



(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)



1-0038556

(51)⁷ C07D 487/04; A61K 31/429; A61K 31/437; A61K 31/4985; C07D 513/04; A61P 19/06; C07D 307/80; C07D 471/04; A61K 31/343; A61K 31/519 (13) B

(21) 1-2019-03179

(22) 15/11/2017

(86) PCT/CN2017/111013 15/11/2017

(87) WO 2018/090921 24/05/2018

(30) 201611008935.X 16/11/2016 CN; 201711115037.9 13/11/2017 CN

(45) 26/02/2024 431

(43) 25/11/2019 380A

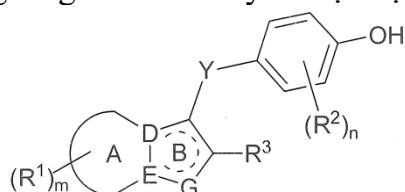
(73) JIANGSU ATOM BIOSCIENCE AND PHARMACEUTICAL CO., LTD. (CN)
Building 18, No.99 Chuqiao Road Zhenjiang, Jiangsu 212009, China

(72) SHI, Dongfang (US); FU, Changjin (CN); CHENG, Xi (CN); ZHU, Jianghua (CN); GU, Jie (CN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Vàng (GINTASSET CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT CÓ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ CHẤT VẬN CHUYỂN ANION URAT 1 (URAT1) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến nhóm hợp chất có hoạt tính ức chế URAT1 và dược phẩm chứa chúng. Các hợp chất này là hợp chất có công thức (I) hoặc các muối dược dụng của chúng. Các thử nghiệm cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có hiệu quả ức chế rất tốt đối với sự vận chuyển axit uric bởi chất vận chuyển anion urat ở người 1 (hURAT1) trong các tế bào chuyển nhiễm HEK293 và cho thấy rằng các hợp chất này có tiềm năng sử dụng tốt trong việc điều trị chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế này thuộc về lĩnh vực hóa dược và cụ thể là đề cập đến nhóm các hợp chất ức chế chất vận chuyển anion urat 1 (URAT1) và dược phẩm chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Axit uric là sản phẩm cuối của quá trình chuyển hóa purin trong cơ thể người. Do sự không có mặt rasburicaza trong cơ thể người, axit uric trong huyết thanh (serum uric acid: sUA) không thể được phân hủy thêm và lượng sUA quá mức cần được bài tiết ra khỏi cơ thể người qua thận và đường ruột. Thận là cơ quan chính bài tiết khoảng 70% axit uric ra khỏi cơ thể người. Do đó, khả năng vận chuyển axit uric trong thận có thể kiểm soát trực tiếp lượng sUA. Do rối loạn chuyển hóa purin dẫn đến làm tăng lượng sUA hoặc sự hấp thu quá mức thực phẩm có hàm lượng purin cao và sự thải trừ axit uric qua thận không đủ, một lượng lớn sUA tích tụ, điều này dẫn đến chứng tăng axit uric-huyết. Nói chung, chứng tăng axit uric-huyết được xác định là khi nồng độ sUA cao hơn 7 mg/dl đối với nam và 6 mg/dl đối với nữ. Khoảng từ 80% đến 85% bệnh nhân mắc chứng tăng axit uric-huyết là do sự thải trừ axit uric qua thận không đủ dẫn đến sự tích tụ sUA (Cheeseman C. Solute carrier family 2, member 9 and uric acid homeostasis. Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 2009, 18(5):428-432). Khi nồng độ sUA bão hòa, các tinh thể urat lắng đọng trong các khớp, gân, thận và các mô cơ quan khác, gây ra bệnh gút (Richette P, Bardin T. Gout. Lancet. 2010, 375(9711):318-328). Bệnh gút sẽ gây ra bệnh thận do urat và bệnh sỏi thận do axit uric, dẫn đến sự suy thận. Trong khi đó bệnh gút và chứng tăng axit uric-huyết có tương quan đáng kể và tích cực với các bệnh như chứng tăng lipid-huyết, chứng cao huyết áp, bệnh đái tháo đường và bệnh vữa xơ động mạch (Rho YH, Woo JH, Choi SJ, et al. Association between serum uric acid and the adult treatment panel III-defined metabolic syndrome: results from a single hospital database. Metabolism. 2008, 57:(1)71-76). Bệnh gút và chứng tăng axit uric-huyết ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe và chất lượng cuộc sống của con người.

