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

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

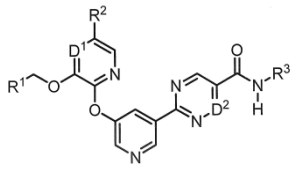
(11) **1-0033929**

(51)[8] **C07D 401/14**; A61K 31/506; A61P 3/00 (13) **B**

(21) 1-2019-01195 (22) 09/08/2017
(86) PCT/IB2017/054862 09/08/2017 (87) WO2018/033832 22/02/2018
(30) 62/377,137 19/08/2016 US
(45) 25/11/2022 416 (43) 27/05/2019 374A
(73) Pfizer Inc. (US)
235 East 42nd Street, New York, NY10017, United States of America
(72) BOEHM, Markus (DE); CABRAL, Shawn (US); DOWLING, Matthew S. (US); FUTATSUGI, Kentaro (JP); HUARD, Kim (CA); LEE, Esther Cheng Yin (US); LI, Qifang (US); LONDREGAN, Allyn T. (US); POLIVKOVA, Jana (US); PRICE, David A. (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT LÀM CHẤT ỨC CHẾ DIAXYLGLYXEROL AXYLTRANSFERAZA 2, DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ HỢP CHẤT NÀY Ở DẠNG TINH THỂ

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I mà ức chế hoạt tính của diaxylglyxerol axyltransferaza 2 (DGAT2), dược phẩm chứa hợp chất này và hợp chất này ở dạng tinh thể. Các hợp chất này có thể sử dụng trong điều trị các bệnh có liên quan đến nó ở động vật.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức I mà ức chế hoạt tính của diaxylglyxerol axyltransferaza 2 (DGAT2), dược phẩm chứa hợp chất này và hợp chất này ở dạng tinh thể.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Triglyxerit hoặc triaxylglyxerol (TAG) là dạng dự trữ năng lượng chính ở động vật có vú. TAG được tạo ra bằng cách este hóa glyxerol liên tiếp bằng ba axit béo có chiều dài mạch và độ bão hòa thay đổi (1). TAG được tổng hợp trong ruột hoặc gan được bao lần lượt thành các chylomicron hoặc lipoprotein mật độ rất thấp (very low-density lipoprotein - VLDL), và được vận chuyển ra các mô ngoại vi nơi chúng được thủy phân thành các axit béo thành phần của chúng và glyxerol bằng lipoprotein lipaza (LPL). Các axit béo không este hóa (non-esterified fatty acid - NEFA) thu được có thể được chuyển hóa tiếp để tạo ra năng lượng hoặc được este hóa lại và dự trữ.

Trong các điều kiện sinh lý bình thường, TAG giàu năng lượng được giữ cô lập trong nhiều kho chứa chất béo cho đến khi có nhu cầu giải phóng nó, khi đó, nó được thủy phân thành glyxerol và các axit béo tự do mà sau đó sẽ được giải phóng vào trong dòng máu. Quy trình này được điều hòa chặt chẽ bởi các hoạt động trái ngược nhau của insulin và các hormon như các catecholamin mà thúc đẩy sự ký gửi và di chuyển các kho dự trữ TAG trong các điều kiện sinh lý khác nhau. Ở điều kiện sau bữa ăn, insulin hoạt động để ức chế sự tiêu mỡ, nhờ đó, cản trở sự giải phóng năng lượng ở dạng NEFA và đảm bảo sự dự trữ thích hợp chất béo từ chế độ ăn trong các kho dự trữ chất béo. Tuy nhiên, ở các bệnh nhân bị bệnh đái tháo đường typ 2, khả năng ức chế sự tiêu mỡ của insulin bị giảm và luồng NEFA từ các tế bào mỡ bị tăng lên không thích đáng. Kết quả là, điều này dẫn đến tăng phân phối chất béo đến các mô như cơ và gan. Khi không có nhu cầu năng lượng, TAG và các sản phẩm chuyển hóa chất béo khác, như diaxylglyxerol (DAG) có thể tích tụ và gây ra sự mất tính nhạy của insulin(2). Tính kháng insulin trong cơ đặc trưng bởi mức hấp thu glucoza giảm và mức dự trữ glycogen, trong khi đó ở gan,

việc mất tín hiệu insulin làm rối loạn điều hòa lượng glucoza thải ra và sản sinh quá mức VLDL giàu TAG, dấu hiệu của bệnh đái tháo đường typ 2 (3). Mức tiết VLDL giàu TAG, còn gọi là hạt VLDL1, tăng được cho là kích thích sự sản sinh lipoprotein nhỏ, nặng tỷ trọng thấp (small, dense low-density lipoprotein - sdLDL), một phần phụ gây xơ vữa động mạch của LDL mà có liên quan đến nguy cơ bệnh tim mạch vành gia tăng (4).

Các diaxylglyxerol axyltransferaza (DGAT) xúc tác bước kết thúc trong quy trình tổng hợp TAG, cụ thể là bước este hóa axit béo bằng diaxylglyxerol tạo ra TAG. Ở động vật có vú, hai enzym DGAT (DGAT1 và DGAT2) đã được xác định đặc tính. Mặc dù các enzym này xúc tác cùng phản ứng enzym nhưng các trình tự axit amin của chúng không liên quan đến nhau và chúng thuộc các họ gen khác nhau. Chuột nhắt có sự gián đoạn trong gen mã hóa DGAT1 kháng lại bệnh béo phì do chế độ ăn và có mức tiêu hao năng lượng và hoạt động tăng (5). Chuột nhắt Dgat1-/- thể hiện sự giải phóng chylomicron sau hấp thu bị mất điều hòa và tích tụ lipit trong các tế bào ruột (6). Kiểu hình có lợi về mặt chuyển hóa quan sát được ở các chuột này được cho là điều khiển bởi sự mất biểu hiện DGAT1 trong ruột (7). Quan trọng là, dù thiếu sự lactat hóa ở các chuột nhắt Dgat1-/- cái, nhưng các chuột này vẫn giữ được khả năng tổng hợp TAG cho thấy sự tồn tại của các enzym DGAT bổ sung. Quan sát này và việc tách DGAT thứ hai từ nấm *Mortierella rammaniana* dẫn đến việc nhận dạng và xác định đặc tính DGAT2 (8).

DGAT2 được biểu hiện ở mức cao trong gan và mô mỡ, và không như DGAT1, DGAT2 thể hiện độ đặc hiệu cơ chất rất cao đối với DAG (8). Việc khuyết gen DGAT2 ở động vật gặm nhấm dẫn đến sự sinh trưởng không hoàn chỉnh trong tử cung, chứng mỡ máu cao nghiêm trọng, chức năng hàng rào của da suy giảm, và tử vong sớm sau sinh (9). Vì khả năng gây chết do mất DGAT2 gây ra, nhiều hiểu biết của các tác giả sáng chế về vai trò sinh lý của DGAT2 có được từ các nghiên cứu được thực hiện với các oligonucleotit đối nghĩa (antisense oligonucleotides - ASO) ở mô hình động vật gặm nhấm mắc bệnh chuyển hóa. Trong mô hình này, sự ức chế DGAT2 gan dẫn đến cải thiện profin lipoprotein huyết tương (tăng cholesterol tổng số và TAG) và giảm tải lượng lipit ở gan mà kèm theo là cải thiện độ nhạy của insulin và kiểm soát glucoza toàn cơ thể (10-12). Mặc dù cơ chế phân tử của các quan sát này chưa được giải thích đầy đủ, rõ ràng là việc kìm hãm DGAT2 dẫn đến điều hòa giảm mức biểu hiện nhiều gen mã hóa các

protein có liên quan đến việc tạo thành chất béo, bao gồm các liên kết yếu tố điều hòa sterol 1c (sterol regulatory element-binding proteins 1c - SREBP1c) và stearoyl CoA-desaturaza 1 (SCD1) (11, 12). Tương tự, các con đường oxy hóa được cảm ứng như được chứng minh bởi mức biểu hiện các gen như carnitin palmitoyl transfersaza 1 (CPT1) tăng (11). Kết quả cuối cùng của các thay đổi này là giảm mức DAG và lipit TAG trong gan mà, lần lượt dẫn đến cải thiện khả năng đáp ứng của insulin ở gan. Hơn nữa, sự ức chế DGAT2 kìm hãm sự tiết VLDL TAG ở gan và giảm mức cholesterol tuần hoàn. Cuối cùng, mức apolipoprotein B (APOB) trong huyết tương bị giảm, có thể do giảm cung cấp TAG để lipit hóa protein APOB mới được tổng hợp (10, 12). Các tác dụng có lợi của việc ức chế DGAT2 trên cả việc kiểm soát đường huyết và profin cholesterol huyết tương cho thấy rằng đích này có thể có giá trị trong việc điều trị bệnh chuyển hóa (11). Ngoài ra, quan sát rằng sự kìm hãm hoạt tính DGAT2 dẫn đến giảm tích tụ lipit ở gan cho thấy rằng các chất ức chế enzym này có thể có ứng dụng trong điều trị bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis - NASH), bệnh gan có tỷ lệ mắc phải cao đặc trưng bởi sự lắng đọng chất béo dư thừa trong gan.

Trong các năm gần đây, một vài chất ức chế phân tử nhỏ của DGAT2 đã được báo cáo trong tài liệu (13-19) và các công bố đơn patent quốc tế số (WO2013150416, WO2013137628, US20150259323, WO2015077299, WO2016036633, WO2016036638, WO2016036636).

1. Coleman, R. A., and D. G. Mashek. 2011. *Chem Rev* **111**: 6359-6386.

2. Erion, D. M., and G. I. Shulman. 2010. *Nat Med* **16**: 400-402.

3. Choi, S. H., and H. N. Ginsberg. 2011. *Trends Endocrinol Metab* **22**: 353-363.

4. St-Pierre, A. C.*et.al.* 2005. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **25**: 553-559.

5. Smith, S. J. *et. al.*. 2000. *Nat Genet* **25**: 87-90.

6. Buhman, K. K. *et.al.* 2002. *J Biol Chem* **277**: 25474-25479.

7. Lee, B., A. M. *et.al.* 2010. *J Lipid Res* **51**: 1770-1780.

8. Yen, C. L. *et.al.* 2008. *J Lipid Res* **49**: 2283-2301.

9. Stone, S. J. *et.al.* 2004. *J Biol Chem* **279**: 11767-11776.

10. Liu, Y. *et.al.* 2008. *Biochim Biophys Acta* **1781**: 97-104.

11. Choi, C. S. *et.al.* 2007. *J Biol Chem* **282**: 22678-22688.

12. Yu, X. X.*et.al.* 2005. *Hepatology* **42**: 362-371.

13. Qi, J. *et.al. J. Lipid. Res.* **2012,** *53* (6), 1106-16.

14. Wurie, H. R. *et.al. FEBS. J.* **2012,** *279* (17), 3033-47;

15. Kim, M. O. *et.al. Biol. Pharm. Bull.* **2013,** *36* (7), 1167-73

16. Lee, K. *et.al. Org. Biomol. Chem.* **2013,** *11* (5), 849-58

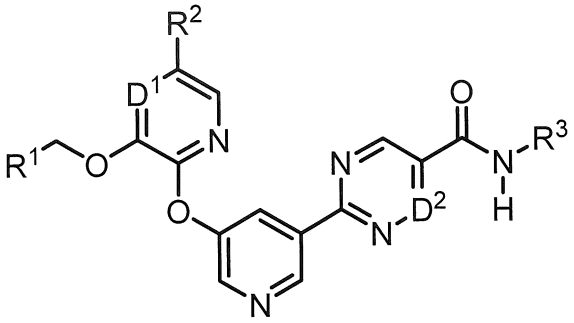
17. Kim, M. O. *et.al. Biol. Pharm. Bull.* **2014,** *37* (10), 1655-1660.

18. Futatsugi, K. *et.al. J Med Chem* **2015,** *58* (18), 7173-85.

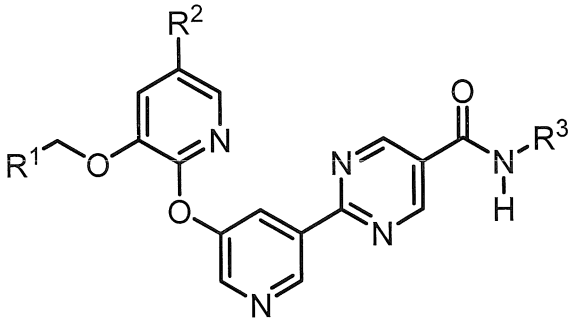
19. Imbriglio, J. E. *et.al. J. Med. Chem.* **2015,** *58* (23), 9345-9353.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế định hướng đến các hợp chất có công thức (I) và (Ia):



(I)



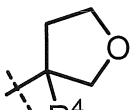
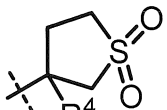
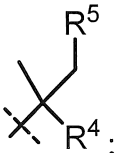
(Ia)

trong đó:

mỗi D^1 và D^2 độc lập là N hoặc CH;

R^1 là H, hoặc (C_1-C_2)alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ flo và (C_3-C_6)xycloalkyl;

R^2 là H hoặc flo;

R^3 là  ,  , hoặc  ;

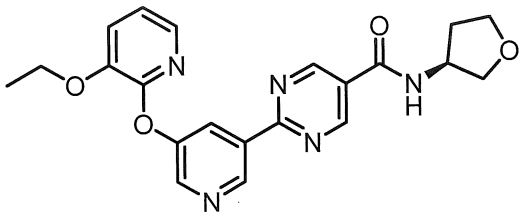
R^4 là H, xyano, hoặc (C_1-C_4)alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ –OH và $-S(O)_2R^6$;

R^5 là H hoặc -OH; và

R^6 là (C_1-C_4)alkyl;

hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng định hướng đến tinh thể chứa hợp chất có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

Sáng chế cũng được định hướng đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối dược dụng của hợp chất này, có mặt với lượng hữu hiệu điều trị, kết hợp với ít nhất một tá dược dược dụng.

Hơn nữa, sáng chế được định hướng đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối dược dụng của hợp chất này, có mặt với lượng hữu hiệu điều trị, kết hợp với ít nhất một tá dược dược dụng và chứa thêm ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất chống viêm, chất chống đái tháo đường, và chất điều chỉnh lượng cholesterol/lipit.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh tăng lipit huyết, bệnh đái tháo đường Typ I, bệnh đái tháo đường TypII, bệnh đái tháo đường Typ I không rõ nguyên nhân (Typ Ib), bệnh đái tháo đường do tự miễn tiềm tàng ở người lớn (latent autoimmune diabetes in adults - LADA), bệnh đái tháo đường typ 2 khởi phát sớm (early-onset Type 2 diabetes - EOD), bệnh đái tháo đường không điển hình khởi phát ở tuổi thanh niên (youth-onset atypical diabetes - YOAD), bệnh đái tháo đường khởi phát ở tuổi trưởng thành của người trẻ tuổi (maturity onset diabetes of the young - MODY), bệnh đái tháo đường liên quan đến thiếu dinh dưỡng, bệnh đái tháo đường thai kỳ, bệnh tim mạch vành, bệnh đột quỵ do thiếu máu cục bộ, tái phát hẹp sau tạo hình mạch, bệnh mạch ngoại vi, chứng đau cách hồi, nhồi máu cơ tim, rối loạn mỡ máu, chứng mỡ máu cao sau ăn, các tình trạng suy giảm dung nạp glucoza (impaired glucose tolerance - IGT), các tình trạng suy giảm glucoza huyết tương khi đói, nhiễm toan chuyển hóa, bệnh đa xeton, viêm khớp, bệnh béo phì loãng xương, cao huyết áp, suy tim sung huyết, phì đại tâm thất trái, bệnh động mạch ngoại vi, bệnh võng mạc do tiểu đường, thoái hóa hoàng điểm, đục thủy tinh thể, bệnh thận tiểu đường, xơ cứng tiểu cầu thận, suy thận mạn tính, thần kinh do tiểu đường, hội chứng chuyển hóa, hội chứng X, hội chứng tiền mãn kinh, cơn đau thắt ngực, huyết khối, xơ vữa động mạch, cơn thiếu máu cục bộ thoáng qua, đột quỵ, tái phát hẹp mạch, tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng triglixerit huyết, kháng insulin, suy giảm chuyển hóa glucoza, rối loạn cương dương, các rối loạn ở da và mô liên kết, loét bàn chân và viêm loét đại tràng, rối loạn chức năng nội mạc mạch và suy giảm dung suất mạch, tăng apo B lipoprotein huyết, bệnh Alzheimer, tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức, bệnh viêm ruột, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, và hội chứng ruột bị kích thích, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis - NASH), bệnh tích mỡ ở gan không do rượu (non-alcoholic gan nhiễm mỡ disease - NAFLD) ở người.

Phương pháp này làm giảm chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa, khả năng tổng hợp protein gan, tăng bilirubin huyết, hoặc bệnh não.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị hoặc làm giảm ít nhất một điểm nghiêm trọng của hệ thống tính điểm phân cấp độ bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu hoặc viêm gan nhiễm mỡ không do rượu, giảm mức của các dấu chuẩn trong huyết thanh của hoạt tính viêm gan nhiễm mỡ không do rượu, giảm hoạt tính của bệnh viêm gan nhiễm mỡ

không do rượu hoặc giảm các hậu quả y tế của viêm gan nhiễm mỡ không do rượu ở người bao gồm bước dùng cho người có nhu cầu giảm bệnh đái tháo đường bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối dược dụng của hợp chất này hoặc muối dược dụng của hợp chất này cho bệnh nhân có nhu cầu.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh gan nhiễm mỡ, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu với xơ gan, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu với chai gan, hoặc viêm gan nhiễm mỡ không do rượu với chai gan và bệnh liên quan đến chuyển hóa hoặc chuyển hóa carcinom tế bào gan, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn ở người bao gồm bước dùng cho người có nhu cầu điều trị bao gồm bước dùng cho bệnh nhân lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối dược dụng của hợp chất này hoặc muối dược dụng của hợp chất này.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh gan nhiễm mỡ, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu với xơ gan, viêm gan nhiễm mỡ với chai gan, hoặc viêm gan nhiễm mỡ không do rượu với chai gan và bệnh liên quan đến chuyển hóa hoặc chuyển hóa carcinom tế bào gan, tình trạng bệnh lý hoặc rối loạn ở người bao gồm bước dùng cho người có nhu cầu điều trị bao gồm bước dùng cho bệnh nhân có nhu cầu điều trị lượng hữu hiệu điều trị của hai dược phẩm riêng rẽ bao gồm

(i) dược phẩm thứ nhất chứa hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối dược dụng của hợp chất này, có mặt với lượng hữu hiệu điều trị, kết hợp với ít nhất một tá dược dược dụng; và

(ii) dược phẩm thứ hai chứa ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất chống viêm, chất chống đái tháo đường, và chất điều biến cholesterol/lipit và chất chống đái tháo đường, và ít nhất một tá dược dược dụng.

Cần hiểu rằng cả phần mô tả chung trên đây và phần mô tả chi tiết sau đây chỉ nhằm mục đích làm ví dụ và giải thích chứ không giới hạn sáng chế, như được yêu cầu bảo hộ.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 là mô hình nhiễu xạ bột tia x đặc trưng thể hiện dạng tinh thể 1 của ví dụ 1 (trục tung: Cường độ (CPS); trục hoành: Hai theta (độ)).

Fig. 2 là mô hình nhiễu xạ bột tia x đặc trưng thể hiện dạng tinh thể 2 của ví dụ 1 (trục tung: Cường độ (CPS); trục hoành: Hai theta (độ)).

Fig. 3 và 4: Tóm tắt hiệu quả của việc dùng qua đường miệng hợp chất trong ví dụ 1 đối với mức triglyxerit trong huyết tương và trong gan tương ứng ở chuột Sprague Dawley được ăn chế độ ăn kiểu phương tây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế có thể được hiểu dễ dàng hơn bằng cách tham khảo phần mô tả chi tiết sau đây về các phương án làm ví dụ của sáng chế và các ví dụ trong đó.

Cần hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn ở các phương pháp tổng hợp cụ thể mà tất nhiên có thể thay đổi. Cũng cần hiểu rằng, thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể và không dự định để hạn chế. Trong bản mô tả và các yêu cầu bảo hộ tiếp sau có viện dẫn đến một số thuật ngữ mà được xác định là có nghĩa như sau:

Như được sử dụng trong bản mô tả, các mạo từ số ít có thể có nghĩa là một hoặc nhiều. Như được sử dụng trong (các) yêu cầu bảo hộ, khi được dùng kết hợp với từ "chứa", các mạo từ số ít có thể có nghĩa là một hoặc nhiều hơn một. Như được sử dụng ở đây "một đối tượng khác" có thể có nghĩa là ít nhất một đối tượng thứ hai hoặc nhiều hơn.

Thuật ngữ “khoảng” là thuật ngữ tương đối chỉ số xấp xỉ cộng hoặc trừ 10% giá trị danh nghĩa mà nó đề cập đến, theo một phương án, cộng hoặc trừ 5%, theo một phương án khác, cộng hoặc trừ 2%. Trong lĩnh vực của bản mô tả, mức xấp xỉ này là thích hợp trừ khi giá trị được thể hiện cụ thể để đòi hỏi khoảng chặt hơn.

“Hợp chất” khi được sử dụng ở đây bao gồm dẫn xuất hoặc biến thể dược dụng bất kỳ, bao gồm các chất đồng phân cấu dạng (ví dụ, chất đồng phân cis và trans) và tất cả các chất đồng phân quang học (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh và chất đồng phân

không đối quang), các hỗn hợp raxemic, hỗn hợp chất đồng phân không đối quang và các hỗn hợp khác của các chất đồng phân như vậy, cũng như các solvat, hydrat, dạng đồng hình, dạng đa hình, chất đồng phân hỗ biến, este, dạng muối, và tiền dược chất. Thuật ngữ "tiền dược chất" chỉ các hợp chất là tiền chất thuốc mà sau khi sử dụng, giải phóng thuốc *in vivo* thông qua một số quy trình hóa học hoặc sinh lý (ví dụ, tiền dược chất khi được đưa đến độ pH sinh lý hoặc qua hoạt động của enzym được chuyển hóa thành dạng thuốc mong muốn). Các tiền dược chất khi phân cắt giải phóng axit tự do tương ứng, và các gốc tạo este có khả năng thủy phân như vậy của các hợp chất theo sáng chế bao gồm nhưng không bị giới hạn ở các hợp chất có gốc carboxyl trong đó hydro tự do được thay thế bằng (C_1-C_4)alkyl, (C_2-C_7)alkanoyloxymetyl, 1-(alkanoyloxy)etyl có từ 4 đến 9 nguyên tử cacbon, 1-metyl-1-(alkanoyloxy)-etyl có từ 5 đến 10 nguyên tử cacbon, alkoxycarbonyloxymetyl có từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon, 1-(alkoxycarbonyloxy)etyl có từ 4 đến 7 nguyên tử cacbon, 1-metyl-1-(alkoxycarbonyloxy)etyl có từ 5 đến 8 nguyên tử cacbon, N-(alkoxycarbonyl)aminometyl có từ 3 đến 9 nguyên tử cacbon, 1-(N-(alkoxycarbonyl)amino)etyl có từ 4 đến 10 nguyên tử cacbon, 3-phtalidyl, 4-crotonolactonyl, gamma-butyrolacton-4-yl, di-N,N-(C_1-C_2)alkylamino(C_2-C_3)alkyl (như β-dimetylaminoetyl), carbamoyl-(C_1-C_2)alkyl, N,N-di(C_1-C_2)alkylcarbamoyl-(C_1-C_2)alkyl và piperidino-, pyrolidino- hoặc morpholino(C_2-C_3)alkyl.

Như được sử dụng ở đây, đầu mũi tên, " / " hoặc đường lượn sóng " ≈ " chỉ điểm gắn kết của phần tử thế với nhóm khác.

Thuật ngữ "alkyl" nghĩa là hydrocacbon no mạch thẳng hoặc hydrocacbon no mạch nhánh. Ví dụ về các nhóm alkyl như vậy (giả thiết là chiều dài được chỉ định bao gồm ví dụ cụ thể) là metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, sec-butyl, tertiary butyl, isobutyl, pentyl, isopentyl, neopentyl, tertiary pentyl, 1-metylbutyl, 2-metylbutyl, 3-metylbutyl, hexyl, isohexyl, heptyl và octyl.

Thuật ngữ "aryl" nghĩa là hệ vòng cacbon thơm chứa một, hai hoặc ba vòng trong đó các vòng này có thể được ngưng tụ. Nếu các vòng được ngưng tụ, một trong số các vòng phải hoàn toàn không no và (các) vòng ngưng tụ có thể no hoàn toàn, không no một

phần hoặc không no hoàn toàn. Thuật ngữ "được ngưng tụ" nghĩa là vòng thứ hai có mặt (tức là gắn vào hoặc được tạo ra) nhờ có chung (tức là có cùng) hai nguyên tử liền kề với vòng thứ nhất. Thuật ngữ "được ngưng tụ" tương đương với thuật ngữ "ngưng tụ". Thuật ngữ "aryl" bao gồm các gốc thơm như phenyl, naphtyl, tetrahydronaphtyl, indanyl, biphenyl, benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-onyl, 2,3-dihydro-1H indenyl, và 1,2,3,4-tetrahydronaphtalenyl.

"Xycloalkyl" chỉ vòng không thơm được hydro hóa hoàn toàn có một, hai hoặc ba vòng trong đó các vòng này có thể được ngưng tụ, trong đó ngưng tụ được xác định như trên. Xycloalkyl cũng bao gồm các cấu trúc hai vòng mà có thể có cầu hoặc vòng xoắn về bản chất với mỗi vòng riêng rẽ trong hai vòng này có 3-8 nguyên tử. Ví dụ về các vòng cacbon bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, và xyclohexyl.

Thuật ngữ "heteroaryl" nghĩa là hệ vòng cacbon thơm chứa một, hai, ba hoặc bốn nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ oxy, nitơ và lưu huỳnh và có một, hai hoặc ba vòng trong đó các vòng như vậy có thể được ngưng tụ, trong đó ngưng tụ được định nghĩa trên đây. Thuật ngữ "heteroaryl" bao gồm nhưng không bị giới hạn ở furyl, thienyl, oxazolyl, thiazolyl, imidazolyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, isoxazolyl, isothiazolyl, oxadiazolyl, thiadiazolyl, pyridinyl, pyridiazinyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, pyridin-2(1*H*)-onyl, pyridazin-2(1*H*)-onyl, pyrimidin-2(1*H*)-onyl, pyrazin-2(1*H*)-onyl, imidazo[1,2-a]pyridinyl, pyrazolo[1,5-*a*]pyridinyl, 5,6,7,8-tetrahydroisoquinolinyl, 5,6,7,8-tetrahydroquinolinyl, 6,7-dihydro-5*H*-xyclopenta[*b*]pyridinyl, 6,7-dihydro-5*H*-xyclopenta[*c*]pyridinyl, 1,4,5,6-tetrahydroxyclopenta[*c*]pyrazolyl, 2,4,5,6-tetrahydroxyclopenta[c]pyrazolyl, 5,6-dihydro-4*H*-pyrolo[1,2-*b*]pyrazolyl, 6,7-dihydro-5*H*-pyrolo[1,2-*b*][1,2,4]triazolyl, 5,6,7,8-tetrahydro-[1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyridinyl, 4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[1,5-a]pyridinyl, 4,5,6,7-tetrahydro-1*H*-indazolyl và 4,5,6,7-tetrahydro-2*H*-indazolyl.

Cần hiểu rằng nếu gốc vòng cacbon hoặc dị vòng có thể được liên kết hoặc được gắn vào chất chỉ định bằng cách thay đổi các nguyên tử trong vòng mà không chỉ rõ điểm gắn kết cụ thể, thì tất cả các điểm có thể có được dự định, qua nguyên tử cacbon hoặc, chẳng hạn, qua nguyên tử nitơ hóa trị ba. Ví dụ, thuật ngữ "pyridyl" nghĩa là 2-, 3- hoặc 4-pyridyl, thuật ngữ "thienyl" nghĩa là 2- hoặc 3-thienyl, và dạng tương tự.

"Bệnh nhân" được dùng để chỉ động vật máu nóng như, ví dụ, chuột lang, chuột nhắt, chuột cống, chuột nhảy, mèo, thỏ, chó, gia súc, dê, cừu, ngựa, khỉ, tinh tinh, và người.

