



(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)



1-0035639

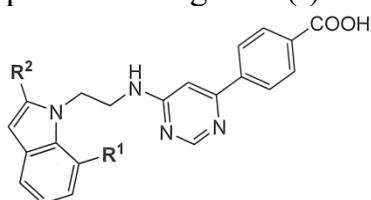
(51)⁷ C07D 403/12; A61K 31/675; A61P
35/00

(13) B

- (21) 1-2019-07016 (22) 17/05/2018
(86) PCT/EP2018/062865 17/05/2018 (87) WO 2018/210995 22/11/2018
(30) PCT/EP2017/062008 18/05/2017 EP
(45) 25/05/2023 422 (43) 25/02/2020 383A
(73) IDORSIA PHARMACEUTICALS LTD (CH)
Hegenheimermattweg 91, 4123 Allschwil, Switzerland
(72) FRETZ, Heinz (CH); LYOTHIER, Isabelle (FR); POTHIER, Julien (FR);
RICHARD-BILDSTEIN, Sylvia (FR); SIFFERLEN, Thierry (FR).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) HỢP CHẤT INDOL ĐƯỢC THỂ Ở N VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I)



Công thức (I)

trong đó R¹, và R² là như được mô tả trong phần mô tả, quy trình điều chế, muối được
dùng của hợp chất này, và dược phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I). Các
hợp chất này là hữu dụng để làm các chất điều biến thụ thể prostaglandin 2 EP2.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất indol được thế ở N có công thức (I). Các hợp chất này là hữu dụng làm dược phẩm. Sáng chế cũng đề cập đến các khía cạnh có liên quan, gồm các quy trình điều chế các hợp chất này, các dược phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I). Các hợp chất này là hữu dụng làm các chất điều biến thụ thể PGE2 EP2 (biệt hiệu PTGER2, biệt hiệu thụ thể PGE2 kiểu phụ EP2). Các hợp chất có công thức (I) có thể đặc biệt được sử dụng dưới dạng các tác nhân riêng lẻ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu đặc biệt như chất điều biến của thụ thể PGE2 EP4 (biệt hiệu PTGER4, biệt hiệu EP4R, biệt hiệu thụ thể PGE2 kiểu phụ EP4); và/hoặc liệu pháp hóa trị và/hoặc liệu pháp xạ trị và/hoặc liệu pháp miễn dịch trong ngăn chặn/phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư; cụ thể là ngăn chặn/phòng ngừa hoặc điều trị bệnh u hắc sắc tố; ung thư phổi; ung thư bàng quang; caxinom thận; các bệnh ung thư dạ dày-ruột; ung thư niêm mạc tử cung; ung thư buồng trứng; ung thư cổ tử cung; và u nguyên bào thần kinh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Prostaglandin E2 (PGE2) là lipid có hoạt tính sinh học mà có thể gây ra phổ rộng các tác động sinh học đi kèm với bệnh viêm và ung thư. PGE2 thuộc họ prostanoit của lipid. Xyclooxygenaza (COX) là enzym hạn chế tốc độ trong tổng hợp các chất trung gian sinh học được gọi là các prostanoit, gồm prostaglandin PGD2, PGE2, PGF2 α , prostacyclin PGI2, và thromboxan TXA2. Các prostanoit tác động thông qua sự hoạt hóa bảy thụ thể kết hợp protein G xuyên màng (transmembrane G-protein-coupled receptors - GPCRs), cụ thể là EP1, EP2, EP3, và EP4 là các thụ thể đối với PGE2. Sự hoạt hóa cả EP2 và EP4 bằng PGE2 kích thích adenylat xyclaza, dẫn đến sự tăng mức cAMP tế bào chất làm khởi động nhiều sự kiện xuôi chiều thông qua chất tác động nguyên mẫu của nó là Protein kinaza A. Ngoài ra, PGE2 cũng có thể truyền tín hiệu thông qua việc truyền tín hiệu PI3K/AKT và Ras-MAPK/ERK.

Bệnh ung thư thể hiện là một trong số các nguyên nhân hàng đầu dẫn đến tử vong trên toàn thế giới. Các khối u bao gồm các tế bào ung thư ác tính tăng sinh bất thường và gồm cả vi môi trường hỗ trợ về mặt chức năng. Vi môi trường khối u này

bao gồm các mảng phức hợp tế bào, các thành phần nền ngoại bào, và các phân tử truyền tín hiệu và được thiết lập bằng sự liên lạc thay đổi giữa tế bào cơ chất và tế bào khối u. Khi các khối u mở rộng về kích cỡ, chúng gây ra sự sản sinh các yếu tố khác nhau mà có thể giúp khối u phát triển như các yếu tố tạo mạch (thúc đẩy sự sinh trưởng của các mạch máu) hoặc có thể giúp tránh khỏi sự tấn công của đáp ứng miễn dịch của vật chủ. PGE2 là nhân tố điều biến miễn dịch như vậy được sản sinh ở các khối u.

Đã chứng minh rõ ràng COX2, chủ yếu thông qua PGE2, làm thúc đẩy sự sinh trưởng nói chung của các khối u và được điều hòa tăng và tương quan với kết quả lâm sàng ở tỷ lệ phần trăm cao của các bệnh ung thư thông thường, đặc biệt là bệnh ung thư đại trực tràng, dạ dày, thực quản, tuyến tụy, vú và buồng trứng. Các mức biểu hiện COX-2 và PGE2 cao là đi kèm với sự biến đổi tân sinh, sự sinh trưởng tế bào, sự hình thành mạch, sự xâm lấn, sự di căn và sự lẩn tránh miễn dịch.

Phát hiện rằng COX2 được biểu hiện quá mức và đóng vai trò quan trọng trong việc sinh ung thư ở các bệnh ung thư dạ dày-ruột (gastrointestinal - GI) bao gồm, trong số các bệnh ung thư khác, bệnh ung thư thực quản, dạ dày và đại trực tràng đã dẫn đến thực tế là các chất ức chế COX (Coxibs), bao gồm Celecoxib, và các thuốc chống viêm không steroid (nonsteroidal anti-inflammatory drugs - NSAID) khác, bao gồm aspirin, là nằm trong số các hóa chất ngăn ngừa ung thư được nghiên cứu nhiều nhất trong quá trình phát triển thuốc hiện nay (để nghiên cứu, xem, ví dụ, Wang R et al, Curr Pharm Des. 2013;19(1):115-25; Garcia Rodriguez LA et al, Recent Results Cancer Res. 2013;191:67-93, Sahin IH et al, Cancer Lett. 2014 Apr 10;345(2):249-57; Drew DA et al, Nat Rev Cancer 2016, 16:173; Brotons C et al, Am J Cardiovasc Drugs. 2015 Apr; 15(2):113)

Ngoài COX2 và PGE2, các thụ thể EP, đặc biệt là EP2 và EP4, cũng được biểu hiện quá mức một cách bất thường ở nhiều loại bệnh ung thư, đặc biệt là ở các bệnh ung thư dạ dày-ruột (GI) và bệnh ung thư tuyến tụy. Hơn nữa, sự biểu hiện quá mức của PGE2 và/hoặc EP2 và/hoặc EP4 còn tương quan với sự tiến triển của bệnh ở một số loại bệnh ung thư như caxinom tế bào vảy thực quản (Kuo KT et al, Ann Surg Onc 2009; 16(2), 352-60); caxinom tế bào vảy của phổi (Alaa M et al, Int J Oncol 2009, 34(3); 805-12); ung thư tuyến tiền liệt (Miyata Y et al, Urology 2013, 81(1):136-42);

Badawi AF and Badr MZ Int J Cancer. 2003, 103(1):84-90); caxinom tế bào vảy đầu và cổ (Gallo O et al, Hum Pathol. 2002, 33(7):708-14).

Theo các nghiên cứu được thực hiện với Coxibs, ở chuột nhắt, sự bất hoạt COX1, COX2, prostaglandin E synthaza vi thể 1 (mPTGES1), EP2 hoặc EP4 đã dẫn đến sự giảm tỷ lệ mắc khối u và giảm sự tiến triển ở các mô hình khối u khác nhau. Ngược lại, sự biểu hiện quá mức của COX2 hoặc mPTGES1 ở chuột nhắt chuyển gen đã dẫn đến sự tăng tỷ lệ mắc khối u và tăng gánh nặng khối u (để nghiên cứu, xem Nakanishi M. and Rosenberg D.W., Seminars in Immunopathology 2013, 35: 123–137; Fischer SM et al Cancer Prev Res (Phila) 2011 Nov;4(11):1728-35; Fulton AM et al Cancer Res 2006; 66(20); 9794-97).

Một số nghiên cứu được lý để ức chế sự sinh trưởng và tiến triển của khối u sử dụng các chất đối kháng thụ thể EP hoặc các chất ức chế COX2 ở các mô hình khối u khác nhau đã được thực hiện trên chuột nhắt. Trong số các chất khác, các chất đối kháng EP và/hoặc các chất ức chế COX2 làm giảm sự sinh trưởng và sự di căn khối u ở các mô hình thử nghiệm ung thư đại trực tràng (ví dụ, Yang L et al Cancer Res 2006, 66(19), 9665-9672; Pozzi A. et al JBC 279(28); 29797-29804), caxinom phổi (Sharma S et al Cancer Res 2005 65(12), 5211-5220), ung thư dạ dày-ruột (Oshima H et al Gastroenterology 2011, 140(2); 596-607; Fu SL et al world J Gastroenterol 2004, 10(13); 1971-1974), ung thư vú (Kundu N et al, Breast Cancer Res Treat 117, 2009; 235-242; Ma X et al, OncoImmunology 2013; Xin X et al Lab Investigation 2012, 1-14; Markosyan N et al; Breast Cancer Res 2013, 15:R75), ung thư tuyến tiền liệt (Xu S et al, Cell Biochem Biophys 2014, Terada et al Cancer Res 70(4) 2010; 1606-1615), ung thư tuyến tụy (Al-Wadei HA et al, PLOS One 2012, 7(8):e43376; Funahashi H et al, Cancer Res 2007, 67(15):7068-71). Các chất ức chế COX2 đã được phê chuẩn để điều trị hội chứng đa polyp tuyến có tính gia đình (familial adenomatous polyposis - FAP) mà là hội chứng sắp đặt trước được thừa hưởng đối với bệnh ung thư đại trực tràng, nhưng sau đó được hạn chế sử dụng do các tác dụng phụ liên quan đến tim mạch.

Về mặt cơ học, sự truyền tín hiệu PGE2 chủ yếu bao gồm sự giao tiếp chéo giữa các tế bào khối u và các tế bào cơ chất, do đó tạo ra vi môi trường thuận lợi cho khối u sinh trưởng. Cụ thể là, việc truyền tín hiệu PGE2 thông qua EP2 và EP4 có thể,

ví dụ, (i) ngăn chặn tính độc hại tế bào và ngăn chặn sự sản sinh xytokin của các tế bào tiêu diệt tự nhiên, (ii) làm chệch sự phân cực của các đại thực bào kết hợp với khối u theo hướng các đại thực bào M2 thúc đẩy khối u (xem, ví dụ, Nakanishi Y et al Carcinogenesis 2011, 32:1333-39), (iii) điều hòa sự hoạt hóa, sự mở rộng và chức năng tác động của cả các Treg (các tế bào T điều hòa) và MDSC (các tế bào ức chế có nguồn gốc tủy sống - myeloid derived suppressor cells), đây là các tế bào ức chế miễn dịch tiềm năng mà tích tụ trong các khối u ở cả trong bệnh nhân và trong các mô hình động vật thử nghiệm (xem, ví dụ, Sharma S et al, Cancer Res 2005, 5(12):5211-20; Sinha P et al Cancer Res 2007, 67(9), 4507-4513; Obermajer N et al, Blood 2011, 118(20):5498-5505); (iv) điều hòa giảm sự biểu hiện IFN- γ , TNF- α IL-12 và IL-2 ở các tế bào miễn dịch như các tế bào tiêu diệt tự nhiên, các tế bào T, các tế bào đuôi gai và các đại thực bào, làm suy giảm khả năng của các tế bào miễn dịch này trong việc gây cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình của các tế bào khối u và cản trở sự tạo u (xem, ví dụ, Bao YS et al, Int Immunopharmacol. 2011;11(10):1599-605; Kim JG and Hahn YS, Immunol Invest. 2000;29(3):257-69; Demeuere CE et al, Eur J Immunol. 1997;27(12):3526-31; Mitsuhashi M et al, J Leukoc Biol. 2004;76(2):322-32; Pockaj BA et al, Ann Surg Oncol. 2004;11(3):328-39; (v) ngăn chặn sự hoạt hóa, sự đáp ứng IL-2, sự mở rộng và tính độc hại tế bào của các tế bào T do đó góp phần vào sự ức chế miễn dịch cục bộ (xem, ví dụ, Specht C et al, Int J Cancer 2001;91:705-712); (vi) ức chế sự trưởng thành của các tế bào đuôi gai, ức chế khả năng của chúng trong việc thể hiện kháng nguyên và trong việc sản sinh IL-12, dẫn đến sự hoạt hóa kém đối với các tế bào T gây độc hại tế bào (xem, ví dụ, Ahmadi M et al, Cancer Res 2008, 68(18):7250-9; Stolina M et al, J Immunol 2000, 164:361-70); (vii) điều hòa sự hình thành mạch khối u (sự tạo thành các mạch máu mới để làm nguồn cung cấp chất dinh dưỡng và oxy) bằng cách tăng cường sự di động và sự sống sót tế bào nội mạc cũng như bằng cách gia tăng sự biểu hiện của VEGF (yếu tố tăng trưởng nội mô mạch - vascular endothelial growth factor) (xem, ví dụ, Zhang Y and Daaka Y, Blood 2011;118(19):5355-64; Jain S et al, Cancer Res. 2008; 68(19):7750-9; Wang and Klein, Molecular Carcinogenesis 2007, 46:912-923; (viii) tăng cường sự sống sót của tế bào khối u (thông qua PI3K/AKT và sự truyền tín hiệu MAPK). Để nghiên cứu, xem, ví dụ, Kalinski P, J Immunol 2012, 188(1), 21-28; Obermajer N et al, Oncoimmunology 1(5), 762-4; Greenhough A et al, carcinogenesis 2009, 30(3), 377-

86; Wang D and Dubois RN, Gut 2006, 55, 115-122; Harris SG et al Trends Immunol 2002, 22, 144-150).

