



(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)



1-0034986

(51)⁷ A61K 31/33; C07D 401/02; C07D
209/04

(13) B

(21) 1-2020-00289

(22) 15/01/2020

(45) 27/03/2023 420

(43) 25/06/2020 387ASC

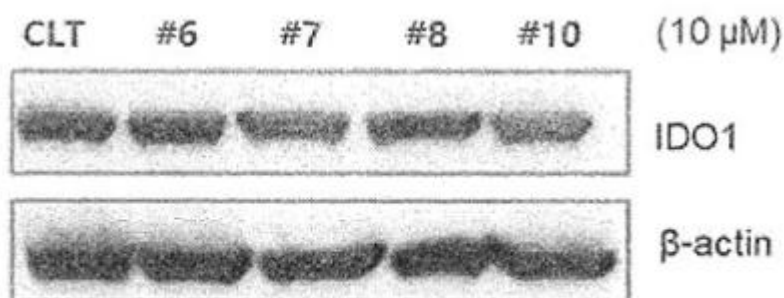
(73) Trần Phương Thảo (VN)

Căn 12A tầng 31 nhà P12, khu đô thị Vinhomes Timescity Park Hill, số 25 ngõ 13
đường Lĩnh Nam, phường Mai Động, quận Hoàng Mai, thành phố Hà Nội

(72) Trần Phương Thảo (VN); Hoàng Văn Hải (VN); Ngô Xuân Hoàng (VN).

(54) HỢP CHẤT INDAZOL, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ, VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA
HỢP CHẤT NÀY ĐỂ ĐIỀU TRỊ CÁC BỆNH LIÊN QUAN TỚI INDOLEAMIN
2,3-DIOXYGENAZA 1

(57) Sáng chế đề cập đến các dẫn chất indazol mới. Cụ thể, các dẫn chất thế tại vị trí 6-
amino, quy trình điều chế và dược phẩm chứa các dẫn chất này trong phòng và điều trị ung
thư, các bệnh liên quan tới rối loạn miễn dịch thông qua enzym indoleamin 2,3-
dioxygenaza 1 (IDO1) và quá trình ức chế chu trình tế bào.



Tác dụng của dẫn chất indazol

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các dẫn chất indazol mới. Cụ thể, các dẫn chất thế tại vị trí 6-amino, quy trình điều chế và dược phẩm chứa các dẫn chất này trong phòng và điều trị ung thư, các bệnh liên quan tới rối loạn miễn dịch thông qua enzym indoleamin 2,3-dioxygenaza 1 (IDO1) và quá trình ức chế chu trình tế bào.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Indoleamin 2,3-dioxygenaza 1 (IDO1) cùng với indoleamin 2,3-dioxygenaza 2 (IDO2) và tryptophan indoleamin 2,3-dioxygenaza (TDO) là một trong ba enzym tham gia vào quá trình oxy hóa mở vòng hợp chất tryptophan thành N-formyl kynurenin. Đó là bước đầu tiên của con đường kynurenin có vai trò chủ đạo trong điều hòa lượng axit amin thiết yếu tryptophan của cơ thể. IDO1 được tìm thấy trong một số tế bào của cơ thể như các tế bào hệ miễn dịch, tế bào nội mô và đặc biệt là trong nhiều loại tế bào ung thư: trực tràng, phổi, tim, vú, ... Đó là 1 enzym phụ thuộc vào hem, với cấu trúc hem là cấu trúc lõi của vùng xúc tác và tham gia vào việc oxy hóa cơ chất. Cấu trúc của enzym và vùng xúc tác của IDO1 đã được nghiên cứu thông qua phương pháp nhiễu xạ tia X phức hợp tinh thể enzym- chất ức chế. Cụ thể có thể xem thêm các bài báo sau: Tojo S và cộng sự, *ACS Med Chem Lett.* 2014;5(10):1119-23; Peng Y-H và cộng sự, *J Med Chem.* 2015;59(1):282-93; Wu Y và cộng sự, *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;487(2):339-43; Lewis-Ballester A và cộng sự, *Nat Commun.* 2017;8(1):1693.

Điều trị ung thư hiện nay thường đi theo con đường truyền thống là kết hợp xạ trị, hóa trị và phẫu thuật loại bỏ. Phương pháp điều trị này thường gây độc tính cao trên các tế bào lành tính dẫn đến nhiều tác dụng phụ nặng nề, thường tái phát ảnh hưởng tới chất lượng cuộc sống bệnh nhân. Gần đây phương pháp điều trị tại đích đang dần được sử dụng trên lâm sàng để thay thế cho hóa trị và đã thu được hiệu quả điều trị tích cực đặc biệt là giảm tác dụng phụ do tính chọn lọc của thuốc. Nhưng hiện tượng kháng thuốc lại là vấn đề đáng lo ngại của nhóm thuốc trên. Do đó, tìm kiếm phương pháp điều trị mới là cấp bách trong điều trị ung thư. Gần đây, phương pháp điều trị dựa trên hệ miễn dịch đang được nghiên cứu và bắt đầu đưa vào sử dụng. Ý tưởng của phương pháp trên là dựa trên mối quan hệ giữa tế bào ung thư và hệ miễn dịch. Mặc dù hệ miễn dịch luôn tìm cách phát hiện và tiêu diệt tế bào ung thư nhưng tế bào ung thư luôn tìm cách lẩn trốn hệ miễn dịch để tồn tại và phát triển thông qua một số cơ chế nhất định. Liệu pháp ung thư hiện

đại có vai trò loại bỏ cơ chế lẫn trốn giúp hệ miễn dịch tiêu diệt tế bào ung thư. Liệu pháp này được hi vọng chọn lọc và ít độc tính hơn so với các liệu pháp điều trị khác.

IDO1 là 1 enzym đóng vai trò quan trọng trong sinh lý bệnh ung thư, giúp ung thư lẫn trốn hệ miễn dịch. Các tế bào ung thư tạo ra 1 lượng lớn IDO1 xung quanh thông qua phản ứng với các tác nhân của hệ miễn dịch như tác nhân gây viêm, các cytokin hay là interferon, đặc biệt là interferon gama của lympho T. Dưới tác động của tác nhân này, lượng lớn IDO1 tạo ra xúc tác quá trình oxi hóa tryptophan của con đường kynurenin gây thiếu hụt tryptophan. Tryptophan là axit amin thiết yếu của cơ thể, cơ thể chỉ có thể thu được thông qua ăn uống mà không có khả năng sinh tổng hợp. Sự thiếu hụt gây ức chế hoạt động, sự trưởng thành cũng như phân chia của tế bào lympho. Thêm vào đó, các sản phẩm của chu trình kynurenin cũng gây độc tế bào lympho, tăng số lượng lympho điều hòa (T regulatory cells, hay còn gọi là Treg) thành thực; là lympho điều hòa ức chế hệ miễn dịch.

Ngoài ra, IDO1 còn đóng vai trò trong các bệnh lý khác liên quan tới miễn dịch như bệnh tự miễn, bệnh suy giảm miễn dịch, AIDS, giúp tăng cường hệ miễn dịch. Tác dụng trên có được là thông qua quá trình điều tiết nồng độ và hoạt độ của enzym IDO1.

Các chất ức chế IDO1 thường là các hợp chất hữu cơ có cấu trúc và khối lượng phân tử thấp. Tới nay có hàng nghìn chất ức chế IDO1 được điều chế trong đó có ít nhất 5 chất ức chế đang được tiến hành thử nghiệm lâm sàng ở các pha khác nhau. Các chất đó bao gồm: 1-metyl tryptophan, PF-0684003, novoximod, BMS-986250, epacadostat. Để xem thêm về các hợp chất ức chế IDO1 cụ thể có thể xem các bài báo sau: Li Fangxuan và cộng sự, *International immunopharmacology*, 2017, 70-77; Cheong JE và cộng sự, *Expert. Opin. Ther. Pat.*, 2018, 317-330; Tianwei Weng và cộng sự, *Eur J Med Chem*, 2018, 656-669.

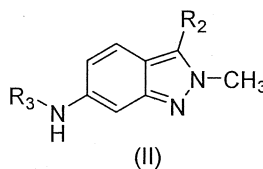
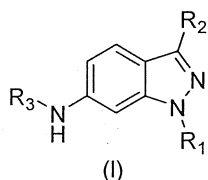
Các chất ức chế IDO1 được thử nghiệm lâm sàng trong điều trị ung thư như tác nhân đơn hoặc kết hợp với tác nhân kháng ung thư khác để tăng tác dụng điều trị ung thư. Các nghiên cứu đã chứng minh kết hợp chất ức chế IDO1 với chất kiểm soát miễn dịch khác như PD-1 hay PD-L1 hoặc các tác nhân kháng ung thư chọn lọc khác. Việc kết hợp này có một số hạn chế như có thể gây ra tương tác thuốc hoặc khác nhau về dược động học giữa các chất.

Indazol là cấu trúc có hoạt tính sinh học cao. Tài liệu US1049996 mô tả hợp chất 6-axetylamino-indazol, quy trình điều chế hợp chất này và các dược phẩm của nó với tác dụng kháng viêm, kháng thấp khớp. Tuy nhiên các hợp chất mô tả trong tài liệu đều không có nhóm thế CH_3 gắn vào 1 trong 2 vị trí N1 hoặc N2 của vòng indazol, cũng không thử tác dụng ức chế tế bào ung thư dựa trên ức chế enzym IDO1. Tài liệu: Abdellah Miloudi, et al., mô tả hợp chất 8a và 9a là các dẫn xuất indazol với nhóm thế gắn vào vị trí số 6 là nhóm "phenyl" (C_6H_5 -); đồng thời

tài liệu chỉ mô tả về tổng hợp hóa học các hợp chất, không đề cập tới thử hoạt tính sinh học. Trong khi đó, nhiều hợp chất có chứa bộ khung indazol có tác dụng kháng ung thư. Chúng được tìm thấy trong nhiều chất ức chế enzym kinaza là mục tiêu phân tử nhiều dạng ung thư khác nhau. Để xem thêm thông tin về các dẫn chất của indazol có tác dụng kháng và gây độc tính trên tế bào ung thư có thể xem thêm bài báo: Dong Jinyun và cộng sự, Chemmedchem, 2018, 1-19. Gần đây, cấu trúc indazol cũng đang được để ý trong việc thiết kế, sàng lọc các chất ức chế IDO1. Các chất thuộc nhóm này thường có nhóm thế khác nhau ở vị trí số 3, số 4 và số 6 với vị trí số 6 thường là nhóm halogen. Chúng có thể là chất ức chế IDO1 hoặc đồng ức chế IDO1/TDO. Một số hợp chất trong nhóm đã đạt được mức độ ức chế nanomol và các tác dụng ức chế sự phát triển khối u trong phép thử in vivo. Tuy nhiên không có bất kỳ báo cáo nào cho đến nay về các hợp chất indazol có khả năng ức chế IDO1 cũng như ức chế phát triển tế bào ung thư trực tiếp không thông qua hệ miễn dịch (độc tính tế bào in vitro). Để xem thêm về các dẫn chất indazol có khả năng ức chế enzym IDO1 có thể tham khảo các bài báo và sáng chế sau: Lingling Yang và cộng sự, Bioorg Med Chem, 2019, 1087-1098; Shan Qian và cộng sự, Bioorg Med Chem, 2016, 6194-6205; Nirmalya Pradhan và cộng sự, Chem Select, 2017, 5511-5517; WO2017133258A1. Để khắc phục một số hạn chế của các chất ức chế IDO1 hiện nay việc tìm kiếm các chất IDO1 mới chọn lọc, hiệu lực cao, ổn định, thông số dược động học tốt, cải thiện tính an toàn; cũng như kết hợp tác dụng kháng ung thư thông qua miễn dịch (IDO1) và khả năng tiêu diệt trực tiếp tế bào ung thư là cần thiết. Đặc biệt việc kết hợp này hạn chế những nhược điểm của việc sử dụng hai hay nhiều thuốc trong cùng một liệu trình điều trị. Các hợp chất 6-aminoindazol mới trong sáng chế được thiết kế, điều chế theo hướng kết hợp ức chế IDO1 và độc tính tế bào được trình bày trong sáng chế này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế liên quan trực tiếp tới các chất có công thức (I) và (II)



Hoặc muối, chất hỗ biến, dạng solvat hóa, dược dụng của nó, trong đó:

R_1 , R_2 là H hoặc mettyl, R_3 là axetyl hoặc isopropyl hoặc xycloalkyl với kích thước vòng khác nhau (5 hoặc 6 carbon) hoặc benzyl được thế bằng nguyên tử flo tại vị trí meta hay para, hoặc 3-pyridylmetyl.

Theo phương án thứ nhất, sáng chế đề cập tới các hợp chất có công thức (I) trong đó R_1 là metyl, R_2 là metyl, R_3 được xác định như ở trên.

Theo phương án thứ hai, sáng chế đề cập tới các chất có công thức (II) trong đó R_2 là H, R_3 được xác định như ở trên.

Theo phương án tiếp theo sáng chế đề cập tới các chất có công thức (II) trong đó R_2 là metyl, R_3 được xác định như ở trên.

Theo phương án tiếp theo sáng chế đề cập tới các chất có công thức (I) trong đó R_1 là H, R_2 là H và R_3 được xác định như ở trên.

Sáng chế đề cập tới tác dụng điều biến enzym IDO1 của hợp chất có công thức (I) hoặc (II) và muối, chất hỗ biến, chất solvat hoặc dạng đa hình của nó.

Sáng chế đề cập tới tác dụng kháng nhiều loại ung thư của hợp chất có công thức (I) hoặc (II) và muối, chất hỗ biến, chất solvat hoặc dạng đa hình của nó.