Thuật ngữ "dược dụng" nghĩa là chất hoặc chế phẩm phải tương thích về mặt hóa học và/hoặc độc tố học, với các thành phần khác bao gồm dạng bào chế, và/hoặc động vật có vú được điều trị bằng chế phẩm này.

Như được sử dụng ở đây, "dung môi không phản ứng" và "dung môi trơ" chỉ dung môi hoặc hỗn hợp của nó mà không tương tác với các nguyên liệu ban đầu, chất phản ứng, hợp chất trung gian hoặc sản phẩm theo cách ảnh hưởng bất lợi đến hiệu suất của sản phẩm mong muốn.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "độ chọn lọc" hoặc "chọn lọc" chỉ tác dụng lớn hơn của hợp chất trong thử nghiệm thứ nhất, so với tác dụng của cùng hợp chất đó trong thử nghiệm thứ hai. Ví dụ, với các hợp chất "chọn lọc ruột", thử nghiệm thứ nhất là về thời gian bán hủy của hợp chất trong ruột và thử nghiệm thứ hai là về thời gian bán hủy của hợp chất trong gan.

"Lượng hữu hiệu điều trị" nghĩa là lượng hợp chất theo sáng chế mà (i) điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn cụ thể, (ii) làm giảm, làm thuyên giảm, hoặc loại trừ một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn cụ thể, hoặc (iii) ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh, tình trạng, hoặc rối loạn cụ thể được mô tả ở đây.

Thuật ngữ "việc điều trị", "điều trị" hoặc "phép điều trị" như được sử dụng ở đây bao gồm cả phòng ngừa, tức là, điều trị dự phòng, và điều trị làm dịu, tức là, giảm đau, làm nhẹ, hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh (hoặc tình trạng bệnh lý của bệnh nhân hoặc thương tổn mô bất kỳ có liên quan đến bệnh.

Các hợp chất theo sáng chế có thể chứa các tâm không đối xứng hoặc bất đối, và, do đó, tồn tại ở các dạng lập thể khác nhau. Trừ khi được chỉ định khác, dự định rằng tất cả các dạng lập thể của các hợp chất theo sáng chế cũng như hỗn hợp của chúng, bao gồm hỗn hợp raxemic, là một phần của sáng chế. Ngoài ra, sáng chế bao gồm tất cả các chất đồng phân hình học và vị trí. Ví dụ, nếu hợp chất theo sáng chế kết hợp liên kết đôi

hoặc vòng ngưng tụ, cả dạng *cis-* và *trans-,* cũng như hỗn hợp của chúng thuộc phạm vi của sáng chế.

Các hợp chất bất đối theo sáng chế (và tiến chất bất đối của chúng) có thể thu được ở dạng giàu chất đồng phân đối ảnh bằng cách sử dụng phương pháp sắc ký, thường là sắc ký lỏng cao áp (high pressure liquid chromatography - HPLC) hoặc sắc ký lỏng siêu tới hạn (supercritical fluid chromatography - SFC), trên nhựa với pha tĩnh không đối xứng và pha động chứa hydrocacbon, thường là heptan hoặc hexan, chứa từ 0 đến 50% isopropanol, thường là từ 2 đến 20%, và từ 0 đến 5% alkylamin, thường là 0,1% dietylamin (DEA) hoặc isopropylamin. Nồng độ chất giải hấp tạo ra hỗn hợp chất lượng cao.

Hỗn hợp đồng phân không đối quang có thể được tách thành từng chất đồng phân không đối quang riêng biệt trên cơ sở về sự khác biệt hóa lý của chúng bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết, chẳng hạn, bằng phương pháp sắc ký và/hoặc kết tinh phân đoạn. Các chất đồng phân đối ảnh có thể được tách bằng cách chuyển hỗn hợp đồng phân đối ảnh thành hỗn hợp đồng phân không đối quang bằng phản ứng với hợp chất hoạt động quang học thích hợp (ví dụ, chất phụ trợ bất đối như rượu bất đối hoặc clorua axit Mosher), tách các chất đồng phân không đối quang và chuyển hóa (ví dụ, thủy phân) các chất đồng phân không đối quang riêng rẽ thành chất đồng phân đối ảnh tinh khiết tương ứng. Các chất đồng phân đối ảnh cũng có thể được tách bằng cách sử dụng cột HPLC bất đối. Theo cách khác, các chất đồng phân lập thể cụ thể có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu hoạt động quang học, bằng cách tổng hợp không đối xứng bằng các chất phản ứng, cơ chất, chất xúc tác hoặc dung môi hoạt động quang học, hoặc bằng cách chuyển hóa một chất đồng phân lập thể thành chất đồng phân lập thể khác bằng phép biến đổi không đối xứng.

Nếu các hợp chất theo sáng chế có hai hoặc nhiều tâm lập thể và hóa học lập thể tuyệt đối hoặc tương đối được đưa ra theo tên gọi, cách gọi tên R và S lần lượt chỉ từng tâm lập thể theo trật tự số tăng dần (1, 2, 3, v.v.) theo cách đánh số IUPAC truyền thống đối với từng phân tử. Nếu các hợp chất theo sáng chế có một hoặc nhiều tâm lập thể và hóa học lập thể không được đưa ra theo tên gọi hoặc cấu trúc, cần hiểu rằng tên gọi hoặc

cấu trúc được dự định là bao gồm tất cả các dạng của hợp chất, bao gồm cả dạng raxemic.

Các hợp chất theo sáng chế có thể chứa các liên kết đôi như olefin. Khi có các liên kết như vậy, các hợp chất theo sáng chế tồn tạo dưới dạng cấu hình cis và trans và hỗn hợp của chúng. Thuật ngữ "cis" chỉ hướng của hai phần tử thế so với nhau và với mặt phẳng chứa vòng (cùng "hướng lên" hoặc cùng "hướng xuống"). Tương tự, thuật ngữ "trans" chỉ hướng của hai phần tử thế so với nhau và với mặt phẳng chứa vòng (các phần tử thế ở các phía đối diện của vòng).

Các hợp chất trung gian và các hợp chất theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở các dạng đồng phân hỗ biến khác nhau, và tất cả các dạng như vậy thuộc phạm vi của sáng chế. Thuật ngữ "chất đồng phân hỗ biến" hoặc "dạng đồng phân hỗ biến" chỉ các chất đồng phân cấu trúc có năng lượng khác nhau mà có thể chuyển hóa được thông qua hàng rào năng lượng thấp. Ví dụ, các chất đồng phân hỗ biến proton (còn gọi là chất đồng phân hỗ biến di biến proton) bao gồm các chuyển hóa qua lại thông qua sự di chuyển của proton, như các phép đồng phân hóa keto-enol và imin-enamin.

Chất đồng phân hỗ biến hóa trị bao gồm các chuyển hóa qua lại bằng cách tổ chức lại một số electron liên kết.

Phạm vi của các hợp chất được yêu cầu bảo hộ theo sáng chế cũng bao hàm tất cả các chất đồng phân lập thể, các chất đồng phân hình học và các dạng đồng phân hỗ biến của các hợp chất có công thức (I), gồm cả các hợp chất có nhiều hơn một loại đồng phân, và các hỗn hợp của một hoặc nhiều trong số chúng. Phạm vi của sáng chế cũng bao gồm các muối cộng bazơ hoặc cộng axit, trong đó ion trái dấu có hoạt tính quang học, ví dụ, D-lactat hoặc L-lysin, hoặc raxemic, ví dụ, DL-tartrat hoặc DL-arginin.

Sáng chế bao gồm tất cả các hợp chất có công thức (I) được đánh dấu bằng đồng vị dược dụng trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng các nguyên tử có cùng số nguyên tử, nhưng khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường có trong tự nhiên.

Ví dụ về các đồng vị thích hợp để đưa vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, như ^{2}H và ^{3}H, cacbon, như ^{11}C, ^{13}C và ^{14}C, clo, như ^{36}Cl, flo, như

^{18}F, iot, như ^{123}I, ^{124}I và ^{125}I, nitơ, như ^{13}N và ^{15}N, oxy, như ^{15}O, ^{17}O và ^{18}O, phospho, như ^{32}P, và lưu huỳnh, như ^{35}S.

Một số hợp chất có công thức (I) được đánh dấu bằng đồng vị nhất định, ví dụ, các hợp chất kết hợp đồng vị có hoạt tính phóng xạ, là hữu dụng trong các nghiên cứu về phân phối thuốc và/hoặc mô cơ chất. Các chất đồng vị phóng xạ triti, *tức là* ^{3}H, và cacbon-14, tức là ^{14}C, đặc biệt hữu dụng cho mục đích này xét theo quan điểm về sự kết hợp dễ dàng và phương tiện phát hiện dễ dàng.

Việc thế bằng các chất đồng vị nặng hơn như đoteri, tức là ^{2}H, có thể tạo ra một số ích lợi về mặt chữa bệnh do độ bền chuyển hóa cao, ví dụ, thời gian bán hủy in vivo cao hoặc yêu cầu về liều lượng thấp, và do đó có thể được ưu tiên trong một số trường hợp.

Việc thay thế bằng các chất đồng vị phát ra positron, như ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O và ^{13}N, có thể hữu ích trong các nghiên cứu chụp cắt lớp phát positron (PET - positron emission tomography) để kiểm tra sự chiếm chỗ của thụ thể cơ chất.

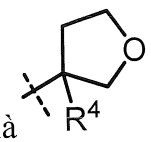
Các hợp chất có công thức (I) đánh dấu đồng vị thường có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự như các quy trình được mô tả trong phần điều chế và phần ví dụ kèm theo bằng cách sử dụng chất phản ứng đánh dấu đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không đánh dấu được sử dụng trước đây.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được tách và sử dụng như vậy, hoặc nếu có thể, ở dạng muối dược dụng của chúng. Thuật ngữ "muối" chỉ muối vô cơ và hữu cơ của hợp chất theo sáng chế. Các muối này có thể được điều chế *tại chỗ* trong bước tách và tinh chế cuối cùng của hợp chất, hoặc bằng cách xử lý riêng hợp chất bằng axit hoặc bazơ hữu cơ hoặc vô cơ thích hợp và tách muối được tạo ra bằng cách này. Các axit được dùng để điều chế muối cộng axit dược dụng của các hợp chất bazơ nêu trên của sáng chế là các axit tạo muối cộng axit không độc, (tức là, muối chứa các anion chấp nhận được về mặt dược lý, như hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, nitrat, sulfat, bisulfat, phosphat, phosphat axit, axetat, lactat, xitrat, xitrat axit, tartrat, bitartrat, suxinat, maleat, fumarat, gluconat, sacarat, benzoat, metansulfonat, etansulfonat, benzensulfonat, naphtylat, mesylat, glucoheptonat, lactobionat, laurylsulphonat, hexaflophosphat, benzen sulfonat,

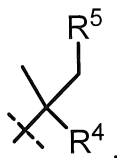
tosylat, format, trifloaxetat, oxalat, besylat, palmitiat, pamoat, malonat, stearat, laurat, malat, borat, p-toluensulfonat và pamoat (tức là, muối 1,1'metylenbis(2-hydroxy-3 naphtoat)).

Sáng chế cũng đề cập đến muối cộng bazơ của các hợp chất theo sáng chế. Các bazơ hóa học mà có thể được sử dụng làm chất phản ứng để điều chế các muối bazơ dược dụng của các hợp chất theo sáng chế mà có bản chất axit là các bazơ tạo ra muối bazơ không độc với các hợp chất như vậy. Các muối bazơ không độc như vậy bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các muối thu được từ các cation dược dụng như cation kim loại kiềm (ví dụ, lithi, kali và natri) và các cation kim loại kiềm thổ (ví dụ, canxi và magie), các muối cộng amin tan trong nước hoặc amoni như N-metylglucamin-(meglumin), tetrametylamoni, tetraetylamoni, metylamin, dimetylamin, trimetylamin, trietylamin, etylamin, và alkanolamoni thấp và các muối bazơ khác của các amin hữu cơ dược dụng. Xem, ví dụ, Berge, et al. J. Pharm. Sci. **66**, 1-19 (1977).

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở nhiều hơn một dạng tinh thể (thường gọi là "các dạng đa hình"). Các dạng đa hình có thể được điều chế bằng cách kết tinh trong các điều kiện khác nhau, ví dụ, sử dụng các dung môi khác nhau hoặc hỗn hợp các dung môi khác nhau để kết tinh lại; kết tinh ở các nhiệt độ khác nhau; và/hoặc cách làm mát khác nhau, thay đổi từ làm mát rất nhanh đến rất chậm trong quá trình kết tinh. Các dạng đa hình cũng có thể thu được bằng cách đun nóng hoặc làm tan hợp chất theo sáng chế tiếp theo là làm mát từ từ hoặc làm mát nhanh. Sự có mặt của các dạng đa hình có thể xác định được bằng phổ NMR mẫu dò rắn, phổ IR, nhiệt lượng quét vi sai, nhiễu xạ bột tia X hoặc các kỹ thuật khác như vậy.

Theo một phương án, R^3 là 

.

Theo một phương án khác, R^3 là 

.

Theo một phương án khác, R^1 là metyl.

Theo một phương án khác nữa, R^4 là H, $-CH_2OH$, hoặc xyano.

Theo một phương án khác, hợp chất là

(*S*)-2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

N-(2-xyanopropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-metyl-1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(2-metyl-1-(metylsulfonyl)propan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-(2-floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

3-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit;

N-(1,3-dihydroxy-2-metylpropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-3-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit;

N-(1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit; hoặc

(*S*)2-(5-((3-etoxypyrazin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

hoặc muối dược dụng của nó.

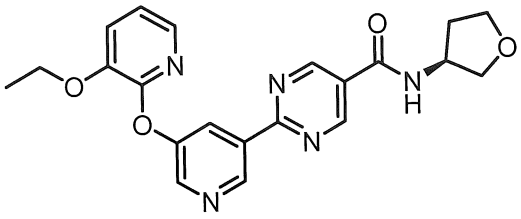
Theo một phương án khác, hợp chất là:

(R)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-N-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(S)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-N-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit; hoặc

(S)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-N-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit, hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án khác, hợp chất này có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án tiếp theo, hợp chất có công thức (I) hoặc (Ia) hoặc muối của hợp chất này có trong dược phẩm với lượng hữu hiệu điều trị, kết hợp với ít nhất một tá dược dược dụng.

Theo một phương án khác, hợp chất này còn bao gồm ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất chống viêm, chất chống đái tháo đường, và chất điều chỉnh lượng cholesterol/lipit.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của hợp chất này.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh, tình trạng hoặc rối loạn chuyển hóa hoặc có liên quan đến chuyển hóa, bao gồm bước cho bệnh nhân sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của hợp chất này.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị tình trạng bệnh lý được chọn từ nhóm bao gồm tăng lipit huyết, bệnh đái tháo đường typ I, bệnh đái tháo đường typ II, bệnh đái tháo đường typ I không rõ nguyên nhân (typ Ib), bệnh đái tháo đường do tự miễn tiềm tàng ở người lớn (latent autoimmune diabetes in adults - LADA), bệnh đái tháo đường typ 2 khởi phát sớm (early-onset Type 2 diabetes - EOD), bệnh đái tháo đường không điển hình khởi phát ở tuổi thanh niên (youth-onset atypical diabetes - YOAD), bệnh đái tháo đường khởi phát ở tuổi trưởng thành của người trẻ tuổi (maturity onset diabetes of the young - MODY), bệnh đái tháo đường liên quan đến thiếu dinh dưỡng, bệnh đái tháo đường thai kỳ, bệnh tim mạch vành, bệnh đột quỵ do thiếu máu cục bộ, tái phát hẹp sau tạo hình mạch, bệnh mạch ngoại vi, chứng đau cách hồi, nhồi máu cơ tim (ví dụ, hoại tử và chết tế bào theo chương trình), rối loạn mỡ máu, chứng mỡ máu cao sau ăn, các tình trạng suy giảm dung nạp glucoza (impaired glucose tolerance - IGT), các tình trạng suy giảm glucoza huyết tương khi đói, nhiễm toan chuyển hóa, bệnh đa xeton, viêm khớp, bệnh béo phì loãng xương, cao huyết áp, suy tim sung huyết, phì đại tâm thất trái, bệnh động mạch ngoại vi, bệnh võng mạc do tiểu đường, thoái hóa hoàng điểm, đục thủy tinh thể, bệnh thận tiểu đường, xơ cứng tiểu cầu thận, suy thận mạn tính, thần kinh do tiểu đường, hội chứng chuyển hóa, hội chứng X, hội chứng tiền mãn kinh, bệnh tim mạch vành, cơn đau thắt ngực, huyết khối, xơ vữa động mạch, nhồi máu cơ tim, cơn thiếu máu cục bộ thoáng qua, đột quỵ, tái phát hẹp mạch, tăng đường huyết, tăng insulin huyết, tăng lipit huyết, tăng triglicerit huyết, kháng insulin, suy giảm chuyển hóa glucoza, các tình trạng suy giảm dung nạp glucoza, các tình trạng suy giảm glucoza huyết tương khi đói, bệnh béo phì, rối loạn cương dương, các rối loạn ở da và mô liên kết, loét bàn chân và viêm loét đại tràng, rối loạn chức năng nội mạc mạch và suy giảm dung suất mạch, tăng apo B lipoprotein huyết, bệnh Alzheimer, tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức, bệnh viêm ruột, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, và hội chứng ruột bị kích thích, viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis - NASH), bệnh tích mỡ ở gan

không do rượu (non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD), bao gồm bước cho sử dụng lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của hợp chất này.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp điều trị bệnh, tình trạng hoặc rối loạn chuyển hóa hoặc có liên quan đến chuyển hóa bao gồm bước cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng hai dược phẩm riêng rẽ bao gồm

(i) dược phẩm thứ nhất theo sáng chế; và

(ii) dược phẩm thứ hai chứa ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất chống béo phì và chất chống đái tháo đường, và ít nhất một tá dược dược dụng.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp được thực hiện khi dược phẩm thứ nhất và dược phẩm thứ hai được sử dụng đồng thời.

Phần mô tả bộc lộ phương pháp được thực hiện khi dược phẩm thứ nhất và dược phẩm thứ hai được sử dụng lần lượt và theo trật tự bất kỳ.

Theo một phương án, khi hai dược phẩm được sử dụng, dược phẩm thứ nhất và dược phẩm thứ hai được sử dụng đồng thời. Theo một phương án khác, dược phẩm thứ nhất và dược phẩm thứ hai lần lượt và theo trật tự bất kỳ.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được tổng hợp bằng phương pháp tổng hợp bao gồm các quy trình tương tự với các quy trình mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực hóa học đã biết rõ, cụ thể là dựa vào phần mô tả ở đây. Các nguyên liệu ban đầu thường có bán trên thị trường như của hãng Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) hoặc dễ dàng điều chế được bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết rõ (ví dụ, điều chế bằng phương pháp thường được mô tả trong tài liệu Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, New York (1967-1999 ed.), hoặc Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, bao gồm các tài liệu bổ sung thông qua cơ sở dữ liệu trực tuyến Beilstein)). Nhiều hợp chất được sử dụng ở đây, có liên quan đến, hoặc thu được từ các hợp chất được quan tâm nhiều về mặt khoa học và nhu cầu thương mại lớn, và theo đó nhiều hợp chất như vậy là có bán trên thị trường hoặc được báo cáo trong tài liệu hoặc dễ

dàng điều chế được từ các chất thường có sẵn khác bằng các phương pháp được báo cáo trong tài liệu.

Để minh họa, các sơ đồ phản ứng được mô tả dưới đây đưa ra các phương pháp tiềm năng để tổng hợp các hợp chất theo sáng chế cũng như hợp chất trung gian chính. Xem phần ví dụ dưới đây về mô tả chi tiết hơn về các bước của từng phản ứng riêng rẽ. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng các phương pháp tổng hợp khác có thể được sử dụng để tổng hợp các hợp chất theo sáng chế. Mặc dù các nguyên liệu ban đầu và chất phản ứng cụ thể được bàn luận dưới đây, các nguyên liệu ban đầu và chất phản ứng khác cũng có thể dễ dàng được thay thế để tạo ra nhiều dẫn xuất và/hoặc điều kiện phản ứng. Ngoài ra, nhiều hợp chất được điều chế bằng các phương pháp được mô tả dưới đây có thể được biến đổi tiếp theo phần mô tả này bằng hóa học truyền thống đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ.

Trong việc điều chế các hợp chất có công thức I, cần lưu ý rằng một số phương pháp hữu dụng để điều chế các hợp chất được mô tả ở đây có thể cần bảo vệ nhóm chức tách biệt (ví dụ, amin bậc một, amin bậc hai, carboxyl trong các tiền chất có công thức I). Nhu cầu bảo vệ thay đổi tùy thuộc vào bản chất của nhóm chức tách biệt và điều kiện của phương pháp điều chế. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này dễ dàng xác định được nhu cầu bảo vệ như vậy. Việc sử dụng các phương pháp bảo vệ/khử bảo vệ cũng đã biết trong lĩnh vực này. Về mô tả chung về các nhóm bảo vệ và việc sử dụng chúng, xem T.W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1991.

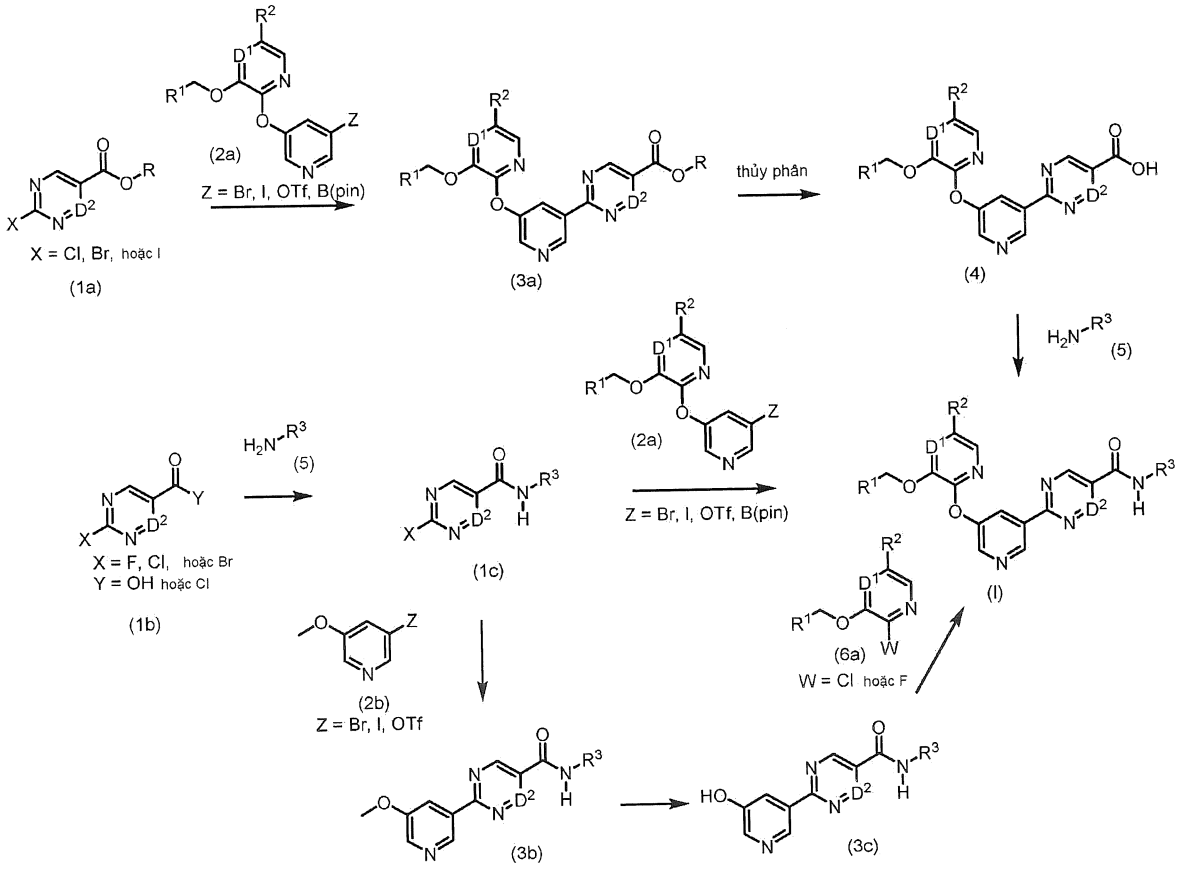
Ví dụ, các hợp chất nhất định chứa các nhóm chức amin bậc nhất hoặc chức axit carboxylic mà có thể gây cản trở cho với các phản ứng ở các vị trí khác của phân tử nếu không được bảo vệ. Theo đó các nhóm chức này có thể được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ thích hợp mà có thể được loại bỏ ở bước tiếp theo. Các nhóm bảo vệ thích hợp để bảo vệ amin và axit carboxylic bao gồm các nhóm bảo vệ thường dùng trong tổng hợp peptit (như *N*-t-butoxycarbonyl (Boc), benzyloxycarbonyl (Cbz), và 9-florenylmetylenoxycarbonyl (Fmoc) đối với amin và alkyl bậc thấp hoặc benzyl este đối với axit carboxylic) mà thường không phản ứng hóa học trong các điều kiện phản ứng

được mô tả và thường có thể được loại bỏ mà không làm thay đổi về mặt hóa học các chức khác trong các hợp chất có công thức I và Ia.

Các sơ đồ phản ứng được mô tả dưới đây được dự định để mô tả chung về phương pháp được dùng để điều chế các hợp chất theo sáng chế. Một số hợp chất theo sáng chế chứa tâm bất đối duy nhất. Trong các sơ đồ sau, các phương pháp chung để điều chế hợp chất được thể hiện ở dạng raxemic hoặc dạng giàu chất đồng phân đối ảnh. Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ thấy được rằng tất cả các phép biến đổi tổng hợp có thể được tiến hành theo cách tương tự một cách chính xác bất kể nguyên liệu là giàu chất đồng phân đối ảnh hay raxemic. Hơn nữa, có thể việc phân tách nguyên liệu có hoạt tính quang học mong muốn ở điểm mong muốn bất kỳ trong quy trình bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết như các phương pháp được mô tả ở đây và trong tài liệu hóa học.

Trong các sơ đồ phản ứng I và II, các nhóm thay đổi D^1, D^2, R^1, R^2, và R^3 như được mô tả trong phần bản chất kỹ thuật của sáng chế trừ khi được lưu ý khác. R có thể thay đổi là metyl hoặc etyl. Sơ đồ phản ứng I thể hiện quy trình chung mà có thể được sử dụng để tạo ra các hợp chất theo sáng chế có công thức (I).

Sơ đồ phản ứng I



Các hợp chất có công thức (I) có thể được tổng hợp bắt đầu từ các hợp chất trung gian thích hợp bằng phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 2990-3003; *Monatsh* Chem, 2012, 143, 1575-1592; *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 6342–6363; *Org. Proc. Res. Dev.* **2014**, *18*, 1145-1152; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9943; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8146; *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 284; *Org. Lett.* **2002**, *4*, 973; *Org. Lett.*, **2011,** 13, 1840-1843; Metal Catalyzed Cross-Coupling Reactions and More, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **2014**, *3*, 995; Applications of Transition Metal Catalysis in Drug Discovery and Development, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, **2012**, *3*, 97. Các hợp chất trung gian (1a) và (1b) có bán trên thị trường và/hoặc có thể được điều chế bằng các phương pháp mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết. Ví dụ, hợp chất trung gian (1a) và (1b) có thể được tổng hợp bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3995; *Org. Proc. Res. Dev.* **2010**, *14*, 936. Các hợp chất trung gian (2a) và (2b) có bán trên thị trường hoặc được mô tả trong tài liệu và có thể được điều chế bằng các phương pháp mà người có

hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết, bao gồm các phương pháp được mô tả dưới đây (sơ đồ phản ứng II).