Coxibs đã được thể hiện là làm cho các tế bào khối u nhạy cảm hơn với sự bức xạ và liệu pháp hóa trị và một số thử nghiệm lâm sàng đã được thực hiện hoặc đang được thực hiện là kết hợp Coxibs với liệu pháp xạ trị và/hoặc liệu pháp hóa trị (để nghiên cứu, xem ví dụ, Ghosh N et al, Pharmacol Rep. 2010 Mar-Apr;62(2):233-44; Davis TW et al, Am J Clin Oncol. 2003, 26(4):S58-61; cũng xem Higgins JP et al, Cancer Biol Ther 2009, 8:1440-49).

Hơn nữa, có một số bằng chứng về các tác dụng bổ sung và/hoặc sự hiệp đồng giữa Coxibs và các chất ức chế thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (epidermal growth factor receptor - EGFR) (xem, ví dụ, Zhang X et al, Clin Cancer Res. 2005, 11(17):6261-9; Yamaguchi NH et al, J Gastrointest Oncol. 2014, 5(1):57-66); và với các chất ức chế aromataza (xem, ví dụ, Generali D et al, Br J Cancer. 2014;111(1):46-54; Lustberg MB et al, Clin Breast Cancer. 2011 Aug;11(4):221-7; Falandry C et al, Breast Cancer Res Treat. 2009 Aug;116(3):501-8); Chow LW et al, J Steroid Biochem Mol Biol. 2008, 111(1-2):13-7).

Hơn nữa, các tác dụng bổ sung/hiệp đồng đã được thấy ở các mô hình khối u chuột nhắt khác nhau khi Aspirin (chất ức chế COX1/2) được kết hợp với kháng thể kháng VEGF (Motz GT et al; Nat Med 2014 20(6):607) và sự kết hợp này hiện đang được nghiên cứu trong các thử nghiệm lâm sàng (NCT02659384).

Gần đây, đã chứng minh rằng, nếu được kết hợp, các phương pháp miễn dịch trị liệu khác nhau có thể tăng cường hiệu quả chống khối u. Do các tính chất điều biến miễn dịch của PGE2, Coxibs cũng đã được sử dụng kết hợp với các phương pháp miễn dịch trị liệu khác nhau. Cụ thể là, các tác dụng bổ sung hoặc thậm chí là hiệp đồng có thể được quan sát thấy khi Coxibs được kết hợp với việc chủng ngừa tế bào đuôi gai ở mô hình u thần kinh đệm ở chuột cống và ở mô hình u trung biểu mô hoặc mô hình u hắc sắc tố ở chuột nhắt (Zhang H et al, Oncol Res. 2013;20(10):447-55; Veltman JD et al, BMC Cancer. 2010;10:464; Toomey D et al, Vaccine. 2008 Jun 25;26(27-28):3540-9); với yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt-đại thực bào (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - GM-CSF) ở các khối u não của chuột nhắt (Eberstål S et al, Int J Cancer. 2014 Jun 1;134(11):2748-53); với interferon gama

(IFN- γ) ở các khối u não (Eberst  l S et al, Cancer Immunol Immunother. 2012, 61(8):1191-9); với việc chủng ngừa tế bào đuôi gai hoặc với GM-CSF ở mô hình bệnh ung thư vú ở chuột nh  t (Hahn T et al, Int J Cancer. 2006,118(9):2220-31); và với liệu pháp interferon beta của adenovirut (IFN- β) ở mô hình u trung biểu mô ở chuột nh  t (DeLong P et al, Cancer Res. 2003 Nov 15;63(22):7845-52). Theo những con đường này, các tác dụng bổ sung hoặc thậm chí là hiệp đồng của Coxibs và/hoặc chất đối kháng EP2 và/hoặc chất đối kháng EP4 cũng có thể được dự tính với các tác nhân tác động vào protein kết hợp với lympho bào T gây độc hại tế bào 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 -CTLA-4) như các kháng thể kháng CTLA-4; các kháng thể kháng TIM-3, các kháng thể kháng Lag-3; các kháng thể kháng TIGIT; hoặc, cụ thể là, với các tác nhân tác động vào protein chết tế bào theo chương trình 1 (programmed cell death protein 1 - PD1), như kháng thể kháng PD1 hoặc kháng thể kháng PDL1 (phối tử chết tế bào theo chương trình 1 -programmed cell death ligand 1) (Yongkui Li et al Oncoimmunology 2016, 5(2):e1074374; Zelenay S et al, Cell 2015, 162; 1-14; WO2013/090552, tài liệu này chỉ ra tác dụng hiệp đồng của sự phong bế kép EP2 và EP4 kết hợp với các tác nhân tác động vào PD1).

Adenosin là yếu tố nội sinh khác c   các tính chất chống viêm mà được sinh ra thông qua hoạt tính của các ectonucleotidaza, CD39 và CD73, được biểu hiện trên các kiểu tế bào khác nhau, bao gồm các tế bào T điều hòa (Treg) (Mandapathil M et al, J Biol Chem. 2010; 285(10):7176-86). Các tế bào miễn dịch cũng đáp ứng với Adenosin, vì chúng mang các thụ thể cho ADO, mà chủ yếu thuộc kiểu A2a/A2b (Hoskin DW, et al, Int J Oncol 2008, 32:527–535). Việc truyền tín hiệu thông qua các thụ thể Adenosin và các thụ thể EP2/EP4 hội tụ trên adenylyl cyclaza thuộc tế bào chất, dẫn đến sự điều hòa tăng của cAMP.    chứng minh rằng Adenosin và PGE2 hợp tác trong việc ức chế các đáp ứng miễn dịch qua trung gian các tế bào T điều hòa (Mandapathil M et al, J Biol Chem. 2010; 285(36):27571-80; Caiazzo E et al, Biochem Pharmacol. 2016; 112:72-81).

Do   , các chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 hiện nay c   thể là hữu dụng, một mình, hoặc kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu và/hoặc liệu pháp hóa trị và/hoặc liệu pháp xạ trị và/hoặc liệu pháp miễn dịch; cụ thể là kết hợp với liệu pháp hóa trị, liệu pháp xạ trị, các chất ức chế EGFR, các chất ức chế aromataza, các thuốc chống tạo mạch, các chất ức chế adenosin, liệu pháp miễn dịch chẳng hạn đặc biệt là

phong bế PD1 và/hoặc PDL1, hoặc các liệu pháp hướng đích khác; để ngăn chặn/phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, đáng chú ý là để ngăn chặn/phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư da bao gồm u hắc sắc tố bao gồm u hắc sắc tố di căn; bệnh ung thư phổi bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; bệnh ung thư bàng quang bao gồm bệnh ung thư bàng quang tiết niệu, caxinom tế bào urothelial; caxinom thận bao gồm caxinom tế bào thận, caxinom tế bào thận di căn, caxinom tế bào sáng thận di căn; các bệnh ung thư dạ dày-ruột bao gồm bệnh ung thư đại trực tràng, ung thư đại trực tràng di căn, hội chứng đa polyp tuyến có tính gia đình (FAP), ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư túi mật, caxinom đường mật, caxinom tế bào gan, và ung thư tuyến tụy như caxinom tuyến tuyến tụy hoặc caxinom ống tụy; ung thư niêm mạc tử cung; ung thư buồng trứng; ung thư cổ tử cung; u nguyên bào thần kinh; ung thư tuyến tiền liệt bao gồm ung thư tuyến tiền liệt kháng sự tiến; các khối u não bao gồm các bệnh di căn lên não, u thần kinh đệm ác tính, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, u nguyên bào tủy, u màng não; ung thư vú bao gồm caxinom vú âm tính ba; khối u miệng; khối u mũi họng; ung thư ngực; ung thư đầu và cổ; bệnh bạch cầu bao gồm bệnh bạch cầu tủy bào cấp, bệnh bạch cầu tế bào T ở người lớn; caxinom; caxinom tuyến; caxinom tuyến giáp bao gồm caxinom tuyến giáp hình nhú; caxinom nhau thai; sacom Ewing; sacom xương; sacom cơ vân; sacom Kaposi; u lympho bao gồm u lympho Burkitt, u lympho Hodgkin, u lympho MALT; đa u tủy; và các khối u do virus gây ra.

Ngoài ra, chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 chọn lọc hoặc kép có thể hữu dụng trong một số bệnh hoặc rối loạn khác đáp ứng lại, ví dụ, việc điều trị bằng các chất ức chế COX2, với ưu điểm là các chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 sẽ không có các tác dụng phụ tim mạch tiềm năng được thấy đối với các chất ức chế COX2, các tác dụng này chủ yếu do sự can thiệp vào sự tổng hợp PGI2 và TXA2 (xem, ví dụ, Boyd MJ et al, *bioorganic and medicinal chemistry letters* 21, 484, 2011). Ví dụ, cách phong bế sự sản sinh prostaglandin bằng các chất ức chế COX là cách điều trị được chọn đối với chứng đau, bao gồm đặc biệt là đau viêm và đau bụng kinh nguyệt. Do đó các chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 và/hoặc EP2/EP4 kép có thể là hữu dụng để điều trị chứng đau, đặc biệt là đau viêm. Bằng chứng từ chuột nhắt bất hoạt EP2 gợi ý rằng các chất đối kháng EP2 có thể được sử dụng để điều trị chứng tăng cảm giác đau viêm (Reinold H et al, *J Clin Invest* 2005, 115(3):673-9). Ngoài ra, các chất đối kháng EP4 có tác

dụng có lợi in vivo ở các mô hình đau viêm (ví dụ, Murase A, Eur J Pharmacol 2008; Clark P, J Pharmacol Exp Ther. 2008; Maubach KA Br J Pharmacol. 2009; Colucci J Bioorg Med Chem Lett. 2010, Boyd MJ et al, Bioorg Med Chem Lett 2011, Chn Q et al Br J Pharmacol 2010, Nakao K et al, J Pharmacol Exp Ther. 2007 Aug;322(2):686-94). Việc dùng chất đối kháng EP2 kết hợp với chất đối kháng EP4 đã thể hiện sự ức chế đáng kể, nhưng chỉ một phần đối với sự viêm khớp ở mô hình viêm khớp cảm ứng bởi collagen ở chuột nhắt (Honda T et al J Exp Med 2006, 203(2):325-35).

Chất đối kháng EP2 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 có thể được sử dụng để giảm khả năng sinh sản ở nữ giới, tức là, chúng đã được chứng minh là ngăn chặn sự có mang nếu được sử dụng làm thuốc tránh thai ở khỉ (Peluffo MC et al Hum Reprod 2014). Chuột nhắt bất hoạt EP2 có khả năng sinh sản giảm, cỡ lứa đẻ nhỏ hơn, và sự phát triển khối nang trứng giảm (Matsumoto et al, Biology of reproduction 2001, 64; 1557-65; Hitzaki et al, PNAS 1999, 96(18), 10501-10506; Tilley SL J Clin Invest 1999, 103(11):1539-45; Kennedy CR et al, Nat Med 1999 5(2):217-20).

Cũng có lý do căn bản mà các chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh lạc nội mạc tử cung: ví dụ EP2, EP3 và EP4 và COX2 được biểu hiện quá mức trong các dòng tế bào và mô lạc nội mạc tử cung (ví dụ, Santulli P et al J Clin Endocrinol Metab 2014, 99(3):881-90); việc điều trị bằng chất đối kháng được thể hiện là làm ức chế sự dính bám của các tế bào nội mạc tử cung in vitro (Lee J et al Biol Reprod 2013, 88(3):77; Lee J et al Fertil Steril 2011, 93(8):2498-506); các chất ức chế COX2 đã được thể hiện là làm giảm các tổn thương nội mạc tử cung ở chuột nhắt thông qua EP2 (Chuang PC et al, Am J Pathol 2010, 176(2):850-60); và việc điều trị bằng chất đối kháng đã được thể hiện là gây ra sự chết theo chương trình của các tế bào nội mạc tử cung in vitro (Banu SK et al, Mol endocrinol 2009, 23(8) 1291-305).

Các chất đối kháng kép EP2/EP4, hoặc kết hợp của các chất đối kháng EP2 chọn lọc với chất đối kháng EP4 chọn lọc, có thể có ứng dụng tiềm năng đối với các rối loạn tự miễn; ví dụ, chúng đã được thể hiện là hữu hiệu trong mô hình chuột nhắt bị đa xơ cứng (multiple sclerosis - MS) (Esaki Yet al PNAS 2010, 107(27):12233-8; Schiffmann S et al, Biochem Pharmacol. 2014, 87(4): 625-35; xem cả Kofler DM et al J Clin Invest 2014, 124(6):2513-22). Sự hoạt hóa việc truyền tín hiệu EP2/EP4 ở các tế

bào in vitro (Kojima F et al Prostaglandins Other Lipid Mediat 2009, 89:26-33) liên kết các chất đối kháng kép hoặc chọn lọc EP2 và/hoặc EP4 với việc điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp. Cũng vậy, các mức tăng cao của PGE(2) đã được báo cáo trong hoạt dịch và sụn ở các bệnh nhân bị viêm xương khớp (osteoarthritis - OA) và đã thể hiện rằng PGE2 kích thích sự phân hủy chất nền ở các tế bào sụn bệnh viêm xương khớp thông qua thụ thể EP4 (Attur M et al, J Immunol. 2008;181(7):5082-8).

Sự biểu hiện quá mức EP4 được kết hợp với phản ứng viêm tăng cường ở mảng xơ động mạch của bệnh nhân (Cipollone F et al, Artheroscler Thromb Vasc Biol 2005, 25(9); 1925-31), do đó, việc sử dụng các chất đối kháng EP4 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 có thể được chỉ định để ổn định hóa mảng và ngăn chặn/phòng ngừa các hội chứng thiếu máu cục bộ cấp. Ngoài ra, sự thiếu hụt EP4 còn ngăn cản bệnh xơ vữa động mạch sớm, bằng cách dàn xếp sự sống sót của đại thực bào (Babaev VR et al, Cell Metab. 2008 Dec;8(6):492-501)

Chất đối kháng EP2 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 cũng có thể là hữu dụng trong điều trị bệnh viêm phổi: việc cấp vào trong phổi các tế bào gây chết tế bào theo chương trình đã chứng minh rằng PGE(2) thông qua EP2 giải thích cho sự suy yếu tiếp sau sự tập trung ở phổi các bạch cầu và sự thanh thải vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae*, cũng như sự sản sinh tăng cường của IL-10 in vivo (Medeiros AI et al J Exp Med 2009 206(1):61-8).

