



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

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



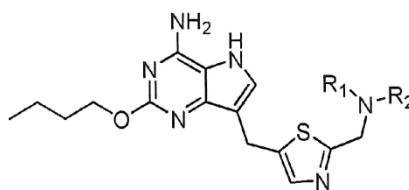
1-0032562

(51)⁷ C07D 487/04; A61P 31/12; A61P 31/20; (13) B
A61K 31/519; A61P 31/14

- (21) 1-2018-02423 (22) 04/11/2016
(86) PCT/CN2016/104644 04/11/2016 (87) WO 2017/076346 11/05/2017
(30) 201510744651.6 05/11/2015 CN
(45) 25/07/2022 412 (43) 25/10/2018 367A
(73) CHIA TAI TIANQING PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD. (CN)
No.369 Yuzhou South Rd., Haizhou District, Lianyungang Jiangsu 222062, China
(72) DING, Zhaozhong (US); SUN, Fei (CN); WU, Lifang (CN); WU, Hao (CN); CHEN,
Shuhui (US); YANG, Ling (CN).
(74) Công ty TNHH T&T INVENMARK Sở hữu trí tuệ Quốc tế (T&T INVENMARK
CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT 7-(THIAZOL-5-YL)PYROLOPYRIMIDIN LÀ CHẤT CHỦ VẬN
THỤ THỂ GIỐNG TOLL 7 (TLR7) VÀ MUỐI DƯỢC DỤNG CỦA NÓ, VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất 7-(thiazol-5-yl)pyrolopyrimidin mà là chất chủ vận
TLR7, và cụ thể hơn là hợp chất có công thức (I), muối dược dụng của chúng và phương
pháp điều chế chúng, và dược phẩm chứa hợp chất này.



(1)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất vòng 7-(thiazol-5-yl)pyrrolopyrimidin hoặc muối được dùng của nó làm chất chủ vận TLR7, là hữu dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus, cụ thể là nhiễm virus viêm gan B hoặc C.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

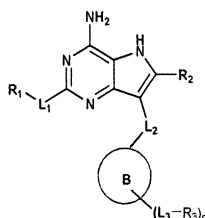
Thụ thể giống Toll được biểu hiện bởi các tế bào miễn dịch khác nhau và nhận diện các cấu trúc lặp lại có độ bảo toàn cao: mẫu phân tử đi kèm mầm bệnh (Pathogen Associated Molecular Pattern: PAMP) được biểu hiện bởi các mầm bệnh vi sinh vật hoặc mẫu phân tử đi kèm tổn thương (Damage Associated Molecular Pattern: DAMP) được giải phóng bởi các tế bào chết. PAMP hoặc DAMP sẽ kích thích thụ thể giống Toll để kích hoạt con đường tín hiệu bao gồm quá trình hoạt hóa yếu tố phiên mã như AP-1, NF- κ B và yếu tố điều hòa interferon (chức năng đáp ứng mạch). Quá trình này sẽ gây ra nhiều đáp ứng tế bào khác nhau, bao gồm sự sản xuất interferon, cytokin tiền viêm và cytokin tác động, theo đó tạo ra đáp ứng miễn dịch.

Cho đến nay, 13 loại thụ thể giống Toll đã được phát hiện ở động vật có vú. Thụ thể giống Toll 1, 2, 4, 5 và 6 chủ yếu được biểu hiện trên bề mặt tế bào, trong khi đó thụ thể giống Toll 3, 7, 8 và 9 được biểu hiện trong thể nội bào. Các thụ thể giống Toll khác nhau sẽ nhận biết các phối tử có nguồn gốc từ các mầm bệnh khác nhau. Thụ thể giống Toll 7 (TLR7) được biểu hiện và phối tử được nhận biết bởi tế bào tua (plasmacytoid dendritic cell - pDC) để kích thích quá trình tiết interferon α (IFN- α). Thụ thể giống Toll 7 (TLR7) và thụ thể giống Toll 8 (TLR8) có độ tương đồng cao và do đó phối tử của TLR7 trong nhiều trường hợp cũng là phối tử của TLR8. Quá trình kích thích TLR8 chủ yếu làm kích hoạt quá trình sản xuất các cytokin như yếu tố hoại tử khối u α (TNF- α) và chất hóa ứng động. Interferon α là một trong những loại thuốc chính để điều trị viêm gan B hoặc viêm gan C mãn tính trong khi đó TNF- α là một cytokin tiền viêm, là chất nếu được tiết quá nhiều sẽ gây ra những tác dụng phụ nghiêm

trọng.

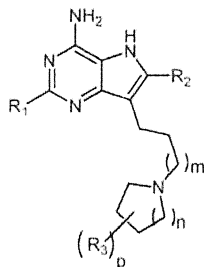
Đã có những báo cáo về các chất chủ vận TLR, như Imiquimod (British Journal of Dermatology 2003; 149 (Suppl. 66): 5–8), Resiquimod (Antiviral Research 64 (2004) 79–83), GS-9620 (Gastroenterology (2013), 144(7), 1508-1517). Tuy nhiên, vẫn cần có các chất chủ vận TLR7 mới với độ chọn lọc, hoạt tính và độ an toàn cao hơn.

EP 3190113 A1 đề cập đến các hợp chất pyrolopyrimidin dưới dạng các chất chủ vận TLR7 có công thức:



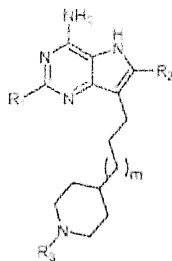
hoặc muối được dùng của nó, quy trình điều chế, dược phẩm chứa các hợp chất này và việc sử dụng chúng để sản xuất thuốc chống lại việc nhiễm virus.

WO 2014/081645 A1 đề cập đến các hợp chất có công thức:



và các muối của chúng: trong đó R_1 là n-C4-6 alkyl hoặc C1-2alkoxyC1-2alkyl-; R_2 là hydro hoặc methyl; mỗi R_3 là hydroxy, halo hoặc n-C1-3 alkyl; m là số nguyên có giá trị nằm trong khoảng từ 2 đến 4; n là số nguyên có giá trị nằm trong khoảng từ 0 đến 3; và p là số nguyên có giá trị nằm trong khoảng từ 0 đến 2, là các chất gây cảm ứng interferon ở người. Các hợp chất gây cảm ứng interferon ở người này có thể hữu ích trong điều trị các rối loạn khác nhau, ví dụ điều trị các bệnh dị ứng và các tình trạng viêm khác, ví dụ viêm mũi dị ứng và bệnh hen, các bệnh nhiễm khuẩn và ung thư khác và cũng hữu ích làm các tá chất cho vaccin.

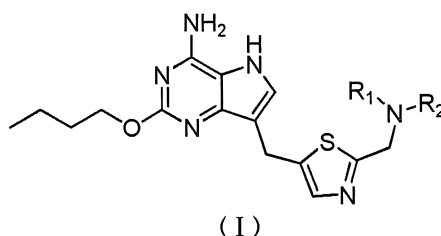
WO 2014/081644 A1 đề cập đến các hợp chất có công thức:



và các muối của chúng: trong đó R_1 là n-C3-6 alkyl; R_2 là hydro hoặc metyl; R_3 là hydro hoặc C1-6alkyl, và m là số nguyên có giá trị nằm trong khoảng từ 0 đến 3; là các chất gây cảm ứng interferon ở người. Các hợp chất gây cảm ứng interferon ở người này có thể hữu ích trong điều trị các rối loạn khác nhau, ví dụ điều trị các bệnh dị ứng và các tình trạng viêm khác, ví dụ viêm mũi dị ứng và bệnh hen, các bệnh nhiễm khuẩn và bệnh ung thư khác và cũng hữu ích làm các tá chất cho vacxin.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó,



trong đó

R_1 và R_2 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H và C₁₋₄alkyl, hoặc

R_1 và R_2 cùng với nguyên tử N liên kết với chúng tạo thành heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều R_3 , R_3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, halogen, xyano, C₁₋₄alkyl và C₁₋₄alkoxy.

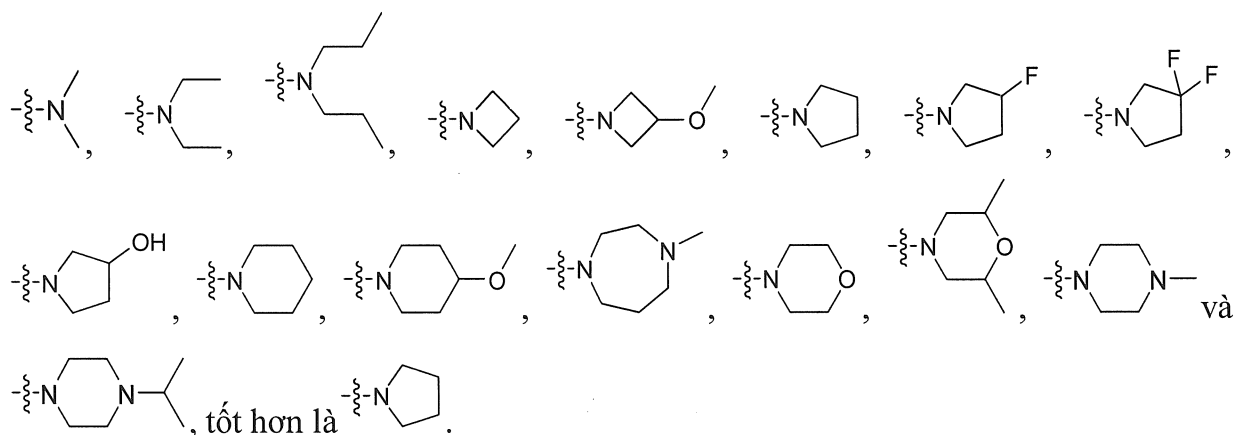
Theo một phương án của sáng chế, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh có thể chứa 0, 1, 2 hoặc 3 dị nguyên tử khác được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S.

Theo một phương án khác của sáng chế, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh có thể là heteroxycloalkyl có 4 cạnh, 5 cạnh, 6 cạnh, 7 cạnh, 8 cạnh.

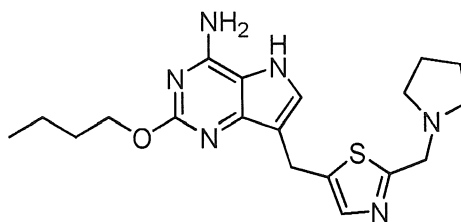
Theo một phương án khác của sáng chế, R_3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, F, Cl, Br, CN, metyl, etyl, propyl, metoxy, etoxy và propoxy.