Hợp chất trung gian (3a) có thể được điều chế từ các hợp chất trung gian (1a) và (2a) trong phản ứng kết hợp qua trung gian kim loại chuyển tiếp. Một trong các halogenua (1a) hoặc (2a) có thể được chuyển thành chất phản ứng kim loại hữu cơ, như axit boric, zincat, stanan, hoặc dẫn xuất Grignard bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Chất phản ứng kim loại hữu cơ tạo thành sau đó có thể được phản ứng với chất phản ứng trung gian halogenua trong phản ứng kết hợp chéo cơ kim chuyển tiếp. Tốt hơn là, hợp chất trung gian (2a) được chuyển thành zincat và được kết hợp với hợp chất trung gian (1a) bằng cách sử dụng chất xúc tác paladi hoặc niken trong dung môi trơ về mặt phản ứng như toluen, 1,2-dimetoxyetan, dioxan, DMSO, DMF, hoặc THF, với sự có mặt của phối tử thích hợp, và bazơ như natri, kali, hoặc lithi *tert*-butoxit, hoặc xesi cacbonat, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 130 °C bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 2990-3003; *Monatsh* Chem, 2012, 143, 1575-1592; *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 6342–6363; *Org. Proc. Res. Dev.* **2014**, *18*, 1145-1152 hoặc các phương pháp khác đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Hợp chất trung gian (4) có thể điều chế được từ este (3a) thông qua phản ứng thủy phân trong các điều kiện mà người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này đã biết. Tốt hơn, nếu hợp chất trung gian (3a, R = metyl hoặc etyl) được xử lý bằng dung dịch nước bazơ như natri hydroxit, lithi hydroxit, hoặc kali hydroxit, trong dung môi thích hợp hoặc hỗn hợp dung môi bao gồm nước, metanol, và/hoặc THF, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 60°C.

Các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ axit (4) và amin (5) trong điều kiện tạo thành amit đã được biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, bằng cách sử dụng chất phản ứng kết hợp như anhydrit của axit propan phosphonic (T_3P), 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), benzotriazo-1-yloxytris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat (BOP), 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl uroni hexaflophosphat metanamini (HATU), oxalyl clorua, *O*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflo phosphat (HBTU), 2-clo-1,3-dimetylimidazolini clorua (DMC),

N-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit (EDCI) hoặc 1-hydroxybenzotriazol (HOBT) trong dung môi trơ về mặt phản ứng như axetonitril, diclometan (DCM), DMF, DMSO, hoặc THF với sự có mặt của bazơ như trietylamin, *N*-metyl-morpholin, hoặc *N,N*-diisopropyletylamin ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10°C đến 90°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20°C đến 65°C.

Theo cách khác, các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng quy trình hai bước từ hợp chất trung gian (1b) và amin (5) thông qua phản ứng kết hợp amit để tạo ra hợp chất trung gian (1c), tiếp theo là phản ứng kết hợp qua trung gian kim loại với aryl halogenua (2a). Tốt hơn là, hợp chất trung gian (1c) được điều chế từ clorua axit (1b, Y = Cl) và amin (5) với sự có mặt của bazơ như trietylamin hoặc *N,N*-diisopropyletylamin, trong dung môi trơ về mặt phản ứng, như diclometan, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 30°C, tốt hơn là nằm trong khoảng từ -20°C đến 0°C. Theo cách khác, hợp chất trung gian (1c) có thể được điều chế từ axit (1b, Y = OH) và amin (5) với sự có mặt của chất phản ứng kết hợp amit, như anhydrit của axit propan phosphonic (T_3P), 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), benzotriazo-1-yloxytris(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat (BOP), 2-(1*H*-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl uroni hexaflophosphat metanamini (HATU), *O*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflo phosphat (HBTU), 2-clo-1,3-dimetylimidazolini clorua (DMC), *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit (EDCI) hoặc 1-hydroxybenzotriazol (HOBT) trong dung môi trơ về mặt phản ứng như axetonitril, diclometan, DMF, DMSO, hoặc THF với sự có mặt của bazơ như trietylamin, *N*-metyl-morpholin, hoặc *N,N*-diisopropyletylamin ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10°C đến 90°C. Các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ halogenua (1c) và (2a) trong phản ứng kết hợp qua trung gian kim loại chuyển tiếp. Một trong các halogenua (1c) hoặc (2a) có thể được chuyển thành chất phản ứng kim loại hữu cơ, như axit boric, zincat, stanan, hoặc dẫn xuất Grignard bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Chất phản ứng kim loại hữu cơ tạo thành sau đó có thể được phản ứng với chất phản ứng trung gian halogenua trong phản ứng kết hợp chéo cơ kim chuyển tiếp. Tốt hơn là, hợp chất trung gian (2a) được chuyển thành zincat và được kết hợp với hợp chất trung gian (1c) bằng cách sử dụng chất xúc tác paladi hoặc niken trong

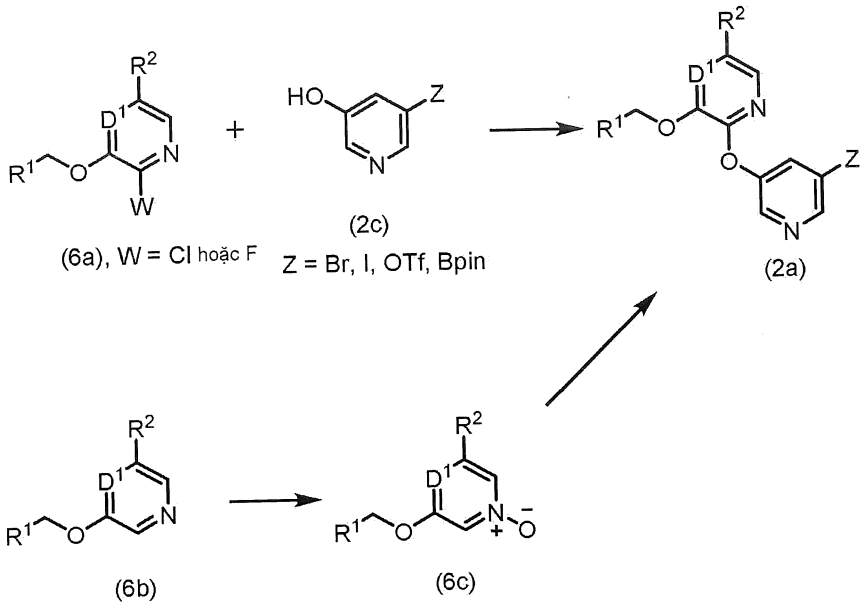
dung môi trơ về mặt phản ứng như toluen, 1,2-dimetoxyetan, dioxan, DMSO, DMF, hoặc THF, với sự có mặt của phối tử thích hợp, và bazơ như natri, kali, hoặc lithi *tert*-butoxit, hoặc xesi cacbonat, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 130 °C bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 2990-3003; *Monatsh* Chem, 2012, 143, 1575-1592; *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 6342–6363; *Org. Proc. Res. Dev.* **2014**, *18*, 1145-1152 hoặc các phương pháp khác đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Theo cách khác, các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ hợp chất trung gian (1c) bằng quy trình ba bước bao gồm bước bổ sung heteroaryl halogenua (2b) tiếp theo là bước khử metyl và bổ sung aryl halogenua (6a). Các hợp chất trung gian (3b) có thể được điều chế qua phản ứng kết hợp qua trung gian kim loại chuyển tiếp bắt đầu từ các halogenua (1c) và (2b). Một trong các halogenua (1c) hoặc (2b) có thể được chuyển hóa thành chất phản ứng kim loại hữu cơ, như axit boric, zincat, stanan, hoặc dẫn xuất Grignard bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết rõ với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Chất phản ứng kim loại hữu cơ tạo thành sau đó có thể được phản ứng với chất phản ứng trung gian halogenua trong phản ứng kết hợp chéo cơ kim chuyển tiếp. Tốt hơn là, hợp chất trung gian (2b) được chuyển thành zincat và được kết hợp với hợp chất trung gian (1c) bằng cách sử dụng chất xúc tác paladi hoặc niken trong dung môi trơ về mặt phản ứng như toluen, 1,2-dimetoxyetan, dioxan, DMSO, DMF, hoặc THF, với sự có mặt của phối tử thích hợp, và bazơ như natri, kali, hoặc lithi *tert*-butoxit, hoặc xesi cacbonat, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 130 °C bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *J. Med. Chem.*, **2007**, *50*, 2990-3003; *Monatsh* Chem, 2012, 143, 1575-1592; *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 6342–6363; *Org. Proc. Res. Dev.* **2014**, *18*, 1145-1152 hoặc các phương pháp khác đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các hợp chất trung gian (3c) có thể được điều chế từ hợp chất trung gian (3b) thông qua khử metyl hóa bằng cách sử dụng các axit hydrohalic như hydro bromua, các bazơ như natri hydroxit hoặc natri alkoxit, bo tribromua, thiol hoặc các phương pháp khác đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Ví dụ, khử metyl hóa có thể được thực hiện bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *Arch Pharm Res* **2008,** 31, 305-309; *Tetrahedron*, **2005**, 61, 7833-7863; Protecting Groups in Organic

Synthesis, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, USA, **2007**, 370-382. Các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế từ heteroaryl halogenua (6a) trong phản ứng thế ái nhân thơm bởi rượu (3c) trong dung môi trơ về mặt phản ứng như dimetylsulfoxit (DMSO), *N,N*-dimetylformamit (DMF), axetonitril, hoặc tetrahydrofuran (THF), với sự có mặt của bazơ thích hợp, như xesi cacbonat, trietylamin (TEA) hoặc *N,N*-diisopropyletylamin (DIPEA) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 160°C. Tốt hơn là, các hợp chất trung gian (6a) và (3c) được phản ứng trong DMSO, THF, hoặc axetonitril với sự có mặt của trietylamin hoặc *N,N*-diisopropyletylamin, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 160°C để tạo ra các hợp chất có công thức (I) bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *Tetrahedron* 2005, 62 6000–6005, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2015,** 58(7), 3036-3059.

Sơ đồ phản ứng II thể hiện quy trình tổng hợp các hợp chất trung gian (2a).

Sơ đồ phản ứng II



Các chất trung gian (6a), (6b), và (2c) ó bán trên thị trường hoặc được mô tả trong tài liệu và có thể điều chế được bằng các phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các hợp chất trung gian (2a) có thể được tổng hợp qua phản ứng thế ái nhân thơm của heteroaryl halogenua (6a) bởi hydroxypyridin (2c) trong dung môi trơ về mặt phản ứng như dimetylsulfoxit (DMSO), *N,N*-dimetylformamit (DMF), axetonitril, N-metyl-2-pyrolidinon (NMP), hoặc tetrahydrofuran (THF), với sự

có mặt của bazơ thích hợp, như xesi cacbonat, kali cacbonat, trietylamin (TEA) hoặc *N,N*-diisopropyletylamin (DIPEA) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 160°C. Tốt hơn là, các hợp chất trung gian (6a) và (2c) được phản ứng trong DMSO, NMP, hoặc axetonitril với sự có mặt của trietylamin hoặc *N,N*-diisopropyletylamin, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 100°C đến 160°C để tạo ra hợp chất trung gian (2a) bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả trong tài liệu như: *Tetrahedron* 2005, 62 6000–6005, *Journal of Medicinal Chemistry*, **2015,** 58(7), 3036-3059. Theo cách khác, hợp chất trung gian (2a) có thể được tổng hợp bằng cách tạo thành ete được thúc đẩy bằng kim loại chuyển tiếp giữa thành phần kết hợp hydroxy-thơm (2c) và halogenua thơm (6a) bằng cách sử dụng các phương pháp như các phương pháp được mô tả trong: *Advanced Synthesis &* Catalysis, **2011**, 353, 3403-3414; *Chemistry – A European* Journal, **2015**, 21, 8727-8732; Synlett **2012**, *23*, 101; *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 7187; *Org. Lett.* **2007**, *9*, 643; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 9943; *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8146; *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 284; *Org. Lett.* **2002**, *4*, 973. Các nguyên liệu ban đầu thích hợp (6a) và (2c) có thể được xử lý bằng muối kim loại, như đồng(I) clorua, đồng(I) bromua, hoặc đồng(I) iodua, và phối tử như 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion,1,10-phenanthrolin, hoặc phối tử thích hợp khác, trong dung môi không phản ứng như toluen, DMSO, hoặc DMF, với sự có mặt của bazơ như kali cacbonat, xesi cacbonat, hoặc kali phosphat, ở nhiệt độ từ 80 °C đến 120 °C. Tốt hơn, nếu các nguyên liệu ban đầu thích hợp (6a) and (2c) được xử lý bằng đồng(I) clorua và 2,2,6,6-tetrametylheptan-3,5-dion, trong toluen, với sự có mặt của xesi cacbonat, ở nhiệt độ từ 100 °C đến 120 °C.

Theo cách khác, hợp chất trung gian (2a) có thể được điều chế từ quy trình hai bước bao gồm việc tạo thành N-oxit (6c) tiếp theo là bước bổ sung hydroxyl pyridin (2c). N-oxit (6c) có thể được điều chế từ chất oxy hóa như axit *m*-cloperoxybenzoic, hydro peroxit, kali permanganat, hoặc các chất oxy hóa khác mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này đã biết trong dung môi trơ về mặt phản ứng như diclometan, 1,2-dicloetan, hoặc axetonitril ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 °C đến 25 °C. Tốt hơn là, hợp chất trung gian (6b) được phản ứng trong diclometan với axit *m*-cloperoxybenzoic ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 25 °C để tạo ra hợp chất trung gian (6c). Các hợp chất trung gian (2a) có thể được điều chế từ hợp chất trung gian (6c) và hợp chất trung gian

(2c) với sự có mặt của bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBroP) trong dung môi trơ về mặt phản ứng như tetrahydrofuran, diclometan, hoặc dioxan ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 25 °C. Tốt hơn là, hợp chất trung gian (6c) được phản ứng với hợp chất trung gian (2c) với sự có mặt của bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat trong tetrahydrofuran ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 °C đến 25 °C như được mô tả trong *Org. Lett.*, **2011,** 13, 1840-1843.

Các tác nhân hỗn hợp

Các hợp chất theo sáng chế được sử dụng đơn độc hoặc kết hợp với một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung. Thuật ngữ "được sử dụng kết hợp" hoặc "liệu pháp kết hợp" nghĩa là hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều chất điều trị bổ sung được sử dụng đồng thời cho động vật có vú được điều trị. Khi được sử dụng kết hợp, mỗi thành phần có thể được sử dụng ở cùng thời điểm hoặc lần lượt theo trật tự bất kỳ ở các thời điểm khác nhau. Do đó, mỗi thành phần có thể được sử dụng riêng rẽ nhưng đủ gần thời điểm với nhau sao cho tạo ra tác dụng điều trị mong muốn. Do đó, phương pháp ngăn ngừa và điều trị được mô tả trong bản mô tả bao gồm việc sử dụng các tác nhân kết hợp.

Các tác nhân kết hợp được sử dụng cho động vật có vú với lượng hữu hiệu điều trị. "Lượng hữu hiệu điều trị" nghĩa là lượng hợp chất theo sáng chế mà, khi được sử dụng đơn độc hoặc kết hợp với tác nhân điều trị bổ sung cho động vật có vú, có hiệu quả để điều trị bệnh/tình trạng bệnh lý mong muốn ví dụ, bệnh béo phì, bệnh đái tháo đường, và các tình trạng bệnh lý tim mạch như chất chống tăng huyết áp và bệnh tim mạch vành.

Ví dụ về các chất chống đái tháo đường thích hợp bao gồm (ví dụ, insulin, metfomin, chất ức chế DPPIV, chất chủ vận GLP-1, chất tương tự và chất giống tác dụng, chất ức chế SGLT1 và SGLT2). Các chất chất chống đái tháo đường thích hợp bao gồm chất ức chế axetyl-CoA carboxylaza-(ACC) như các chất được mô tả trong WO2009144554, WO2003072197, WO2009144555 và WO2008065508, chất ức chế diaxylglyxerol *O*-axyltransferaza 1 (DGAT-1), như các chất được mô tả trong WO09016462 hoặc WO2010086820, AZD7687 hoặc LCQ908, chất ức chế monoaxylglyxerol O-axyltransferaza, chất ức chế phosphodiesteraza (PDE)-10, chất hoạt hóa AMPK, sulfonylure (ví dụ, axetohexamit, clopropamit, diabinese, glibenclamit,

glipizit, glyburit, glimepirit, gliclazit, glipentit, gliquidon, glisolamit, tolazamit, và tolbutamit), meglitinit, chất ức chế α-amylaza (ví dụ, tendamistat, trestatin và AL-3688), chất ức chế α-glucosit hydrolaza (ví dụ, acarboza), chất ức chế α-glucosidaza (ví dụ, adiposin, camigliboza, emiglitat, miglitol, vogliboza, pradimixin-Q, và salbostatin), chất chủ vận PPARγ (ví dụ, balaglitazon, ciglitazon, darglitazon, englitazon, isaglitazon, pioglitazon và rosiglitazon), chất chủ vận PPAR α/γ (ví dụ, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 và SB-219994), biguanua (ví dụ, metformin), chất điều biến peptit 1 giống glucagon(GLP-1) như chất chủ vận (ví dụ, exendin-3 và exendin-4), liraglutit, albiglutit, exenatit (Byetta®), albiglutit, lixisenatit, dulaglutit, semaglutit, NN-9924, TTP-054, chất ức chế protein tyrosin phosphataza-1B (PTP-1B) (ví dụ, trodusquemine, chất chiết hyrtiosal, và các hợp chất được mô tả bởi Zhang, S., et al., Drug Discovery Today, 12(9/10), 373-381 (2007)), chất hoạt hoá SIRT-1 (ví dụ, resveratrol, GSK2245840 hoặc GSK184072), chất ức chế dipeptidyl peptideaza IV (DPP-IV) (ví dụ, các chất theo WO2005116014, sitagliptin, vildagliptin, alogliptin, dutogliptin, linagliptin và saxagliptin), chất lợi tiết insulin, chất ức chế sự oxy hóa axit béo, chất đối kháng A2, chất ức chế kinaza đầu tận cùng amino c-jun (JNK), chất hoạt hóa glucokinaza (GKa) như các chất được mô tả trong WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 hoặc GKM-001, insulin, chất có tác dụng giống insulin, chất ức chế glycogen phosphorylaza (ví dụ, GSK1362885), chất chủ vận thụ thể VPAC2, chất ức chế SGLT2, như các chất được mô tả trong E.C. Chao et al. Nature Reviews Drug Discovery 9, 551-559 (July 2010) bao gồm dapagliflozin, canagliflozin, empagliflozin, tofogliflozin (CSG452), Ertugliflozin, ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 và LX4211 cũng như các chất theo WO2010023594, chất điều biến thụ thể glucagon như các chất được mô tả trong Demong, D.E. et al. Annual Reports in Medicinal Chemistry 2008, 43, 119-137, chất điều biến GPR119, các chất chủ vận đặc biệt, như các chất được mô tả trong WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones, R.M. et al. trong Medicinal Chemistry 2009, 44, 149-170 (ví dụ, MBX-2982, GSK1292263, APD597 và PSN821), các dẫn xuất hoặc chất tương tự FGF21 như các chất được mô tả trong Kharitonenkov, A. et al., Current

Opinion in Investigational Drugs 2009, 10(4)359-364, chất điều biến thụ thể TGR5 (còn gọi là GPBAR1), các chất chủ vận đặc biệt, như các chất được mô tả trong Zhong, M., Current Topics in Medicinal Chemistry, 2010, 10(4), 386-396 và INT777, các chất chủ vận GPR40, như các chất được mô tả trong Medina, J.C., Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 75-85, bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở TAK-875, các chất điều biến GPR120, các chất chủ vận đặc biệt, chất hoạt hóa thụ thể axit nicotinic ái lực cao (HM74A), và chất ức chế SGLT1, như GSK1614235. Danh mục các chất chống đái tháo đường đại diện khác mà có thể kết hợp với các hợp chất theo sáng chế có thể xem trong, ví dụ, trang 28, dòng 35 đến trang 30, dòng 19 của WO2011005611.

Các chất chống đái tháo đường được ưu tiên là metformin và chất ức chế DPP-IV (ví dụ, sitagliptin, vildagliptin, alogliptin, dutogliptin, linagliptin và saxagliptin). Các chất chống đái tháo đường khác có thể bao gồm chất ức chế hoặc chất điều biến enzym carnitin palmitoyl transferaza, chất ức chế fructoza 1,6-diphosphataza, chất ức chế aldoza reductaza, chất ức chế thụ thể mineralocorticoid, chất ức chế TORC2, chất ức chế CCR2 và/hoặc CCR5, chất ức chế các dạng tương đồng PKC (ví dụ, PKC α, PKCβ, PKCγ),chất ức chế synthetaza của axit béo, chất ức chế serin palmitoyl transferaza, chất điều biến GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1,3, protein 4 liên kết retinol, thụ thể glucocorticoit, thụ thể somatostain (ví dụ, SSTR1, SSTR2, SSTR3 và SSTR5), chất ức chế hoặc chất điều biến PDHK2 hoặc PDHK4, chất ức chế MAP4K4, chất điều biến họ IL1 bao gồm Il1beta, chất điều biến RXRalpha. Ngoài ra, các tác nhân chống đái tháo đường thích hợp bao gồm các cơ chế do Carpino, P.A., Goodwin, B. liệt kê trong Expert Opin. Ther. Pat, 2010, 20(12), 1627-51.

Các chất chống béo phì thích hợp bao gồm chất ức chế 11β-hydroxy steroit dehydrogenaza-1 (11β-HSD typ 1), chất ức chế stearoyl-CoA desaturaza-1 (SCD-1), chất chủ vận MCR-4, chất chủ vận cholecystokinin-A (CCK-A), chất ức chế tái hấp thu monoamin (như sibutramin), chất giống giao cảm, chất chủ vận adrenergic β_3, chất chủ vận dopamin (như bromocriptin), chất tương tự hormon kich thích tế bào biểu bì tạo hắc tố, chất chủ vận 5HT2c, chất đối kháng hormon tập trung melanin, chất tương tự leptin (protein OB), chất tương tự leptin, chất chủ vận leptin, chất đối kháng galanin, chất ức chế lipaza (như tetrahydrolipstatin, tức là orlistat), chất gây chán ăn (như chất chủ vận

bombesin), chất đối kháng neuropeptit-Y (ví dụ, chất đối kháng NPY Y5), PYY3-36 (bao gồm các chất tương tự nó), chất có tác dụng tương tự tuyến giáp hoặc hormon tuyến giáp, dehydroepiandrosteron hoặc chất tương tự nó, chất chủ vận hoặc chất đối kháng glucocorticoid, chất đối kháng orexin, chất chủ vận peptit-1 giống glucagon, yếu tố dinh dưỡng tế bào thần kinh ở thể mi (như Axokine™ của hãng Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY và Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), chất ức chế protein liên quan đến agouti người (AGRP), chất đối kháng ghrelin, chất đối kháng histamin 3 hoặc chất chủ vận ngược, chất chủ vận neuromedin U, chất ức chế MTP/ApoB (ví dụ, chất ức chế MTP chọn lọc ruột, như dirlotapide), chất đối kháng opioit, chất đối kháng orexin, tổ hợp của naltrexon với buproprion và các chất tương tự.

Các chất chống béo phì được ưu tiên để sử dụng trong các khía cạnh kết hợp của sáng chế bao gồm chất ức chế MTP chọn lọc ruột (ví dụ, dirlotapide, mitratapide và implitapide, R56918 (CAS No. 403987) và CAS No. 913541-47-6), các chất chủ vận CCKa (ví dụ, *N*-benzyl-2-[4-(1H-indol-3-ylmetyl)-5-oxo-1-phenyl-4,5-dihydro-2,3,6,10b-tetraaza-benzo[e]azulen-6-yl]-*N*-isopropyl-axetamit được mô tả trong công bố đơn PCT số WO 2005/116034 hoặc công bố đơn Mỹ số 2005-0267100 A1), chất chủ vận 5HT2c (ví dụ, lorcaserin), chất chủ vận MCR4 (ví dụ, các hợp chất được mô tả trong US 6,818,658), chất ức chế lipaza (ví dụ, Cetilistat), PYY_{3-36} (như được sử dụng ở đây "PYY_{3-36}" bao gồm các chất tương tự, như PYY_{3-36} được peg hóa ví dụ ác chất được mô tả trong công bố đơn Mỹ số 2006/0178501), chất đối kháng opioit (ví dụ, naltrexon), tổ hợp của naltrexon với buproprion, oleoyl-estron (CAS số 180003-17-2), obinepitit (TM30338), pramlintit (Symlin®), tesofensin (NS2330), leptin, liraglutit, bromocriptin, orlistat, exenatit (Byetta®), AOD-9604 (CAS No. 221231-10-3), phentermin và topiramat (tên thương mại Qsymia), và sibutramin. Tốt hơn, nếu các hợp chất theo sáng chế và các liệu pháp kết hợp được sử dụng kèm theo tập luyện và chế độ ăn uống hợp lý.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với chất điều chỉnh mức cholesterol (bao gồm các chất làm giảm cholesterol) như chất ức chế lipaza, chất ức chế HMG-CoA reductaza, chất ức chế HMG-CoA synthaza, chất ức chế biểu hiện gen HMG-CoA reductaza, chất ức chế biểu hiện gen HMG-CoA synthaza, chất ức chế tiết MTP/Apo B, chất ức chế CETP, chất ức chế hấp thu axit mật, chất ức chế hấp thu

cholesterol, chất ức chế tổng hợp cholesterol, chất ức chế squalen synthetaza, chất ức chế squalen epoxidaza, chất ức chế squalen xyclaza, chất ức chế hỗn hợp squalen epoxidaza/squalen xyclaza, fibrate, niaxin, nhựa trao đổi, chất chống oxy hóa, chất ức chế ACAT hoặc chất cô lập axit mật hoặc chất như mipomersen.

Ví dụ về các chất làm giảm cholesterol/lipit thích hợp và các liệu pháp profin lipit bao gồm: Các chất ức chế HMG-CoA reductaza (ví dụ, pravastatin, lovastatin, atorvastatin, simvastatin, fluvastatin, NK-104 (a.k.a. itavastatin, hoặc nisvastatin hoặc nisbastatin) và ZD-4522 (tức là rosuvastatin, hoặc atavastatin hoặc visastatin); chất ức chế squalen synthetaza; fibrat; chất cô lập axit mật (như questran); chất ức chế ACAT; chất ức chế MTP; chất ức chế lipooxygenaza; chất ức chế hấp thu choesterol; và chất ức chế protein vận chuyển cholesteryl este. Các chất chống xơ vữa động mạch khác bao gồm chất điều biến PCSK9.

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được cùng sử dụng với các chất để điều trị bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH) và/hoặc bệnh tích mỡ ở gan không do rượu (NAFLD), như Orlistat, các TZD và các chất làm nhạy insulin khác, các chất tương tự FGF21, Metformin, etyl este của axit Omega-3, (ví dụ, Lovaza), Fibrat, chất ức chế HMG CoA-reductaza, Ezitimbe, Probucol, axit Ursodeoxycholic, chất chủ vận TGR5, chất chủ vận FXR, Vitamin E, Betain, Pentoxifyllin, chất đối kháng CB1, Carnitin, N-axetylxystein, glutathion khử, lorcaserin, tổ hợp của naltrexon với buproprion, chất ức chế SGLT2, Phentermin, Topiramat, chất tương tự Incretin (GLP và GIP) và chất phong bế thụ thể Angiotensin.

Theo một phương án khác, dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm xysteamin hoặc muối dược dụng của nó, xystamin hoặc muối dược dụng của nó, chất chống oxy hóa, lexitin, phức hợp vitamin B, chế phẩm muối mật, chất đối kháng thụ thể Cannabinoit-1 (CB1), chất chủ vận ngược của thụ thể Cannabinoit-1 (CB1), thụ thể hoạt hóa yếu tố tăng sinh peroxisom, chất điều hòa hoạt tính, hợp chất benzothiazepin hoặc benzothiepin, cấu trúc đối nghĩa ARN để ức chế protein tyrosin phosphataza PTPRU, piperidin được thế được liên kết với nguyên tử khác loại và các dẫn xuất của nó, dẫn xuất azaxyclopentan có khả năng ức chế stearoyl-coenzym alpha delta-9 desaturaza, hợp chất axylamit có hoạt tính kích thích bài tiết hoặc cảm ứng adiponectin, hợp chất amoni bậc

bốn, Glatiramer axetat, pentraxin protein, chất ức chế HMG-CoA reductaza, n-axetyl xystein, hợp chất isoflavon, chất kháng sinh vòng lớn, chất ức chế galectin, kháng thể, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

Chất điều trị bổ sung bao gồm chất chống đông hoặc chất ức chế kết tụ, chất chống tiểu cầu hoặc chất ức chế tiểu cầu, chất ức chế thrombin, chất làm tan huyết khối hoặc chất phép điều trị, liệu pháp, phép trị liệu, chất chống loạn nhịp, chất chống cao huyết áp, chất phong bế kênh canxi (typ L và typ T), các glycosit tim, chất lợi tiểu, chất đối kháng thụ thể mineralocorticoit, chất cho NO như nitrat hữu cơ, chất thúc đẩy NO như chất ức chế phosphodiesteraza, chất làm giảm cholesterol/lipit và liệu pháp profin lipit, chất chống đái tháo đường, chất chống trầm cảm, chất chống viêm (steroit và không steroit), chất chống loãng xương, liệu pháp thay thế hormon, chất tránh thai đường miệng, chất chống béo phì, chất chống lo âu, chất chống tăng sinh, chất chống khối u, chất chống loét và chất trị bệnh trào ngược dạ dày thực quản, hormon sinh trưởng và/hoặc chất lợi tiết hormon sinh trưởng, chất có tác dụng giống tuyến giáp hoặc hormon tuyến giáp (bao gồm chất đối kháng thụ thể hormon tuyến giáp), chất chống lây nhiễm, chất chống virut, chất chống vi khuẩn, và chất chống nấm.

