



(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)⁸ C07D 471/04; A61K 31/437; A61P 19/06 (13) B

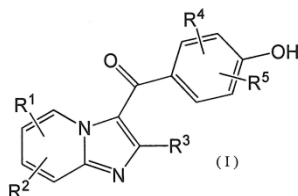


1-0030934

(21) 1-2018-01509 (22) 08/09/2016
(86) PCT/CN2016/098468 08/09/2016 (87) WO 2017/041732 16/03/2017
(30) 201510576110.7 10/09/2015 CN
(45) 25/01/2022 406 (43) 25/09/2018 366A
(73) JIANGSU ATOM BIOSCIENCE AND PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)
Building 18, 99 Jing 15 Road, Dingmao, Xinqu Zhenjiang, Jiangsu 212009, China
(72) SHI, Dongfang (US); FU, Changjin (CN); CHENG, Xi (CN); ZHU, Jianghua (CN);
WEN, Jie (CN); GU, Jie (CN).
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Vàng (GINTASSET CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ HOẶC PHÒNG NGỪA CHỨNG TĂNG AXIT URIC-HUYẾT HOẶC BỆNH GÚT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó dùng để điều trị hoặc phòng ngừa chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút. Hợp chất và muối dược dụng của nó theo sáng chế có tác dụng hữu ích trong việc kích thích sự bài tiết axit uric để điều trị hoặc phòng ngừa chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này thuộc về lĩnh vực hóa dược và cụ thể là đề cập đến nhóm hợp chất (4-hydroxyphenyl)(imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon và dược phẩm chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gút là bệnh chuyển hóa do nồng độ axit uric trong huyết thanh (serum uric acid: sUA) ở mức cao mạn tính gây ra (chứng tăng axit uric-huyết) do sự rối loạn chuyển hóa purin và/hoặc do sự bài tiết axit uric của thận không đủ. Sự lắng đọng của tinh thể hình kim là muối urat trong các khớp dẫn đến bệnh viêm khớp gây đau. Chứng tăng axit uric-huyết, được định nghĩa là khi nồng độ sUA bằng 6,8 mg/dl hoặc cao hơn, có thể gây ra sự kết tủa urat dưới dạng muối mono-natri trong dịch hoạt dịch ở mô mềm của người, sụn của khớp ngoại vi, tai ngoài, và khuỷu tay. Khi các triệu chứng này xuất hiện, bệnh nhân có thể được chẩn đoán là mắc bệnh gút (Terkeltaub RA. Crystal Deposition Diseases. In: Goldman L, Aus-iello D, eds. The Cecil Textbook of Medicine, 23rd ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier Co; 2008:2069-2075; Richette P, Bardin T. Gout. Lancet. 2010, 375(9711):318-328)

Gút là loại bệnh phổ biến của bệnh viêm khớp và tỷ lệ mắc bệnh này khoảng từ 1% đến 2%. Tỷ lệ mắc bệnh ở các nước phát triển là tương đối cao, theo khảo sát đánh giá năm 2007-2008, có khoảng 8,3 triệu bệnh nhân mắc bệnh gút ở Mỹ. Ở Trung Quốc, tỷ lệ mắc bệnh gút tăng lên đáng kể trong thập kỷ qua. Đã có thông báo rằng số lượng bệnh nhân mắc bệnh gút ở Trung Quốc là trên 50 triệu người, và tỷ lệ nam mắc bệnh gút là cao hơn nhiều so với tỷ lệ mắc bệnh này ở nữ.

Hiện nay, phương pháp điều trị bệnh gút bao gồm việc điều trị giảm đau trong thời gian ngắn và làm giảm mức độ viêm trong giai đoạn bệnh cấp tính, ức chế sự sản sinh axit uric, và kích thích sự bài tiết axit uric. Thuốc để điều trị cơn gút cấp tính chủ yếu bao gồm colchicine, các thuốc kháng viêm không steroid (non-

steroidal anti-inflammatory drug: NSAID), hormon kích thích vỏ tuyến thượng thận, và glucocorticoid.

Phương pháp điều trị bệnh gút trong thời gian dài bao gồm làm giảm sự tạo ra axit uric và/hoặc làm gia tăng mức độ bài tiết axit uric của thận. Allopurinol và uloric là các thuốc thường được sử dụng để làm giảm mức độ tạo ra axit uric. Cơ chế của các thuốc này là làm giảm mức độ tạo ra axit uric bằng cách ức chế xantin oxidaza, chất cần thiết cho sự chuyển hóa purin thành axit uric. Các chất làm tăng axit uric-niệu là nhóm thứ hai của liệu pháp làm giảm lượng muối urat hiện đang được sử dụng, nhóm này có tác dụng làm gia tăng mức độ bài tiết axit uric của thận. Chúng chủ yếu bao gồm probenecid, sulphinpyrazone, và benzbromarone v.v..

Việc điều trị cơn gút cấp tính có thể chỉ kiểm soát các triệu chứng và làm giảm đau cho bệnh nhân mà không thể làm giảm nồng độ sUA. Colchicine là thuốc có độc tính rất cao, thường có các phản ứng phụ phổ biến đi kèm như tiêu chảy, nôn và đau quặn bụng. Allopurinol là một trong số các chất ức chế xantin oxidaza. Chất này cần được sử dụng với liều cao, và trong một số trường hợp, có thể gây ra hội chứng Stevens Johnson gây tử vong (bệnh hồng ban đa dạng trên da), thường đi kèm với cảm giác khó chịu ở dạ dày, buồn nôn, tiêu chảy, đau đầu, sốt, mất cảm giác thèm ăn, giảm cân, đau khi tiểu tiện, đi tiểu ra máu và các tác dụng phụ khác. Chất ức chế xantin oxidaza khác được gọi là uloric (febuxostat), được đưa ra thị trường ở châu Âu và Mỹ năm 2009. Mặc dù uloric có hiệu quả tốt trong việc làm giảm nồng độ axit uric trong cơ thể, nó cũng có nhiều tác dụng phụ nghiêm trọng như vấn đề về tim mạch và cảm giác khó chịu ở đường dạ dày-ruột, có thể gây đau đầu và tổn thương gan. Benzbromarone có hiệu quả làm tăng axit uric-niệu tốt nhưng thuốc này gây tổn thương gan gây tử vong. Cả probenecid và sulfinpyrazone đều là các thuốc làm tăng axit uric-niệu cần sử dụng với liều cao trong khi có hiệu quả thấp và nhiều tác dụng phụ.

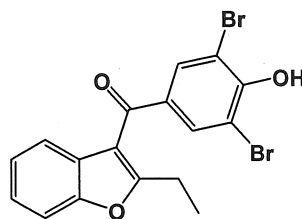
Cơ chế của các thuốc làm tăng axit uric-niệu bao gồm việc ức chế sự tái hấp thu axit uric trong các tế bào hình ống gần thận để làm tăng khả năng bài tiết axit uric của thận và làm giảm nồng độ axit uric trong máu. Tỷ lệ bài tiết axit uric ở người qua thận là khoảng 70%, và khoảng 80-85% bệnh nhân mắc chứng tăng axit uric-huyết là do rối loạn bài tiết axit uric gây ra (Cheeseman C. Solute carrier

family 2, member 9 and uric acid homeostasis. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 2009, 18 (5): 428-432).

Sự bài tiết axit uric đóng vai trò rất quan trọng trong việc điều trị chứng tăng axit uric-huyết và bệnh gút. Chất vận chuyển anion urat ở người 1 (human urate anion transporter 1: hURAT1) nằm ở màng tế bào biểu mô hình ống gần thận, và là thành viên của siêu họ chất vận chuyển anion hữu cơ (organic anion transporter: OAT), chất này được mã hóa bởi gen SLC22A12. cADN của nó có một số đột biến gây ra sự chuyển hóa axit uric bất thường. Phương pháp phân tích tổng hợp cho thấy rằng gen này góp phần làm thay đổi nồng độ axit uric trong huyết thanh 0,13% (So A, Thorens B. Uric acid transport and disease. *Journal of Clinical Investigation.*, 2010, 120 (6): 1791-1799).

Chất vận chuyển anion urat (URAT1) kiểm soát trên 90% mức độ tái hấp thu axit uric sau khi lọc qua cầu thận. Do đó, sự ức chế chọn lọc URAT1 có thể làm giảm mức độ tái hấp thu axit uric và kích thích sự bài tiết axit uric ở thận để làm giảm nồng độ axit uric trong cơ thể (Michael FW, Jutabha P, Quada B. Developing potent human uric acid transporter 1 (hURAT1) inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, 54: 2701-2713).

Hiện nay, benzbromarone là chất ức chế URAT1 vẫn được sử dụng rộng rãi trên thị trường để điều trị bệnh gút. Tên hóa học của nó là (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-benzofuran-3-yl)metanon, chất này được phát triển bởi công ty France Sanofi-Synthelabo và đưa ra thị trường năm 1976. Nó là chất làm tăng axit uric-niêu hữu hiệu nhất trên thị trường và đã được sử dụng trong gần 40 năm. Tuy nhiên, việc sử dụng benzbromarone vẫn chưa được phê chuẩn ở Mỹ và bị rút khỏi phần lớn thị trường châu Âu năm 2003 do tác dụng phụ gây độc tính ở gan nghiêm trọng của nó (Jansen TL, Reinders MK, van Roon EN, et al. Benzbromarone withdrawn from the European market: another case of "absence of evidence is evidence of absence". *Clinical Experimental Rheumatology*, 2004, 22(5): 651). Nhược điểm khác là nó có tác dụng ức chế mạnh đối với enzym CYP2C9 ở gan. Tuy nhiên, thuốc này vẫn được sử dụng rộng rãi ở trên 20 nước, như Trung Quốc, Đức, Nhật, Brazil, và New Zealand do vẫn chưa có thuốc tốt để điều trị bệnh gút trên thị trường.



Benzbromarone

Các nghiên cứu đã cho thấy rằng sự gây tổn thương gan nghiêm trọng hoặc tử vong của benzbromarone có liên quan đến các chất chuyển hóa có khả năng phản ứng của nó. Cơ chế gây độc tính ở gan có thể liên quan đến sự hoạt hoá sinh học của benzbromarone bằng quá trình hydroxyl hóa lần lượt của vòng benzofuran để tạo ra hợp chất 6-hydroxy-benzbromarone và catechol bằng CYP2C9, chất này có thể được oxy hóa tiếp bằng các enzym P450 thành chất chuyển hóa quinon có khả năng phản ứng để có thể tham gia phản ứng cộng với các chất phản ứng thiol/gốc xystein (Matthew G. McDonald, Rettie AE. Sequential metabolism and bioactivation of the hepatotoxin benzbromarone: formation of glutathione adducts from a catechol intermediate. Chemical Research in Toxicology. 2007, 20 (12):1833-1842).

Benzbromarone còn có các tác dụng phụ khác, như tiêu chảy, cảm giác khó chịu ở dạ dày, buồn nôn, các triệu chứng của hệ tiêu hóa, các bệnh dị ứng trên da như dát, đỏ bừng, ngứa, v.v..

Hiện nay, các tác dụng phụ nghiêm trọng do các chất làm tăng axit uric-niêu hoặc chất ức chế xantin oxidaza có ảnh hưởng rất lớn đến việc sử dụng các thuốc điều trị bệnh gút này trong thời gian dài. Do đó, cần phát triển các thuốc điều trị bệnh gút có hiệu quả cao và độc tính thấp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất nhóm hợp chất (4-hydroxyphenyl)(imidazo[1,2- a]pyridin-3-yl)metanon làm chất ức chế URAT1, phương pháp điều chế chúng, và các hợp chất trung gian tổng hợp liên quan và dược phẩm chứa các hợp chất này. Các kết quả thử nghiệm cả *in vitro* và *in vivo* đều cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có thể cải thiện đáng kể hiệu quả ức chế đối với URAT1, cũng như làm tăng đáng kể khả năng bài tiết axit uric ở chuột và làm giảm độc tính ở các tế bào gan bình

thường so với benzbromarone. Thử nghiệm độ độc cấp tính với liều dung nạp tối đa qua đường miệng ở chuột cho thấy rằng độc tính của hợp chất theo sáng chế thấp hơn nhiều so với độc tính của benzbromarone. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng hợp chất theo sáng chế có hiệu quả cao trong việc bài tiết axit uric và có độc tính thấp.

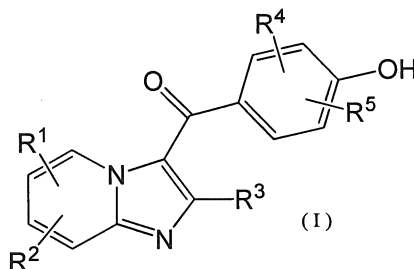
Mục đích khác của sáng chế là đề xuất được phẩm chứa hợp chất (4-hydroxyphenyl)(imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon.

Ngoài ra, các hợp chất (4-hydroxyphenyl)(imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon được mô tả ở đây có tác dụng hữu hiệu trong việc phòng ngừa hoặc điều trị chứng tăng axit uric-huyết, bệnh thận hoặc bệnh gút.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các phương án của sáng chế có thể đạt được theo phương pháp sau:

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



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 và R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, halogen, xyano, hydroxyl, C_{1-5} alkyl, C_{1-5} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio, hoặc C_{1-3} alkylthio được thế;

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-4} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl được thế hoặc không được thế, và các nhóm thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm đoteri, halogen, C_{1-2} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl.

R^4 và R^5 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số halogen, đoteri, xyano, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio, hoặc C_{1-3} alkylthio được thế; trong đó các nhóm thế trong R^1 , R^2 , R^4 , và R^5 độc lập được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

R^1 , R^2 , R^4 và R^5 theo sáng chế có thể được chọn từ một, hai hoặc nhiều hơn hai nhóm trong số các nhóm đã được xác định riêng biệt. Khi R^1 , R^2 , R^4 hoặc R^5 được chọn từ hai hoặc nhiều hơn hai nhóm nêu trên, các nhóm này nằm ở vị trí tương ứng của vòng phenyl hoặc vòng imidazo[1,2-a]pyridyl. Ví dụ, khi R^4 sử dụng hai nhóm, hai nhóm này có thể ở vị trí 2 và 3 tương ứng trong 4-hydroxy phenyl.

Theo một phương án, mỗi nhóm R^1 hoặc R^2 độc lập được chọn từ hydro, đoteri, halogen, xyano, hydroxyl, C_{1-5} alkyl, C_{1-5} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio, hoặc C_{1-3} alkylthio được thế; các nhóm thế được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

Theo phương án được ưu tiên khác, R^1 và R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, flo, clo, brom, xyano, hydroxyl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, hoặc C_{1-3} alkoxy được thế; các nhóm thế được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

Theo một số phương án, R^1 hoặc R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, flo, clo, brom, xyano, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl halogen hóa hoặc C_{1-3} alkoxy.

Theo một số phương án, R^1 và R^2 độc lập được chọn từ hydro, đoteri, flo, clo, brom, xyano, metyl, etyl, metoxy, etoxy, triflometyl, v.v..

Theo một số phương án, R^3 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl được thế; các nhóm thế được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-2} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl.

Theo một số phương án, R^3 được chọn từ C_{2-3} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl.