Theo một phương án cụ thể, của sáng chế nhóm được tạo bởi R_1 , R_2 cùng nguyên

tử N liên kết với chúng được chọn từ nhóm bao gồm:



Theo một số phương án của sáng chế, hợp chất có công thức (I) là hợp chất sau:



Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm, bao gồm hợp chất có công thức (I) và/hoặc muối dược dụng của nó, và một hoặc nhiều chất mang dược dụng và/hoặc tá dược. Dược phẩm còn có thể tùy ý bao gồm một hoặc nhiều dược chất bổ trợ.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, hoặc được phẩm theo sáng chế để sử dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus.

Theo một số phương án theo sáng chế, nhiễm virus bao gồm nhiễm virus sốt dengue, virus sốt vàng, virus Tây sông Nin, virus viêm não Nhật Bản, virus viêm não do ve bét truyền, virus Kunjin, virus viêm não Murray Valley, virus viêm não St Louis, virus sốt xuất huyết Omsk, virus tiêu chảy do virus ở trâu bò, virus Zika, hoặc virus viêm gan. Theo một phương án được ưu tiên, nhiễm virus là nhiễm virus viêm gan. Theo một phương án được ưu tiên khác, nhiễm virus là nhiễm virus viêm gan B hoặc viêm gan C.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Kết quả của thử nghiệm dược động học *in vivo* ở mẫu hình chuột bị nhiễm virus viêm gan B mang AAV (nồng độ bản sao HBsAg huyết tương).

Fig.2: Kết quả của thử nghiệm được động học *in vivo* ở mẫu hình chuột bị nhiễm virut

viêm gan B mang AAV (nồng độ bản sao ADN HBV huyết tương).

Fig.3: Kết quả của thử nghiệm được động học *in vivo* ở mẫu hình chuột bị nhiễm virus viêm gan B mang AAV (nồng độ sản sinh kháng HBsAb huyết tương).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các thuật ngữ và khái niệm chung

Trừ khi được quy định khác, các thuật ngữ được sử dụng ở đây có nghĩa sau đây. Các thuật ngữ cụ thể sẽ không được coi là không rõ ràng hoặc không xác định khi không được định nghĩa một cách cụ thể. Các thuật ngữ này nên được hiểu theo nghĩa chung. Tên thương mại được sử dụng ở đây dùng để chỉ các sản phẩm tương ứng hoặc hoạt chất tương ứng.

Khi được sử dụng với các con số, thuật ngữ “khoảng” thường để chỉ giá trị biến động và tất cả các giá trị nằm trong khoảng sai số thử nghiệm (chẳng hạn, trong khoảng độ tin cậy trung bình 95%) hoặc trong khoảng $\pm 10\%$ của giá trị cụ thể, hoặc lớn hơn.

Từ “bao gồm” hoặc các từ đồng nghĩa của nó như “chứa”, “gồm có”, “có” hoặc tương tự có nghĩa bao hàm, có nghĩa là không loại trừ các yếu tố, bước làm hoặc thành phần không được liệt kê khác. Thuật ngữ “bao gồm” không bao gồm bất kỳ một yếu tố, bước làm hoặc thành phần không được liệt kê nào. Thuật ngữ “gần như chỉ bao gồm” để chỉ các yếu tố, bước làm hoặc thành phần cụ thể trong khoảng nhất định, cùng với các yếu tố, bước làm hoặc thành phần tùy chọn mà không làm ảnh hưởng một cách đáng kể đến dấu hiệu cơ bản và mới của đối tượng được bảo hộ. Cần hiểu rằng thuật ngữ “bao gồm” rộng hơn các thuật ngữ “gần như chỉ bao gồm” và “gồm có”.

Thuật ngữ “tùy ý” hoặc “một cách tùy ý” có nghĩa là sự việc được nêu sau đó có thể hoặc không xảy ra. Thuật ngữ này bao gồm các trường hợp trong đó sự kiện đó có thể hoặc không xảy ra. Chẳng hạn, thuật ngữ etyl “tùy ý” được thế bằng halogen có nghĩa là etyl là (CH_2CH_3) không được thế, được thế một lần (chẳng hạn, CH_2CH_2F), được thế nhiều lần (chẳng hạn, $CHFCH_2F$, CH_2CHF_2 v.v.), hoặc được thế hoàn toàn (CF_2CF_3). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cần chú ý rằng, đối với một nhóm bất kỳ chứa một hoặc nhiều nhóm thế, quá trình thế hoặc kiểu thế có thể không tồn tại trong không gian và/hoặc không thể được tổng hợp sẽ không được đề cập đến.

Thuật ngữ C_{m-n} được sử dụng ở đây dùng để chỉ gốc có m đến n nguyên tử cacbon. Chẳng hạn, “ C_{1-4} alkyl” nghĩa là alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon.

Các khoảng số học ở đây dùng để chỉ mỗi giá trị số nguyên trong khoảng đó và các phân khoảng được cấu thành bởi các số nguyên đó. Chẳng hạn, “ C_{1-4} ” có nghĩa là nhóm có thể có 1 nguyên tử cacbon, 2 nguyên tử cacbon, 3 nguyên tử cacbon hoặc 4 nguyên tử cacbon. Do đó, “ C_{1-4} alkyl” bao hàm cả “ C_{2-3} alkyl”, “ C_{1-3} alkyl”, “ C_{2-4} alkyl” cũng như C_1 alkyl, C_2 alkyl, C_3 alkyl, C_4 alkyl hoặc tương tự.

Thuật ngữ “được thế” dùng để chỉ một hoặc nhiều nguyên tử hydro trên một nguyên tử nhất định được thế bằng (các) nhóm thế, với điều kiện là hóa trị của nguyên tử đó là bình thường và hợp chất sau thế là ổn định.

Khi một biến số bất kỳ (chẳng hạn, R) có trong một thành phần hoặc cấu trúc của hợp chất nhiều hơn một lần, điều đó hoàn toàn khác nhau ở mỗi trường hợp khác nhau. Do đó, chẳng hạn, nếu một nhóm được thế bởi 0 đến 2 R, thì nhóm đó có thể tùy ý được thế bởi nhiều nhất là 2 R và R là độc lập ở mỗi trường hợp. Ngoài ra, một tổ hợp các nhóm thế và/hoặc biến thế của chúng là cho phép miễn sao tổ hợp đó tạo ra một hợp chất ổn định.

Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ “dị” dùng để chỉ dị nguyên tử hoặc nhóm thế dị nguyên tử (nghĩa là nhóm thế chứa dị nguyên tử), nghĩa là các nguyên tử ngoài cacbon và nguyên tử hydro hoặc các gốc chứa các nguyên tử đó. Tốt hơn là, dị nguyên tử độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, N, S và tương tự. Theo một phương án trong đó có hai hoặc nhiều dị nguyên tử, thì hai hoặc nhiều dị nguyên tử có thể là giống nhau, hoặc một phần hoặc tất cả hai hoặc nhiều dị nguyên tử có thể khác nhau.

Thuật ngữ “halo” hoặc “halogen” dùng để chỉ F, Cl, Br hoặc I.

Thuật ngữ “hydroxyl” dùng để chỉ nhóm -OH.

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

Thuật ngữ “alkyl” dùng để chỉ nhóm hydrocarbyl béo bão hòa thẳng hoặc phân nhánh gồm có nguyên tử cacbon và nguyên tử hydro, được liên kết với phần còn lại của phần tử qua một liên kết đơn. Các ví dụ không giới hạn về C_{1-4} alkyl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl và tert-butyl.

Thuật ngữ “ C_{1-4} alkoxy” dùng để chỉ “ C_{1-4} alkyl” liên kết với phần còn lại của

nguyên tử thông qua nhóm “-O-”, trong đó “C₁₋₄ alkyl” được định nghĩa như trên.

Thuật ngữ “heteroxycloalkyl” dùng để chỉ hệ đa vòng hoặc vòng đơn bão hòa, trong đó một phần của các phân tử vòng là dị nguyên tử được chọn từ nhóm bao gồm N, O, S, và phần còn lại của các nguyên tử vòng là C. Do đó, thuật ngữ “heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh” dùng để chỉ heteroxycloalkyl chứa 4 đến 8 cạnh vòng trong hệ vòng, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử vòng là dị nguyên tử được chọn từ nhóm bao gồm N, O, S. Ví dụ về heteroxyclohydrocarbyl có 4 nguyên tử vòng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, azetidinyl. Ví dụ về heteroxycloalkyl có 5 nguyên tử vòng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, pyrrolidinyl, isoxazolidinyl, oxazolidinyl, isothiazolidinyl, thiazolidinyl, imidazolidinyl. Ví dụ về heteroxyclohydrocarbyl có 6 nguyên tử vòng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, piperidinyl, morpholinyl, piperazinyl. Ví dụ về heteroxyclohydrocarbyl có 7 nguyên tử vòng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, azaxycloheptanyl, oxaazabicyclo[2.2.1]heptyl, hoặc nhóm tương tự.

Thuật ngữ “được dụng” dùng để chỉ hợp chất, vật liệu, thành phần và/hoặc dạng liều, nằm trong phạm vi đánh giá y học tin cậy, thích hợp để sử dụng cho mô của người và động vật, mà không có tính độc, gây kích ứng, dị ứng hoặc các vấn đề hoặc biến chứng khác một cách quá mức và có tỷ lệ lợi ích/nguy cơ chấp nhận được.

Thuật ngữ “được phẩm” dùng để chỉ hoạt chất (chẳng hạn, hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó), được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều thành phần hóa học được dụng (chẳng hạn, nhưng không chỉ giới hạn ở chất mang và/hoặc tá dược).

Thuật ngữ “chất mang được dụng” dùng để chỉ chất mang không gây kích ứng một cách đáng kể và không làm ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học và đặc tính của hoạt chất. “Chất mang được dụng” dùng để chỉ cơ chất trợ được sử dụng cùng với hoạt chất và có lợi cho việc sử dụng đó, và bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bất kỳ một cơ chất nào được phê duyệt bởi Cục quản lý Dược và Thực phẩm Hoa Kỳ để sử dụng ở người hoặc động vật (chẳng hạn, vật nuôi): chất gây trượt, chất điều vị, chất pha loãng, chất bảo quản, chất nhuộm/chất tạo màu, chất tạo vị, chất hoạt động bề mặt, chất tạo ẩm, chất phân tán, chất phân rã, chất tạo hỗn dịch, chất ổn định, chất đẳng trương, dung môi hoặc chất nhũ hóa. Các ví dụ không giới hạn về chất mang bao gồm canxi cacbonat, canxi phosphat, các loại tinh bột và đường khác nhau, dẫn xuất xenluloza, gelatin, dầu

thực vật và polyetylen glycol hoặc tương tự. Các thông tin khác về chất mang có thể tham khảo trong tài liệu “Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Ed., Lippincott, Williams & Wilkins (2005). Thuật ngữ “tá dược” thường dùng để chỉ chất dẫn thuốc, chất pha loãng và/hoặc môi trường được sử dụng để bào chế dược phẩm.

