từ D.3.1 đến D.3.4 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ D.3, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu lần lượt được nêu rõ trong bảng sau.

Bảng 6

Ví dụ	Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS [M+H] ⁺	Thời gian duy trì [phút]	HPLC- Phương pháp HPLC
D.3.1	Ví dụ D.2.1		491	0,97	Z018_S04
D.3.2	Ví dụ D.2.2		491	0,99	Z018_S04
D.3.3	Ví dụ D.2.3		501 (mẫu đồng vị brom)	0,94	Z018_S04
D.3.4	Ví dụ D.2.4		457 (mẫu đồng vị clo)	0,91	Z017_S04

Ví dụ D.4

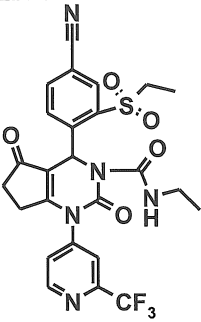
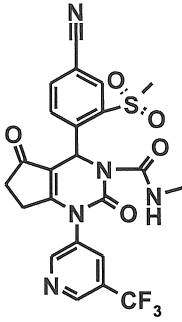
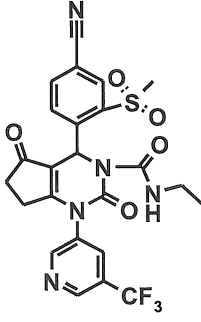
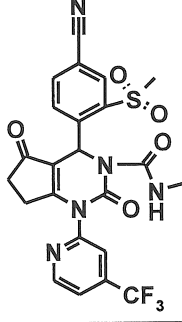


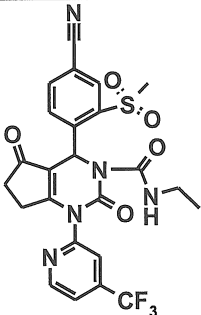
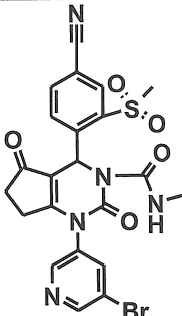
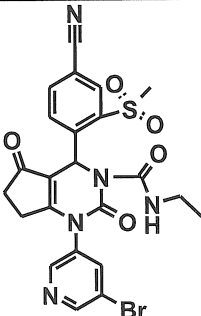
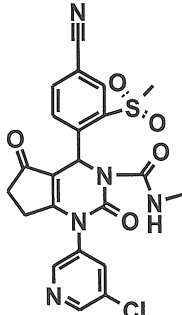
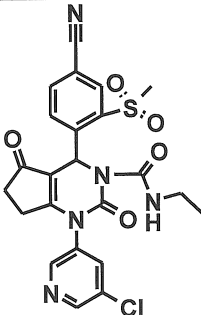
Metylaminit của axit 4-(4-cyano-2-etansulfonyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-cacboxylic

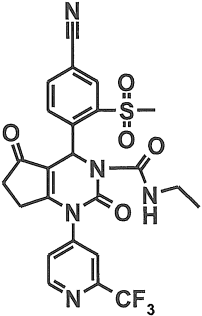
Hỗn hợp của 4-[2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril (ví dụ D.2, 80mg, 0,16mmol), 4-nitrophenyl cloroformat (100mg, 0,50mmol), 4-dimetylaminopyridin (70mg, 0,57mmol) và diisopropyletylamin (0,12mL, 0,71mmol) trong axetonitril (1,0mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Metylamin ($c = 2 \text{ mol/L}$, 1,0mL; 2,00mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbamat và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng axit axetic và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 43mg. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 548$; thời gian duy trì HPLC: 0,99 phút (Z018_S04).

Các ví dụ từ D.4.1 đến D.4.10 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả trong ví dụ D.4, sử dụng các nguyên liệu khởi đầu lần lượt được nêu rõ trong bảng sau.

Bảng 7

Ví dụ	Nguyên liệu khởi đầu	Công thức cấu trúc	MS [M+H] +	Thời gian duy trì [phút]	Phương pháp HPLC:
D.4.1	Ví dụ D.2 (etyl amin thay cho metyl amin)		562	1,03	Z018_S04
D.4.2	Ví dụ D.2.1		534	0,95	Z018_S04
D.4.3	Ví dụ D.2,1 (etyl amin thay cho metyl amin)		548	1,05	Z018_S04
D.4.4	Ví dụ D.2.2		534	0,97	Z018_S04

D.4.5	Ví dụ D.2,2 (etyl amin thay cho metyl amin)		548	1,01	Z018_S04
D.4.6	Ví dụ D.2.3		544 (mẫu đồng vị brom)	0,92	Z018_S04
D.4.7	Ví dụ D.2,3 (etyl amin thay cho metyl amin)		558 (mẫu đồng vị brom)	0,96	Z018_S04
D.4.8	Ví dụ D.2.4		500 (mẫu đồng vị clo)	0,88	Z017_S04
D.4.9	Ví dụ D.2.4 (etyl amin thay cho metyl amin)		514 (mẫu đồng vị clo)	0,93	Z017_S04

D.4,10*	Hợp chất trung gian D.6A	 (Chất đồng phân đối ảnh)	548	1,00	Z018_S04
---------	--------------------------------	--	-----	------	----------

*Vì hợp chất trung gian nguyên liệu khởi đầu D.6.A là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, giả sử rằng, hợp chất trong ví dụ D.4,10 là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh và có cấu hình tương tự như nguyên liệu khởi đầu.

Ví dụ D.4.1A và ví dụ D.4.1B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ D.4.1

Các chất đồng phân đối ảnh của etylamit của axit 4-(4-xyano-2-etansulfonyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(2-triflometyl-pyridin-4-yl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentaprimidin-3-cacboxylic triệt quang (ví dụ D.4,1, 127mg, 0,226mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IA, 10 x 250mm, 5µm, MeOH 25% trong CO₂ siêu tới hạn, nhiệt độ 40°C, áp suất đối kháng 120 bar).

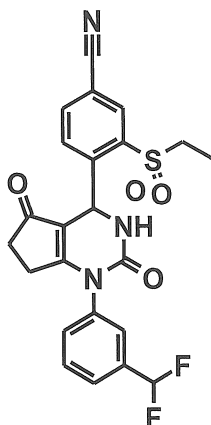
Ví dụ D.4.1A:

Hiệu suất 56mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 562$; thời gian duy trì: 1,51 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IA_25_MeOH_NH₃).

Ví dụ D.4.1B:

Hiệu suất 54mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 562$; thời gian duy trì: 2,59 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IC_25_MeOH_NH₃).

Ví dụ D.5



4-[1-(3-Diflometyl-phenyl)-2,5-dioxo-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril

Trietylamin (238 μ L, 1,699mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-{amino-[2-(3-diflometyl-phenylamino)-5-oxo-xyclopent-1-enyl]-metyl}-3-etansulfonyl-benzonitril hydroclorua (Hợp chất trung gian D.9, 1,516g, độ tinh khiết 90%, 2,831mmol) và 1,1'-cacbonyldiimidazol (551mg, 3,40mmol) trong axetonitril (10mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm và phần còn lại được xử lý bằng nước. Chất kết tủa được lọc ra và làm khô. Hiệu suất: 1,24g. Phổ khối ESI: $[M+H]^+ = 472$; thời gian duy trì HPLC: 0,92 phút (Z017_S04).

Ví dụ D.5A và ví dụ D.5B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ D.5

Các chất đồng phân đối ảnh của 4-[1-(3-diflometyl-phenyl)-2,5-dioxo-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril triệt quang (ví dụ D.5, 490mg, 1,04mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Lux C1, 20 x 250mm, 5 μ m, MeOH, tốc độ dòng 21mL/phút).

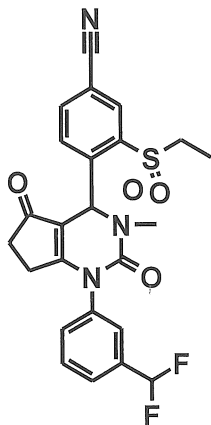
Ví dụ D.5A:

Hiệu suất 262mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 472$; thời gian duy trì: 2.95 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IB_20_MeOH_NH₃).

Ví dụ D.5B:

Hiệu suất 223mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 472$; thời gian duy trì: 3,66 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải muộn) (I_IB_20_MeOH_NH₃).

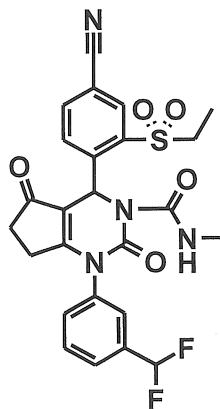
Ví dụ D.6



4-[1-(3-Difluoromethyl-phenyl)-3-methyl-2,5-dioxo-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril

Metyliodua (20 μ L, 0,32mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-[1-(3-difluoromethyl-phenyl)-2,5-dioxo-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril (ví dụ D.5, 50mg, 0,106mmol) và xesi cacbonat (69mg, 0,212mmol) trong DMF (1mL), và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tình chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 36mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 486$; thời gian duy trì HPLC: 0,79 phút (005_CA01).

