



(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)



1-0037362

(51)^{2019.01} C07D 495/22; A61K 31/551; A61P
25/28

(13) B

(21) 1-2020-00813

(22) 05/09/2018

(86) PCT/JP2018/032797 05/09/2018

(87) WO 2019/049869 14/03/2019

(30) 2017-172169 07/09/2017 JP

(45) 27/11/2023 428

(43) 25/08/2020 389ASC

(73) EISAI R&D MANAGEMENT CO., LTD. (JP)

4-6-10 Koishikawa, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8088 Japan

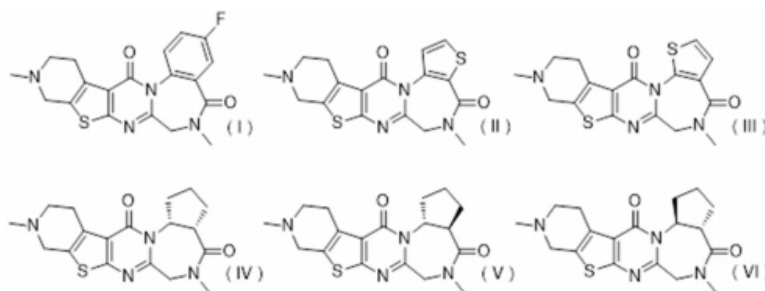
(72) OHASHI Yoshiaki (JP); NORIMINE Yoshihiko (JP); HOSHIKAWA Tamaki (JP);
YOSHIDA Yu (JP); KOBAYASHI Yoshihisa (JP); SATO Nobuhiro (JP);
HAGIWARA Koji (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT NĂM VÒNG VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NĂM VÒNG
NÀY

(57)

Sáng chế đề cập đến các hợp chất được thể hiện bằng các công thức từ (I) đến (VI) hoặc muối dược dụng của chúng:



Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này, các tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer, sa sút trí tuệ với thể Lewy và bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ có chứa hợp chất này hoặc muối dược dụng của nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

[0001] Sáng chế đề cập đến hợp chất năm vòng hoặc muối được dụng của nó có sự hoạt hóa noron cholinergic và/hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh, và việc sử dụng làm dược phẩm của chúng. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm có chứa hợp chất nêu trên làm thành phần hoạt tính.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

[0002] Noron cholinergic mà giải phóng axetylcholin làm chất dẫn truyền được phóng ra rộng rãi trong não trước từ nhân nền của Meynert và nhân vách của não trước đáy đến hồi hải mã, hạch hạnh nhân, và vỏ não, và tham gia vào sự điều biến của trí nhớ, khả năng học tập, nhận thức, và sự chú ý (Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 1). Ngoài ra, noron cholinergic trong nhân mác pedunculopontine và nhân mác lưng bên của thân não được phóng ra trong vùng vân, nhân cạp, chất đen, và đồi não, và được coi là tham gia vào việc điều khiển sự thúc đẩy và sự thận trọng (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế từ 2 đến 4).

[0003] Cụ thể là, vai trò của noron cholinergic trong não trước đáy đã được làm rõ hơn bằng phân tích sử dụng nhiều mô hình động vật chẳng hạn như mô hình thương tổn. Đặc biệt là, sự tương quan giữa rối loạn chức năng của noron cholinergic và trí nhớ và khả năng học tập suy giảm đã được chứng minh trong mô hình động vật (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế từ 5 đến 7), và đã chứng minh được rằng năng lực nhận thức được cải thiện bằng cách làm tăng lượng axetylcholin bằng cách sử dụng chất ức chế cholinesteraza, và tăng cường chức năng của noron cholinergic (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế từ 8 đến 12).

[0004] Đã có báo cáo rằng Yếu Tố Tăng Trưởng Thần Kinh (NGF) thể hiện tác dụng bảo vệ thần kinh trên noron cholinergic trong mô hình động vật chỉ ra sự mất đi của noron

cholinergic (Tài Liệu Không Phải Sáng Chế từ 13 đến 15).

[0005] Cụ thể là đối với bệnh Alzheimer (AD), sự mất đi của noron cholinergic được phát hiện từ giai đoạn sớm của AD và là một trong các đặc điểm bệnh lý của AD. Sự tích lũy của mảng lão suy bởi sự lắng đọng amyloid beta và đám rối tơ thần kinh bởi sự kết tụ protein tau cũng là đặc điểm bệnh lý của AD, và cụ thể là đám rối tơ thần kinh được biết là tăng lên với sự tiến triển của tình trạng bệnh và làm chết noron. Đám rối tơ thần kinh được phát hiện trong nhân nền của Meynert và vỏ não nội khứu từ giai đoạn sớm của AD. Trong số chúng, đã có báo cáo rằng sự mất đi của noron cholinergic trong nhân nền của Meynert bởi sự kết tụ protein tau được phát hiện ở giai đoạn sớm hơn và rằng có sự tương quan giữa sự mất đi và sự giảm đi ở điểm chức năng nhận thức (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 16 và 17). Tương tự với AD, sự tăng phosphoryl hóa và sự tích lũy bất thường của protein tau được phát hiện ở chuột được cải biến di truyền có đột biến P301S mà đã được phát hiện ở bệnh sa sút trí tuệ trán-thái dương gia đình (chuột chuyển gen P301S tau người). Hậu quả là, đám rối tơ thần kinh, đặc điểm bệnh lý của AD, được tạo thành (Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 18) và gây ra rối loạn chức năng nhận thức bởi sự hư hỏng xynap, sự thoái hóa thần kinh và sự mất đi của noron. Dựa trên các phát hiện này, chuột chuyển gen P301S tau người được sử dụng rộng rãi làm mô hình động vật giống AD (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 19-22), và sự cải thiện của sự suy giảm nhận thức và sự kìm hãm tiến triển tình trạng bệnh ở bệnh Alzheimer có thể được mong đợi bằng cách kìm hãm các thay đổi bệnh lý giống AD ở chuột chuyển gen P301S tau người.

[0006] Hơn nữa, nhiều phân tích sử dụng chuột đã cải biến di truyền và mô hình động vật của các rối loạn gợi ý rằng sự thiếu hụt vận chuyển sợi trục là một trong các nguyên nhân của sự mất đi của noron cholinergic (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 23-25). Trong số chúng, sợi trục của noron cholinergic mà phóng ra từ khu vực vách đến hồi hải mã bị suy yếu trong

mô hình bị tổn thương thể bờ-thể vòm và sự suy yếu của sự vận chuyển ngược của các phân tử tham gia vào sự sống sót và chức năng gây ra sự mất đi của noron (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 26-28). Sự suy yếu của sự vận chuyển ngược cũng được phát hiện ở chuột được cải biến di truyền (các Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 23 và 24) và sự mất đi của noron cholinergic bởi tổn thương thể bờ-thể vòm phản ánh một khía cạnh của tình trạng bệnh. Theo đó, sự cải thiện của sự suy giảm nhận thức và sự kìm hãm của sự tiến triển tình trạng bệnh ở bệnh Alzheimer có thể được mong đợi bởi sự kìm hãm hoặc sự cải thiện của sự mất đi của noron cholinergic trong mô hình này của rối loạn.

[0007] Sa sút trí tuệ với thể Lewy (DLB) và bệnh Parkinson (PD) là các rối loạn thoái hóa thần kinh tiến triển trong đó các thể vùi bất thường (thể Lewy) chủ yếu gồm có alpha synuclein xuất hiện trong noron và gây ra sự thoái hóa và sự mất đi của noron. Rối loạn chức năng nhận thức phát triển nếu thể Lewy được phân bố chủ yếu trong vỏ não và hội chứng Parkinson phát triển nếu thể Lewy được phân bố chủ yếu trong thân não. Ngoài điều đó, các triệu chứng tâm thần chẳng hạn như ảo giác thị giác, ảo giác và hoang tưởng, rối loạn giấc ngủ và các triệu chứng giao cảm cũng phát triển. Chẩn đoán là sa sút trí tuệ với thể Lewy nếu sa sút trí tuệ xuất hiện trước hoặc trong vòng một năm từ khi khởi phát hội chứng Parkinson và chẩn đoán là bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ (PDD) nếu hội chứng Parkinson đã xuất hiện trước một năm hoặc lâu hơn từ khi khởi phát sa sút trí tuệ. Sa sút trí tuệ với thể Lewy, bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ và bệnh Parkinson là cùng bệnh về mặt bệnh lý và được đề cập chung dưới dạng bệnh thể Lewy (LBD) dù chúng khác nhau ở rối loạn chức năng nhận thức và thứ tự xuất hiện và mức độ của hội chứng Parkinson. Trong sa sút trí tuệ với thể Lewy và bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ, tương tự như bệnh Alzheimer, noron của nhân nền của Meynert, nhân có nguồn gốc từ dây thần kinh cholinergic, bị thoái hóa và mất đi và đã có báo cáo rằng rối loạn noron cholinergic nghiêm trọng xuất hiện ở hồi hải mã và vỏ não (các Tài

Liệu Không Phải Sáng Chế 29-31). Hơn nữa, có sự tương quan giữa sự tiến triển của rối loạn noron cholinergic và rối loạn chức năng nhận thức (Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 29), và chất ức chế cholinesteraza đã được chứng minh là cải thiện chức năng nhận thức. Dựa trên các phát hiện này, chức năng nhận thức cải thiện bằng sự cải thiện của chức năng của noron cholinergic, và tương tự như bệnh Alzheimer, sự cải thiện của sự suy giảm nhận thức và sự kìm hãm của sự tiến triển tình trạng bệnh ở sa sút trí tuệ với thể Lewy và bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ có thể được mong đợi bởi sự kìm hãm hoặc sự cải thiện của sự mất đi của noron cholinergic trong một vài mô hình của rối loạn.

[0008] Do đó, dựa trên các phát hiện này, sự cải thiện ở hiệu năng nhận thức giảm gây ra bởi sự rối loạn chức năng của noron cholinergic có thể được mong đợi bởi việc đạt được sự hoạt hóa chức năng và/hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh trên noron cholinergic trong thực hành lâm sàng.

[0009] Ngoài các bệnh nêu trên, các ví dụ về bệnh mà sự kết hợp giữa sự giảm chức năng nhận thức và sự rối loạn chức năng của noron cholinergic đã được báo cáo đối với nó bao gồm chứng múa giật Huntington, hội chứng Down, hội chứng xơ cứng teo cơ một bên (ALS), rối loạn trầm cảm chính, tâm thần phân liệt, và bệnh tương tự.

Danh Mục Viện Dẫn

Tài Liệu Không Phải Sáng Chế

[0010] [Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 1] Everitt BJ et al. "Central cholinergic systems and cognition." *Annu. Rev. Psychol.* 48 (1997) 649-684.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 2] Gullledge AT. et al. "Cholinergic inhibition of neocortical pyramidal neurons." *J. Neurosci.* 25 (2005) 10308-20.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 3] Daniel Dautan D. et al. "A major external source of cholinergic innervation of the striatum and nucleus accumbens originates in the brainstem."