Ngoài ra, chất đối kháng EP2 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 có thể là hữu dụng để điều trị các bệnh thoái hóa thần kinh (để nghiên cứu, xem Cimino PJ et al, Curr Med Chem. 2008;15(19):1863-9). Thụ thể EP2 làm tăng tốc sự tiến triển của bệnh viêm ở mô hình chuột nhắt bị xơ cứng cột bên teo cơ (amyotrophic lateral sclerosis - ALS) (Liang X et al, Ann Neurol 2008, 64(3):304-14); các chất ức chế COX2 đã được thể hiện là có tính bảo vệ thần kinh ở các mô hình loài gặm nhấm bị đột quỵ, bệnh Parkinson và ALS (để nghiên cứu, xem Liang X et al J Mol Neurosci 2007, 33(1):94-9), tính độc hại thần kinh giảm được quan sát ở chuột nhắt bất hoạt EP2 được điều trị bằng chất độc thuộc hội chứng parkinson (Jin J et al, J Neuroinflammation 2007, 4:2), PGE2 thông qua EP2 làm trầm trọng thêm sự thoái hóa thần kinh ở các tế bào chuột cống được nuôi cấy (Takadera T et al, Life Sci 2006, 78(16): 1878-83); gánh nặng amyloid giảm được quan sát ở mô hình chuột nhắt bị

bệnh Alzheimer nếu được lai với chuột nhắt bất hoạt EP2 (Liang X et al J Neurosci 2005, 25(44):10180-7; Keene CD et al, Am J Pathol. 2010, 177(1):346-54). Các con chuột nhắt vô hiệu EP2 được bảo vệ khỏi sự tổn thương thần kinh qua trung gian là sự miễn dịch bẩm sinh/phụ thuộc CD14 ở bệnh thoái hóa thần kinh (Shie FS et al Glia 2005, 52(1):70-7); PGE2 thông qua EP2 làm gia tăng sự biểu hiện protein tiền chất amyloid (amyloid precursor protein - APP) ở các tế bào tiểu thần kinh đệm của chuột cống được nuôi cấy (Pooler AM et al Neurosci. Lett. 2004, 362(2):127-30). Chất đối kháng EP2 hạn chế tổn thương oxy hóa khỏi sự hoạt hóa sự miễn dịch bẩm sinh (sự tiêm vào trong sọ LPS) ở não và có thể được sử dụng đối với bệnh Alzheimer hoặc bệnh sa sút trí tuệ kết hợp với HIV (Montine TJ et al, J Neurochem 2002, 83(2):463-70). Ở mô hình chuột nhắt bị bệnh Alzheimer, chức năng nhận thức có thể được cải thiện bằng sự ức chế di truyền và được lý giải đối với EP4 (Hoshino T et al, J Neurochem 2012, 120(5):795-805).

Chất đối kháng EP2 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 có thể còn là hữu dụng để điều trị bệnh thận đa nang di truyền theo gen trội (autosomal dominant polycystic kidney disease - ADPKD): PGE2 thông qua EP2 gây cảm ứng sự phát sinh tế bào của các tế bào biểu mô thận người; và EP2 được phát hiện là được biểu hiện quá mức ở các mẫu bệnh nhân (Elberg G et al, Am J Physiol Renal Physiol 2007, 293(5):F1622-32).

Chất đối kháng EP4 và/hoặc chất đối kháng kép EP2/EP4 cũng có thể là hữu dụng để điều trị bệnh loãng xương: PGE2 kích thích sự tái hấp thụ xương chủ yếu thông qua EP4 và một phần thông qua EP2 (Suzawa T et al, Endocrinology. 2000 Apr;141(4):1554-9), chuột nhắt bất hoạt EP4 thể hiện sự tái hấp thụ xương suy giảm (Miyaura C et al, J Biol Chem 2000, 275(26): 19819-23) và các chất đối kháng EP4 thể hiện sự ức chế một phần sự tái hấp thụ xương hủy cốt bào và sự sinh hủy cốt bào kích thích bởi PGE(2) (Tomita M et al, Bone. 2002 Jan;30(1):159-63).

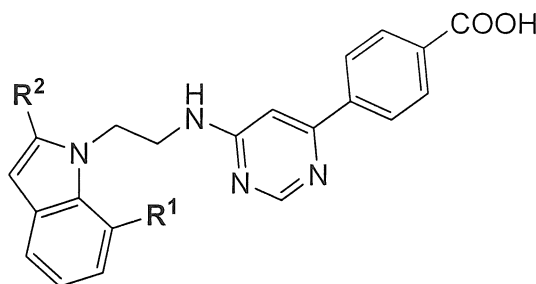
WO2008/152093 bộc lộ các chất điều biến thụ thể EP2 chọn lọc mà bao gồm vòng indol được liên kết với phần còn lại của phân tử ở vị trí 3, và gốc pyrimidin mà không được thế bằng nhóm thế thơm liên kết trực tiếp. WO2006/044732 bộc lộ các hợp chất pyrimidin là các chất điều biến PGD2 được cho là hữu dụng, ví dụ, trong điều trị các bệnh dị ứng. WO2008/006583 bộc lộ các dẫn xuất pyrimidin là các chất ức chế

ALK-5. WO2006/044732 và WO2008/039882 bộc lộ các dẫn xuất pyrimidin nhất định làm các chất đối kháng thụ thể prostaglandin D2. Các dẫn xuất pyrimidin-2-yl được bộc lộ trong WO2013/020945, WO2012/127032, WO2011/144742, Bioorg. Med. Chem 2011, 21(13) 4108-4114 và Bioorg. Med. Chem 2011, 21(1) 66-75. Các hợp chất indol-1-axetamit nhất định được biết là các hợp chất thư viện, ví dụ CAS 1448123-30-5 và CAS 1448075-88-4. Các hợp chất khác mà được nêu là có hoạt tính làm chất chống ung thư được bộc lộ trong WO2006/128129, WO2008/008059 và Bioorg. Med. Chem 2013, 21(2), 540-546. WO2013/163190 và WO2015/058031 đã bộc lộ các chất ức chế ADN-PK nhất định tương tác với các quy trình sửa chữa ADN. Các hợp chất được bộc lộ được cho là hữu dụng để nhạy hóa các tế bào ung thư, và để tăng cường hiệu lực của cả phương pháp hóa trị và phương pháp xạ trị bệnh ung thư.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất indol được thế ở N có công thức (I) là các chất điều biến thụ thể prostaglandin 2 EP2. Do đó, các hợp chất theo sáng chế, dưới dạng các tác nhân đơn hoặc đặc biệt là kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu đặc biệt như chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, có thể là hữu dụng để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh mà đáp ứng với sự phong bế các thụ thể EP2 (hoặc, nếu được sử dụng kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh mà đáp ứng với sự phong bế cả thụ thể EP2 và thụ thể EP4) chẳng hạn đặc biệt là các bệnh ung thư; cũng như chứng đau bao gồm đặc biệt là đau viêm và đau bụng kinh nguyệt; bệnh lạc nội mạc tử cung; các hội chứng thiếu máu cục bộ cấp ở các bệnh nhân bị xơ vữa động mạch; bệnh viêm phổi; các bệnh thoái hóa thần kinh bao gồm xơ cứng cột bên teo cơ, đột quỵ; bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer và sa sút trí tuệ kết hợp với HIV; bệnh thận đa nang di truyền theo gen trội; và kiểm soát khả năng sinh sản ở phụ nữ.

1) Khía cạnh thứ nhất của sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I):



Công thức (I)

trong đó

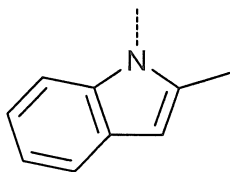
R^1 là hydro hoặc metyl;

R^2 là metyl, bromo, clo, hoặc xyano.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất có công thức (I) được đánh dấu bằng chất đồng vị, đặc biệt là được đánh dấu bằng 2H (đơteri) theo các phương án từ 1) đến 7), các hợp chất này là giống hệt với các hợp chất có công thức (I) chỉ khác là mỗi trong số một hoặc nhiều nguyên tử được thay bằng một nguyên tử có cùng số hiệu nguyên tử nhưng khối lượng nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử thường được tìm thấy trong tự nhiên. Hợp chất có công thức (I) được đánh dấu bằng chất đồng vị, đặc biệt là được đánh dấu bằng 2H (đơteri) và muối của nó là thuộc phạm vi của sáng chế. Việc thay thế hydro bằng đồng vị 2H (đơteri) nặng hơn có thể dẫn đến độ ổn định chuyển hóa lớn hơn, chẳng hạn dẫn đến chu kỳ bán thải in-vivo gia tăng hoặc yêu cầu liều lượng giảm, hoặc có thể dẫn đến giảm ức chế enzym cytochrom P450, dẫn đến, ví dụ, cải thiện biên dạng độ an toàn. Theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức (I) không được đánh dấu bằng chất đồng vị, hoặc chúng chỉ được đánh dấu bằng một hoặc nhiều nguyên tử đơteri. Theo một phương án phụ, hợp chất có công thức (I) không hề được đánh dấu bằng chất đồng vị. Hợp chất có công thức (I) được đánh dấu bằng chất đồng vị có thể được điều chế theo phương pháp tương tự với các phương pháp được mô tả dưới đây, nhưng sử dụng biến thể đồng vị thích hợp của các chất phản ứng hoặc các chất ban đầu thích hợp.

Trong đơn sáng chế này, liên kết được đưa vào dưới dạng nét đứt thể hiện điểm gắn của gốc được đưa vào. Ví dụ, gốc được đưa vào dưới đây:



là nhóm 2-metyl-1*H*-indol-1-yl.

Khi dạng số nhiều được sử dụng cho các hợp chất, muối, dược phẩm, bệnh và các đối tượng tương tự, dạng này được dự định cũng có nghĩa là một hợp chất, muối, hoặc đối tượng tương tự.

Âm chỉ bất kỳ đến các hợp chất có công thức (I) theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 7) được hiểu là cũng đề cập đến muối (và đặc biệt là muối dược dụng) của các hợp chất này, nếu phù hợp và có lợi.

Thuật ngữ "muối dược dụng" dùng để chỉ muối mà vẫn có hoạt tính sinh học mong muốn của hợp chất đã nêu và thể hiện tác dụng gây độc không mong muốn ở mức tối thiểu. Những muối như vậy bao gồm muối cộng axit và/hoặc bazơ vô cơ hoặc hữu cơ tùy thuộc vào sự có mặt của các nhóm bazơ và/hoặc axit trong hợp chất đã nêu. Để tham khảo, xem tài liệu "Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.", P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), Wiley-VCH, 2008; and "Pharmaceutical Salts and Co-crystals", Johan Wouters and Luc Quéré (Eds.), RSC Publishing, 2012.

Các định nghĩa được đưa ra ở đây nhằm áp dụng đồng nhất cho các hợp chất có công thức (I), như được xác định theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 6), và, có thay đổi nếu cần thiết, trong bản mô tả và yêu cầu bảo hộ trừ khi định nghĩa chỉ ra riêng theo cách khác đưa ra định nghĩa rộng hơn hoặc hẹp hơn. Cũng cần hiểu rõ rằng định nghĩa hoặc định nghĩa được ưu tiên của một thuật ngữ xác định và có thể thay thế cho thuật ngữ tương ứng theo cách độc lập với (và phối hợp với) định nghĩa bất kỳ hoặc định nghĩa được ưu tiên của bất kỳ hoặc tất cả các thuật ngữ khác như được xác định trong bản mô tả này.

Nếu nhóm thế được biểu thị là tùy ý, thì nhóm thế này được hiểu rằng có thể không có mặt, trong trường hợp này, tất cả các vị trí có hóa trị tự do (mà đối với chúng nhóm thế tùy ý này có thể được gắn vào; ví dụ như trong vòng thơm, các nguyên tử cacbon trên vòng và/hoặc các nguyên tử nitơ trên vòng có hóa trị tự do) được thế bằng hydro nếu thích hợp. Tương tự, trong trường hợp thuật ngữ "tùy ý" được sử dụng trong văn cảnh về (các) nguyên tử khác loại (vòng) thì thuật ngữ này có nghĩa là (các) nguyên tử khác loại tùy ý tương ứng, hoặc các dạng tương tự, là không có mặt (tức là gốc nhất định không chứa (các) nguyên tử khác loại / là vòng cacbon / hoặc dạng

tương tự), hoặc (các) nguyên tử khác loại tùy ý tương ứng, hoặc dạng tương tự, là có mặt như được xác định một cách rõ ràng.

Thuật ngữ “halogen” có nghĩa là flo, clo, brom, hoặc iot; đặc biệt là flo, clo, hoặc brom; tốt hơn là flo hoặc clo.

Thuật ngữ “alkyl”, được sử dụng một mình hoặc kết hợp, dùng để chỉ nhóm hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh bão hòa chứa một đến sáu nguyên tử cacbon. Thuật ngữ “(C_{x-y})alkyl” (mỗi x và y là một số nguyên), dùng để chỉ nhóm alkyl như được định nghĩa trên đây chứa từ x đến y nguyên tử cacbon. Ví dụ nhóm (C₁₋₆)alkyl chứa từ một đến sáu nguyên tử cacbon. Các ví dụ về các nhóm alkyl là metyl, etyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl, tert.-butyl, 3-metyl-butyl, 2,2-dimetyl-propyl và 3,3-dimetyl-butyl. Để tránh có nghi ngờ bất kỳ, trong trường hợp nhóm được đề cập là, ví dụ, propyl hoặc butyl, thì nó có nghĩa tương ứng là n-propyl, n-butyl. Được ưu tiên là metyl và etyl. Tốt nhất là metyl.

Thuật ngữ “alkoxy”, được sử dụng một mình hoặc kết hợp, dùng để chỉ nhóm alkyl-O- trong đó nhóm alkyl là như được định nghĩa trên đây. Thuật ngữ “(C_{x-y})alkoxy” (mỗi x và y là một số nguyên) dùng để chỉ nhóm alkoxy như được định nghĩa trên đây chứa từ x đến y nguyên tử cacbon. Ví dụ, nhóm (C₁₋₄)alkoxy có nghĩa là nhóm có công thức (C₁₋₄)alkyl-O- trong đó thuật ngữ “(C₁₋₄)alkyl” có nghĩa như nêu trên. Ví dụ về các nhóm alkoxy là metoxy, etoxy, n-propoxy, isopropoxy, n-butoxy, isobutoxy, sec.-butoxy và tert.-butoxy. Được ưu tiên là etoxy và đặc biệt là metoxy.

Thuật ngữ “floalkyl”, được sử dụng một mình hoặc kết hợp, dùng để chỉ nhóm alkyl như được xác định trên đây chứa một đến ba nguyên tử cacbon trong đó một hoặc nhiều (và có thể tất cả) nguyên tử hydro được thay bằng flo. Thuật ngữ “(C_{x-y})floalkyl” (mỗi x và y là số nguyên) dùng để chỉ nhóm floalkyl như được xác định trên đây chứa từ x đến y nguyên tử cacbon. Ví dụ nhóm (C₁₋₃)floalkyl chứa từ một đến ba nguyên tử cacbon trong đó một đến bảy nguyên tử hydro được thay bằng flo. Ví dụ đại diện về các nhóm floalkyl bao gồm triflometyl, 2-floetyl, 2,2-difloetyl và 2,2,2-trifloetyl. Được ưu tiên là các nhóm (C₁)floalkyl như triflometyl.