Theo khía cạnh tiếp theo, sáng chế đề cập tới các dược phẩm chứa các chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối, solvat dạng hỗ biến hoặc dạng đa hình của nó được dùng cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Theo khía cạnh tiếp theo sáng chế đề cập tới các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối, solvat, dạng hỗ biến, dạng đa hình của nó hoặc các dược phẩm chứa các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối, solvat, dạng hỗ biến, dạng đa hình của nó có thể được sử dụng trong phòng và điều trị các bệnh liên quan tới rối loạn chức năng của enzym IDO1.

Theo khía cạnh tiếp theo sáng chế đề cập tới các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối, solvat, dạng hỗ biến, dạng đa hình của nó hoặc các dược phẩm chứa các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối, solvat, dạng hỗ biến hoặc dạng đa hình của nó được sử dụng đơn lẻ, kết hợp, đồng thời hoặc là một bước trong một lộ trình điều trị.

Theo khía cạnh tiếp theo, sáng chế đề cập tới quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) hoặc (II) và muối, chất hỗ biến, chất solvat hoặc dạng đa hình của nó.

Ứng dụng điều trị của sáng chế

Các hợp chất và các dược phẩm chứa chúng được trình bày trong sáng chế này là hữu ích trong phòng và điều trị các bệnh hay trạng thái nào nhạy cảm với hoạt động của enzym IDO1. Chúng có thể bao gồm các bệnh nhiễm trùng (nhiễm trùng ngoài da, loét dạ dày liên quan tới HP, nhiễm trùng tiêu hóa, tiết niệu, máu...); hoặc bệnh ung thư; các bệnh tự miễn (lupus ban đỏ hệ thống, bệnh lý cường giáp trạng, suy giáp, viêm khớp dạng thấp...), các bệnh và hội chứng suy giảm miễn dịch. Các hợp chất và dược phẩm chứa chúng có thể sử dụng trên động vật hay trên cơ thể người, có thể sử dụng theo bất kỳ

đường dùng thuốc nào, thông thường là đường uống nhưng có thể sử dụng ngoài đường tiêu hóa.

Các hợp chất và các dược phẩm chứa chúng được trình bày trong sáng chế này điều hòa hoạt động enzym IDO1. Thuật ngữ điều hòa ở đây có thể là kích thích hoặc ức chế hoạt động của enzym. theo đó các hợp chất trong sáng chế điều hòa hoạt động enzym thông qua việc liên kết của chúng với enzym. Trong đa số trường hợp, các hợp chất trong sáng chế là các chất ức chế IDO1. Theo khía cạnh khác, hợp chất và các dược phẩm chứa chúng có thể sử dụng điều hòa hoạt tính enzym IDO1 trên tế bào hoặc trên cá thể cần điều hòa hoạt động IDO1 thông qua việc sử dụng một lượng nhất định hợp chất trong sáng chế.

Các hợp chất và các dược phẩm chứa chúng được trình bày trong sáng chế này cung cấp phương pháp ức chế quá trình giáng hóa tryptophan trong một hệ thống chứa tế bào có biểu hiện hoạt tính IDO1 như tế bào nuôi cấy, mô hay cơ quan sống. Sáng chế cung cấp phương pháp thay đổi nồng độ tryptophan ngoại bào ở động vật hữu nhũ bằng việc sử dụng đủ một lượng hợp chất và các dược phẩm.

Các hợp chất và các dược phẩm chứa chúng được trình bày trong sáng chế này cung cấp phương pháp ức chế quá trình ức chế miễn dịch thông qua IDO1 bằng việc sử dụng đủ một lượng hợp chất và các dược phẩm. Các chứng ức chế miễn dịch có liên quan tới các bệnh lý về ung thư, khối u, chuyển hóa, bệnh nhiễm trùng...

Như sử dụng ở đây, thuật ngữ “tế bào” được hiểu là tế bào *in vitro*, *ex vivo* hoặc *in vivo*. Trong các trường hợp, tế bào *in vitro* là tế bào được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy, tế bào *in vivo* là tế bào sống trong cơ thể sống hoàn chỉnh, tế bào *ex vivo* là tế bào của 1 phần mô hay cơ quan được nuôi cấy phân lập.

Thuật ngữ “chất ức chế IDO1” được hiểu là tác nhân có khả năng ức chế hoạt động của enzym indoleamin 2,3-dioxygenaza 1 và do đó đảo ngược quá trình ức chế miễn dịch phụ IDO. Một chất ức chế IDO có thể là chất ức chế thuận nghịch hoặc không thuận nghịch. Chất ức chế thuận nghịch IDO1 là hợp chất mà ức chế thuận nghịch hoạt tính enzym IDO1 tại vùng xúc tác hay không xúc tác và chất ức chế không thuận nghịch IDO1 là hợp chất phá hủy không thuận nghịch hoạt tính enzym IDO1.

Các bệnh ung thư được điều trị với các hợp chất trong sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong đây, ung thư não, ung thư da, ung thư buồng trứng, ung thư vú, ung thư dạ dày, ung thư trực tràng, ung thư tuyến tụy, ung thư tiền liệt tuyến, ung thư máu, ung thư phổi, ung thư xương. Chúng có thể bao gồm các loại ung thư: ung thư biểu mô, ung thư mô liên kết, bệnh bạch cầu, u lympho bào, u tủy hay ung thư hệ thần kinh trung ương.

Các bệnh lý về bệnh tự miễn được điều trị với các hợp chất trong sáng chế này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong đây, các bệnh liên quan tới collagen như viêm

khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống, hội chứng Sharp, hội chứng CREST, các bệnh da liễu, bệnh viêm mạch máu hay hội chứng Sjogren, viêm cầu thận cấp, các bệnh nội tiết như tiểu đường type 1, hội chứng tự miễn nhiễm – đa nội tiết – nhiễm nấm candida – loạn dưỡng da (APECED), chứng cường giáp trạng, thiếu máu ác tính, bệnh về gan mật như viêm gan tự miễn, xơ gan ứ mật nguyên phát, các bệnh về máu như bệnh lý huyết, các bệnh nhiễm trùng liên quan tới miễn dịch như AIDS, sốt rét, bệnh Chagas.

Một hoặc nhiều hoạt chất hay phương pháp điều trị khác như tác nhân kháng virus, hóa trị hay tác nhân kháng ung thư khác, chất tăng cường miễn dịch xạ trị, các vaccin kháng virus hay ung thư, liệu pháp cytokin, các chất ức chế tyrosine kinase có thể sử dụng kết hợp với các chất trong sáng chế để điều trị các bệnh, hội chứng hay tình trạng liên quan tới IDO. Các tác nhân này có thể kết hợp trong một liều đơn duy nhất, hay đa liều dùng cùng lúc hoặc kế tiếp nhau.

Các tác nhân hóa trị hay kháng ung thư khác bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn trong đây, tác nhân alkyl hóa (bao gồm, không giới hạn) các mù tạt nitơ, dẫn chất etylenimin, alkyl sulfonat, triazen) như uracil, clomethin, xyclophosphamid, ifosfamid, melphalan, cloambucil, pipobroman, busufal, streptozocin, dacarbazin, temozolomid; các phức hợp platin như cisplatin, carboplatin; tác nhân trị ung thư nguồn gốc thiên nhiên và dẫn chất của chúng như vinblastin, vincristin, doxorubicin, daunorubicin, taxol; các kháng sinh kháng ung thư, enzym kháng ung thư như L-asparaginase, etoposid, teniposid, mithamycin, deoxycoformycin; các thuốc liệu pháp miễn dịch gồm cytokin, interferon, interleukin-2, các tác nhân hủy tử khối u; các vaccin như vaccin điều trị ung thư, hắc sắc tố, vaccin kháng virus gây bệnh ung thư, vaccin ADN, vaccin tái tổ hợp, các peptid tổng hợp, hay các u hắc sắc tố đã giảm hoạt lực được tiêm vào bệnh nhân để tạo miễn dịch chủ động; liệu pháp tế bào như tế bào tua, tế bào lympho; các chất kháng ung thư chuyển hóa có cấu trúc tương tự các chất cần thiết cho sự phát triển ung thư (bao gồm, không giới hạn) gồm chất kháng folic, dẫn chất adenosine như methotrexat, 5-FU, floxuridin, 6-mercaptopurin, pentostatin, gencitabin, 6-thioguanin; các kháng thể như trastuzumab, các kháng thể hướng đích PD-1, CTLA-4.

Các dẫn chất trong sáng chế là thành phần được chất trong điều trị bệnh nhiễm virus mạn tính, với thành phần ít nhất gồm 1 chất ức chế IDO1 có thể kết hợp với ít nhất 1 chất hóa trị, và ít nhất 1 thuốc kháng virus. Được phẩm có thể là sự kết hợp giữa ít nhất 1 chất ức chế IDO1 trong sáng chế và ít nhất 1 chất ức chế IDO1 đã biết.

Các bệnh nhiễm virus mạn tính (bao gồm, không giới hạn) được điều trị bao gồm các bệnh do virus viêm gan C (HCV), virus HPV, virus Epstein-Barr (EBV), virus gây bệnh thủy đậu (VZV), virus Coxsackie, HIV.

Các dẫn chất trong sáng chế có thể dùng trong thành phần được phẩm với ít nhất 1 dẫn chất để ngăn ngừa huyết khối động mạch sau khi đặt stent. Thành phần được phẩm phải chứa ít nhất 1 dẫn chất taxan.

Các tác nhân điều trị virus trong được phẩm kết hợp với hợp chất trong sáng chế có thể gồm các hợp chất chứa nucleosid và các nucleotid ức chế sao mã ngược, các chất ức chế sao mã ngược không nucleotid, chất ức chế protease và các chất kháng virus khác.

Các hợp chất ức chế sao mã ngược mang cấu trúc nucleotid như (bao gồm, không đầy đủ) zidovudin, didanosin, zalcitabin, stavudin, lamivudin, abacavir, adfovir dipivoxil, lobucavir, lodenosin. Các dẫn chất ức chế sao mã ngược không nucleotid như (bao gồm, không giới hạn) nevirapin, delaviradin, efavirenz, PNU-142721, AG-1549, MKC-442. Các chất ức chế protease như (bao gồm, không giới hạn) saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, lasinavir, DMP-450. Các tác nhân khác kháng virus bao gồm hydroxyurea, ribavirin, IL-2, IL-12, pentafisid.

Cung cấp phương pháp điều trị trong đó các chất có công thức (I) hoặc (II) được kết hợp với một hoặc nhiều các tác nhân miễn dịch-ung thư. Tác nhân miễn dịch ung thư ở đây là các liệu pháp miễn dịch có tác dụng ảnh hưởng tới sự tăng, mô phỏng và hoặc điều hòa dương tính phản ứng của hệ miễn dịch tới một chủ thể nà đó.

Ở một khía cạnh, các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) được sử dụng trước và liên tiếp với tác nhân miễn dịch- ung thư. Ở khía cạnh khác, các hợp chất có công thức (I) hoặc (II) được sử dụng đồng thời với tác nhân miễn dịch-ung thư. Hoặc khía cạnh khác, tác nhân có công thức (I) hoặc (II) được sử dụng sau và liên tiếp với tác nhân miễn dịch-ung thư.

Ở khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư có thể trong cùng công thức bào chế với các hợp chất có công thức (I) hoặc (II).

Tác nhân miễn dịch-ung thư bao gồm các hợp chất phân tử nhỏ, kháng thể, và các chế phẩm sinh học hay hợp chất phân tử nhỏ khác. Ví dụ về chế phẩm sinh học miễn dịch-ung thư như (không giới hạn) vaccin ung thư, kháng thể, cytokin. Ở một khía cạnh, kháng thể là một kháng thể đơn giá. Ở khía cạnh khác, kháng thể đơn giá có thể là từ cơ thể người hoặc không.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất chủ vận của thụ thể kích thích (bao gồm cả đồng kích thích) hoặc tác nhân đối kháng một tín hiệu ức chế (bao gồm cả đồng ức chế) trên tế bào T, tất cả chúng dẫn đến kết quả khuếch đại phản ứng đặc hiệu kháng thể của tế bào T.

Một vài phân tử kích thích hay ức chế là thành viên của siêu nhóm immunoglobulin (Ig). Một nhóm liên kết màng quan trọng liên kết tới thụ thể đồng kích thích hoặc đồng ức chế của nhóm B7 như B7-1, B7-2, B7-H1, B7-DC, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H5, và B7-H6. Một nhóm liên kết màng khác liên kết tới thụ thể đồng kích thích hoặc đồng ức chế của nhóm TNF bao gồm (không đầy đủ) CD40, CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD-137, TRAIL/Apo2-L,

TRAIL1/DR4, TRAIL2/DR5, TRAIL3, TRAIL4, OPG, RANK, RANKL, TWEAK, EDAR, APRIL, BCMA, LIGHT, DcR3, HVEM, EDAR, EDA1, EDA2, TROY, NGFR.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là các cytokin mà ức chế hoạt hóa tế bào T (như IL-6, IL-10, VEGF hoặc các cytokin ức chế miễn dịch khác) hoặc một cytokin kích thích hoạt động của tế bào T, để kích thích một phản ứng miễn dịch.

Theo một khía cạnh khác, phản ứng của tế bào T có thể kích thích bằng cách kết hợp các chất có công thức (I) hoặc (II) với chất đối kháng với protein ức chế hoạt động tế bào T như (không đầy đủ) CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, BTLA, CD69, CD113, TIGIT, GPR56, VISTA, 2B4, CD48 và các chất chủ vận của protein kích thích hoạt động của tế bào T như (không đầy đủ) B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB, 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD40, CD27, CD28H.