J. Neurosci. 34 (2014) 4509-18.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 4] M Steriade M. et al. "Neuronal activities in brain-stem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems." J. Neurosci. 10 (1990) 2541-59.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 5] Fischer W. et al. "Progressive decline in spatial learning and integrity of forebrain cholinergic neurons in rats during aging." Neurobiol. Aging 13 (1992) 9-23.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 6] Leanza G. et al. "Selective lesioning of the basal forebrain cholinergic system by intraventricular 192 IgG-saporin: behavioural, biochemical and stereological studies in the rat." Eur. J. Neurosci. 7 (1995) 329-43.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 7] Leanza G. et al. "Selective immunolesioning of the basal forebrain cholinergic system disrupts short-term memory in rats." Eur. J. Neurosci. 8 (1996) 1535-44.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 8] Ogura H. et al. "Donepezil, a centrally acting acetylcholinesterase inhibitor, alleviates learning deficits in hypocholinergic models in rats." Methods Find Exp Clin Pharmacol. 22 (2000) 89-95.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 9] Spowart-Manning L. et al. "Spatial discrimination deficits by excitotoxic lesions in the Morris water escape task." Behav Brain Res. 156 (2005) 269-76.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 10] Bruce AP. et al. "Choline acetyltransferase activity and cognitive domain score of Alzheimer's patients." Neurobiol. Aging. 21 (2000) 11-17

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 11] Rogers SL. et al. "The efficacy and safety of

donepezil in patients with Alzheimer's disease: results of a US Multicentre, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. The Donepezil Study Group." *Dementia*. 7 (1996) 293-303

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 12] Mori E. et al. "Donepezil for dementia with Lewy bodies: a randomized, placebo-controlled trial." *Ann Neurol*. 72 (2012) 41-52

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 13] Mufson EJ. et al. "Human cholinergic basal forebrain: chemoanatomy and neurologic dysfunction." *J. Chem. Neuroanat*. 26 (2003) 233-242

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 14] Mufson EJ. et al. "Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implication." *Expert. Rev. Neurother*. 8 (2008) 1703-1718

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 15] Schliebs R. et al. "The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease." *J. Neural. Transm* 113 (2006) 1625-1644

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 16] Vana L et al. "Progression of tau pathology in cholinergic Basal forebrain neurons in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease." *Am J Pathol*. 179 (2011) 2533-2550.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 17] Gómez-Isla T et al. "Neuronal loss correlates with but exceeds neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease." *Ann Neurol*. 41 (1997) 17-24.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 18] Lee VM et al. "Neurodegenerative tauopathies." *Annu. Rev. Neurosci*. 24 (2001) 1121-1159.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 19] Allen B et al. "Abundant tau filaments and nonapoptotic neurodegeneration in transgenic mice expressing human P301S tau protein." *J.*

Neurosci. 22 (2002) 9340-9351.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 20] Xu H et al. "Memory deficits correlate with tau and spine pathology in P301S MAPT transgenic mice." *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 40 (2014) 833-43.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 21] Yoshiyama Y et al. "Synapse loss and microglial activation precede tangles in a P301S tauopathy mouse model." *Neuron.* 53 (2007) 337-351.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 22] Hoffmann NA et al. "Impaired plasticity of cortical dendritic spines in P301S tau transgenic mice." *Acta Neuropathol Commun.* 1 (2013) 82.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 23] Salehi A et al. "Increased App Expression in a Mouse Model of Down's Syndrome Disrupts NGF Transport and Causes Cholinergic Neuron Degeneration" *Neuron* 51 (2006) 29-42.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 24] Onishi T et al. "Early-onset cognitive deficits and axonal transport dysfunction in P301S mutant tau transgenic mice" *Neuroscience Research* 80 (2014) 76–85.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 25] Xu W et al. "Amyloid precursor protein-mediated endocytic pathway disruption induces axonal dysfunction and neurodegeneration" *J. Clin. Invest.* 126 (2016) 1815-33.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 26] Lapchak PA et al. "Effect of recombinant human nerve growth factor on presynaptic cholinergic function in rat hippocampal slices following partial septohippocampal lesions: measures of [³H]acetylcholine synthesis, [³H]acetylcholine release and choline acetyltransferase activity" *Neuroscience* 42 (1991) 639-

49.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 27] Gilmor ML et al. "Coordinate expression of the vesicular acetylcholine transporter and choline acetyltransferase following septohippocampal pathway lesions" J. Neurochem. 71 (1998) 2411-20.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 28] Gu H et al. "Recombinant human NGF-loaded microspheres promote survival of basal forebrain cholinergic neurons and improve memory impairments of spatial learning in the rat model of Alzheimer's disease with fimbria-fornix lesion" Neurosci. Lett. 453 (2009) 204-9.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 29] Shimada, H. et al., "Mapping of brain acetylcholinesterase alterations in Lewy body disease by PET" Neurology, vol.73, pp. 273-278, 2009.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 30] Tiraboschi, P. et al., "Cholinergic dysfunction in diseases with Lewy bodies" Neurology 54 (2000) 407-411.

[Tài Liệu Không Phải Sáng Chế 31] Perry, E. K. et. al., "Neocortical cholinergic activities differentiate Lewy body dementia from classical Alzheimer's disease", NeuroReport, vol.5, pp.747-749 (1994).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

[0011] Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất hoặc muối dược dụng của nó có sự hoạt hóa noron cholinergic và/hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh và có việc sử dụng tiềm năng của tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer, sa sút trí tuệ với thể Lewy và bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ.

Giải pháp cho vấn đề

[0012] Kết quả của các nghiên cứu bao quát để giải quyết các vấn đề nêu trên là, các tác giả

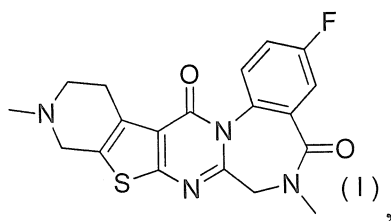
sáng chế đã phát hiện ra hợp chất năm vòng hoặc muối được dựng của nó có sự hoạt hóa noron cholinergic và hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh.

[0013] Tức là, sáng chế đề cập đến các mục từ <1> đến <26> sau đây.

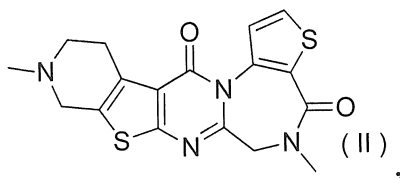
<1> Hợp chất được chọn từ nhóm gồm có:

3-flu-6,11-dimetyl-6,7,10,11,12,13-

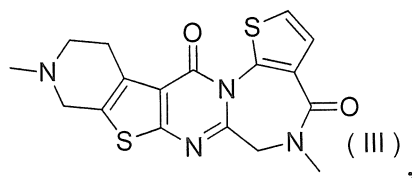
hexahydrobenzo[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-5,14-dion:



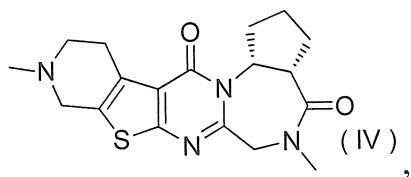
5,10-dimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[2,3-f][1,4]diazepin-4,13-dion:



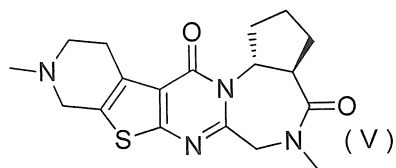
5,10-dimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[3,2-f][1,4]diazepin-4,13-dion:



(3aS,14aR)-5,10-dimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xylopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-dion:

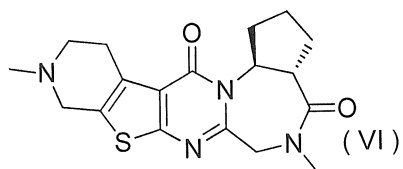


(3aR,14aR)-5,10-đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-dion:



và

(3aS,14aS)-5,10-đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-dion:

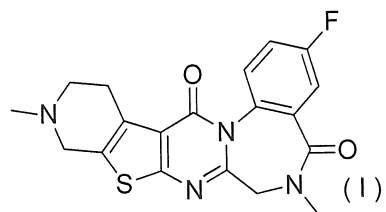


hoặc muối được dụng của nó.

<2> 3-Flo-6,11-đimetyl-6,7,10,11,12,13-

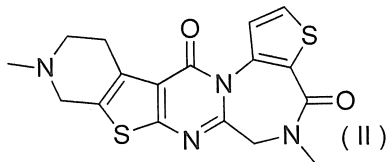
hexahydrobenzo[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-5,14-dion

hoặc muối được dụng của nó:



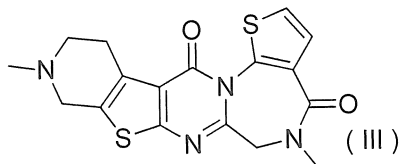
<3> 5,10-Đimetyl-5,6,9,10,11,12-

hexahydropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[2,3-f][1,4]diazepin-4,13-
đion hoặc muối được dựng của nó:



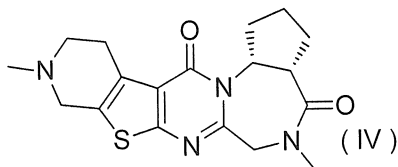
<4> 5,10-Đimetyl-5,6,9,10,11,12-

hexahydropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[3,2-f][1,4]diazepin-4,13-
đion hoặc muối được dựng của nó:



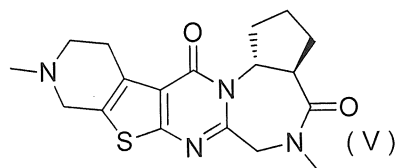
<5> (3aS,14aR)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-

xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-
đion hoặc muối được dựng của nó:



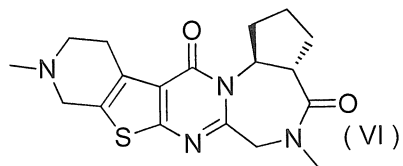
<6> (3aR,14aR)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-

xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-
đion hoặc muối được dựng của nó:



<7> (3aS,14aS)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-

xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-
đion hoặc muối được dụng của nó:



- <8> Dược phẩm có chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> và một hoặc nhiều chất phụ gia được dụng.
- <9-1> Dược phẩm theo <8>, mà là tác nhân hoạt hóa noron.
- <9-2> Dược phẩm theo <8>, mà là tác nhân bảo vệ noron.
- <10> Dược phẩm theo <8> để điều trị rối loạn chức năng nhận thức.
- <11> Tác nhân trị liệu đối với rối loạn chức năng nhận thức có chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7>.
- <12> Phương pháp điều trị rối loạn chức năng nhận thức, có chứa việc dùng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> cho bệnh nhân.
- <13> Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sử dụng trong việc điều trị rối loạn chức năng nhận thức.
- <14> Sử dụng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sản xuất tác nhân trị liệu đối với rối loạn chức năng nhận thức.
- <15> Tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer có chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7>.
- <16> Phương pháp điều trị bệnh Alzheimer, có chứa việc dùng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> cho bệnh nhân.
- <17> Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến

<7> để sử dụng trong việc điều trị bệnh Alzheimer.

<18> Sử dụng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sản xuất tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer.

<19> Tác nhân trị liệu đối với sa sút trí tuệ với thể Lewy có chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7>.

<20> Phương pháp điều trị Sa sút trí tuệ với thể Lewy, có chứa việc dùng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> cho bệnh nhân.

<21> Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sử dụng trong việc điều trị Sa sút trí tuệ với thể Lewy.

<22> Sử dụng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sản xuất tác nhân trị liệu đối với Sa sút trí tuệ với thể Lewy.

<23> Tác nhân trị liệu đối với bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ có chứa hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7>.

<24> Phương pháp điều trị bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ, có chứa việc dùng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> cho bệnh nhân.

<25> Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sử dụng trong việc điều trị bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ.

<26> Sử dụng hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo mục bất kỳ trong số các mục từ <1> đến <7> để sản xuất tác nhân trị liệu đối với bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ.

Tác dụng có lợi của sáng chế

[0014] Hợp chất năm vòng được thể hiện bằng các công thức từ (I) đến (VI) (sau đây gọi là “các hợp chất từ (I) đến (VI)”) hoặc muối được dụng của chúng theo sáng chế có sự hoạt hóa

noron và/hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh, như thể hiện trong dữ liệu hoạt tính trong các ví dụ thử nghiệm được lý nêu dưới đây. Các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế dẫn đến sự cải thiện của hiệu năng nhận thức do sự hoạt hóa noron và/hoặc tác dụng bảo vệ thần kinh của chúng, và do đó có tiềm năng sử dụng làm tác nhân trị liệu đối với bệnh Alzheimer, Sa sút trí tuệ với thể Lewy và bệnh Parkinson với sa sút trí tuệ.