Thuật ngữ “floalkoxy”, được sử dụng một mình hoặc kết hợp, dùng để chỉ nhóm alkoxy như được xác định trên đây chứa một đến ba nguyên tử cacbon trong đó một hoặc nhiều (và có thể tất cả) nguyên tử hydro được thay bằng flo. Thuật ngữ “(C_{x-}

y)floalkoxy” (mỗi x và y là số nguyên) dùng để chỉ nhóm floalkoxy như được xác định trên đây chứa từ x đến y nguyên tử cacbon. Ví dụ nhóm (C₁₋₃) floalkoxy chứa từ một đến ba nguyên tử cacbon, trong đó một đến bảy nguyên tử hydro được thay bằng flo. Ví dụ điển hình về các nhóm floalkoxy bao gồm triflometoxy, diflometoxy, 2-floetoxi, 2,2-difloetoxi và 2,2,2-trifloetoxi. Được ưu tiên là các nhóm (C₁)floalkoxy như triflometoxy và diflometoxy, cũng như 2,2,2-trifloetoxi.

Thuật ngữ "xycloalkyl", được sử dụng một mình hoặc kết hợp, để chỉ vòng hydrocarbon một vòng bão hòa chứa từ ba đến sáu nguyên tử cacbon. Thuật ngữ "(C_{x-y})xycloalkyl" (cả x và y đều là số nguyên), dùng để chỉ nhóm xycloalkyl như được xác định trên đây chứa từ x đến y nguyên tử cacbon. Ví dụ nhóm (C₃₋₆)xycloalkyl chứa từ ba đến sáu nguyên tử cacbon. Ví dụ về các nhóm xycloalkyl là xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, và xycloheptyl. Được ưu tiên là xyclopropyl, xyclobutyl, và xyclopentyl; đặc biệt là xyclopropyl.

Thuật ngữ "xyano" dùng để chỉ nhóm -CN.

Các hợp chất có công thức (I) được thể bằng nhóm axit carboxylic -COOH; cần hiểu rằng nhóm axit carboxylic như vậy có thể có mặt dưới dạng nhóm tiền dược chất. Các tiền dược chất này đều nằm trong phạm vi của sáng chế này. Trong các trường hợp nhất định, các hợp chất chứa các nhóm tiền dược chất axit carboxylic như vậy có thể biểu hiện hoạt tính sinh học trên thụ thể EP2, trong khi đó, trong các trường hợp khác, các hợp chất như vậy chứa các nhóm tiền dược chất axit carboxylic như vậy đòi hỏi sự phân cắt (ví dụ, nhờ enzym) tiền dược chất để biểu hiện hoạt tính sinh học trên thụ thể EP2. Các tiền dược chất của nhóm chức axit carboxylic là đã được biết rõ trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, J. Rautio (Ed.) Prodrugs and Targeted Delivery: Towards Better ADME Properties, Volume 47, Wiley 2010, ISBN: 978-3-527-32603-7; H. Maag in Stella, V., Borchardt, R., Hageman, M., Oliyai, R., Maag, H., Tilley, J. (Eds.) Prodrugs: Challenges and Rewards, Springer 2007, ISBN 978-0-387-49785-3).

Các ví dụ cụ thể về các tiền dược chất, ví dụ, thích hợp đối với các nhóm -COOH như vậy là:

- các nhóm este -CO-O-P¹ trong đó P¹ là, ví dụ, (C₁₋₄)alkyl; (C₃₋₆)xycloalkyl trong đó (C₃₋₆)xycloalkyl này tùy ý chứa nguyên tử oxy trong vòng; (C₃₋₆)xycloalkyl-(C₁₋₃)alkyl trong đó (C₃₋₆)xycloalkyl này tùy ý chứa nguyên tử oxy trong vòng; (C₁₋

₃)floalkyl; hydroxy-(C₂₋₄)alkyl; hoặc (C₁₋₄)alkoxy-(C₂₋₄)alkyl (đặc biệt là P¹ là (C₁₋₄)alkyl, cụ thể là metyl hoặc etyl);

- các nhóm -CO-NH-SO₂-R^{S3} trong đó R^{S3} là (C₁₋₄)alkyl, (C₃₋₆)xycloalkyl trong đó (C₃₋₆)xycloalkyl tùy ý chứa nguyên tử oxy trên vòng; (C₃₋₆)xycloalkyl-(C₁₋₃)alkyl trong đó (C₃₋₆)xycloalkyl tùy ý chứa nguyên tử oxy trên vòng; (C₁₋₃)floalkyl, phenyl, -NH₂; (đặc biệt là R^{S3} là (C₁₋₄)alkyl, (C₃₋₆)xycloalkyl, hoặc phenyl; cụ thể là metyl);

- các nhóm -CO-R^{O1} trong đó R^{O1} là -O-CH₂-CO-R^{O4}, trong đó R^{O4} là hydroxy, hoặc (C₁₋₄)alkoxy, hoặc -N[(C₁₋₄)alkyl]₂ (đặc biệt là -CO-O-CH₂-COOH, -CO-O-CH₂-CO-N(CH₃)₂);

- các nhóm -CO-R^{O1} trong đó R^{O1} là -O-CH₂-O-CO-R^{O5}, trong đó R^{O5} là (C₁₋₄)alkyl hoặc (C₁₋₄)alkoxy (đặc biệt là -CO-O-CH₂-O-CO-O-etyl, -CO-O-CH₂-O-CO-propyl);

- các nhóm -CO-R^{O1} trong đó R^{O1} là -O-CH₂-CH₂-N[(C₁₋₄)alkyl]₂ (đặc biệt là -CO-O-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂); và

- các nhóm -CO-R^{O1} trong đó R^{O1} là 5-metyl-2-oxo-[1,3]dioxol-4-yl)-metyloxy-.

Bất cứ khi nào từ “giữa” được sử dụng để mô tả một khoảng bằng số, cần hiểu rằng các điểm đầu và cuối của khoảng đã chỉ ra được bao hàm một cách rõ ràng trong khoảng này. Ví dụ: nếu khoảng nhiệt độ được mô tả là khoảng giữa 40°C và 80°C, điều này có nghĩa là các điểm đầu và cuối là 40°C và 80°C được bao hàm trong khoảng này; hoặc nếu một biến số được định nghĩa là số nguyên giữa 1 và 4, điều đó có nghĩa là biến số này là số nguyên 1, 2, 3, hoặc 4.

Trừ khi được sử dụng đối với nhiệt độ, thuật ngữ “khoảng” được đặt trước giá trị bằng số “X” trong đơn sáng chế này dùng để chỉ một khoảng kéo dài từ X trừ 10% của X đến X cộng 10% của X, và tốt hơn là dùng để chỉ một khoảng kéo dài từ X trừ 5% của X đến X cộng 5% của X. Trong trường hợp cụ thể về nhiệt độ, thuật ngữ “khoảng” được đặt trước nhiệt độ “Y” trong bản mô tả này dùng để chỉ khoảng kéo dài từ nhiệt độ Y trừ 10°C đến Y cộng 10°C, và tốt hơn là dùng để chỉ khoảng kéo dài từ Y trừ 5°C đến Y cộng 5°C. Ngoài ra, thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ nhiệt độ bằng khoảng 25°C.

Các phương án khác của sáng chế được thể hiện dưới đây:

2) Phương án thứ hai đề cập đến các hợp chất theo phương án 1), trong đó R^1 là hydro.

3) Phương án khác đề cập đến các hợp chất theo phương án 1), trong đó R^1 là metyl.

4) Phương án khác đề cập đến các hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 3), trong đó R^2 là metyl.

5) Phương án khác đề cập đến các hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 3), trong đó R^2 là clo hoặc bromo (đặc biệt là clo).

6) Phương án khác đề cập đến các hợp chất theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 3), trong đó R^2 là xyano.

7) Phương án khác đề cập đến các hợp chất được ưu tiên nhất theo phương án 1) trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất dưới đây:

Axit 4-{6-[2-(2-metyl-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

Axit 4-{6-[2-(2-xyano-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

Axit 4-{6-[2-(2,7-dimetyl-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

Axit 4-{6-[2-(2-clo-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic; và

Axit 4-{6-[2-(2-bromo-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic.

Hợp chất có công thức (I) theo các phương án từ 1) đến 7) và muối dược dụng của chúng có thể được sử dụng làm thuốc, chẳng hạn ở dạng dược phẩm để dùng qua đường tiêu hóa (đặc biệt là dùng qua đường miệng, ví dụ dưới dạng viên nén hoặc viên nang) hoặc dùng ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dùng tại chỗ hoặc dùng qua đường xông hít).

Việc sản xuất dược phẩm có thể được thực hiện theo cách mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này biết rõ (xem tài liệu Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition (2005), Part 5, “Pharmaceutical Manufacturing” [published by Lippincott Williams & Wilkins] chẳng hạn) bằng cách đưa hợp chất có công thức (I) đã nêu hoặc muối dược dụng của nó, tùy ý kết hợp với các chất có giá trị điều trị khác, vào dạng sử dụng bào chế theo công thức đã biết cùng với các chất mang rắn hoặc lỏng phù hợp, không độc, trơ, tương thích để trị liệu và, nếu cần, các tá dược dược dụng thông thường.

Phần mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị bệnh hoặc rối loạn được đề cập đến trong bản mô tả này bao gồm bước cho đối tượng sử dụng hợp chất có công thức (I) theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 7) với lượng có hoạt tính được lý.

Theo một phương án được ưu tiên, lượng được sử dụng bao gồm giữa 1 mg và 2000 mg mỗi ngày, cụ thể là giữa 5 mg và 1000 mg mỗi ngày, cụ thể hơn là giữa 25 mg và 500 mg mỗi ngày, đặc biệt là giữa 50 mg và 200 mg mỗi ngày.

Bất cứ khi nào từ “giữa” được sử dụng để mô tả một khoảng bằng số, cần hiểu rằng các điểm đầu và cuối của khoảng đã chỉ ra được bao hàm một cách rõ ràng trong khoảng này. Ví dụ: nếu khoảng nhiệt độ được mô tả là khoảng giữa 40°C và 80°C, điều này có nghĩa là các điểm đầu và cuối là 40°C và 80°C được bao hàm trong khoảng này; hoặc nếu một biến số được định nghĩa là số nguyên giữa 1 và 4, điều đó có nghĩa là biến số này là số nguyên 1, 2, 3, hoặc 4.

Trừ khi được sử dụng đối với nhiệt độ, thuật ngữ “khoảng” được đặt trước giá trị bằng số “X” trong đơn sáng chế này dùng để chỉ một khoảng kéo dài từ X trừ 10% của X đến X cộng 10% của X, và tốt hơn là dùng để chỉ một khoảng kéo dài từ X trừ 5% của X đến X cộng 5% của X. Trong trường hợp cụ thể của nhiệt độ, thuật ngữ “khoảng” được đặt trước nhiệt độ “Y” trong bản mô tả này dùng để chỉ khoảng kéo dài từ nhiệt độ Y trừ 10 °C đến Y cộng 10 °C, và tốt hơn là dùng để chỉ khoảng kéo dài từ Y trừ 5 °C đến Y cộng 5 °C.

Để tránh nghi ngờ bất kỳ, nếu hợp chất được mô tả là hữu hiệu để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh nhất định, các hợp chất này cũng thích hợp để dùng trong bào chế thuốc để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị bệnh đã nêu. Tương tự, các hợp chất này cũng là thích hợp trong phương pháp ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh này, bao gồm việc cho đối tượng (động vật có vú, đặc biệt là người) cần thiết dùng lượng hữu hiệu của hợp chất này.

Các hợp chất có công thức (I) theo các phương án 1) đến 7) là hữu dụng để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn liên quan đến các thụ thể EP2 và/hoặc, nếu các hợp chất này được sử dụng kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, thì chúng hữu dụng để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị các rối loạn liên quan đến cả thụ thể EP2 và thụ thể EP4.

Các hợp chất ức chế thụ thể EP4 cụ thể là các hợp chất 4-[[4-(5-metoxi-2-pyridinyl)phenoxy]metyl]-5-metyl-N-[(2-metylphenyl)sulfonyl]-2-furancarboxamit (BGC-20-1531, BGC20-1531; WO2004/067524); N-[[2,4-(2-etyl-4,6-dimetyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-1-yl)phenyletylamino]carbonyl]-4-metyl-benzensulfonamit (Grapiprant, AAT-007, CJ-023423, MR-10A7, RQ-00000007, RQ-07, RQ-7-; WO2002/032900); axit 4-[(1S)-1-[[[3-(diflometyl)-1-metyl-5-[3-(triflometyl)phenoxy]-1H-pyrazol-4-yl]carbonyl]amino]etyl]-benzoic (E-7046, ER-886046-00; WO2012/039972); CR-6086 (WO2012/076063); ONO-4578 (WO2016/111347); và axit 4-[1(S)-[5-clo-2-(3-flophenoxy)pyridin-3-ylcarboxamido]etyl]benzoic (AAT-008, RQ-08, RQ-00000008; WO2005/021508); cũng như các hợp chất được bộc lộ trong WO2017/066633; WO2017/014323; WO2016/111347; WO2016/021742; WO2015/179615; WO2015/147020; WO2015/091475; WO2015/094912; WO2015/094902; WO2014/200075; WO2014/186218; WO2014/126746; WO2014/122267; WO2014/086739; WO2014/004230; WO2014/004229; WO2013/004290; WO2012/103071; WO2012/076063; WO2012/043634; WO2012/039972; WO2010/034110; WO2010/032123; WO2010/019796; WO2009/139373; WO2009/005076; WO2008/123207; WO2008/116304; WO2008/104055; WO2008/017164; WO2007/143825; WO2007/121578; WO2006/122403; WO2005/105733; WO2005/105732; WO2005/037812; WO2005/021508; WO2004/067524; WO2003/099857; WO2003/086390; WO2003/087061; WO2002/064564; WO2002/050032; WO2002/050033; WO2002/032422; WO2001/072302.

Các hợp chất có công thức (I) nhất định theo các phương án 1) đến 7) thể hiện hoạt tính sinh học của chúng để làm các chất điều biến đối với thụ thể prostaglandin 2 EP2 trong môi trường sinh học, (tức là, với sự có mặt của một hoặc nhiều enzym có khả năng phá vỡ liên kết cộng hóa trị liên kết với nhóm cacbonyl như amidaza, esteraza hoặc dạng tương đương thích hợp bất kỳ của chúng mà có khả năng loại bỏ các nhóm tiền được ra khỏi nhóm axit carboxylic.