Theo một số phương án, R^3 được chọn từ etyl hoặc xyclopropyl.

Theo một số phương án, R^4 và R^5 độc lập được chọn từ hydro, đoteri, halogen, xyano, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio hoặc C_{1-3} alkylthio được thế; các nhóm thế được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

Theo một số phương án, R^4 và R^5 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, halogen, xyano, etylen, axetylen, C_{1-2} alkyl, C_{1-2} alkyl được thế, C_{1-2} alkoxy, C_{1-2} alkoxy được thế, C_{1-2} alkylthio hoặc C_{1-2} alkylthio được

thế; các nhóm thế được chọn từ đoteri, halogen, C₁₋₂ alkyl, C₃₋₄ xycloalkyl hoặc C₁₋₃ alkoxy.

Theo một số phương án, R⁴ và R⁵ độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, halogen, xyano, C₁₋₂ alkyl, C₁₋₂ alkyl halogen hóa, C₁₋₂ alkoxy hoặc C₁₋₂ alkylthio.

Theo một số phương án, R⁴ và R⁵ độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, halogen, xyano, metyl, etyl, metoxy, etoxy, triflometyl, metylthio hoặc etylthio.

Theo một số phương án, R⁴ được chọn từ một hoặc nhiều nhóm halogen, và R⁵ được chọn từ xyano.

Theo một số phương án, thuật ngữ “các muối được dụng” là các muối được tạo bởi các hợp chất theo sáng chế với axit, các muối này thu được bằng cách cho bazơ tự do của hợp chất gốc phản ứng với các axit vô cơ hoặc hữu cơ, trong đó các axit vô cơ và axit hữu cơ bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở): ví dụ, axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit phosphoric, axit axetic, axit propanoic, axit acrylic, axit oxalic, axit malic (D) hoặc (L), axit fumaric, axit maleic, axit hydroxybenzoic, axit γ -hydroxybutyric, axit metoxybenzoic, axit phtalic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit 1-naphthalensulphonic, axit 2-naphthalensulphonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, axit tartric, axit xitric và axit tương tự.

Hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ:

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3,5-diiodophenyl)metanon;

(3-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

3-clo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril;

(3-bromo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

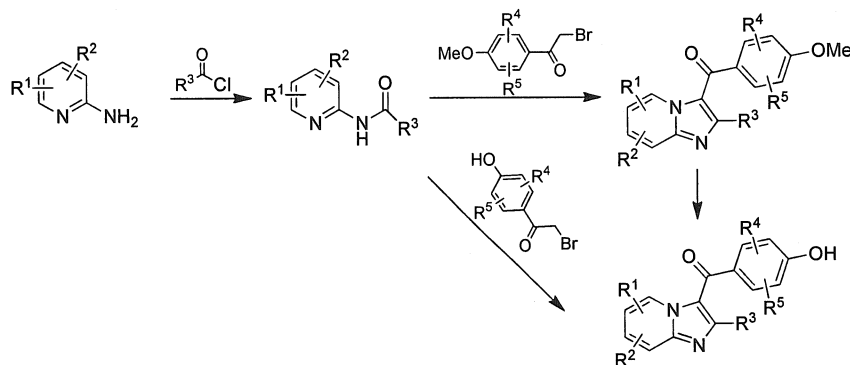
(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-iodo-5-metylphenyl)metanon;

(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-iodophenyl)metanon;
 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxybenzonitril;
 (3-chloro-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-fluorimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (3-bromo-5-chloro-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-fluorimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (3-chloro-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-ethyl-6-fluorimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxy-3-methylbenzonitril;
 (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-(trifluoromethyl)phenyl)metanon;
 (3-bromo-4-hydroxy-5-(trifluoromethyl)phenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-methylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-methoxyimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 3-bromo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxybenzonitril;
 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril;
 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-3-fluoro-2-hydroxybenzonitril;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-propylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(2-ethylsulfonyl-4-hydroxyphenyl)metanon;
 (3-bromo-5-chloro-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (3-bromo-5-fluoro-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-fluorimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (2-ethyl-6-fluorimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3-fluoro-4-hydroxy-5-iodophenyl)metanon;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-hydroxyimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(6-bromo-2-etyl-7-metylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-7-(triflometyl)imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 3-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)-2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-6-carbonitril;
 (2-đoteri-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (2-đoteri-3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;
 (6-đoteri-2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon;
 (2-xyclopropylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon;
 3-bromo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril hydroclorua; và
 5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril hydroclorua.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng phương pháp tổng hợp sau:

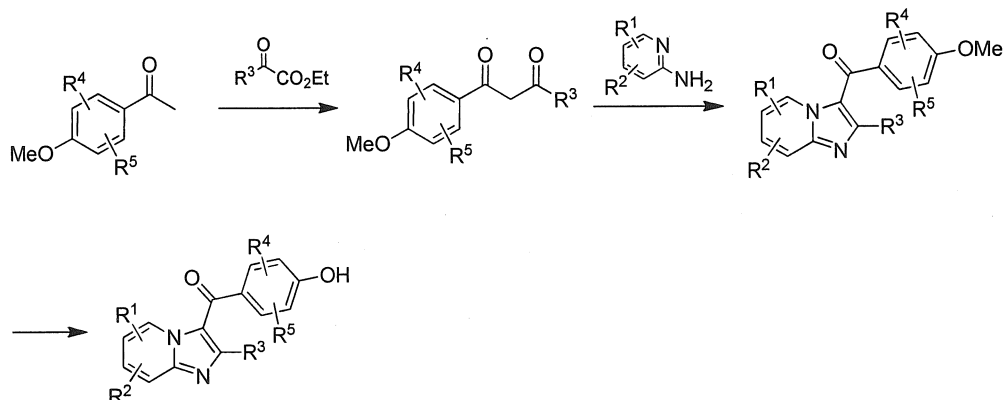
Sơ đồ chung 1:



Trong sơ đồ chung 1, cho hợp chất 2-aminopyridin được thể phản ứng với axyl clorua để tạo ra amit tương ứng, hợp chất này được cho phản ứng tiếp với hợp chất 2-bromo-1-phenyletanon được thể để thu được hợp chất (imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)- (phenyl)metanon tương ứng. Hợp chất này có thể là sản phẩm cuối,

hoặc sản phẩm đích thu được bằng cách loại methyl, halogen hoá và/hoặc các phản ứng khác.

Sơ đồ chung 2:



Trong sơ đồ chung 2, axetophenon được thế được cho phản ứng với este tương ứng để tạo ra hợp chất 1,3-diketon, hợp chất này được cho phản ứng với 2-aminopyridin tương ứng để thu được (imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-(phenyl)metanon. Hợp chất đích thu được bằng cách loại methyl, halogen hoá và/hoặc các phản ứng khác.

Việc định nghĩa mỗi nhóm trong các sơ đồ tổng hợp là như được mô tả dưới đây.

Trừ khi được chỉ rõ theo cách khác, các thuật ngữ sau đây được sử dụng trong phần yêu cầu bảo hộ và các hướng dẫn có nghĩa như được nêu dưới đây.

Thuật ngữ “hydro” để chỉ proton (1H), là chất đồng vị ổn định quan trọng nhất của hydro.

Thuật ngữ “đơteri” là chất đồng vị ổn định của hydro và còn được gọi là hydro nặng, và ký hiệu nguyên tố của nó là D.

Thuật ngữ “halogen” để chỉ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc nguyên tử iot.

Thuật ngữ “alkyl” để chỉ nhóm béo no có từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, bao gồm cả nhóm mạch thẳng và nhóm mạch nhánh (khoảng chữ số (ví dụ, từ 1 đến 20) được đề cập trong đơn sáng chế này có nghĩa là nhóm này (trong trường hợp này là nhóm alkyl) có thể chứa một nguyên tử cacbon, hai nguyên tử cacbon, ba nguyên

từ cacbon hoặc thậm chí hai mươi nguyên tử cacbon). Nhóm alkyl chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon được gọi là alkyl thấp. Nhóm alkyl thấp không có nhóm thế bất kỳ được gọi là nhóm alkyl thấp không được thế, ví dụ, metyl, etyl, propyl, 2-propyl, n-butyl, isobutyl, tert-butyl hoặc nhóm tương tự. Nhóm alkyl có thể được thế hoặc không được thế.

Thuật ngữ “alkoxy” để chỉ nhóm -O- (alkyl không được thế) và -O- (xycloalkyl không được thế), và còn để chỉ nhóm -O- (alkyl không được thế). Các ví dụ làm đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metoxy, etoxy, propoxy, butoxy, xyclopropoxy, xyclobutoxy, xyclopentyloxy, xyclohexyloxy, hoặc nhóm tương tự.

Thuật ngữ "alkylthio" để chỉ nhóm -S- (alkyl không được thế) và -S- (nhóm xycloalkyl không được thế), và còn để chỉ nhóm -S- (alkyl không được thế). Các ví dụ làm đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, methionyl, etylthio, propylthio, butylthio, hoặc xyclopropylthio, xyclobutylthio, xyclopentylthio, xyclohexylthio, và nhóm tương tự.

Thuật ngữ “alkenyl” để chỉ nhóm hydrocarbyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 2 đến 7 nguyên tử cacbon, và theo một số phương án, có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon hoặc từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon. Các ví dụ làm đại diện bao gồm, ví dụ, etenyl, propenyl, alyl, và nhóm tương tự.

Thuật ngữ nhóm "alkynyl" để chỉ gốc hydrocacbon mạch thẳng có hoá trị một hoặc gốc hydrocacbon mạch nhánh có hoá trị một, có từ 2 đến 7 nguyên tử cacbon và, theo một số phương án, có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon hoặc từ 2 đến 4 nguyên tử cacbon. Các ví dụ làm đại diện bao gồm, etynyl, propynyl, propargyl, và nhóm tương tự.

Thuật ngữ nhóm "xycloalkyl" để chỉ nhóm alkyl có một hoặc hai vòng và có nhiều hơn 3 nguyên tử cacbon bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclohexenyl, và dicycloheptyl.

Thuật ngữ nhóm “xyano” để chỉ nhóm -CN.

Thuật ngữ “các muối được dụng” là các muối được tạo bởi hợp chất có công thức (I) với các axit hữu cơ hoặc vô cơ, và là các muối vẫn duy trì độ sinh khả dụng và các tính chất của hợp chất gốc. Các muối này bao gồm:

(1) các muối được tạo bởi hợp chất nêu trên với các axit, thu được bằng cách cho bazơ tự do của hợp chất gốc phản ứng với các axit vô cơ hoặc hữu cơ, trong đó các axit vô cơ bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở): ví dụ, axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit phosphoric, axit metaphosphoric, axit sulfuric, sulfuro, axit pecloric và axit tương tự; các axit hữu cơ bao gồm (nhưng không chỉ giới hạn ở): ví dụ, axit axetic, axit propanoic, axit acrylic, axit oxalic, axit malic (D) hoặc (L), axit fumaric, axit maleic, axit hydroxybenzoic, axit γ -hydroxybutyric, axit metoxybenzoic, axit phtalic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, 1-naphtathalensulphonic, axit 2-naphtalensulphonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, axit tartric, axit xitric, axit lactic, axit mandelic, axit succinic, axit malonic và axit tương tự; và

(2) các muối được tạo ra bằng cách thay thế các proton của axit trong hợp chất gốc bằng ion kim loại hoặc liên kết phối trí các proton của axit trong hợp chất gốc với hợp chất kiềm hữu cơ, trong đó các ion kim loại bao gồm, ví dụ, các ion kim loại kiềm, ion kim loại kiềm thổ hoặc ion nhôm; và các hợp chất kiềm hữu cơ bao gồm, ví dụ, etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, trometamol, N-metylglucamin và hợp chất tương tự.

Thuật ngữ "dược phẩm" để chỉ hỗn hợp chứa một hoặc nhiều hợp chất được mô tả ở đây, hoặc các muối được dụng và tiền dược chất của chúng, cùng với các thành phần hóa học khác, như các chất mang và tá dược được dụng. Mục đích của dược phẩm này là để kích thích sự giải phóng dược chất của hợp chất đến cơ thể.

Trong phần sau đây, trừ khi được giới hạn cụ thể, các hợp chất có công thức (I), là thành phần có hoạt tính của các chất điều trị, bao gồm tất cả các muối được dụng của chúng, cần được hiểu là vẫn thuộc phạm vi của sáng chế này. Trong bản mô tả này, để thuận tiện, chúng được gọi đơn giản là các hợp chất có công thức (I).

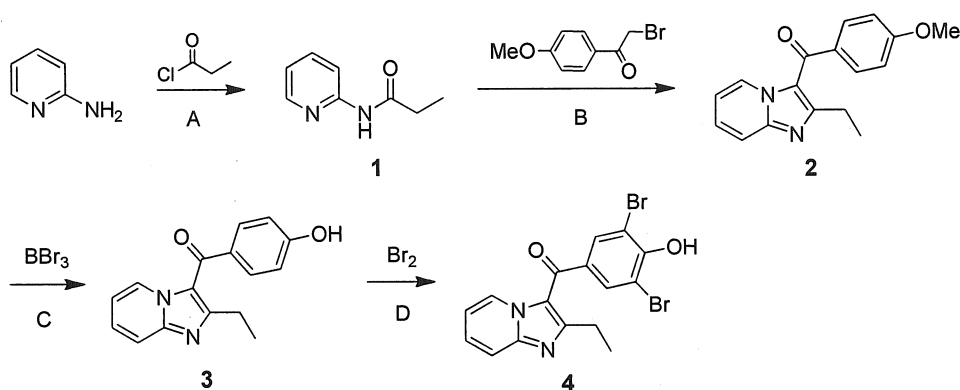
Sáng chế bao gồm dược phẩm, chứa hợp chất bất kỳ theo sáng chế, muối được dụng của nó hoặc este là tiền dược chất được thủy phân một cách dễ dàng của nó làm hoạt chất, được bổ sung thêm các tá dược được dụng.

Các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế nêu trên được khẳng định trong phương án sau đây là chúng có thể cải thiện đáng kể hiệu quả ức chế đối với URAT1, làm tăng đáng kể mức độ bài tiết axit uric ở chuột, và độc tính thấp hơn

hiều so với độc tính của benzbromoron. Do đó, hợp chất được đề xuất theo sáng chế có hiệu quả bài tiết axit uric rất tốt và có độ an toàn cao hơn. Dựa trên các tính chất này, hợp chất hoặc muối được dụng của nó có thể được sử dụng để bào chế thuốc làm tăng axit uric-niệu dùng để điều trị các bệnh liên quan đến sự rối loạn bài tiết axit uric, đặc biệt là được sử dụng để điều trị hoặc phòng ngừa chứng tăng axit uric-huyết, bệnh hư thận hoặc bệnh gút.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 4)



Bước A: cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (2,07g, 22,4mmol) vào hỗn hợp chứa 2-aminopyridin (2,0g, 21,3mmol) và triethylamin (2,58g, 25,5mmol) trong diclometan (20ml) trong bể nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm, pha loãng bằng nước (40ml), chiết bằng diclometan (40ml×3). Lóp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan, cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:15-1:10) để thu được *N*-(pyridin-2-yl)propionamit (hợp chất có công thức 1) (2,74g) với hiệu suất 85,6%.