Các tác nhân khác có thể kết hợp với chất có công thức (I) và (II) điều điều trị ung thư bao gồm các chất đối kháng với thụ thể ức chế trên NK hay chất chủ vận của thụ thể hoạt hóa trên NK.

Các tác nhân khác có thể kết hợp với chất có công thức (I) và (II) trong liệu pháp kết hợp bao gồm các tác nhân ức chế hay tiêu diệt đại thực bào hoặc bạch cầu mono.

Theo một khía cạnh khác, chất có công thức (I) và (II) có thể kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân chủ vận liên kết với thụ thể kích thích dương tính, khóa các tác nhân làm suy yếu tín hiệu thông qua ức chế thụ thể, chất đối kháng, một hoặc nhiều tác nhân tăng cường có tính hệ thống sự lặp lại của tế bào kháng ung thư T, tác nhân vượt qua con đường ức chế miễn dịch riêng biệt với hệ vi môi trường ung thư, triệt tiêu hay ức chế Treg, ức chế chuyển hóa enzym, đảo ngược hay ngăn chặn quá cạn kiệt tế bào T, và các tác nhân kích hoạt hoạt tính miễn dịch bẩm sinh và/hoặc sự viêm nhiễm tại khối u.

Ở một khía cạnh, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất đối kháng CTLA-4, ví dụ như 1 kháng thể đối kháng CTLA-4. Kháng thể CTLA-4 phù hợp như, ví dụ, ipilimumab, tremelimumab.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất đối kháng PD-1, ví dụ như 1 kháng thể đối kháng PD-1. Kháng thể CTLA-4 phù hợp như, ví dụ, nivolumab, pembrolizumab. Tác nhân miễn dịch-ung thư cũng bao gồm pidilizumab, thông qua tính đặc hiệu của nó tới việc liên kết PD-1 được yêu cầu. Phương pháp khác hướng mục tiêu tới thụ thể PD-1 là protein tái tổ hợp chứa vùng ngoài màng của PD-L2 ngưng tụ với vùng Fc của IgG1.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất đối kháng PD-L1, ví dụ như 1 kháng thể đối kháng PD-L1. Kháng thể PD-L1 phù hợp, ví dụ MPDL3280A, duvalumab.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất đối kháng IDO1. Tác nhân phù hợp như indoximod, 1-metyltrypthopan, epacadostat.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất chủ vận OX40, ví dụ như kháng thể chủ vận OX40. Chất thể phù hợp như MEDI-6383, MEDI-6469.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất chủ vận CD40, ví dụ như 1 kháng thể chủ vận CD40. Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất đối kháng CD40, ví dụ như 1 kháng thể đối kháng CD40. Kháng thể phù hợp như lucatumumab hay dacetuzumab.

Theo một khía cạnh khác, tác nhân miễn dịch-ung thư là chất chủ vận CD27, ví dụ như kháng thể chủ vận CD27. Chất thể phù hợp như varlilmab.

Sáng chế đề xuất giải pháp hữu ích về các bộ thử dược học, ví dụ, như trong phòng và điều trị bệnh hay hội ứng liên quan tới IDO1, béo phì, tiểu đường, và các bệnh khác được liệt kê ở đây mà bao gồm một hoặc nhiều chất mang chứa một lượng đủ gây ra tác dụng điều trị của hợp chất trong sáng chế. Bộ thử có thể chứa một hoặc nhiều thành phần, có thể kết hợp với các bộ thử khác hoặc chất chứng dương khác trong cùng một bộ thử.

Các hợp chất của sáng chế có thể sử dụng như đã mô tả ở trên theo bất kỳ đường và dạng bào chế nào như đường uống gồm viên nén, viên tròn, viên nang, bao gồm cả các dạng bào chế đặc biệt như bao tan ở ruột, giải phóng kéo dài, giải phóng theo nhịp, bột, cốm, hỗn dịch, siro, nhũ tương, bao gồm cả hệ nano hoặc micro; đường tiêm như tiêm bắp, tiêm dưới da, tiêm phúc mạc, tiêm màng cứng, tiêm khớp, tiêm trực tiếp vào cơ quan, dịch tiêm truyền; dùng ngoài da như thuốc mỡ, kem, dung dịch, gel, nhũ tương, xịt; cấy đặt như viên đạn, viên trứng, cấy dưới da, cấy tại cơ quan tổ chức cơ thể; nhỏ mắt, nhỏ mũi; khí dung. Chúng có thể sử dụng đơn lẻ nhưng thường với các tá dược hoặc chất mang. Tá dược và chất mang được lựa chọn tùy thuộc vào dạng bào chế cụ thể, tính chất của từng chất trong sáng chế, tá dược và chất mang có thể thay đổi tùy từng trường hợp cụ thể, việc lựa chọn cụ thể phụ thuộc vào từng cá nhân hay tổ chức sử dụng. Thuật ngữ “tá dược” và “chất mang” được sử dụng trong văn bản này nhằm để chỉ bất kỳ thành phần nào không phải hợp chất trong sáng chế.

Liều dùng và tần suất sử dụng các chất trong sáng chế tùy thuộc vào tình trạng bệnh lý, mức độ nghiêm trọng của bệnh lý, đáp ứng, tuổi tác, cân nặng, giới tính, thể trạng của đối tượng được sử dụng, với đường dùng, với mục đích, với quyết định của người sử dụng và tùy thuộc cụ thể vào từng chất trong sáng chế. Liều lượng và tần suất sử dụng có thể điều chỉnh sau khi sử dụng tùy vào đáp ứng và mong muốn hướng tới của điều trị.

Định liều cho các dạng bào chế dược phẩm chứa các chất trong sáng chế này không cố định, phụ thuộc từng cá nhân bào chế và tính tiện lợi khi sử dụng.

Các chất trong sáng chế cung cấp nguồn nguyên liệu để làm chất chuẩn cho các thử nghiệm sinh học, dược học hay các thử nghiệm tinh khiết, các phân tích hóa học định tính, định lượng.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1: Mô tả tác dụng của dẫn chất indazol

Mô tả chi tiết sáng chế

Thuật ngữ “xycloalkyl” là để chỉ các hệ đơn vòng hydrocacbon bão hòa với số nguyên tử carbon đã nêu.

Các muối được sử dụng của hợp chất có công thức (I) hoặc (II) là các muối cộng axit. Các chất có thể cộng axit với đương lượng axit khác nhau, từ muối đơn tới muối đa axit. Các muối cộng axit thích hợp được tạo ra từ axit không độc.

Các hợp chất trong sáng chế cũng tồn tại ở dạng không solvat hóa hoặc solvat hóa. Thuật ngữ “solvat” được sử dụng để mô tả phức hợp phân tử bao gồm hợp chất trong sáng chế và một hoặc nhiều phân tử dung môi được dụng. Phức hợp này cũng có thể là dạng muối cộng axit hoặc phân tử tự do.

Thuật ngữ “đa dạng hình” dùng để chỉ khả năng của hợp chất trong sáng chế có thể có nhiều hơn một dạng thù hình hoặc nhiều hơn một cấu trúc tinh thể.

Thuật ngữ “dạng hổ biến” dùng để chỉ khả năng của hợp chất trong sáng chế có thể tồn tại nhiều hơn một dạng cấu trúc có khả năng hổ biến qua lại nhau.

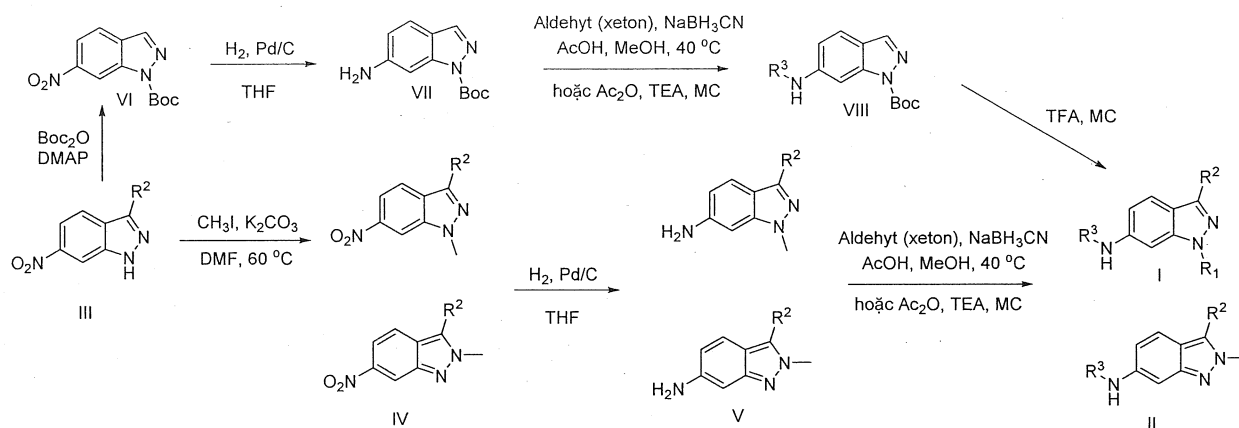
Thêm vào đó, hợp chất có công thức (I) và (II) có thể có dạng tiền thuốc. Bất kỳ một hợp chất nào được chuyển đổi *in vivo* thành dạng hoạt tính sinh học có công thức (I) hoặc (II) là tiền thuốc được đề cập tới trong sáng chế.

Sáng chế cũng bao gồm tất cả chất có công thức (I) hoặc (II) với các dạng đồng vị khác nhau của các nguyên tố cấu thành lên nó. Thuật ngữ “đồng vị” dùng để chỉ các nguyên tử có cùng số proton trong hạt nhân nhưng khác nhau về số khối. Chúng có cùng vị trí trong bảng tuần hoàn hóa học các nguyên tố.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng dưới dạng tinh thể hay chất rắn vô định hình. Chúng có thể thu được dưới dạng bột, hạt rắn, hoặc màng bằng phương pháp như kết tủa, kết tinh, sấy phun, đông khô, sấy ở nhiệt độ thấp hoặc cao, hoặc làm khô bay hơi.

Ví dụ thực hiện sáng chế

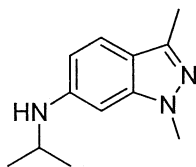
Quy trình tổng hợp các chất có công thức (I) và (II) được trình bày cụ thể trong sơ đồ dưới đây:



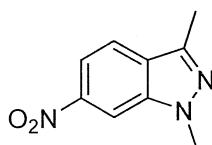
Một cách ngắn gọn, nguyên liệu (III) được metyl hóa bằng tác nhân iodometan trong dung môi khan *N,N'*-dimetylformamid (DMF) và bazơ dị thể hấp thụ axit sinh ra. Phản ứng luôn luôn tạo ra 2 đồng phân thể tại hai vị trí khác nhau N1 và N2 (IV). Hợp chất này được khử bằng khí hydro với xúc tác là hỗn hợp palladi kim loại với than hoạt tính được các hợp chất amin (V). Các amin được lần lượt tiến hành phản ứng amin hóa khử với các aldehyt và xeton bằng tác nhân khử là NaBH_3CN trong dung môi MeOH, môi trường axit. Các aldehyt và xeton bao gồm: axeton, xyclopentanon, xyclohexanon, benzaldehyt, 4-flo benzaldehyt, 3-flo benzaldehyt, 3-pyridin carboxaldehyt. Hoặc, các chất (V) được axetyl hóa bằng anhydrid axetic. Các phản ứng trên cho ra hợp chất (I) hoặc (II). Hoặc hợp chất (III) được bảo vệ bằng nhóm bảo vệ Boc trước khi tiến hành phản ứng khử để thu được amin (VII). Hợp chất amin này được amin hóa khử hoặc axetyl hóa tương tự như phản ứng với các chất (V) thu được dãy chất (VIII). Tiến hành loại bỏ nhóm bảo vệ Boc của dẫn chất này bằng axit trifloaxetic thu được dãy chất (I).

Thử nghiệm 1

N-Isopropyl-1,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin



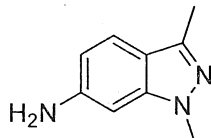
Điều chế 1A



Một hỗn hợp gồm 3-metyl-6-nitroindazol (7,08 g, 1 đương lượng) và K_2CO_3 (8,3 g, 1,5 đương lượng) trong 70 ml dung môi DMF khan được khuấy ở nhiệt độ phòng trong vòng 15 phút. Sau đó, hỗn hợp được thêm 5 mL (2 đương lượng) iodometan và gia nhiệt ở

60 °C. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi kết thúc phản ứng (3-4 giờ), hỗn hợp phản ứng được làm lạnh về nhiệt độ phòng rồi thêm 200 mL nước. Hỗn hợp được chiết 2 lần với etyl axetat, mỗi lần 100 mL. Dịch chiết này được gom lại và rửa lần lượt bằng 100 ml nước và nước muối bão hòa. Sau đó, hỗn hợp trên được làm khan bằng MgSO_4 , cô cất quay dưới áp suất giảm thu được cặn màu vàng. Cặn này được tinh chế bằng cột silica gel với hệ dung môi etyl axetat-hexan thu được 5,6 gram chất 1A.

Điều chế chất 1B



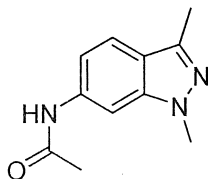
Dung dịch chứa 5 g chất 1A trong 100 mL tetrahydrofuran được thêm 50 mg Pd/C (10%). Hỗn hợp trên được tiến hành loại bỏ không khí, và tiến hành khuấy trộn trong môi trường khí hydro tại nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, paladi và than hoạt được lọc loại bỏ qua phễu lọc chứa Celite. Dịch lọc được cô cạn dưới áp suất giảm thu được chất rắn màu nâu đỏ (4,5 g, 99%). Chất rắn này được sử dụng trực tiếp cho bước sau mà không cần tinh chế.