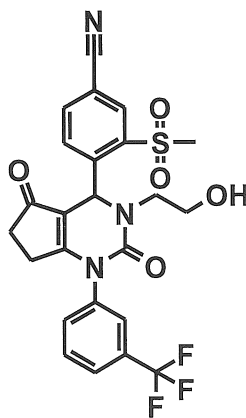
Ví dụ D.7



Metylamin của axit 4-(4-xyano-2-etansulfonyl-phenyl)-1-(3-diflometyl-phenyl)-2,5-dioxo-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-cacboxylic

4-Nitrophenylcloformat (23mg; 0,12mmol) được bổ sung vào hỗn hợp của 4-[1-(3-diflometyl-phenyl)-2,5-dioxo-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-etansulfonyl-benzonitril (ví dụ D.5; 50mg; 0,106mmol), DIPEA (72 μ L; 0,42mmol) và 4-dimetylaminopyridin (14mg; 0,12mmol) trong axetonitril (1mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 2 giờ. Bổ sung 4-nitrophenylcloformat (23mg; 0,12mmol) vào đó và phản ứng được khuấy trong thời gian 1 giờ. Metylamin (2M trong THF, 159 μ L; 0,318mmol) được bổ sung vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian 4-nitrophenyl cacbamat và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp HPLC pha đảo (Stablebond, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 32mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 529$; thời gian duy trì HPLC 0,98 phút (Z017_S04).

Ví dụ E.1

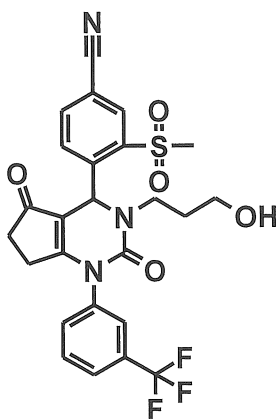


4-[3-(2-Hydroxy-ethyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfonyl-benzonitril

2-[4-(4-xyano-2-metansulfonyl-phenyl)-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-1,2,4,5,6,7-hexahydro-xyclopentapyrimidin-3-yl]-etyl este của axit axetic (Hợp chất trung gian E.4, 40mg, 0,071mmol) được khuấy với axit trifloaxetic (2,0mL, 26mmol) ở nhiệt độ 60°C qua đêm và hỗn hợp được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được khuấy với axetonitril và nước trong thời gian 2 giờ ($\rightarrow$ quá trình thủy phân este của

axit trifloaxetic) và sau đó, tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 17mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 520$; thời gian duy trì HPLC: 0,96 phút (Z018_S04).

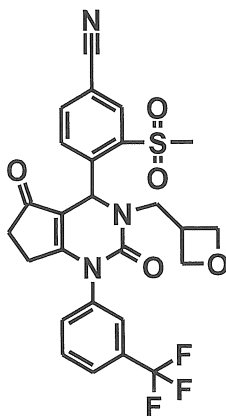
Ví dụ E.2



(Chất đồng phân đối ảnh)

4-[3-(3-Hydroxy-propyl)-2,5-dioxo-1-(3-trifluoromethyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-3-metansulfonyl-benzonitril

Bổ sung 3-bromo-1-propanol (55μL, 0,63mmol) vào hỗn hợp của 4-(2,5-dioxo-1-(3-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl)-3-(metylsulfonyl)benzonitril (Hợp chất trung gian E.3A, chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm, 150mg, 0,32mmol) và xesi cacbonat (206mg, 0,63mmol) trong DMF (2,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng nước đá, axit hóa bằng axit trifloaxetic và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 40mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 534$; thời gian duy trì HPLC: 0,97 phút (Z018_S04). Vì nguyên liệu khởi đầu là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh, giả sử rằng, hợp chất trong ví dụ E.2 là tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh và có cấu hình tương tự như nguyên liệu khởi đầu.

Ví dụ E.3

3-Metansulfonyl-4-[3-oxetan-3-ylmethyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril

Bổ sung 3-bromometyl-oxetan (95mg, 0,63mmol) vào hỗn hợp của 4-(2,5-dioxo-1-(3-(triflometyl)phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl)-3-(metylsulfonyl)benzonitril (Hợp chất trung gian E.3, 150mg, 0,32mmol) và xesi cacbonat (206mg, 0,63mmol) trong DMF (2,0mL) và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được xử lý bằng nước đá, axit hóa bằng axit trifloaxetic và tinh chế bằng phương pháp HPLC pha đảo (Waters SunFire™-C₁₈, gradient của axetonitril trong nước, TFA 0,1%). Hiệu suất: 55mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 546; thời gian duy trì HPLC: 1,01 phút (Z018_S04).

Ví dụ E.3A và ví dụ E.3B: Các chất đồng phân đối ảnh của ví dụ E.3

Các chất đồng phân đối ảnh của 3-metansulfonyl-4-[3-oxetan-3-ylmethyl-2,5-dioxo-1-(3-triflometyl-phenyl)-2,3,4,5,6,7-hexahydro-1H-xyclopentapyrimidin-4-yl]-benzonitril triệt quang (ví dụ E.3, 55mg, 0,065mmol) được tách bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn điều chế trên pha không đối xứng (Daicel Chiralpak IC, 10 x 250mm, 5μm, MeOH 30% + 20 mM NH₃ trong CO₂ siêu tới hạn, nhiệt độ 40°C, áp suất đối kháng 120 bar).

Ví dụ E.3A:

Hiệu suất 11mg; Phổ khối ESI [M+H]⁺ = 546; thời gian duy trì: 4,12 phút (chất đồng phân đối ảnh rửa giải sớm) (I_IC_30_MeOH_NH₃).

Ví dụ E.3B:

Hiệu suất 11mg; Phổ khối ESI $[M+H]^+ = 546$; thời gian duy trì: 4,66 phút (chất đồng phân đổi ảnh rửa giải muện) (I_IC_30_MeOH_NH₃).

Dữ liệu được lý

Các dấu hiệu và lợi thế khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng từ các ví dụ cụ thể sau đây, các ví dụ này nhằm để minh họa cho các nguyên lý của sáng chế.

Thử nghiệm về elastaza của bạch cầu trung tính người

Nguyên liệu: Elastaza của bạch cầu trung tính người được mua từ Calbiochem (Cat.No.: 324681) và nền elastaza MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC từ Bachem (Cat.No.: I-1270). Tất cả các nguyên liệu khác đều có sẵn trên thị trường thuộc loại tốt nhất.

Các dung dịch đệm sau được sử dụng: Dung dịch đệm hợp chất: 100mM Tris, 500mM NaCl, được hiệu chỉnh tới độ pH 7,5; Dung dịch đệm thử nghiệm: 100mM Tris, 500mM NaCl, được hiệu chỉnh tới độ pH 7,5, chứa BSA 0,01%.

Các điều kiện thử nghiệm: Các hợp chất thử nghiệm được pha loãng trước trong DMSO và sau đó trong dung dịch đệm hợp chất (nồng độ cuối DMSO 5%). 5μL của các dung dịch pha loãng hợp chất này được trộn kết hợp với 10μL elastaza của bạch cầu trung tính (9ng/ml trong dung dịch đệm thử nghiệm) trong một đĩa 384 lỗ màu đen OptiPlate (Perkin Elmer, Cat No.: 6007270) và được ủ trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, 10μL dung dịch nền trong dung dịch đệm thử nghiệm được bổ sung (250μM nồng độ cuối) và đĩa được ủ trong thời gian 60 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi bắt hoạt enzym, cường độ huỳnh quang được đo tại bước sóng kích thích 380nm và tại bước sóng phát xạ 460nm.

Mỗi một đĩa chứa các lỗ có đối chứng giá trị cao (DMSO+enzym+nền) và các lỗ có đối chứng giá trị thấp (DMSO+enzym bất hoạt+nền). Các giá trị IC₅₀ được lượng tính sử dụng đường cong đáp ứng nồng độ dạng chữ S có độ dốc thay đổi. Giá trị trung bình của các giá trị thấp được lấy là 0%, giá trị trung bình của các giá trị cao là 100%. Giá trị IC₅₀ của các hợp chất lựa chọn trong thử nghiệm về elastaza của bạch cầu trung tính được liệt kê trong bảng 8.