Bước B: gia nhiệt hồi lưu hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 1 (300mg, 2,0mmol) và 2-bromo-1-(4-metoxyphenyl)-etanon (460mg, 2,0mmol) trong toluen (10ml) trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (30ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng kali cacbonat bão hoà, chiết bằng diclometan (40ml×3). Lóp hữu cơ kết

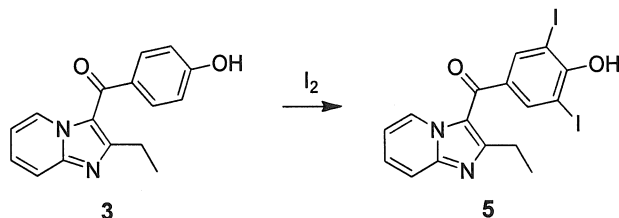
hợp được làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30-1:1) để thu được (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxyphe-nyl)metanon (hợp chất có công thức 2) (254mg) với hiệu suất 45,3%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,18 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,74-7,69 (m, 3H), 7,58-7,55 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 7,09 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,45 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,11 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 281,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước C: cho thêm nhỏ giọt bo tribromua (0,6ml, 1,0M trong toluen) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 2 (80mg, 0,285mmol) trong diclometan khan (6ml) trong bể nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng, khuấy qua đêm, rót vào nước đá (30ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà, và chiết bằng etyl axetat (40ml $\times$ 2). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và làm bay hơi trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:20-1:1) để thu được (2-ethylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)(4- hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức 3) (67mg) với hiệu suất 88,3%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 10,29 (s, 1H), 9,11 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,62-7,51 (m, 3H), 7,15-7,11 (m, 1H), 6,90 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 2,45 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,12 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 267,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước D: cho thêm brom (90mg, 0,563mmol) trong axit axetic (1ml) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 3 (67mg, 0,252mmol) và natri axetat (62mg, 0,755mmol) trong axit axetic (5ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, được tôi bằng cách cho thêm natri bisulfat bão hoà trong nước, và cô trong chân không. Phần cặn được cho thêm nước (30ml), và hỗn hợp này được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà và được chiết bằng etyl axetat (40ml $\times$ 2). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:10-1:1) để thu được (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2- ethyl-imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 4) (48mg) với hiệu suất 44,9%. ^1H NMR

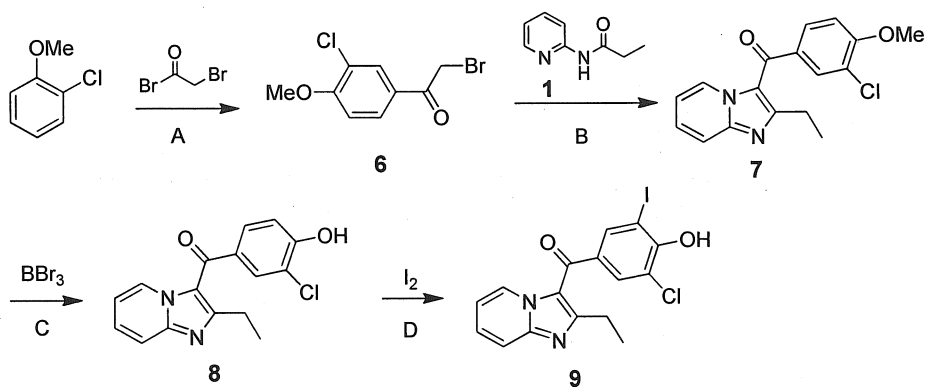
(DMSO-d₆, 300 MHz) δ 9,19 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,87 (s, 2H), 7,75 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,44 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 422,9 $[M+H]^+$.

Ví dụ 2: điều chế (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3,5-diiodophenyl)metanon (hợp chất có công thức 5)



Khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 3 (556mg, 2,09mmol), natri axetat (367mg, 4,58mmol) và iot (1,17g, 4,61mmol) trong metanol (20ml) trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ. Sau đó, dung dịch chứa natri hydroxit (151mg, 3,78mmol) trong nước (20ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ và làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Dung dịch natri bisulfat bão hoà trong nước (20ml) được thêm vào. Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước, và làm khô. Sản phẩm thô được kết tinh ra khỏi ete dầu mỏ/etyl axetat để thu được (2-etylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3,5- diiodophenyl)metanon (hợp chất có công thức 5) (924mg) với hiệu suất 85,3%. ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 9,17 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 8,05 (s, 2H), 7,75 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,64-7,58 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,45 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 518,8 $[M+H]^+$.

Ví dụ 3: điều chế (3-clo-4-hydroxyphenyl)(2- etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 8) và (3-clo-4-hydroxy-5- iodophenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 9)



Bước A: cho thêm nhỏ giọt dung dịch chứa 2-bromoaxetyl bromua (6,8g, 33,7mmol) trong diclometan khan (10ml) vào hỗn hợp chứa 1-clo-2-metoxibenzen (4,0g, 28,1mmol) và nhôm clorua (4,12g, 30,9mmol) trong diclometan khan (30ml) trong bể nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1,5 giờ nữa và được rót vào nước đá (100ml). Hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (60ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (30ml), natri bicacbonat bão hoà (30ml×2), nước (30ml) và nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc qua tấm silicagel ngắn, và cô trong chân không. Phần cặn được tái kết tinh với ete dầu mỏ/diclometan để thu được 2-bromo-1-(3-clo-4-metoxyphenyl)etanon (hợp chất có công thức 6) (3,37g) với hiệu suất 45,5%.

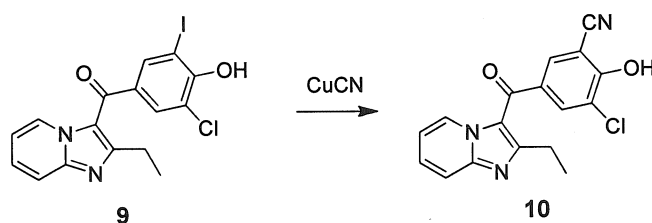
Bước B: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 1 (780mg, 5,23mmol) và hợp chất có công thức 6 (1,37g, 5,20mmol) trong toluen (20ml) trong điều kiện hồi lưu trong 24 giờ và hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Sau khi cho thêm nước (50ml), hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng kali cacbonat bão hoà và chiết bằng diclometan (60ml×3). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:20-1:5) để thu được (3-clo-4-metoxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 7) (510mg) với hiệu suất 31,2%.

Bước C: cho thêm nhỏ giọt bo tribromua (3,2ml, 1,0M trong toluen) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 7 (500mg, 1,57mmol) trong diclometan khan (15ml) trong bể nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng

qua đêm, rót vào nước đá (40ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà, và chiết bằng etyl axetat (40ml×2). Lóp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:5-3:1) để thu được (3-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **8**) (380mg) với hiệu suất 79,5%. MS (EI, m/z): 301,7 [M+H]⁺.

Bước D: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **8** (378mg, 1,26mmol), natri axetat (114mg, 1,39mmol) và iot (351mg, 1,38mmol) trong metanol (30ml) trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ. Sau khi cho thêm dung dịch chứa natri hydroxit (45mg, 1,13mmol) vào nước (13ml), hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ và làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Dung dịch natri bisulfat bão hoà trong nước (30ml) được thêm vào. Các chất kết tủa được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước, và làm khô. Sản phẩm thô được tái kết tinh với ete dầu mỏ/etyl axetat để thu được (3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **9**) (430mg) với hiệu suất 85,3%. ¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 9,04 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,71-7,68 (m, 2H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,13-7,10 (m, 1H), 2,49-2,47 (m, 2H), 1,18 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 426,9 [M+H]⁺.

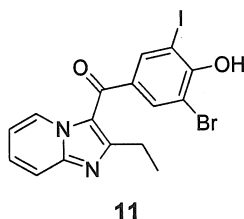
Ví dụ 4: điều chế 3-clo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril (hợp chất có công thức **10**)



Khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **9** (393mg, 0,921mmol) và đồng (I) xyanua (124mg, 1,38mmol) trong DMF (5ml) ở nhiệt độ 130°C qua đêm, hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (30ml), và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Lóp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (20ml×2) và nước muối (10ml), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không.

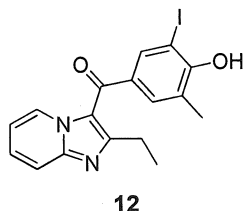
Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 2:1-5:1) để thu được 3-clo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2- hydroxybenzonitril (hợp chất có công thức **10**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,11 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 7,94-7,90 (m, 2H), 7,80-7,77 (m, 1H), 7,68-7,63 (m, 1H), 7,26-7,21 (m, 1H), 2,50-2,48 (m, 2H), 1,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 324,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 5: điều chế (3-bromo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **11**)



Hợp chất có công thức **11** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 3 bằng cách sử dụng hợp chất 1-bromo-2-metoxybenzen ở bước A làm chất phản ứng thay thế. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,16 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,87 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 7,62-7,56 (m, 1H), 7,20-7,16 (m, 1H), 2,43 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,18 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 470,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

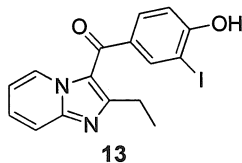
Ví dụ 6: điều chế (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-iodo-5-metylphenyl)metanon (hợp chất có công thức **12**)



Hợp chất có công thức **12** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 3 bằng cách sử dụng hợp chất 1-metoxi-2-metylbenzen ở bước A làm chất phản ứng thay thế. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,91 (s, 1H), 9,14 (dd, $J = 0,9, 6,9$ Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,74-7,71 (m, 1H), 7,59-7,51 (m, 2H), 7,18-7,13 (m, 1H), 2,44 (t, $J =$

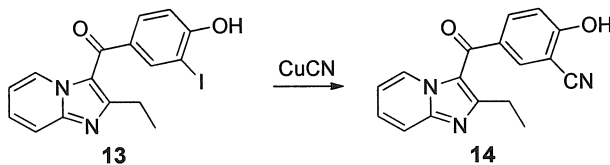
7,5 Hz, 2H), 2,30 (s, 3H), 1,17 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 406,9 $[M+H]^+$.

Ví dụ 7: điều chế (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-iodophenyl)metanon (hợp chất có công thức **13**)



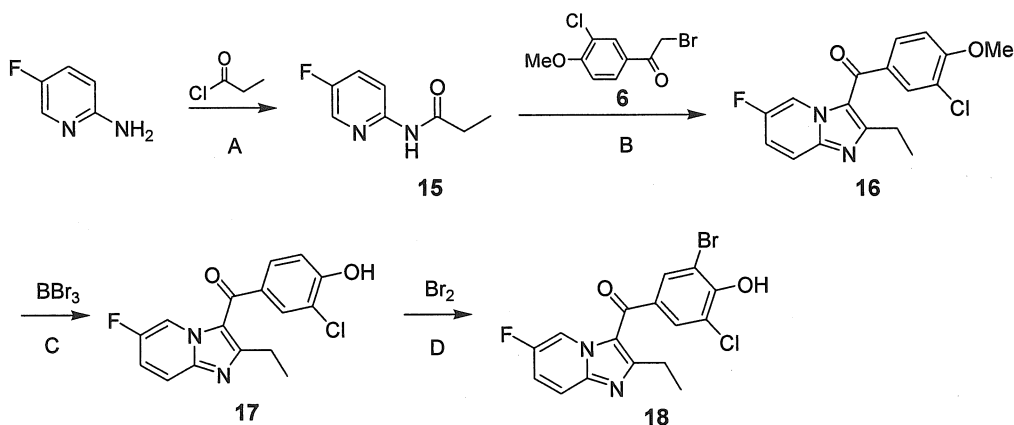
Hợp chất có công thức **13** được điều chế theo phương pháp gồm các bước A, B và C trong ví dụ 3 bằng cách sử dụng hợp chất 1-iodo- 2-metoxybenzen làm chất phản ứng thay thế. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 11,16 (s, 1H), 9,13 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,61 (dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz, 1H), 7,57-7,54 (m, 1H), 7,16-7,13 (m, 1H), 7,01 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 2,45 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,15 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 392,9 $[M+H]^+$.

Ví dụ 8: điều chế 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxy-benzonitril (hợp chất có công thức **14**)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức **13** làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **14** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 4. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 11,91 (s, 1H), 9,19 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,85 (dd, $J = 2,0, 8,5$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,61-7,57 (m, 1H), 7,19-7,15 (m, 2H), 2,43 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,13 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 292,0 $[M+H]^+$.

Ví dụ 9: điều chế (3-bromo-5-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-flo-imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **18**)



Bước A: cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (2,17g, 23,5mmol) vào hỗn hợp chứa 2-amino-5-flopyridin (2,5g, 22,3mmol) và trietylamin (2,71g, 26,8mmol) trong diclometan khan (25ml) trong bể nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, được tôi bằng nước (40ml), và chiết bằng diclometan (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:5) để thu được *N*-(5-flopyridin-2-yl)propionamit (hợp chất có công thức **15**) (3,04g) với hiệu suất 81,1%.

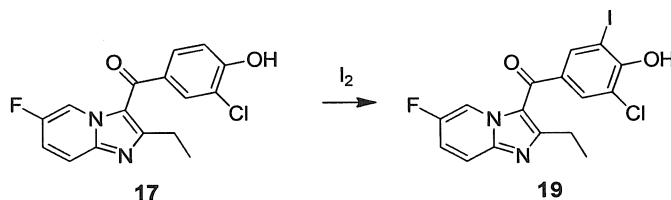
Bước B: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **15** (960mg, 5,71mmol) và hợp chất có công thức **6** (1,5g, 5,69mmol) trong toluen (30ml) trong điều kiện hồi lưu qua đêm, hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (30ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng kali cacbonat bão hoà, và chiết bằng diclometan (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước, làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30-1:1) để thu được (3-clo-4-metoxypheyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **16**) (270mg) với hiệu suất 14,3%.

Bước C: cho thêm nhỏ giọt dung dịch chứa bo tribromua 1,0M trong toluen (2,4ml) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **16** (262mg, 0,787mmol) trong diclometan khan (10ml) trong bể nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt

độ trong phòng trong 6 giờ, pha loãng bằng nước đá (30ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà, và chiết bằng etyl axetat (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:6-1:4) để thu được (3-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-flo- imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 17) (90mg) với hiệu suất 35,9%. MS (EI, m/z): 339,7 [M+H]⁺.

Bước D: cho thêm brom (25mg, 0,156mmol) trong axit axetic (1ml) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 17 (41mg, 0,129mmol) và natri axetat (26mg, 0,317mmol) trong axit axetic (5ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, được tôi bằng natri bisulfat bão hoà trong nước, và sau đó cô trong chân không. Phần cặn được cho thêm nước (20ml), và hỗn hợp này được điều chỉnh đến pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:6-1:3) để thu được (3-bromo-5-clo-4-hydroxyphenyl)-(2-etyl-6- floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 18). ¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 11,06 (s, 1H), 9,22-9,21 (m, 1H), 7,86-7,83 (m, 2H), 7,76-7,70 (m, 2H), 2,43 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 398,9 [M+H]⁺.

