



(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)



1-0037557

(51)^{2020.01} C07D 498/10; A61K 31/438; A61P
31/06

(13) B

(21) 1-2020-01504

(22) 15/08/2018

(86) PCT/EP2018/072143 15/08/2018

(87) WO 2019/034700 A1 21/02/2019

(30) 17382569.6 16/08/2017 EP

(45) 27/11/2023 428

(43) 25/09/2020 390A

(73) 1. GlaxoSmithKline Intellectual Property Development Limited (GB)
980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, United Kingdom
2. BIOVERSYS AG (CH)

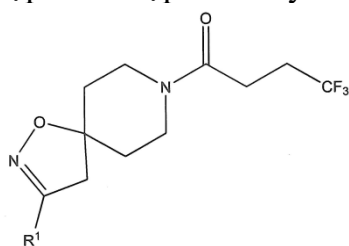
c/o Technologiepark Basel, Hochbergerstrasse 60c, 4057 Basel, Switzerland

(72) PORRAS DE FRANCISCO, Esther (ES); REMUIÑAN-BLANCO, Modesto Jesús (ES); BOUROTTE, Marilyne (FR); DEPREZ, Benoit (FR); WILLAND, Nicolas (FR).

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

(54) HỢP CHẤT, DƯỢC PHẨM VÀ TỔ HỢP CHỨA HỢP CHẤT NÀY HỮU ÍCH ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH DO VI KHUẨN HIẾU KHÍ GRAM DƯƠNG HÌNH QUE GÂY RA

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hữu ích trong điều trị bệnh, ví dụ trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc trong điều trị bệnh gây ra bởi vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que, như bệnh lao. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm và tổ hợp chứa hợp chất này.



(I).

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất mới, chế phẩm bao gồm hợp chất này, và sử dụng chúng trong điều trị, ví dụ trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc trong điều trị bệnh gây ra bởi vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que (*mycobacterium*), như bệnh lao (còn được gọi là TB).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gần mười triệu người bị bệnh lao (TB) mỗi năm, dẫn đến 1,5 triệu ca tử vong mỗi năm, theo báo cáo được công bố bởi Tổ chức Y tế Thế giới năm 2014. Mặc dù đã có các phương pháp điều trị bệnh lao, tỷ lệ mắc bệnh vẫn tăng, do nhiễm *Mycobacterium tuberculosis*, tác nhân gây bệnh vi khuẩn lao, trở nên kháng lại nhiều phép phương pháp điều trị ban đầu như isoniazid và rifampicin.

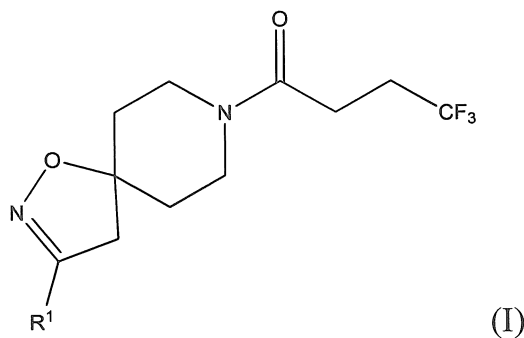
Ethionamit, chất tương tự về cấu trúc của isoniazid, thường được kê đơn để điều trị TB kháng đa thuốc (MDR TB), mà có hiệu quả tương đương isoniazid. Tuy nhiên, nhược điểm liên quan đến việc sử dụng ethionamit là để đạt được nồng độ chấp nhận được của thuốc trong máu, yêu cầu tới 1 g/ngày, liều lượng này gây ra tác dụng phụ nghiêm trọng bao gồm nhiễm độc thần kinh và nhiễm độc gan gây tử vong. Do đó, cần phải giảm liều lâm sàng và tiếp xúc với ethionamit.

Công bố quốc tế PCT số WO 2014/096369 mô tả hợp chất spiroisoxazolin mang nhóm thế aryl, xycloalkyl hoặc heteroaryl. Các hợp chất này là hữu ích trong việc điều trị TB.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, một mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất mới mà có khả năng tăng cường hoạt tính của thuốc được sử dụng trong điều trị TB, cụ thể là thuốc mà có thể hoạt hóa qua con đường EthA, như ethionamit. Mục đích khác của sáng chế là đề xuất hợp chất mới để điều trị TB.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



trong đó R¹ là halogen; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh, cụ thể là để sử dụng trong điều trị bệnh lao.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế mô tả phương pháp điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que ở động vật có vú cần điều trị, bao gồm việc cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng mycobacterium ở động vật có vú cần điều trị, bao gồm việc cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, trong sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que.

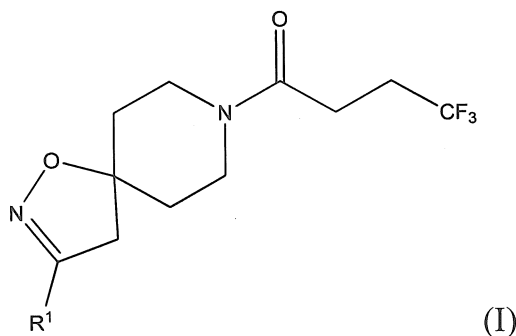
Theo khía cạnh thứ sáu, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc để sử dụng trong việc điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que.

Theo khía cạnh thứ bảy, sáng chế đề xuất được phẩm chứa (a) hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó; và (b) tá được dụng dụng.

Theo khía cạnh thứ tám, sáng chế đề xuất tổ hợp bao gồm (a) hợp chất có công thức (I) hoặc được dụng; và (b) ít nhất một chất chống vi khuẩn hiệu khí Gram dương hình que khác.

Mô tả chi tiết sáng chế

Như được mô tả ở trên, một khía cạnh của sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó:



trong đó R¹ là halogen; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo.

Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I).

Theo một phương án, R¹ là flo, clo hoặc brom; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo.

Theo một phương án, R¹ là flo, clo hoặc brom; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; mono-, di- hoặc triflometyl; mono-, di- hoặc triflometoxy; 2-floetyl; 2,2-difloetyl; 2,2,2-trifloetyl; 2-floetoxy, 2,2-difloetoxy; hoặc 2,2,2-trifloetoxy.

Theo một phương án, R¹ là clo hoặc brom; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; mono-, di- hoặc triflometyl; mono-, di- hoặc triflometoxy; 2-floetyl; 2,2-difloetyl; 2,2,2-trifloetyl; 2-floetoxy, 2,2-difloetoxy; hoặc 2,2,2-trifloetoxy.

Theo một phương án, R¹ là flo, clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, triflometoxy, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án, R¹ là clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, triflometoxy, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án, R¹ là flo, clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án, R¹ là clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án, R¹ là flo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₄, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án, R¹ là brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₄, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxo.

Theo một phương án R¹ là flo, brom, xyano, metyl, etyl, triflometyl, 2,2,2-trifloetoxo, metoxy, etoxy, *n*-propoxy, *iso*-butoxy hoặc hexyloxy.

Theo một phương án R¹ là brom, xyano, metyl, etyl, triflometyl, 2,2,2-trifloetoxo, metoxy, etoxy, *n*-propoxy, *iso*-butoxy hoặc hexyloxy.

Theo một phương án, R¹ là triflometyl.

Hợp chất cụ thể mà hữu ích theo sáng chế bao gồm:

4,4,4-triflo-1-[3-(2,2,2-trifloetoxo)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl]butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-propoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-isobutoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-hexyloxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

1-(3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;

1-(3-etoxo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-metoxi-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;
 4,4,4-triflo-1-(3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;
 4,4,4-triflo-1-(3-metyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;
 1-(3-etyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;
 8-(4,4,4-triflobutanoyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-3-carbonitril; và
 4,4,4-triflo-1-(3-flo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on.

Thuật ngữ và định nghĩa

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “halogen” dùng để chỉ flo, clo, brom hoặc iốt. Tuy nhiên, cụ thể hơn, nó nhằm để chỉ flo, clo hoặc brom.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “xyano” dùng để chỉ -CN.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “alkyl mạch thẳng C₁₋₆” dùng để chỉ nhóm alkyl mạch thẳng có một đến sáu nguyên tử cacbon. Do đó, thuật ngữ “alkyl mạch thẳng C₁₋₆” bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl, *n*-butyl, *n*-pentyl và *n*-hexyl.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “alkyl mạch nhánh C₃₋₄” dùng để chỉ nhóm alkyl mạch nhánh có ba đến bốn nguyên tử cacbon. Do đó, thuật ngữ “alkyl mạch nhánh C₃₋₄” bao gồm *iso*-propyl, *sec*-butyl và *iso*-butyl.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “alkoxy mạch thẳng C₁₋₆” dùng để chỉ nhóm alkoxy mạch thẳng có một đến sáu nguyên tử cacbon. Do đó, thuật ngữ “C₁₋₆ alkoxy mạch thẳng” bao gồm metoxy, etoxy, *n*-propoxy, *n*-butoxy, *n*-pentyloxy và *n*-hexyloxy.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “alkoxy mạch nhánh C₃₋₄” dùng để chỉ nhóm alkoxy mạch nhánh có ba đến bốn nguyên tử cacbon. Do đó, thuật ngữ “C₃₋₄ alkoxy mạch nhánh” bao gồm *iso*-propoxy, *sec*-butoxy và *iso*-butoxy.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” dùng để chỉ nhóm metyl mà được thế bằng một, hai hoặc ba nguyên tử flo. Do đó, thuật ngữ “metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” bao gồm mono-flometyl (-CH₂F), di-flometyl (-CHF₂) và triflometyl (-CF₃).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” dùng để chỉ nhóm etyl mà được thế bằng một, hai, ba, bốn, hoặc năm nguyên tử

flo. Do đó, thuật ngữ “etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” bao gồm 2-floetyl ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 2,2-difloetyl ($-\text{CH}_2\text{CHF}_2$) và 2,2,2-trifloetyl ($-\text{CH}_2\text{CF}_3$).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo” dùng để chỉ nhóm metoxy trong đó cacbon của nhóm metyl được thế bằng một, hai hoặc ba nguyên tử flo. Do đó, thuật ngữ “metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” bao gồm mono-flometoxy ($-\text{OCH}_2\text{F}$), di-flometoxy ($-\text{OCHF}_2$) và triflometoxy ($-\text{OCF}_3$).

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “etoxi được thế bằng một hoặc nhiều flo” dùng để chỉ nhóm etoxi trong đó cacbon của nhóm etyl được thế bằng một, hai, ba, bốn, hoặc năm nguyên tử flo. Do đó, thuật ngữ “etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo” bao gồm 2-floetoxi ($-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$), 2,2-difloetoxi ($-\text{OCH}_2\text{CHF}_2$) và 2,2,2-trifloetoxi ($-\text{OCH}_2\text{CF}_3$).

Cần phải hiểu rằng hợp chất có công thức (I) có thể tồn tại ở các dạng hỗn biến khác nhau. Tất cả các chất hỗn biến được dự tính là thuộc phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ "hợp chất theo sáng chế" như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó. Thuật ngữ "hợp chất theo sáng chế" có nghĩa là hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất theo sáng chế như được định nghĩa ở trên.