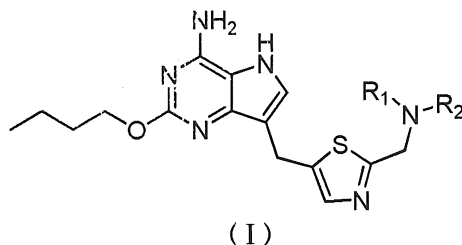
Thuật ngữ “sử dụng” hoặc “dùng” hoặc tương tự dùng để chỉ phương pháp giúp cho hợp chất hoặc thành phần được phân phối vào vị trí hoạt động sinh học mong muốn. Các phương pháp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng qua đường miệng, qua đường ngoài tiêu hóa (gồm có tiêm hoặc truyền qua tĩnh mạch, dưới da, trong ổ bụng, trong cơ, trong mạch), dùng tại chỗ, dùng qua trực tràng hoặc tương tự.

Đối với hoạt chất dược học hoặc dược chất, thuật ngữ “lượng có hiệu quả”, “lượng cho hiệu quả điều trị” hoặc “lượng cho hiệu quả điều trị dự phòng” dùng để chỉ lượng thuốc hoặc dược chất không gây độc nhưng đủ để đạt được hiệu quả mong muốn. Đối với dược phẩm dùng qua đường miệng ở đây, “lượng có hiệu quả” đối với một hoạt chất trong thành phần dùng để chỉ lượng cần thiết để đạt được tác dụng mong muốn cùng với một hoạt chất khác trong thành phần. Lượng có hiệu quả có thể được xác định một cách riêng biệt và phụ thuộc vào tuổi và tình trạng tổng quát của người sử dụng cũng như hoạt chất cụ thể. Lượng có hiệu quả trong trường hợp cụ thể có thể được xác định bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này thông qua các xét nghiệm thường quy.

Thuật ngữ “hoạt chất”, “dược chất” dùng để chỉ hợp chất hóa học hữu dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa rối loạn, bệnh hoặc tình trạng nào đó một cách hiệu quả.

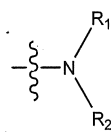
“Nhóm bảo vệ” dùng để chỉ một loại nhóm thế được sử dụng để phong bế hoặc bảo vệ một nhóm chức nhất định trong khi phản ứng với các nhóm chức khác trên hợp chất. Chẳng hạn, “nhóm bảo vệ amin” là nhóm thế được liên kết với nhóm amin để chặn hoặc bảo vệ nhóm chức amin trong hợp chất. Các nhóm bảo vệ amin thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axetyl, triflo, t-butoxycarbonyl (BOC), benzyloxycarbonyl (CBZ), 9-florenylmethyl cloroformat (Fmoc), 2-(trimetylsilyl)etoxy methyl (SEM) và tương tự. Thông tin về nhóm bảo vệ và việc sử dụng chúng có thể tham khảo trong tài liệu “Greene and Wuts, Protective Groups In Organic Synthesis, Wiley and Sons, 1991”. Hợp chất theo sáng chế

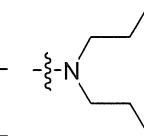
Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó,



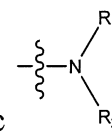
trong đó mỗi nhóm được định nghĩa như trên.

Thuật ngữ “nhóm được tạo bởi R_1 và R_2 cùng với nguyên tử N liên kết với

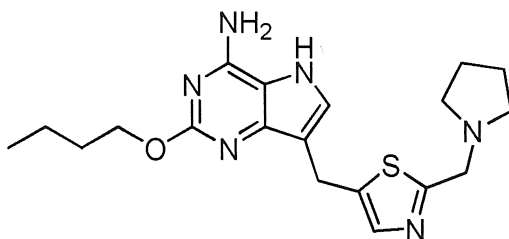
chúng” dùng để chỉ nhóm được tạo bởi gốc  trong hợp chất có công thức (I). Ví

dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, , , , , , , , , , , , , và .

(Các) dị nguyên tử khác trong thuật ngữ “heteroxycycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh có thể chứa 0, 1, 2 hoặc 3 dị nguyên tử khác được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S” dùng

để chỉ (các) dị nguyên tử ngoài nguyên tử N trong gốc . Tốt hơn là, dị nguyên tử khác có thể được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S, và số lượng này có thể có giá trị là 0, 1, 2 hoặc 3.

Theo một phương án được ưu tiên, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức:



Cần hiểu rằng hợp chất theo sáng chế có thể có ở dạng muối dược dụng. Nếu là muối dược dụng, chẳng hạn, thì có thể kể đến các ví dụ sau đây: muối kim loại, muối

amoni, muối được tạo thành từ các bazơ hữu cơ, axit vô cơ, axit hữu cơ hoặc axit amin có tính axit hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối kim loại bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối của kim loại kiềm, chẳng hạn muối natri, muối kali hoặc tương tự; muối của kim loại kiềm thổ, chẳng hạn muối canxi, muối magiê, muối bari hoặc tương tự; muối nhôm hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối được tạo bởi bazơ hữu cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối được tạo thành với trimetylamin, trietylamin, pyridin, metylpyridin, 2,6-dimetylpyridin, etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, xyclohexylamin, dixyclohexylamin hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối được tạo thành với axit vô cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối được tạo thành với axit clohydric, axit hydrobromic, axit nitric, axit sulphuric, axit phosphoric hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối được tạo thành với axit hữu cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối được tạo thành với axit formic, axit axetic, axit trifloaxetic, axit fumaric, axit oxalic, axit malic, axit maleic, axit tartaric, axit xitric, axit succinic, axit metansulfonic, axit benzen sulfonic, axit p-toluensulfonic hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối được tạo thành với axit amin có tính bazơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối được tạo thành với arginin, lysin, ornitin hoặc tương tự. Các ví dụ không giới hạn về muối được tạo thành với axit amin có tính axit bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, muối được tạo thành với axit aspartic, axit glutamic hoặc tương tự.

Muối được dụng theo sáng chế có thể được bào chế từ hợp chất gốc chứa nhóm axit hoặc bazơ theo các phương pháp hoá học thông thường. Nói chung, các loại muối này có thể được bào chế thông qua phản ứng của hợp chất ở dạng axit hoặc bazơ tự do với bazơ hoặc axit thích hợp trong nước, dung môi hữu cơ hoặc hỗn hợp của các dung môi trên. Thông thường, tốt hơn nếu sử dụng môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol hoặc axetonitril, v.v..

Hợp chất theo sáng chế có thể có một hoặc nhiều trung tâm lập thể và mỗi một tâm có thể có cấu hình R hoặc S hoặc cả hai. Do đó, hợp chất theo sáng chế bao gồm tất cả các dạng đồng phân lập thể cấu hình, dạng đồng phân vị trí, dạng epime, dạng đối hình và dạng epime cũng như hỗn hợp tương ứng của chúng. Kỹ thuật để bảo toàn hoặc giữ không đổi một tâm đồng phân lập thể cụ thể cũng như kỹ thuật để phân giải hỗn hợp đồng phân lập thể đã được biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này và người có hiểu biết

trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể chọn quy trình cụ thể theo yêu cầu cụ thể.

Hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng solvat hoá hoặc không solvat hoá, bao gồm cả dạng hydrat. Nói chung, các dạng được solvat hoá là tương đương với các dạng không được solvat hoá và cả hai dạng đều thuộc phạm vi của sáng chế. Hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở dạng đa hình hoặc vô định hình và các dạng này cũng thuộc phạm vi của sáng chế.

Hợp chất theo sáng chế có thể chứa đồng vị nguyên tử với tỷ lệ không tự nhiên ở một hoặc nhiều nguyên tử cấu thành hợp chất. Chẳng hạn, hợp chất có thể được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ, như Triti (^3H), Iot-125 (^{125}I) hoặc C-14 (^{14}C). Việc thay đổi tất cả các đồng vị của hợp chất, hoặc được đánh dấu phóng xạ hoặc không, cũng thuộc phạm vi của sáng chế.

Việc sử dụng, dược phẩm và bộ kit

Theo cách khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, hoặc dược phẩm theo sáng chế để sử dụng trong điều trị hoặc ngăn ngừa nhiễm virus.

Theo một số phương án theo sáng chế, nhiễm virus là nhiễm virus sốt dengue, virus sốt vàng, virus Tây sông Nin, virus viêm não Nhật Bản, virus viêm não do ve bét truyền, virus Kunjin, virus viêm não Murray Valley, virus viêm não St Louis, virus sốt xuất huyết Omsk, virus tiêu chảy do virus ở trâu bò, virus Zika, hoặc virus viêm gan. Theo một phương án được ưu tiên, nhiễm virus là nhiễm virus viêm gan. Theo một phương án được ưu tiên khác, nhiễm virus là nhiễm virus viêm gan B hoặc viêm gan C.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm, bao gồm hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách kết hợp các hợp chất theo sáng chế hoặc muối của chúng với chất mang được dụng. Chẳng hạn, dược phẩm có thể được bào chế thành dạng bào chế rắn, bán rắn, lỏng hoặc khí, như viên nén, viên tròn, viên nang, bột, hạt cốm, thuốc mỡ, nhũ tương, hỗn dịch, dung dịch, thuốc đạn, thuốc tiêm, dạng hít, gel, vi thể, sol khí hoặc tương tự.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như phương pháp trộn, hoà tan, tạo hạt cốm, phủ bọc, tán nghiền, tạo nhũ tương, đông khô hoặc tương tự.

Đường sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó hoặc dạng đồng phân hoặc được phẩm của nó bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dùng đường uống, đường trực tràng, qua màng nhầy, dùng đường tiêu hoá hoặc tại chỗ, dùng qua da, đường xông hút, dùng ngoài đường tiêu hoá, dùng dưới lưỡi, đặt âm đạo, dùng qua mũi, dùng qua phúc mạc ổ bụng, dùng trong ổ mắt, dưới da, hoặc dùng qua đường tĩnh mạch.

Đối với việc sử dụng qua đường uống, hoạt chất có thể được trộn lẫn với chất mang được dụng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này để bào chế được phẩm. Chất mang có thể được sử dụng để bào chế hợp chất theo sáng chế thành viên nén, viên tròn, viên ngậm, viên bọc đường, viên nang, dạng lỏng, gel, cồn thuốc, dạng hỗn dịch n hoặc tương tự hữu ích cho việc sử dụng qua đường uống.