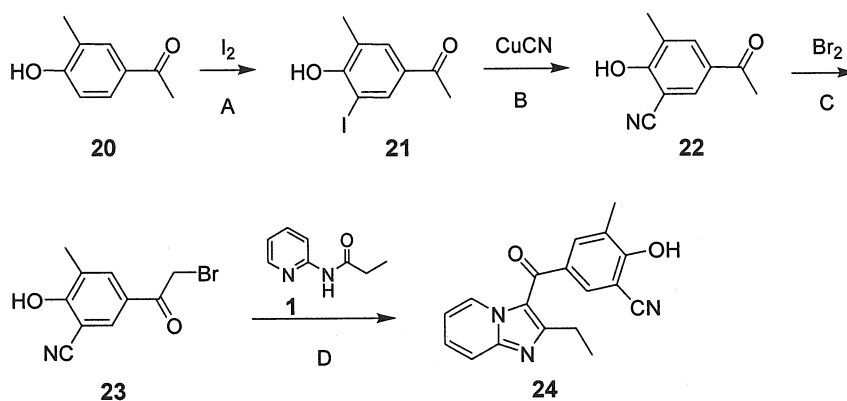
Ví dụ 10: điều chế (3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etyl-6-flo- imidazo[1,2- a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 19)



Khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 17 (41mg, 0,129mmol), natri axetat (12mg, 0,146mmol) và iot (36mg, 0,142mmol) trong metanol (10ml) trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ, và sau đó dung dịch chứa natri hydroxit (5mg, 0,125mmol) trong nước (3ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và cho thêm

natri bisulfat bão hoà trong nước (10ml). Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô. Sản phẩm thô được kết tinh với ete dầu mỏ/etyl axetat để thu được (3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **19**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,13 (s, 1H), 7,97 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,83-7,80 (m, 1H), 7,71 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,69-7,65 (m, 1H), 2,46 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,17 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 444,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 11: điều chế 5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2- hydroxy-3-metylbenzonitril (hợp chất có công thức **24**)



Bước A: khuấy hỗn hợp chứa 1-(4-hydroxy-3-metylphenyl)etanon (4,95g, 33,0mmol), natri axetat (2,98g, 36,3mmol) và iot (9,21g, 36,3mmol) trong metanol (80ml) trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ, và sau đó dung dịch chứa natri hydroxit (1,19g, 29,7mmol) trong nước (55ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ và làm bay hơi khoảng một nửa thể tích trong chân không. Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc. Bánh lọc được hòa tan vào etyl axetat (200ml), và dung dịch được rửa bằng natri bisulfat bão hoà trong nước (40ml) và nước muối (40ml), làm khô bằng natri sulfat khan và cô để thu được 1-(4-hydroxy-3-iodo-5-metylphenyl)etanon (hợp chất có công thức **21**) (7,91g) với hiệu suất 86,8%.

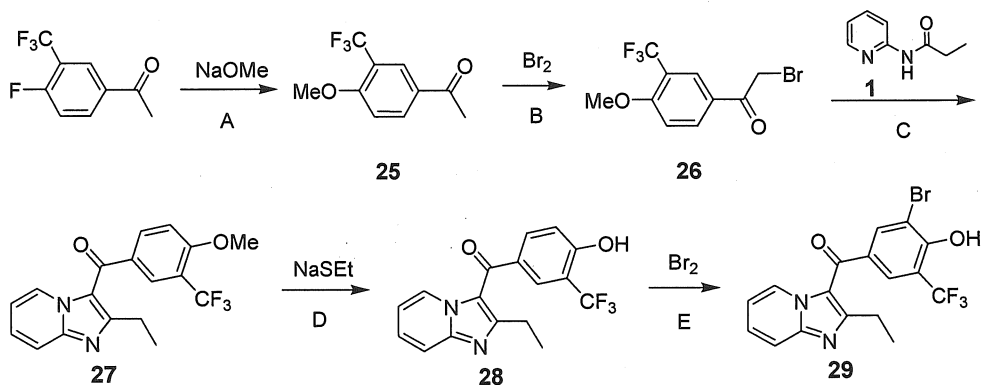
Bước B: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **21** (3,90g, 14,1mmol) và đồng (I) xyanua (1,90g, 21,2mmol) trong DMF (25ml) ở nhiệt độ 130°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và lọc qua tấm xelit. Phần nước lọc được cho thêm nước (100ml). Hỗn hợp này được chiết bằng

ethyl axetat (50ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (30ml×2) và nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:15-1:3) để thu được 5-axetyl-2-hydroxy-3-methylbenzonitril (hợp chất có công thức **22**) (2,07g) với hiệu suất 83,8%.

Bước C: cho thêm brom (548mg, 3,43mmol) trong metanol (4ml) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức **22** (500mg, 2,85mmol) trong metanol (10ml), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Sau khi cho thêm nước (50ml), hỗn hợp tạo thành được chiết bằng ethyl axetat (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không để thu được 5-(2-bromoaxetyl)-2-hydroxy-3-methylbenzonitril (hợp chất có công thức **23**) (800mg). Sản phẩm thô có công thức **23** được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước D: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **23** dạng thô (800mg) và hợp chất có công thức **1** (600mg, 3,99mmol) trong toluen (15ml) trong điều kiện hồi lưu qua đêm và hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được cho thêm metanol (15ml) và kali cacbonat (1,10g, 8,0mmol). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, pha loãng bằng nước (40ml), và chiết bằng ethyl axetat (50ml×3). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng ethyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30-1:1) để thu được 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-2-hydroxy-3-methylbenzonitril (hợp chất có công thức **24**). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 10,99 (s, 1H), 9,15 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,74-7,72 (m, 2H), 7,60-7,55 (m, 1H), 7,19-7,14 (m, 1H), 2,43 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 2,26 (s, 3H), 1,14 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 306,1 [M+H]⁺.

Ví dụ 12: điều chế (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-(trifluoromethyl)phenyl)metanon (hợp chất có công thức **28**) và (3-bromo-4-hydroxy-5-(trifluoromethyl)phenyl)-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **29**)



Bước A: khuấy hỗn hợp chứa 1-(4-fluoro-3-(trifluoromethyl)phenyl)etanon (1,0g, 4,85mmol) và natri metoxit (288mg, 5,33mmol) trong DMF (5ml) trong 2 giờ trong bể nước đá và sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (30ml) và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:40) để thu được 1-(4-metoxi-3-(trifluoromethyl)phenyl)etanon (hợp chất có công thức **25**) (950mg) với hiệu suất 89,8%.

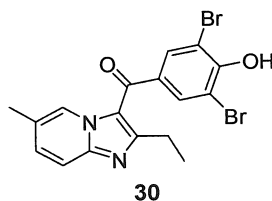
Bước B và C: tiến hành theo phương pháp được sử dụng trong các bước C và D của ví dụ 11.

Bước D: cho thêm từng phần natri hydrua (60% trong dầu khoáng, 69mg, 1,73mmol) vào dung dịch chứa etanthiol (107mg, 1,73mmol) trong DMF (5ml), và hỗn hợp này được khuấy trong khoảng 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch chứa hợp chất có công thức **27** (200mg, 0,574mmol) trong DMF (3ml) được cho thêm vào hỗn hợp nêu trên. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong 2 giờ, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và pha loãng bằng nước (40ml). Hỗn hợp này được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng axit clohydric 2M và chiết bằng etyl axetat (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (30ml) và nước muối (20ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:1) để thu được (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-(4-hydroxy-3-(trifluoromethyl)phenyl)metanon (hợp chất có công thức

28) (120mg) với hiệu suất 62,6%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 11,55 (s, 1H), 9,17 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 7,75 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,63-7,57 (m, 1H), 7,21-7,16 (m, 1H), 2,43 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,15 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 335,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

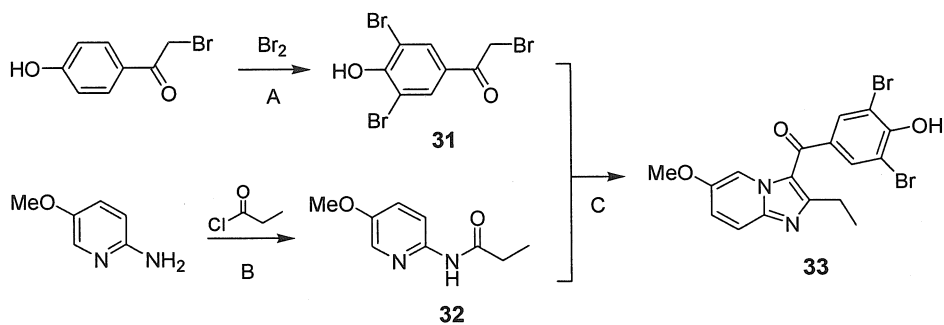
Bước E: cho thêm brom (55mg, 0,719mmol) trong axit axetic (1ml) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **28** (96mg, 0,287mmol) và natri axetat (59mg, 0,719mmol) trong axit axetic (5ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ, hỗn hợp này được tôi bằng cách cho thêm natri bisulfat bão hoà trong nước, cô trong chân không, và sau đó pha loãng bằng nước (20ml). Hỗn hợp được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà, chiết bằng etyl axetat (40ml $\times$ 2), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:5-3:2) để thu được (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-metanon (hợp chất có công thức **29**)(85mg) với hiệu suất 71,9%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,19 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,77 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,66-7,62 (m, 1H), 7,24-7,21 (m, 1H), 2,41 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 413,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 13: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-methylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **30**)



Hợp chất có công thức **30** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 1 bằng cách sử dụng hợp chất 5-methyl-pyridin-2-amin làm chất phản ứng thay thế ở bước A. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,04 (s, 1H), 7,87 (s, 2H), 7,69 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 2,42-2,38 (m, 5H), 1,15 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 436,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 14: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethyl-6-metoxymimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **33**)



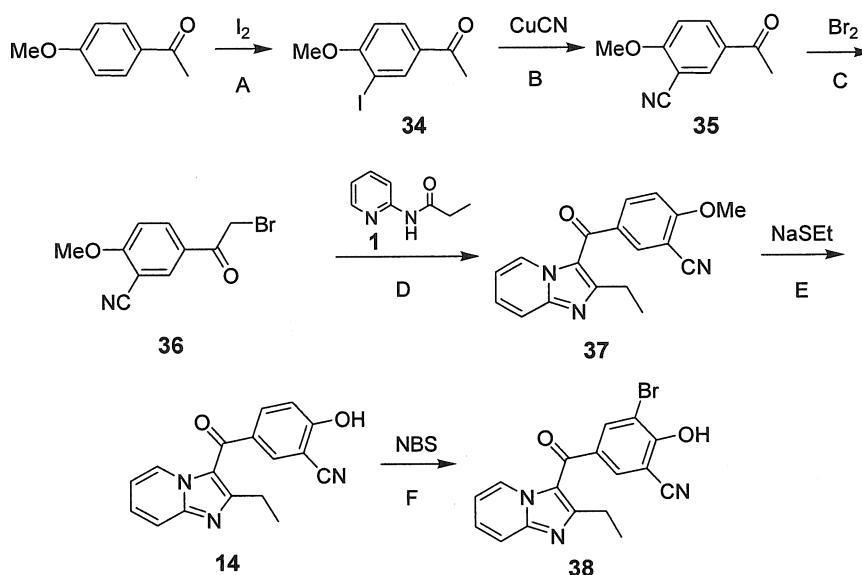
Bước A: cho thêm brom (960mg, 6,0mmol) trong axit axetic (5ml) vào hỗn hợp chứa hợp chất 2-bromo-1-(4-hydroxyphenyl)etanon (639mg, 2,98mmol) và natri axetat (740mg, 9,02mmol) trong axit axetic (10ml), và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Sau khi cho thêm nước (40ml), các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước, và làm khô để thu được 2-bromo-1-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)etanon (hợp chất có công thức **31**) (890mg) với hiệu suất 80,1%.

Bước B: cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (777mg, 8,4mmol) vào hỗn hợp chứa 5-metoxypyridin-2-amin (1,0g, 8,05mmol) và trietylamin (981mg, 9,69mmol) trong diclometan (8ml) trong bể nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cho thêm nước (40ml), và hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (30ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30-1:8). Sản phẩm được tái kết tinh với ete dầu mỏ để thu được *N*-(5-metoxypyridin-2-yl)-propionamit (hợp chất có công thức **32**) (349mg) với hiệu suất 21,4%.

Bước C: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **31** (790mg, 2,12mmol) và hợp chất có công thức **32** (340mg, 1,89mmol) trong toluen (20ml) trong điều kiện hồi lưu trong 48 giờ và hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Cho thêm nước (50ml) vào hỗn hợp, và hỗn hợp tạo thành được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng kali cacbonat bão hoà và chiết bằng diclometan (50ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:10-2:5) để thu được (3,5-

dibromo-4-hydroxyphenyl) (2-etyl-6- metoxyimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **33**) (87mg) với hiệu suất 10,1%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 8,71 (s, 1H), 7,79(s, 2H), 7,64 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,34 (d, J =10,0 Hz, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,45 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 452,9 $[\text{M-H}]^-$.

Ví dụ 15: điều chế 3-bromo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril (hợp chất có công thức **38**)



Bước A: cho thêm 1-(4-metoxyphenyl)etanon (44g, 293mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất 1-clometyl-4-flo-1,4-diazoniabixyclo[2.2.2]ocatan bis(tetraflororat) (104g, 294mmol) và iot (38,6g, 152mmol) trong axetonitril (440ml) trong bể nước đá. Hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Cho thêm nước (1350ml) vào hỗn hợp này. Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô để thu được 1-(3-iodo-4-metoxyphenyl)etanon (hợp chất có công thức **34**) (70g) với hiệu suất 86,5%.

Bước B: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **34** (70,0g, 254mmol) và đồng (I) xyanua (34,0g, 380mmol) trong DMF (400ml) ở nhiệt độ 130°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và lọc qua tấm xelit. Cho thêm nước (1600ml) vào phần nước lọc, và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (800ml $\times$ 3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (40ml $\times$ 2) và nước muối

(400ml), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc, và cô trong chân không để thu được 5-axetyl-2-metoxymetanonitril (hợp chất có công thức **35**) (50,0g). Sản phẩm thô được sử dụng ngay trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước C: cho thêm brom (49,0g, 307mmol) trong metanol (50ml) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức **35** dạng thô (45,0g) trong metanol (250ml), và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp này được cho thêm nước (900ml) và chất kết tủa được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô để thu được 5-(2-bromoaxetyl)-2-metoxymetanonitril (hợp chất có công thức **36**) (41,0g). Tổng hiệu suất của bước B và C bằng 70,6%.

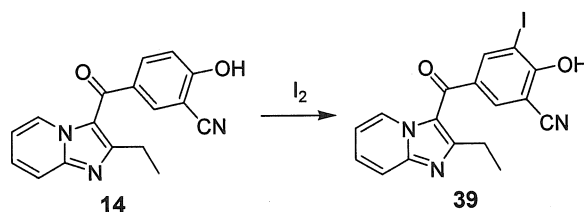
Bước D: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **36** (41,0g, 161mmol) và hợp chất có công thức **1** (24,0g, 161mmol) trong toluen (600ml) trong điều kiện hồi lưu trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước (400ml), điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hòa, và chiết bằng diclometan (600ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30-2:1) để thu được 5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-metoxymetanonitril (hợp chất có công thức **37**) (25,7g) với hiệu suất 52,3%.