Ngoài ra, cần phải hiểu rằng các cụm từ như “hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó” hoặc “hợp chất theo sáng chế” là nhằm bao gồm hợp chất có công thức (I), muối hoặc solvat được dụng của hợp chất có công thức (I), hoặc tổ hợp được dụng bất kỳ của chúng. Do đó, bằng cách sử dụng ví dụ không nhằm giới hạn trong bản mô tả này để nhằm mục đích minh họa, “hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó” bao gồm muối được dụng của hợp chất có công thức (I) mà có mặt dưới dạng solvat, và cụm từ này cũng bao hàm hỗn hợp bao gồm hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của hợp chất có công thức (I).

Cần phải hiểu rằng các tham chiếu trong bản mô tả này đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó bao gồm hợp chất có công thức (I) dưới dạng bazơ tự do hoặc muối được dụng của nó. Do đó, theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I). Theo một phương án khác, sáng chế có thể đề cập đến muối được dụng của hợp chất có công thức (I).

Thuật ngữ “dược dụng” dùng để chỉ những hợp chất (kể cả muối), chất, chế phẩm, và dạng liều dùng mà, trong phạm vi chẩn đoán y khoa hợp lý, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô của người và động vật mà không gây độc tính, kích thích quá mức, hoặc vấn đề hoặc biến chứng khác, tương xứng với tỉ lệ lợi ích/rủi ro hợp lý.

Muối dược dụng bao gồm, ngoài các muối khác, muối dược dụng được mô tả trong Berge, J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, hoặc hoặc muối dược dụng được liệt kê trong tài liệu: P H Stahl and C G Wermuth, editors, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection và Use, Second Edition* Stahl/Wermuth: Wiley- VCH/VHCA, 2011 (xem <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-3906390519.html>).

Muối dược dụng thích hợp có thể bao gồm muối cộng axit. Muối này có thể tạo thành bằng cách phản ứng với axit thích hợp, tùy ý trong dung môi thích hợp như dung môi hữu cơ, để tạo thành muối mà có thể tách bằng cách kết tinh và lọc.

Muối cộng axit dược dụng điển hình bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 4-axetamidobenzoat, axetat, adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzensulfonat (besylat), benzoat, bisulfat, bitartrat, butyrat, canxi edetat, camphorat, camphorsulfonat (camsylat), caprat (decanoat), caproat (hexanoat), caprylat (octanoat), xinamat, xitrat, xyclamat, digluconat, 2,5-dihydroxybenzoat, disuxcinat, dodecylsulfat (estolat), edetat (etylendiamintetraaxetat), estolat (lauryl sulfat), etan-1,2-disulfonat (edisylat), etansulfonat (esylat), format, fumarat, galactarat (mucat), gentisat (2,5-dihydroxybenzoat), glucoheptonat (gluceptat), gluconat, glucuronat, glutamat, glutarat, glycerophosphorat, glycolat, hexylresorxinat, hippurat, hydrabamin (*N,N'*-di(dehydroabietyl)-etylendiamin), hydrobromua, hydroclorua, hydroiodua, hydroxynaphthoat, isobutytrat, lactat, lactobionat, laurat, malat, maleat, malonat, mandelat, metansulfonat (mesylat), metylsulfat, mucat, naphtalen-1,5-disulfonat (napadisylat), naphtalen-2-sulfonat (napsylat), nicotinat, nitrat, oleat, palmitat, *p*-aminobenzensulfonat, *p*-aminosalicyclat, pamoat (embonat), pantothenat, pectinat, persulfat, phenylaxetat, phenyletylbarbiturat, phosphat, polygalacturonat, propionat, *p*-toluenesulfonat (tosylat), pyroglutamat, pyruvat, salicylat, sebacat, stearat, subaxetat, suxcinat, sulfamat, sulfat, tannat, tartrat, teoclat (8-clotheophyllinat), thioxyanat, triethiodua, undecanoat, undecylenat, và valerat.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lượng hữu hiệu điều trị” nghĩa là lượng bất kỳ mà, khi so sánh với đối tượng tương ứng không nhận được lượng này, giúp cải thiện việc điều trị, chữa bệnh, phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh, rối loạn, hoặc tác dụng phụ, hoặc làm giảm tốc độ tiến triển của bệnh hoặc rối loạn.

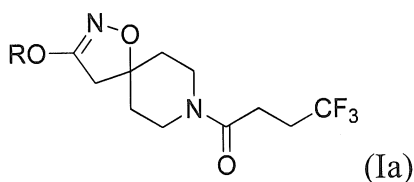
“Lượng hữu hiệu điều trị” thích hợp sẽ phụ thuộc vào một số yếu tố, ví dụ độ tuổi và cân nặng của đối tượng, tình trạng chính xác cần điều trị và mức độ nghiêm trọng của nó, bản chất của chế phẩm, và đường dùng, và cuối cùng là theo chỉ dẫn của bác sĩ điều trị.

Điều chế hợp chất

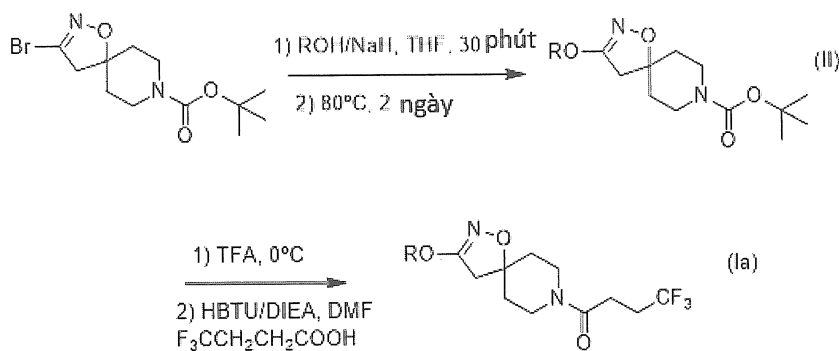
Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng nhiều phương pháp, bao gồm cả hóa học tiêu chuẩn. Tham số bất kỳ được định nghĩa trên đây sẽ tiếp tục có ý nghĩa như đã được định nghĩa từ trước trừ khi có quy định khác. Các phương pháp tổng hợp chung được minh họa trong sơ đồ dưới đây và có thể được điều chỉnh dễ dàng để điều chế hợp chất theo sáng chế khác. Hợp chất cụ thể theo sáng chế có thể được điều chế theo quy trình thực nghiệm trong phần các ví dụ.

Quy trình chung được sử dụng để tổng hợp hợp chất có công thức (I) được mô tả trong sơ đồ phản ứng 1 đến 7 dưới đây và được minh họa trong phần ví dụ thực hiện sáng chế.

Điều chế hợp chất có công thức (Ia)

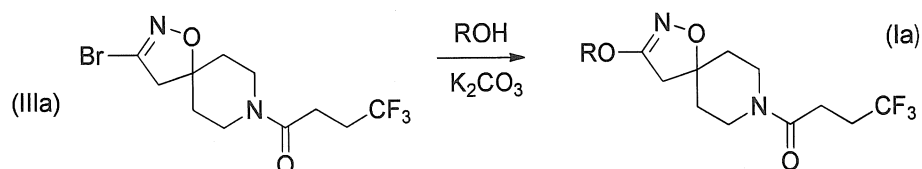


Hợp chất có công thức (Ia), mà là hợp chất alkoxyspiro có công thức (I), có thể được điều chế theo sơ đồ 1 (dưới đây) bằng cách loại bỏ bảo vệ nhóm bảo vệ Boc của hợp chất alkoxyspiro có công thức (II) với, ví dụ TFA, và kết hợp tiếp nhóm amino của muối TFA với axit 4,4,4-triflobutanoic. Hợp chất trung gian có công thức (II) có thể được điều chế bằng phản ứng giữa rượu tương ứng (ROH) có bán sẵn trên thị trường với hợp chất được bảo vệ N-Boc spiro được halogen hóa có công thức (IV), quá trình tổng hợp của nó được mô tả dưới đây.



Sơ đồ 1 – Điều chế hợp chất có công thức (I) trong đó R¹ là alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo

Theo cách khác, hợp chất có công thức (Ia) mà là hợp chất alkoxyspiro có thể được điều chế theo Sơ đồ 2 (dưới đây) bằng phản ứng giữa rượu tương ứng (ROH) có bán sẵn trên thị trường với hợp chất triflobutanamit spiro được halogen hóa có công thức (IIIa) với sự có mặt của bazơ thích hợp, như kali carbonat.

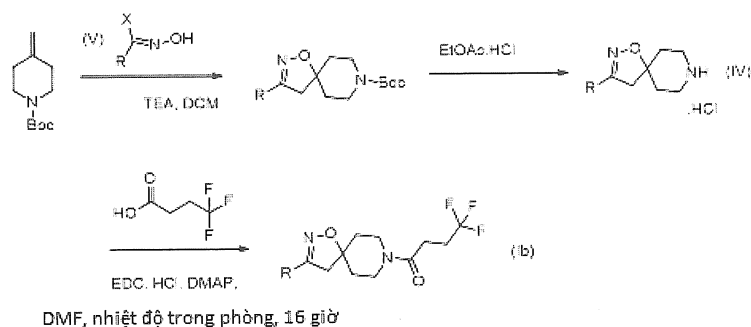


Sơ đồ 2 – Quy trình điều chế theo cách khác của hợp chất có công thức (I) trong đó R¹ là alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo

Điều chế hợp chất có công thức (Ib)

Hợp chất có công thức (Ib), mà là hợp chất alkylspiro, có thể được điều chế theo Sơ đồ 3 (dưới đây) bằng cách kết hợp hợp chất có công thức (IV) với axit 4,4,4-triflobutanoic. Hợp chất có công thức (IV) có được thế điều chế bằng cách đóng vòng tert-butyl 4-metylenpiperidin-1-carboxylat có bán sẵn trên thị trường với hợp chất

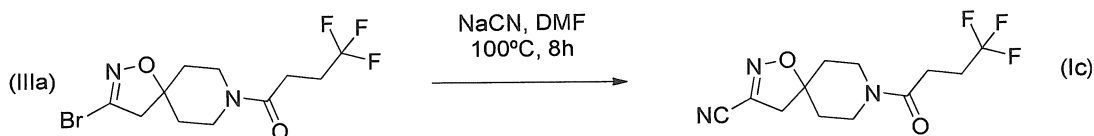
oxim có công thức (V) và tiếp tục phân tách nhóm bảo vệ N-Boc bằng axit, như clohydric.



Sơ đồ 3 – Điều chế hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là alkyl mạch thẳng C_{1-6} hoặc alkyl mạch nhánh C_{3-4}

Điều chế hợp chất có công thức (Ic)

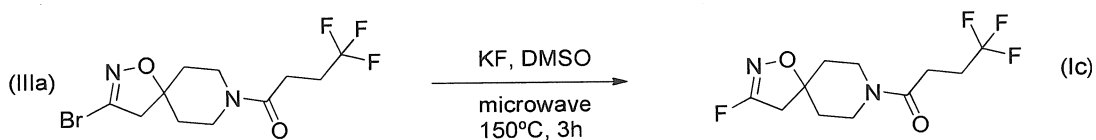
Hợp chất xiano có công thức (Ic) có thể được điều chế bằng cách thế ái nhân hợp chất (IIIa) bằng, ví dụ, natri xyanua trong dung môi thích hợp như DMF, theo Sơ đồ 4 (dưới đây).