Dược phẩm dùng đường uống dạng rắn có thể được bào chế bằng các phương pháp trộn, nhồi hoặc nén thông thường, chẳng hạn, bằng cách quy trình sau đây: trộn hoạt chất với tá dược rắn, tùy ý nghiền hỗn hợp tạo thành, thêm các tá dược thích hợp khác nếu cần, sau đó tiến hành tạo hạt cốm hỗn hợp để thu được nhân của viên nén hoặc viên bọc đường. Các tá dược thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất liên kết, chất pha loãng, chất phân rã, chất bôi trơn, tá dược trơn, chất điều vị, chất làm nhẹ hoặc chất tương tự. Các ví dụ khác bao gồm xenluloza vi tinh thể, dung dịch glucoza, gôm acacia, dung dịch gelatin, sucroza và tinh bột; talc, tinh bột, magie stearat, canxi stearat hoặc axit stearic; lactoza, sucroza, manitol, sorbitol hoặc dicanxi phosphat; silicon dioxit; natri croscarmelloza, tinh bột được tiền gelatin hóa, tinh bột natri glycolat, axit alginic, tinh bột ngô, tinh bột khoai tây, metylxenluloza, aga, carboxymetyl xenluloza, polyvinylpyrrolidon được liên kết chéo hoặc tương tự. Nhân của viên bọc đường tùy ý có thể được phủ bằng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, đặc biệt là bằng lớp phủ bao màng ruột.

Dược phẩm theo sáng chế có thể là hữu dụng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa, chẳng hạn ở dạng liều đơn vị thích hợp như dung dịch, hỗn dịch tiêm, hoặc sản phẩm đông khô. Các tá dược thích hợp có thể được sử dụng như chất làm đầy, đệm hoặc chất hoạt động bề mặt.

Hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó theo sáng chế có thể được sử dụng theo đường dùng và quy trình bất kỳ, bằng cách sử dụng đường uống hoặc ngoài đường tiêu hóa (chẳng hạn, dùng qua đường tĩnh mạch). Lượng cho hiệu quả điều

trị hoặc lượng cho hiệu quả điều trị dự phòng của hợp chất có công thức (I) có thể dao động từ khoảng 0,0001 đến 20mg/kg thể trọng/ngày, chẳng hạn, từ 0,001 đến 10mg/kg thể trọng/ngày.

Tần suất sử dụng của hợp chất có công thức (I) phụ thuộc vào nhu cầu của từng bệnh nhân, chẳng hạn một hoặc hai hoặc nhiều lần trong ngày. Việc sử dụng cũng có thể gián đoạn, chẳng hạn, trong giai đoạn vài ngày, bệnh nhân sẽ sử dụng liều hàng ngày của hợp chất có công thức (I), và sau đó vài ngày hoặc lâu hơn, bệnh nhân sẽ không sử dụng liều hàng ngày của hợp chất có công thức (I).

Sáng chế còn đề cập đến hỗn hợp dược phẩm, chẳng hạn, bộ kit, bao gồm a) hoạt chất thứ nhất là hợp chất theo sáng chế; b) một hoặc nhiều hoạt chất bổ trợ. Hỗn hợp dược phẩm cũng có thể bao gồm hướng dẫn sử dụng nếu cần. Nếu cần, các thành phần a) và b) nói trên có thể được cho vào cùng một lọ chứa hoặc các lọ chứa khác nhau. Hỗn hợp dược phẩm còn có thể bao gồm các hoạt chất để hỗ trợ sử dụng trong cùng một lọ chứa hoặc trong các lọ chứa khác nhau, chẳng hạn, chất mang và/hoặc tá dược được dùng nêu trên. Tùy ý, bộ kit có thể bao gồm thiết bị để chẩn đoán nhiễm virus (chẳng hạn, các loại nhiễm virus đã nêu).

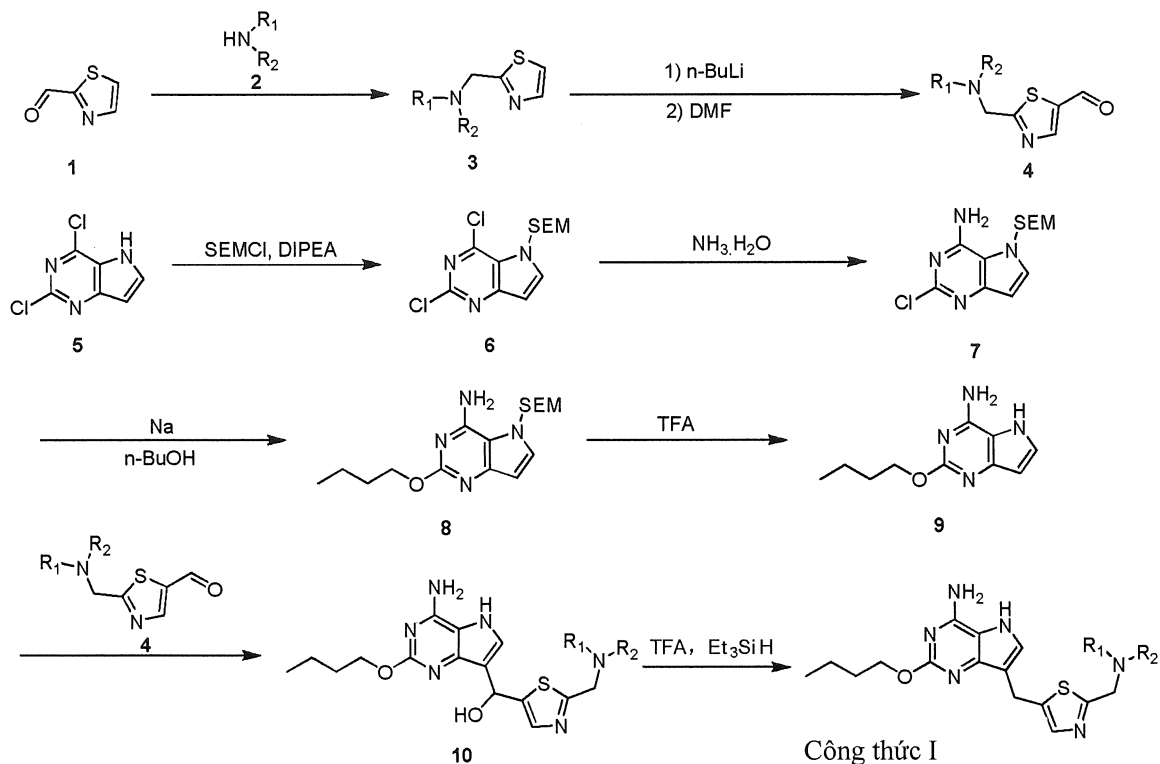
Tổng hợp và bào chế

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều quy trình tổng hợp khác nhau đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, bao gồm các phương án cụ thể được nêu dưới đây, các phương án được thực hiện bằng cách kết hợp các phương án nêu dưới đây cùng với các quy trình tổng hợp hóa học khác cũng như các phương án tương đương đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương án được ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các ví dụ thực hiện sáng chế. Các phản ứng hóa học của các phương án cụ thể được bộc lộ ở đây có thể được thực hiện trong dung môi thích hợp để thực hiện các thay đổi hóa học và các hóa chất và vật liệu cần thiết được bộc lộ ở đây. Để thu được hợp chất theo sáng chế, một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đôi khi cần phải thực hiện các biến đổi hoặc lựa chọn các bước hoặc quy trình phản ứng dựa vào các phương án đã biết.

Một yếu tố quan trọng trong thiết kế bất kỳ một sơ đồ tổng hợp nào nằm ở việc chọn lựa các nhóm bảo vệ thích hợp đối với các nhóm phản ứng (chẳng hạn, nhóm

amin). Một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể tham khảo tài liệu “Protective Groups In Organic Synthesis, Wiley and Sons, 1991 by Greene and Wuts”.

Chẳng hạn, hợp chất có công thức chung (I) theo sáng chế có thể được bào chế bởi một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này bằng các quy trình chuẩn theo sơ đồ sau:



Quá trình điều chế hợp chất có công thức 4: hợp chất có công thức 1 dưới dạng nguyên liệu được cho phản ứng với hợp chất có công thức 2 thông qua phản ứng trùng ngưng để tạo ra hợp chất có công thức 3, là hợp chất được sử dụng để tạo ra hợp chất có công thức 4 dưới sự xúc tác của n -butylliti và DMF.

Quá trình điều chế hợp chất có công thức (I): hợp chất có công thức 5, được bảo vệ bằng SEM, được sử dụng để tạo ra hợp chất có công thức 6, hợp chất này được thế amin để tạo ra hợp chất có công thức 7; hợp chất có công thức 7 được cho phản ứng với n -butanol dưới sự xúc tác của Na để tạo ra hợp chất có công thức 8, hợp chất này được khử nhóm bảo vệ SEM dưới sự xúc tác của TFA để tạo ra hợp chất có công thức 9; hợp chất có công thức 9 được cho phản ứng với hợp chất có công thức 4 để tạo ra hợp chất có công thức 10, hợp chất này được khử nhóm hydroxyl để tạo ra hợp chất có công thức

(I).

Dung môi được sử dụng ở đây được bán sẵn trên thị trường và có thể được sử dụng ngay mà không cần tinh chế thêm. Các phản ứng hóa học thường được thực hiện trong khí nitơ trơ trong dung môi khan. Số liệu cộng hưởng từ proton được ghi bằng máy đo quang phổ Bruker Avance III 400 (400 MHz), với mức độ dịch chuyển hóa học được tính bằng (ppm) tại tetrametylsilan trường thấp. Phổ khối được đo bằng máy Agilent 1200 plus 6110 (&1956A). LC/MS hoặc Shimadzu MS có bộ phát DAD: SPD-M20A (LC) và Shimadzu Micromass 2020. Máy đo phổ khối được trang bị bộ phân ion hóa phun điện tử (electrospray ionization (ESI) được vận hành theo chế độ âm hoặc dương.

Hợp chất được đặt danh pháp bằng tay hoặc bằng phần mềm ChemDraw®. Tên của hợp chất có bán trên thị trường được sử dụng theo tên trong danh mục của nhà cung cấp.

Phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao được thực hiện bằng hệ thống Shimadzu LC20AB được trang bị thiết bị lấy mẫu tự động Shimadzu SIL-20A và bộ phát Japanese Shimadzu DAD: SPD-M20A trên một sắc ký Xtimate C18 (cột nhồi 3m, 2,1x300mm). phương pháp 0-60AB_6 min: gradient trực tuyến được sử dụng, trong đó quá trình tách rửa được khởi động bằng A 00% (A là dung dịch TFA 0,0675% trong nước) và kết thúc bằng B 60% (B là dung dịch TFA 0,0625% trong MeCN) (toàn bộ quá trình kéo dài 4,2 phút), và sau đó B 60% được sử dụng để tách rửa trong 1 phút. Cột sắc ký còn được làm cân bằng thêm trong 0,8 phút để đạt tỷ lệ 100:0 và tổng thời gian thực hiện là 6 phút. Phương pháp 10-80AB_6: gradient trực tuyến được sử dụng, trong đó quá trình tách rửa được khởi động bằng A 90% (A là dung dịch TFA 0,0675% trong nước) và kết thúc bằng B 80% (B là dung dịch TFA 0,0625% trong axetonitril) (toàn bộ quá trình kéo dài 4,2 phút), và sau đó B 80% được sử dụng để tách rửa trong 1 phút. Cột sắc ký còn được làm cân bằng thêm trong 0,8 phút để đạt tỷ lệ 90:10 và tổng thời gian thực hiện là 6 phút. Nhiệt độ cột là 50°C và tốc độ chảy là 0,8ml/phút. Bước sóng quét của máy phát dãy đi-ốt là 200 đến 400nm.

Sắc ký lớp mỏng (TLC) được thực hiện trên silica gel GF254 của Sanpont-group. Đốm được phát hiện bằng ánh sáng tử ngoại và trong một số trường hợp các có thể sử dụng các quy trình khác. Trong các trường hợp này, đĩa lớp mỏng được phủ đều bằng i-

ốt (khoảng 1g i-ốt được cho vào 10g silica gel và trộn đều), vanillin aldehyt (khoảng 1g vanilin aldehyt được hòa tan trong 100ml H₂SO₄ 10%), ninhydrin (của Aldrich) hoặc của nhà sản xuất ((NH₄)₆Mo₇O₂₄•4H₂O, 5g (NH₄)₂Ce(IV)(NO₃)₆, 450ml H₂O và 50ml H₂SO₄ đặc được trộn đều) và hợp chất được phát hiện. Bằng quy trình tương tự như quy trình được mô tả trong tài liệu “Still, W. C.; Kahn, M.; and Mitra, M. Journal of Organic Chemistry, 1978, 43, 2923-2925, sắc ký cột nhanh được thực hiện trên silica gel 40-63µm (màng lọc 230-400) của Silicycle. Các dung môi thông thường trong sắc ký cột nhanh hoặc sắc ký lớp mỏng bao gồm diclometan/metanol, etyl axetat/metanol và hỗn hợp hexan/etyl axetat.

Phân tích sắc ký điều chế được thực hiện trên hệ thống Gilson-281 Prep LC 322 với bộ phát Gilson UV/VIS-156, và cột sắc ký là Agella Venusil ASB Prep C18, 5m, 150×21,2mm; Phenomenex Gemini C18, 5m, 150×30mm; Boston Symmetrix C18, 5m, 150×30mm; hoặc Phenomenex Synergi C18, 4m, 150×30mm. Gradient thấp axetonitril/nước được sử dụng để tách rửa hợp chất khi tốc độ là khoảng 25ml/phút, trong đó nước chứa HCl 0,05%, HCOOH 0,25% hoặc NH₃•H₂O 0,5%, và tổng thời gian thực hiện là 8 đến 15 phút.

Các ký tự viết tắt được sử dụng ở đây: n-BuLi: n-butylliti; THF: tetrahydrofuran; SEM: 2-(trimetylsilyl)etoxy metyl; DIPEA: diisopropyl etyl amin; IPA: isopropanol; TFA: axit trifloaxetic; DMF: N,N-dimetylformamit; *n*-BuOH: n-butanol; Et₃SiH: trietylsilan.

Hiệu quả của sáng chế

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính liên kết cao với các thụ thể giống Toll 7 và hoạt tính liên kết thấp với thụ thể giống Toll 8, có mức độ chọn lọc, hoạt tính và độ an toàn cao hơn cũng như ít tác dụng phụ hơn, và có thể được sử dụng để điều trị và phòng ngừa hiệu quả nhiễm virus, đặc biệt là nhiễm virus viêm gan B hoặc viêm gan C.

Ví dụ thực hiện sáng chế

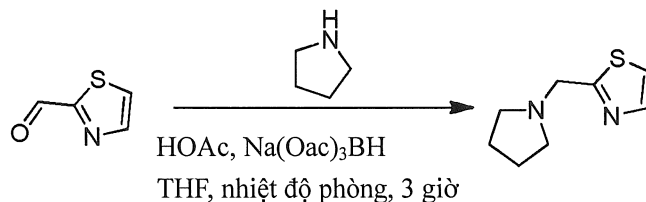
Các ví dụ sau đây được thực hiện để giúp người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể hiểu rõ và thực hiện sáng chế. Các ví dụ thực hiện sáng chế chỉ có mục đích minh họa và thử nghiệm, và không nên coi chúng như giới hạn phạm vi của sáng chế. Trừ khi được quy định khác, các tỷ lệ (bao gồm cả phần trăm) hoặc phần tỷ lệ

đều là tỷ lệ theo trọng lượng.

Ví dụ 1:

2-butoxy-7-((2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol-5-yl)methyl)-5H-pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-amin (I)

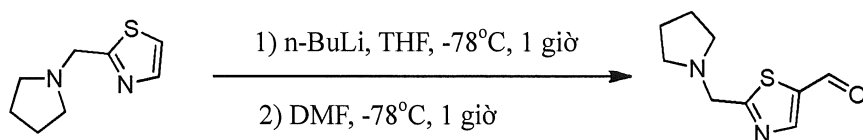
Bước 1: 2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol



Cho vào bình phản ứng 500ml thiazol-2-formaldehyt (25,00g, 220,90mmol) và tetrahydrofuran (300,0ml), hỗn hợp được khuấy trong 5 phút và sau đó axit axetic lạnh (39,80g, 662,90mmol) được thêm vào. Hỗn hợp được làm lạnh đến 0 đến 10°C bằng cách khuấy và pyrrolidin (13,80g, 194,40mmol) được thêm bằng cách nhỏ giọt. Nhiệt độ được giữ dưới 10°C trong quá trình bổ sung hợp chất. Sau đó, natri triaxetoxiborohydrua (56,20g, 265,10mmol) được thêm vào từng phần. Phản ứng được thực hiện ở 10 đến 20°C trong 12 giờ và được theo dõi bằng TLC cho đến khi nguyên liệu toàn hoàn biến mất. Sau khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp phản ứng được thêm natri bicacbonat bão hòa trong nước đến độ pH=9 đến 10 và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng 150ml etyl axetat ba lần. Pha hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng natri sulfat khan và được cô đặc trong áp suất giảm. Phần dư được tinh chế bằng sắc ký cột (gradient pha động: etyl axetat/ete xăng: 3/1/-1/1) để tạo ra 15,00g hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng dầu màu vàng, hiệu suất: 40,3%.

¹H NMR (400 MHz, CLOFORM-d) δ 7,71 (d, *J*=3,26 Hz, 1H), 7,26-7,32 (m, 1H), 4,02 (s, 2H), 2,60-2,75 (m, 4H), 1,84 (td, *J*=3,20, 6,65 Hz, 4H).

Bước 2: 2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol-5-formaldehyt

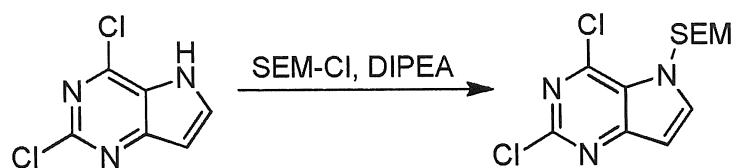


Cho vào bình ba cổ 500ml 2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol (15,00g, 89,10mmol) và tetrahydrofuran (250,00ml), hỗn hợp được làm lạnh đến -78°C bằng axeton lạnh. Ở -78°C n-butylliti (2,5 M, 71,3ml) được thêm vào chậm bằng cách nhỏ giọt. Sau đó, hỗn

hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút ở -78°C . Ở -78°C , hỗn hợp phản ứng được thêm DMF (13,00g, 178,30mmol) bằng cách nhỏ giọt. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy thêm ở -78°C trong 30 phút. Việc hoàn thành phản ứng được phát hiện bằng TLC. Hỗn hợp phản ứng được đập bằng 50ml amoni clorua và được chiết bằng 150ml etyl axetat. Pha hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat bão hòa, lọc và cô đặc trong áp suất giảm để tạo ra 15,00g hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng dầu màu vàng và sản phẩm thô được sử dụng trực tiếp cho bước tiếp theo.

^1H NMR (400 MHz, CLOFORM- d) δ 10,03 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 4,03 (s, 2H), 2,73 (t, $J=6,02$ Hz, 4H), 1,86 (td, $J=3,20, 6,65$ Hz, 4H).

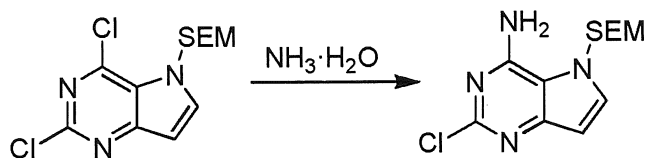
Bước 3: 2,4-diclo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin



2,4-diclo-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin (4,00 kg, 21,28 mol) được hòa tan trong DMF (20,00l); ở nhiệt độ phòng (25°C) DIPEA (2,58 kg, 20,00 mol) được thêm vào từng phần và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C bằng bể băng và sau đó SEM-Cl (4,00 kg, 24,00 mol) được thêm vào chậm bằng cách nhỏ giọt với tốc độ 1 đến 2 giọt/giây trong 5 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở 0°C . Phản ứng được theo dõi bằng HPLC. Hỗn hợp phản ứng được đập bằng 70L nước và được chiết bằng etyl axetat ($15\text{L} \times 3$) sau khi pha loãng. Pha hữu cơ được rửa lần lượt bằng dung dịch axit clohydric 1M ($5\text{L} \times 2$) và dung dịch nước muối bão hòa ($7\text{L} \times 2$), và dung môi được chưng cất trong áp suất giảm để tạo ra hợp chất nêu ở tiêu đề (6,40kg, 20,11mol, hiệu suất 94,50%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,24 - 8,35 (m, 1 H), 6,70 - 6,85 (m, 1 H), 5,77 (s, 2 H), 3,45 - 3,57 (m, 2 H), 0,74 - 0,86 (m, 2 H), 0,00 (s, 9 H).