Bao gồm cả các chất được sử dụng trong cơ sở ICU, ví dụ, dobutamin, dopamin, dpinephrin, nitroglyxerin, nitroprusside, và dạng tương tự.

Bao gồm cả các chất kết hợp hữu dụng để điều trị bệnh viêm mạch, ví dụ, azathioprin, xyclophosphamit, mycophenolat, mofetil, rituximab, và dạng tương tự.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hỗn hợp trong đó tác nhân thứ hai là ít nhất một tác nhân được chọn từ chất ức chế yếu tố Xa, chất chống đông, chất chống tiểu cầu, chất ức chế thrombin, chất làm tan huyết khối, và chất phân huỷ fibrin. Ví dụ về các chất ức chế yếu tố Xa bao gồm apixaban và rivaroxaban. Ví dụ về các chất chống đông thích hợp để dùng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế bao gồm heparin (ví dụ, các heparin không phân đoạn và phân tử lượng thấp như enoxaparin và dalteparin).

Theo một phương án được ưu tiên khác, tác nhân thứ hai là ít nhất một chất được chọn từ warfarin, dabigatran, heparin không phân đoạn, heparin có khối lượng phân tử thấp, pentasacarit tổng hợp, hirudin, argatrobanas, aspirin, ibuprofen, naproxen, sulindac,

indomethacin, mefenamate, droxicam, diclofenac, sulfinpyrazon, piroxicam, ticlopidin, clopidogrel, tirofiban, eptifibatit, abciximab, melagatran, disulfatohirudin, chất hoạt hoá plasminogen mô, chất hoạt hoá plasminogen mô cải biến, anistreplaza, urokinaza, và streptokinaza.

Tác nhân thứ hai được ưu tiên là ít nhất một chất chống tiểu cầu. Chất chống tiểu cầu được đặc biệt ưu tiên là aspirin và clopidogrel.

Thuật ngữ chất chống tiểu cầu (hoặc chất ức chế tiểu cầu), như được sử dụng ở đây, được dùng để chỉ các chất mà ức chế chức năng của tiểu cầu, ví dụ bằng cách ức chế sự kết tụ, gắn kết hoặc xuất hạt của tiểu cầu. Các tác nhân này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, nhiều thuốc chống viêm không steroit (NSAIDS) đã biết như aspirin, ibuprofen, naproxen, sulindac, indomethacin, mefenamat, droxicam, diclofenac, sulfinpyrazon, piroxicam, và muối dược dụng hoặc tiền dược chất của chúng. Các NSAIDS, aspirin (axit axetylsalixyclic hoặc ASA) và chất ức chế COX-2 như CELEBREX hoặc piroxicam được ưu tiên. Các chất ức chế tiểu cầu thích hợp khác bao gồm chất đối kháng IIb/IIIa (ví dụ, tirofiban, eptifibatit, và abciximab), chất đối kháng thụ thể thromboxan-A2 (ví dụ, ifetroban), chất ức chế thromboxan-A2-synthetaza, chất ức chế PDE-III (ví dụ, Pletal, dipyridamol), và muối dược dụng hoặc tiền dược chất của chúng.

Thuật ngữ chất chống tiểu cầu (hoặc chất ức chế tiểu cầu), như được sử dụng ở đây, cũng được dự định để bao gồm chất đối kháng thụ thể ADP (adenosin diphosphat), tốt hơn là chất đối kháng thụ thể purinergic P2Y1 và P2Y12, với P2Y12 thậm chí được ưu tiên hơn. Các chất đối kháng thụ thể P2Y12 được ưu tiên bao gồm ticagrelor, prasugrel, ticlopidin và clopidogrel, bao gồm muối dược dụng hoặc tiền dược chất của chúng. Clopidogrel là chất được ưu tiên hơn. Ticlopidin và clopidogrel cũng là các hợp chất được ưu tiên vì chúng được biết là tác dụng nhẹ nhàng trên ống dạ dày-ruột khi sử dụng.

Thuật ngữ chất ức chế thrombin (hoặc chất chống thrombin), như được sử dụng ở đây, chỉ các chất ức chế serin proteaza thrombin. Bằng cách ức chế thrombin, nhiều quy trình qua trung gian thrombin, như hoạt hóa tiểu cầu qua trung gian thrombin (tức là, ví

dụ, kết tụ tiểu cầu, và/hoặc xuất hạt chất ức chế chất hoạt hóa plasminogen-1 và/hoặc serotonin) và/hoặc tạo thành fibrin bị gián đoạn. Một số chất ức chế thrombin đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này và các chất ức chế này được dự định để sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế. Các chất ức chế như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dẫn xuất boroarginin, boropeptit, dabigatran, heparin, hirudin, argatroban, và melagatran, bao gồm muối dược dụng hoặc tiền dược chất của chúng. Dẫn xuất boroarginin và boropeptit bao gồm N-axetyl và dẫn xuất peptit của axit boronic, dẫn xuất axit alpha-aminoboronic đầu tận C của lysin, ornithin, arginin, homoarginin và các chất tương tự isothiouroni tương ứng của chúng. Thuật ngữ hirudin, như được sử dụng ở đây, bao gồm các dẫn xuất thích hợp hoặc chất tương tự của hirudin, ở đây gọi là hirulog, như disulfatohirudin. Thuật ngữ chất làm tan huyết khối hoặc chất phân huỷ fibrin (hoặc chất làm tan huyết khối hoặc chất làm tan fibrin), như được sử dụng ở đây, chỉ các chất mà phân giải cục máu đông (thrombi). Các chất như vậy bao gồm chất hoạt hóa plasminogen mô (tự nhiên hoặc tái tổ hợp) và các dạng cải biến của chúng, anistreplaza, urokinaza, streptokinaza, tenecteplaza (TNK), lanoteplaza (nPA), chất ức chế yếu tố VIIa, chất ức chế PAI-1 (tức là, chất bất hoạt của các chất ức chế chất hoạt hóa plasminogen mô), chất ức chế alpha2-antiplasmin, và phức chất hoạt hóa plasminogen streptokinaza được anisoyl hóa, bao gồm muối dược dụng hoặc tiền dược chất của chúng. Thuật ngữ anistreplaza, như được sử dụng ở đây, chỉ phức chất hoạt hóa plasminogen streptokinaza được anisoyl hóa, như được mô tả, ví dụ, trong EP 028489, phần mô tả của tài liệu này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn. Thuật ngữ urokinaza, như được sử dụng ở đây, được dự định để chỉ cả urokinaza mạch kép và urokinaza mạch đơn, urokinaza mạch đơn ở đây còn gọi là prourokinaza.

Ví dụ về các chất chống loạn nhịp bao gồm: Các chất nhóm I (như propafenon); các chất nhóm II (như metoprolol, atenolol, carvadiol và propranolol); các chất nhóm III (như sotalol, dofetilit, amiodaron, azimilit và ibutilit); các chất nhóm IV (như ditiazem và verapamil); các chất mở kênh K+ như chất ức chế IAch, và chất ức chế IKur (ví dụ, các hợp chất được bộc lộ trong WO01/40231).

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng kết hợp với chất chống tăng huyết áp và hoạt tính chống tăng như vậy dễ dàng xác định được bởi người có hiểu biết trung bình

về lĩnh vực này bằng các thử nghiệm chuẩn (ví dụ, đo huyết áp). Ví dụ về các chất chống tăng huyết áp thích hợp bao gồm: chất phong bế alpha adrenergic; chất phong bế beta adrenergic; chất phong bế kênh canxi (ví dụ, diltiazem, verapamil, nifedipine và amlodipin); chất gây giãn mạch (ví dụ, hydralazin), chất lợi tiểu (ví dụ, clothiazit, hydroclothiazit, flumethiazit, hydroflumethiazit, bendroflumethiazit, metylclothiazit, triclomethiazit, polythiazit, benzthiazit, tricrynafen của axit ethacrynic, clothalidon, torsemit, furosemit, musolimin, bumetanit, triamtrenen, amilorit, spironolacton); chất ức chế renin; chất ức chế ACE (ví dụ, captopril, zofenopril, fosinopril, enalapril, ceranopril, cilazopril, delapril, pentopril, quinapril, ramipril, lisinopril); chất đối kháng thụ thể AT-1 (ví dụ, losartan, irbesartan, valsartan); chất đối kháng thụ thể ET (ví dụ, sitaxsentan, atrsentan và các hợp chất được bộc lộ trong Patent Mỹ số 5,612,359 và 6,043,265); chất đối kháng ET/AII kép (ví dụ, các hợp chất được bộc lộ trong WO 00/01389); chất ức chế endopeptidaza trung tính (NEP); chất ức chế vasopepsidaza (chất ức chế NEP-ACE kép) (ví dụ, gemopatrilat và nitrat). Chất chống đau thắt ngực làm ví dụ là ivabradin.

Ví dụ về các chất phong bế kênh canxi thích hợp (typ L hoặc typ T) bao gồm diltiazem, verapamil, nifedipin và amlodipin và mybefradil.

Ví dụ về các glycosit tim thích hợp bao gồm digitalis và ouabain.

Theo một phương án, hợp chất có công thức I có thể được cùng sử dụng với một hoặc nhiều chất lợi tiểu. Ví dụ về các chất lợi tiểu thích hợp bao gồm (a) các chất lợi tiểu vòng như furosemit (như LASIX™), torsemit (như DEMADEX™), bemetanit (như BUMEX™), và axit ethacrynic (như EDECRIN™); (b) chất lợi tiểu loại thiazit như clothiazit (như DIURIL™, ESIDRIX™ hoặc HYDRODIURIL™), hydroclothiazit (như MICROZIDE™ hoặc ORETIC™), benzthiazit, hydroflumethiazit (như SALURON™), bendroflumethiazit, methychlorthiazit, polythiazit, triclomethiazit, và indapamit (như LOZOL™); (c) chất lợi tiểu loại phtalimidin như clothalidon (như HYGROTON™), và metolazon (như ZAROXOLYN™); (d) chất lợi tiểu loại quinazolin như quinethazon và (e) chất lợi tiểu loại dư kali như triamteren (như DYRENIUM™), và amilorit (như MIDAMOR™ hoặc MODURETIC™).

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được cùng sử dụng với chất lợi tiểu vòng. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu vòng được chọn từ furosemit và torsemit. Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều hợp chất có công thức I hoặc Ia có thể được cùng sử dụng với furosemit. Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều hợp chất có công thức I hoặc Ia có thể được cùng sử dụng với torsemit mà có thể tùy ý ở dạng giải phóng có kiểm soát hoặc giải phóng có điều chỉnh của torsemit.

Theo một phương án khác, hợp chất có công thức I có thể được cùng sử dụng với chất lợi tiểu loại thiazit. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu loại thiazit được chọn từ nhóm bao gồm clothiazit và hydroclothiazit. Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều hợp chất có công thức I hoặc Ia có thể được cùng sử dụng với clothiazit. Theo một phương án khác nữa, một hoặc nhiều hợp chất có công thức I hoặc Ia có thể được cùng sử dụng với hydroclothiazit.

Theo một phương án khác, một hoặc nhiều hợp chất có công thức I hoặc Ia có thể được cùng sử dụng với chất lợi tiểu loại phtalimidin. Theo một phương án khác nữa, chất lợi tiểu loại phtalimidin là clorthalidon. Ví dụ về các chất đối kháng thụ thể mineralocorticoit thích hợp bao gồm sprionolacton và eplerenon. Ví dụ về các chất ức chế phosphodiesteraza thích hợp bao gồm: chất ức chế PDE III (như cilostazol); và chất ức chế PDE V (như sildenafil).

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này sẽ nhận thấy rằng các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng kết hợp với các phương pháp điều trị tim mạch hoặc mạch não khác bao gồm PCI, đặt stent, stent phủ thuốc, liệu pháp tế bào gốc và các dụng cụ y tế như máy tạo nhịp tim được cấy ghép, máy khử rung, hoặc liệu pháp tái đồng bộ tim.

Liều dược chất bổ sung thường phụ thuộc vào một số yếu tố bao gồm thể trạng của đối tượng được điều trị, phạm vi điều trị mong muốn, bản chất và loại liệu pháp đồng thời, nếu có, và tần suất điều trị và bản chất của hiệu quả mong muốn. Nói chung, khoảng liều của dược chất bổ sung nằm trong khoảng từ khoảng 0,001 mg đến khoảng 100 mg trên một kilogram thể trọng của cá thể một ngày, tốt hơn là từ khoảng 0,1 mg đến khoảng

10 mg trên một kilogam thể trọng của cá thể một ngày. Tuy nhiên, một số thay đổi trong khoảng liều chung cũng có thể cần thiết thùy thuộc vào độ tuổi và thể trọng của đối tượng được điều trị, đường dùng dự định, chất chống béo phì cụ thể được sử dụng và các yếu tố tương tự. Việc xác định khoảng liều và liều tối ưu cho bệnh nhân cụ thể cũng thuộc khả năng của người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này bằng cách tham khảo phần bộc lộ này.

Theo các phương pháp điều trị của sáng chế, hợp chất hoặc tổ hợp của hợp chất theo sáng chế và ít nhất một dược chất bổ sung (ở đây còn gọi là "chế phẩm phối hợp") được dùng cho đối tượng cần điều trị, tốt hơn là ở dạng dược phẩm. Theo khía cạnh phối hợp theo sáng chế, hợp chất theo sáng chế và ít nhất một dược chất khác (ví dụ, chất chống béo phì khác) có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc trong dược phẩm chứa cả hai thành phần này. Thường ưu tiên sử dụng qua đường miệng.

Khi dược phẩm phối hợp của hợp chất theo sáng chế và ít nhất một chất điều trị khác được sử dụng cùng nhau, việc sử dụng như vậy có thể là tuần tự theo thời gian hoặc đồng thời. Việc sử dụng đồng thời chế phẩm phối hợp thường được ưu tiên. Để sử dụng tuần tự, hợp chất theo sáng chế và dược chất bổ sung có thể được dùng theo trật tự bất kỳ. Thường ưu tiên sử dụng qua đường miệng. Đặc biệt ưu tiên sử dụng qua đường miệng và đồng thời. Khi hợp chất theo sáng chế và dược chất bổ sung được sử dụng tuần tự, việc sử dụng mỗi thành phần có thể theo cùng phương pháp hoặc theo các phương pháp khác nhau.

Theo các phương pháp của sáng chế, hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế tốt hơn là được sử dụng ở dạng dược phẩm. Theo đó, hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế có thể được sử dụng cho bệnh nhân theo cách riêng rẽ hoặc cùng nhau thuận tiện qua đường miệng, đường trực tràng, qua da, ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, đường tĩnh mạch, trong cơ hoặc dưới da), trong bể, trong âm đạo, trong màng bụng, khu trú (ví dụ, dạng bột, thuốc mỡ, kem, khí dung hoặc thuốc xức), dạng liều dùng trong má hoặc đường mũi (ví dụ, phun mù, giọt hoặc dạng hít).

Các hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế có thể được sử dụng đơn độc nhưng thường được dùng ở dạng hỗn hợp với một hoặc nhiều tá dược, chất phụ gia, chất

pha loãng hoặc chất mang dược dụng thích hợp đã biết trong lĩnh vực này và được chọn theo đường dùng được dự định và thực hành dược chuẩn. Hợp chất theo sáng chế hoặc chế phẩm phối hợp có thể được bào chế để tạo ra dạng liều giải phóng tức thời, giải phóng chậm, giải phóng có điều chỉnh, giải phóng kéo dài, giải phóng theo xung hoặc giải phóng có kiểm soát tùy thuộc vào đường dùng mong muốn và tính đặc hiệu của profin giải phóng, tương ứng với nhu cầu điều trị.

Dược phẩm chứa hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế với lượng thường nằm trong khoảng từ khoảng 1% đến khoảng 75%, 80%, 85%, 90% hoặc thậm chí 95% (khối lượng) của dược phẩm, thường nằm trong khoảng từ khoảng 1%, 2% hoặc 3% đến khoảng 50%, 60% hoặc 70%, phổ biến hơn là nằm trong khoảng từ khoảng 1%, 2% hoặc 3% đến dưới 50% như khoảng 25%, 30% hoặc 35%.

Phương pháp điều chế các dược phẩm khác nhau với lượng hoạt chất cụ thể là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này. Ví dụ, xem Remington: The Practice of Pharmacy, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore Md. 20.sup.th ed. 2000.

Các dược phẩm thích hợp để tiêm ngoài đường tiêu hóa thường bao gồm các dung dịch thể phân tán, hỗn dịch hoặc nhũ dịch chứa nước hoặc không chứa nước vô trùng dược dụng, và bột vô trùng để hoàn nguyên thành dung dịch hoặc thể phân tán tiêm được vô trùng. Ví dụ về các chất mang hoặc chất pha loãng chứa nước và không chứa nước thích hợp (bao gồm dung môi và chất dẫn) bao gồm nước, etanol, rượu đa chức (propylen glycol, polyetylen glycol, glyxerol, và tương tự), hỗn hợp thích hợp của chúng, triglyxerit bao gồm dầu thực vật như dầu oliu, và các este hữu cơ tiêm được như etyl oleat. Chất mang được ưu tiên là este của axit caprylic/capric với glyxerin hoặc propylen glycol hiệu Miglyol.RTM.(ví dụ, Miglyol.RTM. 812, Miglyol.RTM. 829, Miglyol.RTM. 840) của hãng Condea Vista Co., Cranford, N.J. Độ chảy lỏng thích hợp có thể được duy trì, ví dụ, bằng cách sử dụng màng bao như lexitin, bằng cách duy trì cỡ hạt cần thiết trong trường hợp thể phân tán và bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt.

Các dược phẩm để tiêm ngoài đường tiêu hóa cũng có thể chứa các tá dược như chất bảo quản, chất làm ẩm, chất nhũ hóa, và chất phân tán. Việc ngăn ngừa việc nhiễm

vi sinh vật vào dược phẩm có thể được thực hiện bằng các chất chống vi khuẩn và chống nấm, ví dụ, paraben, clobutanol, axit phenol sorbic và các chất tương tự. Cũng có thể mong muốn bổ sung vào các chất đẳng trương, ví dụ, đường, natri clorua và các chất tương tự. Khả năng hấp thụ kéo dài của các dược phẩm dạng tiêm có thể có được bằng cách sử dụng các chất có khả năng làm chậm sự hấp thụ chẳng hạn nhôm monostearat và gelatin.

Các dạng liều rắn để dùng đường miệng bao gồm viên nang, viên nén, viên nhai, viên ngậm, viên tròn, bột và các chế phẩm đa hạt (viên cốm). Trong các dạng liều rắn, hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế được trộn với ít nhất một tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang trơ. Các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang thích hợp bao gồm các nguyên liệu như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat và/hoặc (a) một hoặc nhiều chất độn hoặc chất làm đầy (ví dụ, xenluloza vi tinh thể (có bán với tên thương mại Avicel.TM. của hãng FMC Corp.) tinh bột, lactoza, sacaroza, manitol, axit silixic, xylitol, sorbitol, dextroza, canxi hydro phosphat, dextrin, alpha-xyclodextrin, beta-xyclodextrin, polyetylen glycol, các axit béo mạch trung bình, titan oxit, magie xit, nhôm oxit và các chất tương tự); (b) một hoặc nhiều chất kết dính (ví dụ, carboxymetylxenluloza, metylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, gelatin, gôm arabic, etyl xenluloza, rượu polyvinylic, pullulan, tinh bột được gelatin hóa trước, aga, tragacan, alginat, gelatin, polyvinylpyrolidon, sacaroza, acaxia và các chất tương tự); (c) một hoặc nhiều chất làm ẩm (ví dụ, glyxerol và các chất tương tự); (d) một hoặc nhiều chất gây rã (ví dụ, aga-aga, canxi cacbonat, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột sắn, axit alginic, các silicat phức nhất định, natri cacbonat, natri lauryl sulphat, natri tinh bột glycolat (có bán với tên thương mại Explotab.TM. của hãng Edward Mendell Co.), polyvinyl pyrolidon liên kết ngang, croscarmelloza natri loại A (có bán với tên thương mại Ac-di-sol.TM.), polyacrilin kali (nhựa trao đổi ion) và các chất tương tự); (e) một hoặc nhiều chất làm chậm dung dịch (ví dụ, parafin và các chất tương tự); (f) một hoặc nhiều chất tăng tốc độ hấp thụ (ví dụ, các hợp chất amoni bậc bốn và các chất tương tự); (g) một hoặc nhiều chất làm ướt (ví dụ, rượu xetylic, glyxerol monostearat và các chất tương tự); (h) một hoặc nhiều chất hấp phụ (ví dụ, cao lanh, bentonit và các chất tương tự); và/hoặc (i)một hoặc nhiều chất làm trơn (ví dụ, đá talc, canxi stearat, magie stearat,

axit stearic, polyoxyl stearat, xetanol, đá talc, dầu thầu dầu hydro hóa, este sacaroza của axit béo, dimetylpolysiloxan, sáp vi tinh thể, sáp ong vàng, sáp ong trắng, polyetylen glycol rắn, natri lauryl sulfat và các chất tương tự). Trong trường hợp viên nang và viên nén, dạng liều cũng có thể chứa chất đệm.

Các chế phẩm rắn loại tương tự cũng có thể được sử dụng làm chất độn trong nang gelatin được nạp mềm hoặc cứng bằng cách sử dụng các tá dược như lactoza hoặc đường sữa cũng như các polyetylen glycol có khối lượng phân tử cao và các chất tương tự.

Các dạng liều rắn như viên nén, viên trứng, viên nang, và viên cốm có thể được bào chế với lớp bao hoặc vỏ như lớp bao tan trong ruột và các lớp bao khác đã biết rõ trong lĩnh vực này. Chúng cũng có thể chứa các chất cản quang, và cũng có thể là dược phẩm mà giải phóng chậm hợp chất theo sáng chế và/hoặc dược chất bổ sung. Ví dụ về các dược phẩm gắn cố định mà có thể được sử dụng là các chất polyme và sáp. Thuốc cũng có thể ở dạng được bao vi nang, nếu thích hợp, bằng một hoặc nhiều tác dược nêu trên.

Đối với viên nén, hoạt chất sẽ thường chiếm dưới 50% (khối lượng) của dạng bào chế, ví dụ nhỏ hơn khoảng 10% như 5% hoặc 2,5% khối lượng. Phần chủ yếu của dạng bào chế bao gồm chất độn, chất pha loãng, chất gây rã, chất làm trơn và tùy ý, chất tạo hương vị. Thành phần các tá dược này là đã biết trong lĩnh vực. Thông thường, chất độn/chất pha loãng sẽ bao gồm hỗn hợp hai hoặc nhiều thành phần sau: xenluloza vi tinh thể, manitol, lactoza (tất cả các loại), tinh bột, và di-canxi phosphat. Hỗn hợp chất độn/chất pha loãng thường chiếm dưới 98% của dạng bào chế và tốt hơn là nhỏ hơn 95%, ví dụ 93,5%. Chất gây rã được ưu tiên bao gồm Ac-di-sol.TM., Explotab.TM., tinh bột và natri lauryl sulphat. Nếu có mặt, chất gây rã thường chiếm dưới 10% của dạng bào chế và tốt hơn là nhỏ hơn 5%, ví dụ 3%. Chất làm trơn được ưu tiên là magie stearat. Nếu có mặt, chất làm trơn thường chiếm dưới 5% của dạng bào chế và tốt hơn là nhỏ hơn 3%, ví dụ 1%.

Viên nén có thể được sản xuất bằng các quy trình ép viên chuẩn, ví dụ, ép trực tiếp hoặc nghiền ướt, khô hoặc chảy, quy trình làm đông vật chất chảy và ép đùn. Lõi viên

nén có thể gồm một lớp hoặc nhiều lớp và có thể được phủ bằng lớp phủ thích hợp đã biết trong lĩnh vực này.

Các dạng liều lỏng để dùng đường miệng bao gồm nhũ dịch, dung dịch, hỗn dịch, sirô và cồn ngọt dược dụng. Ngoài hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế, dạng liều rắn còn có thể chứa chất pha loãng trơ thường dùng trong lĩnh vực này, như nước hoặc các dung môi khác, tác nhân hòa tan và chất nhũ hóa, như ví dụ, rượu etylic, rượu isopropylic, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzylic, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dimetylformamit, các dầu (ví dụ, dầu hạt bông, dầu lạc, dầu mầm ngô, dầu oliu, dầu thầu dầu, dầu hạt vừng và tương tự), Miglyole.RTM. (có bán bởi hãng CONDEA Vista Co., Cranford, N.J.), glyxerol, rượu tetrahydrofurfurylic, polyetylen glycol và este axit béo của sorbitan, hoặc hỗn hợp các chất này, và tương tự.

Ngoài các chất pha loãng trơ như vậy, dược phẩm cũng có thể bao gồm các tác dược như chất làm ướt, chất nhũ hóa và chất tạo huyền phù, chất làm ngọt, chất tạo vị và chất tạo hương.

Các dạng lỏng dùng qua đường miệng chứa các hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế bao gồm dung dịch, trong đó hoạt chất được hòa tan hoàn toàn. Ví dụ về các dung môi bao gồm tất cả các dung môi dược dụng thích hợp để dùng qua đường miệng, đặc biệt là các dung môi trong đó các hợp chất theo sáng chế thể hiện độ hòa tan tốt, ví dụ, polyetylen glycol, polypropylen glycol, các dầu ăn được và các hệ dựa trên glyxeryl- và glyxerit-. Các hệ dựa trên glyxeryl- và glyxerit- có thể bao gồm, ví dụ, các sản phẩm có nhãn hiệu sau (và các sản phẩm cùng loại tương ứng): Captex.TM. 355 EP (glyxeryl tricaprylat/caprat, của hãng Abitec, Columbus Ohio), Crodamol.TM. GTC/C (triglyxerit mạch trung bình, của hãng Croda, Cowick Hall, UK) hoặc Labrafac.TM. CC (triglyxerit mạch trung bình của hãng Gattefosse), Captex.TM. 500P (glyxeryl triaxetat tức là triaxetin, của hãng Abitec), Capmul.TM. MCM (mono- và diglyxerit mạch trung bình của hãng Abitec), Migyol.TM. 812 (caprylic/capric triglyxerit, của hãng Condea, Cranford N.J.), Migyol.TM. 829 (caprylic/capric/suxinic triglyxerit, của hãng Condea), Migyol.TM. 840 (propylen glycol dicaprylat/dicaprat, của hãng Condea), Labrafil.TM. M1944CS (oleoyl macrogol-6 glyxerit, của hãng Gattefosse), Peceol.TM. (glyxeryl monooleat, của hãng Gattefosse) và Maisine.TM. 35-1 (glyxeryl monooleat, của hãng

Gattefosse). Được đặc biệt quan tâm là các dầu triglyxerit mạch trung bình (khoảng C.sub,8 đến C.sub,10). Các dung môi này thường tạo ra phần chủ yếu của chế phẩm, tức là, lớn hơn khoảng 50%, thường là lớn hơn khoảng 80%, ví dụ khoảng 95% hoặc 99%. Các tá dược và chất phụ trợ cũng có thể có trong dung môi chủ yếu dưới dạng chất che vị, chất tạo vị và tạo hương, chất chống oxy hóa, chất ổn định, chất thay đổi kết cấu và độ nhớt và chất hòa tan.

Các hỗn dịch, ngoài hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế, có thể chứa thêm các chất mang như chất tạo huyền phù, ví dụ, các rượu isostearylic được etoxy hóa, polyoxyetylen sorbitol và este sorbitan, xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, aga-aga, và tragacan, hoặc hỗn hợp của các chất này, và các chất tương tự.