Sơ đồ 4 – Điều chế hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là CN

Điều chế hợp chất có công thức (Id)

Hợp chất flo có công thức (Id) có thể được điều chế bằng cách thế halogen hợp chất (IIIa) bằng, ví dụ, kali florua trong dung môi thích hợp như DMSO, theo Sơ đồ 5 (dưới đây).

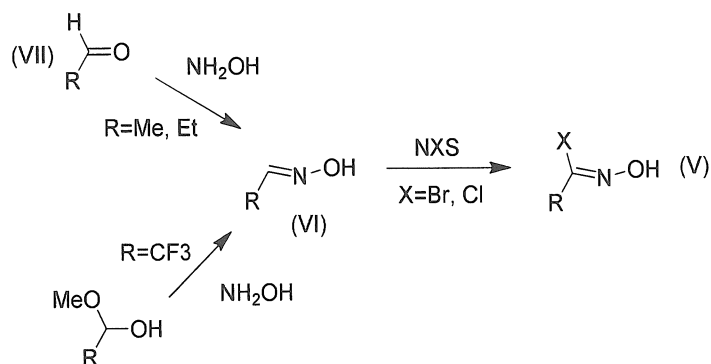


Sơ đồ 5 – Điều chế hợp chất có công thức (I) trong đó R^1 là F

Điều chế chất trung gian (IIIa) và (V)

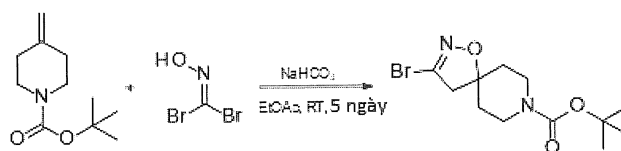
Chất trung gian oxim có công thức (V), có thể được điều chế bằng phản ứng halogen hóa giữa hợp chất trung gian có công thức (VI) với N-halogensuccinimit, như NBS

hoặc NCS như được thể hiện trong sơ đồ 6 (dưới đây). Chất trung gian oxim có công thức (VI), trong đó R là methyl hoặc etyl có thể được điều chế bằng phản ứng giữa andehyt tương ứng có công thức (VII) với, ví dụ, hydroxylamin. Ngoài ra, chất trung gian triflometyloxim, trong đó R là triflometyl, có thể được điều chế bằng phản ứng giữa 2,2,2-triflo-1-metoxietanol với hydroxyl amin.



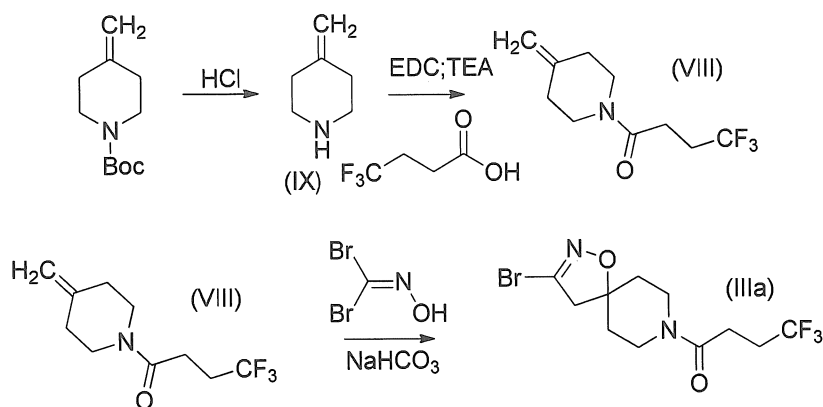
Sơ đồ 6 – Điều chế chất trung gian V

Chất trung gian được bảo vệ N-Boc spiro halogen hóa có công thức (III) có thể được điều chế bằng phản ứng giữa tert-butyl 4-metylenpiperidin-1-carboxylat có bán sẵn trên thị trường và dibromua hydroxycarbonimidic với sự có mặt của, ví dụ, natri bicarbonat (Sơ đồ 7).



Sơ đồ 7 – Điều chế chất trung gian III

Theo cách tương tự, chất trung gian (IIIa) có thể được điều chế bằng phản ứng giữa alken (VIII) với dibromua hydroxycarbonimidic trong cùng điều kiện như được mô tả ở trên. Chất trung gian (VIII) có thể được điều chế bằng phản ứng kết hợp giữa chất trung gian amino hydroclorua (IX) với axit 4,4,4-triflobutanoic trong điều kiện tiêu chuẩn. Cuối cùng, chất trung gian amino (IX) có thể điều chế từ tert-butyl 4-metylenpiperidin-1-carboxylat có bán sẵn trên thị trường bằng cách xử lý bằng hydro clorua. Đối với quy trình này, xem sơ đồ 8 dưới đây.



Sơ đồ 8 – Điều chế chất trung gian IIIa

Phương pháp sử dụng

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que. Nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là nhiễm trùng gây ra do vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que.

Vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que có thể là một loại trong nhóm các vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que dưới đây: *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)*, *Phức chất Mycobacterium avium (MAC)*, *Mycobacterium gordonae clade*, *Mycobacterium kansasii clade*, *Mycobacterium chelonae clade*, *Mycobacterium fortuitum clade*, *Mycobacterium parafortuitum clade* hoặc *Mycobacterium vaccae clade*. Vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que cũng có thể là *Mycobacterium ulcerans* hoặc *Mycobacterium leprae*.

Các chủng của *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)* bao gồm *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis BCG*, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti* và *Mycobacterium pinnipedii*. Những vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que này là tác nhân gây bệnh lao ở người và động vật. *Mycobacterium tuberculosis* là nguyên nhân chính gây bệnh lao ở người.

Theo một phương án, vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là một chủng của *Mycobacterium tuberculosis complex (MTC)*.

Theo một phương án, việc nhiễm trùng này là nhiễm trùng do *Mycobacterium tuberculosis*. Nói cách khác, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que được gây ra bởi nhiễm trùng *Mycobacterium tuberculosis*.

Theo một phương án, *Mycobacterium tuberculosis* là vi khuẩn kháng đa thuốc. Theo phương án khác *Mycobacterium tuberculosis* là kháng ethionamid.

Các chủng của *Complex Mycobacterium avium (MAC)* bao gồm *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*, *Mycobacterium colombiense* và *Mycobacterium indicus pranii*.

Các chủng của *Mycobacterium gordonae clade* bao gồm *Mycobacterium asiaticum* và *Mycobacterium gordonae*.

Các chủng của *Mycobacterium kansasii clade* bao gồm *Mycobacterium gastri* và *Mycobacterium kansasii*.

Các chủng của *Mycobacterium chelonae clade* bao gồm *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii* và *Mycobacterium chelonae*.

Các chủng của *Mycobacterium fortuitum clade* bao gồm *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum subspecies acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense* và *Mycobacterium septicum*.

Các chủng của *Mycobacterium parafortuitum clade* bao gồm *Mycobacterium austroafricanum*, *Mycobacterium diernhoferi*, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum* và *Mycobacterium parafortuitum*.

Do đó, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que có thể được gây ra bởi nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que được chọn từ: *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium bovis BCG*, *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium pinnipedii*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium avium paratuberculosis*, *Mycobacterium avium silaticum*, *Mycobacterium avium hominissuis*,

Mycobacterium columbiense, *Mycobacterium indicus pranii*, *Mycobacterium asiaticum*, *Mycobacterium gordonae*, *Mycobacterium gastri*, *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium bolletii*, *Mycobacterium chelonae*, bao gồm *Mycobacterium boenickei*, *Mycobacterium brisbanense*, *Mycobacterium cosmeticum*, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium fortuitum subspecies acetamidolyticum*, *Mycobacterium houstonense*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium neworleansense*, *Mycobacterium peregrinum*, *Mycobacterium porcinum*, *Mycobacterium senegalense*, *Mycobacterium septicum*, *Mycobacterium austroafricanum*, *Mycobacterium diernhoferi*, *Mycobacterium frederiksbergense*, *Mycobacterium hodleri*, *Mycobacterium neoaurum*, *Mycobacterium parafortuitum*, *Mycobacterium ulcerans* và *Mycobacterium leprae*.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que, trong đó vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que này được chọn từ các vi khuẩn được mô tả ở trên.

Bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh lao (tức là do *Mycobacterium tuberculosis*), bệnh phồng (tức là do *Mycobacterium leprae*), bệnh Johne (tức là do *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*), bệnh loét Buruli hoặc Bairnsdale (tức là do *Mycobacterium ulceran*), bệnh Crohn (tức là do *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*), bệnh phổi hoặc nhiễm trùng phổi, viêm phổi, viêm bìu, viêm hoạt dịch, viêm bao gân, áp xe cục bộ, viêm hạch bạch huyết, nhiễm trùng da và mô mềm, hội chứng Lady Windermere (tức là do Phức chất *Mycobacterium avium* (MAC)), bệnh phổi MAC, Complex *Mycobacterium avium* lan tỏa (DMAC), Complex *Mycobacterium avium intracellulare* lan tỏa (DMAIC), bệnh phổi do phản ứng với kháng nguyên trong vi trùng nhiễm nước nóng trong bồn tắm (hot-tub lung) (tức là do ví dụ Complex *Mycobacterium avium*), chứng viêm vú MAC, viêm mủ cơ MAC, hoặc bệnh u hạt.

Theo một phương án, bệnh là bệnh lao. Do đó, một khía cạnh của sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị bệnh lao.

Theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó. Như được mô tả trong bản mô tả này, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là nhiễm trùng gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que. Vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là như được mô tả ở trên.

Theo một phương án, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là nhiễm trùng *Mycobacterium tuberculosis*.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án, bệnh là bệnh lao. Do đó, trong bản mô tả này, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh lao ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó.

Theo một phương án, động vật có vú là người.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần phải hiểu rằng những tham chiếu trong bản mô tả này đến việc điều trị là dùng để chỉ việc điều trị tình trạng bệnh được thiết lập. Tuy nhiên, hợp chất theo sáng chế cũng có thể hữu ích để ngăn ngừa một số bệnh nhất định, tùy tình trạng bệnh. Do đó, theo một phương án, sáng chế mô tả việc điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh như TB. Theo phương án khác, sáng chế mô tả việc điều trị bệnh như TB. Theo một phương án khác nữa, sáng chế mô tả việc ngăn ngừa bệnh như TB.

Theo một phương án khác, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của nó, trong sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc trong việc điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que.

Trong bản mô tả này, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, trong sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị bệnh lao.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, để sử dụng trong điều trị TB được sử dụng kết hợp với thioamit. Theo một phương án khác, thioamit là ethionamit. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit.

Kết quả là, theo một phương án, sáng chế đề xuất được phẩm để sử dụng trong điều trị TB, trong đó được phẩm này chứa (a) hợp chất có công thức (I); (b) thioamit, ví dụ ethionamit hoặc prothionamit; và tùy ý (c) tá được dụng.

Theo một phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với thioamit, trong đó thioamit có thể là ethionamit. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit. Như được mô tả trong bản mô tả này, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là nhiễm trùng gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que. Vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là như được mô tả ở trên.

Theo một phương án, nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que là nhiễm trùng *Mycobacterium tuberculosis*.

Theo một phương án khác, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với thioamit, trong đó thioamit có thể là ethionamit. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit.