Thử nghiệm 1: *N*-Isopropyl-1,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin.

Dung dịch chứa 160 mg chất 1B trong 5 ml MeOH được thêm 1 giọt axit axetic đặc và 58 mg (1 đương lượng) axeton. Hỗn hợp trên được khuấy trộn trong 10 phút tại nhiệt độ phòng, sau đó 125 mg NaBH_3CN (2 đương lượng) được thêm vào hỗn hợp. Nâng nhiệt độ phản ứng lên 40 °C trong vòng 4 giờ. Sau đó hỗn hợp được và làm về nhiệt độ phòng và thêm 50 ml dung dịch bão hòa NaHCO_3 . Hỗn hợp này được chiết tách với 100 ml điclorometan. Dung dịch trong điclorometan được rửa qua với 50 ml nước, làm khan bằng MgSO_4 . Cô quay tại áp suất giảm thu được cặn. Cặn này được tinh chế bằng cột silica gel với pha động là etyl axetat/hexan thu được chất rắn tinh khiết màu nâu nhạt (152 mg, 75 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H); 6,39 (dd, $J = 8,58$, 1,83 Hz, 1H); 6,23 (d, $J = 1,83$ Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,69 (hep, $J = 6,21$ Hz, 1H); 3.67 (br, 1H); 2.44 (s, 3H); 1,24 (d, $J = 6,21$ Hz, 6H). MS (m/z) = 204 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 2

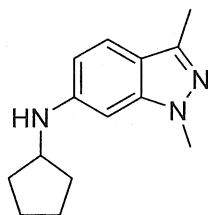
N-(1,3-Dimetyl-1*H*-indazol-6-yl)axetamit



Dung dịch chứa 160 mg chất 1B trong 10 mL điclorometan được thêm 1 lượng dư anhydrit axetic và 0,15 ml triethyl amin (1,1 đương lượng). Dung dịch phản ứng được khuấy trộn tại nhiệt độ phòng trong vòng 2 giờ. Sau 2 giờ, 50 ml điclorometan và 50 ml nước được thêm vào bình cầu phản ứng, khuấy trộn thêm 30 phút. Gạn lấy dịch điclorometane, rửa lần lượt với 50 mL nước, 50 ml NaHCO₃ loãng và nước muối bão hòa. Dịch hữu cơ sau khi rửa được cô cất chân không thu được chất rắn trắng ánh nâu (197 mg, 97 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,33 (d, J = 8,61 Hz, 1H); 6,39 (dd, J = 8,58, 1,83 Hz, 1H); 6,23 (d, J = 1,83 Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,69 (hep, J = 6,21 Hz, 1H); 3,67 (br, 1H); 2,44 (s, 3H); 1,24 (d, J = 6,21 Hz, 6H). ¹³C-NMR (500-MHz, CDCl₃): δ 168,5; 141,3; 141,1; 136,4; 120,7; 120,1; 113,2; 99,2; 35,1; 24,7; 11,7. MS (m/z) = 204 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 3

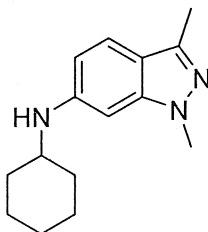
N-Xyclopentyl-1,3-dimetyl-1*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 3 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với xyclopentanone thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 192 mg (84 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,32 (d, J = 8,60 Hz, 1H); 6,40 (dd, J = 8,65, 1,75 Hz, 1H); 6,24 (d, J = 1,30 Hz, 1H); 3,85-3,81 (m, 5H); 2,44 (s, 3H); 2,06 (hex, J = 6,20 Hz, 1H); 1,77-1,70 (m, 2H); 1,68-1,62 (m, 2H); 1,54-1,48 (m, 2H). ¹³C-NMR (500-MHz, CDCl₃): δ 147,2; 142,8; 141,1; 120,9; 116,2; 111,5; 88,2; 54,9; 34,8; 33,4; 24,1; 11,7. MS (m/z) = 230 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 4

N-Xyclohexyl-1,3-dimetyl-1*H*-indazol-6-amin

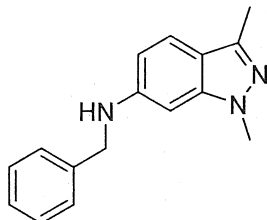


Thử nghiệm 4 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với xyclohexanone thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 196 mg (81 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,34 (d, J = 8,61 Hz, 1H); 6,47 (d-like, 1H); 6,35 (s, 1H); 3,85

(s, 3H); 3,35-3,25 (m, 1H); 2,44 (s, 3H); 2,15-2,05 (m, 2H); 1,76-1,60 (m, 3H); 1,40-1,24 (m, 5H). MS (m/z) = 244 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 5

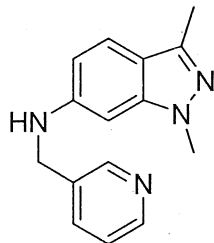
N-Benzyl-1,3-dimethyl-1*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 5 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với benzaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 195 mg (78 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,40-7,28 (m, 6H); 6,50 (dd, *J* = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,27 (d, *J* = 1,83 Hz, 1H); 4,38 (s, 2H); 3,83 (s, 3H); 2,46 (s, 3H). MS (m/z) = 252 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 6

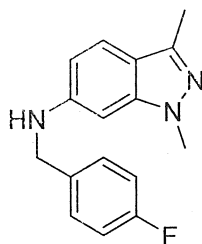
1,3-Dimethyl-*N*-(pyridin-3-ylmetyl)-1*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 6 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với 3-pyridinecarboxaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 176 mg (70 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,60 (d, *J* = 2,01 Hz, 1H); 8,48 (d, *J* = 3,30 Hz, 1H); 7,66 (d, *J* = 7,86 Hz, 1H); 7,33 (d, *J* = 8,67 Hz, 1H); 7,22 (dd, *J* = 7,89, 4,77 Hz, 1H); 6,44 (dd, *J* = 8,43 Hz, 1,86 Hz, 1H); 6,20 (d, *J* = 1,83 Hz, 1H); 4,37 (s, 2H); 4,22 (br, 1H); 3,77 (s, 3H); 2,40 (s, 3H). ¹³C-NMR (500-MHz, CDCl₃): δ 148,9; 148,6; 146,9; 142,5; 141,2; 135,3; 134,6; 123,7; 121,2; 116,8; 110,9; 88,2; 45,9; 34,8; 11,7. MS (m/z) = 253 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 7

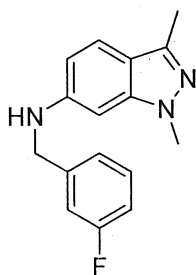
N-(4-Flobenzyl)-1,3-dimethyl-1*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 7 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với 4-flobenzaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 220 mg (82 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33-7,27 (m, 3H); 6,97 (t, $J = 8,58$ Hz, 2H); 6,43 (dd, $J = 8,61, 1,83$ Hz, 1H); 6,19 (d, $J = 1,86$ Hz, 1H); 4,30 (s, 2H); 3,77 (s, 3H); 2,40 (s, 3H). MS (m/z) = 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 8

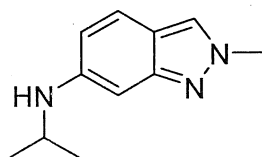
N-(3-Flobenzyl)-1,3-dimetyl-1*H*-indazol-6-amin



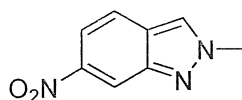
Thử nghiệm 8 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với 3-flobenzaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 1B thu được 196 mg (73 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,37 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 7,30 (td, $J = 7,85, 6,20$ Hz, 1H); 7,16 (d, $J = 7,60$ Hz, 1H); 7,09 (d, $J = 9,65$ Hz, 1H), 6,96 (td, $J = 8,40, 2,50$ Hz, 1H); 6,50 (dd, $J = 8,60, 1,75$ Hz, 1H); 6,23 (d, $J = 1,25$ Hz, 1H); 4,30 (s, 2H); 3,82 (s, 3H); 2,46 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 163,7; 161,8; 148,2; 143,8; 142,9; 140,1; 130,6; 123,8; 120,8; 115,7; 114,4; 111,5; 87,6; 46,5; 34,9; 11,9. MS (m/z) = 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 9

N-Isopropyl-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin

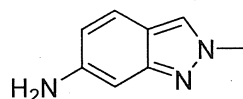


Chất 9A



Hỗn hợp gồm 6,5 g (1 đương lượng) 6-nitroindazol và 8,3 g K_2CO_3 trong 70 ml DMF khan được thêm 5 mL idometan kết hợp khuấy trộn. Gia nhiệt phản ứng lên 60 °C trong vòng 4 giờ. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn hợp được làm lạnh tới nhiệt độ phòng, pha loãng với 200 ml nước. Hỗn hợp trên được chiết với etyl axetat 2 lần (mỗi lần 100 ml). Dịch chiết etyl axetat được gom lại và rửa lần lượt với 100 ml nước và dung dịch nước muối bão hòa. Dung dịch hữu cơ sau khi rửa được làm khan bằng $MgSO_4$, cô quay tại áp suất thấp thu được chất rắn màu vàng. Chất rắn này được tinh chế bằng sắc ký cột với hạt nhồi silica gel và pha động etyl axetat thu được chất rắn màu vàng tinh khiết (1,98 g, 28 %).

Chất 9B



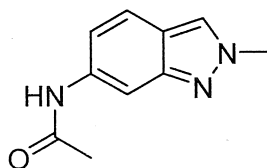
Dung dịch chứa 1,98 g chất 9A trong ml THF được thêm 20 mg Pd/C (10%), loại bỏ không khí và tiến hành phản ứng khử trong với khí hydro tại nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp sau đó được lọc loại bỏ xúc tác bằng Celite. Cô cạn dịch lọc thu được dưới áp suất giảm thu được chất rắn màu nâu đỏ (1,60 g, 99 %). Chất rắn này được xử dụng trực tiếp cho phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế.

Thử nghiệm 9: *N*-Isopropyl-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin

Thử nghiệm 9 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 1 với chất 9B được dung thay thế cho IB. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 113 mg (63 %) sản phẩm màu nâu nhạt. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7,66 (s, 1H); 7,36 (d, $J = 8,85$ Hz, 1H); 6,62 (s, 1H); 6,46 (dd, $J = 8,90, 1,55$ Hz, 1H); 4,08 (s, 3H); 3,65 (hep, $J = 6,25$ Hz, 1H); 1,23 (d, $J = 6,20$ Hz, 6H). MS (m/z) = 190 $[M+H]^+$.

Thử nghiệm 10

N-(2-Metyl-2*H*-indazol-6-yl)axetamit

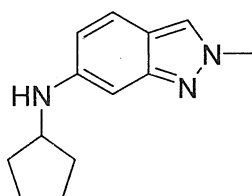


Thử nghiệm 10 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 2 với chất 9B được dung thay thế cho IB. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 181 mg (96 %) sản phẩm màu trắng. 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,10 (s, 1H); 8,03 (s, 1H); 7,60 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 7,08

(dd, $J = 8,95, 1,65$ Hz, 1H); 4.15 (s, 3H); 2,14 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 168,4; 149,1; 135,8; 123,6; 120,5; 119,5; 117,3; 106,2; 45,8; 24,6. MS (m/z) = 190 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 11

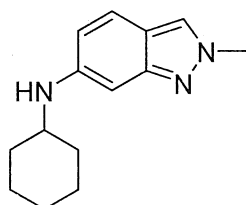
N-Xyclopentyl-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 11 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với xyclopentanon thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 150 mg (70 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.60 (s, 1H), 7.31 (d, $J = 8.79$ Hz, 1H), 6.54 (s, 1H), 6.40 (dd, $J = 8.79, 2.01$ Hz, 1H), 4.03 (s, 3H), 3.81-3.71 (m, 1H), 2.03-1.96 (m, 2H), 1.69-1.43 (m, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 150,7; 146,7; 124,1; 120,4; 116,5; 115,6; 91,2; 54,1; 32,8; 24,3. MS (m/z) = 216 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 12

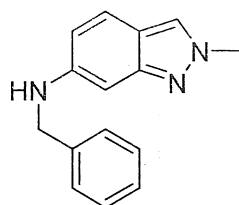
N-Xyclohexyl-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 12 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với xyclohexanon thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 167 mg (73 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,67 (s, 1H); 7,38 (d, $J = 8,97$ Hz, 1H); 6,71 (s, 1H); 6,53 (d, $J = 9.15$ Hz, 1H); 4,09 (s, 3H); 3,38-3,28 (m, 1H); 2,13-2,09 (m, 2H); 1,72-1,61 (m, 3H); 1,37-1,18 (m, 5H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 150,8; 146,0; 124,1; 120,6; 116,5; 115,6; 90,9; 51,1; 32,8; 26,2; 25,0. MS (m/z) = 230 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 13

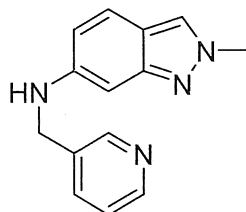
N-Benzyl-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 13 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với benzaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 168 mg (71 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1H); 7,35-7,19 (m, 6H); 6,56 (s, 1H); 6,48 (dd, J = 8,79, 2,01 Hz, 1H); 4,29 (s, 2H); 4,02 (s, 4H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 150,7; 146,4; 139,1; 128,6; 127,7; 127,2; 123,5; 120,4; 116,4; 116,1; 92,9; 48,5; 39,7. MS (m/z) = 238 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 14