Bảng 8

Ví dụ	IC ₅₀ [nM]
A.1	1,6
A.1A	<1
A.1B	2780
A.2	<1
A.3	<1
B.1	2,1
B.1.1	5,7
B.1.2A	224
B.1.2B	<1
B.1.3A	<1
B.1.3B	11
B.1.4	<1
C.1A	1825
C.1B	<1
C.2A	<1
C.2B	13
C.3	<1
C.4.1	5,2
C.4.2	8,9
C.5.1	1,9
C.5.2	1,9
C.6.1	<1
C.6.2	<1
D.1A	2,6
D.1B	19
D.2	24
D.2.1	60
D.2.2	65

Ví dụ	IC ₅₀ [nM]
D.2.3	101
D.2.4	103
D.3	4,0
D.3A	2810
D.3B	1,4
D.3.1	8,8
D.3.2	9,5
D.3.3	13
D.3.4	8,1
D.4	<1
D.4.1	<1
D.4.1A	<1
D.4.1B	338
D.4.2	<1
D.4.3	<1
D.4.4	<1
D.4.5	<1
D.4.6	1,2
D.4.7	<1
D.4.8	<1
D.4.9	<1
D.4.10	<1
D.5	5,5
D.5A	2,2
D.5B	892
D.6	<1
D.7	<1
E.1	<1

Ví dụ	IC ₅₀ [nM]
E.2	<1
E.3A	<1
E.3B	106

Thử nghiệm để xác định hoạt tính ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính trong huyết tương người

Máu xitrat hóa từ người cho khỏe mạnh được trộn kết hợp với huyền phù zymosan và được ủ ở nhiệt độ trong phòng. Quá trình này dẫn đến sự kích thích bạch cầu trung tính và phóng thích elastaza của bạch cầu trung tính vào trong huyết tương. Máu đã kích thích được li tâm để tạo ra huyết tương được làm giàu elastaza của bạch cầu trung tính.

Điều chế dung dịch zymosan hoạt động:

Zymosan (100mg) được trộn kết hợp với nước muối sinh lý (0,9%, 10mL) và được bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong thời gian tới một tuần (lưu ý: zymosan không hòa tan trong nước muối sinh lý và được sử dụng ở dạng huyền phù).

Kích thích máu toàn phần:

- Một mẫu máu duy nhất 45ml được đưa vào trong ống thể tích 50ml chứa xitrat (3,13%, 5mL) và ống được lộn ngược nhẹ nhàng 4 lần.
- Ngay sau lấy mẫu máu, dung dịch zymosan hoạt động (5mL) được bổ sung.
- Sau khi bổ sung dung dịch zymosan hoạt động, các ống được đậy kín, lắc trộn nhẹ nhàng và được ủ ở nhiệt độ 22°C trong thời gian 15 phút trên dụng cụ lắc với tốc độ 20 vòng/phút.
- Tạo ra các phần phân ước 10ml sau thời gian ủ.
- Ly tâm các ống 15ml với tốc độ 800g trong thời gian 15 phút ở nhiệt độ 4°C trong thiết bị ly tâm Jouan.
- Thu hoạch huyết tương và tạo ra các phần phân ước 1 đến 5ml.

- Bảo quản huyết tương ở nhiệt độ -80°C .

Các nồng độ khác của chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính được ủ cùng với huyết tương. Sau đó, hoạt tính enzym được xác định sử dụng nền sinh huỳnh quang MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC (Bachem Cat. No. I-1270, nồng độ nền: $250\mu\text{M}$, $\text{pH} = 7,5$, dung dịch đệm TRIS 25mM , NaCl 250mM) theo cách tương tự như được mô tả đối với thử nghiệm bạch cầu trung tính người. Đường cong đáp ứng liều lượng được tạo ra để tính toán EC_{50} của chất ức chế. Phân tích dữ liệu được thực hiện bằng cách tính toán tỷ lệ % huỳnh quang với sự có mặt của hợp chất thử nghiệm so với huỳnh quang của đối chứng chất mang sau khi trừ đi huỳnh quang cơ sở: Chất ức chế enzym elastaza của bạch cầu trung tính sẽ tạo ra các giá trị nằm trong khoảng giữa đối chứng 100% (không ức chế) và đối chứng 0% (ức chế hoàn toàn).

Giá trị EC_{50} của các hợp chất lựa chọn trong thử nghiệm huyết tương người mô tả ở trên được liệt kê trong bảng 9.

Bảng 9

Ví dụ	EC ₅₀ [μM]
A.1A	0,002
A.2	0,001
A.3	0,001
B.1.2B	0,001
B.1.3A	0,001
C.1B	0,001
C.2A	0,002
C.5.1	0,002
C.5.2	0,001
D.1A	0,001
D.3B	0,001
D.4.1A	<0,001
D.4.4	0,002
D.4.5	0,001
D.5A	0,001

Thử nghiệm để xác định độ ổn định chuyển hóa bằng các tiểu thể gan người

Sự thoái biến do chuyển hóa của hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C bằng các tiểu thể gan người tập hợp. Thể tích ủ sau cùng 100μl cho mỗi thời điểm chứa dung dịch đệm TRIS pH 7,6 (0,1M), magie clorua (5mM), protein tiểu thể (1mg/ml) và hợp chất thử nghiệm ở nồng độ cuối 1μM. Tiếp sau một giai đoạn ủ sơ bộ ngắn ở nhiệt độ 37°C, phản ứng được khởi đầu bằng cách bổ sung beta-nicotinamit adenin dinucleotit phosphat ở dạng khử của nó (NADPH, 1mM) và được hoàn thành bằng việc chuyển một lượng phân ước vào trong axetonitril sau các thời điểm khác nhau. Ngoài ra, sự phân hủy không phụ thuộc NADPH được theo dõi trong các phần ủ không có NADPH, được hoàn thành tại thời điểm cuối cùng. [%] hợp chất thử nghiệm còn lại sau khi ủ độc lập NADPH được phản ánh bằng thông số c(đối chứng)

(độ ổn định chuyển hóa). Các dung dịch ủ đã làm dừng được tạo viên bằng cách ly tâm (10'000g, 5 phút). Lượng phân ước của lớp nổi trên bề mặt được thử nghiệm bằng phương pháp LC-MS/MS về lượng hợp chất gốc.

Thời gian bán hủy ($t_{1/2}$ INVITRO) được xác định bằng độ dốc của đồ thị bán logarit của biên dạng nồng độ - thời gian. Độ thanh thải nội tại (CL_INTRINSIC) được tính toán bằng cách xem xét lượng protein trong phần ủ:

$$CL_INTRINSIC [\mu\text{l}/\text{phút}/\text{mg protein}] = (\ln 2 / (\text{thời gian bán hủy [phút]} * \text{hàm lượng protein [mg/ml]})) * 1'000.$$

Giá trị thời gian bán hủy ($t_{1/2}$ INVITRO) của các hợp chất lựa chọn in the thử nghiệm về độ ổn định chuyển hóa mô tả ở trên được liệt kê trong bảng 10.

Bảng 10

Ví dụ	$t_{1/2}$ INVITRO [phút]
A.2	>130
A.3	>130
B.1.2B	>130
B.1.3A	91
C.1B	93
C.2A	>130
C.5.1	110
C.5.2	>130
D.1A	>130
D.3B	120
D.4.1A	>130
D.4.4	>130
D.4.5	>130
D.5A	>130

Thử nghiệm để xác định độ ổn định chuyển hóa bằng các tế bào gan người

Sự thoái biến do chuyển hóa của hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm trong huyền phù tế bào gan người. Tế bào gan người (tốt hơn được bảo quản lạnh) được ủ trong hệ dung dịch đệm thích hợp (ví dụ, môi trường Eagle được cải biến của Dulbecco công thêm 3,5µg glucagon / 500mL, 2,5mg insulin / 500mL và 3,75mg / 500mL hydrocortison) chứa 5% huyết thanh loài. Sau thời gian ủ sơ bộ (điển hình) 30 phút trong thiết bị ủ (37°C, 10% CO₂), 5µl dung dịch hợp chất thử nghiệm (80µM; từ dung dịch gốc 2mM trong DMSO được pha loãng theo tỷ lệ 1:25 với môi trường) được bổ sung vào 395µl huyền phù tế bào gan (mật độ tế bào nằm trong khoảng từ 0,25-5*10⁶ tế bào/mL, tốt hơn là 1*10⁶ tế bào/mL; nồng độ cuối của hợp chất thử nghiệm là 1µM, nồng độ DMSO cuối là 0,05%). Tế bào được ủ trong thời gian 6 giờ (thiết bị ủ, thiết bị lắc tròn) và các mẫu (25µl) được lấy tại các thời điểm 0, 0,5, 1, 2, 4 và 6 giờ. Các mẫu được chuyển vào trong axetonitril và được tạo viên bằng cách ly tâm (5 phút). Lớp nổi trên bề mặt được chuyển sang một đĩa 96 lỗ sâu mới, được làm bay hơi trong môi trường nitơ và được tái tạo huyền phù. Sự sụt giảm của hợp chất gốc được phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS.