Bước E: cho thêm từng phần natri hydrua (hệ phân tán 60% trong dầu khoáng, 4,8g, 120mmol) vào dung dịch chứa etanthiol (8,4ml) trong THF (30ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khoảng 5 phút và được lọc. Bánh lọc được cho vào dung dịch chứa hợp chất có công thức **37** (9,0g, 29,5mmol) trong DMF (25ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 60°C trong 2 giờ, làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và lọc qua tấm xelit. Phần nước lọc được cho thêm nước (100ml), và hỗn hợp được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6 bằng dung dịch axit xitric 2M. Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước, và làm khô. Bánh lọc được kết tinh ra khỏi axetonitril để thu được 5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxymetanonitril (hợp chất có công thức **14**) (7,2g) với hiệu suất 83,8%.

Bước F: cho thêm từng phần *N*-bromosuccinimide (5,28g, 29,7mmol) vào dung

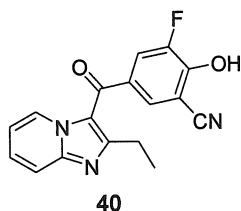
dịch chứa hợp chất có công thức **14** (7,2g, 24,7mmol) trong DMF (70ml). Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ nữa và pha loãng bằng nước (210ml). Các chất kết tủa được thu hồi bằng cách lọc, rửa bằng nước và làm khô. Bánh lọc được kết tinh ra khỏi axetonitril để thu được 3-bromo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril (hợp chất có công thức **38**) (7,0g) với hiệu suất 76,8%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,01 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,58-2,50 (m, 2H), 1,19 (t, J = 7,2 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 368,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 16: điều chế 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril (hợp chất có công thức **39**)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức **14** làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **39** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 10. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,04 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,77 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,66-7,63 (m, 1H), 7,23-7,21 (m, 1H), 2,56-2,50 (m, 2H), 1,20 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 416,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

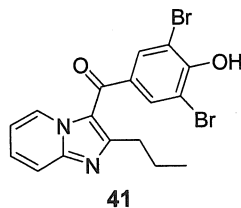
Ví dụ 17: điều chế 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-3-fluoro-2-hydroxybenzonitril (hợp chất có công thức **40**)



Hợp chất có công thức **40** được điều chế theo phương pháp của các bước A, B và C trong ví dụ 11 và bước C trong ví dụ 14 bằng cách sử dụng hợp chất 1-(3-fluoro-4-hydroxyphenyl)etanon làm chất phản ứng thay thế. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,18 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,83-7,75 (m, 3H), 7,64-7,59 (m, 1H), 7,23-7,18

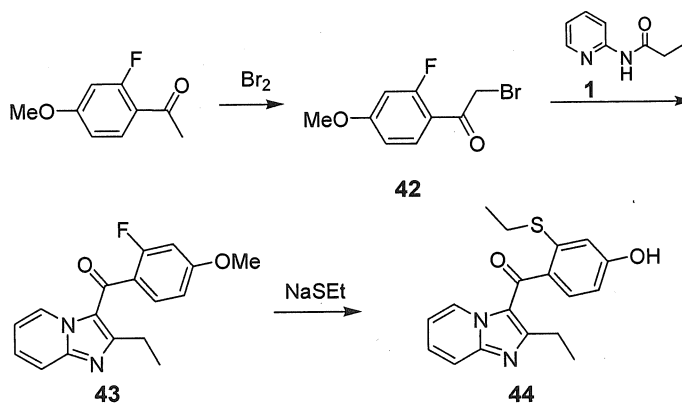
(m, 1H), 2,46-2,41 (m, 2H), 1,15 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 310,1 $[M+H]^+$.

Ví dụ 18: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-propylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **41**)



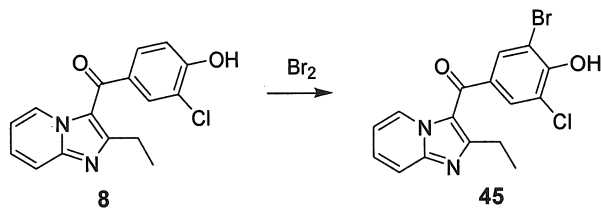
Hợp chất có công thức **41** được điều chế theo phương pháp của ví dụ 1 bằng cách sử dụng hợp chất butyryl clorua trong bước A. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 10,81 (s, 1H), 9,18 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 7,86 (s, 2H), 7,73 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,19-7,17 (m, 1H), 2,38 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,68-1,63 (m, 2H), 0,76 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 436,9 $[M-H]^+$.

Ví dụ 19: điều chế (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(2-etylsulfanyl-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **44**)



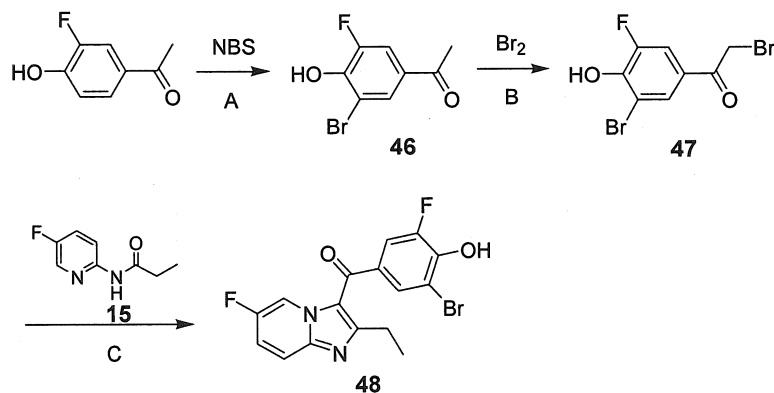
Hợp chất có công thức **44** được điều chế theo phương pháp của các bước B, C và D trong ví dụ 12 bằng cách sử dụng 1-(2-fluoro-4-methoxyphenyl)etanon làm chất phản ứng thay thế. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 10,08 (s, 1H), 9,42 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,63-7,59 (m, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 6,88 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 6,68 (dd, $J = 2,0, 8,0$ Hz, 1H), 2,88 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,26 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,16 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 1,05 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 325,1 $[M-H]^+$.

Ví dụ 20: điều chế (3-bromo-5-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 45)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức 8 làm chất ban đầu, hợp chất có công thức 45 được điều chế theo phương pháp của bước D trong ví dụ 9. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ 9,19 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 7,83 (d, J = 2,0 Hz, 1H), 7,76-7,74 (m, 2H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,20-7,17 (m, 1H), 2,43 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 379,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 21: điều chế (3-bromo-5-flo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 48)



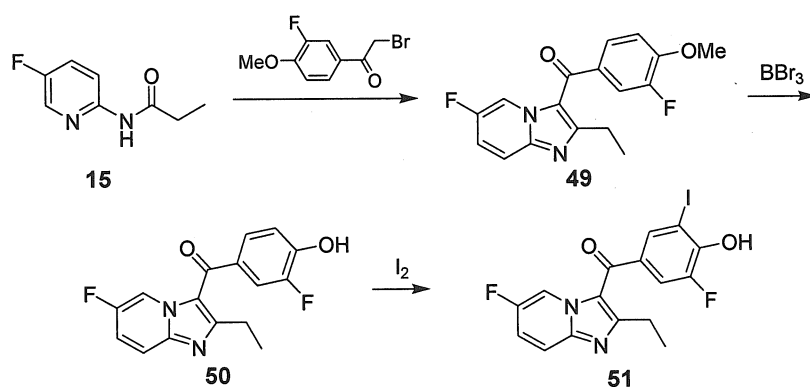
Bước A: cho thêm từng phần *N*-bromosuccinimide (977mg, 5,49mmol) vào dung dịch chứa 1-(3-flo-4-hydroxyphenyl)etanon (806mg, 5,23mmol) trong DMF (10ml). Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ nữa. Nước (50ml) được cho thêm vào và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (50ml $\times$ 3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (30ml $\times$ 3) và nước muối (20ml), làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được kết tinh ra khỏi ete dầu mỏ/etyl axetat để thu được 1-(3-bromo-5-flo-4-hydroxy-phenyl)etanon (hợp chất có công thức 46) (1,0g) với hiệu suất 82,0%.

Bước B: cho thêm brom (824mg, 5,16mmol) trong metanol (5ml) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 46 (1,0g, 4,29mmol) trong metanol (20ml), và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, hỗn hợp được tôi với nước

(60ml), và chiết bằng etyl axetat (60ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml), làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:5) để thu được 2-bromo-1-(3-bromo-5-flo-4-hydroxyphenyl)-etanon (hợp chất có công thức **47**) (940mg) với hiệu suất 70,2%.

Bước C: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **15** (210mg, 1,25mmol) và hợp chất có công thức **47** (300mg, 0,962mmol) trong 1-metyl-2-pyrrolidinon (10ml) ở nhiệt độ 150°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và nước (50ml) được thêm vào. Hỗn hợp này được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng dung dịch axit xitric 2M và chiết bằng diclometan (50ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:25-1:5) để thu được (3-bromo-5-flo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **48**). ¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ 11,44 (s, 1H), 9,24-9,22 (m, 1H), 7,88-7,85 (m, 1H), 7,75-7,71 (m, 2H), 7,63-7,60 (m, 1H), 2,47 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,18 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 379,0 [M-H]⁺.

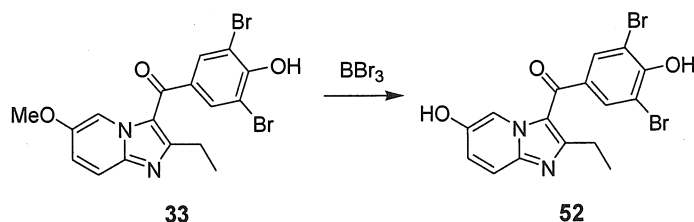
Ví dụ 22: điều chế (2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3-flo-4-hydroxy-5-iodophenyl)metanon (hợp chất có công thức **51**)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức **15** làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **51** được điều chế theo phương pháp của các bước B và C trong ví dụ 9, sau đó theo phương pháp trong ví dụ 10. ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 11,44 (s, 1H), 9,19-9,17 (m, 1H), 7,86-7,81 (m, 2H), 7,73-7,66 (m, 1H), 7,60-7,56 (m,

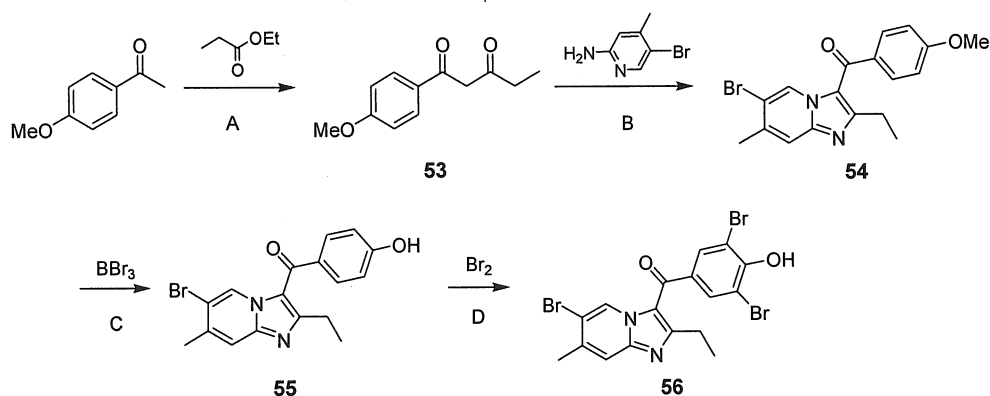
1H), 2,49-2,41 (m, 2H), 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 427,1 [M-H]⁻.

Ví dụ 23: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-hydroxyimidazo-[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **52**)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức **33** làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **52** được điều chế theo phương pháp của bước C trong ví dụ 1. ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 10,00 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 7,84 (s, 2H), 7,63 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,31-7,29 (m, 1H), 2,37 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,13 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 441,0 [M+H]⁺.

Ví dụ 24: điều chế (6-bromo-2-etyl-7-metylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **56**)



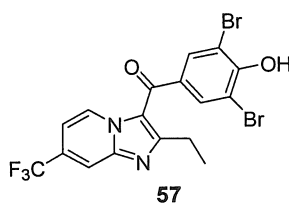
Bước A: cho thêm từng phần natri hydrua (hệ phân tán 60% trong dầu khoáng, 1,68g, 42mmol) vào dung dịch chứa hợp chất 1-(4-metoxypheyl)etanon (3,0g, 20,0mmol) trong DMF (15ml) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10 đến 0°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ này trong 40 phút nữa, và etyl propionat được thêm vào (2,04g, 20mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, pha loãng bằng nước (60ml), và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Lóp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml×2), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30) để thu được 1-(4-

metoxyphenyl)pentan-1,3-dion (hợp chất có công thức **53**) (3,16g) với hiệu suất 76,6%.

Bước B: cho thêm (diacetoxiodo)benzen (386mg, 1,2mmol) và bo triflorua ete (28mg, 0,2mmol) trong bể nước đá vào dung dịch chứa 5-bromo-4-methylpyridin-2-amin (187mg, 1,0mmol) và hợp chất có công thức **53** (247mg, 1,2mmol) trong THF (6ml). Sau khi cho thêm, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và pha loãng bằng nước (30ml). Hỗn hợp này được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8 bằng natri bicacbonat bão hoà và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml), làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30) để thu được (6-bromo-2-etyl-7-metylimidazo-[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxypheyl)metanon (hợp chất có công thức **54**) (120mg) với hiệu suất 32,2%.