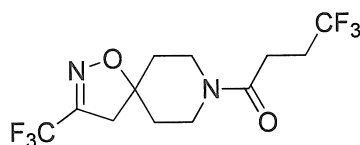
Theo một phương án, bệnh là bệnh lao. Do đó, trong bản mô tả này, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh lao ở động vật có vú cần điều trị, việc điều trị này bao gồm việc cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với thioamit, trong đó thioamit có thể là ethionamit. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit.

Theo một phương án khác, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với thioamit (ví dụ, ethionamit), trong sản xuất

thuốc để sử dụng trong điều trị nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que hoặc trong việc điều trị bệnh gây ra do nhiễm trùng vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit.

Trong bản mô tả này, sáng chế mô tả việc sử dụng của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với thioamit (ví dụ, ethioamit) trong sản xuất thuốc để sử dụng trong điều trị bệnh lao. Theo một phương án thay thế, thioamit là prothionamit.

Theo một phương án, hợp chất có công thức (I) để sử dụng trong các phương pháp và các phép điều trị được mô tả ở trên là 4,4,4-triflo-1-(3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on có công thức cấu tạo sau:



Dược phẩm

Hợp chất có công thức (I) và muối được dụng của nó thông thường, nhưng không nhất thiết, được bào chế thành dược phẩm trước khi dùng cho bệnh nhân. Theo đó, theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, và tá dược được dụng.

Dược phẩm có thể được sử dụng theo đường dùng thích hợp bất kỳ, ví dụ đường miệng (kể cả trong má hoặc dưới lưỡi), trực tràng, đường hô hấp, trong mũi, dùng tại chỗ (bao gồm trong má, dưới lưỡi hoặc áp da) hoặc ngoài đường tiêu hóa (bao gồm tiêm dưới da, tiêm bắp, tiêm tĩnh mạch hoặc trong da). Cụ thể là, dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng theo đường miệng hoặc đường tĩnh mạch.

Tá dược được dụng thích hợp bao gồm các loại tá dược sau: chất mang, chất pha loãng, chất độn, chất kết dính, chất gây rã, chất làm trơn, chất gây trượt, chất tạo hạt, chất phủ, chất làm ướt, dung môi, đồng dung môi, chất tạo huyền phù, chất nhũ hóa, chất tạo ngọt, chất tạo vị, chất giấu vị, chất tạo màu, chất chống vón cục, chất làm ẩm, chất tạo chelat, chất hóa dẻo, chất làm tăng độ nhớt, chất chống oxy hóa, chất bảo quản, chất ổn định, chất hoạt động bề mặt và chất đệm.

Phương pháp thích hợp để điều chế hợp chất theo sáng chế là quen thuộc với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, được mô tả trong tài liệu Remington: The Science và Practice of Pharmacy, 21st Edition 2006.

Dược phẩm có thể được trình bày dưới dạng liều đơn vị chứa lượng thành phần hoạt tính định trước theo liều đơn vị. Chế phẩm liều đơn vị được ưu tiên là chế phẩm chứa liều hàng ngày hoặc liều phụ, hoặc phần thích hợp của thành phần hoạt tính. Các liều đơn vị như vậy có thể được sử dụng nhiều hơn một lần một ngày. Chế phẩm liều đơn vị được ưu tiên là chế phẩm chứa liều hàng ngày hoặc liều phụ (để sử dụng nhiều hơn một lần một ngày), như được mô tả ở trên, hoặc phần thích hợp của thành phần hoạt tính.

Khi hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó được sử dụng trong điều trị bệnh lao, chúng có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp với chất điều trị khác, như chất chống vi khuẩn, ví dụ chất chống lao và/hoặc chất chống virus, bao gồm thuốc kháng retrovirus (ARV).

Ví dụ, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với chất chống lao khác. Theo một phương án, hỗn hợp bao gồm thêm hai, ba, bốn, năm, sáu hoặc bảy chất chống lao. Ví dụ, trong việc điều trị bệnh lao kháng đa thuốc, thông thường, tổ hợp bao gồm bốn hoặc nhiều thuốc được sử dụng cho bệnh nhân. Ví dụ, trong điều trị bệnh lao nhạy thuốc, thông thường, hỗn hợp bao gồm ba hoặc bốn thuốc được sử dụng cho bệnh nhân.

Chất chống lao khác là chất được phát triển, được phê duyệt hoặc khuyến nghị để điều trị bệnh lao và có thể được chọn từ isoniazid, rifampin, pyrazinamid, ethambutol, moxifloxacin, rifapentin, clofazimin, ethionamid, prothionamid, isoxyl, thiacetazon, rifabutin, diarylquinolin như bedaquilin (TMC207) hoặc TBAJ-587, nitroimidazo-oxazin PA-824, delamanid (OPC-67683), oxazolidinon như linezolid, tedizolid, radezolid, sutezolid (PNU-100480), posizolid (AZD-5847) hoặc TBI-223, EMB analogue SQ109, OPC-167832, GSK3036656 (còn được gọi là GSK070), GSK2556286, GSK3211830, benzothiazinon như BTZ043 hoặc PBTZ169, azaindol như TBA-7371, dinitrobenzamid, hoặc beta-lactam như meropenem, faropenem, ertapenem, tebipenem hoặc tổ hợp beta-lactam như AUGMENTIN (amoxicillin-clavulanate).

Theo một phương án, chất chống lao có thể được chọn từ isoniazid, rifampin, pyrazinamid, ethambutol, moxifloxacin, rifapentin, clofazimin, ethionamid, prothionamid, isoxyl, thiazetazon, bedaquilin (TMC207), nitroimidazo-oxazin PA-824, delamanid (OPC-67683), oxazolidinon như linezolid, tedizolid, radezolid, sutezolid (PNU-100480), hoặc posizolid (AZD-5847), chất tương tự EMB SQ109, OPC-167832, GSK3036656A (còn được gọi là GSK070), GSK2556286, GSK3211830 và benzothiazinon hoặc dinitrobenzamid.

Tổ hợp theo sáng chế còn có thể bao gồm chất chống virus, bao gồm thuốc kháng retrovirus (ARV).

Thuốc ARV như vậy có thể được chọn từ zidovudin, didanosin, lamivudin, zalcitabin, abacavir, stavudin, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudin, todoxil, emtricitabin, alovudin, amdoxovir, elvucitabin, nevirapin, delavirdin, efavirenz, lovirit, immunocal, oltipraz, capravirin, lersivirin, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, etravirin, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, darunavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, enfuvirtit, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 và BMS-626529, 5-Helix, raltegravir, elvitegravir, GSK1349572, GSK1265744, vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc, TAK449, didanosin, tenofovir, lopinavir và darunavir.

Hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó) có thể được sử dụng kết hợp với chất chống lao mà có thể hoạt hóa thông qua con đường EthA. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể xác định xem hợp chất cụ thể có thể hoạt hóa thông qua con đường EthA hay không, ví dụ, bằng cách áp dụng phương pháp được mô tả trong ấn phẩm sau: “Activation of the prodrug ethionamid is regulated by mycobacteria” A. R. Baulard et al., Journal of Biological Chemistry, 2000, pages 28326-28331.

Cụ thể hơn, chất chống lao có thể được chọn từ họ thioamid, như ethionamid, prothionamid, isoxyl và thiazetazon.

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó) được sử dụng kết hợp với ethionamid. Theo phương án này, hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó) cho thấy có thể tăng cường hoạt tính của ethionamid.

Các tổ hợp như vậy có thể được trình bày một cách thuận tiện để sử dụng ở dạng dược phẩm hoặc chế phẩm. Do đó, cũng được hiểu trong bản mô tả này rằng dược phẩm chứa (a) hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó), như được mô tả trong bản mô tả này, cùng với (b) một hoặc nhiều dược dụng chất mang như được mô tả trong bản mô tả này, và (c) ít nhất một thuốc chống lao khác và (d) tùy ý chất kháng virus bao gồm thuốc ARV.

Hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó) và chất điều trị khác có thể được sử dụng cùng nhau hoặc riêng rẽ và khi được sử dụng riêng rẽ, nó có thể được sử dụng riêng rẽ hoặc theo thứ tự bất kỳ (theo cùng đường dùng hoặc theo đường dùng khác nhau). Lượng hợp chất theo sáng chế (tức là hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó) và (các) hoạt chất điều trị khác và thời gian sử dụng tương đối sẽ được chọn để đạt được hiệu quả điều trị kết hợp mong muốn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Bây giờ, sáng chế sẽ được minh họa bằng các ví dụ không nhằm giới hạn sau đây. Trong khi các phương án cụ thể của sáng chế được mô tả dưới đây, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần phải hiểu rằng có thể thực hiện các thay đổi và biến đổi khác nhau. Các tham chiếu đến các quy trình điều chế được thực hiện theo cách tương tự, hoặc theo phương pháp chung của các quy trình điều chế khác, có thể bao gồm các biến thể về các thông số thông thường như thời gian, nhiệt độ, điều kiện thực hiện, các thay đổi nhỏ về lượng chất phản ứng, v.v.

Các chữ viết tắt

Danh sách dưới đây là định nghĩa của các ký hiệu và chữ viết tắt nhất định như được sử dụng trong bản mô tả này. Cần hiểu rằng danh sách này là không đầy đủ, nhưng ý nghĩa của những chữ viết tắt và ký hiệu không được định nghĩa dưới đây là dễ dàng xác định được bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Khi mô tả sáng chế, các nguyên tố hóa học được xác định theo Bảng tuần hoàn các nguyên tố.

ACN	Axetonitril
anh	Khan
CDCl ₃	clofom đơtêri hóa

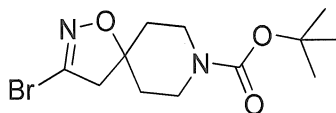
CD ₂ Cl ₂	diclometan đôtêri hóa
CyHex	Xyclohexan
DCM	Diclometan
DIPEA	Diisoproyletylamin
DMAP	4-Dimetylaminoipyridin
DMF	Dimetylformamit
DMSO- <i>d</i> ₆	dimetylsulfoxit đôtêri hóa
EDC	1-Etyl-3-(3-dimetylaminoipyryl)carbodiimit
EtOAc	Etyl axetat
Ex.	Ví dụ
HBTU	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexaflophosphat
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
Int.	Chất trung gian
M	mol
MS	phổ khối lượng
min	phút
N	thông thường
NaH	Natri hydrit
NMR	Cộng hưởng từ hạt nhân
TFA	Axit trifloaxetic
TEA	Trietylamin
THF	Tetrahydrofuran
TLC	sắc ký lớp mỏng
rt	nhiệt độ phòng
UPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng

Phổ cộng hưởng từ hạt nhân proton (^1H NMR) được ghi, và độ dịch chuyển hóa học được báo cáo theo phần triệu (δ) từ phía dưới của tetrametylsilan nội chuẩn (TMS). Các chữ viết tắt cho dữ liệu NMR như sau: s = vạch đơn, d = vạch đôi, t = vạch ba, q = vạch bốn, m = đa vạch, dd = hai vạch đôi, dt = hai vạch ba, app = rõ ràng, br = vạch rộng. Phổ khối thu được bằng cách sử dụng kỹ thuật ion hóa electrospray (ES). Tất cả nhiệt độ được báo cáo theo độ C.