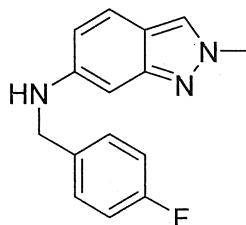
2-Metyl-*N*-(pyridin-3-ylmetyl)-2*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 14 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với 3-pyridinecarboxaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 134 mg (56 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,65 (d, J = 1,65 Hz, 1H); 8,50 (dd, J = 4,95, 1,65 Hz, 1H); 7,35 (d, J = 7,89 Hz, 1H); 7,68 (s, 1H); 7,41 (d, J = 7,89 Hz, 1H); 7,26 (dd, J = 8,25, 5,13 Hz, 1H); 6,56-6,53 (m, 2H); 4,40 (s, 2H); 4,08 (s, 2H). MS (m/z) = 239 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 15

N-(4-Flobenzyl)-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin

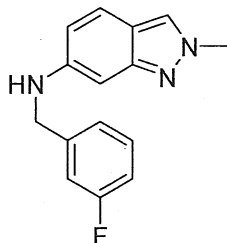


Thử nghiệm 15 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với 4-flobenzaldehyd thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 196 mg (77 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (s, 1H); 7,39 (d, J = 8,85 Hz, 1H); 7,34 (dd, J = 8,30, 5,60 Hz, 2H); 6,99 (t, J = 8,65 Hz, 2H); 6,57 (s, 1H); 6,53 (dd, J = 8,95, 1,90 Hz, 1H);

4,31 (s, 2H); 4,01 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, DMSO- d_6): δ 162,5; 160,5; 150,5; 146,6; 136,6; 129,5; 124,3; 120,7; 116,2; 115,4; 91,6; 46,4. MS (m/z) = 256 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 16

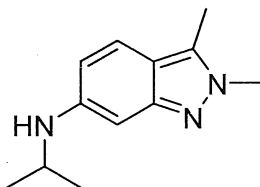
N-(3-flobenzyl)-2-metyl-2*H*-indazol-6-amin



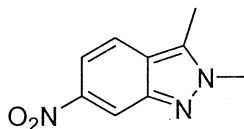
Thử nghiệm 16 được tiến hành tương tự như thử nghiệm 9 với 3-flobenzaldehyt thay thế axeton. Với 160 mg nguyên liệu 9B thu được 191 mg (75 %) sản phẩm màu nâu nhạt. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1H); 7,25 (d, J = 9,33 Hz, 1H); 7,20 (dt, J = 5,85, 7,86 Hz, 1H); 7,09 (d, J = 7,68 Hz, 1H); 7,03 (d, J = 9,54 Hz, 1H); 6,86 (td, J = 8,25, 2,19 Hz, 1H); 6,51-6,47 (m, 2H); 4,30 (s, 2H); 4,14 (br, 1H); 4,00 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,1; 150,6; 146,1; 142,0; 130,1; 123,6; 122,9; 120,6; 116,5; 116,0; 114,3; 93,1; 47,9; 39,8. MS (m/z) = 256 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 17

N-Isopropyl-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin

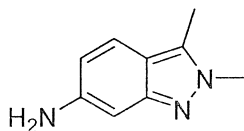


Chất 17A



Chất 17A là sản phẩm được phân lập từ hợp hợp phản ứng điều chế chất 1A. Chất rắn, màu vàng, 1.83 gram, hiệu suất 24%.

Chất 17B



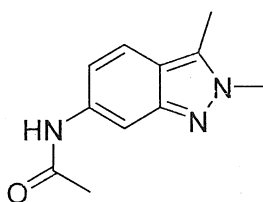
Chất 17B được điều chế tương tự quy trình điều chế chất 9B thu được chất rắn màu nâu, 1.51 gram (98%).

Thử nghiệm 17. *N*-Isopropyl-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin

Thử nghiệm 17 được tiến hành tương tự thử nghiệm 1 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 61 % (123 mg). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,27 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 6,51 (d, $J = 1,47$ Hz, 1H); 6,39 (dd, $J = 8,79, 1,83$ Hz, 1H); 3,95 (s, 3H); 3,65 (hep, $J = 6,24$ Hz, 1H); 3,49 (br, 1H); 2,50 (s, 3H); 2,22 (d, $J = 6,24$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,4; 145,8; 131,4; 120,1; 115,4; 115,3; 92,7; 44,3; 36,6; 22,7; 9,8. MS (m/z) = 204 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 18

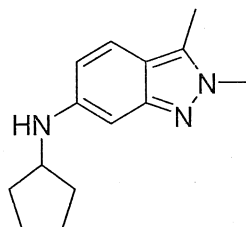
***N*-(2,3-Dimetyl-2*H*-indazol-6-yl)axetamit**



Thử nghiệm 18 được tiến hành tương tự thử nghiệm 2 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu trắng, hiệu suất 61 % (123 mg). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (s, 1H); 7,47 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 7,17 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 4,06 (s, 3H); 2,57 (s, 3H); 2,19 (s, 3H). MS (m/z) = 204 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

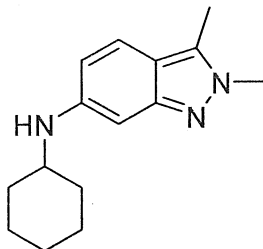
Thử nghiệm 19

***N*-Xyclopentyl-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin**

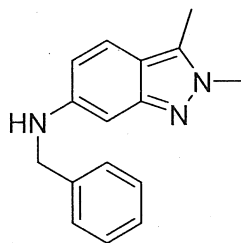


Thử nghiệm 19 được tiến hành tương tự thử nghiệm 3 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 67 % (153 mg). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 6,52 (d, $J = 1,40$ Hz, 1H); 6,40 (dd, $J = 8,85, 1,80$ Hz, 1H); 3,96 (s, 3H); 3,81 (quintet, $J = 5,45$ Hz, 1H); 3,68 (br, 1H); 2,04 (hex, $J = 6,45$ Hz, 2H); 1,73-1,67 (m, 2H); 1,64-1,60 (m, 2H); 1,53-1,49 (m, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,3; 146,5; 131,4; 119,9; 115,4; 115,3; 92,7; 54,7; 36,6; 33,4; 24,2; 9,8. MS (m/z) = 230 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

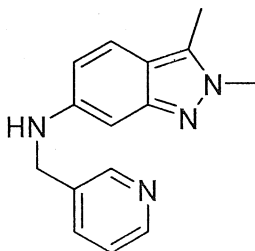
Thử nghiệm 20

***N*-Xyclohexyl-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin**

Thử nghiệm 20 được tiến hành tương tự thử nghiệm 4 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 72 % (175 mg). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,21 (d, $J = 8,97$ Hz, 1H); 6,47 (d, $J = 1,65$ Hz, 1H); 6,35 (dd, $J = 8,97, 2,01$ Hz, 1H); 3,90 (s, 3H); 3,27-3,20 (m, 1H); 2,43 (s, 3H); 2,09-2,05 (m, 2H); 1,71-1,59 (m, 3H); 1,38-1,26 (m, 2H); 1,21-1,13 (m, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,4; 145,7; 131,4; 120,1; 115,4; 115,3; 92,6; 51,9; 36,6; 33,1; 26,0; 25,0; 9,8. MS (m/z) = 244 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 21***N*-benzyl-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin**

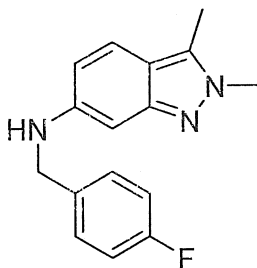
Thử nghiệm 21 được tiến hành tương tự thử nghiệm 5 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 76 % (190 mg). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35-7,19 (m, 6H); 6,49 (d, $J = 1,83$ Hz); 6,42 (dd, $J = 8,97, 2,01$ Hz, 1H); 4,29 (s, 2H); 4,00 (br, 1H); 3,90 (s, 3H); 2,43 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,2; 146,6; 139,2; 131,5; 128,6; 127,7; 127,2; 120,1; 115,6; 114,8; 92,6; 48,5; 36,7; 9,8. MS (m/z) = 252 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 22**2,3-Dimetyl-*N*-(pyridin-3-ylmetyl)-2*H*-indazol-6-amin**

Thử nghiệm 22 được tiến hành tương tự thử nghiệm 6 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 58 % (147 mg). ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8,66 (s, 1H); 8,51 (d, $J = 4,77$ Hz, 1H); 7,73 (d, $J = 7,68$ Hz, 1H); 7,33 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H); 7,26-7,23 (m, 1H); 6,53-6,50 (m, 2H); 4,40 (s, 2H), 4,12 (br, 1H); 3,97 (s, 3H); 2,51 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 149,4; 148,9; 148,3; 146,6; 135,9; 135,5; 131,3; 123,8; 120,5; 115,3; 114,9; 91,5; 44,8; 36,9; 9,7. MS (m/z) = 253 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 23

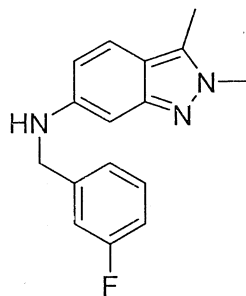
N-(4-Flobenzyl)-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin



Thử nghiệm 23 được tiến hành tương tự thử nghiệm 7 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 77 % (207 mg). ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7,38-7,34 (m, 2H); 7,32 (dd, $J = 8,79, 0,54$ Hz, 1H); 7,04-7,69 (m, 2H); 6,52 (s, 1H); 6,49 (dd, $J = 8,61, 1,83$ Hz, 1H); 4,33 (s, 2H); 4,07 (s, 1H); 3,97 (s, 3H); 2,51 (s, 3H). MS (m/z) = 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

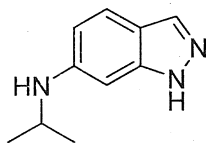
Thử nghiệm 24

N-(3-flobenzyl)-2,3-dimetyl-2*H*-indazol-6-amin

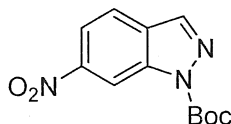


Thử nghiệm 24 được tiến hành tương tự thử nghiệm 8 với chất 17B thay thế 1B thu được chất rắn màu nâu, hiệu suất 75 % (202 mg). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,30 (d, $J = 8,75$ Hz, 1H); 7,26 (dt, $J = 6,15, 7,85$ Hz, 1H); 7,15 (d, $J = 7,60$ Hz, 1H); 7,08 (d, $J = 9,75$ Hz, 1H); 6,91 (td, $J = 8,55, 2,25$ Hz, 1H), 6,50-6,48 (m, 2H); 4,35 (s, 2H); 4,13 (br, 1H); 3,94 (s, 3H); 2,48 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,1; 149,0; 146,3; 142,0; 131,7; 130,1; 122,9; 120,2; 115,7; 114,7; 114,3; 92,7; 47,9; 36,7; 9,8. MS (m/z) = 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 25

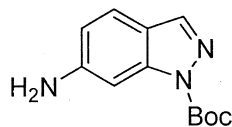
N-Isopropyl-1*H*-indazol-6-amin

Điều chế 25A



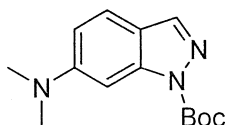
122 mg 4-dimethylaminopyridin (DMAP, 0,05 đương lượng) được thêm vào dung dịch chứa 3,26 g (1 đương lượng) 6-nitroindazol trong 50 ml diclometan tại 0 °C, khuấy trộn 30 phút trước khi thêm 4,8 g (1,1 đương lượng) Boc₂O vào dung dịch phản ứng. Phản ứng được tiếp tục khuấy trộn trong 2 g ở nhiệt độ phòng. Sau đó, hỗn hợp này được pha loãng với 100 ml diclometan, rửa lần lượt với 100 ml nước, nước muối bão hòa. Làm khan dịch diclometan bằng MgSO₄, cô quay dưới áp suất giảm. Cẩn thu được sau khi cô quay được tinh chế bằng sắc ký cột với hạt nhồi là silica gel, pha động là etyl axetat/hexan (1/1) thu được chất rắn màu vàng (5,15 g, 98%). ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ 9,03 (d, *J* = 1,62 Hz, 1H); 8,18 (dd, *J* = 8,61, 2,01 Hz, 1H); 7,78 (dd, *J* = 8,79, 0,72 Hz, 1H); 2,66 (s, 3H); 1,76 (s, 9H).

Điều chế chất 25B



Chất 25B được điều chế tương tự chất 1B với nguyên liệu ban đầu 25A thay thế 1A. Với 5,15 g 25A thu được 4,52 g 25B (99%). ¹H-NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7,38 (d, *J* = 8,43 Hz, 1H); 7,37 (s, 1H); 6,65 (dd, *J* = 8,43, 2,01 Hz, 1H); 3,99 (s, 2H); 2,50 (s, 3H); 1,70 (s, 9H).

Điều chế chất 25C



Chất 25C được điều chế tương tự chất 1, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 80%. ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (s, 1H);

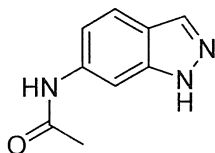
7,45-7,33 (m, 2H); 6,60 (s, 1H); 6,73 (quintet, $J = 6,30$ Hz, 1H); 1,70 (s, 9H); 1,27 (d, $J = 5,90$ Hz, 6H).