Độ thanh thải nội tại CL_{INTRINSIC} được tính toán như sau:

$$CL_{INTRINSIC} = \text{Liều lượng} / AUC = (C_0/CD) / (AUD + c_{\text{sau cùng}}/k) * 1'000/60$$

(C₀: nồng độ ban đầu trong phần ủ [µM], CD: mật độ tế bào của các tế bào sống [10⁶ tế bào/mL], AUD: diện tích dưới dữ liệu [µM * h], c_{sau cùng}: nồng độ của điểm dữ liệu sau cùng [µM], k: độ nghiêng của đường hồi quy của đoạn dốc ban đầu [h⁻¹])

Độ thanh thải nội tại của gan *in vitro* theo tính toán có thể được tăng lên tới độ thanh thải nội tại của gan *in vivo* và được sử dụng để dự đoán độ thanh thải của máu trong gan *in vivo* (CL) bằng cách sử dụng mẫu gan (mẫu được khuấy đều):

$$CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [ml/phút/kg]} = (CL_INTRINSIC \text{ [}\mu\text{L/phút/10}^6 \text{ tế bào]} * \text{tế bào gan [10}^6 \text{ tế bào/g gan]} * \text{yếu tố gan [g/kg thể trọng]}) / 1'000$$

$$CL \text{ [ml/phút/kg]} = CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [ml/phút/kg]} * \text{dòng máu qua gan [ml/phút/kg]} / (CL_INTRINSIC_INVIVO \text{ [ml/phút/kg]} + \text{dòng máu qua gan [ml/phút/kg]})$$

$$Q_h \text{ [%]} = CL \text{ [ml/phút/kg]} / \text{dòng máu qua gan [ml/phút/kg]}$$

(tế bào gan, của người: $120 \cdot 10^6$ tế bào / g gan; yếu tố gan, của người: 25,7 g / kg thể trọng; dòng máu, của người: 21 ml/(phút * kg))

Dựa vào thử nghiệm này, hợp chất trong ví dụ C.2A thể hiện độ thanh thải của máu trong gan *in vivo* dự đoán bằng 3% dòng máu qua gan của người.

Thử nghiệm để xác định sự vận chuyển thuốc qua tế bào Caco-2 của người

Thử nghiệm cung cấp thông tin về tiềm năng của hợp chất di chuyển qua màng tế bào, trong phạm vi hấp thu theo đường uống cũng như về vấn đề liệu hợp chất có được vận chuyển một cách tích cực thông qua sự hấp thu và/hoặc các yếu tố vận chuyển ra. Để đánh giá tính thấm qua các tế bào ung thư biểu mô đại tràng người phân cực, hợp dòng 2 (Caco-2), các lớp đơn tế bào sinh trưởng trong giá lọc có thể thâm qua được sử dụng làm mẫu hấp thu *in vitro*.

Hệ số thẩm thấu biểu kiến (PE) của các hợp chất qua các lớp đơn Caco-2 được đo (pH = 7,2, nhiệt độ 37°C) theo chiều vận chuyển từ đỉnh đến đáy (AB: apical-to-basal) (hấp thu) và chiều từ đáy đến đỉnh (BA: basal-to-apical) (bài tiết). Tính thấm AB (PEAB) biểu thị sự hấp thu thuốc từ ruột vào trong máu và tính thấm BA (PEBA) là sự bài tiết thuốc từ máu trở lại vào trong ruột thông qua cả tính thấm thụ động cũng như các cơ chế vận chuyển chủ động qua trung gian bởi các yếu tố vận chuyển dòng ra và các yếu tố vận chuyển hấp thu được biểu hiện trên các tế bào Caco-2. Các hợp chất được phân theo các loại tính thấm/hấp thu bằng cách so sánh tính thấm AB với tính thấm AB của các hợp chất tham chiếu có tính thấm *in vitro* đã biết và hấp thu theo đường uống ở người. Tính thấm giống nhau hoặc tương tự theo cả hai chiều vận chuyển cho biết sự thẩm thấu thụ động, tính thấm có hướng hướng tới các cơ chế vận

chuyển tích cực bổ sung. PEBA cao hơn PEAB cho biết sự liên quan của chất vận chuyển ra ở đỉnh (như P-gp) và/hoặc chất vận chuyển vào ở vùng đáy bên; tính thấm PEAB cao hơn PEBA cho thấy sự liên quan của chất vận chuyển vào ở đỉnh (như PepT1) và/hoặc chất vận chuyển ra ở vùng đáy bên (như MRP3). Vận chuyển tích cực là có thể bão hòa phụ thuộc vào nồng độ.

Các tế bào Caco-2 ($1-2 \times 10^5$ tế bào/cm² diện tích) được cấy lên các dụng cụ lọc xen vào (các dụng cụ lọc polycarbonat hoặc PET Costar transwell, cỡ lỗ 0,4µm) và được nuôi cấy (DMEM) trong thời gian 10 đến 25 ngày.

Các hợp chất được hòa tan trong dung môi thích hợp (như DMSO, dung dịch gốc 1 đến 20mM). Dung dịch gốc được pha loãng bằng dung dịch đệm HTP-4 (NaCl 128,13mM, KCl 5,36mM, MgSO₄ 1mM, CaCl₂ 1,8mM, NaHCO₃ 1,8mM, Na₂HPO₄·7H₂O 1,19mM, NaH₂PO₄·H₂O 0,41mM, HEPES 15mM, glucoza 20mM, pH = 7,2) để điều chế các dung dịch vận chuyển (điển hình là hợp chất 10µM, DMSO cuối cùng ≤ 0,5%). Dung dịch vận chuyển (TL) được áp dụng lên phía cho ở vùng đỉnh hoặc vùng đáy bên để lần lượt xác định tính thấm A-B hoặc B-A (3 lần lọc lặp lại). Phía nhận chứa dung dịch đệm HTP-4 có bổ sung BSA 2%. Các mẫu được tập hợp khi khởi đầu và kết thúc thử nghiệm từ phía cho và với các khoảng giãn cách khác nhau trong thời gian tới 2 giờ cũng từ phía nhận để xác định nồng độ bằng phương pháp LC-MS/MS hoặc phương pháp đếm nhấp nháy. Các thể tích nhận lấy mẫu được thay thế bằng dung dịch nhận mới.

Hệ số thấm biểu kiến (PEAB và PEBA) của các hợp chất lựa chọn trong thử nghiệm vận chuyển thuốc Caco-2 mô tả ở trên được liệt kê trong bảng 11.

Bảng 11

Ví dụ	PEAB [cm/s]	PEBA [cm/s]
A.1A	0,000053	0,000098
A.2	0,000092	0,000080
A.3	0,000067	0,000087
B.1.2B	0,000012	0,000120
B.1.3A	0,0000099	0,000130
C.1B	0,0000037	0,000041
C.2A	0,000013	0,000073
C.5.1	0,0000071	0,000057
C.5.2	0,000016	0,000082
D.1A	0,000019	0,000081
D.3B	0,000021	0,000085
D.4.1A	0,0000036	0,000061
D.4.4	0,0000031	0,000060
D.4.5	0,0000073	0,000067
D.5A	0,0000075	0,000078

Thử nghiệm để xác định độ hòa tan trong nước (“Phương pháp lưu lượng cao”)

Độ hòa tan trong nước của hợp chất được xác định bằng cách so sánh lượng hòa tan trong dung dịch đậm nước (chứa DMSO 2,5%) với lượng hòa tan trong dung dịch axetonitril/nước (tỷ lệ 1/1). Khởi đầu từ dung dịch gốc DMSO 10mM, các phần phân ước được pha loãng lần lượt bằng axetonitril/nước (tỷ lệ 1/1) và dung dịch đậm McIlvaine, pH = 6,8. Sau thời gian lắc 24 giờ, các dung dịch hoặc huyền phù được lọc và được phân tích bằng LC-UV. Lượng hòa tan trong dung dịch đậm được so sánh với lượng hòa tan trong dung dịch axetonitril/nước (tỷ lệ 1/1). Độ hòa tan đo được nằm trong khoảng từ 0,001 đến 0,125mg/ml tại nồng độ DMSO là 2,5%. Nếu hơn 90% hợp chất được hòa tan trong dung dịch đậm, giá trị được đánh dấu là ">".

Độ hòa tan trong nước của các hợp chất lựa chọn trong thử nghiệm về độ hòa tan mô tả ở trên được liệt kê trong bảng 12.