Chế phẩm để sử dụng đường trực tràng hoặc đường âm đạo tốt hơn bao gồm thuốc đạn mà có thể được bào chế bằng cách trộn hợp chất hoặc chế phẩm phối hợp theo sáng chế với tá dược hoặc chất mang không kích thích thích hợp hoặc chất mang như bơ cacao, polyetylen glycol hoặc sáp thuốc đạn mà rắn ở nhiệt độ trong phòng bình thường nhưng lỏng ở nhiệt độ cơ thể và do đó tan trong khoang trực tràng hoặc âm đạo nhờ đó giải phóng (các) thành phần hoạt tính.

Dạng liều để dùng khu trú chứa các hợp chất theo sáng chế hoặc chế phẩm phối hợp bao gồm thuốc bôi, kem, thuốc xức, bột và khí dung. Các thuốc được trộn với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng, và chất bảo quản, chất đệm, hoặc chất đẩy bất kỳ mà có thể được đòi hỏi.

Nhiều hợp chất theo sáng chế hòa tan kém trong nước, ví dụ, ít hơn khoảng 1.mu.g/mL. Do đó, các dược phẩm dạng lỏng trong dung môi hòa tan không chứa nước như các dầu triglyxerit mạch trung bình được thảo luận trên đây là dạng liều được ưu tiên đối với các hợp chất này.

Các thể phân tán vô định hình rắn, bao gồm các thể phân tán được tạo ra bằng quy trình sấy phun, cũng là dạng liều được ưu tiên cho các hợp chất kém tan theo sáng chế. Thuật ngữ "thể phân tán vô định hình rắn" nghĩa là nguyên liệu rắn trong đó ít nhất một phần hợp chất kém tan ở dạng vô định hình và được phân tán trong polyme tan trong nước. "Vô định hình" nghĩa là hợp chất kém tan này không phải là tinh thể. "Tinh thể"

nghĩa là hợp chất thể hiện trật tự xa theo ba chiều ít nhất là 100 đơn vị lặp mỗi chiều. Do đó, thuật ngữ vô định hình được dự định để bao gồm không chỉ chất liệu mà chủ yếu không có trật tự, mà cả chất liệu mà có thể có trật tự ở mức độ thấp, nhưng trật tự này theo ít hơn ba chiều và/hoặc chỉ trong khoảng cách ngắn. Chất liệu vô định hình có thể được xác định bằng các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này như tinh thể đồ nhiễu xạ bột tia X (powder x-ray diffraction - PXRD), NMR trạng thái rắn, hoặc các kỹ thuật nhiệt như đo nhiệt lượng quét vi sai (differential scanning calorimetry - DSC).

Tốt hơn, nếu ít nhất một phần chính (tức là, ít nhất khoảng 60% khối lượng) hợp chất kém tan trong thể phân tán vô định hình rắn là vô định hình. Hợp chất này có thể tồn tại trong thể phân tán vô định hình rắn ở các miền hoặc vùng vô định hình tương đối tinh khiết, dưới dạng dung dịch chứa hợp chất được phân bố đồng nhất trong polyme hoặc sự kết hợp bất kỳ của các trạng thái này hoặc các trạng thái mà chứa hợp chất trung gian giữa chúng. Tốt hơn, nếu thể phân tán vô định hình rắn gần như đồng nhất sao cho hợp chất vô định hình được phân tán càng đồng nhất càng tốt trong polyme. Như được sử dụng ở đây, "gần như đồng nhất" nghĩa là phân đoạn hợp chất là có mặt ở miền hoặc vùng vô định hình tương đối tinh khiết trong thể phân tán vô định hình rắn là tương đối nhỏ, ở mức thấp hơn 20% khối lượng và tốt hơn là thấp hơn 10% khối lượng tính theo tổng lượng thuốc.

Các polyme tan trong nước thích hợp để sử dụng trong thể phân tán vô định hình rắn cần phải trơ, theo nghĩa là chúng không phản ứng hóa học với hợp chất kém tan theo cách bất lợi, dược dụng, và có độ tan nhất định trong dung dịch nước ở độ pH thích hợp về mặt sinh lý (ví dụ, 1-8). Polyme có thể là trung tính hoặc ion hóa được, và cần phải có độ tan trong nước ít nhất là mg/mL trong ít nhất một phần của khoảng pH 1-8.

Các polyme tan trong nước thích hợp để sử dụng với sáng chế có thể thuộc loại xenluloza hoặc không thuộc loại xenluloza. Các polyme có thể là trung tính hoặc ion hóa được trong dung dịch nước. Trong số đó, các polyme ion hóa được và thuộc loại xenluloza được ưu tiên, với các polyme ion hóa được thuộc loại xenluloza được ưu tiên hơn.

Các polyme tan trong nước làm ví dụ bao gồm hydroxypropyl metyl xenluloza axetat suxinat (HPMCAS), hydroxypropyl metyl xenluloza (HPMC), hydroxypropyl metyl xenluloza phtalat (HPMCP), carboxy metyl etyl xenluloza (CMEC), xenluloza axetat phtalat (CAP), xenluloza axetat trimellitat (CAT), polyvinylpyrolidon (PVP), hydroxypropyl xenluloza (HPC), metyl xenluloza (MC), copolyme khối của etylen oxit và propylen oxit (PEO/PPO, còn gọi là poloxame), và hỗn hợp của chúng. Các polyme được đặc biệt ưu tiên bao gồm HPMCAS, HPMC, HPMCP, CMEC, CAP, CAT, PVP, poloxame, và hỗn hợp của chúng. HPMCAS được ưu tiên nhất. Xem đơn công bố đơn patent châu Âu số 0 901 786 A2, phần mô tả của tài liệu này được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn.

Thể phân tán vô định hình rắn có thể được điều chế theo quy trình bất kỳ để tạo ra thể phân tán vô định hình rắn mà làm cho ít nhất phần chính (ít nhất 60%) của hợp chất kém tan trở thành trạng thái vô định hình. Các quy trình như vậy bao gồm quy trình cơ khí, nhiệt và dung môi. Ví dụ về các quy trình cơ khí bao gồm nghiền và ép đùn; quy trình làm tan bao gồm làm tan ở nhiệt độ cao, làm tan bằng cách biến đổi bằng dung môi và quy trình làm đông vật chất tan; và quy trình dung môi bao gồm kết tủa không dùng dung môi, phủ phun và sấy phun. Xem, ví dụ các patent Mỹ sau, phần mô tả thích hợp của chúng được kết hợp ở đây bằng cách viện dẫn: 5,456,923 và 5,939,099, mô tả việc tạo ra các thể phân tán bằng quy trình ép đùn; 5,340,591 và 4,673,564, mô tả việc tạo ra các thể phân tán bằng quy trình nghiền; và 5,707,646 và 4,894,235, mô tả việc tạo ra các thể phân tán bằng quy trình làm đông vật chất chảy. Theo quy trình được ưu tiên, thể phân tán vô định hình rắn được tạo ra bằng cách sấy phun, như bộc lộ trong công bố đơn patent châu Âu số 0 901 786 A2. Trong quy trình này, hợp chất và polyme được hòa tan trong dung môi, như axeton hoặc metanol, và dung môi sau đó được nhanh chóng loại bỏ khỏi dung dịch bằng cách sấy phun để tạo ra thể phân tán vô định hình rắn. Các thể phân tán vô định hình rắn có thể được điều chế để chứa hợp chất với lượng lên đến khoảng 99 % khối lượng, ví dụ, 1 % khối lượng, 5 % khối lượng, 10 % khối lượng, 25 % khối lượng, 50 % khối lượng, 75 % khối lượng, 95 % khối lượng, hoặc 98 % khối lượng nếu muốn.

Thể phân tán rắn bản thân nó có thể được dùng làm dạng liều hoặc có thể dùng làm sản phẩm dùng trong sản xuất (manufacturing-use-product - MUP) trong bào chế của các dạng liều khác như viên nang, viên nén, dung dịch hoặc hỗn dịch. Ví dụ về hỗn dịch nước là hỗn dịch nước chứa hợp chất/thể phân tán được sấy phun HPMCAS-HF với tỷ lệ 1:1 (khối lượng/khối lượng) chứa 2,5 mg/mL hợp chất trong 2% polysorbat-80. Các thể phân tán rắn để dùng trong viên nén hoặc viên nang sẽ thường được trộn với các tá dược hoặc chất phụ phụ gia khác thường thấy trong các dạng liều như vậy. Ví dụ, chất độn làm ví dụ cho viên nang chứa hợp chất/thể phân tán được sấy phun HPMCAS-MF với tỷ lệ 2:1 (khối lượng/khối lượng) (60%), lactoza (chảy nhanh) (15%), xenluloza vi tinh thể (ví dụ, Avicel.sup.(R0-102) (15,8%), tinh bột natri (7%), natri lauryl sulfat (2%) và magie stearat (1%).

Các polyme HPMCAS có bán ở độ tinh khiết thấp, trung bình và cao lần lượt là Aqoa.sup.(R)-LF, Aqoat.sup.(R)-MF và Aqoat.sup.(R)-HF của hãng Shin-Etsu Chemical Co., LTD, Tokyo, Japan. Ưu tiên MF và HF có độ tinh khiết cao.

Các đoạn sau đây mô tả các dạng bào chế, liều, v.v. làm ví dụ có thể sử dụng cho động vật không phải người. Việc sử dụng các hợp chất theo sáng chế và chế phẩm phối hợp chứa các hợp chất theo sáng chế với các chất chống béo phì có thể được thực hiện qua đường miệng hoặc không qua đường miệng.

Lượng hợp chất theo sáng chế hoặc chế phẩm phối hợp của hợp chất theo sáng chế với chất chống béo phì khác được sử dụng sao cho đạt được liều hữu hiệu. Nói chung, liều hằng ngày được cho sử dụng qua đường miệng ở động vật nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 1,000 mg/kg thể trọng, ví dụ, nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 300 mg/kg hoặc nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 100 mg/kg hoặc nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 50 mg/kg thể trọng, hoặc nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 25 mg/kg, hoặc từ khoảng 0,01 đến khoảng 10 mg/kg hoặc từ khoảng 0,01 đến khoảng 5 mg/kg.

Thuận lợi là, hợp chất theo sáng chế (hoặc chế phẩm phối hợp) có thể được pha vào nước uống sao cho liều điều trị của hợp chất được đưa vào cơ thể cùng với nguồn

nước hằng ngày. Hợp chất này có thể được định lượng trực tiếp vào nước uống, tốt hơn là ở dạng lỏng, thể đặc tan trong nước (như dung dịch nước chứa muối tan trong nước).

Thuận lợi là, hợp chất theo sáng chế (hoặc chế phẩm phối hợp) cũng có thể được bổ sung trực tiếp vào thức ăn ở dạng như vậy, hoặc ở dạng thành phần bổ sung vào thức ăn động vật, còn gọi là hỗn hợp trộn trước hoặc thể đặc. Hỗn hợp trộn trước hoặc thể đặc chứa hợp chất trong tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang thường được sử dụng hơn để đưa hợp chất vào thức ăn. Các tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang thích hợp là lỏng hoặc rắn, nếu muốn, như nước, các loại bột như bột alfalfa, bột đậu tương, bột dầu hạt bông, bột dầu lanh, bột lõi ngô và bột ngô, rỉ đường, ure, bột xương, và hỗn hợp khoáng như các thành phần thường dùng trong thức ăn cho gia cầm. Tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang đặc biệt hữu hiệu là bản thân thức ăn động vật tương ứng; tức là một phần nhỏ của thức ăn như vậy. Chất mang giúp cho việc phân bố hợp chất đồng đều trong thức ăn thành phẩm mà được trộn với hỗn hợp trộn trước được thuận tiện. Tốt hơn, nếu hợp chất được trộn kỹ vào hỗn hợp trộn trước và, sau đó, là thức ăn. Theo khía cạnh này, hợp chất có thể được phân tán hoặc hòa tan trong chất dẫn dạng dầu thích hợp như dầu đậu tương, dầu ngô, dầu hạt bông, và tương tự, hoặc trong dung môi hữu cơ dễ bay hơi và sau đó trộn với chất mang. Các tỷ lệ hợp chất trong thể đặc có thể thay đổi trong khoảng rộng vì lượng hợp chất trong thức ăn thành phẩm có thể được điều chỉnh bằng cách trộn tỷ lệ hỗn hợp trộn trước thích hợp với thức ăn để thu được mức hợp chất mong muốn.

Các thể đặc công hiệu cao có thể được trộn bởi nhà sản xuất thức ăn với chất mang chứa protein như bột dầu đậu tương và các loại bột khác, như được mô tả trên đây, để sản xuất các chế phẩm bổ sung cô đặc, mà thích hợp để cho động vật ăn trực tiếp. Trong trường hợp như vậy, động vật được cho ăn chế độ ăn bình thường. Theo cách khác, các chế phẩm bổ sung cô đặc có thể được bổ sung trực tiếp vào thức ăn để sản xuất thức ăn thành phẩm cân bằng dinh dưỡng chứa hợp chất theo sáng chế với lượng hữu hiệu điều trị. Các hỗn hợp này được trộn kỹ bằng các quy trình chuẩn, như trong máy trộn hai cối, để đảm bảo độ đồng đều.

Nếu chế phẩm bổ sung được dùng làm thành phần rắc lên trên thức ăn, nó cũng giúp đảm bảo phân bố đồng đều hợp chất phía trên thức ăn được rắc.

Nước uống và thức ăn hữu hiệu để làm tăng tích lũy thịt nạc và để cải thiện tỷ lệ thịt nạc so với mỡ thường được chế biến bằng cách trộn hợp chất theo sáng chế với lượng đủ thức ăn động vật để tạo ra khoảng 10.sub.-3 đến khoảng 500 ppm hợp chất trong thức ăn hoặc nước uống.

Thức ăn cho lợn, gia súc, cừu và dê được bổ sung dược phẩm được ưu tiên thường chứa từ khoảng 1 đến khoảng 400 gam hợp chất theo sáng chế (hoặc chế phẩm phối hợp) trên một tấn thức ăn, lượng tối ưu đối với các động vật này thường từ khoảng 50 đến khoảng 300 gam trên một tấn thức ăn.

Thức ăn gia cầm và vật nuôi trong nhà được ưu tiên thường chứa từ khoảng 1 đến khoảng 400 gam và tốt hơn là từ khoảng 10 đến khoảng 400 gam hợp chất theo sáng chế (hoặc chế phẩm phối hợp) trên một tấn thức ăn.

Để sử dụng ngoài đường tiêu hóa ở động vật, các hợp chất theo sáng chế (hoặc chế phẩm phối hợp) có thể được bào chế ở dạng hồ nhão hoặc viên nhỏ và được sử dụng dưới dạng viên cấy, thường dưới da đầu hoặc tai của động vật mà cần tăng tích lũy thịt nạc và cải thiện tỷ lệ thịt nạc so với mỡ.

Dạng bào chế hồ nhão có thể được bào chế bằng cách phân tán thuốc trong dầu dược dụng như dầu lạc, dầu vừng, dầu ngô hoặc tương tự.

Viên nhỏ chứa lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế, dược phẩm, hoặc chế phẩm phối hợp có thể được điều chế bằng cách trộn hợp chất theo sáng chế hoặc chế phẩm phối hợp với chất pha loãng như sáp carbowax, sáp cọ, và tương tự, và chất làm trơn, như magie hoặc canxi stearat, có thể được bổ sung vào để cải thiện quy trình bào chế viên nhỏ.

Tất nhiên, đã nhận thấy rằng có thể sử dụng nhiều hơn một viên nhỏ cho động vật để đạt được mức liều mong muốn mà sẽ làm tăng tích lũy thịt nạc và cải thiện tỷ lệ thịt nạc so với mỡ mong muốn. Hơn nữa, viên cấy cũng có thể được bào chế theo định kỳ trong giai đoạn điều trị cho động vật để duy trì lượng thuốc thích hợp trong cơ thể động vật.

Sáng chế có một số đặc điểm về mặt thú ý có lợi. Đối với người chủ của vật nuôi hoặc bác sĩ thú y mà mong muốn tăng lượng nạc và/hoặc cắt bỏ mỡ không mong muốn

của động vật nuôi, sáng chế đề xuất phương tiện để thực hiện điều này. Đối với người nhân giống gia cầm, bò và lợn, việc sử dụng phương pháp theo sáng chế tạo ra động vật nạc hơn mà làm cho giá bán cao hơn trong công nghiệp sản xuất thịt.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Trừ khi được chỉ định khác, nguyên liệu ban đầu đều có bán từ các nguồn thương mại như Aldrich Chemicals Co. (Milwaukee, WI), Lancaster Synthesis, Inc. (Windham, NH), Acros Organics (Fairlawn, NJ), Maybridge Chemical Company, Ltd. (Cornwall, England) và Tyger Scientific (Princeton, NJ). Các chữ viết tắt và từ gọi tắt phổ biến nhất định được sử dụng có thể bao gồm: AcOH (axit axetic), DBU (1,8-diazabixyclo[5,4,0]undec-7-en), CDI (1,1'-carbonyldiimidazol), DCM (diclometan), DEA (dietylamin), DIPEA (*N,N*-diisopropyletylamin), DMAP (4-dimetylaminopyridin), DMF (*N,N'*-dimetylformamit), DMSO (dimetylsulfoxit), EDCI (*N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit), Et_2O (dietyl ete), EtOAc (etyl axetat), EtOH (etanol), HATU (2-(1H-7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyl uroni hexaflophosphat metanamini), HBTU (*O*-benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetrametyluroni hexaflo phosphat), HOBT (1-hydroxybenzotriazol), IPA (rượu isopropylic), KHMDS (kali hexametyldisilazan), MeOH (metanol), MTBE (*tert*-butyl metyl ete), $NaBH(OAc)_3$ (natri triaxetoxyborohydrit), NaHMDS (natri hexametyldisilazan), NMP (*N*-metylpyrolidon), SEM ([2-(Trimetylsilyl)etoxy]metyl), TEA (trietylamin), TFA (axit trifloaxetic), THF (tetrahydrofuran), và T_3P (anhydrit của axit propan phosphonic).

Các phản ứng được tiến hành trong không khí hoặc, khi các chất phản ứng hoặc hợp chất trung gian nhạy với oxy hoặc độ ẩm được sử dụng, trong khí quyển trơ (nitơ hoặc argon). Nếu thích hợp, các thiết bị phản ứng được làm khô trong chân không động lực bằng cách sử dụng súng bắn nhiệt, và dung môi khan (các sản phẩm Sure-Seal™ của Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin hoặc các sản phẩm DriSolv™ của EMD Chemicals, Gibbstown, NJ) được sử dụng. Các dung môi và chất phản ứng thương mại được sử dụng mà không cần tinh chế tiếp. Khi được chỉ định, các phản ứng được gia nhiệt bằng bức xạ vi sóng bằng cách sử dụng lò vi sóng Biotage Initiator hoặc Personal Chemistry Emrys Optimizer. Tiến trình phản ứng được kiểm tra bằng phương pháp phân tích sắc ký lớp mỏng (thin layer chromatography - TLC), phương pháp phổ khối- sắc ký

lỏng (liquid chromatography-mass spectrometry - LCMS), phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (high performance liquid chromatography - HPLC), và/hoặc phương pháp phổ khối-sắc ký khí (gas chromatography-mass spectrometry - GCMS). TLC được thực hiện trên các đĩa silicagel được phủ trước bằng chất chỉ thị huỳnh quang (bước sóng kích thích 254 nm) và hiện hình trong ánh sáng UV và/hoặc bằng cách nhuộm I_2, $KMnO_4$, $CoCl_2$, axit phosphomolybdic, và/hoặc xeric amoni molybdat. Dữ liệu LCMS thu được trên thiệt bị Agilent 1100 Series với thiết bị lấy mẫu tự động Leap Technologies, cột Gemini C18, građien MeCN/nước, và chất cải biến TFA, axit formic, hoặc amoni hydroxit. Chất rửa giải cột được phân tích bằng thiết bị phổi khối Waters ZQ quét ở cả hai chế độ ion dương và ion âm từ 100 đến 1200 Da. Các thiết bị tương tự khác cũng được sử dụng. Dữ liệu HPLC thu được trên thiệt bị Agilent 1100 Series bằng cách sử dụng cột Gemini hoặc Xbridge C18, gradien MeCN/nước, và chất cải biến TFA hoặc amoni hydroxit. Dữ liệu GCMS thu được bằng cách sử dụng lò Hewlett Packard 6890 với thiết bị tiêm mẫu HP 6890, cột HP-1 (12 m×0,2 mm×0,33 μm), và chất mang khí heli. Mẫu được phân tích trên bộ phát hiện chọn lọc khối lượng HP 5973 quét từ 50 đến 550 Da bằng cách ion hóa electron. Việc tinh chế được thực hiện bằng phương pháp sắc ký hiệu năng trung bình (medium performance liquid chromatography - MPLC) bằng cách sử dụng các thiết bị Isco CombiFlash Companion, AnaLogix IntelliFlash 280, Biotage SP1, hoặc Biotage Isolera One và cột silic oxit được nhồi trước Isco RediSep hoặc Biotage Snap. Việc tinh chế bất đối được thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn (Supercritical Fluid Chromatography- SFC) bất đối bằng cách sử dụng các thiết bị Berger hoặc Thar; cột ChiralPAK-AD, -AS, -IC, Chiralcel-OD, hoặc –OJ; và hỗn hợp CO_2 với MeOH, EtOH, iPrOH, hoặc MeCN, đơn độc hoặc được cải biến bằng TFA hoặc $iPrNH_2$. Phương pháp phát hiện bằng UV được dùng để thu phân đoạn.

Dữ liệu phổi khối được thông báo từ phép phân tích LCMS. Phương pháp phổ khối (Mass spectrometry - MS) được thực hiện bằng cách ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển (atmospheric pressure chemical ionization - APCI), các nguồn ion hoá phun điện tử (electrospray Ionization - ESI), ion hóa tác động điện tử (electron impact ionization - EI) hoặc ion hóa tán xạ điện tử (electron scatter - ES). Độ dịch chuyển hóa học trong phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Proton nuclear magnetic spectroscopy - ^1H NMR) được đưa ra

với đơn vị phần triệu trường thấp từ tetrametylsilan và được ghi lại trên các phổ kế 300, 400, 500, hoặc 600 MHz Varian. Độ dịch chuyển hóa học được biểu thị ở phần triệu (ppm, δ) quy chiếu đến các đỉnh gốc dung môi được đơteri hóa. Hình dạng đỉnh được mô tả như sau: s, bộ đơn; d, bộ đôi; t, bộ ba; q, bộ bốn; quin, bộ năm; m, đa bộ; br s, đơn rộng; app, biểu kiến. Dữ liệu SFC phân tích thu được trên thiết bị phân tích Berger như được mô tả trên đây. Dữ liệu quay quang thu được trên phân cực kế PerkinElmer model 343 bằng cách sử dụng ống 1 dm. Phương pháp sắc ký silicagel được thực hiện thủ yếu bằng cách sử dụng hệ Biotage hoặc ISCO áp suất trung bình bằng cột được đóng gói trước bởi nhiều nhà cung cấp thương mại khác nhau bao gồm Biotage và ISCO. Các phép phân tích vi lượng được thực hiện bởi Quantitative Technologies Inc. và nằm trong khoảng 0,4% giá trị tính toán.

Trừ khi được lưu ý khác, các phản ứng hóa học được tiến hành ở nhiệt độ trong phòng (khoảng 23 độ bách phân).

Các hợp chất và hợp chất trung gian được mô tả dưới đây được gọi tên bằng quy ước đặc tên theo ChemBioDraw Ultra, Version 12.0 (CambridgeSoft Corp., Cambridge, Massachusetts). Quy ước đặt tên theo ChemBioDraw Ultra, Version 12.0 đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này biết rõ và quy ước đặt tên theo ChemBioDraw Ultra, Version 12.0 được cho thường tuân theo các khuyến nghị của IUPAC (International Union for Pure and Applied Chemistry) về danh pháp của hóa học hữu cơ và các quy tắc chỉ số CAS. Trừ khi được lưu ý khác, tất cả các chất phản ứng được mua thương mại mà không cần tinh chế tiếp hoặc được điều chế bằng các phương pháp đã biết trong tài liệu.

Các thuật ngữ "cô đặc", "bay hơi", và "cô đặc trong chân không" chỉ việc loại bỏ dung môi ở áp suất giảm trên thiết bị bay hơi kiểu quay vứi nhiệt độ bể nhỏ hơn 60°C. Các chữ viết tắt "min" và "h" lần lượt chỉ "phút" và "giờ". Thuật ngữ "TLC" chỉ phương pháp sắc ký lớp mỏng, "nhiệt độ trong phòng" hoặc "nhiệt độ môi trường" nghĩa là nhiệt độ từ 18 đến 25°C, "GCMS" chỉ phương pháp phổ khối-sắc ký khí, "LCMS" chỉ phương pháp phổ khối-sắc ký lỏng, "UPLC" chỉ phương pháp sắc ký lỏng siêu hiệu năng và "HPLC" chỉ phương pháp sắc ký lỏng áp suất cao, "SFC" chỉ phương pháp sắc ký lỏng siêu tới hạn.

Việc hydro hóa có thể thực hiện trong thiết bị Parr Shaker trong khí hydro có áp, hoặc trong thiết bị hydro hóa kiểu dòng Thales-nano H-Cube nạp đầy hydro và tốc độ dòng nằm trong khoảng 1-2 mL/phút ở nhiệt độ đã định.

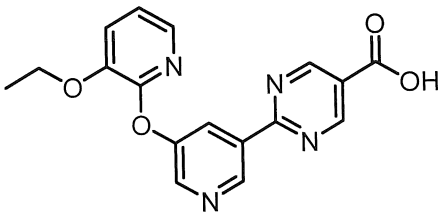
Thời gian lưu trong HPLC, UPLC, LCMS, GCMS, và SFC được đo bằng phương pháp được lưu ý trong các quy trình này.

Điều chế các hợp chất trung gian và hợp chất ví dụ

Quy trình chung A: Bổ sung diisopropyletylamin (3,0 đương lượng) vào dung dịch của Các hợp chất trung gian 1 hoặc các hợp chất trung gian 2 (1 đương lượng) trong dimetylformamit hoặc tetrahydrofuran (0,15 M). HATU (1,0 đương lượng) và amin thích hợp (2,0 đương lượng) được bổ sung lần lượt vào lọ. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô và được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được sản phẩm danh nghĩa trừ khi được lưu ý khác.

Quy trình chung B: Bổ sung oxalyl clorua (2,0 đương lượng 2M trong diclometan) vào huyền phù của các hợp chất trung gian 1 hoặc các hợp chất trung gian 2 (1,0 đương lượng) trong diclometan (0,1M). Dimetylformamit (10 uL) được bổ sung vào thể huyền phù và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. Thể huyền phù này quay trở lại trạng thái dung dịch trong thời gian này. Amin thích hợp (1,0 đương lượng) và diisopropyletylamin (2,3 đương lượng) trong diclometan (0,5 mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng diclometan (2 mL) và lần lượt được rửa bằng natri hydroxit 1N (100 uL) và nước muối (100 uL). Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat, được lọc, và dung môi được làm bay hơi trong áp suất giảm. Phần cặn thụ được được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được sản phẩm danh nghĩa trừ khi được lưu ý khác.

Các hợp chất trung gian 1: Axit 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic



Bước 1: 3-Etoxypyridin

Xesi cacbonat (12 mol, 1,5 đương lượng) và etyl iodua (9,7 mol, 1,2 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-hydroxypyrdin (8,10 mol, 1,0 đương lượng) trong axeton (12 L) ở 15 °C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và lớp hữu cơ được cô để thu được sản phẩm thô. Etyl axetat (20L) được bổ sung và được rửa bằng nước (3x5 L). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô để thu được 3-etoxypyridin (620 g, 62%) dưới dạng dầu. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,44 (t, 3H), 4,07 (q, 2H), 7,15-7,23 (m, 2H), 8,20 (dd, 1H), 8,30 (d, 1H).