Thử nghiệm 25: *N*-Isopropyl-1*H*-indazol-6-amin

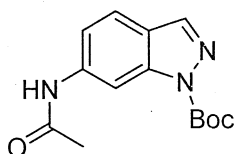
Dung dịch chứa 260 mg chất 25C trong 2ml diclometan được thêm 0,75 ml (đương lượng) axit triloaxetic axit kết hợp khuấy trộn qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với 100 ml diclometan, rửa lần lượt với 100 ml dung dịch natri carbonat bão hòa, nước. Dịch hữu cơ được làm khan với MgSO_4 , cô quay loại bỏ dung môi. Cặn còn lại được tinh chế bằng cột silica gel với pha động etyl acetat/hexan (1/2) thu được chất rắn màu đỏ nhạt (134 mg, 84%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (s, 1H); 7,43 (d, $J = 9,15$ Hz, 1H); 6,49-6,46 (m, 2H); 3,64 (hept, $J = 6,42$ Hz, 1H); 1,23 (d, $J = 6,24$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 146,9; 142,3; 134,7; 121,4; 116,1; 113,1; 89,0; 44,5; 22,7. MS (ESI): m/z 176.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 26

N-(1*H*-Indazol-6-yl)axetamit



Điều chế chất 26A



Chất 26A được điều chế tương tự chất 2 với nguyên liệu ban đầu là 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu trắng, hiệu suất 56%. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,50 (s, 1H); 8,08 (s, 1H); 7,63 (d, $J = 8,40$ Hz, 1H); 7,35 (br, 2H); 2,21 (s, 2H); 1,72 (s, 9H).

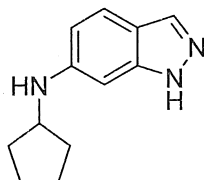
Thử nghiệm 26: *N*-(1*H*-Indazol-6-yl)axetamit

Thử nghiệm 26 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 26A thay thế 25C. Khi phản ứng kết thúc, dung dịch được thêm 100 ml diclometan, rửa lần lượt với 100 ml dung dịch natri carbonat bão hòa và nước. Cô cạn dịch diclometan, cặn thu được được kết tinh trong diclometan lạnh thu được chất rắn màu trắng, hiệu suất 85%. ^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,07 (s, 1H); 7,91 (s, 1H); 7,62 (dd, $J = 8,79, 2,19$ Hz, 1H);

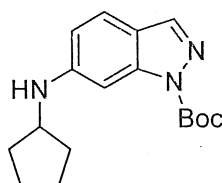
7,01 (dd, $J = 8,79$ Hz, 1H); 2,14 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 171,2; 141,8; 140,3; 134,5; 122,3; 121,6; 109,5; 24,3. MS (ESI): m/z 175,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 27

N-Xyclopentyl-1*H*-indazol-6-amin



Điều chế chất 27A



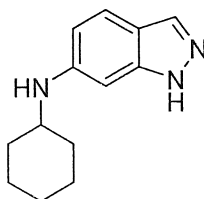
Chất 27A được điều chế tương tự chất 3, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 77%. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,93 (s, 1H); 7,41 (d, $J = 8,43$ Hz, 1H); 7,35 (s, 1H); 6,62 (s, 1H); 3,88 (quintet, $J = 6,78$ Hz, 1H); 2,08-2,06 (m, 2H); 1,74-1,63 (m, 6H); 1,70 (s, 9H).

Thử nghiệm 27: *N*-Xyclopentyl-1*H*-indazol-6-amin

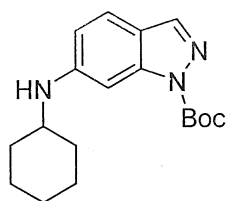
Thử nghiệm 27 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 27A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 90%. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,80 (s, 1H); 7,38 (d, $J = 9,15$ Hz, 1H); 6,44-6,42 (m, 2H); 3,75 (quintet, $J = 5,31$ Hz, 1H); 2,06-1,96 (m, 2H); 1,71-1,43 (m, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 147,9; 142,8; 133,6; 120,8; 115,5; 112,9; 88,0; 54,2; 32,8; 24,2. MS (ESI): m/z 202,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 28

N-Xyclohexyl-1*H*-indazol-6-amin



Điều chế chất 28A



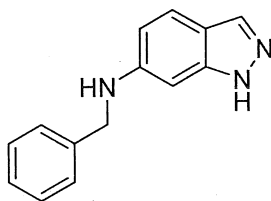
Chất 28A được điều chế tương tự chất 4, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 74%. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,93 (s, 1H); 7,41 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H), 7,24 (s, 1H); 6,60 (s, 1H); 3,37-3,33 (m, 1H); 2,07-2,00 (m, 2H); 1,74-1,23 (m, 8H); 1,70 (s, 9H).

Thử nghiệm 28: *N*-Xyclohexyl-1*H*-indazol-6-amin

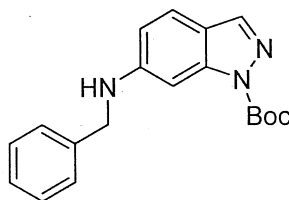
Thử nghiệm 28 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 28A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 88%. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (s, 1H); 7,38 (d, $J = 8,43$ Hz, 1H); 6,45-6,42 (m, 2H); 3,26-3,20 (m, 1H); 2,05-1,98 (m, 2H); 1,74-1,59 (m, 3H); 1,35-1,13 (m, 5H). $^{13}\text{C-NMR}$ (500-MHz, CDCl_3): δ 146,5; 142,3; 134,8; 121,4; 116,1; 113,2; 89,5; 52,5; 33,0; 25,8; 24,9. MS (ESI): m/z 216,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 29

N-Benzyl-1*H*-indazol-6-amin



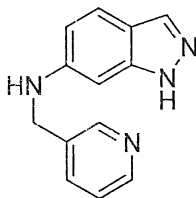
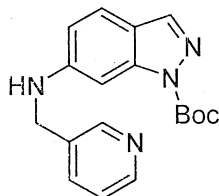
Điều chế chất 29A



Chất 29A được điều chế tương tự chất 5, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu hồng, hiệu suất 83%. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3), δ 7,94 (s, 1H); 7,43 (d, $J = 8,60$ Hz, 1H); 7,38-7,26 (m, 6H); 6,62 (dd, $J = 8,60, 2,05$ Hz, 1H); 4,40 (s, 2H); 1,65 (s, 9H).

Thử nghiệm 29: *N*-Benzyl-1*H*-indazol-6-amin

Thử nghiệm 29 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 29A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu trắng, hiệu suất 92%. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,80 (s, 1H); 7,41 (d, *J* = 8,79 Hz, 1H); 7,33-7,18 (m, 5H); 6,49 (dd, *J* = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,40 (s, 1H); 4,29 (s, 2H). ¹³C-NMR (500-MHz, CDCl₃): δ 147,8; 138,8; 128,7; 127,4; 121,4; 112,6; 88,6; 48,3.. MS (ESI): *m/z* 224,.0 [M+H]⁺.

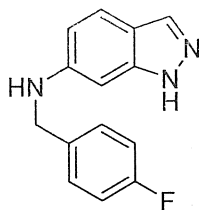
Thử nghiệm 30***N*-(Pyridin-3-ylmetyl)-1*H*-indazol-6-amin****Điều chế chất 30A**

Chất 30A được điều chế tương tự chất 6, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu hồng, hiệu suất 76%. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,68 (s, 1H); 8,56 (s, 1H); 7,95 (s, 1H); 7,76 (d, *J* = 7,86 Hz, 1H); 7,45 (d, *J* = 8,61 Hz, 1H); 7,34-7,31 (m, 2H); 6,63 (dd, *J* = 8,61, 2,01 Hz, 1H); 4,47 (s, 2H); 1,65 (s, 9H).

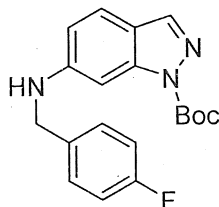
Thử nghiệm 30: *N*-(Pyridin-3-ylmetyl)-1*H*-indazol-6-amin

Thử nghiệm 30 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 30A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu trắng, hiệu suất 88%. ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,55 (d-like, 1H); 8,42 (dd, *J* = 3,48 Hz, 1H); 7,77 (s, 1H); 7,73 (d, *J* = 7,89 Hz, 1H); 7,44 (d, *J* = 8,58 Hz, 1H); 7,27 (dd, *J* = 8,07, 4,95 Hz, 1H); 6,53 (dd, *J* = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,38 (s, 1H); 4,37 (s, 2H). MS (ESI): *m/z* 225,.0 [M+H]⁺.

Thử nghiệm 31***N*-(4-Flobenzyl)-1*H*-indazol-6-amin**



Điều chế chất 31A



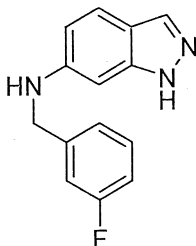
Chất 31A được điều chế tương tự chất 7, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu hồng, hiệu suất 85%. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7,97 (s, 1H); 7,46 (d, $J = 8,45$ Hz, 1H); 7,40 (s, 1H); 7,33 (dd, $J = 8,20, 5,55$ Hz, 2H); 7,01 (t, $J = 8,40$ Hz, 2H); 6,67 (s, 1H); 4,38 (s, 2H); 1,66 (s, 9H).

Thử nghiệm 31: *N*-(4-Flobenzyl)-1*H*-indazol-6-amin

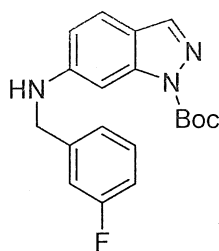
Thử nghiệm 31 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 31A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 95%. $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,81 (s, 1H); 7,43 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 7,28 (dd, $J = 8,40, 5,49$ Hz, 2H); 6,97 (t, $J = 8,61$ Hz, 2H); 6,50 (dd, $J = 8,61, 1,83$ Hz, 1H); 6,38 (s, 1H); 4,28 (s, 2H). $^{13}\text{C-NMR}$ (500-MHz, CDCl_3): δ 163,1; 161,1; 147,7; 142,0; 134,3; 129,2; 121,5; 116,2; 115,6; 113,0; 88,8; 47,7. MS (ESI): m/z 242,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Thử nghiệm 32

N-(3-Flobenzyl)-1*H*-indazol-6-amin



Điều chế chất 32A



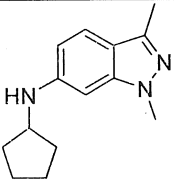
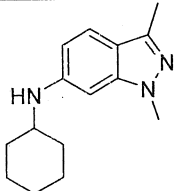
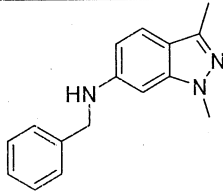
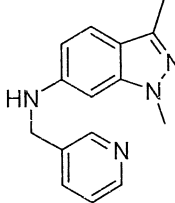
Chất 32A được điều chế tương tự chất 8, với nguyên liệu ban đầu 25B thay thế 1B thu được chất rắn màu hồng, hiệu suất 70%. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (s, 1H); 7,45 (d, $J = 8,60$ Hz, 1H); 7,35 (s, 1H); 7,29 (q, $J = 7,80$ Hz, 1H); 7,14 (d, $J = 7,60$ Hz, 1H); 7,08 (d, $J = 9,55$ Hz, 1H); 6,96 (td, $J = 8,35, 2,05$ Hz, 1H); 6,66 (d, $J = 8,15$ Hz, 1H); 4,43 (s, 3H); 1,65 (s, 9H).

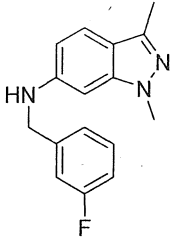
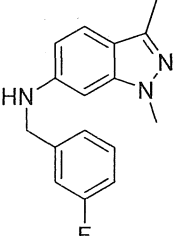
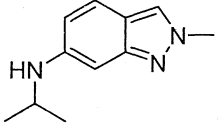
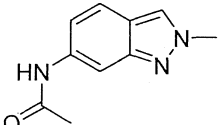
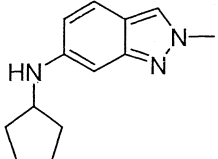
Thử nghiệm 32: *N*-(4-Flobenzyl)-1*H*-indazol-6-amin

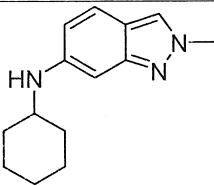
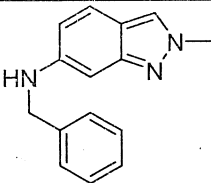
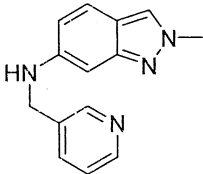
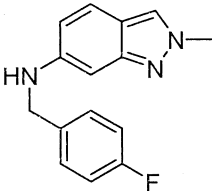
Thử nghiệm 32 được tiến hành tương tự thử nghiệm 25 với nguyên liệu ban đầu 32A thay thế cho 25C thu được chất rắn màu đỏ nhạt, hiệu suất 91%. ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (s, 1H, 7,50 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 7,34-7,27 (td, $J = 8,07, 5,85$ Hz, 1H); 7,15 (d, $J = 7,50$ Hz, 1H); 7,08 (d, $J = 10,05$ Hz, 1H); 6,96 (td, $J = 8,43$ Hz, 1H); 6,60 (dd, $J = 8,58, 1,83$ Hz, 1H); 6,48 (s, 1H); 4,39 (s, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,2; 147,6; 142,1; 141,6; 134,4; 130,2; 122,7; 121,5; 116,4; 114,3; 112,8; 88,9; 47,8. MS (ESI): m/z 242,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

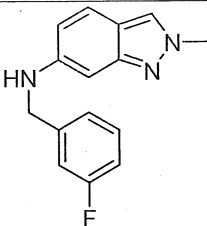
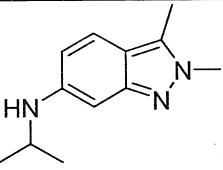
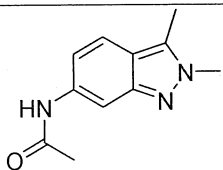
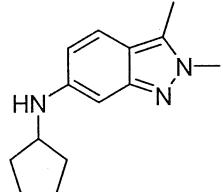
Bảng 1: Các hợp chất có công thức (I) và (II)