Bệnh gút là bệnh chuyển hóa đứng thứ hai sau bệnh đái tháo đường và đã được Liên hợp quốc liệt kê là một trong số 20 bệnh khó chữa trong thế kỷ 21. Với sự cải thiện tiêu chuẩn sống của người và sự kéo dài tuổi thọ trung bình của người, tỷ lệ mắc chứng tăng axit uric-huyết và bệnh gút ngày càng tăng. Tỷ lệ mắc bệnh gút nằm trong khoảng từ 1% đến 2% trên thế giới. Tỷ lệ mắc bệnh này ở các nước phát triển là tương đối cao, khảo sát năm 2007-2008 cho thấy có khoảng 8,3 triệu bệnh nhân gút ở Mỹ. Tỷ lệ mắc bệnh gút ở Vương Quốc Anh và Đức là 1,4% trong các năm từ 2000 đến 2005 (Annemans L, Spaepen E, Gaskin M, et al. Gout in the UK and Germany: prevalence, comorbidities, and management in general practice 2000-2005. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2008, 67(7): 960-966). Ở Trung Quốc, tỷ lệ mắc bệnh gút đã tăng lên đáng kể trong thập kỷ trước. Đã có báo cáo rằng số lượng bệnh nhân mắc bệnh gút ở Trung Quốc vượt quá 50 triệu người, và số lượng bệnh nhân nam mắc bệnh gút là cao hơn nhiều so với nữ. Nghiên cứu dịch tễ học đối với 3978 người trong độ tuổi từ 40 đến 74 ở khu vực thành phố Thượng Hải được tiến hành năm 2010 đã cho thấy rằng có khoảng 25% nam giới mắc chứng tăng axit uric-huyết (Raquel Villegas, Xiang YB, Cai QY, et al. Prevalence and determinants of hyperuricemia in middle-aged, urban Chinese men. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 2010, 8(3): 263-270). Khoảng từ 5% đến 12% bệnh nhân mắc chứng tăng axit uric-huyết cuối cùng sẽ phát triển thành bệnh gút (Peng Jianbiao, Sun Piaoyang. Cycloalkyl acid derivative, preparation method thereof, and pharmaceutical application thereof. Shanghai Hengrui Pharm Co., Ltd. Công bố đơn quốc tế số WO2014183555A1).

Các thuốc để điều trị đợt tấn công cấp tính của bệnh gút chủ yếu bao gồm colchicine, các dược chất kháng viêm không steroid (non-steroidal anti-inflammatory drug: NSAID), hormon hướng vỏ thượng thận, và glucocorticoid. Colchicine có hiệu quả tốt để điều trị đợt tấn công của bệnh gút cấp tính nhưng có các phản ứng bất lợi nghiêm trọng như tiêu chảy, nôn và co thắt đau quặn bụng. Nhiều dược chất NSAID có phản ứng bất lợi nghiêm trọng đến dạ dày-ruột. Các dược chất này chỉ có thể làm giảm đau tạm thời cho bệnh nhân, và không thể làm giảm nồng độ sUA và loại bỏ sự lắng đọng urat trong cơ thể.

Về cơ bản, để điều trị bệnh gút, nồng độ sUA phải được kiểm soát ở mức bình thường bằng thuốc làm giảm nồng độ sUA. Việc kiểm soát nồng độ sUA là quá trình

điều trị trong thời gian dài và chủ yếu bao gồm hai phương pháp sau: ức chế sự sản sinh ra axit uric và kích thích sự bài tiết axit uric.