Bước 2: 3-Etoxypyridin-1-oxit

Axit m-cloperoxybenzoic (6,5 mol, 1,3 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-etoxypyridin (5,0 mol, 1,0 đương lượng) trong diclometan (12 L) ở 10°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Natri thiosulfat (4 kg, trong 5 L nước) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 15 °C trong 2 giờ. Một phần khác của natri thiosulfat (1,5 kg, trong 5 L nước) được bổ sung. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 15 °C trong 1 giờ. Hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (16x10 L). Các lớp hữu cơ kết hợp được cô để thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (diclometan:metanol; 100:1-10:1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (680g, 97%) dưới dạng dầu màu nâu. Sản phẩm này còn được tinh chế tiếp bằng nghiền tinh chế với ete dầu mỏ (4 L) ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ để thu được 3-etoxypyridin-1-oxit (580 g, 83%) dưới dạng dầu màu vàng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,41 (t, 3H), 4,02 (q, 2H), 6,84 (dd, 1H), 7,12 (dd, 1H), 7,85 (d, 1H), 7,91-7,95 (m, 1H).

Bước 3: 2-((5-Bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxypyridin

Phản ứng này được thực hiện trong năm mẻ song song.

Diisopropyletylamin (2,69 mol, 3,7 đương lượng) và bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (0,93 mol, 1,3 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch được khuấy của 3-etoxypyridin-1-oxit (0,72 mol, 1,0 đương lượng) và 3-bromo-5-hydroxypyridin (0,72 mol, 1,0 đương lượng) trong tetrahydrofuran (2500 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 ngày sau đó các mẻ riêng rẽ được kết hợp thành một mẻ. Thể huyền phù tạo thành được cô đến khô và được hòa tan trong diclometan (25 L). Lớp hữu cơ được rửa bằng natri hydroxit 1N (15 L), nước (3x20L), và nước muối (20 L). Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô để thu được dầu. Dầu thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (ete dầu mỏ : etyl axetat; 10:1-1:1) để thu được sản phẩm thô dưới dạng chất rắn màu nâu. Chất rắn này được nghiền tinh chế với metyl tert-butyl ete: ete dầu mỏ (1:10; 11 L) để thu được 2-((5-bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxypyridin (730 g, 69%) dưới dạng chất rắn màu vàng đục. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,49 (t, 3H), 4,16 (q, 2H), 7,04 (dd, 1H), 7,25 (dd, 1H), 7,68-7,73 (m, 2H), 8,44 (d, 1H), 8,49 (d, 1H). MS (ES+) 297,1 (M+H).

Bước 4: Etyl 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat

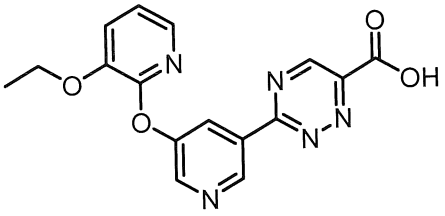
Dung dịch 2-((5-bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxypyridin(300 mmol, 1,0 đương lượng) trong tetrahydrofuran (1,3 L) được khử khí bằng nitơ trong 30 phút. Turbo Grignard (390 mmol, 1,3 đương lượng, 1,3 M trong tetrahydrofuran) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng ở tốc độ để duy trì nhiệt độ bên trong dưới 30 °C. Hỗn hợp phản ứng được phép làm mát xuống nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm mát xuống 10 °C và kẽm clorua (390 mmol, 1,3 đương lượng, 1,9 M trong 2-metyltetrahydrofuran) được bổ sung ở tốc độ duy trì nhiệt độ dưới 15 °C. Thể huyền phù thu được được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng cho đến khi tất cả kết tủa được hòa tan và sau đó làm mát trở lại xuống 10 °C. Etyl 2-cloropyrimidin-5-carboxylat (360 mmol, 1,2 đương lượng) và diclo[bis(2-(diphenylphosphino)phenyl)ete]paladi(II) (6,00 mmol, 0,02 đương lượng) được bổ sung dưới dạng chất rắn. Thể huyền phù tạo thành được khử khí bằng nitơ trong 30 phút sau đó được làm nóng đến 50 °C trong 16 giờ. Phản ứng được diễn ra trong các điều kiện chứa nước sau đó lần lượt được xử lý bằng muối dinatri của axit etylendiamintetraaxetic, thiosilica, và than để loại bỏ tạp chất kim loại. Hợp chất thô được kết tinh lại từ metanol (450 mL) để thu được etyl 2-(5-((3-

etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat (77 g, 70%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhợt. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,44 (t, 3H), 1,50 (t, 3H), 4,19 (q, 2H), 4,46 (q, 2H), 7,00-7,04 (m, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,71 (d, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,66 (d, 1H), 9,32 (s, 2H), 9,55 (s, 1H).

Bước 5: Axit 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic

Natri hydroxit (307 mmol, 1,5 đương lượng, dung dịch nước 4M) và metanol (50 mL) được bổ sung vào thể huyền phù của 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat (205 mmol, 1,0 đương lượng) trong tetrahydrofuran (300 mL). Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (400 mL) và được chiết bằng dietyl ete:heptan với tỷ lệ 2:1 (2x 300mL). Axit hóa lớp nước đến độ pH=4 bằng axit clohydric 4M. Thể huyền phù tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Chất rắn được lọc, được rửa bằng nước, và làm khô để thu được axit 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (69 g, 100%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhợt. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ1,37 (t, 3H), 4,18 (q, 2H), 7,19 (dd, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,70 (dd, 1H), 8,35-8,40 (m, 1H), 8,66 (d, 1H), 9,33 (s, 2H), 9,41 (d, 1H), 13,9 (br. s, 1H).

Các hợp chất trung gian 2: Axit 3-{5-[(3-Etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-1,2,4-triazin-6-carboxylic



Bước 1. 6-Bromo-1,2,4-triazin-3-amin

Nước (120 mL) được bổ sung vào hỗn hợp của 3-amino-1,2,4-triazin (104 mmol, 1,0 đương lượng) trong axetonitril (120 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi tạo thành dung dịch màu nâu. Hỗn hợp được làm mát đến 0 °C, được xử lý bằng N-bromosuxinimit (109 mmol, 1,05 đương lượng) theo cách từng phần được khuấy ở 0 °C trong 20 phút. Sau khi làm ấm đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp được pha loãng bằng etyl axetat (350 mL) và làm lạnh đến 0 °C. Natri cacbonat (12 g) được bổ sung vào hỗn

hợp được khuấy trong 10 phút. Hai lớp này được tách ra và pha nước được chiết bằng etyl axetat (200 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước natri bicacbonat, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô để thu được 6-bromo-1,2,4-triazin-3-amin (10,5 g, 58%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) 8,32 (s, 1H).

Bước 2. Etyl 3-amino-1,2,4-triazin-6-carboxylat

Trong hai mẻ riêng biệt, paladi axetat (0,87 mmol, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 6-bromo-1,2,4-triazin-3-amin (17 mmol, 1,0 đương lượng), trietylamin (35 mmol, 2,0 đương lượng) và xantphos (1,40 mmol, 0,08 đương lượng) trong etanol (60 mL) được bổ sung. Hỗn hợp được khử khí bằng cacbon monoxit và được khuấy ở 85 °C trong môi trường khí quyển chứa cacbon monoxit (16 Psi) trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng đã làm mát được pha loãng bằng etyl axetat (60 mL), được lọc qua đệm xelit và được cô. Các sản phẩm thô từ cả hai mẻ được kết hợp và được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột (etyl axetat/ete dầu mỏ = 3:7) để thu được etyl 3-amino-1,2,4-triazin-6-carboxylat (2,5 g, 88%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,49 (t, 3H), 4,50 (q, 2H), 8,79 (s, 1H).

Bước 3. etyl 3-clo-1,2,4-triazin-6-carboxylat

tert-Butyl nitrit (4,5 mmol, 1,5 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch etyl 3-amino-1,2,4-triazin-6-carboxylat (3,0 mmol, 1,0 đương lượng) và đồng(II) clorua (3,6 mmol, 1,2 đương lượng) trong axetonitril (15 mL) theo cách nhỏ giọt. Hỗn hợp tạo thành được làm nóng ở 60°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và được xử lý bằng axit clohydric lạnh (10 mL, 1N). Hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (3 x 30 mL) và lớp hữu cơ được kết hợp được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được làm bay hơi. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột rửa giải bằng etyl axetat/ete dầu mỏ (5:95 đến 1:1) để thu được etyl 3-clo-1,2,4-triazin-6-carboxylat (300 mg, 54%) dưới dạng chất rắn màu vàng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,50 (t, 3H), 4,58 (q, 2H), 9,11 (s, 1H).

Bước 4. 3-Etoxy-2-{[5-(tributylstannanyl)pyridin-3-yl]oxy}pyridin

Tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (0,68 mmol, 0,10 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 2-[(5-bromopyridin-3-yl)oxy]-3-etoxypyridin (6,8 mmol, 1,0 đương lượng) và hexabutyldistanan (7,5 mmol,1,1 đương lượng) trong dioxan (40 mL) trong trong môi trường nitơ. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt đến 110 °C được khuấy ở nhiệt độ này trong 16 giờ. Hỗn hợp được ngừng phản ứng bằng dung dịch nước của kali florua được khuấy trong 1 giờ. Thể huyền phù tạo thành được lọc qua đệm xelit và dịch lọc được chiết bằng etyl axetat (3 x 60 mL). Các chất hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, được lọc và được cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột (etyl axetat/ete dầu mỏ = 0:100 đến 1:4) để thu được 3-etoxy-2-{[5-(tributylstananyl)pyridin-3-yl]oxy}pyridin (1,6 g, 47%) dưới dạng dầu màu vàng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0,88 (t, 9H), 1,06-1,11 (m, 6H), 1,32 (s, 6H), 1,47-1,58 (m, 9H), 4,17 (q, 2H), 6,99 (dd, 1H), 7,22 (dd, 1H), 7,57 (dd, 1H), 7,70 (dd, 1H), 8,37-8,40 (m, 2H).

Bước 5. Etyl 3-{5-[(3-etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-1,2,4-triazin-6-carboxylat

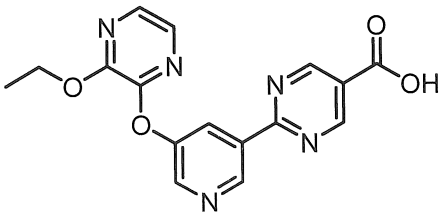
Tetrakis(triphenylphosphin)paladi(0) (0,05 mmol, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp của 3-etoxy-2-{[5-(tributylstananyl)pyridin-3-yl]oxy}pyridin (0,99 mmol, 1,0 đương lượng) và etyl 3-clo-1,2,4-triazin-6-carboxylat (0,99 mmol, 1,0 đương lượng) trong dioxan (8 mL). Lọ này được khử khí để loại bỏ oxy bằng cách sục nhẹ qua khí nitơ trong 2 phút. Sau đó lọ này được khuấy ở 115 °C trong 30 phút trong bức xạ vi sóng. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, được xử lý bằng dung dịch nước kali florua, và được khuấy trong 1 giờ. Thể huyền phù được lọc qua đệm xelit và dịch lọc được chiết bằng etyl axetat (3 x 30 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat và được cô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột (etyl axetat/ete dầu mỏ = 1:4 đến 1:1) để thu được etyl 3-{5-[(3-etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-1,2,4-triazin-6-carboxylat (150 mg, 41%) dưới dạng dầu màu vàng. MS (ES+) 368,0 (M+H).

Bước 6. Axit 3-{5-[(3-etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-1,2,4-triazin-6-carboxylic

Natri hydroxit (1,0 mmol, 20 đương lượng, 2M) được bổ sung vào dung dịch etyl 3-{5-[(3-etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-1,2,4-triazin-6-carboxylat (0,053 mmol, 1,0

đương lượng) trong metanol (1 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp được cô để loại bỏ metanol, được pha loãng bằng nước, và được chiết bằng diclometan (2 x 15 mL). Lớp nước được axit hóa đến độ pH=5 bằng axit clohydric 2 N và được chiết bằng etyl axetat (3 x10 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20 mL), được làm khô bằng natri sulfat khan, được lọc và được cố đến khô để thu được sản phẩm (15 mg, 83%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. MS (ES+) 339,9 (M+H).

Các hợp chất trung gian 3: Axit 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylic



Bước 1. 2-[(5-bromopyridin-3-yl)oxy]-3-etoxypyrazin

5-Bromopyridin-3-ol (32 mmol, 1,0 đương lượng) và xesi cacbonat (39 mmol, 1,3 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 2-clo-3-etoxypyrazin (32 mmol, 1,0 đương lượng) trong N-metyl-2-pyrolidon (250 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 150 °C trong 1 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng lạnh vào nước (300 mL) và chiết bằng etyl axetat (3 x 250 mL). Các lớp hữu cơ hỗn hợp được làm khô qua natri sulfat, lọc và cô đặc. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột rửa giải bằng ete dầu mỏ/etyl axetat (0% đến 100%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (5,0 g, 54%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 1,50 (t, 3H), 4,54 (q, 2H), 7,59 (d, 1H), 7,77 (t, 1H), 7,83 (d, 1H), 8,49 (d, 1H), 8,56 (d, 1H).

Bước 2. Etyl 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylat

Phức chất [1,1'-Bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) với diclometan (124 mg, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào thể huyền phù của 2-((5-bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxypyrazin (3,4 mmol, 1,0 đương lượng), bis(pinacolato)dibo (4,1 mmol, 1,2 đương lượng), và kali axetat (13 mmol, 4,0 đương lượng) trong dioxan (5 mL). Làm sạch hỗn hợp phản ứng bằng nitơ và khuấy ở 100 °C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm

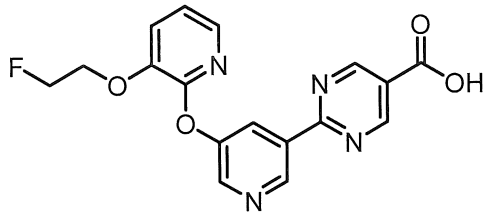
nguội xuống nhiệt độ trong phòng và làm ngừng phản ứng bằng nước (50 mL). Hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (25 mL) và được rửa bằng nước muối (3x 50 mL). Lớp hữu cơ được cô để thu được 2-etoxy-3-((5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-3-yl)oxy)pyrazin (1,4 g, 110%) dưới dạng dầu màu đen mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Etyl-2-clopyrimidin-5-carboxylat (930 mg, 1,2 đương lượng), kali cacbonat (1,1 g, 2,0 đương lượng), và [1,1'-bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) phức hợp với diclometan (150 mg, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 2-etoxy-3-((5-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)pyridin-3-yl)oxy)pyrazin (1,4 g, 4,1 mmol) trong dioxan (5 mL). Thể huyền phù màu đen được rửa bằng tia nitơ và được khuấy ở 80°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng và làm ngừng phản ứng bằng nước (50 mL). Hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat (25 mL), được rửa bằng nước muối (3x 50 mL) và được làm khô thành cặn màu đen. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (etyl axetat trong ete dầu mỏ) để thu được etyl 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylat (700 mg, 46%) dưới dạng chất rắn màu vàng. MS (ES+) 367,9 (M+H).

Bước 4. Axit 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylic

Natri hydroxit (6,8 mmol, 5,0 đương lượng, 2M) được bổ sung vào etyl 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylat (1,4 mmol, 1,0 đương lượng) trong etanol (5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 30 °C trong 16 giờ. Metyl-tert-butyl ete (30 mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và chất rắn tạo thành được lọc và được làm khô để tạo ra axit 2-{5-[(3-etoxypyrazin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}pyrimidin-5-carboxylic (500 mg, 101%) dưới dạng muối natri. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 1,42 (t, 3H), 4,48 (q, 2H), 7,67 (s, 1H), 7,93 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,74 (s, 1H), 9,33 (s, 2H), 9,45 (s, 1H).

Các hợp chất trung gian 4: Axit 2-(5-((3-(2-Floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic



Bước 1: 3-(2-Flooetoxy)pyridin

Kali cacbonat (1,5 g, 2,0 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-hydroxypyridin (500 mg, 1 đương lượng) và 1-flo-2-iodoetan (920 mg, 1,0 đương lượng) trong dimetylformamit (10 mL). Thể huyền phù được khuấy ở 30 °C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 10% metanol trong diclometan (90 mL) và được rửa bằng nước (20 mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat và được cô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (građien: 0-4,5% metanol trong diclometan) để thu được 3-(2-floetoxy)pyridin (500 mg, 67%) dưới dạng dầu màu nâu. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,19-4,33 (m, 2H), 4,67-4,74 (m, 1H), 4,79-4,86 (m, 1H), 7,22 (dd, 2H), 8,24 (t, 1H), 8,34 (t, 1H).

Bước 2: 3-(2-Floetoxy)pyridin 1-oxit

Axit *m*-cloperoxybenzoic(2,49 g, 1,2 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-(2-floetoxy)pyridin (1,7 g, 1,0 đương lượng) trong diclometan (30 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Phản ứng được tinh chế trực tiếp bằng sắc ký nhanh (građien: 0-5% metanol trong diclometan) để thu được 3-(2-floetoxy)pyridin 1-oxit (1,2 g, 63%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,16-4,22 (m, 1H), 4,23-4,29 (m, 1H), 4,66-4,73 (m, 1H), 4,77-4,84 (m, 1H), 6,90 (dd, 1H), 7,17 (dd, 1H), 7,87-7,94 (m, 1H), 7,99 (t, 1H).

Bước 3: 2-((5-Bromopyridin-3-yl)oxy)-3-(2-floetoxy)pyridin

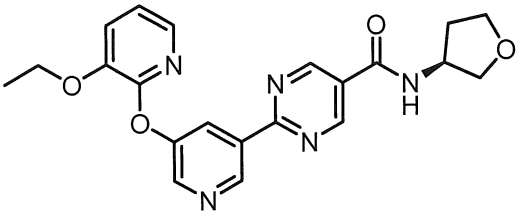
Diisopropyletylamin (5,2 mL, 3,8 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-(2-floetoxy)pyridin 1-oxit (1,2 g, 1,0 đương lượng), 3-bromo-5-hydroxypyridin (1,3 g, 1,0 đương lượng) và bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (4,6 g, 1,3 đương lượng) trong tetrahydrofuran (25 mL) ở 13 °C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong16 giờ. Phản ứng được làm ngừng bằng nước (20 mL) và được chiết bằng etyl axetat (50 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp được rửa bằng amoni clorua bão hòa (3x

20 mL) và nước muối (100 mL), được làm khô bằng natri sulfat, và được cô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (gradien: 0-70% etyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra 2-((5-Bromopyridin-3-yl)oxy)-3-(2-floetoxy)pyridin (1,9 g, 81%) dưới dạng dầu màu vàng . ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4,28 – 4,33 (m, 1H), 4,34 – 4,41 (m, 2H), 4,70 – 4,78 (m, 1H), 4,82– 4,82 (m, 1H), 7,05 (dd, 1H), 7,31 (dt, 1H), 7,69 – 7,73 (m, 1H), 7,74 – 7,80 (m, 2H), 8,44 (dd, 1H), 8,48– 8,52 (m, 2H).

Bước 4: Axit 2-(5-((3-(2-Floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic

Bis(pinacolato)dibo (580 mg, 1,2 đương lượng), kali axetat (560 mg, 3,0 đương lượng), và phức chất [1,1'-Bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) với diclometan (70 mg, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 2-((5-Bromopyridin-3-yl)oxy)-3-(2-floetoxy)pyridin (600 mg, 1,0 đương lượng) trong dioxan (10 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100 °C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (60 mL), được rửa bằng nước (20 mL) và nước muối, sau đó được cô đến phần cặn. Phần cặn được pha loãng bằng dioxan (15 mL) và nước (5 mL). Etyl 2-cloropyrimidin-5-carboxylat (310 mg, 1,0 đương lượng), phức hợp [1,1'-Bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) với diclometan (61 mg, 0,05 đương lượng), và kali cacbonat (460 mg, 2,0 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và thể huyền phù tạo thành được khuấy ở 80 °C trong 16 giờ. Thể huyền phù được lọc và sau đó được phân bố vào giữa etyl axetat (30 mL) và nước (50 mL). Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2x30 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (50 mL), được làm khô bằng natri sulfat, được lọc, và được cô để tạo ra nguyên liệu thô mà được tinh chế bằng TLC điều chế (metanol 5% trong diclometan) để thu được axit 2-(5-((3-(2-floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (80 mg, 13%). MS (ES+) 357,0 (M+H).

Ví dụ 1: (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit



Oxalyl clorua (13,8 mL, 160 mmol, 1,2 đương lượng) và dimetylformamit (0,510 mL, 6,65 mmol, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào thể huyền phù của axit 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (45,0 g, 133 mmol, 1,0 đương lượng) trong diclometan (500 mL). Thể huyền phù được khuấy trong 2 giờ khi dung dịch tạo thành. Hỗn hợp phản ứng được cô để thu được clorua axit thô dưới dạng chất rắn. Dung dịch (*S*)-tetrahydrofuran-3-amin (12,2 g, 140 mmol, 1,05 đương lượng) và diisopropyletylamin (51,0 mL, 293 mmol, 2,2 đương lượng) trong tetrahydrofuran (100 mL) được bổ sung nhỏ giọt vào dung dịch clorua axit thô trong diclometan (200 mL) ở 0°C. Phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng được khuấy trong 16 giờ. Nước (1,0 L) và etyl axetat (600 mL) được bổ sung và lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng natri bicacbonat bão hòa, được làm khô bằng magie sulfat, và được lọc. Dịch lọc được xử lý bằng than hoạt tính (20 g) được khuấy ở 65 °C trong 20 phút. Thể huyền phù được lọc ấm và dịch lọc được cô thành chất rắn màu vàng nhợt mà được kết tinh lại từ metanol trong etyl axetat (1:4, 1 L) để thu được (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (43,5 g, 81%) dưới dạng chất rắn không màu. Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được kết hợp với các mẻ trước (108,7 g, 266,8 mmol) được điều chế theo cách tương tự và được tạo huyền phù đặc với etyl axetat (1,0 L) ở 80 °C trong 4 giờ. Thể huyền phù được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng được khuấy trong 4 ngày. Chất rắn được lọc, được rửa bằng etyl axetat (3x200 mL) và được làm khô trong điều kiện chân không cao ở 50 °C trong 24 giờ để thu được (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (100,5 g, 92%) dưới dạng chất rắn không màu. ^{1}H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 1,38 (t, 3H), 1,89-1,98 (m, 1H), 2,15-2,26 (m, 1H), 3,65 (dd, 1H), 3,70-3,78 (m, 1H), 3,85-3,92 (m, 2H), 4,18 (q, 2H), 4,46-4,55 (m, 1H), 7,18 (dd, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,69 (dd, 1H), 8,37 (dd, 1H), 8,64 (d, 1H), 8,95 (d, 1H), 9,28 (s, 2H), 9,39 (d, 1H). MS (ES+) 408,4

(M+H). Điểm nóng chảy 177,5 °C. Kết quả phân tích nguyên tố đối với $C_{21}H_{21}N_5O_4$: theo tính toán C, 61,91; H, 5,20; N, 17,19; phát hiện C, 61,86; H, 5,18; N, 17,30.

Chất rắn được tạo ra từ quy trình này được mô tả đặc điểm phân tích nhiễu xạ bột tia X (Powder X-ray diffraction - PXRD) và được xếp là dạng 1.

Quy trình điều chế khác (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (Ví dụ 1)

Thiết bị phản ứng 100 mL được nạp axetonitril (35 mL), axit 2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (5,0 g, 15 mmol) và (*S*)-tetrahydrofuran-3-amin hydroclorua (2,2 g, 18 mmol, 1,2 đương lượng). Diisopropyletylamin (18 mL, 103 mmol, 7,0 đương lượng) được nạp vào trong khi vẫn duy trì nhiệt độ ở 20°C đến 30°C. Dung dịch anhydrit của axit propan phosphonic (T3P) trong axetonitril (21 mL, 30 mmol, 2,0 đương lượng) được được nạp ở tốc độ mà nhiệt độ duy trì dưới 45 °C. Thiết bị phản ứng được gia nhiệt đến 40±5 °C trong 1 giờ sau đó được lấy mẫu để kết thúc phản ứng. Phản ứng được làm nguội đến 20°C đến 25 °C và tetrahydrofuran (25 mL) được bổ sung. Dung dịch natri bicacbonat (0,5M, 40 mL) được nạp và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ. Độ pH được kiểm tra và được đo ở giá trị 8,5. Etyl axetat (40 mL) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 15 phút. Hỗn hợp được để yên và các pha được tách ra. Lớp nước được chuyển sang phễu tách và được chiết trở lại bằng etyl axetat (100 mL). Các pha hữu cơ được kết hợp và được rửa bằng nước (40 mL). Lớp hữu cơ được chuyển sang thiết bị phản ứng 100 mL trong các phần và được cô trong chân không đến thể tích nhỏ. Metyl etyl xeton (100 mL) được bổ sung và hỗn hợp được cô đến thể tích cuối cùng khoảng 60 mL. Chân không được loại bỏ và huyền phù đặc được làm nóng đến điều kiện hồi lưu và được giữ cho đến khi các chất rắn được rửa xuống thành thiết bị phản ứng. Huyền phù đặc được làm mát đến 15 °C trong 2 giờ và được tạo hạt qua đêm. Chất rắn được tách bằng cách lọc, rửa thiết bị phản ứng và bánh lọc hai lần bằng metyl etyl xeton (mỗi lần 10 mL). Chất rắn được làm khô trong lò chân không ở 50°C để thu được 4,86 g (81%) của sản phẩm mong muốn. Chất rắn được tạo ra từ quy trình này được mô tả đặc điểm phân tích PXRD và được xếp là dạng 2.

Chuyển hóa từ dạng 2 thành dạng 1

Thiết bị phản ứng 100 mL được nạp hợp chất (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit ở dạng 2 (ví dụ 1) (10,0 g, 24,6 mmol, 1,00 đương lượng.), Metyl etyl xeton (8,8 mL/g), 88,0 mL) và nước (1,2 mL/g, 12,0 mL). Thiết bị phản ứng được làm nóng đến 50°C trong 30 phút. Dung dịch hoàn chỉnh xuất hiện ở khoảng 44 °C. Thiết bị phản ứng được làm nguội xuống 40°C trong 30 phút sau đó mầm kết tinh của tinh thể dạng 1 của hợp chất (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (ví dụ 1) (0,050 g, 0,123 mmol, 0,0050 đương lượng) được nạp. Sau khi tạo mầm, huyền phù đặc mờ được khuấy trong 1 giờ trước khi làm lạnh xuống 5°C trong 2 giờ và sau đó được khuấy ở 5°C trong 12 giờ. Trong một quy trình mẫu đối chứng được kéo và được mô tả đặc điểm bằng phân tích PXRD để khẳng định chất rắn là tinh thể dạng 1. Huyền phù đặc được lọc, và thiết bị phản ứng và bánh lọc được rửa bằng 0°C metyl etyl xeton (2,5 mL/g, 25 mL). Chất rắn được làm khô trong lò chân không ở 50°C để thu được 8,15 g (81,5%) của sản phẩm mong muốn. Mẫu PXRD của sản phẩm mong muốn phù hợp với Dạng 1.

Nhiễu xạ bột tia X:

Phân tích nhiễu xạ tia X trên mẫu bột được thực hiện bằng cách sử dụng nhiễu xạ kế Bruker AXS D8 Advance được lắp nguồn phát xạ Cu (chiều dài bước sóng trung bình Kα bằng 1. 54056Å), được lắp một cặp chính bằng cách sử dụng gương cầu. Bức xạ bị nhiễu xạ được phát hiện bằng bộ phát hiện PSD-Lynx Eye. Cả thứ nhất và thứ hai được lắp 2,5 khe soller. Điện thế và cường độ dòng điện của ống tia X lần lượt được đặt là 40 kV và 40 mA. Dữ liệu được thu thập trong giác kế Theta-Theta trong máy quét cặp được khóa từ 3,0 đến 40,0 độ ở góc 2-Theta với 1000 bước bằng cách sử dụng tốc độ quét là 6 giây mỗi bước. Các mẫu được chuẩn bị bằng cách đặt chúng trong dụng cụ đỡ mẫu nền thấp silic (C79298A3244B261). Dữ liệu được thu thập bằng cách sử dụng phần mềm Bruker DIFFRAC Plus. Việc phân tích được thực hiện bằng phần mềm EVA diffract plus.

Tệp dữ liệu PXRD không được xử lý trước khi tìm kiếm đỉnh. Bằng cách sử dụng thuật toán tra cứu đỉnh trên phần mềm EVA, các đỉnh được chọn với giá trị ngưỡng bằng 5 và trị số độ rộng là 0,2. Kết quả của việc gán tự động được kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo hợp lệ và điều chỉnh thủ công nếu cần. Các đỉnh có cường độ tương đối ≥ 3% thường được chọn. Các đỉnh không được phân giải hoặc phù hợp với đoạn nhiễu đều được loại bỏ. Sai số thông thường đi kèm với vị trí đỉnh từ PXRD được nêu trong USP là nằm trong phạm vi +/- 0,2° (USP-941).