Trong một số ví dụ và chất trung gian dưới đây, chất ban đầu được xác định bằng cách tham chiếu tới các số chất trung gian hoặc ví dụ khác. Điều này không có nghĩa là chất thực tế từ chất trung gian hoặc ví dụ cụ thể là cần thiết phải được sử dụng cho bước tiếp theo được minh họa trong bản mô tả này, nhưng được sử dụng như một cách thức nhanh để biểu thị tên hợp chất có liên quan.

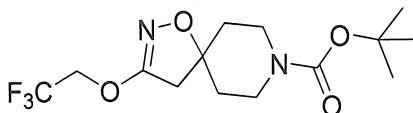
Chất trung gian

Chất trung gian 1: tert-butyl 3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-carboxylat



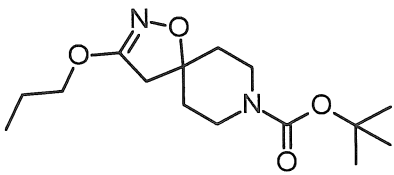
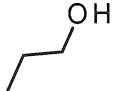
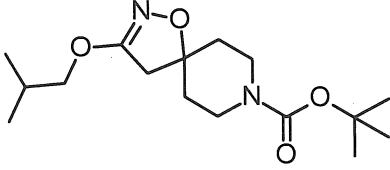
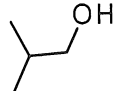
Huyền phù chứa tert-butyl 4-metylenpiperidin-1-carboxylat (FLOCHEM, 2g, 10,14mmol) và natri bicarbonat (8,52g, 101,38mmol) trong EtOAc (50mL) được bổ sung thêm dibromformaldoxim (FLUOROCHEM, 5g, 24,74mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 5 ngày ở nhiệt độ phòng. Xelit được bổ sung vào và thể huyền phù đặc tạo thành được lọc trong chân không và được rửa bằng EtOAc. Dung môi được cho bay hơi và chất cặn được tinh chế bằng cột sắc ký silica sử dụng gradien chứa CyHex/EtOAc làm dung môi rửa giải (CyHex/EtOAc 95/5 đến 90/10) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (7,29g, 92%) ở dạng chất rắn màu trắng. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 3,72-3,64 (m, 2H), 3,40-3,31 (m, 2H), 2,95 (s, 2H), 1,92-1,84 (m, 2H), 1,72-1,65 (m, 2H), 1,45 (s, 9H). [ES+ MS] m/z 319, 321 (MH^+).

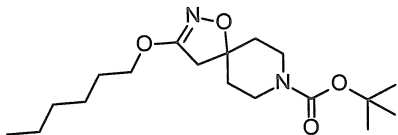
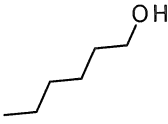
Chất trung gian 2: tert-butyl 3-(2,2,2-trifloetoxy)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-carboxylat



Dung dịch chứa 2,2,2-trifloetanol (SIGMA-ALDRICH, 282mg, 2,82mmol) trong 2mL THF ở 0°C được bổ sung thêm NaH (SIGMA-ALDRICH, 112,8mg, 2,82mmol) và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Sau đó, chất trung gian 1 tert-butyl 3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-carboxylat (300mg, 0,94mmol) được bổ sung vào ở 0°C và hỗn hợp được khuấy ở 80°C trong 2 ngày. Dung dịch này được rửa bằng dung dịch amoni clorua bão hòa và được chiết bằng EtOAc (2 lần). Lốp hữu cơ được làm khô bằng MgSO₄ (khan) và được lọc. Dung môi được cho bay hơi trong chân không. Chất cặn được tinh chế bằng cột sắc ký silica sử dụng gradien chứa CyHex/EtOAc làm dung môi rửa giải (0-20% EtOAc trong 30 phút và 20% EtOAc trong 10 phút) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (200mg, 63%). [ES+ MS] m/z 339 (MH⁺).

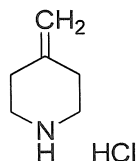
Chất trung gian 3-5 được điều chế theo phương pháp tương tự với phương pháp được mô tả cho chất trung gian 2 nhưng thay thế rượu (2,2,2-trifloetanol) bằng chất được thể hiện trong bảng 1. Sản phẩm được tinh chế bằng cột sắc ký silica sử dụng gradien chứa CyHex/EtOAc làm dung môi rửa giải (0-10% EtOAc trong 30 phút và 10% EtOAc trong 10 phút).

Chất trung gian	Cấu trúc	Chất ban đầu	Dữ liệu vật lý
3		 SIGMA-ALDRICH	[ES+ MS] m/z 299 (MH ⁺).
4		 SIGMA-ALDRICH	[ES+ MS] m/z 313 (MH ⁺).

5		 ACROS	[ES+ MS] m/z 341 (MH ⁺).
---	---	---	---

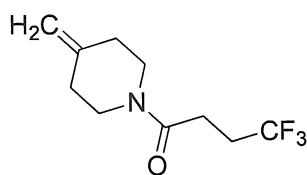
Bảng 1

Chất trung gian 6: 4-metylenpiperidin hydroclorua



Dung dịch chứa tert-butyl 4-metylenpiperidin-1-carboxylat (APOLLO, 10g, 50,7mmol) trong dioxan (130mL) ở 0°C, dung dịch chứa HCl 4M trong dioxan (ALFA-AESAR, 130mL, 507 mmol, 10 đương lượng) được bổ sung vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Theo dõi bằng UPLC và TLC thể hiện phản ứng hoàn thành. Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được hợp chất mong muốn 4-metylenpiperidin hydroclorua mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm, (7,6g, 100%). ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 9,19 (br s, 2H), 4,86 (s, 2H), 3,06 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H), 2,41 (t, *J* = 6,0 Hz, 4H).

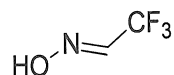
Chất trung gian 7: 4,4,4-triflo-1-(4-metylenpiperidin-1-yl)butan-1-on



Dung dịch chứa EDC.HCl (ALFA-AESAR, 19,4g, 101,3mmol), TEA (ALFA-AESAR, 28mL, 202,5mmol) và axit 4,4,4-triflobutyric (ALFA-AESAR, 14,4g, 101,3mmol) trong DCM (200mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, sau đó chất trung gian 6 (6,77g, 50,6mmol) được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó, hỗn hợp được rửa bằng nước, 2 pha được tách và pha chứa nước được chiết thêm bằng DCM. Lớp hữu cơ thu được được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), được lọc và cho bay hơi. Chất thô thu được từ đó được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Si SNAP 340, CyHex/EtOAc từ 9/1 đến 6/4) để thu được sản phẩm mong muốn (10,34g, 92%) ở dạng chất dầu màu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz,

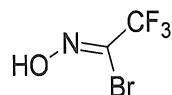
CDCl_3) δ ppm: 4,83 (s, 2H), 3,70-3,59 (m, 2H), 3,51-3,44 (m, 2H), 2,65-2,47 (m, 4H), 2,30-2,21 (m, 4H). [ES+ MS] m/z 222 (MH^+).

Chất trung gian 8: oxim 2,2,2-trifloaxetandehyt



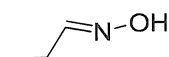
Dung dịch đã được khuấy chứa 2,2,2-triflo-1-metoxietanol (ALFA-AESAR, 20g, 153,8mmol) và hydroxylamin hydroclorua (AVRA, 12,8g, 184,5mmol) trong metanol (30mL) được bổ sung thêm nước (70mL) ở 0°C , sau đó bổ sung từ từ dung dịch chứa 50% natri hydroxit (FINAR, 36mL) ở 0°C . Nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng được tăng lên 26°C và khuấy trong 16 giờ ở cùng nhiệt độ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, n-hexan (250mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và các lớp được tách. Lớp chứa nước được axit hóa (độ pH = 3) bằng HCl 6M, sau đó được chiết bằng dietyl ête (3 x 500mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng Na_2SO_4 (khan), được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất lỏng không màu (18g, chất thô). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 9,11 (br s, 1H), 7,54-7,46 (m, 1H).

Chất trung gian 9: 2,2,2-triflo-N-hydroxyacetimidoyl bromua



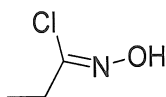
Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 8 (18g, 159,2mmol) trong DMF (90mL) được bổ sung thêm dung dịch chứa N-bromsuxcinimit (AVRA, 31,1g, 175,2mmol) trong DMF (90mL) ở 0°C . Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 26°C trong 3 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp phản ứng này được rót vào nước đá (300mL) và chiết bằng dietyl ête (3 x 400mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (300mL), làm khô bằng Na_2SO_4 (khan), lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (25g, chất thô) ở dạng chất dầu màu nâu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 11,55 (br s, 1H).

Chất trung gian 10: oxim propionandehyt



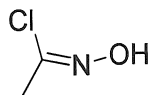
Dung dịch đã được khuấy chứa propionandehyt (ALFA-AESAR, 2g, 34,43mmol) và K_2CO_3 (CHEMLABS, 9,36g, 68,87mmol) trong DCM (30mL) được bổ sung thêm hydroxylamin hydroclorua (AVRA, 2,86g, 41,32mmol), hỗn hợp phản ứng tạo thành được khuấy trong 16 giờ trong 26°C. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi phản ứng hoàn thành, hỗn hợp được pha loãng bằng nước (200mL) và chiết bằng DCM (2 x 50mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước muối (50mL), được làm khô bằng Na_2SO_4 (khan), lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,0 g) ở dạng chất rắn màu trắng. Hợp chất thô được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,50 (br s, 1H), 6,70 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 2,26-2,22 (m, 2H), 1,14-1,09 (m, 3H).

Chất trung gian 11: N-hydroxypropionimidoyl clorua



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 10 (1g, 13,681mmol) trong DMF (10mL) được bổ sung N-closuxcinimit (AVRA, 2,19g, 16,41mmol) liên tục ở 26°C, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút ở 26°C. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (100mL) và được chiết bằng EtOAc (2 x 50mL), lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước muối (50mL), được làm khô bằng (khan) Na_2SO_4 , được lọc và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất lỏng không màu (1.0g, 68,4%). 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm: 8,32 (br s, 1H), 2,53 (q, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,21 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H).

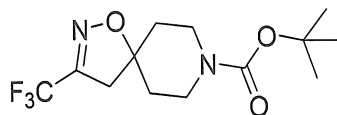
Chất trung gian 12: N-hydroxyaxetimidoyl clorua



Dung dịch chứa oxim (*E*)-axetandehyt (TCI, 1g, 16,949mmol) trong DMF (10mL) được bổ sung từng phần N-closuxcinimit (AVRA, 2,9g, 22,03mmol) phần ở 0°C. Nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng được tăng lên 26°C trong 3 giờ ở cùng nhiệt độ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước đá (100mL) và được chiết bằng dietyl ête (2 x 300mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200mL), làm khô bằng Na_2SO_4 (khan), lọc và chất lọc được cô

dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,2g, chất thô) ở dạng chất lỏng không màu. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 8,48 (br s, 1H), 2,27 (s, 3H).

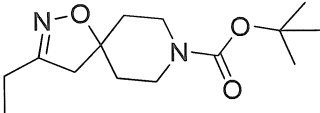
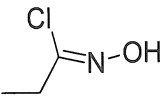
Chất trung gian 13: tert-butyl 3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-carboxylat.