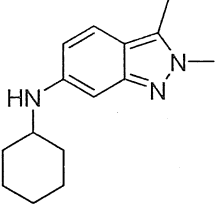
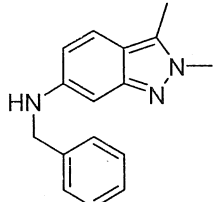
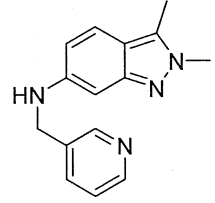
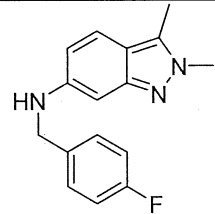
#	Cấu trúc	^1H -NMR và ^{13}C -NMR	MS $[\text{M}+\text{H}]^+$
1		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H); 6,39 (dd, $J = 8,58, 1,83$ Hz, 1H); 6,23 (d, $J = 1,83$ Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,69 (hep, $J = 6,21$ Hz, 1H); 3,67 (br, 1H); 2,44 (s, 3H); 1,24 (d, $J = 6,21$ Hz, 6H).	204
2		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33 (d, $J = 8,61$ Hz, 1H); 6,39 (dd, $J = 8,58, 1,83$ Hz, 1H); 6,23 (d, $J = 1,83$ Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,69 (hep, $J = 6,21$ Hz, 1H); 3,67 (br, 1H); 2,44 (s, 3H); 1,24 (d, $J = 6,21$ Hz, 6H).	204

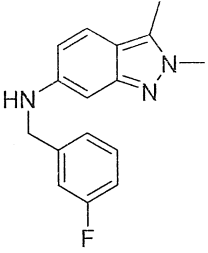
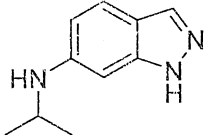
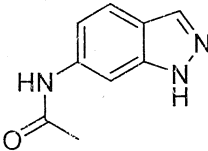
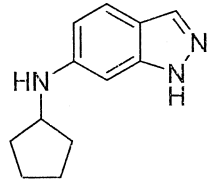
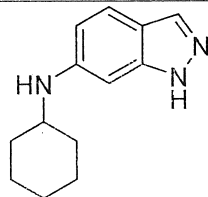
		6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 168,5; 141,3; 141,1; 136,4; 120,7; 120,1; 113,2; 99,2; 35,1; 24,7; 11,7.	
3		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,32 (d, J = 8,60 Hz, 1H); 6,40 (dd, J = 8,65, 1,75 Hz, 1H); 6,24 (d, J = 1,30 Hz, 1H); 3,85-3,81 (m, 5H); 2,44 (s, 3H); 2,06 (hex, J = 6,20 Hz, 1H); 1,77-1,70 (m, 2H); 1,68-1,62 (m, 2H); 1,54-1,48 (m, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 147,2; 142,8; 141,1; 120,9; 116,2; 111,5; 88,2; 54,9; 34,8; 33,4; 24,1; 11,7	230
4		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,34 (d, J = 8,61 Hz, 1H); 6,47 (d-like, 1H); 6,35 (s, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,35-3,25 (m, 1H); 2,44 (s, 3H); 2,15-2,05 (m, 2H); 1,76-1,60 (m, 3H); 1,40-1,24 (m, 5H).	244
5		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40-7,28 (m, 6H); 6,50 (dd, J = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,27 (d, J = 1,83 Hz, 1H); 4,38 (s, 2H); 3,83 (s, 3H); 2,46 (s, 3H).	252
6		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,60 (d, J = 2,01 Hz, 1H); 8,48 (d, J = 3,30 Hz, 1H); 7,66 (d, J = 7,86 Hz, 1H); 7,33 (d, J = 8,67 Hz, 1H); 7,22 (dd, J = 7,89, 4,77 Hz, 1H); 6,44 (dd, J = 8,43 Hz, 1,86 Hz, 1H); 6,20 (d, J = 1,83 Hz, 1H); 4,37 (s, 2H); 4,22 (br, 1H); 3,77 (s, 3H); 2,40 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 48,9; 148,6; 146,9; 142,5; 141,2; 135,3; 134,6; 123,7; 121,2; 116,8; 110,9; 88,2; 45,9; 34,8; 11,7.	253

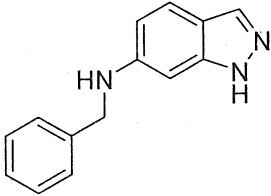
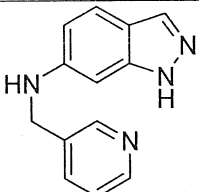
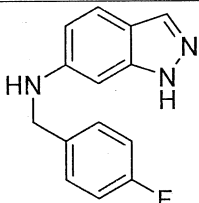
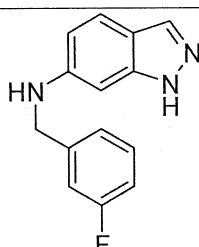
7		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33-7,27 (m, 3H); 6,97 (t, $J = 8,58$ Hz, 2H); 6,43 (dd, $J = 8,61, 1,83$ Hz, 1H); 6,19 (d, $J = 1,86$ Hz, 1H); 4,30 (s, 2H); 3,77 (s, 3H); 2,40 (s, 3H).	270
8		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,37 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 7,30 (td, $J = 7,85, 6,20$ Hz, 1H); 7,16 (d, $J = 7,60$ Hz, 1H); 7,09 (d, $J = 9,65$ Hz, 1H); 6,96 (td, $J = 8,40, 2,50$ Hz, 1H); 6,50 (dd, $J = 8,60, 1,75$ Hz, 1H); 6,23 (d, $J = 1,25$ Hz, 1H); 4,30 (s, 2H); 3,82 (s, 3H); 2,46 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 163,7; 161,8; 148,2; 143,8; 142,9; 140,1; 130,6; 123,8; 120,8; 115,7; 114,4; 111,5; 87,6; 46,5; 34,9; 11,9.	270
9		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (s, 1H); 7,36 (d, $J = 8,85$ Hz, 1H); 6,62 (s, 1H); 6,46 (dd, $J = 8,90, 1,55$ Hz, 1H); 4,08 (s, 3H); 3,65 (hep, $J = 6,25$ Hz, 1H); 1,23 (d, $J = 6,20$ Hz, 6H).	190
10		^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8,10 (s, 1H); 8,03 (s, 1H); 7,60 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 7,08 (dd, $J = 8,95, 1,65$ Hz, 1H); 4,15 (s, 3H); 2,14 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 168,4; 149,1; 135,8; 123,6; 120,5; 119,5; 117,3; 106,2; 45,8; 24,6.	190
11		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,60 (s, 1H), 7,31 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,40 (dd, $J = 8,79, 2,01$ Hz, 1H), 4,03 (s, 3H), 3,81-3,71 (m, 1H), 2,03-1,96 (m, 2H), 1,69-1,43 (m, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 150,7;	216

		146,7; 124,1; 120,4; 116,5; 115,6; 91,2; 54,1; 32,8; 24,3.	
12		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,67 (s, 1H); 7,38 (d, $J = 8,97$ Hz, 1H); 6,71 (s, 1H); 6,53 (d, $J = 9,15$ Hz, 1H); 4,09 (s, 3H); 3,38-3,28 (m, 1H); 2,13-2,09 (m, 2H); 1,72-1,61 (m, 3H); 1,37-1,18 (m, 5H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 150,8; 146,0; 124,1; 120,6; 116,5; 115,6; 90,9; 51,1; 32,8; 26,2; 25,0.	230
13		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1H); 7,35-7,19 (m, 6H); 6,56 (s, 1H); 6,48 (dd, $J = 8,79$, 2,01 Hz, 1H); 4,29 (s, 2H); 4,02 (s, 4H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 150,7; 146,4; 139,1; 128,6; 127,7; 127,2; 123,5; 120,4; 116,4; 116,1; 92,9; 48,5; 39,7.	238
14		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,65 (d, $J = 1,65$ Hz, 1H); 8,50 (dd, $J = 4,95$, 1,65 Hz, 1H); 7,35 (d, $J = 7,89$ Hz, 1H); 7,68 (s, 1H); 7,41 (d, $J = 7,89$ Hz, 1H); 7,26 (dd, $J = 8,25$, 5,13 Hz, 1H); 6,56-6,53 (m, 2H); 4,40 (s, 2H); 4,08 (s, 2H).	239
15		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (s, 1H); 7,39 (d, $J = 8,85$ Hz, 1H); 7,34 (dd, $J = 8,30$, 5,60 Hz, 2H); 6,99 (t, $J = 8,65$ Hz, 2H); 6,57 (s, 1H); 6,53 (dd, $J = 8,95$, 1,90 Hz, 1H); 4,31 (s, 2H); 4,01 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 162,5; 160,5; 150,5; 146,6; 136,6; 129,5; 124,3; 120,7; 116,2; 115,4; 91,6; 46,4.	256

16		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,61 (s, 1H); 7,25 (d, $J = 9,33$ Hz, 1H); 7,20 (dt, $J = 5,85, 7,86$ Hz, 1H); 7,09 (d, $J = 7,68$ Hz, 1H); 7,03 (d, $J = 9,54$ Hz, 1H); 6,86 (td, $J = 8,25, 2,19$ Hz, 1H); 6,51-6,47 (m, 2H); 4,30 (s, 2H); 4,14 (br, 1H); 4,00 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,1; 150,6; 146,1; 142,0; 130,1; 123,6; 122,9; 120,6; 116,5; 116,0; 114,3; 93,1; 47,9; 39,8.	256
17		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,27 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 6,51 (d, $J = 1,47$ Hz, 1H); 6,39 (dd, $J = 8,79, 1,83$ Hz, 1H); 3,95 (s, 3H); 3,65 (hep, $J = 6,24$ Hz, 1H); 3,49 (br, 1H); 2,50 (s, 3H); 2,22 (d, $J = 6,24$ Hz, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,4; 145,8; 131,4; 120,1; 115,4; 115,3; 92,7; 44,3; 36,6; 22,7; 9,8.	204
18		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (s, 1H); 7,47 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 7,17 (d, $J = 8,79$ Hz, 1H); 4,06 (s, 3H); 2,57 (s, 3H); 2,19 (s, 3H).	204
19		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,25 (d, $J = 8,95$ Hz, 1H); 6,52 (d, $J = 1,40$ Hz, 1H); 6,40 (dd, $J = 8,85, 1,80$ Hz, 1H); 3,96 (s, 3H); 3,81 (quintet, $J = 5,45$ Hz, 1H); 3,68 (br, 1H); 2,04 (hex, $J = 6,45$ Hz, 2H); 1,73-1,67 (m, 2H); 1,64-1,60 (m, 2H); 1,53-1,49 (m, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,3; 146,5; 131,4; 119,9; 115,4; 115,3; 92,7; 54,7; 36,6; 33,4; 24,2; 9,8.	230

20		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,21 (d, J = 8,97 Hz, 1H); 6,47 (d, J = 1,65 Hz, 1H); 6,35 (dd, J = 8,97, 2,01 Hz, 1H); 3,90 (s, 3H); 3,27-3,20 (m, 1H); 2,43 (s, 3H); 2,09-2,05 (m, 2H); 1,71-1,59 (m, 3H); 1,38-1,26 (m, 2H); 1,21-1,13 (m, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,4; 145,7; 131,4; 120,1; 115,4; 115,3; 92,6; 51,9; 36,6; 33,1; 26,0; 25,0; 9,8	244
21		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35-7,19 (m, 6H); 6,49 (d, J = 1,83 Hz); 6,42 (dd, J = 8,97, 2,01 Hz, 1H); 4,29 (s, 2H); 4,00 (br, 1H); 3,90 (s, 3H); 2,43 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,2; 146,6; 139,2; 131,5; 128,6; 127,7; 127,2; 120,1; 115,6; 114,8; 92,6; 48,5; 36,7; 9,8.	252
22		^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 8,66 (s, 1H); 8,51 (d, J = 4,77 Hz, 1H); 7,73 (d, J = 7,68 Hz, 1H); 7,33 (d, J = 8,61 Hz, 1H); 7,26-7,23 (m, 1H); 6,53-6,50 (m, 2H); 4,40 (s, 2H), 4,12 (br, 1H); 3,97 (s, 3H); 2,51 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 149,4; 148,9; 148,3; 146,6; 135,9; 135,5; 131,3; 123,8; 120,5; 115,3; 114,9; 91,5; 44,8; 36,9; 9,7.	253
23		^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7,38-7,34 (m, 2H); 7,32 (dd, J = 8,79, 0,54 Hz, 1H); 7,04-7,69 (m, 2H); 6,52 (s, 1H); 6,49 (dd, J = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 4,33 (s, 2H); 4,07 (s, 1H); 3,97 (s, 3H); 2,51 (s, 3H).	270