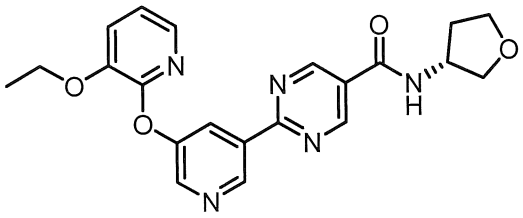
Bảng 1: Các đỉnh PXRD quan trọng để mô tả đặc điểm của nguyên liệu tinh thể của ví dụ 1

Dạng 1 của ví dụ 1	**Dạng 2 của ví dụ 1**
Góc 2Θ (°)	Góc 2Θ (°)
5,3, 7,7, 15,4	6,5, 9,3, 13,6

Fig. 1 là mô hình nhiễu xạ bột tia x đặc trưng thể hiện dạng tinh thể 1 của ví dụ 1 (trục tung: Cường độ (CPS); trục hoành: Hai theta (độ)).

Fig. 2 là mô hình nhiễu xạ bột tia x đặc trưng thể hiện dạng tinh thể 2 của ví dụ 1 (trục tung: Cường độ (CPS); trục hoành: Hai theta (độ)).

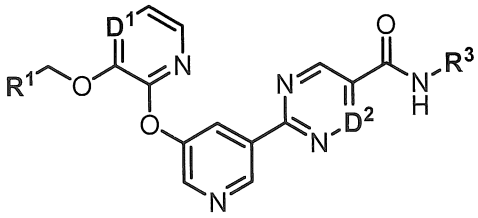
Ví dụ 2: (*R*)-2-(5-((3-Etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit



Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp chung A với Các hợp chất trung gian 1 (0,31 mmol, 1,0 đương lượng) và muối (*R*)-(+)-tetrahydro-3-furylamin toluensulfonat (124 mg, 1,5 đương lượng). Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh bằng cách sử dụng etyl axetat trong heptan để thu được (*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (91 mg, 70%). ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1,38 (t, 3H), 1,89-1,98 (m,

1H), 2,15-2,28 (m, 1H), 3,5 (dd, 1H), 3,70-3,78 (m, 1H), 3,85-3,92 (m, 2H), 4,19 (q, 2H), 4,46-4,55 (m, 1H), 7,19 (dd, 1H), 7,58 (dd, 1H), 7,69 (dd, 1H), 8,37 (dd, 1H), 8,64 (d, 1H), 8,96 (d, 1H), 9,28 (s, 2H), 9,39 (d, 1H). MS (ES+) 408,3 (M+H).

Các ví dụ 3.1 đến 3.7: Các hợp chất ví dụ trong bảng 2 được điều chế bằng quy trình chung A sử dụng các nguyên liệu khởi đầu thích hợp và được phân tích bằng các phương pháp được mô tả dưới đây. R^3 có thể thay đổi, các hợp chất trung gian (với các nhóm thay đổi R^1, D^1, và/hoặc D^2) được sử dụng, và phương pháp phân tích được lưu ý trong bảng 2.



Các phương pháp phân tích

Phương pháp A: Xbridge C18, 2,1×50mm, 5µm, 40°C, pha động A 0,0375% TFA trong nước, pha động B 0,01875% TFA trong axetonitril, građien: 0,00 phút 1% B, 0,60 phút 5% B, 4,00 phút 100% B, 0,8 mL/phút, API-ES+.

Phương pháp B: Xbridge C18, 2,1×50mm, 5µm, 40°C, pha động A 0,05% NH_4OH trong nước, pha động B 100% axetonitril, Građien 0,00 phút 5% B, 3,40 phút 100% B, 0,8 mL/phút, API-ES+.

Phương pháp C: Waters Atlantis dC18 4,6x50, 5um, pha động A: 0,05% TFA trong nước (thể tích/thể tích); pha động B: 0,05% TFA trong axetonitril (thể tích/thể tích), Građien: 95,0% H_2O/5,0% axetonitril tuyến tính đến 5% H_2O/95% axetonitril trong 4,0phút, HOLD ở 5% H_2O/95% axetonitril đến 5,0phút. Lưu lượng: 2mL/phút

Phương pháp D: Waters XBridge C18 4,6x50, 5um, pha động A: 0,03% NH_4OH trong nước (thể tích/thể tích); pha động B: 0,03% NH_4OH trong axetonitril (thể tích/thể tích), Građien: 95,0% H_2O/5,0% axetonitril tuyến tính đến 5% H_2O/95% axetonitril trong 4,0phút, HOLD ở 5% H_2O/95% axetonitril đến 5,0phút. Lưu lượng: 2mL/phút.

Phương pháp E: Xtimate C18 5x30mm,3um

Pha động A: 0,1% TFA trong nước, pha động B: axetonitril, Građien: 0,00 phút 1% B, 1 phút 5% B, 5 phút 100% B, 8 phút 1% B. tốc độ dòng: 1,2 mL/phút

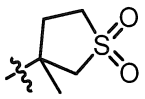
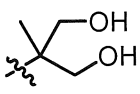
Phương pháp F: LCMS E(4-302) XBridge C18 2,1*50mm,5um

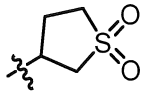
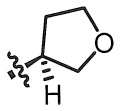
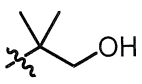
Pha động: 1,0% axetonitril trong nước (axit formic 0,1%) đến 5% axetonitril trong nước (axit formic 0,1%) trong 0,6 phút; sau đó từ 5,0% axetonitril

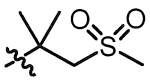
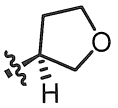
trong nước (0,1% axit formic) đến 100% axetonitril (0,1% axit formic) trong 3,4 phút; sau đó trở lại 1,0% axetonitril trong nước (0,1% axit formic) cho đến 4,3 phút, và giữ 0,7 phút. Tốc độ dòng: 0,8 ml/phút

Phương pháp G: Xbridge C18, 2,0×50mm, 5µm, 40°C, pha động A 10mM NH_4HCO_3 trong nước, pha động B 100% axetonitril, Građien 1,0% B đến 5% B trong 0,6 phút, 100% B trong 3,4 phút; sau đó trở lại 1,0% B trong 0,3 phút. Tốc độ dòng: 0,8 ml/phút

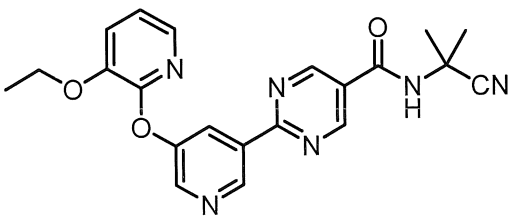
Bảng 2

Ví dụ	Hợp chất Tên	R^3	Các hợp chất trung gian số	MS (ES+) (M+H)	Thời gian lưu (phút) và phương pháp phân tích
3.1	2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-metyl-1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit		1	470	2,310 Phương pháp C
3.2	*N*-(1,3-dihydroxy-2-metylpropan-2-		1	426	1,683 Phương pháp D

	yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit				
3.3	*N*-(1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit		1	456	3,319 Phương pháp E:
3.4	(*S*)-3-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit		2	409	2,517 Phương pháp F:
3.5	2-(5-((3-etoxypyrazin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit		3	411	2,274 Phương pháp C

3.6	2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(2-metyl-1-(metylsulfonyl) propan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit		1	472	2,548 Phương pháp F:
3.7	(*S*)-2-(5-((3-(2-floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit		4	425,9	2,325 Phương pháp F:

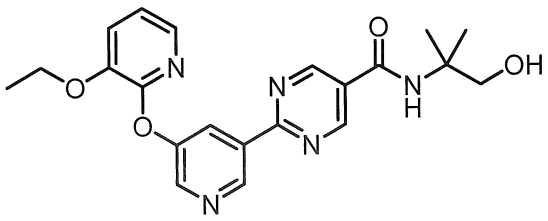
Ví dụ 4: *N*-(2-xyanopropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit



Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp chung B với các hợp chất trung gian 1 (1,0 g, 1,0 đương lượng) và 2-amino-2-metylpropionitril (436 mg, 1,1 đương lượng). Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (50-100% etyl axetat trong heptan) và được xử lý bằng than. Phần cặn thu được

được kết tinh lại từ etyl axetat (8 mL) để thu được *N*-(2-xyanopropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (1,1g, 92%) dưới dạng chất rắn không màu. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1,38 (t, 3H), 1,74 (s, 6H), 4,18 (q, 2H), 7,18 (dd, 1H), 7,57 (dd, 1H), 7,69 (dd, 1H), 8,38 (dd, 1H), 8,66 (d, 1H), 9,18 (br. s, 1H), 9,30 (s, 2H), 9,40 (d, 1H). MS (ES+) 405,3 (M+H).

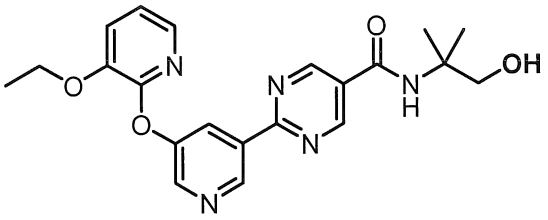
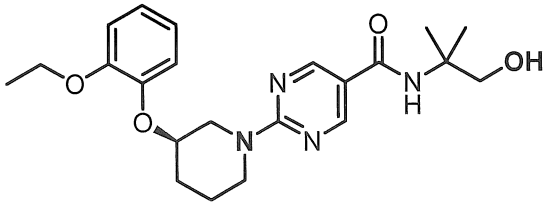
Ví dụ 5: 2-(5-((3-Etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit



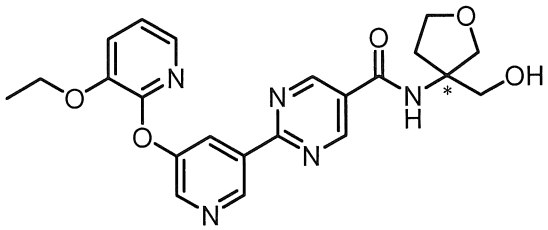
Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp chung A với các hợp chất trung gian 1 (260 mg, 1,0 đương lượng) và 2-amino-2-metylpropan-1-ol (103 mg, 1,5 đương lượng). Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (50-100% etyl axetat trong heptan) và kết tinh lại từ etyl axetat: metanol để thu được 2-(5-((3-Etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl) pyrimidin-5-carboxamit (236 mg, 75%) dưới dạng chất rắn không màu. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ 1,33 (s, 6H), 1,38 (t, 3H), 3,55 (d, 2H), 4,18 (q, 2H), 4,83 (t, 1H), 7,18 (dd, Hz, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 8,04 (br. s, 1H), 8,34-8,37 (m, 1H), 8,64 (d, 1H), 9,22 (s, 2H), 9,39 (d, 1H). MS (ES+) 410,3 (M+H).

Bảng 3 bao gồm profin thanh thải qua gan ($Cl_{int,\ app}$ trong HLM) của ví dụ 5, mà đã thể hiện sự cải thiện đáng kể khi được so sánh với hợp chất ví dụ 19.21 trong WO2015140658. Mức độ thanh thải giảm đáng kể này lớn hơn nhiều so với mức tiên lượng do sự khác biệt về cấu trúc và các giá trị DGAT2 IC_{50} của ví dụ 5 và ví dụ 19.21 của WO2015140658.

Bảng 3. Công hiệu DGAT2 và sự thanh thải qua chuyển hóa trong HLM

Ví dụ số	Công thức	DGAT2 IC_{50} [nM]	$Cl_{int, app}$ trong HLM [µL/phút/mg]
Ví dụ 5		14	18
WO2015140658 Ví dụ 19.21		7,9	121

Các ví dụ 6a và 6b: (*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit và (*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit

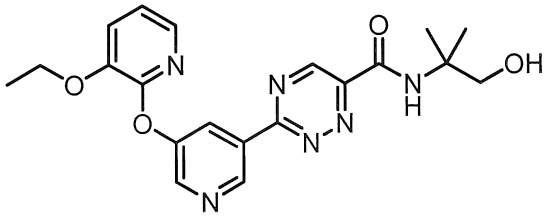


Các hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp chung A với các hợp chất trung gian 1 (840 mg, 1 đương lượng) và (3-aminotetrahydrofuran-3-yl)metanol (320 mg, 1,1 đương lượng). Sản phẩm thô được cho qua nút silic đioxit để thu được raxemat dưới dạng chất rắn màu vàng mà được tách bằng phương pháp tinh chế SFC bất đối: Chiral Tech AD-H 250mm x 4,6mm 5u; đẳng dòng 70% A: cacbon dioxit; pha động trong 30% B: 0,2% isopropylamin trong isopropanol (thể tích/thể tích). Lưu lượng: 60mL/phút; áp suất ngược = 120 Bar (12 Mpa). Đỉnh thứ nhất để rửa giải từ cột là ví dụ 6a, và đỉnh thứ hai là ví dụ 6b.

Chất đồng phân đối ảnh 1: Thời gian lưu SFC= 9,31 phút. (330 mg) Hợp chất này còn được tinh chế thêm bằng sắc ký cột (metanol trong diclometan) sau đó kết tinh lại từ metanol trong etyl axetat để thu được chất đồng phân đối ảnh 6a (218 mg, 20%) dưới dạng chất rắn không màu. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,40 (t, 3H), 2,23 (dt, 1H), 2,29 – 2,37 (m, 1H), 3,82 – 3,91 (m, 2H), 3,92 – 3,95 (m, 2H), 3,96 – 4,04 (m, 2H), 4,17 (q, 2H), 7,19 (dd, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 8,49 (dd, 1H), 8,52 (d, 1H), 9,22 (s, 2H), 9,41 (d, 1H). MS (ES+) 438,3 (M+H).

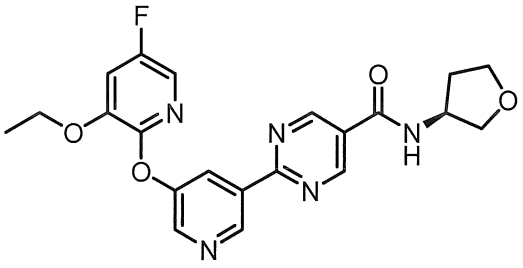
Chất đồng phân đối ảnh 2: Thời gian lưu SFC= 9,59 phút (300 mg). Hợp chất này còn được tinh chế thêm bằng sắc ký cột (metanol trong diclometan) sau đó kết tinh lại từ metanol trong etyl axetat để thu được chất đồng phân đối ảnh 6b (205 mg, 19%) dưới dạng chất rắn không màu. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,40 (t, 3H), 2,23 (dt, 1H), 2,29 – 2,37 (m, 1H), 3,82 – 3,91 (m, 2H), 3,92 – 3,95 (m, 2H), 3,96 – 4,04 (m, 2H), 4,17 (q, 2H), 7,19 (dd, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 8,49 (dd, 1H), 8,52 (d, 1H), 9,22 (s, 2H), 9,41 (d, 1H).MS (ES+) 438,3 (M+H).

Ví dụ 7: 3-{5-[(3-etoxypyridin-2-yl)oxy]pyridin-3-yl}-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit



Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế bằng cách sử dụng quy trình chung A bằng cách sử dụng các hợp chất trung gian 2 (15 mg, 0,04 mmol) và 2-amino-2-metyl-1-propanol (4,73 mg, 0,053 mmol). Sản phẩm thô được tinh chế bằng HPLC điều chế pha đảo để tạo ra hợp chất nêu ở đề mục này (2,8 mg, 16%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,40 (t, 3H), 1,47 (s, 6H), 3,70 (s, 2H), 4,16 (q, 2H), 7,20 (dd, 1H), 7,53 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 8,56-8,58 (m, 1H), 8,61 (d, 1H), 9,32 (s, 1H), 9,48 (d, 1H). MS (ES+) 411,0 (M+H).

Ví dụ 8: (*S*)-2-(5-((3-Etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit



Bước 1: 3-Etoxy-5-flopyridin-1-oxit

Xesi cacbonat (21,6 g, 3,0 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 5-flo-3-pyridinol (25 g, 1,0 đương lượng) và etyl iodua (3,8 g, 1,1 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp được lọc và được cô để thu được 3-etoxy-5-flopyridin (3,1 g, 100%) dưới dạng dầu màu vàng được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Axit *m*-cloperoxybenzoic (5,7g, 1,5 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-etoxy-5-flopyridin (3,1g, 1,0 đương lượng) trong diclometan (50 mL). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Phản ứng được tinh chế trực tiếp bằng sắc ký nhanh (građien: 0-5% metanol trong diclometan) để thu được 3-etoxy-5-flopyridin-1-oxit (3,30 g, 95%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^{1}H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 1,40 (t, 3H), 4,14 (q, 2H), 7,20 (dt, 1H), 7,96-7,98 (m, 1H), 8,04-8,08 (m, 1H).

Bước 2: 2-((5-Bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxy-5-flopyridin

Diisopropyletylamin (3,08 g, 3,8 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 3-etoxy-5-flopyridin-1-oxit (1,0 g, 1,0 đương lượng) và bromotripyrolidinophosphoni hexaflophosphat (3,86 g, 1,3 đương lượng) trong tetrahydrofuran (60 mL) ở 0 °C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Phản ứng được làm ngừng bằng nước (150 mL) và được chiết bằng etyl axetat (3x50 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp được rửa bằng nước muối (100 mL), được làm khô bằng natri sulfat, và được cô. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (građien: 4-24% etyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra 2-((5-bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxy-5-flopyridin (200 mg, 10%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^{1}H NMR (400 MHz, CDCl3) δ 1,48 (t, 3H), 4,12 (q, 2H), 7,04 (dd, 1H), 7,56-7,59 (m, 1H), 7,66-7,67 (m, 1H), 8,41-8,42 (m, 1H), 8,48-8,50 (m, 1H).

Bước 3: Etyl 2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat

Bis(pinacolato)dibo (243 mg, 1,2 đương lượng), kali axetat (235 mg, 3,0 đương lượng), và phức hợp [1,1'-Bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) với diclometan (29 mg, 0,05 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch 2-((5-bromopyridin-3-yl)oxy)-3-etoxy-5-flopyridin (250 mg, 1,0 đương lượng) trong dioxan (5 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Phản ứng được khuấy ở 100 °C trong 2 giờ và sau đó được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng etyl axetat (60 mL) và được lọc qua xelit. Dịch lọc được cô đến phần cặn sau đó được pha loãng bằng dioxan (5 mL) và nước (1 mL). Phức hợp Etyl 2-cloropyrimidin-5-carboxylat (164 mg, 1,1 đương lượng), [1,1'-Bis(diphenylphosphino) feroxen] diclopaladi (II) với diclometan (18 mg, 0,03 đương lượng), và kali cacbonat (166 mg, 1,5 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và thể huyền phù tạo thành được khuấy ở 80 °C trong 2 giờ sau đó để yên ở nhiệt độ trong phòng trong 4 ngày. Phản ứng được phân bố giữa etyl axetat (30 mL) và nước (50 mL) và được chiết bằng etyl axetat (2x30 mL). Lớp hữu cơ được tách, được rửa bằng nước muối (50 mL), được làm khô bằng natri sulfat, lọc, và cô để tạo ra nguyên liệu thô mà được tinh chế bằng TLC điều chế (5:1 ete dầu mỏ: etyl axetat) để thu được etyl 2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat (50 mg, 16%). MS (ES+) 385,0 (M+H).

Bước 4: Axit 2-(5-((3-Etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic

Natri hydroxit (0,20 mL, 3,0 đương lượng, 2M) được bổ sung vào etyl 2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylat (50 mg, 1,0 đương lượng) trong etanol (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 25 °C trong 16 giờ. Dung dịch được pha loãng bằng nước (50 mL) và được chiết bằng etyl axetat (3x30 mL). Lớp nước được axit hóa bằng axit clohydric (2N) đến độ pH=3. Dung dịch được chiết bằng etyl axetat (15 mL), được làm khô bằng natri sulfat, và được cô để thu được axit 2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (25 mg, 54%) dưới dạng chất rắn màu vàng. MS (ES+) 357,0 (M+H).

Bước 5: (*S*)-2-(5-((3-Etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit

Hợp chất được nêu ở tiêu đề này được điều chế theo quy trình chung A bằng cách sử dụng axit 2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxylic (25 mg, 1,0 đương lượng) và (*S*)-tetrahydrofuran-3-amin (18,3 mg, 3,0 đương lượng). Nguyên liệu thô được tinh chế bằng HPLC điều chế để thu được (*S*)-2-(5-((3-etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit (20 mg, 67%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ 1,38 (t, 3H), 1,87 – 2,00 (m, 1H), 2,14 – 2,28 (m, 1H), 3,65 (dd, 1H), 3,70 – 3,79 (m, 1H), 3,83 – 3,94 (m, 2H), 4,21 (q, 2H), 4,46 – 4,56 (m, 1H), 7,65 – 7,74 (m, 2H), 8,37 (dd, 1H), 8,65 (d, 1H), 8,98 (d, 1H), 9,29 (s, 2H), 9,40 (d, 1H). MS (ES+) 425,9 (M+H).

DỮ LIỆU DƯỢC LÝ

Các quy trình sau đây có thể được thay đổi bởi người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này.

Tạo cấu trúc DGAT2 người (hDGAT2)

Cấu trúc hDGAT2 được tạo ra với đuôi FLAG tận cùng bằng N (octapeptit với trình tự axit amin AspTyrLysAspAspAspAspLys). Đối với cấu trúc hDGAT2 được gắn đuôi FLAG, cADN của hDGAT2 được tổng hợp theo cách thông thường ở Genscript và tách dòng vào vectơ pFastBac1 (Invitrogen) bằng cách sử dụng các enzym giới hạn BamHI/XhoI để tạo ra cấu trúc pFastBac1-FLAG-hDGAT2 được gắn đuôi FLAG tận cùng bằng N (các axit amin 1-388). Cấu trúc này được xác nhận bằng cách giải trình tự theo cả hai chiều.

Biểu hiện DGAT2 và chuẩn bị phân đoạn màng của DGAT2

Baculovirut tái tổ hợp đối với hDGAT2 đuôi FLAG được tạo ra trong các tế bào côn trùng SF9 bằng cách sử dụng hệ biểu hiện Bac-to-Bac baculovirut (Invitrogen) theo quy trình của nhà sản xuất. Để biểu hiện hDGAT2, các tế bào SF9 (20 L) được nuôi trong môi trường Sf900II được nhiễm hDGAT2 baculovirut ở liều gây nhiễm là 1 trong túi tạo sóng Wave Bioreactor System 20/50P (GE Healthcare). Sau khi lây nhiễm trong 40 giờ, các tế bào được thu hoạch bằng cách ly tâm ở 5.000 x g. các viên tế bào được rửa bằng

cách tạo huyền phù trong nước muối đệm phosphat (phosphat buffered saline PBS) và được thu gom bằng cách ly tâm ở 5.000 x g. Hồ tế bào được đông lạnh nhanh trong N_2 lỏng và được lưu giữ ở -80 °C cho đến khi cần. Tất cả các thao tác đều thực hiện ở nhiệt độ dưới 4 °C trừ khi được lưu ý khác. Các tế bào được tạo huyền phù lại trong dung dịch đệm phân giải (Tris-HCl 50 mM, độ pH=8,0, sucroza 250 mM) chứa axit etylendiamintetraaxetic 1mM (EDTA) và hỗn hợp chất ức chế proteaza hoàn chỉnh (Roche Diagnostics) ở tỷ lệ 3 ml chất đệm cho mỗi 1 g hồ tế bào. Các tế bào được phân giải bằng dụng cụ đồng hóa dounce. Mảnh tế bào được lấy ra bằng cách ly tâm ở 1.000 x *g* trong 20 phút, và dịch nổi được ly tâm ở 100.000 x *g* trong 1 giờ. Phần lắng thu được được rửa ba lần bằng cách nạp đầy ống siêu ly tâm bằng PBS lạnh băng trước khi gạn. Phần lắng đã rửa được tạo huyền phù lại bằng cách khuấy nhẹ trong 1 giờ trong dung dịch đệm phân giải chứa 8 mM 3-[(3-cholamidopropyl)dimetylamonio]-1-propanesulfonat (CHAPS) với tỷ lệ 1 mL đệm trên 1 g hồ tế bào ban đầu và ly tâm lại ở 100.000 x g trong 1 giờ. Dịch nổi được chia thành các phần phân ước, được làm đông lạnh nhanh trong N_2 lỏng, và được lưu giữ ở -80 °C cho đến khi sử dụng.

Thử nghiệm DGAT2 *In Vitro* và xác định giá trị IC_{50} của chất ức chế DGAT2

Để xác định các giá trị IC_{50}, các phản ứng được tiến hành trong đĩa Polyplates màu trắng 384 lỗ (Perkin Elmer) trong tổng thể tích 20 µL. Bổ sung 5 µL huyết thanh bò 0,04% (BSA) (không chứa axit béo, Sigma Aldrich) được vào 1 µL hợp chất được hòa tan trong 100% DMSO và được đưa vào đáy của mỗi lỗ, và hỗn hợp được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Các phân đoạn màng hDGAT2 được pha loãng trong Hepes-NaOH 100 mM, độ pH=7,4, $MgCl_2$ 20 mM chứa metyl arachidonyl flophosphonat 200 nM (Cayman Chemical; được làm khô từ dung dịch gốc etyl axetat trong khí argon và được pha loãng trong DMSO dưới dạng gốc 5 mM). 10 µL dung dịch hoạt động enzym này được bổ sung vào các đĩa và được ủ liên tục trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các phản ứng DGAT2 được khơi mào bằng cách bổ sung 4 µL cơ chất chứa 30 µM [1-^{14}C]decanoyl-CoA (được tổng hợp theo cách thông thường bởi Perkin Elmer, 50 mCi/mmol) và 1,2-didecanoyl-*sn*-glyxerol 125 µM (Avanti Polar Lipids) được hòa tan trong axeton 12,5%. Hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút và các phản ứng được ngừng bằng cách bổ sung 5µL H_3PO_4 1%. Sau khi bổ sung 45 µL

MicroScint-E (Perkin-Elmer), các đĩa được đậy kín bằng nắp Top Seal-A (Perkin-Elmer) và tách pha cơ chất và sản phẩm bằng máy lắc quỹ đạo vi đĩa HT-91100 (Big Bear Automation, Santa Clara, CA). Các đĩa được ly tâm ở 2.000 x g trong 1 phút trong thiết bị ly tâm Allegra 6R (Beckman Coulter) và sau đó đậy kín lại bằng nắp mới trước khi đọc trong máy đếm nhấp nháy 1450 Microbeta Wallac Trilux (Perkin Elmer). Hoạt tính DGAT2 được xác định bằng cách định lượng sản phẩm được tạo ra [^{14}C]tridecanoylglyxerol trong pha hữu cơ bên trên.

Hoạt tính nền thu được bằng cách sử dụng 50 µM (*R*)-1-(2-((*S*)-1-(4-Chloro-1*H*-pyrazol-1-yl)etyl)-3*H*-imidazo[4,5-b]pyridin-5-yl)piperidin-3-yl)(pyrolidin-1-yl)metanon (WO 2013150416, ví dụ 196-A) để ức chế hoàn toàn DGAT2 được trừ đi từ tất cả các phản ứng. Các chất ức chế được thử nghiệm từ mười một nồng độ khác nhau để tạo ra các giá trị IC_{50} cho mỗi hợp chất. Mười một nồng độ chất ức chế được sử dụng thường bao gồm 50, 15,8, 5, 1,58, 0,50, 0,16, 0,05, 0,016, 0,005, 0,0016, và 0,0005 µM. Dữ liệu được lập đồ thị dưới dạng tỷ lệ phần trăm ức chế theo nồng độ chất ức chế và khớp với phương trình, $y = 100/[1 + (x/IC_{50})^z]$, trong đó IC_{50} là nồng độ chất ức chế ở mức độ ức chế 50% và z là độ dốc Hill (độ dốc của đường cong ở điểm uốn cuối).

Bảng 4 dưới đây đưa ra các giá trị IC_{50} của các hợp chất ví dụ trong ức chế DGAT2 theo thử nghiệm được mô tả trên đây. Các kết quả được thông báo dưới dạng giá trị IC_{50} trung bình hình học.