Bảng 12

Ví dụ	Độ hòa tan trong nước [mg/mL]
A.1A	0,058
A.3	0,065
B.1.2B	0,073
B.1.3A	0,093
C.1B	0,061
C.2A	0,058
C.5.1	0,086
C.5.2	0,069
D.4.1A	0,081
D.4.5	0,078
D.5A	0,067

Thử nghiệm để xác định độ hòa tan trong nước (“Phương pháp bình lắc”)

Các dung dịch bão hòa được điều chế trong các đĩa lỗ bằng cách bổ sung một thể tích thích hợp của môi trường nước lựa chọn (điển hình nằm trong khoảng từ 0,25 đến 1,5mL) vào trong mỗi một lỗ mà các lỗ này chứa một lượng đã biết của dược chất rắn (điển hình nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5,0mg). Các lỗ được lắc hoặc khuấy trong một thời gian xác định trước (điển hình nằm trong khoảng từ 2 đến 24 giờ) và sau đó, tiến hành lọc sử dụng màng lọc thích hợp (điển hình từ các màng lọc PTFE có cỡ lỗ 0,45µm). Sự hấp thụ của màng lọc được phòng tránh bằng cách loại bỏ một số giọt dịch lọc đầu tiên. Lượng dược chất hòa tan được xác định bằng phương pháp quang phổ UV hoặc bằng phương pháp HPLC với kỹ thuật phát hiện UV. Ngoài ra, độ pH của dung dịch nước bão hòa được đo sử dụng đồng hồ đo độ pH điện cực thủy tinh.

Hợp chất trong các ví dụ ở bảng 12 thể hiện độ hòa tan >0,01mg/mL tại độ pH 6,8 (dung dịch đệm McIlvaine) trong thử nghiệm về độ hòa tan này.

Thử nghiệm để xác định sự ức chế cytochrom P450 2C9

Sự ức chế quá trình hydroxyl hóa Diclofenac xúc tác bởi đồng enzym cytochrom P450 2C9 bởi hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C bằng các tiểu thể gan người. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trên hệ rôbot trong các đĩa 96 lỗ. Thể tích ủ cuối cùng chứa dung dịch đệm TRIS (0,1M), MgCl₂ (5mM), tiểu thể gan người (0,1mg/ml), Diclofenac (10µM) và hợp chất thử nghiệm tại 5 nồng độ khác nhau hoặc không có hợp chất nào (đối chứng cao) lặp lại hai lần (ví dụ, nồng độ cao nhất từ 10 đến 50µM với loạt pha loãng tỷ lệ 1:4 sau đó). Sau một thời gian ủ sơ bộ ngắn, các phản ứng được khởi đầu bằng nhân tố cùng tác động (NADPH, 1mM) và được làm dừng bằng cách làm lạnh dung dịch ủ xuống nhiệt độ 8°C và sau đó bổ sung một thể tích của axetonitril. Dung dịch nội chuẩn - thông thường là chất đồng vị ổn định của chất chuyển hóa tạo ra - được bổ sung sau khi làm dừng các dung dịch ủ. Chất phân tích tại diện tích đỉnh (= chất phân tích tạo ra) và nội tiêu chuẩn được xác định bằng phương pháp LC-MS/MS. Tỷ lệ chất phân tích tại diện tích đỉnh tạo ra trên nội tiêu chuẩn trong các dung dịch ủ này được so sánh với hoạt tính đối chứng không chứa hợp chất thử nghiệm. Trong mỗi một lô thử nghiệm, IC₅₀ của chất ức chế đối chứng dương (sulfaphenazol) được xác định. Các giá trị IC₅₀ thực nghiệm được tính toán bằng phương pháp hồi quy bình phương tối thiểu theo phương trình sau:

$$\% \text{ hoạt tính đối chứng} = (100\% \text{ hoạt tính đối chứng} / (1 + (I/IC_{50}) * S)) - B$$

(I = nồng độ chất ức chế, S = hệ số dốc, B = hoạt tính cơ sở)

Nếu như sự ức chế phản ứng đã là >50% ở nồng độ hợp chất thử nghiệm thấp nhất, thì IC₅₀ được ấn định là "< nồng độ thấp nhất được thử nghiệm" (thông thường <0,4µM). Nếu như sự ức chế phản ứng vẫn <50% ở nồng độ hợp chất thử nghiệm cao nhất, thì IC₅₀ được ấn định là "> nồng độ cao nhất được thử nghiệm" (thông thường >50µM). Ví dụ A.1A, ví dụ B.1,2B và ví dụ C.2A thể hiện các giá trị IC₅₀ > 50µM trong thử nghiệm này.

Thử nghiệm để xác định sự ức chế cytochrom P450 2C19

Sự ức chế quá trình hydroxyl hóa Mephenytoin xúc tác bởi đồng enzym cytochrom P450 2C19 bởi hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C bằng các tiểu thể gan người. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trên hệ robot trong các đĩa 96 lỗ. Thể tích ủ cuối cùng chứa dung dịch đệm TRIS (0,1M), MgCl₂ (5mM), tiểu thể gan người (0,5mg/ml), (*S*)-Mephenytoin (70μM) và hợp chất thử nghiệm tại 5 nồng độ khác nhau hoặc không có hợp chất nào (đối chứng cao) lặp lại hai lần (ví dụ, nồng độ cao nhất từ 10 đến 50μM với loạt pha loãng tỷ lệ 1:4 sau đó). Sau một thời gian ủ sơ bộ ngắn, các phản ứng được khởi đầu bằng nhân tố cùng tác động (NADPH, 1mM) và được làm dừng bằng cách làm lạnh dung dịch ủ xuống nhiệt độ 8°C và sau đó bổ sung một thể tích của axetonitril. Dung dịch nội chuẩn - thông thường là chất đồng vị ổn định của chất chuyển hóa tạo ra - được bổ sung sau khi làm dừng các dung dịch ủ. Chất phân tích tại diện tích đỉnh (= chất phân tích tạo ra) và nội tiêu chuẩn được xác định bằng phương pháp LC-MS/MS. Tỷ lệ chất phân tích tại diện tích đỉnh tạo ra trên nội tiêu chuẩn trong các dung dịch ủ này được so sánh với hoạt tính đối chứng không chứa hợp chất thử nghiệm. Trong mỗi một lô thử nghiệm, IC₅₀ của chất ức chế đối chứng dương (tranylxypromin) được xác định. Các giá trị IC₅₀ thực nghiệm được tính toán bằng phương pháp hồi quy bình phương tối thiểu theo phương trình sau:

$$\% \text{ hoạt tính đối chứng} = (100\% \text{ hoạt tính đối chứng} / (1 + (I/IC_{50}) * S)) - B$$

(I = nồng độ chất ức chế, S = hệ số dốc, B = hoạt tính cơ sở)

Nếu như sự ức chế phản ứng đã là >50% ở nồng độ hợp chất thử nghiệm thấp nhất, thì IC₅₀ được ấn định là "< nồng độ thấp nhất được thử nghiệm" (thông thường <0,4μM). Nếu như sự ức chế phản ứng vẫn <50% ở nồng độ hợp chất thử nghiệm cao nhất, thì IC₅₀ được ấn định là "> nồng độ cao nhất được thử nghiệm" (thông thường >50μM). Ví dụ A.1A, ví dụ B.1,2B và ví dụ C.2A thể hiện các giá trị IC₅₀ > 50μM trong thử nghiệm này.

Thử nghiệm để xác định sự ức chế cytochrom P450 2C8

Sự ức chế quá trình deetyl hóa Amodiaquin xúc tác bởi đồng enzym cytochrom P450 2C8 bởi hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C với các tiểu thể

gan người. Tất cả các thử nghiệm được thực hiện trên hệ robot trong các đĩa 96 lỗ. Thẻ tích ủ cuối cùng chứa dung dịch đệm TRIS (0,1M), $MgCl_2$ (5mM), tiểu thể gan người (0,05mg/ml), Amodiaquin ($1\mu M$) và hợp chất thử nghiệm tại 5 nồng độ khác nhau hoặc không có hợp chất nào (đối chứng cao) lặp lại hai lần (ví dụ, nồng độ cao nhất từ 10 đến $50\mu M$ với loạt pha loãng tỷ lệ 1:4 sau đó). Sau một thời gian ủ sơ bộ ngắn, các phản ứng được khởi đầu bằng nhân tố cùng tác động (NADPH, 1mM) và được làm dừng bằng cách làm lạnh dung dịch ủ xuống $8^\circ C$ và sau đó bổ sung một thể tích của axetonitril. Dung dịch nội chuẩn - thông thường là chất đồng vị ổn định của chất chuyển hóa tạo ra - được bổ sung sau khi làm dừng các dung dịch ủ. Chất phân tích tại diện tích đỉnh (= chất phân tích tạo ra) và nội tiêu chuẩn được xác định bằng phương pháp LC-MS/MS. Chất phân tích tỷ lệ tại diện tích đỉnh tạo ra với nội tiêu chuẩn trong các dung dịch ủ này được so sánh hoạt động đối chứng không chứa hợp chất thử nghiệm. Trong mỗi một lô thử nghiệm, IC_{50} của chất ức chế đối chứng dương (Montelukast) được xác định. Các giá trị IC_{50} thực nghiệm được tính toán bằng phương pháp hồi quy bình phương tối thiểu theo phương trình sau:

$$\% \text{ hoạt tính đối chứng} = (100\% \text{ hoạt tính đối chứng} / (1 + (I/IC_{50}) * S)) - B$$