Các bệnh hoặc các rối loạn liên quan đến EP2 và/hoặc, nếu hợp chất như vậy được sử dụng kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4 thì các bệnh hoặc các rối loạn liên quan đến cả thụ thể EP2 và EP4, đặc biệt là:

• bệnh ung thư (đáng chú ý là bệnh u hắc sắc tố bao gồm u hắc sắc tố di căn; bệnh ung thư phổi bao gồm bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ; bệnh ung thư bàng quang bao gồm bệnh ung thư bàng quang tiết niệu, caxinom tế bào urothelial; caxinom thận bao gồm caxinom tế bào thận, caxinom tế bào thận di căn, caxinom tế bào sáng thận di căn; các bệnh ung thư dạ dày-ruột bao gồm bệnh ung thư đại trực tràng, ung thư đại trực tràng di căn, hội chứng đa polyp tuyến có tính gia đình (FAP), ung thư thực quản, ung thư dạ dày, ung thư túi mật, caxinom đường mật, caxinom tế bào gan, và ung thư tuyến tụy như caxinom tuyến tuyến tụy hoặc caxinom ống tụy; ung thư niêm mạc tử cung; ung thư buồng trứng; ung thư cổ tử cung; u nguyên bào thần kinh; ung thư tuyến tiền liệt bao gồm ung thư tuyến tiền liệt kháng sự tiến; các khối u não bao gồm các bệnh di căn lên não, u thần kinh đệm ác tính, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, u nguyên bào tủy, u màng não; ung thư vú bao gồm caxinom vú âm tính ba; khối u miệng; khối u mũi họng; ung thư ngực; ung thư đầu và cổ; bệnh bạch cầu bao gồm bệnh bạch cầu tủy bào cấp, bệnh bạch cầu tế bào T ở người lớn; caxinom; caxinom tuyến; caxinom tuyến giáp bao gồm caxinom tuyến giáp hình nhú; caxinom nhau thai; sacom Ewing; sacom xương; sacom cơ vân; sacom Kaposi; u lympho bao gồm u lympho Burkitt, u lympho Hodgkin, u lympho MALT; đa u tủy; và các khối u do virus gây ra; đặc biệt là u hắc sắc tố; ung thư phổi; ung thư bàng quang; caxinom thận; các bệnh ung thư dạ dày-ruột; bệnh ung thư niêm mạc tử cung; ung thư buồng trứng; ung thư cổ tử cung; và u nguyên bào thần kinh);

cũng như các bệnh hoặc các rối loạn khác mà có liên quan đến các thụ thể EP2 và/hoặc EP4 như:

- chứng đau (đáng lưu ý là chứng đau viêm và đau bụng kinh nguyệt);
- bệnh lạc nội mạc tử cung;
- bệnh thận đa nang di truyền theo gen trội;
- các hội chứng thiếu máu cục bộ cấp ở bệnh nhân bị xơ cứng động mạch;
- bệnh viêm phổi; và
- các bệnh thoái hóa thần kinh bao gồm bệnh xơ cứng cột bên teo cơ, đột quỵ; bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer và sa sút trí tuệ kết hợp với HIV;
- và các chất đối kháng EP2 và/hoặc EP4 có thể còn được sử dụng để kiểm soát khả năng sinh sản ở phụ nữ.

Các bệnh hoặc các rối loạn khác liên quan đến các thụ thể EP2 và/hoặc EP4 là các rối loạn tự miễn chẳng hạn đặc biệt là bệnh đa xơ cứng, bệnh viêm khớp dạng thấp và bệnh viêm xương khớp; và bệnh loãng xương.

Các hợp chất có công thức (I) theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1) đến 7) là đặc biệt hữu dụng để làm các tác nhân trị liệu để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư. Chúng có thể được sử dụng dưới dạng tác nhân trị liệu đơn, trong đó để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, các hợp chất này tốt hơn là được sử dụng kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4; và, ngoài ra, tùy ý là kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân trị liệu hóa học và / hoặc liệu pháp xạ trị và / hoặc liệu pháp hướng đích. Việc điều trị kết hợp này có thể được thực hiện đồng thời, riêng rẽ, hoặc trong một khoảng thời gian.

Do đó, sáng chế còn đề cập đến các dược phẩm chứa chất mang dược dụng, và:

- hợp chất có công thức (I) theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1) đến 7); và/hoặc
- chất điều biến thụ thể PGE2 EP4; và/hoặc
- và một hoặc nhiều tác nhân hóa trị liệu gây độc hại tế bào.

Do đó, sáng chế còn đề cập đến kit chứa:

- dược phẩm, dược phẩm này chứa chất mang dược dụng, và:
 - hợp chất có công thức (I) theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1) đến 7);
- và hướng dẫn sử dụng dược phẩm này để ngăn chặn / phòng ngừa hoặc điều trị bệnh ung thư, kết hợp với liệu pháp hóa trị và/hoặc liệu pháp xạ trị và/hoặc liệu pháp hướng đích.

Thuật ngữ "liệu pháp xạ trị" hoặc "xạ trị" hoặc "xạ trị ung thư", được dùng để chỉ việc sử dụng trong y tế phương pháp chiếu xạ ion hóa để ngăn chặn/phòng ngừa (liệu pháp bổ trợ) và/hoặc điều trị bệnh ung thư; bao gồm liệu pháp xạ trị bên ngoài và bên trong.

Thuật ngữ "liệu pháp hướng đích" chỉ phương pháp ngăn chặn / phòng ngừa (liệu pháp bổ trợ) và / hoặc điều trị bệnh ung thư bằng một hoặc nhiều tác nhân chống ung thư như các phân tử nhỏ hoặc các kháng thể mà tác động vào các týp cụ thể của

các tế bào ung thư hoặc tế bào cơ chất. Một số liệu pháp hướng đích phong bế tác động của các enzym, protein nhất định, hoặc các phân tử khác mà có liên quan đến sự sinh trưởng và lan rộng của các tế bào ung thư. Các kiểu liệu pháp hướng đích khác giúp hệ miễn dịch tiêu diệt các tế bào ung thư (liệu pháp miễn dịch); hoặc ức chế sự hình thành mạch, sự sinh trưởng và tạo thành các mạch máu mới trong khối u; hoặc phân phối các chất độc trực tiếp đến các tế bào ung thư và tiêu diệt chúng. Ví dụ về liệu pháp hướng đích mà đặc biệt thích hợp để kết hợp với các hợp chất theo sáng chế là liệu pháp miễn dịch, đặc biệt là liệu pháp miễn dịch hướng đích thụ thể chết tế bào theo chương trình 1 (thụ thể PD-1) hoặc phối tử PD-L1 của nó (Zelenay et al., 2015, *Cell* 162, 1-14; Yongkui Li et al., *Oncoimmunology* 2016, 5(2):e1074374).

Khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất có công thức (I), thuật ngữ "liệu pháp hướng đích" đặc biệt để chỉ các tác nhân như:

- a) Các kháng thể phong bế hoặc các chất ức chế yếu tố sinh trưởng biểu bì (Epidermal growth factor receptor - EGFR) (ví dụ, Gefitinib, Erlotinib, Afatinib, Icotinib, Lapatinib, Panitumumab, Zalutumumab, Nimotuzumab, Matuzumab và Cetuximab);
- b) Các chất ức chế con đường RAS/RAF/MEK (ví dụ, Vemurafenib, Sorafenib, Dabrafenib, GDC-0879, PLX-4720, LGX818, RG7304, Trametinib (GSK1120212), Cobimetinib (GDC-0973/XL518), Binimetinib (MEK162, ARRY-162), Selumetinib (AZD6244));
- c) Các chất ức chế aromataza (ví dụ Exemestane, Letrozole, Anastrozole, Vorozole, Formestane, Fadrozole);
- d) Các chất ức chế sự hình thành mạch, đặc biệt là các chất ức chế sự truyền tín hiệu VEGF như Bevacuzimab (Avastin), Ramucirumab, Sorafenib hoặc Axitinib;
- e) Các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch (ví dụ: các kháng thể kháng PD1 như Pembrolizumab (Lambrolizumab, MK-3475), Nivolumab, Pidilizumab (CT-011), AMP-514/MED10680, PDR001, SHR-1210; REGN2810, BGBA317; các protein dung hợp hướng đích PD-1 như AMP-224; các tác nhân kháng PD1 phân tử nhỏ như ví dụ các hợp chất được bộc lộ trong WO2015/033299, WO2015/044900 và WO2015/034820; các kháng thể kháng PD1L, như BMS-936559, atezolizumab (MPDL3280A, RG7446), MEDI4736, avelumab (MSB0010718C), durvalumab (MEDI4736); các kháng thể kháng PDL2, như AMP224; các kháng thể kháng

CTLA-4, như ipilimumab, tremilimumab; các kháng thể kháng gen hoạt hóa lympho bào 3 (anti-Lymphocyte-activation gene 3 - LAG-3), như BMS-986016, IMP701, MK-4280, ImmuFact IMP321; các kháng thể kháng globulin miễn dịch tế bào T mucin-3 (TIM-3), như MBG453; các kháng thể kháng CD137/4-1BB, như BMS-663513 / urelumab, PF-05082566; các kháng thể kháng thụ thể miễn dịch tế bào T với miền Ig và ITIM (TIGIT), như RG6058 (anti-TIGIT, MTIG7192A);

f) Các phương pháp chủng ngừa (ví dụ, chủng ngừa tế bào đuôi gai, chủng ngừa peptit hoặc protein (ví dụ bằng peptit gp100 hoặc peptit MAGE-A3);

g) Tái sử dụng các tế bào ung thư (không tự thân) dị sinh hoặc thu được từ bệnh nhân mà được cải biến về mặt di truyền để làm tiết ra các yếu tố điều biến miễn dịch như vaccin tế bào khối u được chuyển nhiễm vào gen (gene-transfected tumor cell vaccine - GVAX) yếu tố kích thích khuẩn lạc bạch cầu hạt bạch cầu đơn nhân (granulocyte monocyte colony stimulating factor - GMCSF) hoặc vaccin tế bào khối u được chuyển nhiễm vào phối tử gen (ligand gene-transfected tumor cell vaccine - FVAX) tyrosin kinaza liên quan đến Fms 3 (Fms-related tyrosine kinase 3 - Flt-3), hoặc vaccin trên cơ sở khối u GM-CSF được tăng cường thụ thể giống Toll (TEGVAX);

h) Liệu pháp miễn dịch mượn trên cơ sở tế bào T, bao gồm các tế bào T được xử lý di truyền bằng thụ thể kháng nguyên khảm (CAR) (ví dụ CTL019);

i) Liệu pháp trên cơ sở xytokin hoặc immunoxytokin (ví dụ Interferon alpha, interferon beta, interferon gamma, interleukin 2, interleukin 15);

j) Chất chủ vận thụ thể giống Toll (TLR) (ví dụ resiquimod, imiquimod, glucopyranosyl lipit A, CpG oligodesoxynucleotit);

k) Các chất tương tự Thalidomide (ví dụ Lenalidomide, Pomalidomide);

l) Các chất ức chế Indolamin-2,3-Dioxygenaza (IDO) và/hoặc Tryptophan-2,3-Dioxygenaza (TDO) (ví dụ RG6078 / NLG919 / GDC-0919; Indoximod / 1MT (1-methyltryptophan), INCB024360 / Epacadostat, PF-06840003 (EOS200271), F001287);

m) Các chất kích thích các thụ thể đồng kích thích tế bào T (ví dụ anti-OX40/CD134 (liên họ thụ thể yếu tố hoại tử khối u, thành viên số 4, như RG7888 (MOXR0916), 9B12; MEDI6469, GSK3174998, MEDI0562), anti OX40-Ligand/CD252; gen liên quan đến họ TNFR được cảm ứng bởi chất kháng

glucocorticoit (GITR) (như TRX518, MEDI1873, MK-4166, BMS-986156), các kháng thể kháng CD40 (thành viên số 5 của liên họ thụ thể TNF) (như Dacetuzumab (SGN-40), HCD122, CP-870,893, RG7876, ADC-1013, APX005M, SEA-CD40); các kháng thể kháng phối tử CD40 (như BG9588); các kháng thể kháng CD27 như Varlilumab);

n) Các phân tử liên kết kháng nguyên đặc hiệu khối u cũng như dấu chuẩn bề mặt tế bào T như các kháng thể đặc hiệu kép (ví dụ RG7802 hướng đích CEA và CD3) hoặc các mảnh kháng thể, các protein giả kháng thể như các protein lặp ankyrin được thiết kế (DARPINS), các chất gắn tế bào T đặc hiệu kép (BITE, ví dụ AMG103, AMG330);

o) Các kháng thể hoặc các chất ức chế trọng lượng phân tử nhỏ hướng đích thụ thể yếu tố kích thích khuẩn lạc 1 (CSF-1R) (ví dụ Emactuzumab (RG7155), Cabiralizumab (FPA-008), PLX3397);

p) Các tác nhân hướng đích các điểm kiểm soát tế bào miễn dịch trên các tế bào tiêu diệt tự nhiên như các kháng thể kháng các thụ thể giống như globulin miễn dịch của tế bào tiêu diệt (KIR) ví dụ Lirilumab (IPH2102/BMS-986015);

q) Các tác nhân hướng đích các thụ thể Adenosin hoặc các ectonucleaza CD39 và CD73 mà chuyển hóa ATP thành Adenosin, như MEDI9447 (kháng thể kháng CD73), PBF-509; CPI-444 (chất đối kháng thụ thể Adenosin A2a).

Khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất có công thức (I), các chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch như các chất được liệt kê trong mục d), và đặc biệt là các chất hướng đích thụ thể chết tế bào theo chương trình 1 (thụ thể PD-1) hoặc phối tử PD-L1 của nó, là được ưu tiên.

Thuật ngữ "liệu pháp hóa trị" được dùng để chỉ việc điều trị bệnh ung thư bằng một hoặc nhiều tác nhân chống ung thư gây độc hại tế bào ("tác nhân hóa trị liệu gây độc tế bào"). Liệu pháp hóa trị thường được sử dụng kết hợp với các phương pháp điều trị bệnh ung thư khác, như liệu pháp xạ trị hoặc phẫu thuật. Thuật ngữ này đặc biệt được dùng để chỉ các tác nhân hóa trị liệu gây độc tế bào thông thường mà tác động bằng cách tiêu diệt tế bào mà phân chia nhanh chóng, một trong các tính chất chính của hầu hết các tế bào ung thư. Liệu pháp hóa trị có thể sử dụng một thuốc tại một thời điểm (liệu pháp hóa trị đơn tác nhân) hoặc vài thuốc cùng lúc (liệu pháp hóa trị kết hợp hoặc liệu pháp đa hóa trị). Liệu pháp hóa trị sử dụng các thuốc mà

chuyển hóa hoạt tính gây độc hại tế bào chỉ khi phơi sáng được gọi là liệu pháp quang hóa trị hoặc liệu pháp quang động lực.