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

[0015] Sau đây, nội dung của sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

[0016] Trong bản mô tả này, các công thức cấu tạo của các hợp chất có thể thể hiện các chất đồng phân cụ thể cho thuận tiện; tuy nhiên, sáng chế có thể bao gồm các đồng phân quay và các chất hỗn biến, cũng như là các hỗn hợp đồng phân, không bị giới hạn ở các công thức đã được mô tả cho thuận tiện, và có thể là chất đồng phân bất kỳ hoặc hỗn hợp chứa các chất đồng phân ở tỉ lệ bất kỳ.

[0017] Hơn nữa, các tinh thể đa hình cũng có thể tồn tại; tuy nhiên, sáng chế cũng không bị giới hạn ở bất kỳ dạng nào trong số chúng và có thể là dạng tinh thể đơn hoặc hỗn hợp của chúng. Hơn nữa, sáng chế còn bao gồm các dạng vô định hình, và các hợp chất theo sáng chế bao gồm anhydrat và solvat (cụ thể là hydrat).

[0018] Sáng chế còn bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị của các hợp chất từ (I) đến (VI). Các hợp chất được đánh dấu đồng vị giống như các hợp chất từ (I) đến (VI), ngoại trừ việc một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử có nguyên tử khối hoặc số khối khác với nguyên tử khối hoặc số khối thường được phát hiện trong tự nhiên. Các ví dụ về chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, flo, photpho, lưu huỳnh, iot, và clo, và cụ thể là bao gồm ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{18}F , ^{32}P , ^{35}S , ^{123}I , ^{125}I , và dạng tương tự.

[0019] Các hợp chất được đánh dấu đồng vị nêu trên, ví dụ như, các hợp chất mà chất đồng

vị có hoạt tính phóng xạ, chẳng hạn như ^3H và/hoặc ^{14}C , được kết hợp vào đó, hữu dụng cho thử nghiệm phân bố mô của thuốc và/hoặc cơ chất. ^3H và ^{14}C được coi là hữu dụng bởi vì dễ dàng điều chế và phát hiện chúng. Các chất đồng vị ^{11}C và ^{18}F được coi là hữu dụng đối với PET (chụp cắt lớp phát xạ positron), chất đồng vị ^{125}I được coi là hữu dụng đối với SPECT (chụp cắt lớp vi tính bằng bức xạ đơn photon), và tất cả chúng hữu dụng để chụp ảnh não. Sự thay thế bằng chất đồng vị nặng hơn, chẳng hạn như ^2H , dẫn đến một số lợi ích trị liệu, bao gồm sự tăng lên ở thời gian bán thải in vivo hoặc sự giảm đi ở liều lượng cần thiết do độ ổn định chuyển hóa cao hơn, và do đó được coi là hữu dụng trong các trường hợp nhất định. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị nêu trên có thể được điều chế tương tự bằng cách thực hiện các quy trình được bộc lộ trong các Ví dụ sau đây bằng cách sử dụng các chất phản ứng sử dụng dễ dàng được gắn nhãn bằng chất đồng vị thay cho các chất phản ứng không được gắn nhãn bằng chất đồng vị.

[0020] “Muối được dụng” trong bản mô tả này không bị giới hạn cụ thể miễn là chúng là muối được tạo thành với các hợp chất theo sáng chế, và các ví dụ cụ thể bao gồm muối cộng axit chẳng hạn như muối axit vô cơ, muối axit hữu cơ, và muối axit amin có tính axit.

[0021] “Muối được dụng” trong bản mô tả này là muối bất kỳ được tạo thành ở tỉ lệ thích hợp trừ khi có sự mô tả giới hạn cụ thể bất kỳ, và số lượng của các phân tử axit trong mỗi phân tử của hợp chất trong muối đã được tạo thành không bị giới hạn cụ thể; tuy nhiên, tốt hơn nếu số lượng của các phân tử axit trong mỗi phân tử của hợp chất nằm trong khoảng từ khoảng 0,5 đến khoảng 2, và tốt hơn nữa nếu số lượng của các phân tử axit trong mỗi phân tử của hợp chất bằng khoảng 0,5, khoảng 1, hoặc khoảng 2.

[0022] Các ví dụ ưu tiên của muối axit vô cơ bao gồm hydroclorua, hydrobromua, sulfat, nitrat, và photphat; và các ví dụ ưu tiên về muối axit hữu cơ bao gồm axetat, succinat, fumarat, maleat, tartrat, xitrat, lactat, stearat, benzoat, metansulfonat, p-toluensulfonat, và

benzensulfonat.

[0023] Các ví dụ ưu tiên của muối axit amin có tính axit bao gồm aspartat và glutamat.

[0024] Khi các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế được thu lấy ở dạng tự do, chúng có thể được biến đổi thành muối mà có thể được tạo thành bằng các hợp chất từ (I) đến (VI) hoặc hydrat của chúng theo phương pháp thông thường.

[0025] Khi các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế được thu lấy dưới dạng muối của các hợp chất từ (I) đến (VI) hoặc hydrat của các hợp chất từ (I) đến (VI), chúng có thể được biến đổi thành dạng tự do của các hợp chất từ (I) đến (VI) theo phương pháp thông thường.

[0026] Hơn nữa, các chất đồng phân khác nhau (ví dụ như, chất đồng phân quang học, chất đồng phân quay, chất đồng phân lập thể, v.v.) thu được từ các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế có thể được tinh chế và được phân lập bằng các phương thức tách thông thường, chẳng hạn như sự tái kết tinh, phương pháp muối đồng phân không đối quang, phương pháp phân giải bằng enzym, và các kỹ thuật sắc ký khác nhau (ví dụ như, sắc ký lớp mỏng, sắc ký cột, sắc ký khí, v.v.).

[0027] [Điều Chế Dược Phẩm]

Dược phẩm theo sáng chế có thể được sản xuất bằng cách trộn chất phụ gia được dụng với hợp chất được chọn từ nhóm của các hợp chất từ (I) đến (VI) hoặc muối được dụng của nó. Dược phẩm theo sáng chế có thể được sản xuất bằng phương pháp đã biết, ví dụ như, phương pháp đã được mô tả trong Quy Tắc Điều Chế Chung của Dược Điển Nhật Bản Ấn Bản Lần Thứ Bảy.

[0028] Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng một cách thích hợp cho bệnh nhân tùy thuộc vào dạng liều lượng của chúng.

[0029] Liều lượng của các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế hoặc muối được dụng của

nó thay đổi tùy thuộc vào mức độ nghiêm trọng của triệu chứng, tuổi, giới tính, khối lượng cơ thể, dạng liều lượng, loại muối, loại bệnh cụ thể, và các điều kiện khác; tuy nhiên, nhìn chung, liều lượng cho người lớn trong mỗi ngày dùng theo đường miệng là từ khoảng 30 μg đến 10 g, tốt hơn là từ 100 μg đến 5 g, và tốt hơn nữa là từ 100 μg đến 1 g; liều lượng cho người lớn trong mỗi ngày dùng theo đường tiêm là từ khoảng 30 μg đến 1 g, tốt hơn là từ 100 μg đến 500 mg, và tốt hơn nữa là từ 100 μg đến 300 mg; và liều lượng nêu trên được dùng một lần hoặc một vài lần.

[0030] Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng làm mẫu dò hóa chất để bắt giữ protein đích của các hợp chất có khối lượng phân tử thấp có hoạt tính sinh học. Tức là, các hợp chất theo sáng chế có thể được biến đổi thành mẫu dò sắc ký ái lực, mẫu dò quang ái lực, v.v., bằng cách đưa nhóm gắn nhãn, cầu nối, hoặc dạng tương tự vào gốc khác với gốc cấu tạo thiết yếu đối với sự phát triển của hoạt tính của các hợp chất bằng cách sử dụng phương pháp đã được mô tả, ví dụ như, trong J. Mass Spectrum. Soc. Jpn. Vol. 51, No. 5, 2003, pp. 492-498, WO2007/139149, hoặc dạng tương tự.

[0031] Các ví dụ về nhóm gắn nhãn, cầu nối, v.v., dùng trong mẫu dò hóa chất bao gồm các nhóm thể hiện trong nhóm gồm có các mục từ (1) đến (5) sau đây:

(1) nhóm gắn nhãn protein, chẳng hạn như nhóm gắn nhãn quang ái lực (ví dụ như, nhóm benzoyl, nhóm benzophenon, nhóm azit, nhóm carbonylazit, nhóm diaziridin, nhóm enon, nhóm diazo, nhóm nitro, v.v.) và các nhóm ái lực hóa học (ví dụ như, nhóm keton trong đó nguyên tử cacbon alpha được thay thế bằng nguyên tử halogen, nhóm carbamoyl, nhóm este, nhóm alkylthio, chất nhận Michael chẳng hạn như keton hoặc este chưa no α,β , và nhóm oxiran);

(2) cầu nối có thể phân cắt, chẳng hạn như -S-S-, -O-Si-O-, monosacarit (nhóm glucoza, nhóm galactoza, v.v.), hoặc disacarit (lactoza, v.v.); và cầu nối oligopeptit có thể phân cắt được

bằng phản ứng enzym;

(3) các nhóm đuôi câu cá, chẳng hạn như biotin và nhóm 3-(4,4-điflo-5,7-đimetyl-4H-3a,4a-điaza-4-bora-s-indacen-3-yl)propionyl;

(4) các nhóm gắn nhãn có hoạt tính phóng xạ, chẳng hạn như ^{125}I , ^{32}P , ^3H , và ^{14}C ; nhóm gắn nhãn huỳnh quang, chẳng hạn như fluorescein, rhodamin, dansyl, umbelliferon, 7-nitrofurazanyl, và nhóm 3-(4,4-điflo-5,7-đimetyl-4H-3a,4a-điaza-4-bora-s-indacen-3-yl)propionyl; các nhóm phát quang hóa học, chẳng hạn như luciferin và luminol; và các chỉ thị có khả năng phát hiện ion kim loại nặng, chẳng hạn như ion kim loại lanthanoid và ion radi; hoặc

(5) các nhóm để gắn vào chất mang rắn, chẳng hạn như hạt thủy tinh, nền thủy tinh, đĩa vi chuẩn độ, hạt agarosa, nền agarosa, hạt polystyren, nền polystyren, hạt ni lông, và nền ni lông.

[0032] Mẫu dò được điều chế bằng cách đưa nhóm gắn nhãn, v.v., được chọn từ nhóm gồm có các mục từ (1) đến (5) nêu trên vào các hợp chất theo sáng chế bằng phương pháp đã được mô tả trong các tài liệu nêu trên hoặc phương pháp tương tự có thể được sử dụng làm mẫu dò hóa chất để nhận diện protein đã gắn nhãn hữu dụng để tìm kiếm các đích thiết kế thuốc mới, v.v..

Ví dụ thực hiện sáng chế

[0033] Các hợp chất từ (I) đến (VI) theo sáng chế có thể được sản xuất bằng, ví dụ như, phương pháp được mô tả trong các Ví dụ sau đây, và tác dụng của các hợp chất này có thể được xác nhận bằng phương pháp được mô tả trong các Ví Dụ Thử Nghiệm sau đây. Tuy nhiên, đây chỉ là các ví dụ, và sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ cụ thể dưới đây trong trường hợp bất kỳ và có thể được cải biến trong khoảng giá trị mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế.

[0034] Các hợp chất được mô tả với tên tài liệu, v.v., chỉ ra rằng các hợp chất này được sản

xuất theo các tài liệu đó, v.v..

[0035] Hơn nữa, các chữ viết tắt dùng trong bản mô tả này đã được biết rõ và thông thường đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Trong bản mô tả này, các chữ viết tắt sau đây được sử dụng.