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 9 (6g, 30,41mmol) trong DCM (60mL) được bổ sung từng phần kali bicarbonat (ALFA-AESAR, 6.09g, 60,83mmol) ở 0°C . Sau đó bổ sung từng giọt tert-butyl 4-metylenxyclohexancarboxylat (OAKWOOD, 5,86g, 30,415mmol) ở 0°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 26°C trong 16 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (200mL) và được chiết bằng EtOAc (3 x 250mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200mL) và được làm khô bằng Na_2SO_4 (khan), sau đó được lọc và cô dưới áp suất giảm. Chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel 100-200 mesh), rửa giải bằng 0-10% EtOAc trong ête dầu hỏa. Phân đoạn tinh khiết được thu gom và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (6,5g, 56%) ở dạng dung dịch màu vàng nhạt. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 3,80-3,63 (m, 2H), 3,42-3,35 (m, 2H), 2,91 (q, $J = 1,5$ Hz, 2H), 1,94-1,89 (m, 2H), 1,77-1,67 (m, 2H), 1,47 (s, 9H). [ES-MS] m/z 307 (M-H).

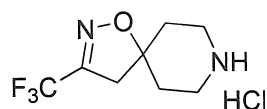
Chất trung gian 14 và 15: được điều chế theo phương pháp tương tự với phương pháp được mô tả cho chất trung gian 13 nhưng thay chất trung gian 9 bằng chất được thể hiện trong bảng 2, và ngoài ra còn thay kali bicarbonat bằng TEA.

Chất trung gian	Cấu trúc	Chất ban đầu	Dữ liệu vật lý
14		 Chất trung	^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 3,73-3,60 (m, 2H), 3,44-3,27 (m, 2H), 2,67 (s, 2H), 1,98 (s,

		gian 12	3H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,68-1,58 (m, 2H), 1,46 (s, 9H). [ES+ MS] m/z 255 (MH ⁺).
15		 Chất trung gian 11	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ ppm: 3,77-3,60 (m, 2H), 3,41-3,34 (m, 2H), 2,67 (s, 2H), 2,35 (q, <i>J</i> = 7,5 Hz, 2H), 1,84-1,79 (m, 2H), 1,67-1,61 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,17 (t, <i>J</i> = 7,6 Hz, 3H).

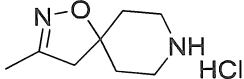
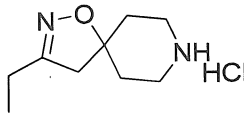
Bảng 2

Chất trung gian 16: 3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en hydroclorua



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 13 (3g, 9,73mmol) trong EtOAc (30mL) được bổ sung từng giọt HCl 4M trong EtOAc (SYMAX, 30mL) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 26°C trong 2 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn được rửa bằng diethyl ête (150mL) và làm khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (2,21g, chất thô) ở dạng chất rắn màu trắng nhò. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 9,42 (br s, 2H), 3,28 (s, 2H), 3,20-3,04 (m, 4H), 2,14-2,00 (m, 4H). [ES+ MS] m/z 209 (MH⁺).

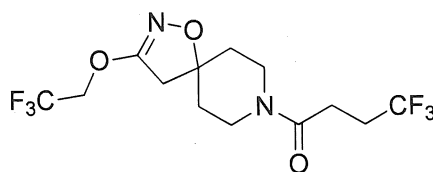
Chất trung gian 17 và 18 được điều chế theo phương pháp tương tự với phương pháp được mô tả cho chất trung gian 16 nhưng thay thế chất trung gian 13 bằng chất được thể hiện trong bảng 3.

Chất trung gian	Cấu trúc	Chất ban đầu	Dữ liệu vật lý
17		Chất trung gian 14	^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 9,12 (br s, 2H), 3,08-3,01 (m, 4H), 2,84 (s, 2H), 1,88-1,80 (m, 7H). [ES+ MS] m/z 155 (MH^+).
18		Chất trung gian 15	^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm: 9,00 (br s, 2H), 3,20-3,10 (m, 4H), 2,85 (s, 2H), 2,28 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,93-1,81 (m, 4H), 1,06 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H).

Bảng 3

Các ví dụ

Ví dụ 1: 4,4,4-triflo-1-[3-(2,2,2-trifloetoxy)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl]butan-1-on

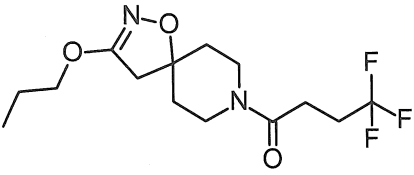
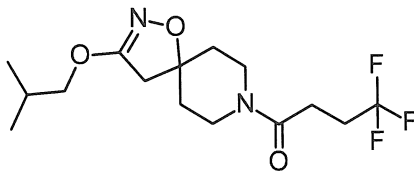


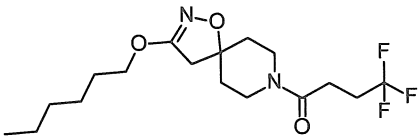
Chất trung gian 2 (200mg, 0,59mmol) được hòa tan trong 2mL DCM và TFA (2mL) được bổ sung từng giọt ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy trong 10 phút ở 0°C. Dung dịch chứa natri bicarbonat bão hòa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng và sản phẩm được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng MgSO_4 (khan) và được lọc, sau đó được cô đến khô để thu được chất cặn màu vàng.

Dung dịch chứa DIPEA (ALFA-AESAR, 0,3mL, 1,76mmol) trong DMF (5mL) trong argon ở 0°C, được bổ sung HBTU (SIGMA-ALDRICH, 669mg, 1,76mmol) và axit 4,4,4-triflobutanoic (ALFA-AESAR, 125mg, 0,88mmol). Sau đó, chất cặn nêu trên

được bổ sung vào và hỗn hợp được khuấy trong môi trường khí argon ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Sau đó, DMF được loại bỏ trong chân không. Chất cặn được tinh chế bằng HPLC (gradient đẳng dòng, ACN/H₂O amoni format có độ pH = 3,8: 36/64) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (137mg, 64%). ¹H NMR (300 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm: 4,54 (q, *J* = 8,3 Hz, 2H), 4,13-4,05 (m, 1H), 3,66-3,45 (m, 2H), 3,35-3,26 (m, 1H), 2,87 (s, 2H), 2,68-2,37 (m, 4H), 2,10-1,84 (m, 2H), 1,78-1,66 (m, 2H). [ES+ MS] *m/z* 363 (MH⁺).

Các ví dụ 2-4 được điều chế theo phương pháp tương tự với phương pháp được mô tả trong ví dụ 1, thay thế chất trung gian 2 bằng chất được thể hiện trong bảng 4. Những cải biến trong bước tinh chế cũng được chỉ ra.

Ví dụ	Cấu trúc	Chất ban đầu	Dữ liệu vật lý
2	 4,4,4-triflo-1-(3-propoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on Xem chú thích a	Chất trung gian 3 0,51 mmol	¹H NMR (300 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm: 4.07 (t, 3H, <i>J</i> = 6,6 Hz), 3,64-3,42 (m, 2H), 3,36-3,27 (m, 1H), 2,83-2,70 (m, 2H), 2,68-2,39 (m, 4H), 2,01-1,86 (m, 2H), 1,80-1,56 (m, 4H), 0,99 (t, 3H, <i>J</i> = 7,4 Hz). ES+ MS] <i>m/z</i> 323 (MH⁺).
3	 4,4,4-triflo-1-(3-isobutoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on Xem chú thích b	Chất trung gian 4 0,67 mmol	¹H NMR (300 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm: 4,10-4,02 (m, 1H), 3,89 (d, <i>J</i> = 6,6 Hz, 2H), 3,59-3,46 (m, 2H), 3,36-3,27 (m, 1H), 2,77 (s, 2H), 2,67-2,37 (m, 4H), 2,12-1,84 (m, 3H), 1,74-1,64 (m, 2H), 0,97 (d, 6H). [ES+ MS] <i>m/z</i> 337 (MH⁺).

4	 4,4,4-triflo-1-(3-hexyloxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on Xem chú thích c	Chất trung gian 5 0,77 mmol	¹H NMR (300 MHz, CD₂Cl₂) δ ppm: 4,26-3,95 (m, 3H), 3,59-3,41 (m, 2H), 3,36-3,27 (m, 1H), 2,76 (s, 2H), 2,65-2,35 (m, 4H), 2,04-1,80 (m, 2H), 1,77-1,57 (m, 4H), 1,47-1,18 (m, 6H), 0,98-0,82 (m, 3H). [ES⁺ MS] m/z 365 (MH⁺).
---	--	---	---

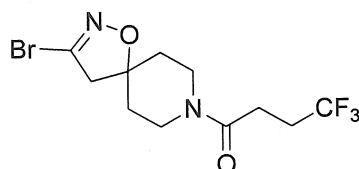
Bảng 4

^atinh chế bằng HPLC (độ pH=3,8, gradien đẳng dòng, ACN/H₂O amoni format: 33/67)

^btinh chế bằng HPLC (độ pH=3,8, gradien đẳng dòng, ACN/H₂O amoni format: 39/61)

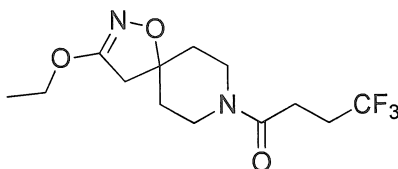
^ctinh chế bằng HPLC (độ pH=3,8, gradien đẳng dòng, ACN/H₂O amoni format: 54/46)

Ví dụ 5 và chất trung gian 19: 1-(3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on



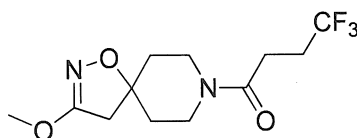
Huyền phù chứa chất trung gian 7 (9,3g, 42mmol) và natri bicarbonat (ALFA-AESAR, 35,3g, 420mmol) trong EtOAc (300mL), dibromformaldoxim (COMBI-BLOCKS, 10,2g, 50mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 ngày. Sau đó, xelit được bổ sung vào và huyền phù đặc tạo thành được lọc trong chân không và được rửa bằng EtOAc, dung môi được cho bay hơi và chất cặn (khoảng 20g) được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Si SNAP 340, CyHex/EtOAc từ 8/2 đến 1/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (12,23g, 85%) ở dạng chất dầu không màu. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 4,32-4,20 (m, 1H), 3,69-3,60 (m, 1H), 3,59-3,47 (m, 1H), 3,31-3,20 (m, 1H), 3,00 (s, 2H), 2,67-2,43 (m, 4H), 2,07-1,96 (m, 2H), 1,78-1,68 (m, 2H). [ES⁺ MS] m/z 343, 345 (MH⁺).

Ví dụ 6: 1-(3-etoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 19 (0,100g, 0,29mmol) trong EtOH (4mL) được bổ sung kali carbonat rắn (ALFA-AESAR, 0,101g, 0,73mmol) và huyền phù tạo thành được khuấy mạnh ở 70°C trong lọ thủy tinh kín trong 20 giờ. Kiểm tra bằng UPLC cho thấy vẫn còn chất ban đầu. Sau đó bổ sung K₃PO₄ (ALFA-AESAR, 0,168g, 0,73mmol) vào hỗn hợp phản ứng này và gia nhiệt ở 70°C kéo dài trong 4 giờ đến khi tiêu thụ hết chất ban đầu. Huyền phù được lọc và chất lọc được cho bay hơi để thu được chất thô mà được đưa vào tinh chế bằng LCMS bán điều chế để thu được hợp chất nêu ở đề mục (0,0427g, 47%) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 4,08 (q, *J* = 7.03 Hz, 2H), 3,65-3,55 (m, 1H), 3,50-3,37 (m, 3H), 2,84 (s, 2H), 2,65-2,56 (m, 2H), 2,49-2,40 (m, 2H), 1,78-1,56 (m, 4H), 1,27 (t, *J* = 7,03 Hz, 3H). [ES⁺ MS] *m/z* 309 (MH⁺).