Bước 4: 2-clo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin

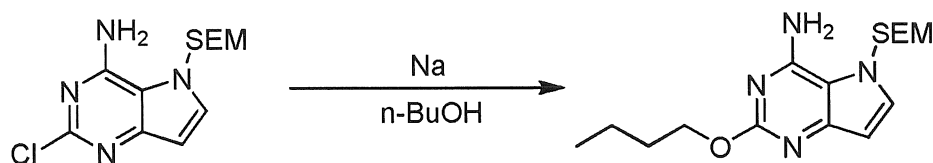


Trong nồi hấp 10l, 2,4-diclo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin (1,60 kg, 5,03mol) được hòa tan trong isopropanol (1,60L) và dung dịch

amoniac (4L) được thêm một phần vào ở nhiệt độ phòng (25°C). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 95°C trong 7 giờ và phản ứng được theo dõi bằng HPLC. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ phòng đồng thời và lọc bằng phễu để tạo ra chất rắn màu nâu đen. Chất rắn được tạo bột nhão bằng etyl axetat/n-heptan (1/1, 5L×2), tiếp theo được tạo bột nhão bằng etyl axetat (4L) để tạo ra hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng chất rắn màu nâu (1,25kg, 4,18mol, hiệu suất 83,1%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,61 - 7,77 (m, 1 H), 6,97 - 7,19 (m, 2 H), 6,28 - 6,38 (m, 1 H), 5,54 - 5,67 (m, 2 H), 3,43 - 3,53 (m, 2 H), 0,76 - 0,91 (m, 2 H), 0,07 (s, 9 H).

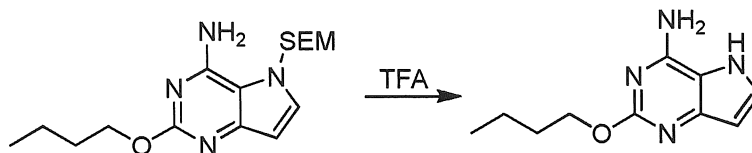
Bước 5: 2-butoxy-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin



Trong môi trường khí nitơ, natri (525,05g, 22,84mol) kim loại được thêm vào dung dịch n-BuOH (17,0l) từng phần. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được làm nóng đến 60°C và tiếp tục được khuấy ở nhiệt độ đó cho đến khi hòa tan hoàn toàn natri kim loại. Sau đó hỗn hợp được làm lạnh đến 25°C và 2-clo-5-((2-(trimetylsilyl)etoxy)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin (1,95kg, 6,53 mol) được thêm vào từng phần. Sau khi trộn đều bằng cách khuấy, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 8 giờ ở 90°C và phản ứng được theo dõi bằng HPLC. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 25°C tự động và sau đó được rót chậm vào 30L dung dịch amoni clorua và được chiết bằng etyl axetat (15L×3). Pha hữu cơ được rửa bằng dung dịch nước muối bão hòa (20L×2), làm khô bằng Na_2SO_4 khan, và lọc. Sau khi chưng cất dung môi dưới áp suất giảm, phần dư được tạo bột nhão trong n-heptan (4L). Quá trình lọc được thực hiện để tạo ra chất rắn, được tạo bột nhão trong etyl axetat (5L) để tạo ra hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng chất rắn màu trắng ngà (1,53kg, 4,55mol, 69,7%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,49 - 7,54 (m, 1 H), 6,54 - 6,62 (m, 2 H), 6,15 - 6,20 (m, 1 H), 5,54 (s, 2 H), 4,10 - 4,22 (m, 2 H), 3,42 - 3,55 (m, 2 H), 1,58 - 1,73 (m, 2 H), 1,35 - 1,47 (m, 2 H), 0,90 - 0,96 (m, 3 H), 0,83 - 0,89 (m, 2 H), 0,05 (s, 9 H).

Bước 6: 2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin

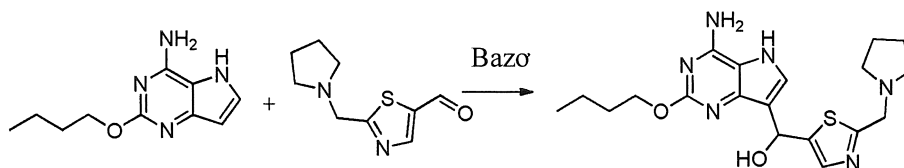


2-butoxy-5-((2-(trimethylsilyl)ethoxy)methyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin (1,10 kg, 3,27 mol) được hòa tan trong TFA (5,50L) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở 25°C. Phản ứng được theo dõi bằng HPLC và TFA được chưng cất dưới áp suất giảm. Phần dư được hòa tan trong metanol (1,2L) và nước đá (1,2L) và pH của hỗn hợp được điều chỉnh đến 12 bằng dung dịch amoniac đặc bằng cách khuấy đều và sau đó được khuấy trong 2 giờ. Phần tửa tiếp tục xuất hiện trong dung dịch. Sau khi lọc, bánh lọc ở dạng chất rắn màu trắng được tạo bột nhão bằng dung dịch amoniac 15% (1,2L×3) và etyl axetat (4L) để tạo ra hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng chất rắn màu trắng (550,00g, 2,67 mol, 81,7%).

¹H NMR (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ 7,37 (d, *J*=2,89 Hz, 1 H), 6,29 (d, *J*=3,01 Hz, 1 H), 4,27 (t, *J*=6,53 Hz, 2 H), 1,75 (d, *J*=7,91 Hz, 2 H), 1,44 - 1,61 (m, 2 H), 1,00 (t, *J*=7,40 Hz, 3 H).

Bước 7:

(4-amino-2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-[2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol-5-yl]metanol

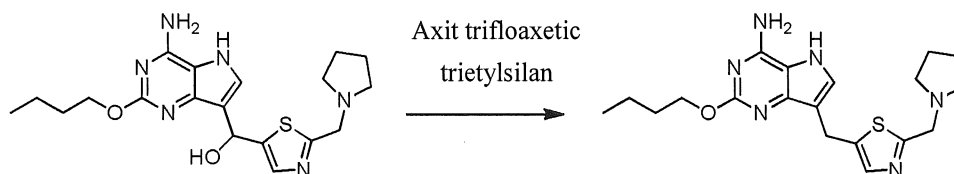


Cho vào bình ba cổ 500ml 2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin (10,00g, 48,49mmol), kali cacbonat (7,37g, 53,34mmol), nước (100ml) và isopropanol (100ml), sau đó 2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol-5-formaldehyt (14,27g, 72,74mmol) được thêm vào bằng cách khuấy. Phản ứng được thực hiện ở 25°C trong 16 giờ và 2-(pyrolidin-1-ylmethyl)thiazol-5-formaldehyt được theo dõi bằng LCMS để thực hiện phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được bổ sung 100ml nước để pha loãng và được chiết bằng 100ml diclometan ba lần. Pha hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan, lọc bỏ chất rắn và cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra phần dư, phần dư được tinh chế bằng sắc ký cột (gradient pha động: diclometan/metanol/dung dịch amoniac/: 30/1/0,1 đến 10/1/0,1) để

tạo ra hợp chất nêu ở tiêu đề ở dạng chất rắn màu nâu (5,20g, 12,92mmol, hiệu suất: 26,6%). MS (ESI) m/z : 403,3 $[M+H]^+$.

Bước 8:

2-butoxy-7-((2-(pyrrolidin-1-ylmetyl)thiazol-5-yl)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin



Cho vào bình cầu thể tích 100ml (4-amino-2-butoxy-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-7-yl)-[2-(pyrrolidin-1-ylmetyl)thiazol-5-yl]metanol (5,10g, 12,60mmol), triethylsilan (10,00ml) và axit trifloaxetic (40,00ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 12 giờ. Nguyên liệu thô được theo dõi bằng LCMS. Dung môi được loại bỏ bằng cách cô đặc dưới áp suất giảm. Hỗn hợp được bổ sung 100ml etyl axetat và sau đó dung dịch natri cacbonat bão hòa được thêm vào để điều chỉnh độ pH của dung dịch đến 9-10. Quá trình chiết được thực hiện bằng 50ml etyl axetat ba lần. Pha hữu cơ được kết hợp, làm khô bằng natri sulfat, chất rắn được lọc bỏ và hỗn hợp được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra phần dư, phần dư được tách bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao cấp độ bào chế để tạo ra 4,2g 2-butoxy-7-((2-(pyrrolidin-1-ylmetyl)thiazol-5-yl)metyl)-5H-pyrolo[3,2-d]pyrimidin-4-amin ở dạng dầu màu vàng sáng (dạng diformat của hợp chất nêu ở tiêu đề).

^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8,30 (s, 2H), 7,61 (s, 1H), 7,41 (s, 1H), 4,51 (s, 2H), 4,44 (q, $J=6,6$ Hz, 2H), 4,24 (s, 2H), 3,33 – 3,28 (m, 4H), 2,02 (s, 4H), 1,83 – 1,73 (m, 2H), 1,56 – 1,46 (m, 2H), 0,99 (t, $J=7,2$ Hz, 3H).

Ví dụ thử nghiệm 1: Hoạt tính liên kết với thụ thể giống Toll 7 và thụ thể giống Toll 8 in vitro

Hóa chất:

Tế bào HEK-xanh hTLR7 và HEK-xanh hTLR8 (của InvivoGen)

Môi trường DMEM

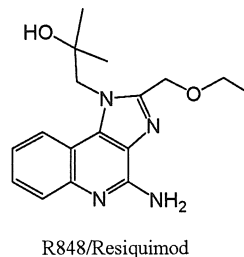
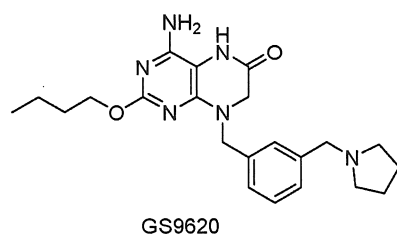
Huyết thanh nhau thai bò bị bất hoạt bằng nhiệt

Kháng Mycoplasma NormocinTM

bleomycin

blastixidin

GS-9620 và R848 được sử dụng có cấu trúc như sau. GS-9620 có thể được điều chế theo quy trình được đề cập trong đơn US20100143301; R848 được mua của ABGENT (Danh mục: IMG-2208, 0,5mg).



Quy trình:

1. Quá trình điều chế đĩa hợp chất 96 giếng:

Hợp chất được pha loãng gradient bằng DMSO theo tỷ lệ 3 lần sử dụng POD bắt đầu từ nồng độ 10mmol/l và 10 điểm được pha loãng (cột thứ 2 đến cột thứ 11, và mỗi một điểm được lặp lại). Ở cột thứ 12, 1μl hợp chất đối chứng dương R848 nồng độ 5mg/ml được bổ sung; và ở cột thứ nhất, 1μl DMSO được bổ sung làm đối chứng âm. Mỗi lỗ chứa 1μl DMSO.