DCE: 1,2-dicloetan

DCM: điclometan

DIPEA: N,N-điisopropyletylamin

DMT-MM: 4-(4,6-đimetoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-metylmorpholinium clorua

DMSO: đimetylsulfoxit

EDC: 1-etyl-3-(3-đimetylaminopropyl)carbodiimithydroclorua

HATU: O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluronium hexaflophosphat

HOBT: 1-hydroxybenzotriazol

n-: bình thường

NMM: N-metylmorpholin

t-: bậc ba

TBD: 1,3,4,6,7,8-hexahydro-2H-pyrimido[1,2-a]pyrimidin

TBME: butyl metyl ete bậc ba

TEA: trietylamin

THF: tetrahydrofuran

¹H-NMR: proton nuclear magnetic resonance spectrometry – phép đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton

MS: mass spectrometry – phép đo khối phổ

HPLC: high-performance liquid chromatography - sắc ký lỏng hiệu năng cao

[0036] Thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” trong các Ví dụ và Ví Dụ Sản Xuất sau đây thường dùng để chỉ từ khoảng 10°C đến khoảng 35°C. % dùng để chỉ phần trăm theo khối lượng trừ khi có chỉ dẫn khác.

[0037] Độ dịch chuyển hóa học của phổ cộng hưởng từ nhân proton được chỉ ra theo đơn vị δ (phần triệu) tương quan với tetrametylsilan, và hằng số ghép được ghi nhận theo Héc (Hz). Các mẫu được chỉ định là s: mức đơn, d: mức đôi, t: mức ba, q: mức bốn, m: mức bội, br: rộng, br.s: mức đơn rộng.

[0038] Đối với độ phân giải quang học của hợp chất, Parallax Flex (TM) sản xuất bởi Biotage (cột: một trong số CHIRALPAK (R) AD-H, IA, IB, và IC sản xuất bởi DAICEL; và CHIRALCEL (R) OD-H và OJ-H sản xuất bởi DAICEL) được sử dụng.

[0039] Trong các phản ứng sử dụng bình phản ứng vi sóng trong Ví Dụ Sản Xuất, Ví Dụ Tham Chiếu, và Ví dụ, Chất khởi đầu (TM) hoặc Chất khởi đầu+ (TM) sản xuất bởi Biotage được sử dụng.

[0040] Liên quan đến sắc ký, để làm silicagel, silicagel60 sản xuất bởi Merck (ASTM lưới 70-230 hoặc lưới 230-400) hoặc PSQ60B sản xuất bởi Fuji Silysia Chemical Ltd. được sử dụng, hoặc cột đóng gói sẵn {cột: Cột Hi-Flash (TM) (Silicagel) sản xuất bởi YAMAZEN, kích thước: một trong số S (16 x 60 mm), M (20 x 75 mm), L (26 x 100 mm), 2L (26 x 150 mm), và 3L (46 x 130 mm); hoặc Biotage (TM) SNAP Ultra Silica Cartridge sản xuất bởi Biotage, kích thước: một trong số 10 g, 25 g, và 50 g} được sử dụng.

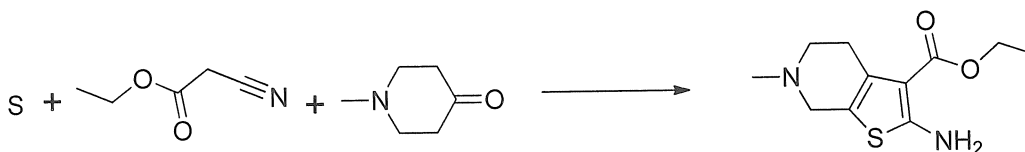
[0041] Để làm silicagel NH, CHROMATOREX NH-DM2035 sản xuất bởi Fuji Silysia Chemical Ltd. được sử dụng, hoặc cột đóng gói sẵn {cột: Cột Hi-Flash (TM) (Amino) được

sản xuất bởi YAMAZEN, kích thước: một trong số S (16 x 60 mm), M (20 x 75 mm), L (26 x 100 mm), 2L (26 x 150 mm), và 3L (46 x 130 mm); hoặc Presep (TM) (Luer Lock) NH₂(HC) sản xuất bởi Wako Pure Chemical Industries, Ltd., kích thước: một trong số type M (14 g/25 ml), kiểu L (34 g/70 ml), type 2L (50 g/100 ml), và kiểu 3L (110 g/200 ml)} được sử dụng.

[0042] Khi tên của các hợp chất được thể hiện dưới đây, ngoại trừ đối với các chất phản ứng thường dùng, tên thể hiện trong tài liệu "E-Notebook" Phiên bản 12 (PerkinElmer) được sử dụng.

[0043] Ví Dụ Sản Xuất 1

Tổng hợp ethyl 2-amino-6-methyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat

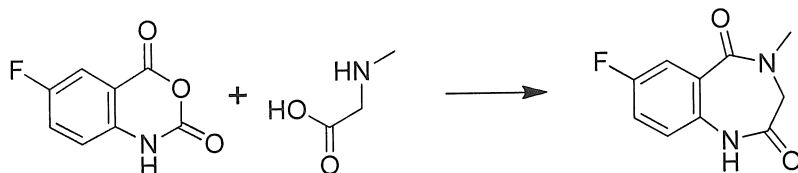


Bổ sung TEA (61,6 ml, 442 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của 1-methyl-4-piperidon (CAS No. 1445-73-4) (51,5 ml, 442 mmol), ethyl xynoaxetat (CAS No. 105-56-6) (47,2 ml, 442 mmol), lưu huỳnh (CAS No. 7704-34-9) (14,2 g, 442 mmol), và ethanol (800 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 40°C trong thời gian 15 giờ, và sau đó cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột (silicagel NH, ethyl axetat). Nghiền phân cận đã cô thu được với ethyl axetat. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, rửa bằng ethyl axetat, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (58,4 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,33 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,62-2,70 (m, 2H), 2,79-2,88 (m, 2H), 3,37 (t, J = 2,0 Hz, 2H), 4,26 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 5,97 (br. s, 2H).

MS (ESI) m/z: 241 [M+H]⁺

[0044] Ví Dụ Sản Xuất 2

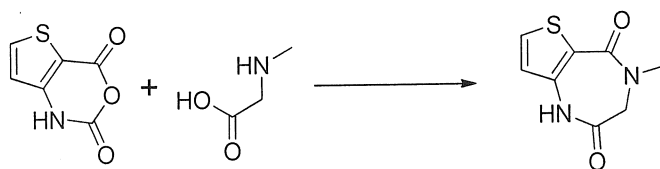
Tổng hợp 7-flu-4-metyl-3,4-đihydro-1H-benzo[e][1,4]điazepin-2,5-đion

Bổ sung sarcosin (CAS No. 107-97-1) (5,16 g, 58,0 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch của 6-flu-1H-benzo[d][1,3]oxazin-2,4-đion (CAS No. 321-69-7) (10,0 g, 55,2 mmol) trong pyridin (100 ml), và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 8 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ trong phòng. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc và rửa bằng diethyl ete. Làm khô chất rắn thu được dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,34 g).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,30 (s, 3H), 3,90 (s, 2H), 6,97 (dd, $J = 8,8, 4,5$ Hz, 1H), 7,20 (ddd, $J = 8,6, 7,6, 2,9$ Hz, 1H), 7,67 (dd, $J = 9,0, 3,1$ Hz, 1H), 7,99 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z : 209 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0045] Ví Dụ Sản Xuất 3

Tổng hợp 4-metyl-3,4-đihydro-1H-thieno[3,2-e][1,4]điazepin-2,5-đion

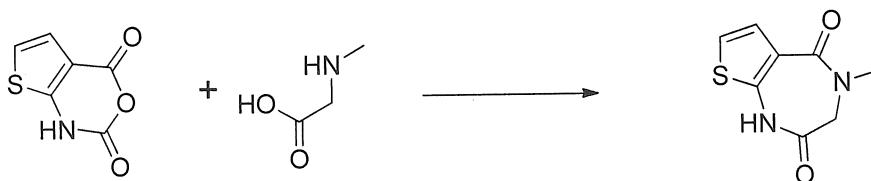
Gia nhiệt hỗn hợp của 1H,2H,4H-thieno[3,2-d][1,3]oxazin-2,4-đion (CAS No. 78756-28-2) (300 mg, 1,77 mmol), sarcosin (395 mg, 4,43 mmol), và nước (10 ml) dưới dòng hồi lưu trong thời gian 2 giờ. Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống 0°C. Thu gom chất kết tủa bằng cách lọc, và rửa tuần tự bằng nước và diethyl ete. Làm khô chất rắn thu được dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (165 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,24 (s, 3H), 4,00 (s, 2H), 6,72 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 7,96 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z : 197 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0046] Ví Dụ Sản Xuất 4

Tổng hợp 4-metyl-3,4-dihydro-1H-thieno[2,3-e][1,4]diazepin-2,5-dion



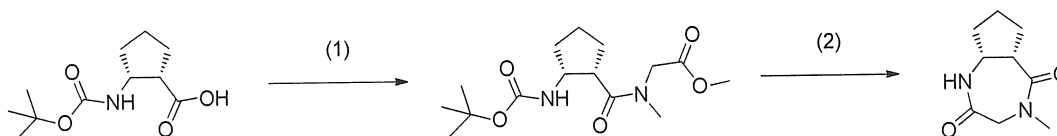
Bổ sung 1H,2H,4H-thieno[2,3-d][1,3]oxazin-2,4-dion (CAS No. 103979-54-0) (600 mg, 3,55 mmol) vào dung dịch của sarcosin (790 mg, 8,87 mmol) trong nước (12 ml). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng dưới dòng hồi lưu trong thời gian 1,5 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ trong phòng. Bổ sung cloroform vào hỗn hợp phản ứng, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng cloroform (hai lần) và etyl axetat (3 lần). Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên natri sulfat khan và lọc, và cô dịch lọc dưới áp suất giảm. Làm khô chất rắn thu được để thu được hợp chất nêu ở đề mục (430 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,23 (s, 3H), 3,99 (s, 2H), 6,90 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H), 7,29 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H), 8,39 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z : 197 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0047] Ví Dụ Sản Xuất 5

Tổng hợp (5aS,8aR)-4-metyloctahydrocyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-dion



(1) Tổng hợp methyl 2-((1S,2R)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-

methylcyclopentancarboxamit)axetat

Bổ sung tuần tự TEA (22,2 ml, 159 mmol), HOBT/monohydrat (11,7 g, 76,3 mmol), và EDC (14,6 g, 76,3 mmol) trong điều kiện làm lạnh bằng nước đá vào hỗn hợp của axit (1S,2R)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)cyclopentan-1-carboxylic (CAS No. 137170-89-9) (14,6 g, 63,6 mmol), sarcosin methyl este hydroclorua (CAS No. 13515-93-0) (10,7 g, 76,3 mmol), và THF (150 ml). Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 15 giờ, bổ sung ethyl axetat và nước, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng ethyl axetat. Rửa lớp hữu cơ kết hợp tuần tự bằng dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước và dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô trên natri sulfat khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận thu được hai lần bằng sắc ký cột (silicagel, ethyl axetat/n-heptan 25-30%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (16,1 g).

MS (ESI) m/z: 337 [M+Na]⁺

(2) Tổng hợp (5aS,8aR)-4-methyloctahydrocyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-dion

Bổ sung dung dịch hydro clorua/1,4-dioxan 4 N (160 ml, 640 mmol) trong điều kiện làm lạnh bằng nước đá vào methyl 2-((1S,2R)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-methylcyclopentancarboxamit)axetat (16,1 g, 51,3 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở cùng nhiệt độ trong thời gian 30 phút, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 45 phút, và cô dưới áp suất giảm. Bổ sung TBD (8,57 g, 61,6 mmol) trong điều kiện làm nguội bằng nước vào dung dịch của phân cận trong metanol (130 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong điều kiện làm nguội bằng nước trong thời gian 3 giờ, và sau đó làm lạnh xuống 0°C. Thu gom chất rắn thu được bằng cách lọc, rửa 3 lần bằng metanol đã làm lạnh bằng nước đá, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (5,22 g).