Xanthin oxidaza, một enzym của quá trình chuyển hóa nucleotit trong cơ thể, là enzym quan trọng đối với sự tạo ra axit uric. Các chất ức chế sự sản sinh ra axit có thể làm giảm hữu hiệu nồng độ sUA bằng cách ức chế chức năng của xanthin oxidaza để làm giảm sự sản sinh ra axit uric. Các dược chất thường được sử dụng nhiều hơn là allopurinol và uloric. Allopurinol là một trong số các chất ức chế xanthin oxidaza. Chất này cần được sử dụng với liều cao, và có thể gây bệnh ban đỏ đa dạng trên da mức độ nặng ở một số người, đôi khi gây tử vong. Chất này thường đi kèm với tình trạng tổn thương gan và các tác dụng phụ khác. Chất ức chế xanthin oxidaza khác được gọi là uloric (febuxostat), chất này được phân phối đầu tiên ở châu Âu và Mỹ năm 2009. Uloric cũng có các tác dụng phụ rất nghiêm trọng như vấn đề về tim mạch và cảm giác khó chịu ở dạ dày-ruột, và nó có thể gây đau đầu và tổn thương gan. Bệnh nhân gút không thể đạt mức sUA bình thường bằng cách sử dụng febuxostat khi điều trị trong thời gian dài.

Phương pháp cơ bản khác để điều trị bệnh gút là kích thích sự bài tiết axit uric. Cơ chế này liên quan đến việc ức chế sự vận chuyển axit uric bằng chất vận chuyển anion urat ở người 1 (human urate anion transporter 1: hURAT1) nằm ở màng tế bào biểu mô ống gần để làm giảm sự tái hấp thu axit uric ở thận và làm gia tăng sự bài tiết axit uric của thận. Do là protein tái hấp thu axit uric quan trọng nhất trong cơ thể người, hURAT1 được biểu hiện đặc hiệu trên màng ở diềm dạng bàn chải của các tế bào biểu mô của ống búi ở gần thận của người và kiểm soát khoảng trên 90% sự tái hấp thu axit uric sau khi lọc tiểu cầu (Wempe MF, Jutabha P, Quade B, et al. Developing potent human uric acid transporter 1 (hURAT1) inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, 54: 2701-2713). hURAT1 được mã hóa bởi gen SLC22A12, gen này có một số đột biến gây ra sự chuyển hóa axit uric bất thường. Phương pháp phân tích tổng hợp cho thấy rằng gen này có 0,13% thể biến dị góp phần vào nồng độ sUA (So A, Thorens B. Uric acid transport and disease. *Journal of Clinical Investigation*, 2010, 120(6): 1791-1799).

Hiện nay, các thuốc axit uric-niệu có bán trên thị trường để điều trị bệnh gút là chất ức chế URAT1, bao gồm Benzbromarone, Zurampic, probenecid và sulfinpyrazone.

Zurampic từ công ty AstraZeneca đã được chứng minh là điều trị bệnh gút bằng cách kết hợp với allopurinol với liều 200 mg/ngày ở Mỹ vào tháng 12 năm 2015 và ở châu Âu vào tháng 2 năm 2016 tương ứng. Nhưng hiệu quả của nó kém hơn nhiều so với hiệu quả của benzbromarone. Ngoài ra, Cơ quan quản lý dược phẩm và thực phẩm Mỹ (FDA) yêu cầu rằng tính gây độc thận ở mức độ nặng của nó cần được làm nổi bật bằng cảnh báo trong ô màu đen của phần hướng dẫn sử dụng. Dược chất này cũng có tính gây độc tim mạch rất nặng và các tác dụng phụ khác. Cả probenecid và sulfinpyrazone đều là chất axit uric-niêu khi sử dụng liều cao với hiệu quả thấp và tác dụng phụ nặng.