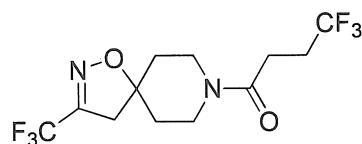
Ví dụ 7: 4,4,4-triflo-1-(3-metoxi-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 19 (1g, 2,914mmol) trong metanol (10mL) được bổ sung từng phần natri metoxit (AVRA, 786mg, 14,5mmol) 0°C. Hỗn hợp phản ứng này được gia nhiệt ở 70°C trong 16 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng nước (100mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 200mL). Lốp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200mL), được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), được lọc và cho bay hơi dưới áp suất giảm. Chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel 100-200 mesh), rửa giải bằng 0-30% EtOAc trong ête dầu hỏa. Các phân đoạn tinh khiết được thu gom và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (800mg, 93%) ở dạng chất rắn trắng nhò. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 4,24-4,17 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,63-3,49 (m, 2H), 3,30-

3,21 (m, 1H), 2,75 (s, 2H), 2,62-2,44 (m, 4H), 2,08-1,95 (m, 2H), 1,71-1,61 (m, 2H). [ES+ MS] m/z 295 (MH⁺).

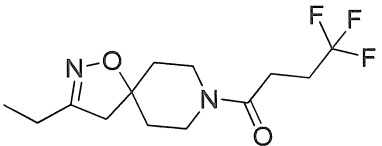
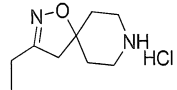
Ví dụ 8: 4,4,4-triflo-1-(3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on



Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 16 (2,2g, 9,016mmol) và axit 4,4,4-triflobutanoic (OAKWOOD, 1,53g, 10,819mmol) trong DMF (25mL) được bổ sung EDC.HCl (SILVERY, 4,3g, 22,54mmol) và DMAP (AVRA, 3,2g, 27,04mmol) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 26°C trong 16 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá (200mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 250mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200mL), được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), được lọc và chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất thô (3,2 g) được tinh chế bằng sắc ký cột (silica gel 100-200 mesh), rửa giải bằng 0-20% EtOAc trong ête dầu hỏa. Các phân đoạn tinh khiết được thu gom và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,7g, 56 %) ở dạng chất rắn màu trắng. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 4,33-4,25 (m, 1H), 3,74-3,62 (m, 1H), 3,60-3,49 (m, 1H), 3,33-3,21 (m, 1H), 2,94 (s, 2H), 2,64-2,45 (m, 4H), 2,07-1,94 (m, 2H), 1,80-1,68 (m, 2H). [ES+ MS] m/z 333 (MH⁺).

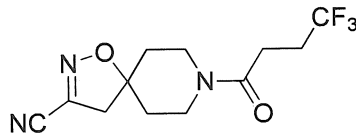
Ví dụ 9 và 10 được điều chế theo phương pháp giống phương pháp được mô tả trong ví dụ 8, thay chất trung gian 16 bằng chất trong bảng 5.

Ví dụ	Cấu trúc	Chất trung gian	Dữ liệu vật lý
9	4,4,4-triflo-1-(3-metyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-	1,83 mmol Chất trung gian 17	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ ppm: 4,26-4,21 (m, 1H), 3,68-3,46 (m, 2H), 3,26-3,21 (m, 1H), 2,70 (s, 2H), 2,64-2,42 (m, 4H), 1,99 (s, 3H), 1,95-1,82 (m, 2H), 1,70-1,58

	yl)butan-1-on		(m, 2H). [ES+ MS] m/z 279 (MH ⁺).
10	 1-(3-ethyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on	 2,1 mmol Chất trung gian 18	¹ H NMR (400 MHz, CDCl ₃) δ ppm: 4,26-4,21 (m, 1H), 3,67-3,45 (m, 2H), 3,30-3,21 (m, 1H), 2,69 (s, 2H), 2,63-2,43 (m, 4H), 2,36 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,97-1,81 (m, 2H), 1,70-1,58 (m, 2H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H). [ES+ MS] m/z 293 (MH ⁺).

Bảng 5

Ví dụ 11: 8-(4,4,4-triflobutanoyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-3-carbonitril



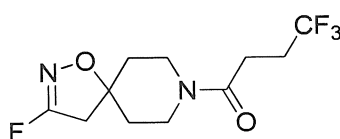
Dung dịch đã được khuấy chứa chất trung gian 1 (5,5g, 17,231mmol) trong EtOAc (50mL) được bổ sung HCl 4M trong EtOAc (SYMAX, 50mL) ở 0°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được cô dưới áp suất giảm. Chất cặn được nghiền bằng dietyl ête (3 x 20mL) và chất rắn được làm khô để thu được hỗn hợp (4,0g, chất thô) bao gồm 3-clo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en hydroclorua (chính, [ES+ MS] m/z 175 (MH⁺)) và 3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en hydroclorua (phụ, [ES+ MS] m/z 219, 221 (MH⁺)) ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

Dung dịch đã được khuấy chứa hỗn hợp này (500 mg) và axit 4,4,4-triflobutanoic (MATRIX, 500mg, 3,554mmol) trong DMF (10mL) được bổ sung DMAP (AVRA, 860mg, 4,109mmol) và EDC.HCl (ASHVARSHA, 1,13g, 5,92mmol) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Phản ứng được theo dõi bằng TLC. Sau khi hoàn thành, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá (50mL) và

chiết bằng EtOAc (2 x 50mL). Lóp hữu cơ được rửa bằng HCl 1N (50mL) và nước muối (100mL), được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), được lọc và chất lọc được cho bay hơi dưới áp suất giảm để thu được 600mg hỗn hợp sau bao gồm hợp chất 1-(3-clo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on và 1-(3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on ở dạng chất lỏng đặc màu nâu.

Dung dịch chứa hỗn hợp trước bao gồm hợp chất (200 mg) trong DMF (5mL) được bổ sung natri xyanua (ASHVARSHA, 65mg, 1,342mmol) ở 26°C. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 100°C và khuấy trong 8 giờ ở cùng nhiệt độ. Quá trình phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp phản ứng được làm dừng bằng nước đá (5mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 50mL). Lóp hữu cơ được rửa bằng nước muối (2 x 50mL), được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), được lọc và chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất thô được tinh chế bằng sắc ký cột (silicagel 100-200 mesh), rửa giải bằng 80% EtOAc trong ête dầu hỏa. Các phân đoạn tinh khiết được thu gom và cô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (150mg, 78%) ở dạng chất rắn màu trắng nhờ. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 4,35-4,25 (m, 1H), 3,75-3,63 (m, 1H), 3,59-3,49 (m, 1H), 3,32-3,21 (m, 1H), 2,96 (s, 2H), 2,64-2,43 (m, 4H), 2.05-1,92 (m, 2 H), 1,80-1,68 (m, 2 H). [ES⁺ MS] m/z 290 (MH⁺).

Ví dụ 12: 4,4,4-triflo-1-(3-flo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on



Hỗn hợp bao gồm chất trung gian giống như trong Ví dụ 11 (1-(3-clo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on và 1-(3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on) (3 g) trong DMSO (20mL) được bổ sung từng phần kali florua (COMBIBLOCKS, 1,7g, 30,131mmol) ở 26°C. Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở 150°C và khuấy trong 3 giờ trong điều kiện vi sóng. Quá trình phản ứng được theo dõi bằng TLC. Kết thúc phản ứng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (200mL) và chiết bằng EtOAc (2 x 150mL). Lóp hữu cơ được rửa bằng nước muối (150mL), được làm khô bằng Na₂SO₄ (khan), lọc và chất lọc được cô dưới áp suất giảm. Chất thô được tinh chế bằng gradien HPLC điều chế (cột

Kromosil) 16 phút từ 0% đến 100% ACN/H₂O (0,2% axit formic). Các phân đoạn tinh khiết được thu gom và dung môi được loại bỏ trong quá trình đông khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục (11mg, 0,4 %) dưới dạng chất gồm màu vàng nhạt. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 3,61-3,41 (m, 4H), 3,14 (d, *J* = 4,9 Hz, 2H), 2,68-2,58 (m, 2H), 2,55-2,44 (m, 2H), 1,84 (t, *J* = 5,8 Hz, 2H), 1,74 (t, *J* = 5,9 Hz, 2H). [ES+ MS] *m/z* 283 (MH⁺).

Hoạt tính hóa sinh

Đánh giá sự ức chế tăng trưởng của chủng GFP *M. tuberculosis* bởi tổ hợp ethionamit (ETH) và hợp chất của ví dụ 1-11

1. Cấu trúc của chủng mycobacterial tái tổ hợp.

Chủng *M. tuberculosis* H37Rv-GFP. Chủng *M. tuberculosis* tái tổ hợp H37Rv biểu hiện protein huỳnh quang màu xanh lá cây (H37Rv-GFP) thu được bằng cách biến nạp plasmid pNIP48 tích hợp (Abadie et al., 2005; Cremer et al., 2002). Trong plasmid này có nguồn gốc từ thực thể khuẩn vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que (mycobacteriophage) Ms6 này, gen GFP được nhân dòng ở vùng gen khởi động của vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que mạnh pBlaF và GFP chủ yếu được biểu hiện. Plasmid này cũng chứa gen kháng hygromycin.

Chủng *M. tuberculosis* W4-E1-GFP (đột biến). Chủng *M. tuberculosis* E1 là dẫn xuất của chủng Beijing W4 mà được chọn trên các đĩa thạch chứa ethionamit (20 µg/ml). Chủng này mang đột biến Gly343Ala trong EthA. Chủng W4-E1 được biến đổi bằng cách sử dụng pNIP48 như được mô tả ở trên để tạo ra chủng huỳnh quang W4-E1-GFP.

2. Sự tăng trưởng và điều chế vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que huỳnh quang

Nguồn vi khuẩn được bảo quản ở -80°C được sử dụng để tiêm 5mL Middlebrook môi trường 7H9 được bổ sung axit oleic -albumin-dextroza-catalaza (OADC, Difco, Sparks MD, USA) và với 50µg ml⁻¹ hygromycin (Invitrogen, Carlsbad, CA USA) trong bình nuôi cấy mô 25cm². Các bình này được ủ ở 37°C mà không lắc trong 7 ngày. Sau đó, mẻ nuôi cấy được pha loãng bằng môi trường nuôi cấy mới để đạt OD₆₀₀ là 0,1. Bình

nuôi cấy (75 cm²) được nạp 50mL dung dịch nuôi cấy đã pha loãng, mà đã được nuôi cấy 7 ngày ở 37°C không lắc.