(I = nồng độ chất ức chế, S = hệ số dốc, B = hoạt tính cơ sở)

Nếu như sự ức chế phản ứng đã là $>50\%$ ở nồng độ hợp chất thử nghiệm thấp nhất, thì IC_{50} được ấn định là "< nồng độ thấp nhất được thử nghiệm" (thông thường $<0,4\mu M$). Nếu như sự ức chế phản ứng vẫn $<50\%$ ở nồng độ hợp chất thử nghiệm cao nhất, thì IC_{50} được ấn định là "> nồng độ cao nhất được thử nghiệm" (thông thường $>50\mu M$). Ví dụ A.1A, ví dụ B.1,2B và ví dụ C.2A thể hiện các giá trị $IC_{50} > 50\mu M$ trong thử nghiệm này.

Thử nghiệm để xác định sự cảm ứng cytochrom P450

Để đánh giá sự cảm ứng chuyển hóa enzyme CYP3A4, các tế bào HepaRG® bảo quản lạnh được cấy với mật độ $1,0 \times 10^5$ trên mỗi lỗ của đĩa 96 lỗ. Tế bào được cho phép cân bằng trong thời gian 72 giờ trước khi tiếp xúc $10\mu M$ đối tượng thử nghiệm trong thời gian 48 giờ với việc đổi mới đối tượng thử nghiệm cứ mỗi 24 giờ. Các chất cảm ứng CYP3A4 nguyên mẫu đã biết Rifampicin được sử dụng làm đối

chứng dương ở nồng độ 25 μ M. Sau thời gian 48 giờ tiếp xúc, môi trường chứa đối tượng thử nghiệm được loại bỏ và tế bào được rửa bằng nước muối đệm phosphat (PBS) trước khi phân lập mARN.

Tính toán:

Cường độ cảm ứng = (Hợp chất enzym mARN)/(Đối chứng dung môi enzym mARN)

Hiệu lực chất cảm ứng = (Lượng hợp chất)/(Lượng Rifampicin)*100

Thử nghiệm để xác định sự ức chế hERG

Sự ức chế kênh kali hERG (gen liên quan ete-a-go-go người) có thể được xác định như được mô tả trong tài liệu Rast, G., & Guth, B.D., Journal of Pharmacological and Toxicological Methods (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.vascn.2014.08.001>.

Sự ức chế hERG của các hợp chất lựa chọn trong thử nghiệm kẹp rập nối được liệt kê trong bảng 13.

Bảng 13

Ví dụ	Ức chế hERG
A.1A	IC ₅₀ >30 μ M (7% tại nồng độ 10 μ M)
B.1.2B	IC ₅₀ >30 μ M (12% tại nồng độ 10 μ M)
C.2A	IC ₅₀ >30 μ M (7% tại nồng độ 10 μ M)
D.1A	IC ₅₀ >30 μ M (8% tại nồng độ 10 μ M)

Các hỗn hợp

Hợp chất có công thức chung 1 có thể được sử dụng riêng biệt hoặc cùng với các hoạt chất khác có công thức 1 theo sáng chế. Hợp chất có công thức chung 1 tùy ý cũng có thể được kết hợp với các hoạt chất được khác. Các hoạt chất này bao gồm,

chất chủ vận thụ thể β 2-adrenergic (tác dụng ngắn và tác dụng kéo dài), chất kháng cholinergic (tác dụng ngắn và tác dụng kéo dài), steroid chống viêm (corticosteroid uống và dùng tại chỗ), cromoglycat, metylxanthin, thuốc bắt chước glucocorticoid phân ly, chất ức chế PDE3, chất ức chế PDE4, chất ức chế PDE7, chất đối kháng LTD4, chất ức chế EGFR, chất chủ vận Dopamin, chất đối kháng PAF, các dẫn xuất Lipoxin A4, chất điều biến FPRL1, chất đối kháng thụ thể LTB4 (BLT1, BLT2), Histamin H1 chất đối kháng thụ thể, chất đối kháng thụ thể Histamin H4, chất đối kháng kép thụ thể Histamin H1/H3, chất ức chế PI3-kinaza, chất ức chế tyrosin kinaza không thụ thể ví dụ như LYN, LCK, SYK, ZAP-70, FYN, BTK hoặc ITK, chất ức chế MAP kinaza ví dụ như p38, ERK1, ERK2, JNK1, JNK2, JNK3 hoặc SAP, chất ức chế con đường truyền tín hiệu NF- κ B ví dụ như chất ức chế IKK2 kinaza, chất ức chế iNOS, chất ức chế MRP4, chất ức chế sinh tổng hợp leukotrien ví dụ như chất ức chế 5-Lipoxygenaza (5-LO), chất ức chế cPLA2, chất ức chế Leukotrien A4 Hydro-laza hoặc chất ức chế FLAP, chất ức chế MMP9, chất ức chế MMP12, chất chống viêm không nhất steroid (NSAIDs), chất ức chế Cathepsin C (hoặc DPPI / Dipeptidylaminopeptidaza I), chất đối kháng CRTH2, chất điều biến thụ thể DP1, chất đối kháng thụ thể Thromboxane, chất đối kháng CCR3, chất đối kháng CCR4, chất đối kháng CCR1, chất đối kháng CCR5, chất đối kháng CCR6, chất đối kháng CCR7, chất đối kháng CCR8, chất đối kháng CCR9, chất đối kháng CCR30, chất đối kháng CXCR3, chất đối kháng CXCR4, chất đối kháng CXCR2, chất đối kháng CXCR1, chất đối kháng CXCR5, chất đối kháng CXCR6, chất đối kháng CX3CR3, chất đối kháng Neurokinin (NK1, NK2), chất điều biến thụ thể Sphingosin 1-Phosphat, chất ức chế Sphingosin 1 phosphat lyaza, chất điều biến thụ thể Adenosine, ví dụ như chất chủ vận A2a, chất điều biến thụ thể purinergic, ví dụ như chất ức chế P2X7, chất hoạt hóa Histon Deacetylaza (HDAC), chất đối kháng Bradykinin (BK1, BK2), chất ức chế TACE, chất điều biến PPAR gamma, chất ức chế Rho-kinaza, chất ức chế enzym chuyển hóa interleukin 1-beta (ICE), chất điều biến thụ thể giống Toll (TLR), chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất đối kháng VLA-4, chất ức chế ICAM-1, chất chủ vận SHIP, chất đối kháng thụ thể GABAa, chất ức chế ENaC, chất ức chế Prostatin, chất điều biến thụ thể Melanocortin (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R, MC5R), chất đối

kháng CGRP, chất đối kháng Endothelin, chất đối kháng TNF α , kháng thể kháng TNF, kháng thể kháng GM-CSF, kháng thể kháng CD46, kháng thể kháng IL-1, kháng thể kháng IL-2, kháng thể kháng IL-4, kháng thể kháng IL-5, kháng thể kháng IL-13, kháng thể kháng IL-4/IL-13, kháng thể kháng TSLP, kháng thể kháng OX40, chất điều hòa nhày, các chất miễn dịch trị liệu, hợp chất chống lại sự trương giãn đường khí, các hợp chất chống ho, chất ức chế VEGF, những cũng cả các hỗn hợp của hai hoặc ba hoạt chất.

Được ưu tiên là chất hướng giao cảm, chất kháng cholin, corticosteroid, chất ức chế PDE4, chất đối kháng LTD4, chất ức chế EGFR, chất ức chế Cathepsin C, chất ức chế CRTH2, chất ức chế 5-LO, chất đối kháng thụ thể Histamin và chất ức chế SYK, nhất là các chất ức chế Cathepsin C, những cũng cả các hỗn hợp của hai hoặc ba hoạt chất, tức là:

- các chất hướng giao cảm với corticosteroid, chất ức chế PDE4, chất ức chế CRTH2 hoặc chất đối kháng LTD4,
- các kháng cholin với chất hướng giao cảm, corticosteroid, chất ức chế PDE4, chất ức chế CRTH2 hoặc chất đối kháng LTD4,
- các corticosteroid với chất ức chế PDE4, chất ức chế CRTH2 hoặc chất đối kháng LTD4
- chất ức chế PDE4 với chất ức chế CRTH2 hoặc chất đối kháng LTD4
- chất ức chế CRTH2 với chất đối kháng LTD4.