Bảng 4. Các giá trị IC_{50} của các hợp chất Ví dụ trong việc ức chế DGAT2

Ví dụ số	**IC_{50} DGAT2 [nM]**
1	17,2
2	200
3.1	13,5
3.2	83,6
3.3	196
3.4	181
3.5	238
3.6	35,4
3.7	66,5

4	7,4
5	14,0
6a	20,9
6b	23,2
7	83,0
8	3,7

Xác định giá trị IC_{50} của các chất ức chế DGAT2 trong tế bào gan người

Để đánh giá hiệu quả của các chất ức chế DGAT2 trên cơ sở tế bào, các tế bào gan người được bảo quản lạnh đông (Lot NON và EBS, Celsis, Chicago, IL) được làm tan băng và trải đĩa trên các đĩa loại I phủ colagen theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau giai đoạn phục hồi qua đêm kéo dài 24 giờ, các tế bào được đổ một lớp môi trường chứa 250 µg/ml Matrigel (BD Biosciences, San Jose, CA) lên trên. Ngày tiếp theo, môi trường được hút ra và thay bằng môi trường Williams E không chứa huyết thanh (Life Technologies, Grand Island, NY) chứa 400 µM natri dodecanoat (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Bốn mươi lăm phút sau, chất ức chế DGAT1 chọn lọc (ví dụ 3, WO2009016462, được điều chế dưới dạng dung dịch gốc 100X trong 25% DMSO, 75% môi trường Williams E) được bổ sung vào đến nồng độ mong muốn (3 µM) mà ức chế hoàn toàn hoạt tính DGAT1 nội sinh. Sau đó các chất ức chế DGAT2 được bổ sung đến nồng độ mong muốn cuối cùng. Sau khi ủ trước 15 phút, 0,2 µCi [1,3-^{14}C]-glyxerol (American Radio Chemicals, St. Louis, MO) được bổ sung vào từng lỗ sau đó ủ trong 3 giờ. Ở thời điểm này, môi trường được loại bỏ, các tế bào được rửa sạch một lần bằng PBS và sau đó được phân giải trong rượu isopropylic: tetrahydrofuran (9:1) trước khi ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút. Các lipit được đánh dấu phóng xạ được phân giải bằng cách sử dụng hệ 2 dung môi bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng với dung môi 1 chứa etyl axetat: rượu isopropylic: cloroform: metanol: kali clorua 0,25% trong nước (100:100:100:40,2:36,1, thể tích/thể tích/thể tích/thể tích) và dung môi 2 chứa hexan: dietyl ete: axit axetic (70:27:3, thể tích/thể tích/thể tích)). Các đĩa TLC được hiện trong dung môi 1 một phần ba chiều cao đĩa, đĩa này được làm khô bằng nitơ và sau đó được hiện lên trên đỉnh đĩa. Sau khi tách, các lipit được đánh dấu phóng xạ được hiện hình bằng hệ thống Molecular Dynamics PhosphorImager. Các nồng độ ức chế bán tối đa (giá

trị IC_{50}) được xác định bằng cách sử dụng phần mềm GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA) sử dụng hàm Hill với các đường cơ bản cố định = 0 (đối chứng chất dẫn thuốc) độ dốc Hill = 1.

Trong mô hình này, ví dụ 1 thể hiện giá trị IC_{50} trung bình hình học là 2,8 nM (N=10).

Hiệu quả in vivo của các chất ức chế DGAT2 đối với mức triglyxerit trong huyết tương và gan

Mô hình chế độ ăn kiểu phương tây trên chuột được sử dụng để đánh giá hiệu quả trong thời gian dài của việc điều trị bằng chấ ức chế DGAT2 lên việc sản xuất triglyxerit trong huyết tương và hàm lượng triglyxerit trong gan. Các chuột Sprague-Dawley đực được nhốt trong các điều kiện phòng thí nghiệm chuẩn với chu kỳ 12 giờ sáng, 12 giờ tối (đèn bật lúc 06:00). Hai tuần trước khi bắt đầu nghiên cứu, chuộ được ăn chế độ ăn nhiều chất béo, nhiều cholesterol (D12079b, Research Diets, New Brunswick, NJ). Chế độ ăn này cung cấp khoảng 43% kilocalo từ hydrat cacbon và khoảng 41% kilocalo từ chất béo. Các chất ức chế DGAT2 được dùng qua đường miệng dưới dạng dung dịch (thể tích liều 10 mL/kg) trong 0,5% HPMCAS-HF và 0,015% SLS trong nước khử ion, độ pH=8,5 (metylxenluloza và hydroxytoluen butyl hóa thu được từ Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Động vật được điều trị bằng chất dẫn chỉ được nhận dung dịch nước 0,5% HPMCAS-HF và 0,015% SLS trong nước khử ion, độ pH=8,5. Các chất ức chế DGAT2 được dùng qua đường miệng hai lần mỗi ngày trong 7 ngày lúc 08:00 và 16:00 ở nồng độ 1, 3, 10, 30 và 90 mg/kg. Vào ngày 8, tất cả động vật bị bỏ đói lúc 06:00, được dùng theo liều chất dẫn hoặc các chất ức chế DGAT2 lúc 10:00 và bị giết 2 giờ sau khi dùng theo liều. Chuột bị giết bằng cách làm ngạt bằng cacbon dioxit và máu được thu gom qua tĩnh mạch đuôi bên. Mức TG huyết tương được xác định bằng cách sử dụng máy phân tích Roche Hitachi Chemistry theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Roche Diagnostics Corporation, Indianapolis, IN) và dữ liệu được phân tích bằng cách sử dụng GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA). Thu gom mẫu gan để xác định hàm lượng triglyxerit gan được cắt tại thời điểm giết, được đông lạnh ngay trong nitơ lỏng, và được giữ ở nhiệt độ -80 ˚C cho đến khi phân tích. Để đánh giá mức triglyxerit trong mô lát cắt gan được cuộn trong màng nhôm được nghiền bằng búa, trên khối nhôm nóng trong bồn nitơ lỏng. Việc nghiền mô gan tạo ra bột đồng nhất. Chất đệm đồng nhất, Tris độ pH=7,4,

98,9 ml NaCl 0,9% và 100 microlit Triton X 100, được trộn trên đĩa khuấy trong 10 phút trước khi sử dụng. Mẫu nặng khoảng 100 mg mô gan đồng nhất được cân và đặt vào ống Lysing Matrix D (MP Biomedicals, Cat #6913-100) với 1 mL chất đệm đồng nhất. Sau đó tất cả các mẫu đều được đặt vào FastPrep FP120 (MP Biomedicals, Cat #6001-120) trong 2 phút cho đến khi mô được đồng nhất thực sự. Sau đó tất cả các mẫu được quay tròn trong 30 giây ở 10.000 g, để làm sạch bọt từ quá trình đồng nhất. 50 microlit mẫu được chuyển sang đĩa trộn vô trùng với 450 microlit nước muối đệm phosphat Dulbeccos (DPBS) để tạo ra độ pha loãng 1:10. Khi tạo huyền phù lại mẫu mới, tất cả các mẫu được chuyển sang ống lấy mẫu của thiết bị phân tích lâm sàng Siemens Advia XPT. Thử nghiệm triglyxerit được thực hiện thông qua việc hấp thụ và thông báo dưới dạng milligam cho mỗi dexilit. Sau đó triglyxerit được chuẩn hóa cho mỗi gam mô trong Microsoft Excel.

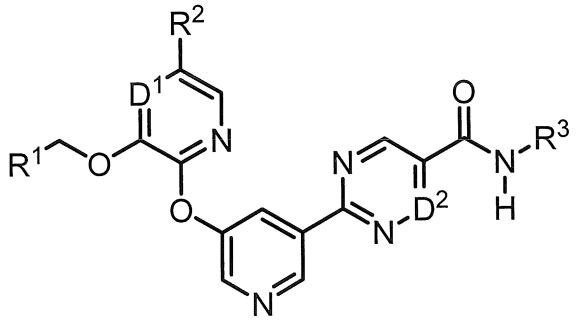
Các Fig. 3 và 4 tóm tắt hiệu quả của việc dùng qua đường miệng với hợp chất ví dụ 1 lên mức triglyxerit trong huyết tương và trong gan ở chuột Sprague Dawley được ăn chế độ ăn kiểu phương tây bằng cách phương pháp được mô tả ở trên. Dữ liệu là độ lệch chuẩn trung bình ± từ 8 động vật. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình của nhóm so với chất dẫn được thực hiện bằng kiểm định ANOVA 1 bên sau đó là kiểm định nhiều so sánh Dunnett **p<0,01, ****p<0,0001.

Trong đơn sáng chế này, các công bố khác nhau được viện dẫn. Toàn bộ nội dung của các công bố này được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn cho tất cả các mục đích.

Sẽ là rõ ràng với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực rằng các cải biến và các thay đổi khác nhau có thể được tạo ra đối với sáng chế mà không lệch khỏi tinh thần hoặc phạm vi của sáng chế. Các phương án khác theo sáng chế sẽ rõ ràng với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực này thông qua việc xem xét bản mô tả và thực hành sáng chế được bộc lộ ở đây. Dự định rằng bản mô tả và các ví dụ được xem là chỉ nhằm mục đích minh họa, với phạm vi và tinh thần thực sự của sáng chế được chỉ ra bằng các yêu cầu bảo hộ sau đây.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



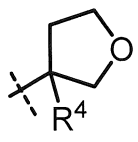
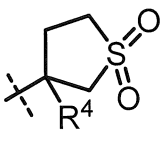
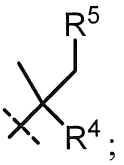
(I)

trong đó:

mỗi nhóm D^1 và D^2 độc lập là N hoặc CH;

R^1 là H, hoặc (C_1-C_2)alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ flo và (C_3-C_6)xycloalkyl;

R^2 là H hoặc flo;

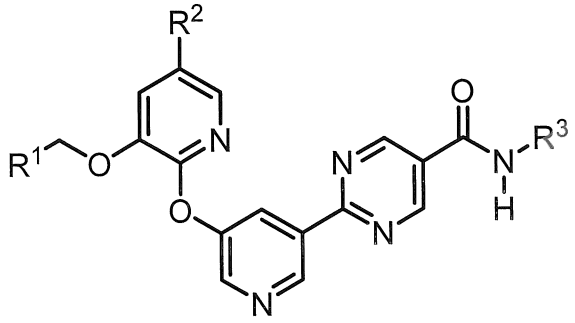
R^3 là,  ,  hoặc  ;

R^4 là H, xyano, hoặc (C_1-C_4)alkyl tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế, mỗi phần tử thế độc lập được chọn từ –OH và -$S(O)_2R^6$;

R^5 là H hoặc -OH; và

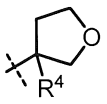
R^6 là (C_1-C_4)alkyl; hoặc muối dược dụng của nó.

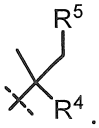
2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức (Ia):



(Ia)

hoặc muối dược dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R^3 là  .

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R^3 là  .

5. Hợp chất theo điểm 3 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R^1 là metyl.

6. Hợp chất theo điểm 4 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R^1 là metyl.

7. Hợp chất theo điểm 6 hoặc muối dược dụng của nó, trong đó R^4 là H,-CH_2OH, hoặc xyano.

8. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

(*S*)-2-(5-((3-Etoxy-5-flopyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

N-(2-xyanopropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-metyl-1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(2-metyl-1-(metylsulfonyl)propan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-2-(5-((3-(2-floetoxy)pyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

3-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit;

N-(1,3-dihydroxy-2-metylpropan-2-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*S*)-3-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)-1,2,4-triazin-6-carboxamit;

N-(1,1-dioxidotetrahydrothiophen-3-yl)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

(*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit; hoặc

2-(5-((3-etoxypyrazin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(1-hydroxy-2-metylpropan-2-yl)pyrimidin-5-carboxamit;

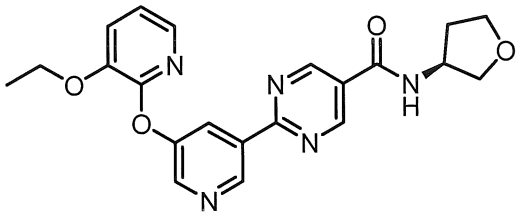
hoặc muối dược dụng của nó.

9. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

(*R*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit;(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit; hoặc

(*S*)-2-(5-((3-etoxypyridin-2-yl)oxy)pyridin-3-yl)-*N*-(3-(hydroxymetyl)tetrahydrofuran-3-yl)pyrimidin-5-carboxamit, hoặc muối dược dụng của nó.

10. Hợp chất có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

11. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của hợp chất này, có mặt với lượng hữu hiệu điều trị, kết hợp với ít nhất một tá dược dược dụng.

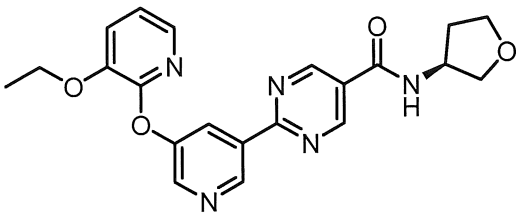
12. Dược phẩm theo điểm 11, trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất chống viêm, chất chống đái tháo đường, và chất điều chỉnh lượng cholesterol/lipit.

13. Dược phẩm theo điểm 12, trong đó dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế axetyl-CoA carboxylaza-(ACC), chất ức chế diaxylglyxerol *O*-axyltransferaza 1 (DGAT-1), chất ức chế monoaxylglyxerol O-axyltransferaza, chất ức chế phosphodiesteraza (PDE)-10, chất hoạt hóa AMPK, sulfonylure, meglitinit, chất ức chế α-amylaza, chất ức chế α-glucosit hydrolaza, chất ức chế α-glucosidaza, chất chủ vận PPARγ, chất chủ vận PPAR α/γ, biguanide, chất điều biến peptit giống glucagon 1 (GLP-1), liraglutide, albiglutide, exenatide, albiglutide, lixisenatide, dulaglutide, semaglutide, chất ức chế protein tyrosin phosphataza-1B (PTP-1B), chất hoạt hóa SIRT-1, chất ức chế dipeptidyl peptideaza IV (DPP-IV), chất kích thích tiết insulin, chất ức chế oxy hóa axit béo, chất đối kháng A2, chất ức chế c-jun kinaza tận cùng là amino (JNK), chất hoạt hóa glucokinaza (GKa), insulin, chất giả insulin, chất ức chế glycogen phosphorylaza, chất chủ vận thụ thể VPAC2, chất ức chế SGLT2, chất điều biến thụ thể glucagon, chất điều biến GPR119, dẫn xuất hoặc chất tương tự FGF21, chất điều biến thụ thể TGR5, chất điều biến thụ thể GPBAR1, chất chủ vận GPR40, chất điều biến GPR120, chất hoạt hóa thụ thể axit nicotinic ái lực cao (HM74A), chất ức chế SGLT1, chất ức chế hoặc chất điều biến enzym carnitin palmitoyl transferaza, chất ức chế fructoza 1,6-diphosphataza, chất ức chế aldoza reductaza, chất ức chế thụ thể mineralocorticoit, chất ức chế TORC2, chất ức chế CCR2 và/hoặc CCR5, chất ức chế các dạng tương đồng PKC (ví dụ PKCα, PKCβ, PKCγ), chất ức chế synthetaza của axit béo, chất ức chế serin palmitoyl transferaza, chất điều biến GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1.3, protein

liên kết retinol 4, thụ thể glucocorticoit, thụ thể somatostain, chất ức chế hoặc chất điều biến PDHK2 hoặc PDHK4, chất ức chế MAP4K4, chất điều biến họ IL1 bao gồm chất ức chế IL1beta, HMG-CoA reductaza, chất ức chế squalen synthetaza, fibrat, chất cô lập axit mật, chất ức chế ACAT, chất ức chế MTP, chất ức chế lipooxygenaza, chất ức chế hấp thu choesterol, chất điều biến PCSK9, chất ức chế protein vận chuyển cholesteryl este và chất điều biến RXRalpha.

14. Dược phẩm theo điểm 11, trong đó dược phẩm này còn chứa ít nhất một dược chất bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm xysteamin hoặc muối dược dụng của nó, xystamin hoặc muối dược dụng của nó, chất chống oxy hóa, lexitin, vitamin B tổng hợp, chế phẩm muối mật, chất đối kháng của thụ thể Cannabinoit-1 (CB1), chất chủ vận ngược của thụ thể Cannabinoit-1 (CB1), chất điều hòa hoạt tính thụ thể được hoạt hóa bởi chất tăng sinh peroxisom, hợp chất benzothiazepin hoặc benzothiepin, cấu trúc đối nghĩa ARN để ức chế protein tyrosin phosphataza PTPRU, piperidin được thế được liên kết với nguyên tử khác loại và dẫn xuất của nó, dẫn xuất azaxyclopentan có khả năng ức chế stearoyl-coenzym alpha delta-9 desaturaza, hợp chất axylamit có hoạt tính kích thích tiết hoặc cảm ứng hoạt tính của adiponectin, hợp chất amoni bậc bốn, Glatiramer axetat, pentraxin protein, chất ức chế HMG-CoA reductaza, n-axetyl xystein, hợp chất isoflavon, chất kháng sinh vòng lớn, chất ức chế galectin, kháng thể, hoặc tổ hợp bất kỳ của chúng.

15. Hợp chất ở dạng tinh thể, trong đó hợp chất này được thể hiện bởi công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

16. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng tinh thể này có mẫu nhiễu xạ bột tia X bao gồm các giá trị đo được ở góc 2-theta là (bức xạ CuKα, chiều dài bước sóng bằng 1, 54056 Å) 5,3 ± 0,2, 7,7 ± 0,2, và 15,4 ± 0,2.

17. Hợp chất theo điểm 15, trong đó hợp chất ở dạng tinh thể này có mẫu nhiễu xạ bột tia X bao gồm các giá trị đo được ở góc 2-theta là (bức xạ CuKα, chiều dài bước sóng bằng 1, 54056Å) 6,5 ± 0,2, 9,3 ± 0,2, và 13,6 ± 0,2.

FIG. 1

Mẫu PXRD của tinh thể dạng 1 của hợp chất ví dụ 1

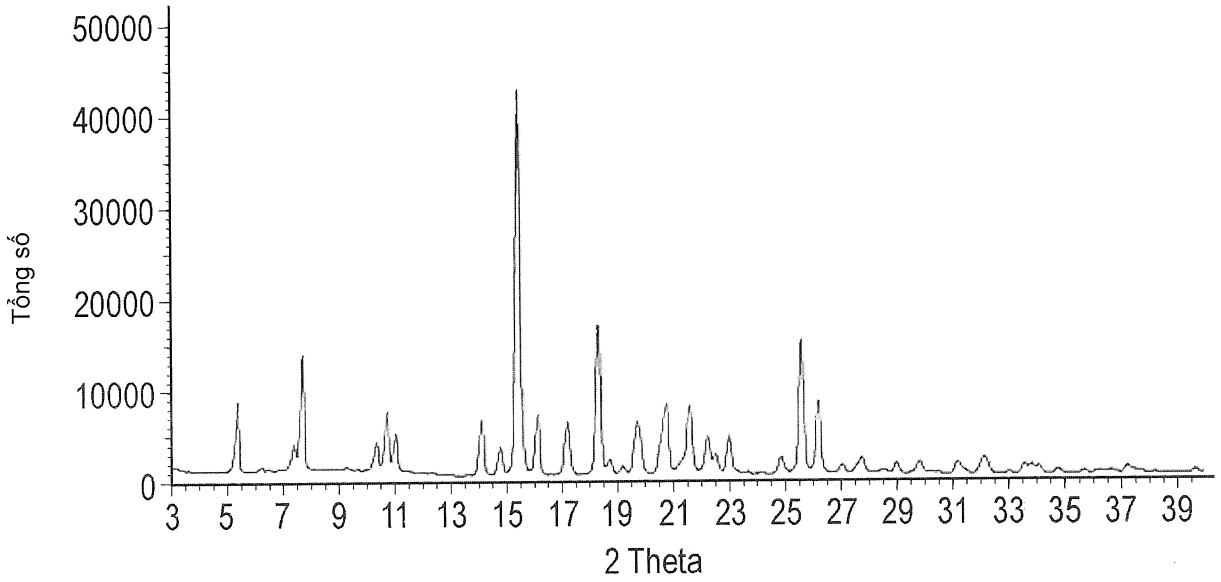


FIG. 2

Mẫu PXRD của tinh thể dạng 2 của hợp chất ví dụ 1

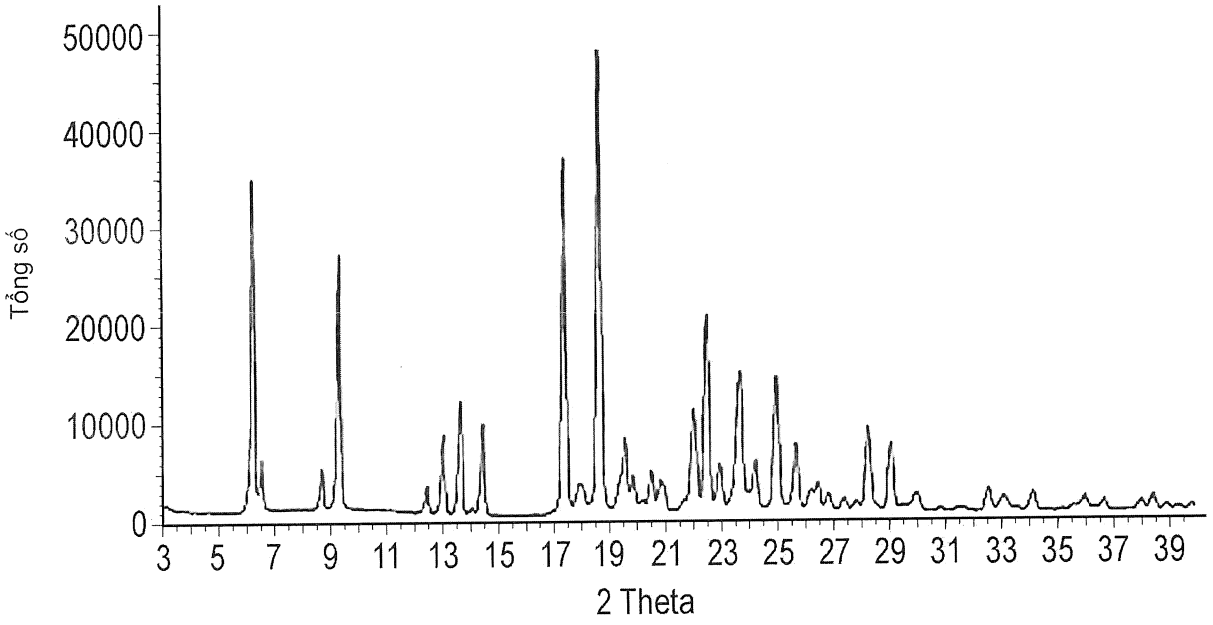


FIG. 3

Hiệu quả của hợp chất ví dụ 1 lên Triglyxerit trong huyết tương ở chuột Sprague-Dawley được ăn chế độ ăn phương Tây

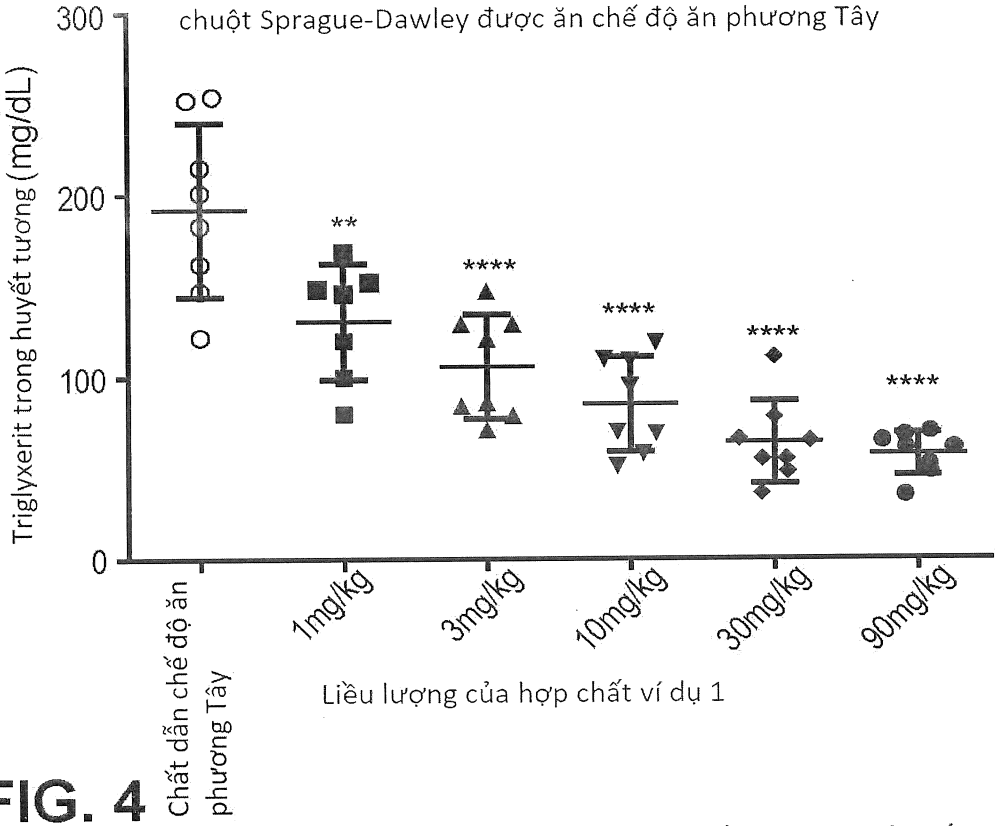
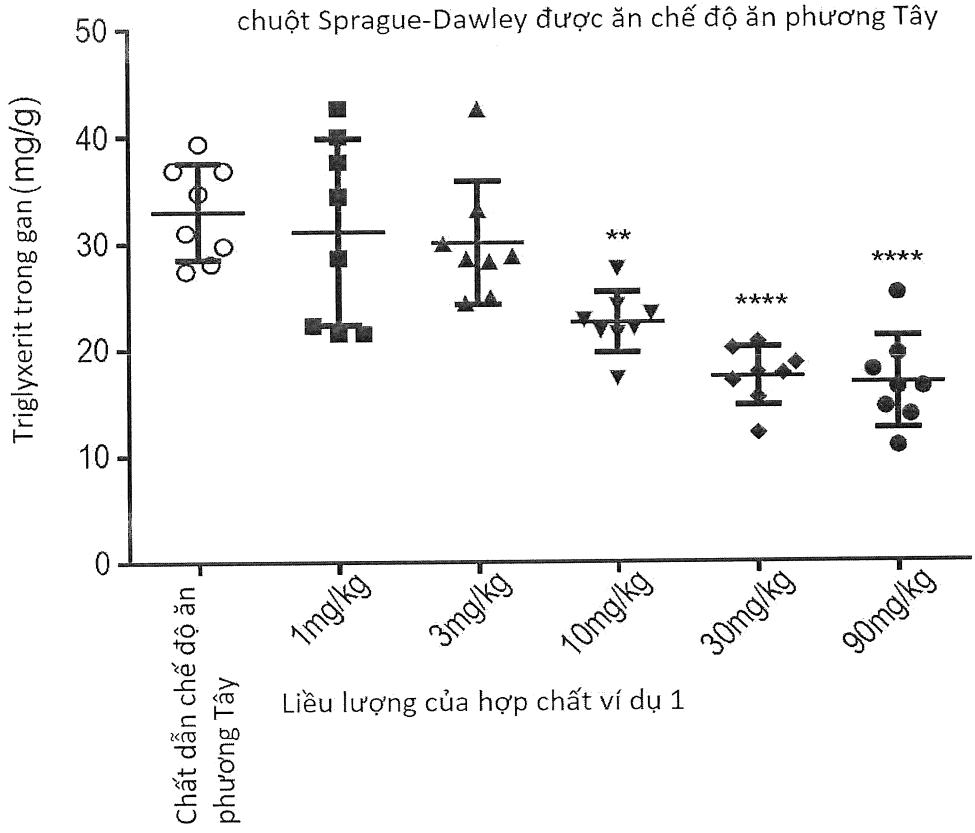


FIG. 4

Hiệu quả của hợp chất ví dụ 1 lên Triglyxerit trong huyết tương ở chuột Sprague-Dawley được ăn chế độ ăn phương Tây