Benzbromarone là chất ức chế URAT1 vẫn được sử dụng rộng rãi trên thị trường để điều trị bệnh gút. Tên hóa học của nó là (3,5-dibromo-4-hydroxy-phenyl)(2-ethylbenzofuran-3-yl)-metanon, chất này được phát triển bởi công ty France Snaofi- Synthelabo và được phân phối lần đầu từ năm 1976. Nhưng việc sử dụng benzbromarone vẫn chưa được chấp thuận ở Mỹ và nó bị rút khỏi thị trường ở phần lớn các nước châu Âu từ năm 2003 do có độc tính ở gan nghiêm trọng của nó (Jansen TL, Reinders MK, van Roon EN, et al. Benzbromarone withdrawn from the European market: another case of “absence of evidence is evidence of absence”. *Clinical Experimental Rheumatology*, 2004, 22(5):651). Nhược điểm khác của dược chất này là nó có tác dụng ức chế mạnh đối với thành phần CYP2C9 của các enzym P450, dẫn đến làm tổn thương gan và sự tương tác dược chất-dược chất. Tuy nhiên, dược chất này vẫn được sử dụng rộng rãi ở trên 20 nước như Trung Quốc, Đức, Nhật, Brazil và New Zealand do không có các dược chất trị bệnh gút tốt trên thị trường.

Các nghiên cứu đã cho thấy rằng sự tổn thương gan đột ngột hoặc gây tử vong của benzbromarone có liên quan với các chất chuyển hóa có khả năng phản ứng của nó. Cơ chế gây độc gan có thể liên quan đến sự hoạt hóa sinh học của benzbromarone thông qua quá trình hydroxyl hóa lần lượt vòng benzofuran để tạo thành 6-hydroxybenzbromarone và catechol bằng CYP2C9, các chất này có thể được oxy hóa tiếp bằng các enzym P450 thành chất chuyển hóa quinone có khả năng phản ứng có thể bổ sung các chất phản ứng thiol/ gốc xystein (Matthew G. McDonald MG, Rettie AE. Sequential metabolism and bioactivation of the hepatotoxin benzbromarone: formation of glutathione adducts from a catechol intermediate. *Chemical Research in Toxicology*. 2007, 20 (12):1833-1842). Benzbromarone cũng có các tác dụng phụ khác như tiêu chảy,

cảm giác khó chịu ở dạ dày, nôn, nổi ban, chứng đỏ bừng, chứng ngứa, v.v..

Hiện nay, các hợp chất để điều trị bệnh gút trong các thử nghiệm lâm sàng bao gồm chất ức chế URAT1 RDEA-3170 từ công ty AstraZeneca trong các thử nghiệm lâm sàng pha II, và các sản phẩm từ Pfizer, công ty dược phẩm BioCryst, LG life Sciences ở Hàn Quốc, Cymabay Therapeutics, JW Pharmaceutical, Chugai Pharmaceutical, Fuji Yakuhin và Sanwa Kagaku cũng trong các thử nghiệm lâm sàng pha I hoặc II. Chất ức chế URAT1 được phát triển bởi công ty dược phẩm Jiangsu Hengrui đã được thử nghiệm lâm sàng pha I ở Trung Quốc, và cấu trúc hóa học của nó có tính tương tự nhất định với hai hợp chất của công ty AstraZeneca. Tuy nhiên, phần lớn các hợp chất này vẫn có hiệu quả thấp và độc tính nghiêm trọng.

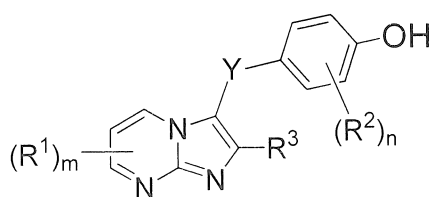
Hiện nay, chỉ có vài dược chất dùng để điều trị bệnh gút trên thế giới, và các dược chất này thường có nhược điểm là hiệu quả thấp, tác dụng phụ nghiêm trọng. Do đó, rất cần phát triển các dược chất điều trị bệnh gút có hiệu quả cao và độc tính thấp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