Dược phẩm

Chế phẩm thích hợp để đưa vào các hợp chất có công thức sẽ trở nên rõ ràng đối với người có kỹ năng trung bình trong lĩnh vực và bao gồm, ví dụ viên nén, viên tròn, viên nang, viên đạn đặt, viên ngậm hình thoi, viên dẹp, dung dịch, xi-rô, cồn ngọt, túi nhỏ, dạng tiêm, dạng xông và dạng bột, v.v.

Viên nén thích hợp có thể thu được, ví dụ, bằng cách trộn một hoặc nhiều hợp chất có công thức I với tá dược đã biết, ví dụ chất pha loãng trợ, chất mang, chất phân

hủy, chất phụ gia, chất hoạt diện, chất kết dính và/hoặc chất làm trơn. Viên nén cũng có thể bao gồm nhiều lớp.

Các chỉ định

Hợp chất theo sáng chế và muối được dụng của chúng có hoạt tính ở dạng dược phẩm, đặc biệt ở dạng chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính, và do đó, có thể được sử dụng trong điều trị:

1. đường hô hấp: các bệnh tắc nghẽn đường khí bao gồm: hen, bao gồm hen phế quản, dị ứng, nội sinh, ngoại sinh, gây ra khi tập luyện, gây ra do thuốc (bao gồm gây ra do aspirin và NSAID) và hen gây ra do bụi, cả gián đoạn và dai dẳng và tất cả các trường hợp nặng, và các nguyên nhân gây tăng phản ứng đường khí khác; bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD); viêm phế quản, bao gồm viêm phế quản nhiễm trùng và ái toan; khí phế thũng; chứng thiếu hụt men alpha1-antitrypsin; chứng giãn phế quản; bệnh xơ nang; bệnh sarcoit; bệnh phổi ở nông dân và các bệnh liên quan; viêm phổi quá mẫn; bệnh xơ hóa phổi, bao gồm viêm xơ phế nang vô căn, viêm phổi mô kẽ tự phát, liệu pháp điều trị chống ung thư biến chứng xơ hóa và nhiễm trùng mãn tính, bao gồm nhiễm trùng do lao và nấm aspergillus và các nhiễm trùng do nấm khác; biến chứng của ghép phổi; các rối loạn mạch máu và huyết khối ở hệ mạch máu phổi, và tăng áp phổi; hoạt tính chống ho bao gồm cả điều trị ho mãn tính kết hợp với các tình trạng viêm và xuất tiết ở đường khí, và ho do dùng thuốc; viêm mũi cấp tính và mãn tính bao gồm viêm mũi do thuốc, và viêm mũi do vận mạch; viêm mũi dị ứng quanh năm và theo mùa bao gồm viêm mũi tâm lý (hay sốt); polyp mũi; nhiễm trùng virus cấp bao gồm cảm lạnh thông thường và nhiễm trùng do virus hợp bào đường hô hấp, influenza, coronavirut (bao gồm SARS) và adenovirut; tổn thương phổi cấp tính; hội chứng suy hô hấp cấp tính;

2. da: bệnh vẩy nến, viêm da cơ địa, viêm da tiếp xúc hoặc các bệnh eczema khác và các phản ứng quá mẫn kiểu chậm; viêm da do thực vật và ánh sáng; viêm da tiết nhờn, viêm da dạng ecpet, bệnh lichen phẳng, bệnh lichen xơ teo, bệnh viêm da mủ hoại thư, sarcoit da, luput ban đỏ dạng đĩa, pemphigut, dạng pemphigut, bệnh ly thượng bì bong nước bẩm sinh, bệnh mày đay, bệnh phù mạch, bệnh viêm mạch, bệnh đỏ nhiễm

độc, tăng bạch cầu ưa eosin da, chứng rụng tóc từng vùng, hói đầu kiểu nam giới, hội chứng Sweet, hội chứng Weber-Christian, hồng ban đa dạng; viêm mô tế bào, cả nhiễm trùng và không nhiễm trùng; viêm mô mỡ dưới da; bệnh bạch cầu lympho da, ung thư da không hắc tố và các tổn thương loạn sản khác; các rối loạn do thuốc bao gồm các ban do thuốc cố định;

3. mắt: viêm mi mắt; viêm kết mạc, bao gồm viêm kết mạc ngoại vi và viêm kết mạc dị ứng mùa xuân; viêm móng mắt; viêm màng mạch nho phía trước và phía sau; viêm màng mạch; các rối loạn tự miễn, thoái hóa hoặc rối loạn viêm tác động lên võng mạc; viêm mắt bao gồm viêm mắt giao cảm; bệnh sarcoit; các bệnh nhiễm trùng bao gồm nhiễm trùng do virus, nấm và vi khuẩn;

4. sinh dục – tiết niệu: viêm thận bao gồm viêm thận kẽ và bệnh viêm cầu thận; hội chứng thận hư; viêm bàng quang bao gồm viêm bàng quang cấp tính và mãn tính (kẽ) và loét Hunner; viêm niệu đạo cấp tính và mãn tính, viêm tiền liệt tuyến, viêm mào tinh hoàn, viêm buồng trứng và viêm vòi trứng; viêm âm hộ - âm đạo; bệnh Peyronie; rối loạn cương cứng (cả nam và nữ);

5. thái ghép đồng loài: cấp tính và mãn tính sau, ví dụ, ghép thận, tim, gan, phổi, tủy xương, da hoặc giác mạc hoặc sau truyền máu; hoặc bệnh mảnh ghép chống lại vật chủ mãn tính;

6. các rối loạn tự miễn và dị ứng khác bao gồm bệnh viêm khớp dạng thấp, hội chứng ruột kích thích, luput ban đỏ hệ thống, bệnh đa xơ cứng, bệnh viêm tuyến giáp Hashimoto, bệnh Graves, bệnh Addison, bệnh tiểu đường, xuất huyết giảm tiểu cầu tự phát, viêm bao cơ bạch cầu ái toan, hội chứng tăng IgE, hội chứng kháng phospholipit và hội chứng Sazary;

7. ung thư: điều trị các ung thư thường gặp bao gồm ung thư tuyến tiền liệt, vú, phổi, buồng trứng, tụy, ruột non và đại tràng, dạ dày, da và các khối u ở não và các tình trạng ác tính tác động đến tủy xương (bao gồm các bệnh bạch cầu) và các hệ tăng sinh mô bạch huyết, như bệnh u lympho Hodgkin và không Hodgkin; bao gồm việc phòng ngừa và điều trị bệnh di căn và sự tái phát khối u và hội chứng cận ung thư; và

8. các bệnh nhiễm trùng: các bệnh do virus như bệnh sùi mào gà sinh dục, hạt cơm thông thường, hạt cơm lòng bàn chân, viêm gan B, viêm gan C, bệnh do virus herpes đơn dạng, u mềm biểu mô, bệnh đậu mùa, virus gây suy giảm miễn dịch ở người (HIV), virus gây sùi mào gà sinh dục ở người (HPV), virus cự bào (CMV), virus gây bệnh thủy đậu (VZV), rhinovirus, adenovirus, coronavirus, bệnh cúm, á cúm; các bệnh do vi khuẩn như lao và bệnh do mycobacterium avium, bệnh hủi; các nhiễm trùng khác, như bệnh do nấm, chlamydia, Candida, aspergillus, viêm màng não do cryptococcus, Pneumocystis carinii, bệnh do đơn bào cryptosporidium, bệnh nấm sâu, bệnh do toxoplasma, nhiễm trùng do trypanosoma và bệnh do leishmania, và

9. các bệnh khác: tổn thương não do chấn thương, phình động mạch chủ bụng

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức chung 1, hợp chất này hữu dụng trong phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh và/hoặc tình trạng, trong đó hoạt tính của chất ức chế men elastaza của bạch cầu trung tính có lợi ích trị liệu, bao gồm nhưng không giới hạn ở việc điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh hen và dị ứng, các bệnh viêm dạ dày - ruột, bệnh viêm cầu thận, các bệnh bạch cầu ưa eosin, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính, nhiễm trùng do các vi khuẩn gây bệnh, bệnh viêm khớp dạng thấp, các bệnh bạch cầu trung tính, bệnh xơ nang (CF), chứng giãn phế quản không có xơ hóa kén, xơ hóa phổi tự phát, viêm mạch liên quan đến kháng thể ANCA, ung thư phổi, chứng giãn phế quản không xơ hóa kén, khí phế thũng, viêm phế quản mãn tính, tổn thương phổi cấp tính (ALI), hội chứng suy hô hấp cấp tính (ARDS), tăng áp phổi, tăng áp lực động mạch phổi (PAH), bệnh thiếu men Alpha-1-antitrypsin (AATD.), béo phì và bệnh viêm liên quan, ví dụ, viêm mô mỡ mãn tính, viêm mô mỡ, viêm do chế độ nhiều chất béo gây ra, chứng kháng insulin, bệnh tiểu đường, bệnh gan nhiễm mỡ và gan thâm mỡ.