3. Chuẩn bị khay vi thể

Ethionamit (Sigma, E6005) được pha loãng trong DMSO ở 0,1 mg/mL và 0,8 mg/ml; các phần phân ước được bảo quản đông lạnh ở -20°C. Hợp chất thử nghiệm được tạo huyền phù lại trong DMSO ở nồng độ cuối cùng là 10 µM. Ethionamit và hợp chất thử nghiệm được chuyển sang đĩa polypropylen thể tích thấp loại 384 lỗ (Corning, số 3672) và được sử dụng để chuẩn bị đĩa thử nghiệm. Mười dung dịch pha loãng liên tiếp 3 lần chứa hợp chất (thông thường trong khoảng từ 30 đến 4,5e-3 µM) được cho vào đĩa polystyren đáy trong Greiner đen loại 384 lỗ (Greiner, số 781091) sử dụng bộ xử lý chất lỏng Echo 550 (Labcyte). Thể tích DMSO được bù sao cho nồng độ trên tất cả các lỗ là bằng nhau (0,3%).

Sau đó, ethionamit được truyền vào các đĩa 384 lỗ, sử dụng Echo. Nồng độ cuối cùng của ETH là 0,1 µg/ml đối với các thử nghiệm có H37Rv-GFP, và là 0,8 µg/ml đối với các thử nghiệm có W4-E1-GFP. Lượng DMSO cuối cùng trong đĩa thử nghiệm còn lại là <1% thể tích/thể tích cho mỗi lỗ.

Đối chứng của đĩa thử nghiệm bao gồm DMSO với lượng 0,3% (đối chứng âm) và INH với lượng 1 µg/ml (đối chứng dương). Đĩa tham chiếu bao gồm rifampicin, INH và ETH trong khoảng từ 30 đến 1,8e-3 µg/ml (15 điểm, pha loãng 2 lần).

Môi trường nuôi cấy H37Rv-GFP hoặc W4-E1-GFP được thêm vào các đĩa thử nghiệm được rửa sạch hai lần trong PBS (Gibco, 14190), tạo huyền phù lại trong môi trường nuôi cấy mới (không có Hygromycin), và được phát triển trong 5 ngày ở 37°C.

Cuối cùng, môi trường nuôi cấy được pha loãng đến OD₆₀₀ nm = 0,02 (sử dụng môi trường nuôi cấy mới mà không cần bổ sung Hygromycin) và 50 µL được chuyển vào từng đĩa thử nghiệm. Đĩa thử nghiệm được ủ ở 37°C trong 5 ngày. Tín hiệu huỳnh quang thu được trên máy đọc đĩa đa nhãn Victor 3 (Perkin Elmer), sử dụng exc=485nm/em=535nm.

Kết quả

EC₅₀_H37Rv xác định khả năng tăng cường hoạt tính ethionamit của hợp chất theo sáng chế đối với chủng H37Rv, trong khi EC₅₀_đột biến xác định khả năng tăng

cường hoạt tính ethionamit của hợp chất theo sáng chế đối với chủng TB mà kháng ethionamit.

Các hợp chất của các ví dụ 1 đến 12 được thử nghiệm về cơ bản theo quy trình được mô tả ở trên và đều thể hiện có EC50_H37Rv trung bình $<0,75\mu\text{M}$ và EC50_đột biến trung bình $<3,0\mu\text{M}$.

Các hợp chất của các ví dụ 1, 2, 5 đến 8, 10 và 11 có EC50_H37Rv trung bình $<0,20\mu\text{M}$ và EC50_đột biến trung bình $<1,0\mu\text{M}$.

Các hợp chất của các ví dụ 6 đến 8 có EC50_H37Rv trung bình $<0,04\mu\text{M}$ và EC50_đột biến trung bình $<0,45\mu\text{M}$. Ví dụ 8 có EC50_H37Rv trung bình là $0,038\mu\text{M}$ và EC50_đột biến trung bình là $0,14\mu\text{M}$.

Để so sánh, hợp chất của ví dụ 10 trong công bố đơn quốc tế số WO 2014/096369 được thử nghiệm theo cùng thử nghiệm như được mô tả ở trên và thể hiện có EC50_H37Rv là $0,89\mu\text{M}$ và EC50_đột biến là $3,5\mu\text{M}$.

Thử nghiệm ức chế THP-1 đại thực bào người *Mycobacterium tuberculosis* in vitro H37Rv (thử nghiệm nội bào)

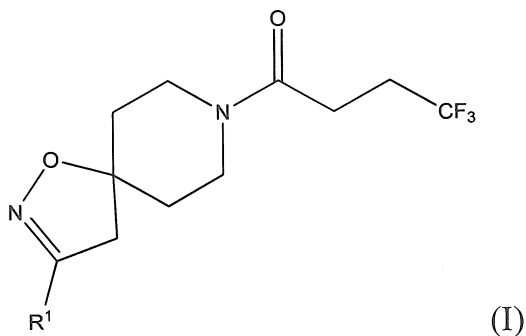
Sàng lọc nội bào là công cụ hiệu quả để xác định các hợp chất chống lao mới mà có hoạt tính trong đại thực bào người. Thử nghiệm *ex-vivo* này có thể thể hiện các điều kiện sinh lý mà giống bệnh và xem xét sự góp phần đáng kể của tế bào chủ. (Sorrentino, F. et al. (2016) Antimicrob. Agents Chemother. 60 (1), 640-645.)

Quy trình được thực hiện như được mô tả trong Sorrentino, F. et al. (2016) Antimicrob. Agents Chemother. 60 (1), 640-645 (tài liệu bổ sung), ngoại trừ việc trước khi tế bào bị nhiễm THP-1 được cấy vào đĩa 384 lỗ, đại thực bào bị nhiễm được lọc ở bước cuối cùng của các bước rửa bằng bộ lọc tế bào 40um để loại bỏ khỏi tế bào và thu được huyền phù tế bào riêng rẽ.

Các hợp chất của ví dụ được thử nghiệm về cơ bản theo thử nghiệm được đề cập ở trên (mà không có ethionamit) và các hợp chất của các ví dụ 1, 2 và 4 đến 10 cho thấy có IC50 nhỏ hơn $0,5\mu\text{M}$. Các hợp chất của các ví dụ 5, 6, 7, 8 và 10 cho thấy có IC50 nhỏ hơn $0,1\mu\text{M}$. Các hợp chất của các ví dụ 6, 7 và 8 cho thấy có IC50 nhỏ hơn hoặc bằng $0,05\mu\text{M}$.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) hoặc muối được dụng của nó:



trong đó:

R¹ là halogen; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo.

2. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, trong đó R¹ là flo, clo hoặc brom; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; metyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; etyl được thế bằng một hoặc nhiều flo; metoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo; hoặc etoxy được thế bằng một hoặc nhiều flo.

3. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó R¹ là flo, clo hoặc brom; xyano; alkyl mạch thẳng C₁₋₆; alkyl mạch nhánh C₃₋₄; alkoxy mạch thẳng C₁₋₆; alkoxy mạch nhánh C₃₋₄; mono-, di- hoặc triflometyl; mono-, di- hoặc trifloetoxi; 2-floetyl; 2,2-difloetyl; 2,2,2-trifloetyl; 2-floetoxi, 2,2-difloetoxi; hoặc 2,2,2-trifloetoxi.

4. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R¹ là flo, clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄, alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, trifloetoxi, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxi.

5. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R¹ là flo, clo, brom, xyano, alkyl mạch thẳng C₁₋₆, alkyl mạch nhánh C₃₋₄,

alkoxy mạch thẳng C₁₋₆, alkoxy mạch nhánh C₃₋₄, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxy.

6. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R¹ là flo, brom, xyano, C₁₋₄ alkyl mạch thẳng, C₁₋₆ alkoxy mạch thẳng, C₄ alkoxy mạch nhánh, triflometyl, 2,2,2-trifloetyl hoặc 2,2,2-trifloetoxy.

7. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R¹ là flo, brom, xyano, metyl, etyl, triflometyl, 2,2,2-trifloetoxy, metoxy, etoxy, *n*-propoxy, *iso*-butoxy hoặc hexyloxy.

8. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hợp chất này được chọn từ:

4,4,4-triflo-1-[3-(2,2,2-trifloetoxy)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl]butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-propoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-isobutoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-hexyloxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

1-(3-brom-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;

1-(3-etoxy-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-metoxi-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

4,4,4-triflo-1-(3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

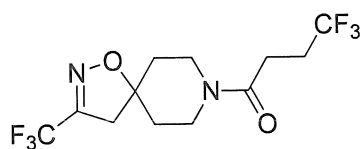
4,4,4-triflo-1-(3-metyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on;

1-(3-etyl-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)-4,4,4-triflobutan-1-on;

8-(4,4,4-triflobutanoyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-3-carbonitril; và

4,4,4-triflo-1-(3-flo-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on.

9. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 8, trong đó hợp chất này là 4,4,4-triflo-1-(3-(triflometyl)-1-oxa-2,8-diazaspiro[4,5]dec-2-en-8-yl)butan-1-on có công thức cấu tạo sau:



10. Dược phẩm chứa (a) hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9; và (b) tá dược được dụng.
11. Tổ hợp chứa (a) hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 và (b) chất chống vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que khác.
12. Tổ hợp theo điểm 11, trong đó ít nhất một chất chống vi khuẩn hiếu khí Gram dương hình que khác là chất chống lao.
13. Tổ hợp theo điểm 12, trong đó chất chống lao được chọn từ isoniazid, rifampin, pyrazinamid, ethambutol, moxifloxacin, rifapentin, clofazimin, ethionamid, prothionamid, isoxyl, thiaxetazon, rifabutin, diarylquinolin như bedaquilin (TMC207) hoặc TBAJ-587, nitroimidazo-oxazin PA-824, delamanid (OPC-67683), oxazolidinon như linezolid, tedizolid, radezolid, sutezolid (PNU-100480), posizolid (AZD-5847) hoặc TBI-223, EMB analogue SQ109, OPC-167832, GSK3036656 (còn được gọi là GSK070), GSK2556286, GSK3211830, benzothiazinon như BTZ043 hoặc PBTZ169, azaindol như TBA-7371, dinitrobenzamid, hoặc beta-lactam như meropenem, faropenem, ertapenem, tebipenem hoặc hỗn hợp beta-lactam như AUGMENTIN (amoxicillin-clavulanat).
14. Tổ hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 11 đến 13, trong đó tổ hợp này còn chứa chất chống virus, bao gồm thuốc kháng retrovirus (ARV).
15. Tổ hợp theo điểm 14, trong đó thuốc kháng retrovirus ARV được chọn từ zidovudin, didanosin, lamivudin, zalcitabin, abacavir, stavudin, adefovir, adefovir dipivoxil, fozivudin, todoxil, emtricitabin, alovudin, amdoxovir, elvucitabin, nevirapin, delavirdin, efavirenz, lovirit, immunocal, oltipraz, capravirin, lersivirin, GSK2248761, TMC-278, TMC-125, etravirin, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, brecanavir, darunavir, atazanavir, tipranavir, palinavir, lasinavir, enfuvirtit, T-20, T-1249, PRO-542, PRO-140, TNX-355, BMS-806, BMS-663068 và BMS-626529, 5-Helix, raltegravir, elvitegravir, GSK1349572, GSK1265744, vicriviroc (Sch-C), Sch-D, TAK779, maraviroc, TAK449, didanosin, tenofovir, lopinavir, hoặc darunavir.