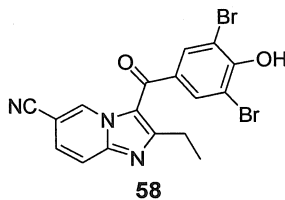
Bước C và D: tiến hành theo phương pháp được sử dụng trong bước C và D của ví dụ 1 để điều chế (6-bromo-2-etyl-7-metylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4- hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **56**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,35 (s, 1H), 7,86 (s, 2H), 7,80 (s, 1H), 2,41 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,16 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 518,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 25: điều chế (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-7-(triflometyl)-imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **57**)



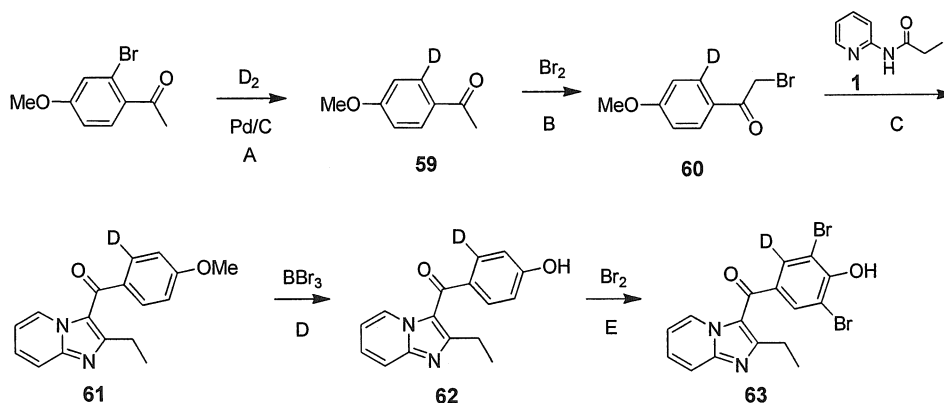
Bằng cách sử dụng hợp chất 5-(triflometyl)pyridin-2-amin làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **57** được điều chế theo phương pháp của bước B trong ví dụ 25 và phương pháp trong các bước C và D của ví dụ 1. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,23 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,93 (s, 2H), 7,45 (dd, J = 2,0, 7,2 Hz, 1H), 2,50-2,48 (m, 2H), 1,20 (t, J = 7,2 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 492,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 26: điều chế 3-(3,5-dibromo-4-hydroxybenzoyl)-2-ethylimidazo[1,2-a]-pyridin-6-carbonitril (hợp chất có công thức **58**)



Bằng cách sử dụng hợp chất 6-aminonicotinonitril làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **58** được điều chế theo phương pháp của bước B trong ví dụ 25 và phương pháp của các bước C và D trong ví dụ 1. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,56-9,55 (m, 1H), 7,92-7,89 (m, 3H), 7,86-7,83 (m, 1H), 2,48-2,46 (m, 2H), 1,22-1,17 (m, 3H). MS (EI, m/z): 450,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 27: điều chế (2-đoteri-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **62**) và (2-đoteri-3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức **63**)

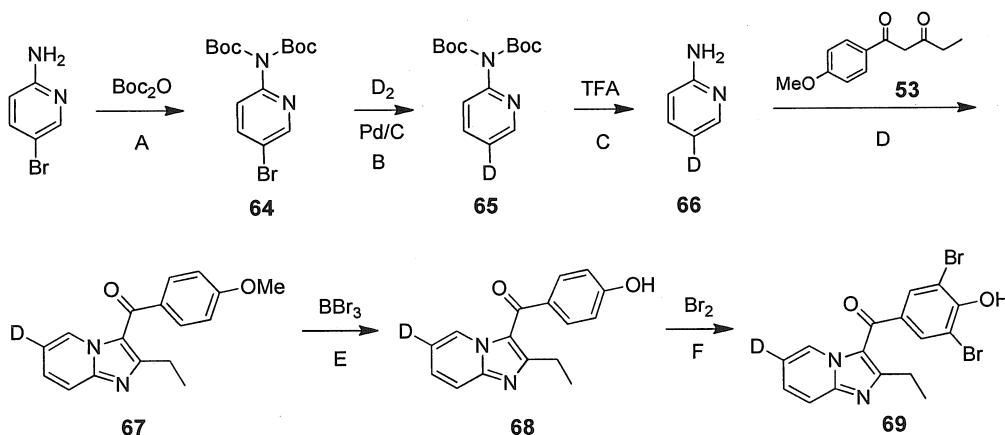


Bước A: cho thêm paladi trên than hoạt tính (5%, 100mg) vào hỗn hợp chứa 1-(2-bromo-4-metoxypheyl)etanon (1,28g, 5,59mmol) và đoterixit (0,5ml) trong DMF (10ml). Sau khi được trao đổi bằng khí đoteri, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường khí đoteri từ bình cầu chứa khí đoteri qua đêm và lọc qua tấm xelit. Phần nước lọc được cho thêm nước (40ml), và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (30ml $\times$ 2). Lóp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (10ml $\times$ 4), làm khô bằng natri sulfat khan, cô trong chân không để thu được 1-(2-đoteri-4-metoxypheyl)etanon (hợp chất có công thức **59**) (910mg) với hiệu suất 100%.

Bước B: tiến hành theo phương pháp được sử dụng trong bước C của ví dụ 15 để thu được hợp chất có công thức 60.

Bước C, D và E: tiến hành phương pháp được mô tả trong các bước B, C và D của ví dụ 1 trong các bước này để thu được (2-đoteri-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 62) và (2-đoteri-3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl) (2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (hợp chất có công thức 63). Hợp chất có công thức 62: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 11,20 (s, 1H), 9,16 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,74 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,61-7,56 (m, 2H), 7,19-7,15 (m, 1H), 7,11-7,09 (m, 1H), 2,46 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,15 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 268,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Hợp chất có công thức 63: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,19 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,76 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,63-7,59 (m, 1H), 7,21-7,18 (m, 1H), 2,44 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 426,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 28: điều chế (6-đoteri-2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức 69)



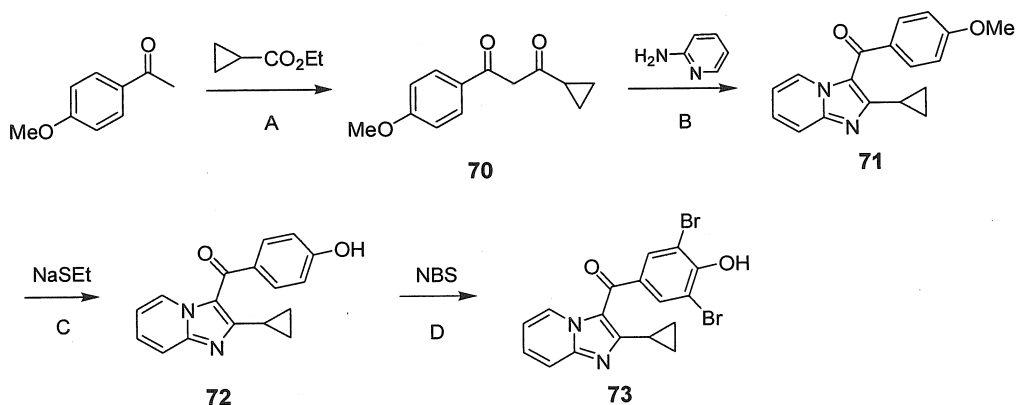
Bước A: khuấy hỗn hợp chứa 5-bromopyridin-2-amin (5,19g, 30,0mmol), etyldiisopropylamin (8,58g, 66,4mmol), 4-dimetylaminopyridin (366mg, 3,0mmol) và di-tert-butyl dicacbonat (14,4g, 66,0mmol) trong diclometan (30ml) ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:20-1:3) để thu được este (2-(4-bromo-2-pyridinyl)-1,3-bis(1,1-dimetyletyl)) của axit imidodicarbonic (hợp chất có công thức 64) (5,38g) với hiệu suất 48,0%.

Bước B: cho thêm paladi trên than hoạt tính (5%, 200mg) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **64** (5,59g, 15,0mmol), DMF (25ml) và đoteromit (0,5ml). Sau khi được trao đổi bằng khí đoteri, hỗn hợp này được khuấy trong môi trường khí đoteri từ bình cầu trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm xelit. Phần nước lọc được cho thêm nước (100ml), và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (50ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (30ml×3), làm khô bằng natri sulfat khan, và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:40-1:1) để thu được este (2-(4-đoteri-2-pyridinyl)-1,3-bis(1,1-dimetyletyl)) của axit imidodicarbonic (hợp chất có công thức **65**) (2,70g) với hiệu suất 60,9%.

Bước C: khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **65** (2,69g, 9,11mmol), axit trifloaxetic (4ml) và nước (0,5ml) trong diclometan (20ml) ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cho thêm nước (30ml), và hỗn hợp này được điều chỉnh đến độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9 bằng dung dịch natri hydroxit 2M và chiết bằng etyl axetat (40ml×3). Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô bằng natri sulfat khan và cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột nhanh trên silicagel (rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:10-1:1) để thu được 2-amino-4-đoteri-pyridin (hợp chất có công thức **66**) (676mg) với hiệu suất 78,0%.

Bước D, E và F: tiến hành phương pháp được mô tả trong các bước B, C và D của ví dụ 25 trong các bước này để thu được (6-đoteri-2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **69**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,20-9,19 (m, 1H), 7,88 (s, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,64-7,59 (m, 1H), 2,43 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,16 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 426,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 29: điều chế (2-xyclopropylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **73**)

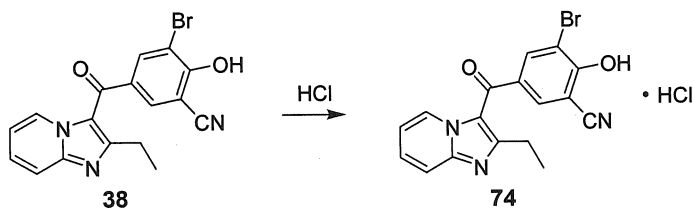


Bằng cách sử dụng ethyl xyclopropanecarboxylat làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **71** được điều chế theo phương pháp trong các bước A và B của ví dụ 24. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,24-9,23 (m, 1H), 7,81-7,79 (m, 2H), 7,68-7,65 (m, 1H), 7,58-7,56 (m, 1H), 7,16-7,09 (m, 3H), 3,87 (s, 3H), 1,56-1,54 (m, 1H), 1,08-1,06 (m, 2H), 0,88-0,85 (m, 2H).

Phương pháp được sử dụng trong bước E của ví dụ 15 được thực hiện trong bước C của ví dụ này để thu được (2-xyclopropyl-imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **72**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,17-9,16 (m, 1H), 7,72-7,70 (m, 2H), 7,66-7,64 (m, 1H), 7,55-7,51 (m, 1H), 7,14-7,10 (m, 1H), 6,91-6,89 (m, 2H), 1,62-1,60 (m, 1H), 1,07-1,05 (m, 2H), 0,88-0,85 (m, 2H).

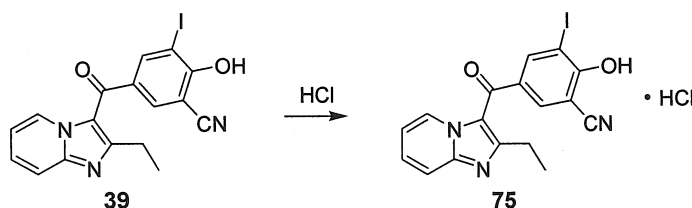
Phương pháp được sử dụng trong bước F của ví dụ 15 được thực hiện trong bước D của ví dụ này để thu được (2-xyclopropylimidazo-[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)metanon (hợp chất có công thức **73**). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,25-9,23 (m, 1H), 7,97 (s, 2H), 7,70-7,68 (m, 1H), 7,61-7,57 (m, 1H), 7,20-7,16 (m, 1H), 1,58-1,55 (m, 1H), 1,13-1,10 (m, 2H), 0,94-0,89 (m, 2H). MS (EI, m/z): 437,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ví dụ 30: điều chế 3-bromo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril hydroclorua (hợp chất có công thức **74**)



Khuấy hỗn hợp chứa hợp chất có công thức **38** (970mg, 2,62mmol) trong ethyl axetat (200ml) trong điều kiện hồi lưu trong 20 phút để tạo thành dung dịch trong, sau đó dung dịch này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, được sục hydroclorua trong khoảng 5 phút. Các chất kết tủa tạo thành được thu hồi bằng cách lọc để thu được 3-bromo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxybenzonitril hydroclorua (hợp chất có công thức **74**) (794mg) với hiệu suất 74,5%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,12 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 8,22 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,99-7,91 (m, 2H), 7,50-7,45 (m, 1H), 2,57 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,23 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 368,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 31: điều chế 5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril hydroclorua (hợp chất có công thức **75**)



Bằng cách sử dụng hợp chất có công thức **39** làm chất ban đầu, hợp chất có công thức **75** được điều chế theo phương pháp giống như phương pháp trong ví dụ 30. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 9,11 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 8,41 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,11 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 8,02-7,95 (m, 2H), 7,54-7,49 (m, 1H), 2,59 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,25 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 416,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Ví dụ 32: thử nghiệm mức độ ức chế chất vận chuyển axit uric của các hợp chất trong dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1

1. Nguyên liệu

Benzbromarone được mua từ công ty Sigma-Aldrich Co. LLC. Plasmit pCMV6-hURAT1 được mua từ công ty Origene Technologies, Inc. G418 được mua từ công ty Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd. Dòng tế bào HEK293 được mua từ Trung tâm tài nguyên tế bào của Viện Khoa học Sinh học Thượng Hải thuộc Viện hàn lâm khoa học Trung Quốc) (Cell Resource Center of Shanghai Institutes for Biological Sciences of the Chinese Academy of Sciences). Axit uric- ^{14}C được mua từ công ty American Radiolabeled Chemicals, Inc. Natri gluconat, kali gluconat,

canxi gluconat, KH_2PO_4 , MgSO_4 , glucoza, và HEPES được mua từ công ty Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. Môi trường nuôi cấy DMEM và huyết thanh bào thai bò được mua từ công ty Thermo Fisher Scientific Inc.

2. Phương pháp thử nghiệm

2.1. Cấu trúc của dòng tế bào ổn định HEK293 có mức độ biểu hiện hURAT1 cao: plasmit pCMV6-hURAT1 được chuyển nhiễm vào các tế bào HEK293, sau đó thu được chủng ổn định bằng cách sàng lọc mức độ kháng với G418 (nồng độ cuối bằng $500\mu\text{g/ml}$), chủng này có mức độ biểu hiện của protein màng của chất vận chuyển hURAT1 cao. Chủng này có thể được sử dụng cho thử nghiệm ức chế chất vận chuyển axit uric hURAT1 *in vitro* (Weaver YM, Ehresman DJ, Butenhoff JL, *et al.* Roles of rat renal organic anion transporters in transporting perfluorinated carboxylates with different chain lengths. Toxicological Sciences, 2009, 113(2):305-314).

2.2. Cho thêm $200\mu\text{l}$ poly-lysin $0,1\text{ mg/ml}$ vào mỗi lỗ của các đĩa có 24 lỗ được phủ và đĩa này được để yên qua đêm. Poly-lysin được loại bỏ ra khỏi các lỗ. Các lỗ được làm sạch hoàn toàn bằng nước vô khuẩn và được làm khô để sử dụng.

2.3. Cho thêm các tế bào ổn định HEK293-hURAT1 (2×10^5 tế bào/lỗ) vào đĩa có 24 lỗ được phủ nêu trên. Các tế bào được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong môi trường CO_2 5% trong 3 ngày.

2.4. Điều chế dung dịch đệm HBSS: cân các chất phản ứng sau đây theo nồng độ cuối: natri gluconat 125mM , kali gluconat $4,8\text{mM}$, canxi gluconat $1,3\text{mM}$, KH_2PO_4 $1,2\text{mM}$, MgSO_4 $1,2\text{mM}$, glucoza $5,6\text{mM}$, và HEPES 25mM với nước đã khử ion. Dung dịch này được trộn kỹ để thu được dung dịch đệm HBSS (độ pH = 7,4). Dung dịch đệm được bảo quản ở nhiệt độ -20°C .

2.5. Dung dịch đệm HBSS được làm ấm đến nhiệt độ 37°C trong bể nước. Các tế bào được rửa bằng HBSS hai lần, cho thêm $160\mu\text{l}$ HBSS và $20\mu\text{l}$ hợp chất thử nghiệm vào mỗi lỗ. Nồng độ cuối của hợp chất thử nghiệm trong mỗi lỗ là 500nM . Lỗ đối chứng trống chỉ chứa $180\mu\text{l}$ HBSS mà không chứa hợp chất thử nghiệm. Đĩa này được để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút.