24		^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,30 (d, J = 8,75 Hz, 1H); 7,26 (dt, J = 6,15, 7,85 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 7,60 Hz, 1H); 7,08 (d, J = 9,75 Hz, 1H); 6,91 (td, J = 8,55, 2,25 Hz, 1H), 6,50-6,48 (m, 2H); 4,35 (s, 2H); 4,13 (br, 1H); 3,94 (s, 3H); 2,48 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,1; 149,0; 146,3; 142,0; 131,7; 130,1; 122,9; 120,2; 115,7; 114,7; 114,3; 92,7; 47,9; 36,7; 9,8.	270
25		^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (s, 1H); 7,43 (d, J = 9,15 Hz, 1H); 6,49-6,46 (m, 2H); 3,64 (hept, J = 6,42 Hz, 1H); 1,23 (d, J = 6,24 Hz, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 146,9; 142,3; 134,7; 121,4; 116,1; 113,1; 89,0; 44,5; 22,7.	176
26		^1H -NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,07 (s, 1H); 7,91 (s, 1H); 7,62 (dd, J = 8,79, 2,19 Hz, 1H); 7,01 (dd, J = 8,79 Hz, 1H); 2,14 (s, 3H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 171,2; 141,8; 140,3; 134,5; 122,3; 121,6; 109,5; 24,3	176
27		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,80 (s, 1H); 7,38 (d, J = 9,15 Hz, 1H); 6,44-6,42 (m, 2H); 3,75 (quintet, J = 5,31 Hz, 1H); 2,06-1,96 (m, 2H); 1,71-1,43 (m, 6H). ^{13}C -NMR (500-MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 147,9; 142,8; 133,6; 120,8; 115,5; 112,9; 88,0; 54,2; 32,8; 24,2.	202
28		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (s, 1H); 7,38 (d, J = 8,43 Hz, 1H); 6,45-6,42 (m, 2H); 3,26-3,20 (m, 1H); 2,05-1,98 (m, 2H); 1,74-1,59 (m, 3H); 1,35-1,13 (m,	216

		5H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 146,5; 142,3, 134,8; 121,4; 116,1; 113,2; 89,5; 52,5; 33,0; 25,8; 24,9.	
29		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,80 (s, 1H); 7,41 (d, J = 8,79 Hz, 1H); 7,33-7,18 (m, 5H); 6,49 (dd, J = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,40 (s, 1H); 4,29 (s, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 147,8; 138,8; 128,7; 127,4; 121,4; 112,6; 88,6; 48,3.	224
30		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,55 (d-like, 1H); 8,42 (dd, J = 3,48 Hz, 1H); 7,77 (s, 1H); 7,73 (d, J = 7,89 Hz, 1H); 7,44 (d, J = 8,58 Hz, 1H); 7,27 (dd, J = 8,07, 4,95 Hz, 1H); 6,53 (dd, J = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,38 (s, 1H); 4,37 (s, 2H).	225
31		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,81 (s, 1H); 7,43 (d, J = 8,79 Hz, 1H); 7,28 (dd, J = 8,40, 5,49 Hz, 2H); 6,97 (t, J = 8,61 Hz, 2H); 6,50 (dd, J = 8,61, 1,83 Hz, 1H); 6,38 (s, 1H); 4,28 (s, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 163,1; 161,1; 147,7; 142,0; 134,3; 129,2; 121,5; 116,2; 115,6; 113,0; 88,8; 47,7.	242
32		^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (s, 1H, 7,50 (d, J = 8,79 Hz, 1H); 7,34-7,27 (td, J = 8,07, 5,85 Hz, 1H); 7,15 (d, J = 7,50 Hz, 1H); 7,08 (d, J = 10,05 Hz, 1H); 6,96 (td, J = 8,43 Hz, 1H); 6,60 (dd, J = 8,58, 1,83 Hz, 1H); 6,48 (s, 1H); 4,39 (s, 2H). ^{13}C -NMR (500-MHz, CDCl_3): δ 164,1; 162,2; 147,6; 142,1; 141,6; 134,4; 130,2; 122,7; 121,5; 116,4; 114,3; 112,8; 88,9;	242

	47,8.	
--	-------	--

Thử hoạt tính sinh học của hợp chất công thức (I) và (II)

Mô tả các thử nghiệm sinh học

Thử độc tính tế bào

Độc tính tế bào được thử theo phép thử Sulforhodamin B.

Độc tính tế bào của các chất tổng hợp được đánh giá trên 5 dòng tế bào ung thư: ung thư phổi (A549), ung thư trực tràng (HCT116), ung thư dạ dày (SNU-638), ung thư vú (MDA-MB-231) và ung thư gan (SK-HEP-1). Tế bào HCT116 và SNU-638 được nuôi cấy trong môi trường RPMI1649, trong khi đó tế bào A549, MDA-MB-231 và SK-HEP-1 được nuôi cấy trong môi trường DMEM cùng với 10% huyết thanh bào thai bò bất hoạt bằng nhiệt, penicilin 100 đơn vị/ml, amphotercin B 250ng/ml. Tế bào được ủ tại môi trường ẩm với 5% CO₂.

Các dòng tế bào được cấy vào hệ 96 giếng với nồng độ 2×10^4 tế bào/ml, và dung dịch dẫn chất thử indazol ở các nồng độ khác nhau. Sau khi ủ ở 37 °C với 5% CO₂, tế bào được cố định bằng axit tricloaxetic ở nồng độ 50% trong 1 giờ. Sau đó tế bào được nhuộm màu bằng dung dịch sulforhodamin B nồng độ 0,4% trong axit axetic 1%. Các tế bào đã được nhuộm được hòa tan trong dung dịch đệm Tris (pH 10,0) 10 mM và xác định cường độ phát xạ tại bước sóng 565 nm. Các thử nghiệm được tiến hành độc lập, lặp lại ít nhất 3 lần. Khả năng ức chế tế bào ung thư được tính theo giá trị IC₅₀ là nồng độ tối đa ức chế 50% sự phát triển của tế bào. Giá trị IC₅₀ được trình bày trong bảng 2 với A ≤ 1 μM, 1 < B ≤ 10 μM, 10 < C ≤ 100 μM và D > 100 μM.

Bảng 2: Tác dụng ức chế các dòng tế bào ung thư của các chất có công thức (I) và (II)

Thử nghiệm	Dòng tế bào (IC ₅₀)				
	A549	SK-HEP-1	SNU-638	MDA-MB-231	HCT-116
1	D	D	D	D	D
2	D	D	D	D	D
3	D	C	B	D	D
4	C	C	C	D	C
5	B	C	B	D	C

6	C	C	D	D	B
7	B	C	B	C	A
8	D	C	B	C	B
9	C	D	C	C	C
10	C	D	D	C	B
11	B	D	B	B	D
12	C	D	D	D	D
13	D	D	C	C	C
14	D	D	D	D	D
15	D	D	C	D	D
16	D	D	D	D	D
17	D	D	D	D	D
18	D	D	D	D	D
19	D	D	D	D	D
20	C	C	C	D	C
21	D	D	D	D	C
22	D	D	D	B	C
23	C	C	C	C	B
24	D	D	D	C	B
25	D	D	D	D	D
26	C	D	D	D	C
27	D	D	D	D	D
28	D	D	D	D	C
29	D	D	C	D	D
30	D	D	D	D	D
31	C	D	C	D	C

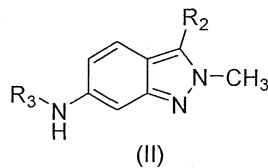
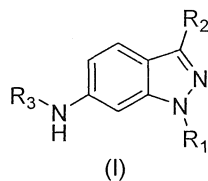
32	C	D	C	C	C
----	---	---	---	---	---

Thử khả năng ức chế hoạt động enzym IDO1 của các chất có công thức (I) và (II).

Một cách ngắn gọn, các hợp chất trong sáng chế tại nồng độ 10 μ M được ủ với tế bào ung thư HCT116 (2×10^5 tế bào/ml) trong vòng 24 giờ. Sau đó tiến hành phân tích theo phương pháp Western blot với kháng thể đặc hiệu để xác định mức độ IDO1 và chất chuẩn so sánh protein β -actin.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) và (II):



hoặc muối, chất hỗn biến, dạng solvat, dạng đồng vị, dạng đa hình dược dụng của nó, trong đó:

R₁, R₂ là H hoặc metyl, R₃ là isopropyl hoặc xycloalkyl với kích thước vòng khác nhau là 5 hoặc 6 cacbon hoặc benzyl được thế bằng nguyên tử flo tại vị trí meta hay para, hoặc 3-pyridylmetyl.

2. Hợp chất theo điểm 1, có công thức (I) trong đó R₁ là metyl, R₂ là metyl, R₃ là isopropyl, xyclopentyl, xyclohexyl, benzyl, 3-pyridylmetyl, 4-flobenzyl, 3-flobenzyl.

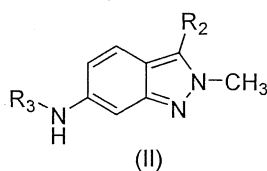
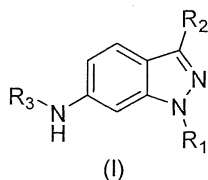
3. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (I) trong đó R₁ là H, R₂ là metyl, R₃ là isopropyl, xyclopentyl, xyclohexyl, benzyl, 3-pyridylmetyl, 4-flobenzyl, 3-flobenzyl.

4. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (II) trong đó R₂ là H, R₃ là isopropyl, xyclopentyl, xyclohexyl, benzyl, 3-pyridylmetyl, 4-flobenzyl, 3-flobenzyl.

5. Hợp chất theo điểm 1 có công thức (II) trong đó R₂ là metyl, R₃ là isopropyl, xyclopentyl, xyclohexyl, benzyl, 3-pyridylmetyl, 4-flobenzyl, 3-flobenzyl.

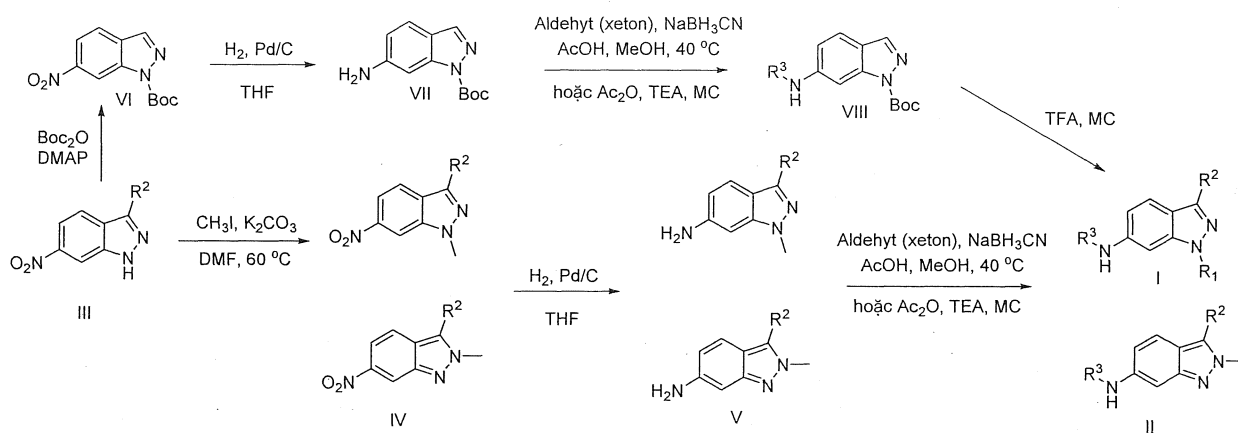
6. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

7. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) hoặc (II):



trong đó: R₁, R₂ là H hoặc metyl, R₃ là isopropyl hoặc xycloalkyl với kích thước vòng khác nhau là 5 hoặc 6 cacbon hoặc benzyl được thế bằng nguyên tử flo tại vị trí meta hay para, hoặc 3-pyridylmetyl.

thông qua các bước được mô tả trong sơ đồ dưới đây:



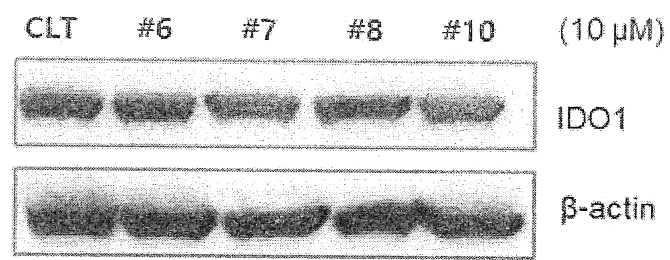
nguyên liệu 6-nitroindazol hoặc 3-metyl-6-nitroindazol (III) được metyl hóa bằng tác nhân iodometan trong dung môi khan *N,N'*-dimetylformamid (DMF) và K_2CO_3 ở 60°C để thu được chất IV là hỗn hợp đồng phân hai vị trí khác nhau N1 và N2; hỗn hợp này được tách bằng sắc ký cột với hệ dung môi pha động là etyl axetat:n-hexan với các tỷ lệ khác nhau; hoặc

cho chất III phản ứng với Boc_2O (di-*tert*-butyl dicacbonat), xúc tác là 1,4-dimetylaminopyridin (DMAP) trong diclometan trong điều kiện từ 0°C đến nhiệt độ phòng để tạo ra chất VI;

hợp chất IV hoặc VI được khử bằng khí hydro với xúc tác là hỗn hợp palladi kim loại với than hoạt tính trong dung môi tetrahydrofuran khan (THF) ở nhiệt độ phòng thu được các hợp chất amin V hoặc VII;

các hợp chất amin V hoặc VII được lần lượt tiến hành phản ứng amin hóa khử với các aldehyt và xeton khác nhau bằng tác nhân khử là NaBH_3CN trong dung môi MeOH, môi trường axit, các aldehyt và xeton được chọn từ nhóm bao gồm: axeton, xyclopentanon, xyclohexanon, benzaldehyt, 4-flo benzaldehyt, 3-flo benzaldehyt, 3-pyridin carboxaldehyt; và

chất VIII được tách loại nhóm bảo vệ Boc bằng cách hòa tan trong diclometan rồi cho thêm một lượng dư axit trifloaxetic, ở nhiệt độ phòng trong khoảng 24 giờ, sau đó hỗn hợp phản ứng được cô quay loại dung môi và được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel với hệ pha động etyl axetat/n-hexan để thu được các chất I hoặc II.



Hình 1: Tác dụng của dẫn chất indazol