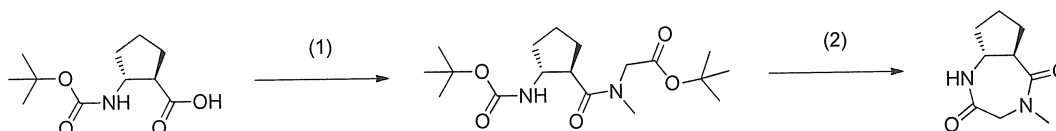
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,41-1,59 (m, 2H), 1,78-1,98 (m, 2H), 2,00-2,15 (m, 1H), 2,36-2,53 (m, 1H), 3,08 (s, 3H), 3,18-3,32 (m, 1H), 3,49 (dd, J = 15,5, 1,7 Hz, 1H), 3,91-

4,04 (m, 1H), 4,51 (d, J = 15,4 Hz, 1H), 5,54 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z: 183 [M+H]⁺

[0048] Ví Dụ Sản Xuất 6

Tổng hợp (5aR,8aR)-4-metyloctahydrocyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-dion



(1) Tổng hợp t-butyl 2-((1R,2R)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-

metylxyclopentancarboxamit)axetat

Bổ sung tuần tự DIPEA (1,81 ml, 10,5 mmol) và HATU (1,99 g, 5,23 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của axit (1R,2R)-t-butoxycarbonyl-2-aminoxyclopentancarboxylic (CAS No. 245115-25-7) (1,00 g, 4,36 mmol), sarcosin t-butyl este hydroclorua (CAS No. 136088-69-2) (872 mg, 4,80 mmol), và DCM (10 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ, và sau đó tinh chế trực tiếp bằng sắc ký cột (silicagel, etyl axetat/n-heptan 30-50%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,61 g).

MS (ESI) m/z: 357 [M+H]⁺

(2) Tổng hợp (5aR,8aR)-4-metyloctahydrocyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-dion

Bổ sung dung dịch hydro clorua/1,4-dioxan 4 N (16 ml, 64 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào t-butyl 2-((1R,2R)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-metylxyclopentancarboxamit)axetat (1,61 g, 4,52 mmol), và khuấy hỗn hợp trong thời gian 20 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm. Bổ sung tuần tự natri hydro cacbonat (0,911 g, 10,8 mmol), metanol (24 ml), NMM (0,099 ml, 0,90 mmol), và DMT-MM (12,3% H₂O, 1,80 g, 5,70 mmol) vào phản cặn ở nhiệt độ trong phòng, và khuấy hỗn hợp trong thời gian 20

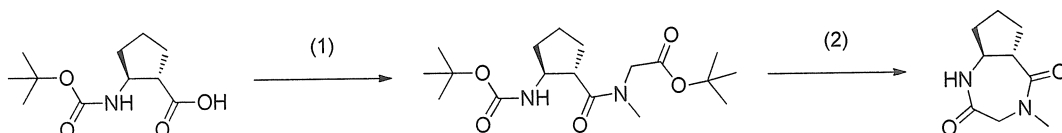
giờ. Cô hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm, và rửa phần cặn bằng DCM. Cô dịch lỏng đã rửa dưới áp suất giảm, và tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel, metanol/etyl axetat 5-20%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (745 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,56-1,88 (m, 3H), 1,91-2,02 (m, 1H), 2,13-2,23 (m, 1H), 2,26-2,39 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,08-3,16 (m, 1H), 3,51-3,62 (m, 1H), 3,79 (d, $J = 18,0$ Hz, 1H), 4,58 (d, $J = 18,0$ Hz, 1H), 6,76 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z : 183 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0049] Ví Dụ Sản Xuất 7

Tổng hợp (5aS,8aS)-4-metyloctahydroxyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-đion



(1) Tổng hợp t-butyl 2-((1S,2S)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-metylxyclopentancarboxamit)axetat

Bổ sung HATU (1,99 g 5,23 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của axit (1S,2S)-t-butoxycarbonyl-2-aminoxyclopentancarboxylic (CAS No. 143679-80-5) (1,00 g, 4,36 mmol), sarcosin t-butyl este hydroclorua (872 mg, 4,80 mmol), DIPEA (1,81 ml, 10,5 mmol), và DCM (10 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, và sau đó tinh chế trực tiếp bằng sắc ký cột (silicagel, etyl axetat/n-heptan 30-50%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,55 g).

MS (ESI) m/z : 357 $[\text{M}+\text{H}]^+$

(2) Tổng hợp (5aS,8aS)-4-metyloctahydroxyclopenta[e][1,4]diazepin-2,5-đion

Bổ sung dung dịch hydro clorua/1,4-đioxan 4 N (16 ml, 64 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào t-butyl 2-((1S,2S)-2-((t-butoxycarbonyl)amino)-N-

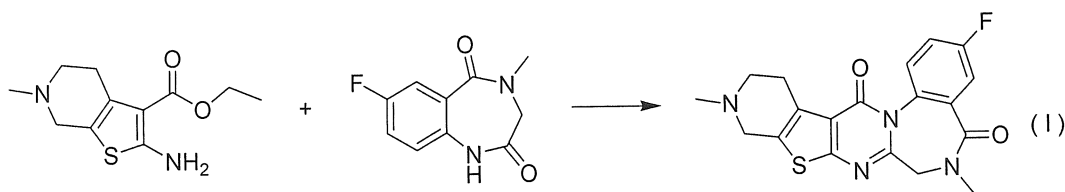
metylcyclopentancarboxamit)axetat (1,55 g, 4,35 mmol), và khuấy hỗn hợp trong thời gian 16 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm. Bổ sung tuần tự natri hydro cacbonat (0,877 g, 10,4 mmol), metanol (24 ml), NMM (0,096 ml, 0,87 mmol), và DMT-MM (12,3% H₂O, 1,73 g, 5,48 mmol) vào phần cặn ở nhiệt độ trong phòng, và khuấy hỗn hợp trong thời gian 3 giờ. Cô hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm, và rửa phần cặn bằng DCM. Cô dịch lỏng đã rửa dưới áp suất giảm, và tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel, 0-20% metanol/etyl axetat) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (753 mg).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,55-1,88 (m, 3H), 1,91-2,02 (m, 1H), 2,11-2,22 (m, 1H), 2,25-2,40 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,07-3,16 (m, 1H), 3,51-3,62 (m, 1H), 3,78 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 4,57 (d, J = 18,0 Hz, 1H), 6,54 (br. s, 1H).

MS (ESI) m/z: 183 [M+H]⁺

[0050] Ví dụ 1

Tổng hợp 3-flo-6,11-dimetyl-6,7,10,11,12,13-hexahydrobenzo[f]pyrido[4",3":4',5']thieno [2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-5,14-dion



Bổ sung photpho oxyclorea (4,65 ml, 49,9 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của etyl 2-amino-6-metyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (6,00 g, 25,0 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, 7-flo-4-metyl-3,4-đihydro-1H-benzo[e][1,4]điazepin-2,5-dion (5,20 g, 25,0 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 2, và DCE (300 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 20 giờ. Trong khi khuấy trong điều kiện làm lạnh bằng nước đá, bổ sung natri etoxit (dung dịch 20% trong etanol, 80 ml, 207 mmol) vào hỗn hợp phản ứng. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong

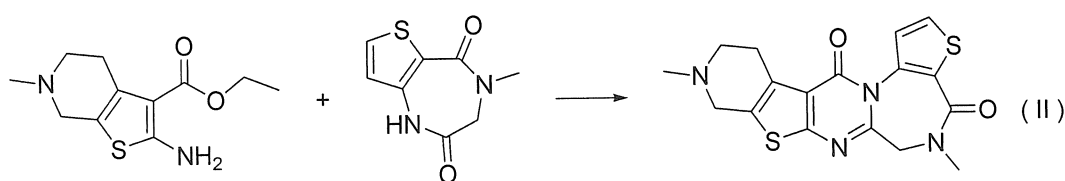
phòng trong thời gian 20 phút. Bổ sung dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước và ethyl axetat vào hỗn hợp phản ứng, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng ethyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên magie sulfat và lọc, và cô dịch lọc dưới áp suất giảm. Tinh chế tuần tự phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel NH, ethyl axetat/n-heptan 50-100%) và sắc ký cột (silicagel, metanol/ethyl axetat 0-50%). Nghiền chất rắn thu được với TBME, và thu gom chất kết tủa bằng cách lọc. Rửa chất rắn thu được bằng TBME và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (4,56 g).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,51 (s, 3H), 2,66-2,76 (m, 1H), 2,77-2,88 (m, 1H), 3,04-3,18 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,57-3,75 (m, 2H), 4,09 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 4,47 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 7,25-7,31 (m, 1H), 7,60-7,64 (m, 1H), 7,67 (dd, $J = 9,0, 4,7$ Hz, 1H).

MS (ESI) m/z : 385 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0051] Ví dụ 2

Tổng hợp 5,10-đimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahydropyrido[4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[2,3-f][1,4]điazepin-4,13-đion



Bổ sung photpho oxyclorea (0,157 ml, 1,68 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của ethyl 2-amino-6-metyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (303 mg, 1,26 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, 4-metyl-3,4-đihydro-1H-thieno[3,2-e][1,4]điazepin-2,5-đion (165 mg, 0,841 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 3, và 1,4-đioxan (10 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 2 giờ, và sau đó khuấy ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 5 giờ. Bổ sung natri etoxit (dung dịch 20% trong ethanol, 2,60 ml, 6,73 mmol) vào hỗn hợp phản ứng đã được làm nguội xuống nhiệt độ trong

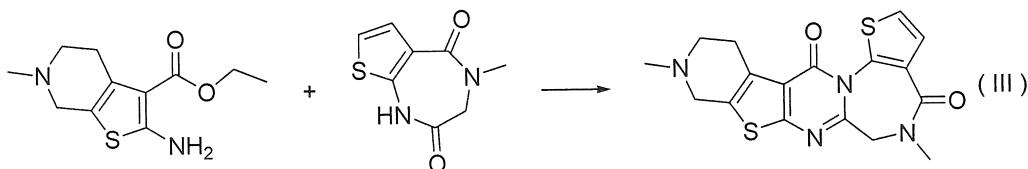
phòng. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 40 phút. Bổ sung ethyl axetat và dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước vào hỗn hợp phản ứng, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng ethyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên natri sulfat khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel, metanol/ethyl axetat 50%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (90,0 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,51 (s, 3H), 2,66-2,87 (m, 2H), 3,07-3,20 (m, 2H), 3,26 (s, 3H), 3,56-3,74 (m, 2H), 4,21 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H), 4,56 (d, $J = 15,0$ Hz, 1H), 7,54 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H), 7,59 (d, $J = 5,3$ Hz, 1H).