2.6. Cho $20\mu\text{l}$ axit uric- ^{14}C $50\mu\text{M}$ vào mỗi lỗ. Đĩa này được để ở nhiệt độ

trong phòng trong 20 phút.

2.7. Dung dịch trong mỗi lỗ được loại bỏ và các tế bào trong mỗi lỗ được rửa bằng dung dịch đệm HBSS đã được làm lạnh từ trước. Mỗi lỗ được cho thêm NaOH 0,2M để hòa tan các tế bào. Dung dịch chứa các mảnh tế bào được thu hồi và lượng chính xác của chất lỏng nhấp nháy được thêm vào. Sau đó, cường độ của chất đồng vị phóng xạ axit uric- ^{14}C (giá trị số đếm trong một phút (CPM)) được phát hiện bằng cách sử dụng thiết bị phân tích sự nhấp nháy của chất lỏng PerkinElmer MicroBeta Trilux 1450.

2.8. Tất cả các thử nghiệm được lặp lại ba lần, và các kết quả được tính trung bình và độ lệch chuẩn (SD) được tính toán. Công thức tính tỷ lệ ức chế chất vận chuyển axit uric của các hợp chất được thể hiện dưới đây:

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = \frac{\text{CPM của lỗ đối chứng trống} - \text{CPM của lỗ chứa hợp chất thử nghiệm}}{\text{CPM của lỗ đối chứng trống}} \times 100\%$$

3. Kết quả thử nghiệm

Tỷ lệ ức chế chất vận chuyển axit uric của các hợp chất có công thức **4, 5, 9, 11, 12, 18, 19, 29, 30, 33, 38, 39, 41, 45, 51, 52, 56, 69, 74, 75**, và benzbromarone với nồng độ 500nM thu được theo các phương pháp thử nghiệm trên đây. Các kết quả thử nghiệm được liệt kê trong bảng 1. Các kết quả cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có hiệu quả ức chế chất vận chuyển axit uric trong dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1 là bằng hoặc cao hơn so với dược chất đối chứng là benzbromarone.

Bảng 1. tỷ lệ ức chế chất vận chuyển axit uric của các hợp chất thử nghiệm và benzbromarone với nồng độ 500nM ở dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1

Hợp chất số hoặc dược chất	Tỷ lệ ức chế chất vận chuyển axit uric, $\pm$ SD (%)
BBR	$55,57 \pm 1,42$
4	$71,68 \pm 1,84$
5	$63,00 \pm 3,33$
9	$60,63 \pm 0,82$

11	$63,55 \pm 0,95$
12	$56,24 \pm 0,12$
18	$65,44 \pm 0,71$
19	$68,84 \pm 2,83$
29	$64,35 \pm 0,12$
30	$68,05 \pm 1,49$
33	$65,06 \pm 0,39$
38	$62,41 \pm 0,72$
39	$64,12 \pm 2,25$
41	$55,53 \pm 1,02$
45	$62,93 \pm 3,34$
51	$61,32 \pm 1,10$
52	$57,50 \pm 3,61$
56	$62,80 \pm 9,34$
69	$71,10 \pm 2,50$
74	$62,75 \pm 5,73$
75	$62,58 \pm 0,84$

BBR: benzbromarone.

Ví dụ 33: Thử nghiệm độc tính tế bào của các hợp chất đối với các dòng tế bào gan bình thường của người L-02 và WRL-68

Benzbromarone đã được thông báo là có độc tính với gan nghiêm trọng. Do đó, benzbromarone được sử dụng làm dược chất đối chứng dương trong thử nghiệm này. Độc tính tế bào của các hợp chất đối với hai dòng tế bào gan bình thường của người L-02 và WRL-68 được thử nghiệm tương ứng.

1. Nguyên liệu

Dòng tế bào gan bình thường của người L-02 được mua từ công ty Procell Life Science & Technology Co., Ltd. Dòng tế bào gan bình thường của người WRL-68 được cung cấp bởi Viện khoa học và Đời sống của Trường đại học Nam Kinh (Life Science Institute of Nanjing University). Benzbromarone, Resazurin, và

phẩm xanh metylen được mua từ công ty Sigma-Aldrich Co. LLC. Kali ferixyanua và kali feroxyanua được mua từ công ty Aladdin (Shanghai) Biological Technology Co., Ltd. Môi trường nuôi cấy DMEM, môi trường nuôi cấy DMEM không chứa phẩm đỏ phenol, và huyết thanh bào thai bò được mua từ công ty Thermo Fisher Scientific Inc. Penicillin và streptomycin được mua từ công ty Beyotime Biotechnology Co., Ltd.

2. Phương pháp thử nghiệm

2.1. Các dòng tế bào gan bình thường L-02 và WRL-68 được nuôi cấy bằng môi trường nuôi cấy DMEM (chứa 10% huyết thanh bào thai bò, penicillin 100 U/ml và streptomycin 0,1mg/ml) trong tủ áp trong môi trường CO₂ 5% ở nhiệt độ 37 °C cho đến khi mật độ tế bào tương ứng bằng khoảng 90%.

2.2. Các tế bào được cấy vào đĩa có 96 lỗ với mật độ 1×10^3 tế bào/lỗ và sau đó được nuôi cấy trong tủ áp trong môi trường CO₂ 5% ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ.

2.3. Các hợp chất thử nghiệm và benzbromarone với gradien nồng độ khác nhau được điều chế bằng cách sử dụng môi trường nuôi cấy DMEM và được bổ sung vào các lỗ với lượng 100µl/lỗ làm lỗ chứa hợp chất. Môi trường nuôi cấy DMEM được bổ sung vào các lỗ với lượng 100µl/lỗ mà không chứa hợp chất thử nghiệm làm các lỗ đối chứng âm. Tất cả các đĩa được cho vào tủ áp trong môi trường CO₂ 5% ở nhiệt độ 37°C trong 120 giờ.

2.4. Resazurin (15mg/50ml, 200×), phẩm xanh metylen (25 mg/10ml, 1000×), kali ferixyanua (0,329 g/100ml, 100×) và kali feroxyanua (0,422 g/100ml, 100×) được hoà tan vào PBS (0,1M, độ pH=7,4) để thu được dung dịch 10× phẩm xanh Alamar được để yên. Dung dịch 10× phẩm xanh Alamar này được pha loãng thành dung dịch 1× phẩm xanh Alamar bằng môi trường nuôi cấy DMEM không chứa phẩm đỏ phenol trước khi sử dụng.

2.5. Các tế bào được rửa hai lần bằng PBS (0,1M, độ pH=7,4). Dung dịch phẩm xanh Alamar được cho vào các lỗ với lượng 100µl/lỗ. 100µl dung dịch phẩm xanh Alamar được cho vào các lỗ không chứa tế bào để dùng làm các lỗ đối chứng trống. Đĩa có 96 lỗ được cho vào tủ áp trong môi trường CO₂ 5% ở nhiệt độ 37°C trong 3 giờ. Mỗi nồng độ của hợp chất được lặp lại ba lần trong khi thử nghiệm.

2.6. Giá trị huỳnh quang của các tế bào được phát hiện ở bước sóng kích thích Ex 530/bước sóng phát xạ Em 590 nm bằng ELISA Victor X4 (Perkin Elmer). Giá trị huỳnh quang của các tế bào chứa hợp chất là $F_{(\text{hợp chất thử nghiệm})}$; giá trị huỳnh quang của các tế bào không chứa hợp chất làm đối chứng trống là $F_{(\text{đối chứng trống})}$; giá trị huỳnh quang của các tế bào từ nhóm đối chứng âm là $F_{(\text{đối chứng âm})}$. Giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của khả năng sống của tế bào tương ứng với ba nồng độ lặp lại được tính theo công thức sau:

$$\text{Khả năng sống của tế bào (\%)} = \frac{F_{(\text{hợp chất thử nghiệm})} - F_{(\text{đối chứng trống})}}{F_{(\text{đối chứng âm})} - F_{(\text{đối chứng trống})}} \times 100\%$$

2.7. Nồng độ ức chế 50% (IC_{50}) của các hợp chất đối với các tế bào L-02 và WRL-68 thu được từ khả năng sống của tế bào bằng chương trình phần mềm Prism Graph.

3. Kết quả thử nghiệm

Nồng độ ức chế 50% (IC_{50}) của các hợp chất có công thức **4, 5, 9, 18, 33, 38, 39, 45, 51, 52, 56, 69, 74**, và **75** đối với các dòng tế bào gan bình thường của người L-02 và WRL-68 là lớn hơn $100\mu\text{M}$. Nồng độ IC_{50} của Benzbromarone đối với L-02 và WRL-68 tương ứng bằng $40,17\mu\text{M}$ và $45,54\mu\text{M}$.

Ví dụ 34: thử nghiệm mức độ bài tiết axit uric của hợp chất có công thức **74** ở chuột mắc chứng tăng axit uric-huyết

1. Nguyên liệu

1.1. Điều chế hợp chất thử nghiệm có công thức **74** và benzbromarone

Cho thêm lượng nhất định của dung dịch 0,5% CMC-Na vào hợp chất có công thức **74** hoặc benzbromarone và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng để thu được huyền phù có liều dùng được định trước tương ứng.

1.2. Các động vật

Loài: chuột đực Kingming (loại sạch); có trọng lượng từ 25 đến 30g; từ 4 đến 5 tuần tuổi. Các con chuột này được mua từ công ty Shanghai SLAC Laboratory Animal Co., Ltd. Số giấy chứng nhận: SCXK (HU) 2012-2002. Số giấy chứng nhận chất lượng động vật: 2015000522173.

1.3. Các chất phản ứng

Bột chiết nấm men được mua từ công ty Beijing Aoxing Biology Co., Ltd. Adenin và kali oxonat được mua từ công ty Aladdin (Shanghai) Biological Technology Co., Ltd. CMC-Na được mua từ công ty Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. Kit thử nghiệm axit uric (phương pháp axit phosphovanframic) được mua từ Viện công nghệ sinh học Jiancheng, Nam Kinh (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute).

2. Phương pháp thử nghiệm

2.1. Điều chế huyền phù hỗn hợp chứa chất chiết nấm men và adenin

Cân lượng nhất định của adenin và bột chiết nấm men và lượng nhất định của nước cất hai lần được thêm vào. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ khoảng 60°C trong 40 phút để tạo thành huyền phù, có nồng độ chất chiết nấm men bằng 0,6g/ml và nồng độ adenin bằng 12mg/ml.

2.2. Điều chế huyền phù kali oxonat

Điều chế huyền phù chứa 20mg/ml kali oxonat bằng cách trộn lượng nhất định của kali oxonat với dung dịch 0,5% CMC-Na trước khi sử dụng.

2.3. Thiết lập mô hình chuột mắc chứng tăng axit uric-huyết và sử dụng các chất thử nghiệm

Chuột đực Kunming được chia ngẫu nhiên thành bốn nhóm: nhóm đối chứng trống, nhóm mô hình, nhóm sử dụng hợp chất có công thức **74**, và nhóm sử dụng benzbromarone. Mỗi nhóm có 6 con chuột. Tất cả các con chuột bị nhịn đói từ 2 đến 3 giờ trước khi sử dụng. Nhóm mô hình, nhóm sử dụng benzbromarone, và nhóm sử dụng hợp chất có công thức **74** được cho sử dụng huyền phù chứa chất chiết nấm men và adenin điều chế được trên đây qua đường miệng để đạt được liều dùng cuối tương ứng bằng 10g chất chiết nấm men/kg (thể trọng) và 200mg adenin/kg (thể trọng). Nhóm đối chứng trống chỉ được cho sử dụng lượng thể tích tương đương của nước muối sinh lý qua đường miệng. Sau 2,5 giờ, tất cả các con chuột ở nhóm sử dụng hợp chất có công thức **74** và nhóm sử dụng benzbromarone được cho sử dụng 10ml huyền phù chứa hợp chất có công thức **74** /kg thể trọng (1,5mg/ml) và 10ml huyền phù benzbromarone/kg thể trọng (1,5 mg/ml) tương ứng. Nhóm đối chứng trống và nhóm mô hình được cho sử dụng qua đường miệng lượng thể tích tương đương của dung dịch 0,5% CMC-Na. Tất cả các con chuột

được điều trị theo cách giống nhau trong 7 ngày theo phương pháp sử dụng đã mô tả trên đây. Vào ngày cuối cùng, sau khi sử dụng huyền phù chứa chất chiết nấm men và adenin cho nhóm mô hình, nhóm sử dụng hợp chất có công thức **74**, và nhóm sử dụng benzbromarone, tất cả các con chuột trong ba nhóm này được cho sử dụng 12,5ml kali oxonat/kg (20 mg/ml) qua đường trong màng bụng (i.p.). Nhóm đối chứng trống được cho sử dụng lượng thể tích tương đương của dung dịch 0,5% CMC-Na qua đường i.p.. Sau 30 phút, các con chuột trong nhóm sử dụng hợp chất có công thức **74** và nhóm sử dụng benzbromarone được cho sử dụng hợp chất có công thức **74** và benzbromarone qua đường miệng với cùng liều dùng như trên đây tương ứng. Nhóm đối chứng trống và nhóm mô hình được cho sử dụng qua đường miệng với lượng thể tích tương đương của dung dịch 0,5% CMC-Na.

2.3. Lấy mẫu và phân tích

Lấy mẫu nước tiểu: tất cả các con chuột được cho vào lồng ghi chuyển hóa với chế độ ăn bình thường riêng biệt sau khi sử dụng các hợp chất thử nghiệm vào ngày cuối cùng. Sau 24 giờ, nước tiểu được thu gom và thể tích nước tiểu được xác định. Nước tiểu này được ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 20 phút và dịch nổi trên bề mặt được thu hồi.

Phát hiện nồng độ axit uric trong các mẫu nước tiểu của chuột: nồng độ axit uric trong các mẫu được phát hiện bằng cách sử dụng kit thử nghiệm axit uric (phương pháp axit phosphovanframic) theo quy trình được mô tả trong hướng dẫn sử dụng.

3. Kết quả thử nghiệm

Kết quả kích thích sự bài tiết axit uric ở chuột mắc chứng tăng axit uric-huyết được liệt kê trong bảng 2. Cả hợp chất có công thức **74** và benzbromarone đều làm tăng đáng kể mức độ bài tiết axit uric ở chuột mắc chứng tăng axit uric-huyết. Hiệu quả kích thích sự bài tiết axit uric của hợp chất có công thức **74** cao hơn đáng kể so với benzbromarone. So với chuột ở nhóm mô hình mắc chứng tăng axit uric-huyết, mức độ bài tiết axit uric của hợp chất có công thức **74** tăng lên khoảng 46,77%, trong khi mức độ bài tiết axit uric bài tiết của benzbromarone tăng lên khoảng 25,35%.

Bảng 2. thử nghiệm mức độ bài tiết axit uric của hợp chất có công thức 74 và benzbromarone bằng cách sử dụng qua đường miệng ở chuột mắc chứng tăng axit uric-huyết

Nhóm	Số lượng chuột	Liều dùng (mg/kg)	Lượng axit uric trong nước tiểu sau 24 giờ, $\pm$ SD (mmol)	Tỷ lệ thay đổi của lượng axit uric được bài tiết (so với nhóm mô hình, %)
Đối chứng trống	6	/	6,80 $\pm$ 2,17	63,61
Mô hình	6	/	10,69 $\pm$ 1,48 ^{##}	100
BBR	6	15	13,40 $\pm$ 1,59*	125,35
Hợp chất có công thức 74	6	15	15,69 $\pm$ 1,53** [▲]	146,77

Tỷ lệ thay đổi về lượng axit uric được bài tiết ở nhóm mô hình được thiết lập bằng 100%.