2. Tế bào trong bình nuôi cấy tế bào được thu lại và mật độ tế bào được pha loãng đến 250000 tế bào/ml.

3. 200μl (50000 tế bào/giếng) dịch huyền phù tế bào được bổ sung vào đĩa hợp chất đã chuẩn bị và nồng độ cuối cùng của DMSO trong mỗi lỗ là 0,5%.

4. Đĩa nuôi cấy chứa tế bào và hợp chất được ủ trong máy ủ CO₂ trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂.

5. Sau khi ủ 24 giờ, 20μl dịch nổi tế bào được lấy ra từ mỗi lỗ và được chuyển vào đĩa thử nghiệm trong suốt 96 giếng. Mỗi lỗ của đĩa thử nghiệm được bổ sung 180μl thuốc thử Quanti-Blue và đĩa được ủ trong máy ủ ở 37°C, 5% CO₂ trong 1 giờ.

6. Sau 1 giờ, hàm lượng phosphatase kiềm trong 20μl dịch nổi tế bào được xác định sử dụng máy đọc vi đĩa ở OD₆₅₀.

7. EC₅₀ của mỗi hợp chất thu được bằng phần mềm Prism.

Kết quả được nêu trong bảng 1:

Bảng 1

Mẫu thử nghiệm	TLR7 EC ₅₀ (nM)	TLR8 EC ₅₀ (nM)
GS-9620	517	7867
Ví dụ 1	454,1	29332

Theo bảng trên, hợp chất theo sáng chế có hoạt tính liên kết thụ thể với thụ thể giống Toll 7 *in vitro* tốt hơn so với chất chủ vận thụ thể giống Toll 7 GS-9620 và hoạt tính liên kết thụ thể với thụ thể giống Toll 8 *in vitro* thấp hơn so với chất chủ vận thụ thể giống Toll 7 GS-9620. Hợp chất theo sáng chế có mức độ chọn lọc chênh lệch kể với các thụ thể khác nhau, cho thấy hiệu quả tốt hơn so với các hợp chất trước đây trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Ví dụ thử nghiệm 2: Thử nghiệm được động lực học ở chuột

12 chuột SD đực được chia thành 4 nhóm mỗi nhóm 3 con. 2 nhóm lần lượt được truyền tĩnh mạch (IV) 1mg/kg đối chứng là chất chủ vận thụ thể giống Toll 7 GS-9620 và hợp chất theo ví dụ 1 là dung dịch hydroxypropyl- β -cyclodextrin 10% trong nước (nồng độ 0,5mg/ml). Hai nhóm còn lại được sử dụng qua đường uống (PO) 5mg/kg GS-9620 và 3mg/kg hợp chất theo ví dụ 1 là hỗn dịch trong nước của metylxenluloza 0,5%/Tween 80 0,2% (nồng độ là 1mg/ml). Mỗi con chuột được truyền tĩnh mạch được lấy mẫu máu toàn phần, sau đó mẫu máu được chuẩn bị huyết tương tại các thời điểm 2, 15, 30 phút và 1, 2, 4, 8, 24 giờ liên tục sau khi sử dụng. Mỗi con chuột sử dụng thuốc qua đường uống được lấy mẫu máu toàn phần, sau đó mẫu máu được chuẩn bị huyết tương tại các thời điểm 2, 15, 30 phút và 1, 2, 4, 8, 24 giờ liên tục sau khi sử dụng. Nồng độ trong huyết tương của GS-9620 và hợp chất theo ví dụ 1 được xác định bằng LC-MS/MS.

Kết quả được nêu trong bảng 2.

Nồng độ thuốc trong huyết tương trung bình				
Tên hợp chất	GS-9620		Ví dụ 1	
Thời gian (giờ)	IV1 (1mpk)	PO1 (5mpk)	IV2 (1mpk)	PO2 (3mpk)
0,083	170	--	500	--
0,25	102	56,3	277	45,4
0,5	65,4	33,2	197	52,0
1	48,1	83,4	120	86,8
2	21,6	136	66,1	113
4	13	16,7	30,6	23,6

8	4,17	9,49	13,1	5,64
24	ND	ND	ND	ND
C0 hoặc Cmax (nM)	220	164	673	148
T1/2 (giờ)	2,57	2,24	3,08	1,54
Vdss (l/kg)	32,8	--	13,5	--
Cl (ml/phút/kg)	205	--	75,8	--
AUC0-last (nM.giờ)	185	316	541	313
AUC0-inf (nM.giờ)	201	359	573	325

Ở các điều kiện tương đương, đối với cả việc sử dụng qua đường truyền tĩnh mạch hoặc sử dụng đường uống (lượng sử dụng được biến đổi), so với chất chủ vận thụ thể giống Toll 7 GS-9620 đối chứng, hợp chất theo sáng chế có mức độ phơi nhiễm ở chuột cao hơn.

Ví dụ thử nghiệm 3: Thử nghiệm dược động lực học *in vivo* ở mẫu chuột bị nhiễm virus viêm gan B (HBV) mang virus kết hợp adeno (AAV - Adeno Associated Virus)

Thiết kế thử nghiệm và quy trình thử nghiệm:

Đường sử dụng: trong dạ dày

Thời gian sử dụng: kể từ ngày 26 sau khi tiêm virus, một lần sử dụng mỗi 3 ngày, trong tổng số 6 tuần

Nhóm sử dụng: nhóm 1: chất dẫn thuốc, HP- β -CD 10%; nhóm 2: GS-9620, 20mg/kg; nhóm 3: hợp chất theo ví dụ 1, 20 mg/kg

Lấy máu: kể từ ngày thứ 3 sau lần sử dụng thứ 1, hai lần/tuần, tổng số 8 tuần;

Lấy mẫu gan: mẫu gan được lấy vào ngày 64 sau lần sử dụng thứ 1.

Chi thiết được thể hiện trong bảng 3 và 4.

Bảng 3

Số chuột	Quy trình tiêm		Lấy máu
	AAV-HBV v.g./ 200 μ l	Cách tiêm	
30+6	1×10^{11}	200 μ l/chuột, tĩnh mạch đuôi, từ ngày 0	1. Vào ngày 14 và 21 sau khi tiêm virus, 30 chuột được chia thành 6 nhóm, theo nồng độ HBV ADN, HBsAg và HbeAg trong máu; 2. Máu được lấy vào ngày 26 sau khi tiêm virus.

*HBsAg: kháng nguyên bề mặt viêm gan B; HBeAg: kháng nguyên E viêm gan B

Bảng 4

Nhóm	Số	Quy trình thử nghiệm	Thời gian lấy	Thời gian
------	----	----------------------	---------------	-----------

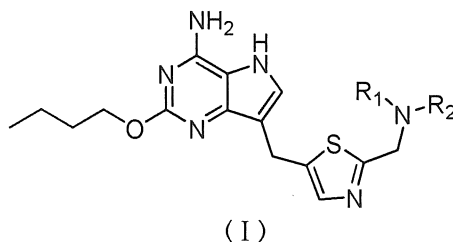
	chuột	Hợp chất	Lượng sử dụng (mg/kg)	Thể tích sử dụng (ml/kg)	Đường dùng	máu	lấy mẫu gan
1	5	Chất dẫn thuốc	/	10	26 ngày sau khi tiêm virus, việc sử dụng trong dạ dày được thực hiện, một lần mỗi 3 ngày trong tổng số 6 tuần.	Lần lấy máu thứ nhất được thực hiện vào ngày thứ 3 sau sử dụng, hai lần/tuần, trong tổng số 8 tuần.	Ngày 64 sau lần sử dụng thứ 1.
2	5	GS9620	20				
3	5	Ví dụ 1	20				

Kết quả chi tiết của thử nghiệm được động lực học ở mẫu chuột bị nhiễm virus viêm gan B mang AAV được thể hiện trên Fig.1 đến 3. Kết quả số lượng bản sao ADN HBV, bản sao HbsAg trong huyết tương và kháng HBsAb (kháng thể kháng kháng nguyên bề mặt viêm gan B) được thể hiện, hợp chất theo ví dụ 1 có hiệu quả tốt hơn so với chất chủ vận thụ thể giống Toll 7 đối chứng GS-9620 ở các điều kiện tương đương, cho thấy các tác dụng ưu việt hơn.

Trừ khi được quy định khác, tất cả các số thể hiện lượng thành phần, dịch nuôi cấy tế bào, điều kiện xử lý, v.v. được thể hiện trong bản mô tả, bao gồm cả phần yêu cầu bảo hộ, cần được hiểu là có thể được thay đổi trong mọi trường hợp nhờ từ “khoảng”. Do đó, trừ khi được quy định ngược lại, các thông số số học đều là các số tương đối và có thể thay đổi phụ thuộc vào đặc tính mong muốn. Trừ khi được quy định khác, thuật ngữ “ít nhất” đứng trước một loạt các yếu tố cần được hiểu là dùng để chỉ mỗi yếu tố trong chuỗi đó. Một người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể nhận biết, hoặc có thể tạo ra các phương án tương đương với các phương án cụ thể theo sáng chế mà không cần sử dụng các quy trình khác biệt trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các phương án tương đương này cũng sẽ thuộc vào phạm vi của sáng chế.

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 nhóm bao gồm H và C_{1-4} alkyl, hoặc

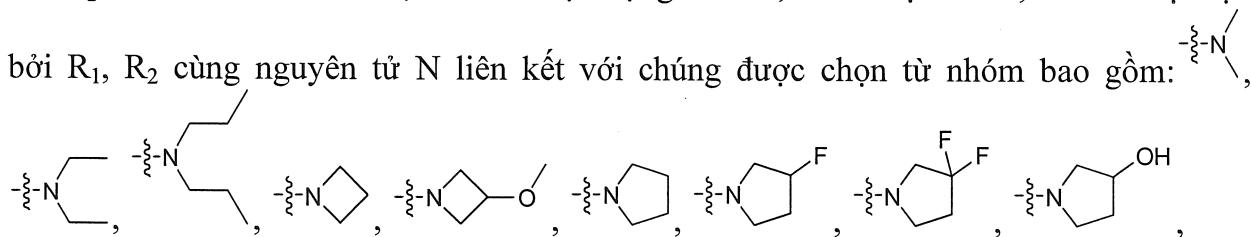
R_1 và R_2 cùng với nguyên tử N liên kết với chúng tạo thành heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều R_3 , R_3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, halogen, xyano, C_{1-4} alkyl và C_{1-4} alkoxy.

2. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, khác biệt ở chỗ, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh chứa 0, 1, 2 hoặc 3 dị nguyên tử khác được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S.

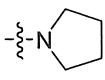
3. Hợp chất theo điểm 2 hoặc muối được dụng của nó, khác biệt ở chỗ, heteroxycloalkyl có từ 4 đến 8 cạnh là heteroxycloalkyl có 4 cạnh, 5 cạnh, 6 cạnh, 7 cạnh hoặc 8 cạnh.

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, khác biệt ở chỗ, R_3 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, F, Cl, Br, CN, metyl, etyl, propyl, metoxy, etoxy và propoxy.

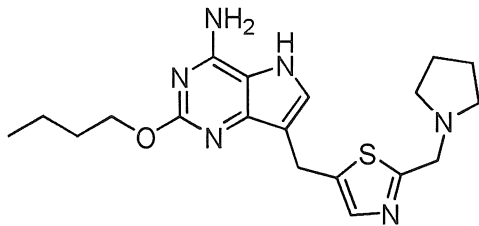
5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó, khác biệt ở chỗ, nhóm được tạo bởi R_1 , R_2 cùng nguyên tử N liên kết với chúng được chọn từ nhóm bao gồm:



6. Hợp chất theo điểm 5 hoặc muối được dụng của nó, khác biệt ở chỗ, nhóm được tạo

bởi R_1, R_2 cùng nguyên tử N liên kết với chúng là .

7. Hợp chất có công thức dưới đây hoặc muối được dụng của nó:



8. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 và/hoặc muối được dụng của nó với lượng cho hiệu quả điều trị hoặc lượng cho hiệu quả điều trị dự phòng, và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dụng.

Hình vẽ

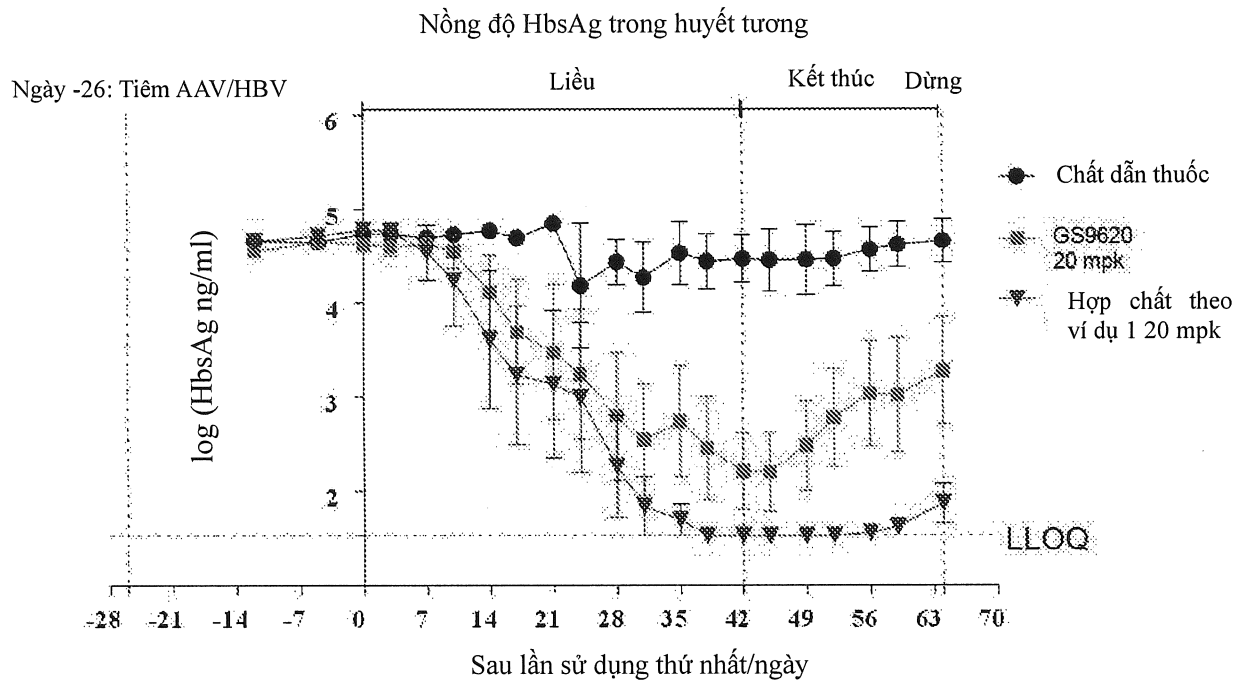


Fig. 1

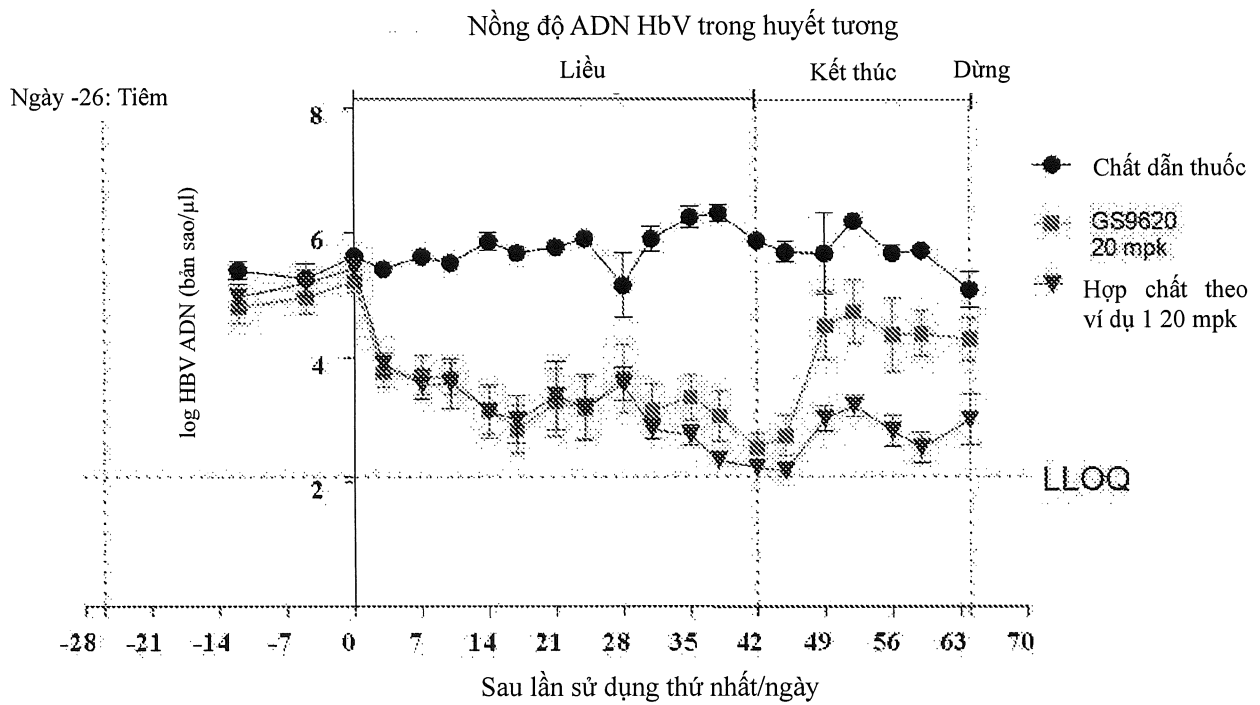


Fig. 2

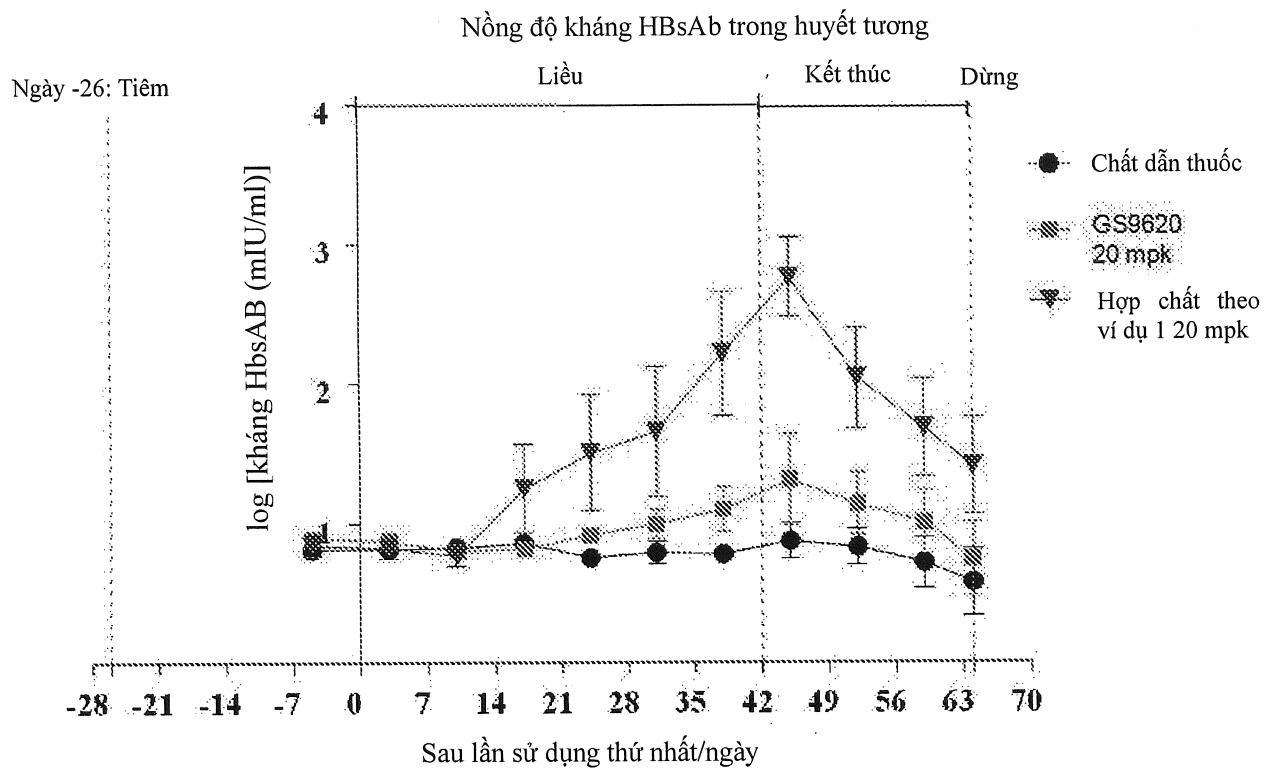


Fig. 3