Thuật ngữ “tác nhân hóa trị liệu gây độc hại tế bào” hoặc “tác nhân hóa trị liệu” được sử dụng ở đây để chỉ tác nhân chống ung thư hoạt tính làm cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình hoặc sự chết hoại tế bào. Khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất có công thức (I), thuật ngữ này đặc biệt chỉ các tác nhân hóa trị liệu gây độc hại tế bào thông thường như:

- a) các tác nhân alkyl hóa (ví dụ mechlorethamin, chlorambucil, xyclophosphamid, ifosfamid, streptozocin, carmustin, lomustin, melphalan, dacarbazin, temozolomid, fotemustin, thiotepa hoặc altretamin; đặc biệt là xyclophosphamid, carmustin, melphalan, dacarbazin, hoặc temozolomid);
- b) các thuốc platin (đặc biệt là cisplatin, carboplatin hoặc oxaliplatin);
- c) các thuốc chống chuyển hóa (ví dụ 5-flouracil, axit folic/leucovorin, capecitabin, 6-mercaptopurin, methotrexat, gemcitabin, cytarabin, fludarabin hoặc pemetrexed; đặc biệt là 5-flouracil, axit folic/leucovorin, capecitabin, methotrexat, gemcitabin hoặc pemetrexed);
- d) các chất kháng sinh chống khối u (ví dụ daunorubicin, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, actinomycin-D, bleomycin, mitomycin-C hoặc mitoxantron; đặc biệt là doxorubicin);
- e) các chất ức chế phân bào nguyên nhiễm (ví dụ paclitaxel, docetaxel, ixabepilone, vinblastin, vincristin, vinorelbin, vindesin hoặc estramustin; đặc biệt là paclitaxel, docetaxel, ixabepilone hoặc vincristin); hoặc
- f) các chất ức chế topoisomeraza (ví dụ etoposid, teniposid, topotecan, irinotecan, diflomotecan hoặc elomotecan; đặc biệt là etoposid hoặc irinotecan).

Khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất có công thức (I), các tác nhân hóa trị liệu gây độc hại tế bào được ưu tiên là các tác nhân alkyl hóa nêu trên (đáng chú ý là fotemustin, xyclophosphamid, ifosfamid, carmustin, dacarbazin và các tiền dược chất của chúng chẳng hạn đặc biệt là temozolomid hoặc các muối dược dụng của các hợp chất này; cụ thể là temozolomid); các chất ức chế phân bào nguyên nhiễm (đáng chú ý là paclitaxel, docetaxel, ixabepilone; hoặc các muối dược dụng của các hợp chất

này; cụ thể là paclitaxel); các thuốc platin (đáng chú ý là cisplatin, oxaliplatin và carboplatin); cũng như etoposid và gemcitabin.

Liệu pháp hóa trị có thể được đưa ra với mục đích chữa bệnh hoặc nó có thể nhằm kéo dài cuộc sống hoặc giảm nhẹ các triệu chứng.

- Liệu pháp hóa trị phương thức kết hợp là sử dụng các thuốc với các phương pháp điều trị bệnh ung thư khác, như liệu pháp xạ trị hoặc phẫu thuật.

- Liệu pháp hóa trị cảm ứng là phương pháp điều trị bệnh ung thư hàng thứ nhất với thuốc hóa trị liệu. Loại liệu pháp hóa trị này được sử dụng nhằm mục đích chữa bệnh.

- Liệu pháp hóa trị củng cố được đưa ra sau khi có sự thuyên giảm để kéo dài thời gian không có bệnh nói chung và cải thiện khả năng sống sót nói chung. Thuốc mà được dùng là giống như thuốc mà được dùng để đạt được sự thuyên giảm.

- Liệu pháp hóa trị tăng cường là giống như liệu pháp hóa trị củng cố nhưng dùng thuốc khác so với liệu pháp hóa trị cảm ứng.

- Liệu pháp hóa trị kết hợp bao gồm việc điều trị bệnh nhân đồng thời bằng một số lượng thuốc khác nhau. Các thuốc khác nhau về cơ chế và tác dụng phụ của chúng. Ưu điểm lớn nhất là tối thiểu hóa các cơ hội phát triển sự kháng đối với bất kỳ một tác nhân nào. Tương tự, các thuốc thường có thể được sử dụng ở mức liều thấp hơn, làm giảm độc tố.

- Liệu pháp hóa trị tân hỗ trợ trị liệu được đưa ra trước khi xử lý cục bộ như phẫu thuật, và được thiết kế để làm co rút khối u tiên phát. Nó cũng được đưa ra đối với các bệnh ung thư có nguy cơ bị bệnh vi di căn.

- Liệu pháp hóa trị hỗ trợ được đưa ra sau khi xử lý cục bộ (xạ trị hoặc phẫu thuật). Nó có thể được sử dụng nếu có dấu hiệu nhỏ về sự có mặt của bệnh ung thư, nhưng có nguy cơ tái diễn. Nó cũng hữu dụng trong việc tiêu diệt các tế bào ung thư bất kỳ mà đã lan đến các phần khác của cơ thể. Các bệnh vi di căn này có thể được xử lý bằng liệu pháp hóa trị hỗ trợ và có thể giảm tỷ lệ tái phát do các tế bào được phát tán này gây ra.

- Liệu pháp hóa trị duy trì là phương pháp điều trị liều thấp lặp lại để kéo dài sự thuyên giảm bệnh.

- Liệu pháp hóa trị cứu chữa hoặc liệu pháp hóa trị làm giảm nhẹ được đưa ra không nhằm có mục đích chữa bệnh, mà đơn giản là làm giảm tải lượng khối u và tăng khả năng sống sót. Đối với các chế độ điều trị này, biên dạng độc tính tốt hơn thường được trông đợi.

“Đồng thời”, khi chỉ cách dùng trong sáng chế có nghĩa là cách dùng được xem xét ở chỗ việc dùng hai hay nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị ở thời điểm gần như nhau; trong đó việc dùng đồng thời được hiểu là sẽ dẫn đến sự phơi nhiễm của đối tượng với hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị tại cùng một thời điểm. Khi được dùng đồng thời, hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính này có thể được dùng trong kết hợp liều cố định, hoặc trong kết hợp liều không cố định tương đương (ví dụ, bằng cách sử dụng hai hoặc nhiều dược phẩm khác nhau để dùng bằng đường dùng như nhau ở gần như cùng một thời điểm), hoặc bằng kết hợp liều không cố định sử dụng hai hoặc nhiều đường dùng khác nhau; trong đó việc dùng này dẫn đến sự phơi nhiễm về cơ bản là đồng thời của đối tượng đối với hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị. Ví dụ, khi được sử dụng kết hợp với liệu pháp hóa học và/hoặc liệu pháp hướng đích thích hợp, các chất đối kháng EP2/EP4 theo sáng chế sẽ có thể được sử dụng "đồng thời".

“Kết hợp liều cố định”, khi dùng để chỉ cách dùng trong sáng chế có nghĩa là cách dùng được xem xét ở chỗ việc dùng một dược phẩm duy nhất chứa hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính.

“Riêng rẽ”, khi dùng để chỉ cách dùng trong sáng chế có nghĩa là cách dùng được xem xét ở chỗ việc dùng hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị tại các thời điểm khác nhau; trong đó việc dùng riêng rẽ được hiểu là sẽ dẫn đến pha điều trị (ví dụ, ít nhất 1 giờ, đáng chú ý là ít nhất 6 giờ, đặc biệt là ít nhất 12 giờ) trong đó đối tượng được phơi nhiễm với hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị tại cùng một thời điểm; nhưng việc dùng riêng rẽ cũng có thể dẫn đến pha điều trị trong đó trong khoảng thời gian nhất định (ví dụ, ít nhất 12 giờ, đặc biệt là ít nhất là một ngày) đối tượng được phơi nhiễm với chỉ một trong hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị. Việc dùng riêng rẽ đặc biệt chỉ các trường hợp trong đó ít nhất một trong số các thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị được đưa ra với tính chu kỳ về cơ bản là khác với việc dùng hàng ngày (như một hoặc hai lần mỗi

ngày) (ví dụ, trong đó một thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị được đưa ra, ví dụ, một hoặc hai lần một ngày, và thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị còn lại được đưa ra, ví dụ, cách ngày, hoặc một lần một tuần hoặc ở các khoảng cách thời gian thậm chí còn dài hơn). Ví dụ, khi được sử dụng kết hợp với liệu pháp xạ trị, các chất đối kháng EP2/EP4 theo sáng chế có thể được sử dụng "riêng rẽ".

Việc dùng “trong một khoảng thời gian” trong sáng chế có nghĩa là việc dùng kế tiếp hai hoặc nhiều thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị tại các thời điểm khác nhau. Cụ thể là thuật ngữ này chỉ phương pháp dùng mà trong đó việc dùng toàn bộ một trong số các thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị được hoàn thành trước khi việc dùng thành phần hoạt tính hoặc việc điều trị khác bắt đầu. Theo cách này, có thể dùng một trong số các thành phần hoạt tính và/hoặc việc điều trị trong vài tháng trước khi dùng (các) thành phần hoạt tính và/hoặc (các) việc điều trị còn lại.

Việc dùng “trong một khoảng thời gian” còn bao hàm các trường hợp mà trong đó hợp chất có công thức (I) sẽ được sử dụng trong việc điều trị mà bắt đầu sau khi kết thúc việc điều trị hóa trị liệu ban đầu (ví dụ liệu pháp hóa trị cảm ứng) và/hoặc xạ trị và/hoặc sau việc điều trị liệu pháp hướng đích, trong đó việc điều trị tùy ý này sẽ được kết hợp với việc điều trị hóa trị liệu và/hoặc xạ trị liệu tiếp/tiếp diễn và/hoặc kết hợp với việc điều trị liệu pháp hướng đích (ví dụ kết hợp với liệu pháp hóa trị củng cố, liệu pháp hóa trị tăng cường, liệu pháp hóa trị hỗ trợ, hoặc liệu pháp hóa trị duy trì; hoặc các phương pháp tương đương liệu pháp xạ trị của chúng); trong đó việc điều trị hóa trị liệu và/hoặc xạ trị liệu tiếp/tiếp diễn và/hoặc việc điều trị liệu pháp hướng đích này có thể là đồng thời, riêng rẽ, hoặc trong một khoảng thời gian theo nghĩa "không được đưa ra với cùng tính chu kỳ".

Các hợp chất có công thức (I) như được xác định trong các phương án từ 1) đến 7), đặc biệt là kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, cũng là hữu dụng trong phương pháp điều biến đáp ứng miễn dịch ở đối tượng có khối u, bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I); trong đó lượng hữu hiệu này tái hoạt hóa hệ miễn dịch trong khối u của đối tượng này; trong đó lượng hữu hiệu này đặc biệt là:

- chống lại sự phân cực của các đại thực bào kết hợp khối u thành các đại thực bào M2 thúc đẩy khối u; và/hoặc

- điều hòa giảm sự hoạt hóa, mở rộng và/hoặc chức năng tác động của các tế bào ức chế miễn dịch mà được tích tụ trong khối u (đặc biệt là các tế bào T điều hòa (Tregs) và/hoặc các tế bào ức chế có nguồn gốc tủy sống (MDSC)); và/hoặc
- điều hòa tăng sự biểu hiện IFN- γ và/hoặc TNF- α và/hoặc IL-12 và/hoặc IL-2 trong các tế bào miễn dịch như các tế bào tiêu diệt tự nhiên, các tế bào T, các tế bào đuôi gai và các đại thực bào (dẫn đến sự cảm ứng sự chết theo chương trình của các tế bào khối u và/hoặc kiểm chế sự sinh khối u); và/hoặc
- trực tiếp hoặc gián tiếp chống lại sự hoạt hóa bị ức chế, sự đáp ứng IL-2 và sự mở rộng của các tế bào T gây độc hại tế bào (nhờ đó giảm sự ức chế miễn dịch cục bộ).

Các hợp chất có công thức (I) như được xác định theo các phương án từ 1) đến 7), đặc biệt là kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, cũng là hữu dụng trong phương pháp giảm sự phát triển khối u và/hoặc giảm kích cỡ khối u ở đối tượng có khối u, bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I); trong đó lượng hữu hiệu này điều hòa giảm sự hình thành mạch khối u (đặc biệt là bằng cách giảm sự di động và/hoặc sự sống sót tế bào nội mạc, và/hoặc bằng sự giảm sự biểu hiện của VEGF (yếu tố tăng trưởng nội mô mạch)); và/hoặc trong đó lượng hữu hiệu này làm giảm sự sống sót tế bào khối u và/hoặc cảm ứng sự chết theo chương trình của tế bào khối u (đặc biệt là thông qua sự ức chế sự truyền tín hiệu MAPK và PI3K/AKT).

Các hợp chất có công thức (I) như được xác định trong các phương án từ 1) đến 7), đặc biệt là kết hợp với chất điều biến thụ thể PGE2 EP4, cũng là hữu dụng trong phương pháp điều biến đáp ứng miễn dịch ở đối tượng có khối u, bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I); trong đó lượng hữu hiệu này tái hoạt hóa hệ miễn dịch trong khối u của đối tượng này; trong đó lượng hữu hiệu này hoạt hóa tính độc hại tế bào và sự sản sinh xytokin của các tế bào tiêu diệt tự nhiên và/hoặc các tế bào T gây độc hại tế bào.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phần thực nghiệm

I. Phân hóa học

Tất cả các nhiệt độ được nêu là °C. Các nguyên liệu ban đầu có bán trên thị trường được sử dụng như nhận được mà không tinh chế thêm. Trừ khi được nêu rõ theo cách khác, tất cả các phản ứng đều được thực hiện trong đồ thủy tinh được làm khô trong tủ sấy trong khí quyển nitơ. Các hợp chất được tinh chế bằng phương pháp sắc ký cột nhanh trên silicagel hoặc bằng phương pháp HPLC điều chế. Các hợp chất được mô tả trong sáng chế được đặc trưng bằng dữ liệu LC-MS (thời gian lưu t_R được nêu dưới đơn vị phút; trọng lượng phân tử thu được từ phổ khối được nêu dưới đơn vị g/mol) sử dụng các điều kiện được liệt kê dưới đây. Trong trường hợp mà các hợp chất theo sáng chế ở dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân cấu tạo, đặc biệt là hữu hình trong phổ LC-MS của chúng, thời gian lưu của dạng cấu tạo chiếm lượng nhiều nhất được nêu.