ở nhóm đối chứng trống, ký hiệu ^{##} nghĩa là: $P < 0,01$.

ở nhóm mô hình, ký hiệu * nghĩa là: $P < 0,05$, ** nghĩa là: $P < 0,01$.

ở nhóm sử dụng Benzbromarone, ký hiệu [▲] nghĩa là: $P < 0,05$.

Ví dụ 35: nghiên cứu về độ độc cấp tính của liều đơn của hợp chất có công thức 74 ở chuột

1. Nguyên liệu

1.1. Điều chế hợp chất thử nghiệm có công thức 74 và benzbromarone

Hợp chất có công thức 74 và benzbromarone được nghiền, và lượng nhất định của dung dịch 0,5% CMC-Na được thêm vào để điều chế huyền phù tương ứng, trước khi sử dụng. Benzbromarone được mua từ công ty Mianyang Kaixing Pharmaceutical Technology Co., Ltd. Số lô BXML-201506005.

1.2. Động vật

Loài: chuột SD (loại SPF); có trọng lượng từ 120 đến 180g; từ 5 đến 6 tuần tuổi. Nguồn: được mua từ Trung tâm nghiên cứu động vật của Trường đại học Vũ

Hán (Animal Research Center of Wuhan University); số giấy chứng nhận: SCXK (E) 2014-0004; số giấy chứng nhận chất lượng của động vật: 2015000522173.

2. Phương pháp thử nghiệm và kết quả

Trong thử nghiệm sơ bộ về độ độc cấp tính ở chuột, liều dùng cao nhất của hợp chất có công thức **74** bằng 5g/kg thể trọng không gây chết chuột. Do đó, liều dùng của hợp chất có công thức **74** trong thử nghiệm này được xác định bằng 5g/kg. Khi liều dùng của benzbromarone trong thử nghiệm sơ bộ bằng 0,14g/kg thể trọng, không phát hiện thấy có con chuột nào chết. Do đó, liều dùng của benzbromarone trong thử nghiệm này được xác định bằng 0,14 g/kg thể trọng.

Các con chuột được chia ngẫu nhiên thành nhóm A1, nhóm B1 và nhóm đối chứng trống. Mỗi nhóm có 10 con chuột với một nửa là chuột đực và một nửa là chuột cái. Liều đơn của huyền phù chứa hợp chất có công thức **74**, huyền phù chứa benzbromarone, và dung dịch 0,5% CMC-Na với liều 20ml/kg thể trọng được sử dụng tương ứng qua đường miệng cho nhóm A1, nhóm B1, và nhóm đối chứng trống, sau 6 giờ nhịn đói.

Liều dùng và tỷ lệ chết của mỗi nhóm được thể hiện trong bảng 3. Không phát hiện được độc tính tức thì trong mỗi nhóm và không phát hiện được độc tính chậm trong khoảng thời gian quan sát từ 24 giờ đến 14 ngày. Tất cả các con chuột vẫn còn sống và ở trong tình trạng tốt, có sự tăng trọng lượng. Sự thay đổi trọng lượng được liệt kê trong bảng 4. Liều dung nạp tối đa của hợp chất có công thức **74** và benzbromarone trong thử nghiệm độ độc cấp tính tương ứng bằng 5 g/kg thể trọng và 0,14 g/kg thể trọng.

Bảng 3. liều dùng và tỷ lệ tử vong ở chuột SD trong mỗi nhóm

Nhóm	Mẫu	Liều dùng (g/kg)	Lượng mẫu (mg)	Thể tích (ml)	Nồng độ (mg/ml)	Tỷ lệ tử vong
A1	Hợp chất có công thức 74	5,0	7520,9	30,0	250	0/10
B1	BBR	0,14	272,2	38,9	7	0/10

Mỗi nhóm có 10 con chuột.

Bảng 4. sự thay đổi trọng lượng của chuột SD trong mỗi nhóm

Mẫu	Số con chuột và giới tính của chuột	0 ngày ($\bar{X} \pm SD$)(g)	7 ngày ($\bar{X} \pm SD$)(g)	14 ngày ($\bar{X} \pm SD$)(g)	Tỷ lệ tăng trọng lượng (%)
Hợp chất có công thức 74	5 (chuột đực)	149,06 $\pm$ 5,95	204,04 $\pm$ 21,69	258,12 $\pm$ 17,65	+73,2
	5 (chuột cái)	135,94 $\pm$ 5,62	183,02 $\pm$ 11,10	208,04 $\pm$ 11,90	+53,0
BBR	5 (chuột đực)	149,36 $\pm$ 3,25	207,80 $\pm$ 8,72	273,88 $\pm$ 13,54	+83,4
	5 (chuột cái)	139,04 $\pm$ 6,60	175,00 $\pm$ 6,24	201,30 $\pm$ 19,84	+44,8
Đối chứng trống	5 (chuột đực)	147,64 $\pm$ 4,48	191,16 $\pm$ 13,65	248,34 $\pm$ 23,13	+68,2
	5 (chuột cái)	134,20 $\pm$ 4,07	173,28 $\pm$ 9,27	204,44 $\pm$ 15,70	+52,3

“Tỷ lệ tăng trọng lượng” nghĩa là trọng lượng của các con chuột trong ngày 14 được so sánh với ngày 0, và ký hiệu “+” nghĩa là trọng lượng tăng lên.

Ví dụ 36: nghiên cứu dược động học của hợp chất có công thức 74 khi sử dụng qua đường tĩnh mạch và đường miệng ở chuột SD

1. Nguyên liệu

1.1. Điều chế dung dịch chứa hợp chất thử nghiệm có công thức 74

Bào chế chế phẩm dạng liều để sử dụng qua đường miệng: cân lượng cần thiết của hợp chất có công thức 74. Cho thêm khoảng 70% lượng 0,5% CMC-Na kèm theo khuấy, xoay tròn và siêu âm để trộn kỹ cho đến khi quan sát bằng mắt thường thấy huyền phù được trộn đều. Sau đó cho thêm lượng chất dẫn thuốc còn lại vào tổng thể tích đích và xoay tròn hỗn hợp.

Bào chế chế phẩm dạng liều để sử dụng qua đường trong tĩnh mạch: cân lượng cần thiết của hợp chất có công thức 74. Cho thêm lượng thích hợp của DMSO kèm theo siêu âm cho đến khi hỗn hợp được hòa tan, sau đó cho thêm lượng thích hợp của dung dịch nước chứa HP- β -cyclodextrin (20%, khối lượng/thể tích) kèm theo xoay tròn để trộn kỹ.

1.2. Động vật

Loài: chuột SD (loại SPF); chuột cái; nguồn: Sino-British SIPPR/BK Lab

Animal Ltd., Shanghai.

2. Phương pháp

2.1. Liều dùng và sử dụng

Các con chuột được cho sử dụng theo liều qua đường miệng bị nhin đói qua đêm (10-14 giờ) trước khi sử dụng qua đường miệng. Thực phẩm cung cấp cho các con chuột theo định lượng được tiếp tục sử dụng qua đường miệng sau khi dùng liều 4 giờ. Thông tin sử dụng liều được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Liều dùng của hợp chất cho chuột SD

Mẫu	Nhóm	Trọng lượng (g)	Liều dùng (mg/kg)	Nồng độ (mg/ml)	Thể tích (ml)	Đường sử dụng
Hợp chất có công thức 74	A-1	188,2	10	1	1,9	Đường miệng (PO)
		197,3			2,0	
		213,0			2,1	
	A-2	207,8	1	0,2	1,0	Tĩnh mạch (IV)
		221,1			1,1	
		220,9			1,1	

2.2. Lấy mẫu và phân tích sinh học

Các mẫu máu (khoảng 250µl/mẫu) được lấy qua tĩnh mạch cổ trước khi dùng liều và sau khi dùng liều (5 phút, 15 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ, 8 giờ, và 24 giờ). Các mẫu máu được cho vào ống chứa natri heparin và được ly tâm với tốc độ 8000 vòng/phút trong 6 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 2 đến 8°C để tách huyết tương ra khỏi mẫu. Mẫu huyết tương (50µl) được chuyển vào ống, sau đó 250µl dung dịch IS (200 ng/ml Tolbutamide) được bổ sung đó. Sau khi xoay tròn trong 1 phút và ly tâm trong 5 phút với tốc độ 15000 vòng/phút, 200µl phần phân ước của dịch nổi bề mặt được chuyển vào đĩa có 96 lỗ để phân tích sắc ký lỏng-phổ khối/phổ khối (LC-MS/MS). Đường cong hiệu chỉnh của hợp chất có công thức 74 nằm trong khoảng từ 1 đến 1000 ng/ml. LLOQ của huyết tương bằng 1ng/ml.

2.3. Phân tích dược động học

Môđun không chia ngăn của chương trình phần mềm WinNonlin® Professional 5.2 được sử dụng để tính các thông số. Độ sinh khả dụng được tính theo công thức

$$F\% = (\text{Liều dùng}_{(IV)} \times \text{AUC}_{(0-t)(PO)}) / (\text{Liều dùng}_{(PO)} \times \text{AUC}_{(0-t)(IV)}) \times 100\%.$$

3. Kết quả

Các thông số dược động học của chuột SD sử dụng hợp chất có công thức **74** thu được từ phương pháp trên đây được thể hiện trong bảng 6. Hợp chất có công thức **74** theo sáng chế có các thông số dược động học tốt và độ sinh khả dụng cao ở chuột SD.

Bảng 6. các thông số dược động học của hợp chất có công thức **74** ở chuột SD sau khi sử dụng qua đường miệng và đường trong tĩnh mạch

Sử dụng qua đường miệng (PO: 10 mg/kg)							
Chuột số	t _{1/2} (giờ)	T _{max} (giờ)	C _{max} (ng/ml)	AUC _(0-t) (ng/ml*giờ)	MRT _(0-∞) (giờ)	F* (%)	
101	2,70	2,00	8251,74	89284,20	6,00	100,28	
102	2,90	2,00	9205,06	89890,12	5,90	100,96	
103	3,00	6,00	6976,14	96188,83	6,80	108,04	
Trung bình	2,90	3,30	8144,31	91787,72	6,30	103,09	
SD	0,10	2,30	1118,34	3823,50	0,50	4,29	
Sử dụng qua đường trong tĩnh mạch (IV: 1 mg/kg)							
Chuột số	t _{1/2} (giờ)	T _{max} (giờ)	C _{max} (ng/ml)	AUC _(0-t) (ng/ml*giờ)	Vz (ml/kg)	Clz (ml/giờ/kg)	MRT _(0-∞) (giờ)
201	5,40	0,10	5494,59	8786,13	858,55	110,23	5,40
202	6,00	0,10	6705,53	9076,84	917,79	105,66	5,60
203	6,00	0,10	6885,21	8847,27	934,49	108,65	5,40

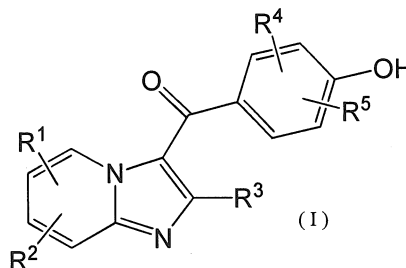
Trung bình	5,80	0,10	6361,78	8903,41	903,61	108,18	5,50
SD	0,30	0,00	756,36	153,27	39,90	2,32	0,10

*:Thu được từ diện tích dưới đường cong nồng độ trong máu theo thời gian

$AUC_{(0-t)}$

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 và R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, halogen, xyano, hydroxyl, C_{1-5} alkyl, C_{1-5} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio, hoặc C_{1-3} alkylthio được thế;

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-4} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl được thế hoặc không được thế, và các nhóm thế của nó được chọn từ nhóm bao gồm đoteri, halogen, C_{1-2} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl;

R^4 và R^5 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số đoteri, halogen, xyano, C_{2-3} alkenyl, C_{2-3} alkynyl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, C_{1-3} alkoxy được thế, C_{1-3} alkylthio, hoặc C_{1-3} alkylthio được thế; trong đó các nhóm thế trong R^1 , R^2 , R^4 , và R^5 độc lập được chọn từ đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 và R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, flo, clo, brom, xyano, hydroxyl, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} alkoxy, hoặc C_{1-3} alkoxy được thế; trong đó các nhóm thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm đoteri, halogen, C_{1-3} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

3. Hợp chất theo điểm 2 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 và R^2 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số hydro, đoteri, flo, clo, brom, CN, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl halogen hóa hoặc C_{1-3} alkoxy.

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^3 được chọn từ nhóm bao gồm C_{1-3} alkyl và C_{3-4} xycloalkyl được thế hoặc không được thế; trong đó các nhóm thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm đoteri, halogen, C_{1-2} alkyl hoặc C_{3-4} xycloalkyl.

5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^4 và R^5 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số đoteri, halogen, xyano, etylen, axetylen, C_{1-2} alkyl, C_{1-2} alkyl được thế, C_{1-2} alkoxy, C_{1-2} alkoxy được thế, C_{1-2} alkylthio, hoặc C_{1-2} alkylthio được thế; trong đó các nhóm thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm đoteri, halogen, C_{1-2} alkyl, C_{3-4} xycloalkyl hoặc C_{1-3} alkoxy.

6. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^4 và R^5 độc lập được chọn từ một hoặc nhiều nhóm trong số đoteri, halogen, xyano, C_{1-2} alkyl, C_{1-2} alkyl halogen hóa, C_{1-2} alkoxy hoặc C_{1-2} alkylthio.

7. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó được chọn từ nhóm bao gồm:

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3,5-diiodophenyl)metanon;

(3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

3-clo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril;

(3-bromo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-hydroxy-3-iodo-5-metylphenyl)metanon;

(3-bromo-5-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

(3-clo-4-hydroxy-5-iodophenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon;

5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxy-3-metylbenzonitril;

(3-bromo-4-hydroxy-5-(triflometyl)phenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-metylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-metoxylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

3-bromo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril;

5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril;

5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-3-flo-2-hydroxybenzonitril;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-propylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(3-bromo-5-clo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(3-bromo-5-flo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3-flo-4-hydroxy-5-

iodophenyl)metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-hydroxyimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(6-bromo-2-etyl-7-metylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-

hydroxyphenyl)-metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-7-(triflometyl)imidazo[1,2-a]pyridin-

3-yl)metanon;

3-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)-2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-6-carbonitril;

(2-doteri-3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-

yl)metanon;

(6-doteri-2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-

hydroxyphenyl)metanon;

(2-xyclopropylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(3,5-dibromo-4-

hydroxyphenyl)metanon;

3-bromo-5-(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril

hydroclorua; và

5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-carbonyl)-2-hydroxy-3-iodobenzonitril
hydroclorua.

8. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 hoặc muối dược dụng của nó làm hoạt chất hoặc hoạt chất chính, và chất mang dược dụng.