MS (ESI) m/z : 373 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0052] Ví dụ 3

Tổng hợp 5,10-dimethyl-5,6,9,10,11,12-hexahydropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido [1,2-a]thieno[3,2-f][1,4]điazepin-4,13-đion



Bổ sung photpho oxyclorea (1,43 ml, 15,3 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của 4-methyl-3,4-dihydro-1H-thieno[2,3-e][1,4]điazepin-2,5-đion (1,00 g, 5,10 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 4, ethyl 2-amino-6-methyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (1,84 g, 7,64 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, và 1,4-đioxan (30 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 phút, và khuấy ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 2 giờ. Bổ sung natri etoxit (dung dịch 20% trong etanol, 21,7 ml, 56,1 mmol) trong 5 phút vào hỗn hợp phản ứng đã được làm nguội xuống nhiệt độ trong phòng. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1,5 giờ. Bổ sung tuần tự ethyl axetat, dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước, và nước vào hỗn hợp phản ứng,

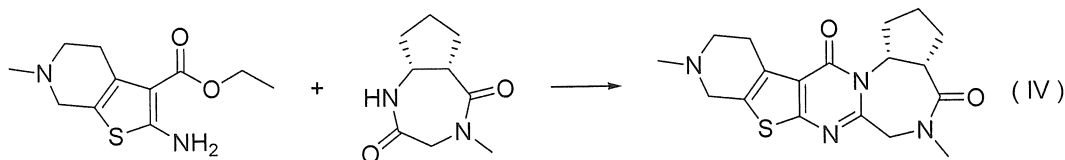
và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên magie sulfat khan và lọc, và cô dịch lọc dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel, metanol/etyl axetat 20%-50%). Nghiền chất rắn thu được với etanol, và thu gom chất kết tủa bằng cách lọc. Rửa chất rắn thu được bằng etanol, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (712 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,52 (s, 3H), 2,71-2,87 (m, 2H), 3,05-3,30 (m, 5H), 3,59-3,75 (m, 2H), 4,23 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 14,8$ Hz, 1H), 7,35 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H), 7,39 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H).

MS (ESI) m/z : 373 $[\text{M}+\text{H}]^+$

[0053] Ví dụ 4

Tổng hợp (3aS,14aR)-5,10-dimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido
[4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-đion



Bổ sung photpho oxyclorua (7,93 ml, 85,1 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của (5aS,8aR)-4-metyloctahydroxyclopenta[e][1,4]điazepin-2,5-đion (3,10 g, 17,0 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 5-(2), etyl 2-amino-6-metyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (8,18 g, 34,0 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, và DCE (300 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 14,5 giờ. Bổ sung dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 0°C , khuấy hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3,5 giờ, và sau đó lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Rửa lớp hữu cơ kết hợp tuần tự bằng dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước và dung dịch natri clorua bão hòa, làm khô trên

magie sulfat khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột (silicagel NH, etyl axetat/n-heptan 30-60%). Nghiền phân cận đã cô thu được với TBME, và thu gom chất kết tủa bằng cách lọc. Rửa chất rắn thu được 3 lần bằng TBME, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (3,70 g).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,51-1,73 (m, 2H), 1,94-2,18 (m, 2H), 2,30-2,41 (m, 1H), 2,44-2,59 (m, 4H), 2,71-2,82 (m, 2H), 3,04-3,19 (m, 5H), 3,42-3,54 (m, 1H), 3,64 (s, 2H), 4,17 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 4,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 5,69-5,82 (m, 1H).

MS (ESI) m/z : 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Sự quay riêng: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -146,0$ (c 0,50, CHCl_3)

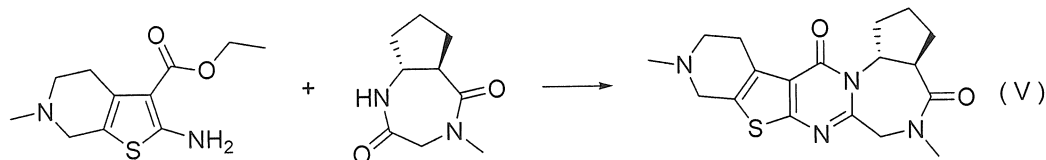
Phân tích bằng HPLC:

(Điều kiện phân tích) Cột: CHIRALPAK IB (sản xuất bởi Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0,46 cm ϕ x 15 cm), 40°C, dung môi rửa giải: etanol/hexan = 20/80 (thể tích/thể tích), tốc độ dòng chảy: 1 ml/phút, sự phát hiện: UV (254 nm).

(Kết quả phân tích) Khi hợp chất nêu ở đề mục được phân tích trong điều kiện phân tích nêu trên, thời gian lưu là 10,38 phút, độ tinh khiết quang học >98%ee, và sự quay quang học là (-). Thời gian lưu của chất đồng phân đối ảnh được xác nhận bằng sản phẩm được tổng hợp một cách tương tự bằng cách sử dụng hỗn hợp triet quang làm nguyên liệu bắt đầu.

[0054] Ví dụ 5

Tổng hợp (3aR,14aR)-5,10-đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido [4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-đion



Bổ sung photpho oxyclorea (0,793 ml, 8,51 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của (5aR,8aR)-4-metyloctahydroxyclopenta[e][1,4]điazepin-2,5-dion (310 mg, 1,70 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 6-(2), etyl 2-amino-6-metyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (613 mg, 2,55 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, và DCE (16 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 70°C trong thời gian 2,5 giờ và sau đó quay trở lại nhiệt độ trong phòng, và bổ sung etyl axetat (15 ml) và dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước (30 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, bổ sung etyl axetat, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên natri sulfat khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phần cặn bằng sắc ký cột (silicagel NH, etyl axetat/n-heptan 50-70%). Rửa sản phẩm thu được 3 lần bằng diethyl ete, sau đó rửa bằng TBME, và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (143 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,29-1,49 (m, 1H), 1,68-1,83 (m, 1H), 1,82-2,21 (m, 3H), 2,50 (s, 3H), 2,76 (t, $J = 5,7$ Hz, 2H), 2,98-3,23 (m, 6H), 3,40-3,54 (m, 1H), 3,57-3,68 (m, 2H), 4,17-4,34 (m, 2H), 5,30 (d, $J = 17,4$ Hz, 1H).

MS (ESI) m/z : 359 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Phân tích bằng HPLC:

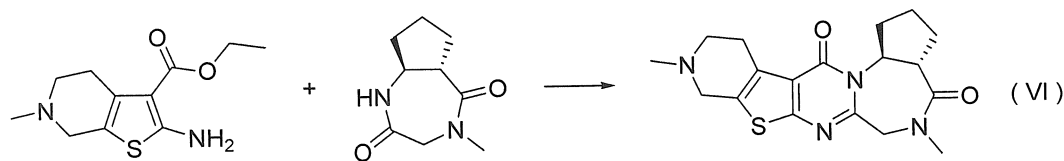
(Điều kiện phân tích) Cột: CHIRALPAK IC (sản xuất bởi Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0,46 cm ϕ x 15 cm), 40°C, dung môi rửa giải: etanol, tốc độ dòng chảy: 1 ml/phút, sự phát hiện: UV (254 nm)

(Kết quả phân tích) Thời gian lưu của hợp chất nêu ở đề mục là 6,64 phút, độ tinh khiết quang học >99%ee, và sự quay quang học là (-).

[0055] Ví dụ 6

Tổng hợp (3aS,14aS)-5,10-dimethyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido

[4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-đion



Bổ sung photpho oxyclorea (0,859 ml, 9,22 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp của (5aS,8aS)-4-metyloctahydroxyclopenta[e][1,4]điazepin-2,5-đion (336 mg, 1,84 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 7-(2), etyl 2-amino-6-metyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[2,3-c]pyridin-3-carboxylat (665 mg, 2,77 mmol) thu được trong Ví Dụ Sản Xuất 1, và DCE (17 ml). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ 60°C trong thời gian 3,5 giờ, và sau đó quay trở lại nhiệt độ trong phòng. Bổ sung etyl axetat (15 ml) và dung dịch natri hydro cacbonat bão hòa trong nước (30 ml) vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 5 ngày, bổ sung etyl axetat, và lớp hữu cơ được tách ra. Chiết lớp nước bằng etyl axetat. Làm khô lớp hữu cơ kết hợp trên natri sulfat khan, lọc, và cô dưới áp suất giảm. Tinh chế phân cận bằng sắc ký cột (silicagel NH, etyl axetat/n-heptan 40-80%). Rửa sản phẩm thu được 3 lần bằng diethyl ete và làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (166 mg).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,31-1,50 (m, 1H), 1,69-1,83 (m, 1H), 1,84-1,97 (m, 1H), 1,97-2,20 (m, 2H), 2,50 (s, 3H), 2,73-2,80 (m, 2H), 3,02-3,23 (m, 6H), 3,41-3,55 (m, 1H), 3,57-3,69 (m, 2H), 4,19-4,34 (m, 2H), 5,30 (d, J = 17,2 Hz, 1H).

MS (ESI) m/z: 359 [M+H]⁺

(Điều kiện phân tích) Cột: CHIRALPAK IC (sản xuất bởi Daicel Chemical Industries, Ltd.) (0,46 cm φ x 15 cm), 40°C, dung môi rửa giải: etanol, tốc độ dòng chảy: 1 ml/phút, sự phát hiện: UV (254 nm)

(Kết quả phân tích) Thời gian lưu của hợp chất nêu ở đề mục là 8,34 phút, độ tinh khiết quang học >99%ee, và sự quay quang học là (+).

[0056] Ví dụ thử nghiệm được lý

Các thử nghiệm được lý sau đây được thực hiện bằng cách sử dụng các hợp chất của các Ví dụ từ 1 đến 6.

[0057] Đo sự giải phóng axetylcholin (ACh) trong hệ thống nuôi cấy noron vách sơ cấp chuột cống trong sự có mặt của NGF

(1) Nuôi cấy noron vách sơ cấp chuột cống

Khu vực vách được phân lập từ chuột cống Sprague-Dawley (SD) (Charles River Laboratories Japan, Inc.) ở tuổi thai là 18 ngày, và được nuôi cấy. Cụ thể là, thai được lấy ra một cách vô trùng từ chuột mang thai trong tình trạng gây mê bằng isofluran. Não được tách ra từ mỗi thai, và ngâm trong môi trường L-15 đã làm lạnh bằng nước đá (11415-064, Thermo Fisher Scientific). Khu vực vách được cắt ra từ não đã tách dưới kính hiển vi đo lập thể. Khu vực vách đã cắt ra được đưa đi xử lý enzym trong dung dịch enzym chứa 0,25% trypsin (15050-065, Thermo Fisher Scientific) và 0,01% ADNaza (D5025-150KU, Sigma) ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 30 phút, bằng cách đó làm phân tán tế bào. Trong trường hợp này, phản ứng enzym được làm dừng bằng cách bổ sung huyết thanh ngựa đã bất hoạt (26050-088, Thermo Fisher Scientific). Dung dịch đã được xử lý enzym được ly tâm ở tốc độ 1000 vòng/phút trong thời gian 3 phút, và dịch nổi bề mặt được lấy ra. Môi trường ở lượng 10 ml được bổ sung vào khối tế bào thu được. Môi trường được sử dụng là Môi Trường Eagle Đã Cải Biến Dulbecco (044-29765, WAKO) có bổ sung phân bổ sung N2 (17502-048, Thermo Fisher Scientific), 1 mM natri pyruvat (11360-070, Thermo Fisher Scientific), và Penixilin-Streptomycin (15140-1221, Thermo Fisher Scientific). Tế bào của khối tế bào mà môi trường được bổ sung vào đó được tái phân tán bằng cách hút pipet nhẹ nhàng, và sau đó

ly tâm lại ở tốc độ 1000 vòng/phút trong thời gian 3 phút, và dịch nổi bề mặt được lấy ra. Môi trường ở lượng 10 ml được bổ sung vào khối tế bào thu được, và dịch phân tán tế bào được lọc qua lưới ni lông 40- μm (Cell Strainer) để loại bỏ khối tế bào, bằng cách đó thu được huyền phù tế bào thần kinh. Huyền phù tế bào thần kinh được pha loãng bằng môi trường, và huyết thanh bò đã bất hoạt 10% (26140-079, Thermo Fisher Scientific) và huyết thanh ngựa đã bất hoạt 10% được bổ sung. Sau đó, 100 μl /giếng của huyền phù được cấy trong đĩa 96 giếng (354461, CORNING) đã được phủ sẵn bằng poly-D-lysine sao cho tỉ trọng môi trường nuôi cấy ban đầu là $1,4 \times 10^5$ tế bào/ cm^2 . Sau khi tế bào đã cấy được nuôi cấy dưới 5% CO_2 -95% không khí trong thiết bị ở 37°C trong thời gian 2 ngày, toàn bộ môi trường được thay thế bằng 120 μl môi trường mới, và tế bào được nuôi cấy tiếp trong thời gian 5 ngày.