Mỗi tương quan giữa hoạt tính sinh học và các chỉ định thuốc được mô tả trong tài liệu, ví dụ “Henriksen, P. A. Current Opinion in Hematology (2014), 21(1), 23-28”. Do đó, sáng chế đề cập đến hợp chất công thức chung 1 để làm thuốc.

Phần mô tả còn bộc lộ phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa các bệnh và tình trạng nêu trên, phương pháp bao gồm bước đưa vào người bệnh một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức chung 1.

Để điều trị các bệnh và các tình trạng bệnh lý nêu trên, liều lượng điều trị hiệu quả sẽ thường nằm trong khoảng từ 0,01mg đến 10mg/kg thể trọng trên mỗi liều lượng hợp chất theo sáng chế; tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 5mg/kg thể trọng trên mỗi liều lượng. Ví dụ, để dùng cho người có cân nặng 70kg, khoảng liều lượng sẽ nằm trong khoảng từ 0,7mg đến 750mg trên mỗi liều lượng hợp chất theo sáng chế, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7,0mg đến 350mg trên mỗi liều lượng. Mức độ tối ưu hóa liều lượng hàng ngày nào đó có thể cần thiết để xác định mức và mô hình định liều tối ưu. Thành phần hoạt tính có thể được chia ra từ 1 đến 6 lần mỗi ngày.

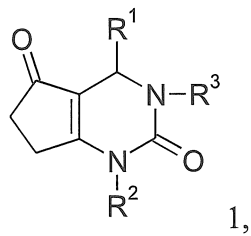
Lượng có hiệu quả dược lý thực tiễn hoặc liều lượng điều trị đương nhiên sẽ tùy thuộc vào các yếu tố đã biết đối với người có kỹ năng trong lĩnh vực như tuổi và thể trọng của bệnh nhân, đường dùng và mức độ nặng của bệnh. Trong bất kỳ trường hợp nào, thành phần hoạt tính được sử dụng với liều lượng và theo cách cho phép lượng có hiệu quả dược lý cần được phân phối dựa vào tình trạng của bệnh nhân.

Danh mục các từ viết tắt

ACN	axetonitril
aq.	dạng nước
BOC	<i>tert</i> -butyloxycarbonyl
d	Ngày (day)
DCM.	Diclometan
DEA	Dietylamin
DIPEA	N,N-DIISOPROPYLETYLAMIN
DIPE	diisopropyl ete
DMAP	4-dimetylaminopyridin
DMF:	<i>N,N</i> -dimetylformamit
DMSO	dimetyl sulfoxit
EA	etyl axetat
FA	axit formic
giờ	giờ
HATU	O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluroni hexaflophosphat
LiOH	Lithi hydroxit
MeOH	metanol
MeTHF	2-metyltetrahydrofuran
NaH	natri hydrua
PE	Ete dầu mỏ
RT, r.t.	nhiệt độ trong phòng
rt	thời gian duy trì
TBME	<i>tert</i> -butyl metyl ete
TBTU	o-(1H-benzo-1,2,3-triazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium tetrafloroborat
TEA	trietylamin
TFA	axit trifloaxetic
THF:	tetrahydrofuran
TSA	Axit toluen sulfonic

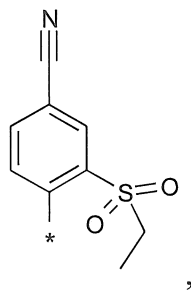
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức 1:

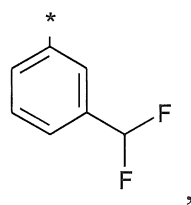


trong đó:

R¹ là



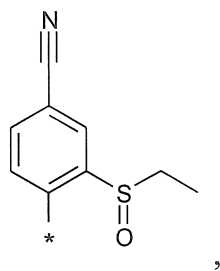
R² là



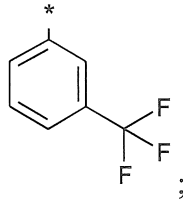
và R³ là H;

hoặc

R¹ là



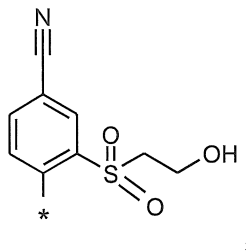
R^2 là



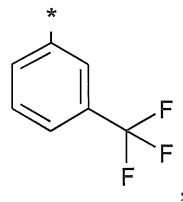
và R^3 là CH_3 ;

hoặc

R^1 là



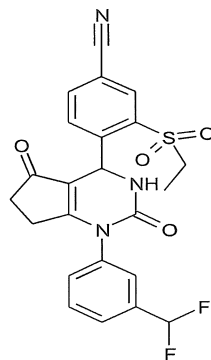
R^2 là



và R^3 là CH_3 ;

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

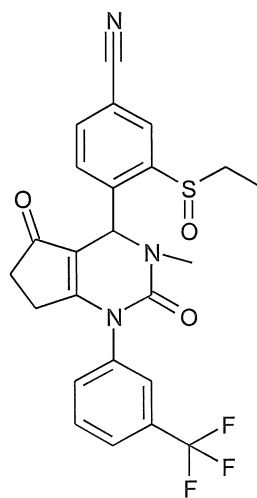
2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức 1.a:



1.a

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

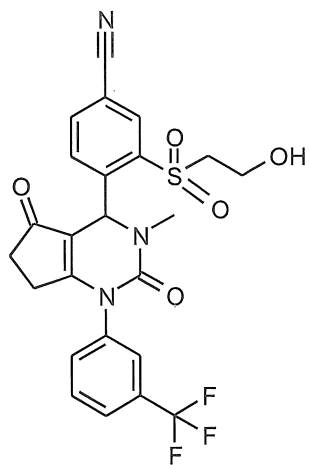
3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức 1.b:



1.b

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

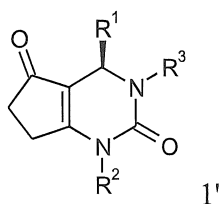
4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức 1.c:



1.c

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

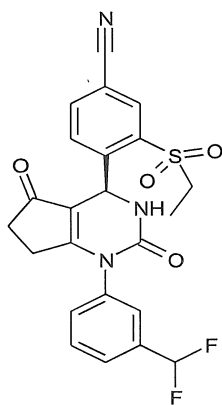
5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó cấu hình có công thức 1 là công thức 1':



1'

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

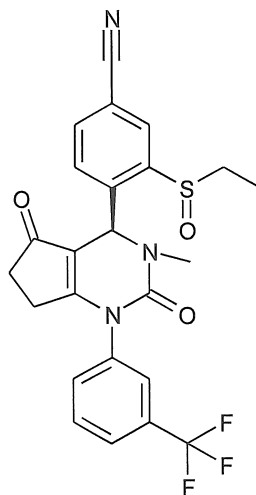
6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó hợp chất này có công thức 1.a':



1.a'

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

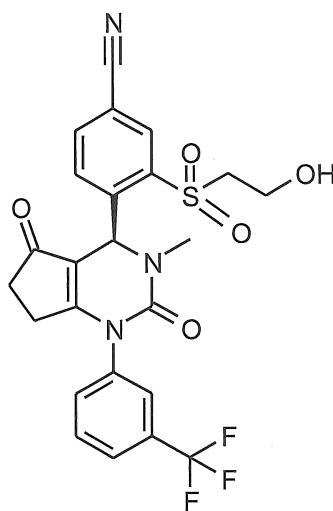
7. Hợp chất theo điểm 5, trong đó hợp chất này có công thức 1.b':



1.b'

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

8. Hợp chất theo điểm 5, trong đó hợp chất này có công thức 1.c':



1.c'

hoặc muối được dụng của hợp chất này.

9. Dược phẩm, khác biệt ở chỗ, dược phẩm này chứa một hoặc nhiều hợp chất có công thức 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 hoặc muối có hoạt tính dược của nó.

10. Dược phẩm, không những chứa hợp chất có công thức 1 theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, còn chứa thêm hợp chất có hoạt tính dược lý được chọn từ nhóm bao gồm các chất hướng giao cảm, chất kháng cholin, corticosteroid, chất ức chế PDE4, chất đối kháng LTD4, chất ức chế EGFR, chất ức chế Cathepsin C, chất ức chế CRTH2, chất ức chế 5-LO, chất đối kháng thụ thể Histamin và chất ức chế SYK, mà còn chứa hỗn hợp của hai hoặc ba hoạt chất.