Thiết bị LC-MS phân tích:

Bơm HPLC: Bơm gradien nhị phân, Agilent G4220A hoặc loại tương đương

Bộ lấy mẫu tự động: Gilson LH215 (với bộ tiêm Gilson 845z) hoặc loại tương đương

Ngăn cột: Dionex TCC-3000RS hoặc loại tương đương

Bộ khử khí: Dionex SRD-3200 hoặc loại tương đương

Bơm xử lý: Dionex HPG-3200SD hoặc loại tương đương

Bộ dò DAD: Agilent G4212A hoặc loại tương đương

Bộ dò MS: Bộ phân tích khối lượng bốn cực đơn, Thermo Finnigan MSQPlus hoặc loại tương đương

Bộ dò ELS: Sedere SEDEX 90 hoặc loại tương đương

Phương pháp LC-MS A

Cột: Zorbax SB-aq (3,5 μ m, 4,6 x 50 mm). Điều kiện: MeCN [dung môi rửa giải A]; nước + 0,04% TFA [dung môi rửa giải B]. Gradien: 95% B $\rightarrow$ 5% B trong 1,5 phút (lưu lượng: 4,5 mL/phút). Dò: UV/Vis + MS, t_R được nêu dưới đơn vị phút.

Thiết bị HPLC điều chế:

Bơm HPLC Gilson 333/334 được lắp bộ khử khí Gilson LH215, Dionex SRD-3200.

Bơm xử lý Dionex ISO-3100A, bộ dò Dionex DAD-3000 DAD, bộ dò MS máy phân tích khối lượng bốn cực đơn, Thermo Finnigan MSQ Plus, bộ tách dòng MRA100-000, bộ dò Polymer Laboratories PL-ELS1000 ELS

HPLC điều chế với điều kiện bazơ

Cột: Waters XBridge (10 μ m, 75 x 30 mm). Điều kiện: MeCN [dung môi rửa giải A]; nước + 0,5% NH₄OH (dung dịch nước 25%) [dung môi rửa giải B]; Gradient xem bảng 1 (lưu lượng: 75 mL/phút), phần trăm bắt đầu dung môi rửa giải A (x) được xác định tùy thuộc vào độ phân cực của hợp chất được tinh chế. Dò: UV/Vis (tử ngoại/trông thấy) + MS

Bảng 1

t (phút)	0	0,01	4,0	6,0	6,2	6,6
Dung môi rửa giải A (%)	x	x	95	95	x	x
Dung môi rửa giải B (%)	100-x	100-x	5	5	100-x	100-x

HPLC điều chế với điều kiện axit

Cột: Waters Atlantis T3 (10 μ m, 75 x 30 mm). Điều kiện: MeCN [dung môi rửa giải A]; nước + 0,5% HCO₂H [dung môi rửa giải B]; Gradient xem Bảng 2 (lưu lượng: 75 mL/phút), phần trăm bắt đầu dung môi rửa giải A (x) được xác định tùy thuộc vào độ phân cực của hợp chất được tinh chế. Dò: UV/Vis + MS

Bảng 2

t (phút)	0	0,01	4,0	6,0	6,2	6,6
Dung môi rửa giải A (%)	x	x	95	95	x	x
Dung môi rửa giải B (%)	100-x	100-x	5	5	100-x	100-x

Các chữ viết tắt (như được sử dụng trước hoặc sau đây):

aq.	trong nước
atm	atmosphé
boc	tert-butyloxycarbonyl
d	ngày
DCM	diclometan
DIPEA	diisopropyl-etylamin, bazơ Hünig
DMF	dimetylformamit
DMSO	dimetylsulfoxit
Et ₂ O	dietylete
EtOAc	etyl axetat
EtOH	etanol
Ex.	ví dụ
FC	sắc ký nhanh trên silicagel
h	giờ
hept	heptan
HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao
LC-MS	sắc ký lỏng - Phổ khối
Lit.	tài liệu
MeCN	axetonitril
MeOH	metanol
mL	mililit
min	phút
MW	vi sóng
Ph	phenyl
PPh ₃	triphenyl phosphin
prep.	Điều chế
RM	hỗn hợp phản ứng
RT	nhiệt độ trong phòng
s	giây
sat.	bão hòa (nếu không được nêu rõ theo cách khác: sat. aq.)
tBu	tert-butyl = tertiary butyl

TEA	triethylamin
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TLC	sắc kí lớp mỏng
t_R	thời gian lưu
triflat	triflometansulfonat

A- Điều chế dẫn xuất pyrimidin halogenua có công thức (III)

A.1. 6-Clo-N-(2-(2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)pyrimidin-4-amin

Bổ sung 2-(2-metyl-1H-indol-1-yl)etan-1-amin (3,68 g, 21,1 mmol) và TEA (3,08 mL, 22,2 mmol) vào dung dịch 4,6-diclopyrimidin (3,00 g, 20,1 mmol) trong 2-propanol (50 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp thu được được hồi lưu trong 2 giờ, sau đó được để nguội đến nhiệt độ trong phòng và được cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được phân bố giữa dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa và EtOAc. Các lớp được phân tách và lớp nước được chiết một lần nữa bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ gom lại được rửa bằng nước, nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và loại bỏ dung môi trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng bột màu vàng (5,45 g, 94%). LC-MS A: $t_R = 0,87$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 287,13$.

A.1.1. 2-(2-Metyl-1H-indol-1-yl)etan-1-amin

Bổ sung 2-cloetylamin hydroclorua (17,4 g, 150 mmol), NaOH dạng bột sạch (21,00 g, 525 mmol) và tetrabutyl amoni hydro sulfat (2,037 g, 6 mmol) vào dung dịch chứa 2-metylinol (10,04 g, 75 mmol) trong toluen (200 mL). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt để hồi lưu và được khuấy trong 17 giờ. Sau đó hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng, và lọc qua giấy lọc. Phần còn lại được nghiền hai lần bằng toluen, và lọc. Dịch lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm, và phần còn lại được tinh chế bằng FC, sử dụng gradien DCM/MeOH từ 100:0 đến 95:5. Sau khi cô các phân đoạn chứa sản phẩm, thu được hợp chất nêu ở đề mục này (13,2 g, 99%) dưới dạng nhựa màu vàng: LC-MS A: $t_R = 0,54$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 175,31$.

A.2. 1-(2-((6-Clopyrimidin-4-yl)amino)etyl)-1H-indol-2-carbonitril

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình tổng hợp A.1. được mô tả trên đây sử dụng 2-(2-xyano-1H-indol-1-yl)etan-1-amin 2,2,2-trifloaxetat; LC-MS A: $t_R = 0,85$ phút; $[M+H]^+ = 298,05$.

A.2.1. 2-(2-Xyano-1H-indol-1-yl)etan-1-amin 2,2,2-trifloaxetat

Dung dịch chứa tert-butyl (2-(2-xyano-1H-indol-1-yl)etyl)carbamat (2,08 g, 6,56 mmol) trong DCM (20 mL) được xử lý bằng TFA (20 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần còn lại được nghiền ba lần trong Et₂O, thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng bột màu be (1,56 g, 81%). LC-MS A: $t_R = 0,82$ phút; $[M+H]^+ = 186,25$.

A.2.2. Tert-butyl (2-(2-xyano-1H-indol-1-yl)etyl)carbamat

NaH (0,27 g, 6,75 mmol) được bổ sung từng phần vào dung dịch 1H-indol-2-carbonitril (0,80 g, 5,63 mmol) trong DMF (25 mL) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Dung dịch N-Boc-2-bromoethyl-amin (1,30 g, 5,63 mmol) trong DMF (10 mL) được bổ sung từng giọt vào, và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt lên đến 85°C và khuấy ở nhiệt độ này trong 17 giờ, sau đó làm nguội ở nhiệt độ trong phòng và phân bố giữa Et₂O và H₂O. Lớp nước được chiết lại bằng Et₂O (x3). Các lớp hữu cơ gom lại được làm khô bằng MgSO₄, lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm, thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu nâu. LC-MS A: $t_R = 0,90$ phút; $[M+H-Boc]^+ = 186,27$.

A.3. 6-Clo-N-(2-(2,7-dimetyl-1H-indol-1-yl)etyl)pyrimidin-4-amin

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình tổng hợp A.1. được mô tả trên đây bằng cách sử dụng 2-(2-metyl-1H-indol-1-yl)etan-1-amin; LC-MS A: $t_R = 0,91$ phút; $[M+H]^+ = 301,19$.

A.3.1. 2-(2-Metyl-1H-indol-1-yl)etan-1-amin

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình tổng hợp A.1.1. được mô tả trên đây bằng cách sử dụng 2,7-dimetylinol; LC-MS A: $t_R = 0,58$ phút; $[M+H]^+ = 189,26$.

B- Điều chế các hợp chất ví dụ

Quy trình chung A: Phản ứng kết hợp Suzuki với $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$

Hỗn hợp dẫn xuất pyrimidin halogenua tương ứng (II) (0,15 mmol), axit 4-carboxyphenylboronic (0,18 mmol), và K_2CO_3 2M (0,3 mL, 0,6 mmol) trong etanol (3 mL) được làm sạch bằng argon, tetrakis-(triphenylphosphin)-paladi (0,0075 mmol) được bổ sung vào đó, và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 90°C qua đêm. Cách khác, phản ứng có thể được thực hiện trong thiết bị vi sóng, ở 120°C trong thời gian từ 10 đến 30 phút. hỗn hợp phản ứng được lọc qua tấm lọc vi sợi thủy tinh 0,45 μm , rửa bằng EtOH/MeCN và DMF. Dịch lọc được tinh chế bằng HPLC điều chế hoặc FC. Cách khác, dịch lọc được pha loãng bằng nước, nếu cần, độ pH được điều chỉnh, và được chiết bằng EtOAc (3x). Các phần chiết hữu cơ gom lại được làm khô (MgSO_4) và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần thu được sau khi cô được tinh chế bằng HPLC điều chế hoặc bằng FC.

Ví dụ 1: Axit 4-{6-[2-(2-metyl-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình chung A nêu trên sử dụng 6-clo-N-(2-(2-metyl-1H-indol-1-yl)etyl)pyrimidin-4-amin (A.1.) và thu được dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt; LC-MS A: $t_R = 0,67$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 373,09$.

Ví dụ 2: Axit 4-{6-[2-(2-xyano-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình chung A nêu trên sử dụng 1-2-(((6-clopyrimidin-4-yl)amino)etyl)-1H-indol-2-carbonitril (A.2.) và thu được dưới dạng chất rắn màu trắng; LC-MS A: $t_R = 0,56$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 384,16$.

Ví dụ 3: Axit 4-{6-[2-(2,7-dimetyl-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình chung A nêu trên sử dụng 6-clo-N-(2-(2,7-dimetyl-1H-indol-1-yl)etyl)pyrimidin-4-amin (A.3.) và thu được dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt; LC-MS A: $t_R = 0,69$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 386,92$.

Ví dụ 4: Axit 4-{6-[2-(2-clo-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic

Nạp vào lọ vi sóng tert-butyl 4-(6-((2-(2-oxoindolin-1-yl)etyl)amino)pyrimidin-4-yl)benzoat (200 mg, 0,465 mmol), DCM (3 mL) và POCl_3 (0,0848 mL, 0,929 mmol), bịt kín lọ này lại và khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 0°C và được cẩn thận tôi bằng dung dịch NaOH 32% cho đến

khi độ pH kiềm tính sau đó cẩn thận bổ sung nước vào đó. Lớp nước được chiết bằng DCM (x 3). Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 . Lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. MeOH được bổ sung vào và dung môi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại được hòa tan trong ethanol (2 mL) và H_2O (1 mL), lithi hydroxit monohydrat (101 mg, 2,38 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp được gia nhiệt ở 105°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm lọc vi sợi thủy tinh 0,45 μm và được tinh chế bằng HPLC điều chế kiềm tính để thu được hợp chất thô nêu ở đề mục này dưới dạng chất rắn màu trắng (16 mg, 9%). LC-MS A: $t_R = 0,69$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 393,13$.

a) Tert-butyl 4-(6-((2-(2-oxoindolin-1-yl)ethyl)amino)pyrimidin-4-yl)benzoat

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình chung A nêu trên sử dụng 1-(2-((6-clopyrimidin-4-yl)amino)ethyl)indolin-2-on và axit 4-tert-butoxycarbonylphenylboronic; LC-MS A: $t_R = 0,75$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 431,07$.

b) 1-(2-((6-Clopyrimidin-4-yl)amino)ethyl)indolin-2-on

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình tổng hợp A.1. nêu trên sử dụng 1-(2-aminoethyl)indolin-2-on; LC-MS A: $t_R = 0,70$ phút; $[\text{M}+\text{H}]^+ = 289,13$.

Ví dụ 5: Axit 4-{6-[2-(2-bromo-indol-1-yl)-ethylamino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic

Nạp vào lọ vi sóng etyl 4-(6-((2-(2-oxoindolin-1-yl)ethyl)amino)pyrimidin-4-yl)benzoat (60 mg, 0,149 mmol), DCM (2 mL) và POBr_3 (64 mg, 0,224 mmol), bịt kín lọ này lại và khuấy trong điều kiện hồi lưu trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, imidazol (12,3 mg, 0,179 mmol) được bổ sung vào, và hỗn hợp phản ứng được hồi lưu trong 48 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội và cẩn thận tôi bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa và chiết bằng DCM (x 3). Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, làm khô bằng MgSO_4 , lọc và cô trong điều kiện áp suất giảm. Phần còn lại sau khi cô được hòa tan trong ethanol (2 mL) và H_2O (1 mL), lithi hydroxit monohydrat (35 mg, 0,83 mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp được hồi lưu qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm lọc vi sợi thủy tinh 0,45 μm và được tinh chế bằng HPLC điều chế kiềm tính để thu được hợp chất thô nêu ở đề

mục này dưới dạng chất rắn màu vàng (1mg, 1%). LC-MS A: $t_R = 0,69$ phút; $[M+H]^+ = 438,85$.

a) Ethyl 4-(6-((2-(2-oxoindolin-1-yl)ethyl)amino)pyrimidin-4-yl)benzoat

Hợp chất nêu ở đề mục này được điều chế theo quy trình chung A nêu trên sử dụng 1-(2-(((6-clopyrimidin-4-yl)amino)ethyl)indolin-2-on (ví dụ 4-b) và axit 4-etoxy-carbonylphenylboronic; LC-MS A: $t_R = 0,69$ phút; $[M+H]^+ = 402,94$.

Thử nghiệm sinh học in vitro

Các hoạt tính đối kháng của các hợp chất có công thức (I) trên các thụ thể EP2 và EP4 được xác định theo phương pháp thử nghiệm sau.