(2) Bổ sung hợp chất

Vào ngày thứ 7 của việc nuôi cấy, hợp chất được bổ sung theo phương thức sau đây. Dung dịch của hợp chất thử nghiệm trong DMSO được pha loãng bằng môi trường sao cho nồng độ cao hơn 10 lần so với nồng độ cuối cùng. NGF (450-01, PEPRO TECH, INC.) được điều chế ở 0,3 ng/ml. Mỗi trong hai dung dịch này được bổ sung ở lượng 15 μl /giếng, và hỗn hợp được trộn kỹ. Nồng độ DMSO cuối cùng là 0,1% hoặc nhỏ hơn. Hơn nữa, chỉ DMSO và NGF được bổ sung vào nhóm đối chứng.

(3) Đo sự giải phóng ACh

Một ngày sau khi bổ sung hợp chất, lượng của sự giải phóng ACh được đo bằng HPLC theo phương thức sau đây. Chất đệm ấm được bổ sung ở 100 μl /giếng vào giếng sau khi môi trường được loại ra, và chất đệm được loại bỏ ngay lập tức. Sau đó, chất đệm mà 10 μM cholin, 10 μM physostigmin, và 6 mM KCl được bổ sung vào đó được bổ sung ở 120 μl /giếng. Chất đệm được điều chế bằng cách bổ sung 125 mM NaCl, 25 mM axit 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinetansulfonic, 1,2 mM KH_2PO_4 , 1,2 mM MgSO_4 , 2,2 mM CaCl_2

(2H₂O), và 10 mM glucoza vào nước đã tiệt trùng, và độ pH cuối cùng của dung dịch được thiết lập ở 7,4. Sau khi đĩa 96 giếng mà chất đệm được bổ sung vào đó được ủ dưới 5% CO₂-95% không khí trong thiết bị ủ 37°C trong thời gian 40 phút, 80 µl chất đệm được thu gom. Dung dịch nội chuẩn IPHC (5×10^{-7} M) được bổ sung ở lượng 6 µl vào chất đệm đã được thu gom, và chất đệm được chuyển sang ống để đo HPLC và được đưa đi đo HPLC. Kết quả được thể hiện bằng tác dụng của mỗi hợp chất dưới dạng tỉ lệ phần trăm (% đối chứng) của nồng độ ACh trong chất đệm của nhóm đối chứng, và nồng độ hợp chất thể hiện sự tăng lên 20% từ nồng độ ACh trong chất đệm của nhóm đối chứng được thể hiện trong Bảng 1 dưới đây.

[0058] [Bảng 1]

Ví dụ	Nồng độ (µM) thể hiện sự tăng 20% hoặc lớn hơn từ lượng của ACh trong nhóm đối chứng
1	0,1
2	0,1
3	0,1
4	0,1
5	0,1
6	0,03

[0059] Đo mức độ biểu hiện mRNA cholin axetyltransferaza (ChAT) trong khu vực vách chuột cống

(1) Việc dùng hợp chất

Trong nghiên cứu này, chuột cống đực SD (Charles River Laboratories Japan, Inc.) có khối lượng cơ thể từ khoảng 250 đến 350 g được sử dụng. Hợp chất được hòa tan trong axit clohydric 0,01 mol/l, và được dùng qua đường miệng.

(2) Lấy mẫu

Vào 24 giờ sau khi dùng hợp chất, mô não nguyên vẹn được thu lấy trong tình trạng gây mê bằng pentobarbital. Vách trung gian được tách ra khỏi não nguyên vẹn trên nước đá và làm đông lạnh bằng nitơ lỏng, và sau đó lưu trữ ở nhiệt độ -80°C.

(3) Đo mức độ biểu hiện mARN ChAT

Để tinh chế ARN, bộ Kit RNeasy Plus Mini (#74136: QIAGEN) được sử dụng trong nghiên cứu này. Việc tinh chế ARN được thực hiện bằng phương pháp đã được mô tả trong bộ kit. Sau khi tinh chế ARN, nồng độ ARN tổng số được đo bằng cách sử dụng Thiết Bị QIAxpert (QIAGEN). cADN được tổng hợp bằng cách sử dụng Bộ Kit Tổng Hợp cADN SuperScript (R) VILO (TM) (#11754: Thermo Fisher Scientific). Việc tổng hợp cADN được thực hiện bằng phương pháp đã được mô tả trong bộ kit. cADN đã được tổng hợp được pha loãng 4 lần bằng nước không chứa ARNaza, và dung dịch cADN đã pha loãng được sử dụng làm mẫu. Hỗn Hợp Chính Taqman Universal PCR (#4304437: Thermo Fisher Scientific), Thử Nghiệm Biểu Hiện Gen Taqman (R), INVENTORIED (#4331182: Thermo Fisher Scientific), nước không chứa ARNaza, và dung dịch cADN được trộn lần lượt ở lượng 10 µl, 1 µl, 4 µl, và 5 µl, và hỗn hợp thu được được sử dụng làm dung dịch mẫu đo. Phản ứng chuỗi polymeraza định lượng (qPCR) được thực hiện bằng cách sử dụng ABI PRISM (R) 7900HT (Thermo Fisher Scientific) bằng phương pháp mẫu dò huỳnh quang. Phân tích được thực hiện bằng SDS 2.4 (Thermo Fisher Scientific). Kết quả được tính bằng tỉ lệ phần trăm của lượng biểu hiện mARN ChAT trong nhóm dùng hợp chất tăng lên từ lượng biểu hiện mARN ChAT trong nhóm dùng tá dược lỏng. Kết quả được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

[0060] [Bảng 2]

Ví dụ	Liều lượng	Lượng (%) tăng lên từ lượng biểu hiện mARN ChAT trong nhóm dùng tá dược lỏng
1	10 mg/kg	73,3
2	3 mg/kg	38,0
3	10 mg/kg	56,4
4	10 mg/kg	42,4
5	3 mg/kg	33,6
6	10 mg/kg	32,0

[0061] Đo axetylcholin (ACh) trong Dịch não tủy (CSF) chuột cống

(1) Tình trạng kỹ thuật

Sự tương quan giữa sự tăng lên và sự giảm đi của chất dẫn truyền thần kinh trong não và các chất này trong dịch não tủy (CSF) được phát hiện bằng các nghiên cứu trên động vật gặm nhấm và sự tương quan này cũng được thấy ở người (Lowe S et al. Psychopharmacology 219 (2012) 959-970). Do đó, các thay đổi ở axetylcholin trong CSF được đo để xác định các thay đổi ở axetylcholin trong não bằng các hợp chất thử nghiệm.

(2) Việc dùng hợp chất

Trong nghiên cứu này, chuột cống đực Fischer344 (Charles River Laboratories Japan, Inc.) có khối lượng cơ thể từ khoảng 150 đến 250 g được sử dụng. Các hợp chất thử nghiệm được dùng qua đường miệng cho chuột cống một lần mỗi ngày ở 10 mg/kg trong ba ngày. Tá dược lỏng được sử dụng là axit clohydric 0,01 mol/l.

(3) Lấy mẫu

Vào 24 giờ sau khi dùng tá dược lỏng và các hợp chất thử nghiệm, CSF được thu lấy từ bể lớn trong ống chứa chất ức chế AchE trong tình trạng gây mê bằng pentobarbital. CSF đã lấy được được ly tâm ở tốc độ 3500 x g ở nhiệt độ 4 °C trong thời gian 10 phút và dịch nổi

bề mặt được thu gom. Dịch nổi bề mặt đã thu gom được làm đông lạnh bằng nitơ lỏng, và sau đó lưu trữ ở nhiệt độ -80°C .

(4) Đo ACh bằng LC-MS

Bổ sung 50 μl axetylcholin-d9 clorua (ACh-d9) ở nồng độ cuối cùng bằng 0,34 nmol/l vào 10 μl của CSF làm nội chuẩn. Hỗn hợp được hút bằng pipet và được ly tâm ở tốc độ 1500 x g ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 10 phút. Dịch nổi bề mặt được thu gom và được đưa đi LC/MS (NexeraX2 (MS), TSQ Altis (HPLC)), và ACh được phát hiện dưới dạng ion tiền thân ở m/z 146,050 và dưới dạng ion sản phẩm ở m/z 87,071 và ACh-d9 làm nội chuẩn được phát hiện dưới dạng ion tiền thân ở m/z 155,088 và dưới dạng ion sản phẩm ở m/z 87,000. Kết quả được thể hiện dưới dạng kết quả tính toán của tỉ lệ phần trăm của sự tăng lên của nồng độ ACh trong CSF trong nhóm dùng hợp chất thử nghiệm đối với kết quả tính toán đó trong nhóm dùng tá dược lỏng (% đối chứng). Kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

[0062] [Bảng 3]

Ví dụ	Lượng (%) tăng lên đối với từ lượng của ACh trong CSF nhóm dùng tá dược lỏng
1	160,0
3	156,8

[0063] Đánh giá ở chuột nhắt chuyển gen P301S tau người

(1) Việc dùng hợp chất

Trong nghiên cứu này, các hợp chất thử nghiệm được dùng qua đường miệng cho chuột nhắt chuyển gen P301S tau người một lần mỗi ngày trong ba tháng từ bốn tháng tuổi đến bảy tháng tuổi. Tá dược lỏng được sử dụng là axit clohydric 0,01 mol/l.

(2) Lấy mẫu

Vào ngày bắt đầu dùng (bốn tháng tuổi) và vào ngày hôm sau của lần dùng cuối cùng, các con chuột nhất của nhóm dùng tá được lỏng và nhóm dùng hợp chất thử nghiệm được gây mê bằng pentobarbital (50mg/kg, i.p.) và được truyền dịch bằng PBS. Sau khi truyền dịch, não trước bao gồm khu vực vách trung gian được thu gom và được cố định bằng paraformaldehyt 4%.

(3) Chuẩn bị phân cắt đứng ngang não đông lạnh

Não trước đã thu được bao gồm khu vực vách trung gian được ngâm và được lắng qua đêm trong paraformaldehyt 4%. Dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 7,5%. Nó được ngâm và được lắng qua đêm trong dung dịch sucroza 7,5%, và dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 15% và nó được ngâm và được lắng qua đêm. Dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 30% và nó được ngâm và được lắng qua đêm. Các phân cắt đứng ngang não đông lạnh có chiều dày 30 μ m được chuẩn bị từ não trước bao gồm khu vực vách trung gian bằng cách sử dụng thiết bị vi phẫu (Leica, SM2000R).

(4) Hóa mô miễn dịch của tế bào dương tính cholin axetyltransferaza (ChAT)

Các phân cắt đứng ngang não đông lạnh đã được chuẩn bị được nhuộm màu bằng DAB (DAB PEROXIDASE SUBSTRATE KIT (Vector, SK-4100)) bằng cách sử dụng kháng thể ChAT (Santa Cruz, SC-20672) làm kháng thể sơ cấp. Ảnh phân cắt bao gồm khu vực vách trung gian như thể hiện trong tài liệu "The mouse Brain in stereotaxic coordinates" (COMPACT THIRD EDITION, Keith B.J. Franklin & George Paxinos) được chụp bằng kính hiển vi huỳnh quang tất cả trong một (KEYENCE, BZ-X710) và tế bào dương tính ChAT xung quanh trục chính của khu vực vách trung gian được đếm bằng phần mềm phân tích BZ (KEYENCE). Kết quả được thể hiện dưới dạng tỉ lệ phần trăm của số lượng tế bào dương tính ChAT trong nhóm dùng tá được lỏng và nhóm dùng hợp chất thử nghiệm đối với số lượng của tế bào dương tính ChAT vào thời gian dùng lần đầu (bốn tháng tuổi). Dữ liệu

được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SEM. Sự khác biệt giữa nhóm vào thời gian dùng lần đầu và nhóm được xử lý bằng tá dược lỏng (có ý nghĩa: *) được phân tích bằng kiểm định t không bắt cặp, và cũng như là sự khác biệt giữa nhóm được xử lý bằng tá dược lỏng và nhóm được xử lý bằng hợp chất (có ý nghĩa: #) được phân tích bằng kiểm định t không bắt cặp. Giá trị của $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa về mặt thống kê. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng GraphPad Prism phiên bản 7.02. Kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

[0064] [Bảng 4]

Nhóm Xử Lý	Tỉ lệ (%) của số lượng tế bào dương tính ChAT so với số lượng tế bào dương tính ChAT trong lần dùng đầu tiên
Nhóm vào thời gian dùng lần đầu	100,0 $\pm$ 4,5
Nhóm dùng tá dược lỏng	83,0 $\pm$ 5,8*
Nhóm dùng Ví dụ 1 (Liều lượng: 10mg/kg)	105,0 $\pm$ 4,0 [#]
Nhóm dùng Ví dụ 3 (Liều lượng: 5mg/kg)	105,3 $\pm$ 4,3 [#]

[0065] Tác dụng bảo vệ thần kinh và hồi phục trên noron cholinergic bằng cách sử dụng mô hình chuột cống bị tổn thương thể bờ-thể vòm

(1) Chuẩn bị mô hình chuột cống bị tổn thương thể bờ-thể vòm

Trong nghiên cứu này, chuột cống đực Sprague-Dawley (Charles River Laboratories Japan, Inc.) có khối lượng cơ thể từ khoảng 250 đến 350 g được sử dụng. Chuột cống được gây mê bằng tổ hợp của ba thuốc: midazolam (2 mg/kg dưới da), medetomidin hydroclorua (0,15 mg/kg dưới da) và butorphanol tartrat (2,5 mg/kg dưới da) và được cố định bằng thiết bị

định vị nổi não (Narishige Co., Ltd.). Sọ được làm lộ ra và lỗ rộng 5 mm được khoan trong xương sọ từ đường trung tuyến 2 mm sau Thóp. Lưỡi dao rộng 4 mm được chọc vào Thóp ở độ sâu 5,5 mm để cắt thể bờ-thể vòm. Sau khi cầm máu, da đầu được khâu lại. Sau khi mổ, chuột cống được đưa trở lại chuồng và tỉnh lại từ trạng thái hôn mê. Trong nhóm được mổ giả vờ, lỗ rộng 5 mm được khoan trong xương sọ từ đường trung tuyến 2 mm sau Thóp, nhưng không chọc lưỡi dao vào.

(2) Việc dùng hợp chất

Các hợp chất thử nghiệm được dùng qua đường miệng cho chuột cống một lần mỗi ngày từ năm ngày đến chín ngày sau khi mổ (Ví dụ 1: 10 mg/kg) hoặc từ bảy ngày đến mười bốn ngày sau khi mổ (Ví dụ 3: 3 mg/kg). Tá dược lỏng được sử dụng là axit clohydric 0,01 mol/l. Trong nhóm được mổ giả vờ, tá dược lỏng được dùng qua đường miệng một lần mỗi ngày tương tự như nhóm dùng hợp chất thử nghiệm.

(3) Lấy mẫu

Các con chuột cống được gây mê bằng pentobarbital và được truyền dịch qua tâm vị bằng PBS đã làm lạnh bằng nước đá. Sau khi truyền dịch, não trước bao gồm khu vực vách trung gian được thu gom và ngâm và lắng qua đêm với paraformaldehyt 4%. Dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 7,5%. Nó được ngâm và được lắng qua đêm trong dung dịch sucroza 7,5%, và dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 15% và nó được ngâm và được lắng qua đêm. Dung dịch ngâm được thay thế bằng dung dịch sucroza 30% và nó được ngâm và được lắng qua đêm. Các phần cắt đứng ngang não đông lạnh có chiều dày 30 μ m được chuẩn bị từ não trước bao gồm khu vực vách trung gian bằng cách sử dụng thiết bị vi phẫu (Leica, SM2000R).

(4) Hóa mô miễn dịch của tế bào dương tính cholin axetyltransferaza (ChAT) và chất vận chuyển axetylcholin túi (VACHT)

Các phần cắt đứng ngang não đông lạnh đã được chuẩn bị được nhuộm màu bằng DAB (DAB PEROXIDASE SUBSTRATE KIT (Vector, SK-4100)) bằng cách sử dụng kháng thể ChAT (Santa Cruz, SC-20672) hoặc kháng thể VACHT (Merck Millipore, ABN100) làm kháng thể sơ cấp. Ảnh phần cắt bao gồm khu vực vách trung gian hoặc hồi hải mã như thể hiện trong tài liệu "The mouse Brain in stereotaxic coordinates" (COMPACT THIRD EDITION, Keith B.J. Franklin & George Paxinos) được chụp bằng kính hiển vi huỳnh quang tất cả trong một (KEYENCE, BZ-X710) và tế bào dương tính ChAT của khu vực vách trung gian hoặc mật độ quang học (OD) ở VACHT hồi hải mã được đo bằng phần mềm phân tích BZ (KEYENCE). Kết quả được thể hiện dưới dạng tỉ lệ phần trăm của số lượng tế bào dương tính ChAT của khu vực vách trung gian hoặc OD trong VACHT hồi hải mã trong nhóm dùng tá được lỏng và nhóm dùng hợp chất thử nghiệm đối với số lượng của tế bào dương tính ChAT của khu vực vách trung gian hoặc OD trong VACHT hồi hải mã trong nhóm được mô giả vờ. Dữ liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ SEM. Sự khác biệt giữa nhóm được xử lý bằng tá được lỏng và nhóm được xử lý bằng hợp chất (có ý nghĩa: #) được phân tích bằng kiểm định t không bắt cặp. Giá trị của $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa về mặt thống kê. Các phân tích thống kê được thực hiện bằng cách sử dụng GraphPad Prism phiên bản 7.02. Kết quả được thể hiện trong Bảng 5 và Bảng 6.

[0066] [Bảng 5]

Ví dụ	Số lượng tế bào dương tính ChAT (%) ở lần dùng đầu	Số lượng tế bào dương tính ChAT (%) ở nhóm dùng tá được lỏng	Số lượng tế bào dương tính ChAT (%) ở nhóm dùng hợp chất thử nghiệm
1	59,9 $\pm$ 6,0	43,3 $\pm$ 12,3	79,1 $\pm$ 15,7
3	57,0 $\pm$ 7,5	38,4 $\pm$ 5,0	74,1 $\pm$ 9,3 [#]

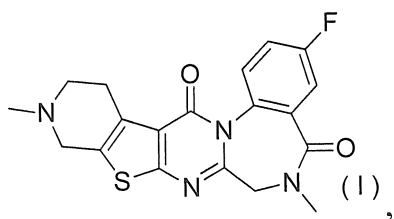
[0067] [Bảng 6]

Ví dụ	OD ở VACHT hồi hải mã (%) ở lần dùng đầu	OD ở VACHT hồi hải mã (%) trong nhóm dùng tá dược lỏng	OD ở VACHT hồi hải mã (%) trong nhóm dùng hợp chất thử nghiệm
1	35,4±4,4	22,8±9,5	77,2±14,6 [#]
3	51,7±13,1	19,5±6,4	66,1±14,2 [#]

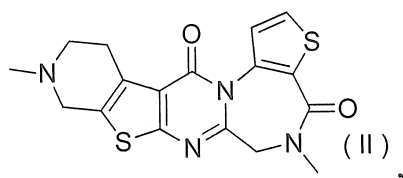
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất được chọn từ nhóm gồm có:

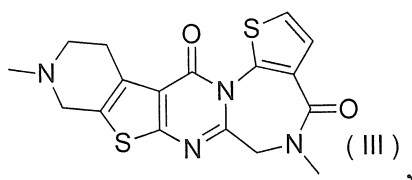
3-flu-6,11-dimetyl-6,7,10,11,12,13-hexahydrobenzo[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-5,14-dion:



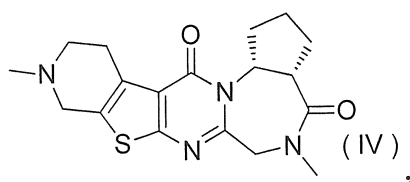
5,10-dimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[2,3-f][1,4]điazepin-4,13-dion:



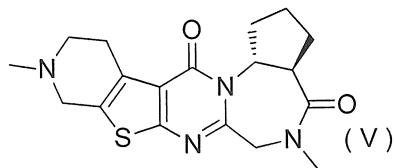
5,10-dimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[3,2-f][1,4]điazepin-4,13-dion:



(3aS,14aR)-5,10-dimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-dion:

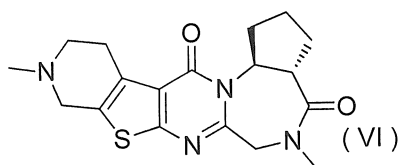


(3aR,14aR)-5,10-dimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-dion:



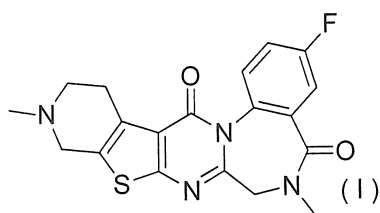
và

(3aS,14aS)-5,10-đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-4,13(2H,14aH)-đion:

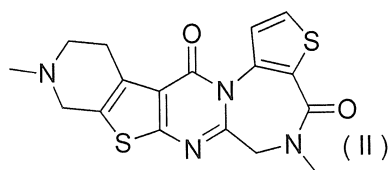


hoặc muối được dụng của chúng.

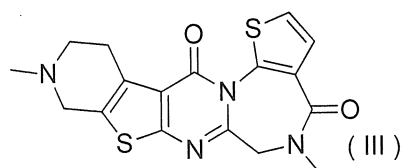
2. 3-Flo-6,11-đimetyl-6,7,10,11,12,13-hexahydrobenzo[f]pyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]diazepin-5,14-đion hoặc muối được dụng của nó:



3. 5,10-Đimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[2,3-f][1,4]diazepin-4,13-đion hoặc muối được dụng của nó:

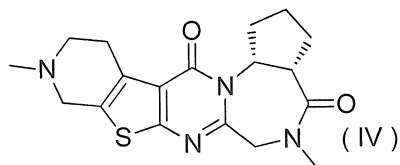


4. 5,10-Đimetyl-5,6,9,10,11,12-hexahdropyrido[4",3":4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a]thieno[3,2-f][1,4]diazepin-4,13-đion hoặc muối được dụng của nó:

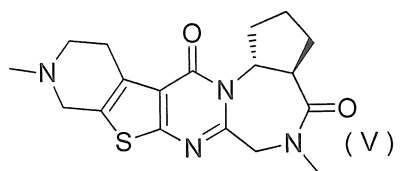


5. (3aS,14aR)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido

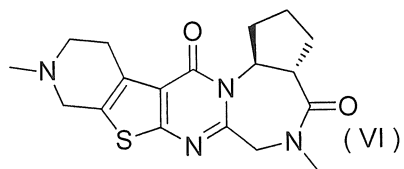
[4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-đion hoặc muối được dùng của nó:



6. (3aR,14aR)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido [4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-đion hoặc muối được dùng của nó:



7. (3aS,14aS)-5,10-Đimetyl-3,3a,5,6,9,10,11,12-octahydro-1H-xyclopenta[f]pyrido [4'',3'':4',5']thieno[2',3':4,5]pyrimido[1,2-a][1,4]điazepin-4,13(2H,14aH)-đion hoặc muối được dùng của nó:



8. Dược phẩm có chứa hợp chất hoặc muối được dùng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 và một hoặc nhiều chất phụ gia được dùng.