Thử nghiệm sử dụng các dòng tế bào PathHunter™ HEK 293 PTGER2 và PTGER4 b-arrestin từ DiscoverX. Hệ thống này được dựa trên Kỹ thuật bù mảnh enzym. Hai mảnh bù của enzym b-galactosidaza được biểu hiện trong các tế bào được chuyển nhiễm ổn định. Phần lớn hơn của b-gal, được gọi là EA (Enzyme Acceptor), được dung hợp với đầu tận cùng C của b-arrestin 2. Mảnh nhỏ hơn, được gọi là đuôi ProLink™, được dung hợp với PTGER2 (EP2) hoặc PTRGER4 (EP4) ở đầu tận cùng C. Khi hoạt hóa, b-arrestin được tuyển chọn mà thúc đẩy tương tác của ProLink và EA, cho phép sự bù hai mảnh của b-gal và sự tạo thành enzym chức năng mà có khả năng thủy phân cơ chất và tạo ra tín hiệu quang hóa.

Thử nghiệm hEP2 b-arrestin:

Các tế bào HEK 293 PTGER2 b-arrestin (DiscoverX 93-021-4C1) được lấy ra khỏi các đĩa nuôi cấy bằng dung dịch đệm phân ly tế bào (Invitrogen, 13151-014), và được thu gom trong môi trường sinh trưởng (GM: DMEM + Glutamax-I (Invitrogen 32430) /10% FCS, 1% Penicilin/streptomycin). 5000 tế bào/lỗ của đĩa 384 lỗ (Greiner 781080 màu trắng với đáy màu trắng) được gieo cấy trong 20ul môi trường sinh trưởng trên một lỗ. Đĩa được ủ ở 37°C, 5% CO₂ trong 24 giờ.

Các dung dịch gốc của các hợp chất thử nghiệm được tạo ra ở nồng độ 10 mM trong DMSO, và được pha loãng theo chuỗi trong DMSO đến các nồng độ cần thiết đối với các đường cong đáp ứng liều ức chế (khoảng nồng độ kiểm tra là từ 10μM đến 2nM hoặc 1μM đến 0,2nM).

PGE2 (Cayman 14010, dung dịch gốc: 10mM trong DMSO) được sử dụng làm chất chủ vận ở nồng độ cuối cùng 5 μ M, tương ứng với EC80.

Năm microlit hợp chất đã được pha loãng được chuyển vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ trước 15 phút ở 37°C. Sau đó năm microlit PGE2 (nồng độ cuối cùng 5 μ M) được cho vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ 120 phút ở 37°C.

Các thành phần của kit phát hiện PathHunter Glo được làm tan bằng và trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất: lần lượt 1 phần cơ chất Galacton Star với 5 phần dung dịch Emerald IITM, và 19 phần dung dịch đệm thử nghiệm tế bào PathHunter. Mười hai μ L chất phản ứng được cho vào đĩa thử nghiệm và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong bóng tối. Số đếm huỳnh quang được đọc trên máy đọc BMG Fluostar Optima theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Đối với mỗi nồng độ hợp chất, tính phần trăm hoạt tính so với giá trị đối chứng DMSO dưới dạng trung bình $\pm$ STDEV. (Mỗi nồng độ được đo hai lần)

Các giá trị IC50 và các đường cong được tạo ra bằng phần mềm XLfit (IDBS) sử dụng mô hình một điểm đáp ứng liều 203. Nếu các hợp chất được đo nhiều lần, các giá trị trung bình được nêu.

Thử nghiệm hEP4 b-arrestin:

Các tế bào HEK 293 PTGER4 b-arrestin (DiscoverX 93-030-4C1) được lấy ra khỏi các đĩa nuôi cấy bằng dung dịch đệm phân ly tế bào (Invitrogen, 13151-014), và được thu gom trong môi trường sinh trưởng (GM: DMEM + Glutamax-I (Invitrogen 32430) /10% FCS, 1% Penicilin/streptomycin). Gieo cấy tế bào với mật độ 5000 tế bào/lỗ trong 20 μ L môi trường sinh trưởng trên một lỗ vào đĩa 384 lỗ (Greiner 781080 màu trắng với đáy màu trắng). Đĩa được ủ ở 37°C, 5% CO₂ trong 24 giờ.

Các dung dịch gốc của các hợp chất thử nghiệm được tạo ra ở nồng độ 10 mM trong DMSO, và được pha loãng theo chuỗi trong DMSO đến các nồng độ cần thiết đối với các đường cong đáp ứng liều ức chế (khoảng nồng độ kiểm tra là từ 10 μ M đến 2nM hoặc 1 μ M đến 0,2nM).

PGE2 (Cayman 14010, dung dịch gốc: 100 μ M trong DMSO) được sử dụng làm chất chủ vận ở nồng độ cuối cùng 20nM, tương ứng với EC80.

Năm microlit hợp chất đã được pha loãng được chuyển vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ trước 15 phút ở 37°C. Sau đó năm microlit PGE2 (nồng độ cuối cùng 20nM) được cho vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ 120 phút ở 37°C.

Các thành phần của kit phát hiện PathHunter Glo được làm tan bằng và trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất: lần lượt 1 phần cơ chất Galacton Star với 5 phần dung dịch Emerald IITM, và 19 phần dung dịch đệm thử nghiệm tế bào PathHunter. Mười hai μ l chất phản ứng được cho vào đĩa thử nghiệm và ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong bóng tối. Số đếm huỳnh quang được đọc trên máy đọc BMG Fluostar Optima theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Đối với mỗi nồng độ hợp chất, tính phần trăm hoạt tính so với giá trị đối chứng DMSO dưới dạng trung bình $\pm$ STDEV. (Mỗi nồng độ được đo hai lần)

Các giá trị IC₅₀ và các đường cong được tạo ra bằng phần mềm XLfit (IDBS) sử dụng mô hình một điểm đáp ứng liều 203. Nếu các hợp chất được đo nhiều lần, các giá trị trung bình được nêu.

Các hoạt tính đối kháng của các hợp chất có công thức (I) trên các thụ thể EP2 và EP4 cũng được xác định theo phương pháp thử nghiệm sau.

Các dòng tế bào khối u người biểu hiện EP4 hoặc EP2 nội sinh được sử dụng và sự tích tụ cAMP trong các tế bào khi kích thích PGE2 được theo dõi. Các tế bào u nguyên bào đệm SF295 biểu hiện EP2 nội sinh cao và không biểu hiện EP4, trong khi đó các tế bào ung thư vú BT549, biểu hiện các mức EP4 nội sinh cao và các mức EP2 rất thấp.

Là phương pháp phát hiện đối với cAMP, kit HTRF (huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất: homogeneous time resolved fluorescence) Cisbio (các thử nghiệm kit HTRF cAMP động lực 2 20'000 Cisbio Cat. #62AM4PEC) được sử dụng, kit này được dựa trên thử nghiệm miễn dịch cạnh tranh sử dụng kháng thể kháng cAMP được đánh dấu Cryptat và cAMP được đánh dấu d2. cAMP bẩm sinh được sản sinh bởi các tế bào hoặc cAMP không được đánh dấu (đối với đường cong chuẩn) cạnh tranh với (chất nhận) cAMP được đánh dấu d2 được bổ sung ngoại sinh để liên kết với Cryptat đơn dòng kháng cAMP-Eu3+ (chất cho). Tín hiệu FRET (độ chuyển năng lượng cộng hưởng phát huỳnh quang: Fluorescence Resonance Energy Transfer) được thu chỉ khi kháng thể kháng cAMP được đánh dấu liên kết với cAMP được đánh

dầu d2, do đó tín hiệu cụ thể (tức là, độ chuyển năng lượng) là tỷ lệ nghịch với nồng độ của cAMP trong chuẩn hoặc mẫu.

Thử nghiệm hEP2 cAMP:

Các tế bào SF295 (NCI/No. 0503170) được lấy ra khỏi các đĩa nuôi cấy bằng dung dịch đệm phân ly tế bào (Invitrogen, 13151-014), và được thu gom trong môi trường sinh trưởng (GM: RPMI1640 (Invitrogen 21875) /10% FCS, 1% Penicilin/streptomycin). Các tế bào được đếm rửa và tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm thử nghiệm (AB; HBSS, 20mM HEPES, 0,2% BSA; 2mM IBMX). 4.000 tế bào trong 5 μ l AB được gieo cấy vào mỗi lỗ của đĩa 384 lỗ thể tích nhỏ (Greiner 784076 màu đen với đáy bằng phẳng).

Các dung dịch gốc của các hợp chất thử nghiệm được tạo ra ở nồng độ 10 mM trong DMSO, và được pha loãng theo chuỗi trong DMSO đến các nồng độ cần thiết đối với các đường cong đáp ứng liều ức chế (khoảng nồng độ kiểm tra là từ 30 μ M đến 0,4nM; 30 μ M đến 0,015nM hoặc 1 μ M đến 0,01nM).

PGE2 (Cayman 14010, dung dịch gốc: 75 μ M trong DMSO) được sử dụng làm chất chủ vận ở nồng độ cuối cùng 75nM, tương ứng với EC80.

2,5 μ L hợp chất đã được pha loãng được chuyển vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ trước 45 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, 2,5 μ L PGE2 (nồng độ cuối cùng là 75nM) được cho vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Năm μ l mỗi chất cho (cryptat kháng cAMP) và chất nhận (cAMP-d2) được bổ sung và đĩa được ủ một giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng trong bóng tối và sau đó được đọc bằng cách sử dụng máy đọc BMG LABTECH PHERAstar (bước sóng kích thích : 337nm, bước sóng phát xạ : 620 và 665nm).

Các giá trị Delta F (huỳnh quang) thu được (665nm/620nm) được chuyển hóa thành các giá trị % cAMP sử dụng các số đo của bộ định chuẩn cAMP được cung cấp trong kit này. Đối với mỗi nồng độ hợp chất, phần trăm cAMP so với giá trị đối chứng DMSO dưới dạng trung bình $\pm$ STDEV (mỗi nồng độ được đo thành hai lần) được tính.

Các giá trị IC₅₀ và các đường cong được tạo ra bằng phần mềm XLfit (IDBS) sử dụng mô hình một điểm đáp ứng liều 203. Nếu các hợp chất được đo nhiều lần, các giá trị trung bình được nêu.

Thử nghiệm hEP4 cAMP:

Các tế bào BT549 (NCI/No. 0507282) được lấy ra khỏi các đĩa nuôi cấy bằng dung dịch đệm phân ly tế bào (Invitrogen, 13151-014), và được thu gom trong môi trường sinh trưởng (GM: RPMI1640 (Invitrogen 21875) /10% FCS, 1% Penicilin/streptomycin). Các tế bào được đếm rửa và tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm thử nghiệm (AB; HBSS, 20mM HEPES, 0,2% BSA; 2mM IBMX). 4.000 tế bào trong 5 µl AB được gieo cấy vào mỗi lỗ của đĩa 384 lỗ thể tích nhỏ (Greiner 784076 màu đen với đáy bằng phẳng).

Các dung dịch gốc của các hợp chất thử nghiệm được tạo ra ở nồng độ 10 mM trong DMSO, và được pha loãng theo chuỗi trong DMSO đến các nồng độ cần thiết đối với các đường cong đáp ứng liều ức chế (khoảng nồng độ kiểm tra là từ 30µM đến 0,4nM; 30µM đến 0,015nM hoặc 1µM đến 0,01nM).

PGE₂ (Cayman 14010, dung dịch gốc: 6µM trong DMSO) được sử dụng làm chất chủ vận ở nồng độ cuối cùng 6nM, tương ứng với EC₈₀.

2,5 µL hợp chất đã được pha loãng được chuyển vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ trước 45 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, 2,5 µL PGE₂ (nồng độ cuối cùng là 6nM) được cho vào đĩa thử nghiệm. Đĩa được ủ 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Năm µl mỗi chất cho (cryptat kháng cAMP) và chất nhận (cAMP-d2) được bổ sung và đĩa được ủ một giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng trong bóng tối và sau đó được đọc bằng cách sử dụng máy đọc BMG LABTECH PHERAstar (bước sóng kích thích : 337nm, bước sóng phát xạ : 620 và 665nm).

Các giá trị Delta F (huỳnh quang) thu được (665nm/620nm) được chuyển hóa thành các giá trị % cAMP sử dụng các số đo của bộ định chuẩn cAMP được cung cấp trong kit này. Đối với mỗi nồng độ hợp chất, phần trăm cAMP so với giá trị đối chứng DMSO dưới dạng trung bình ± STDEV (mỗi nồng độ được đo thành hai lần) được tính.

Các giá trị IC₅₀ và các đường cong được tạo ra bằng phần mềm XLfit (IDBS) sử dụng mô hình một điểm đáp ứng liều 203. Nếu các hợp chất được đo nhiều lần, các giá trị trung bình được nêu.

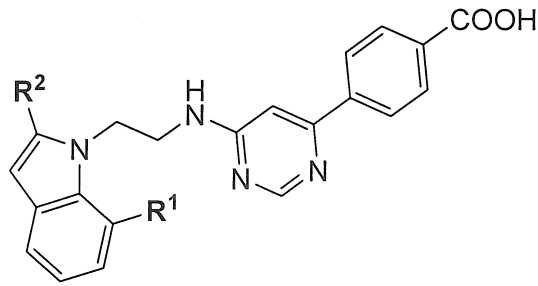
Hoạt tính đối kháng của hợp chất được nêu làm ví dụ được thể hiện trong bảng 3:

Bảng 3:

Ví dụ	hEP2 beta-arrestin IC ₅₀ [nM]	hEP2 cAMP IC ₅₀ (nM)	hEP4 beta-arrestin IC ₅₀ (nM)	hEP4 cAMP IC ₅₀ (nM)
1	13	15	5970	5718
2	11	10	2059	1350
3	8	5	11020	5660
4	3	2	2965	2615
5	17		4973	

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

R^1 là hydro hoặc methyl;

R^2 là methyl, bromo, clo, hoặc xyano,

hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^1 là hydro,

hoặc muối được dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^1 là methyl,

hoặc muối được dụng của nó.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^2 là methyl,

hoặc muối được dụng của nó.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^2 là clo,

hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^2 là xyano,

hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

axit 4-{6-[2-(2-methyl-indol-1-yl)-ethylamino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

axit 4-{6-[2-(2-xyano-indol-1-yl)-ethylamino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

axit 4-{6-[2-(2,7-dimetyl-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;
axit 4-{6-[2-(2-clo-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic; và
axit 4-{6-[2-(2-bromo-indol-1-yl)-etyl-amino]-pyrimidin-4-yl}-benzoic;

hoặc muối được dụng của nó.

8. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, hoặc muối được dụng nó, làm hoạt chất, và ít nhất một tá dược không có hoạt tính chữa bệnh.