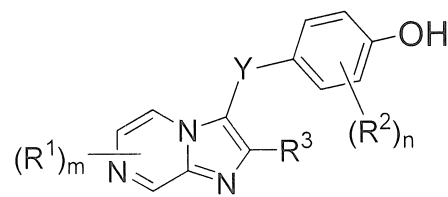
Mục đích của sáng chế là đề xuất nhóm hợp chất mới trên cơ sở công nghệ hiện nay, nhằm thu được chất ức chế URAT1 có độc tính thấp và hiệu quả tốt để điều trị chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút. Kết quả của các thử nghiệm cho thấy rằng các hợp chất được đề xuất bởi sáng chế này có hiệu quả ức chế rất tốt đối với sự vận chuyển axit uric bởi hURAT1 trong các tế bào được chuyển nhiễm HEK293, điều này cho thấy rằng các hợp chất này có triển vọng sử dụng tốt trong việc điều trị chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút.

Mục đích của sáng chế có thể đạt được bằng giải pháp sau đây.

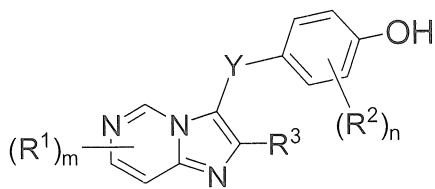
Sáng chế đề xuất hợp chất hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất được thể hiện bằng các cấu trúc được mô tả dưới đây:



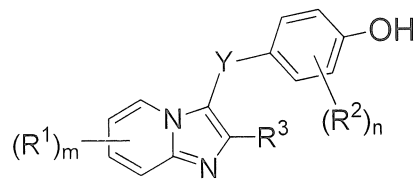
(II-A)



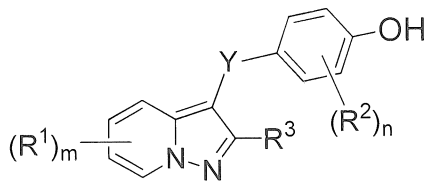
(II-B)



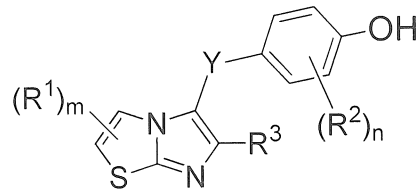
(II-C)



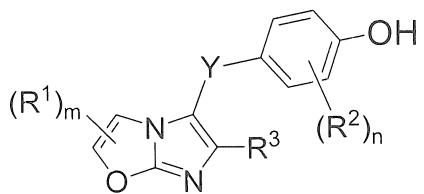
(II-D)



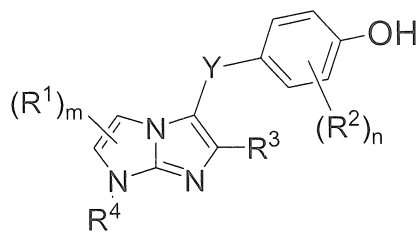
(III-A)



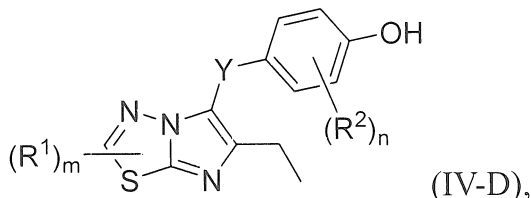
(IV-A)



(IV-B)



(IV-C)



(IV-D),

trong đó

Y là cacbonyl, lưu huỳnh, sulfon, sulfoxit, metylen hoặc imino tùy ý được thế;

R^1 là hydro, đoteri, hydroxy, halogen, nitro, amino, xyano, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} amino được thế, C_{1-3} alkoxy hoặc C_{1-3} alkoxy được thế;

R^2 là hydro, halogen, nitro, xyano, C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} haloalkyl;

R^3 là C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế hoặc halogen;

m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3;

n bằng 1 hoặc 2

nhóm thế trong nhóm Y được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, amino, xyano, cacboxyl, C_{1-3} alkoxy hoặc C_{1-3} alkyl, nhóm thế trong nhóm R^1 , R^2 hoặc R^3 được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, halogen, nitro, amino hoặc xyano;

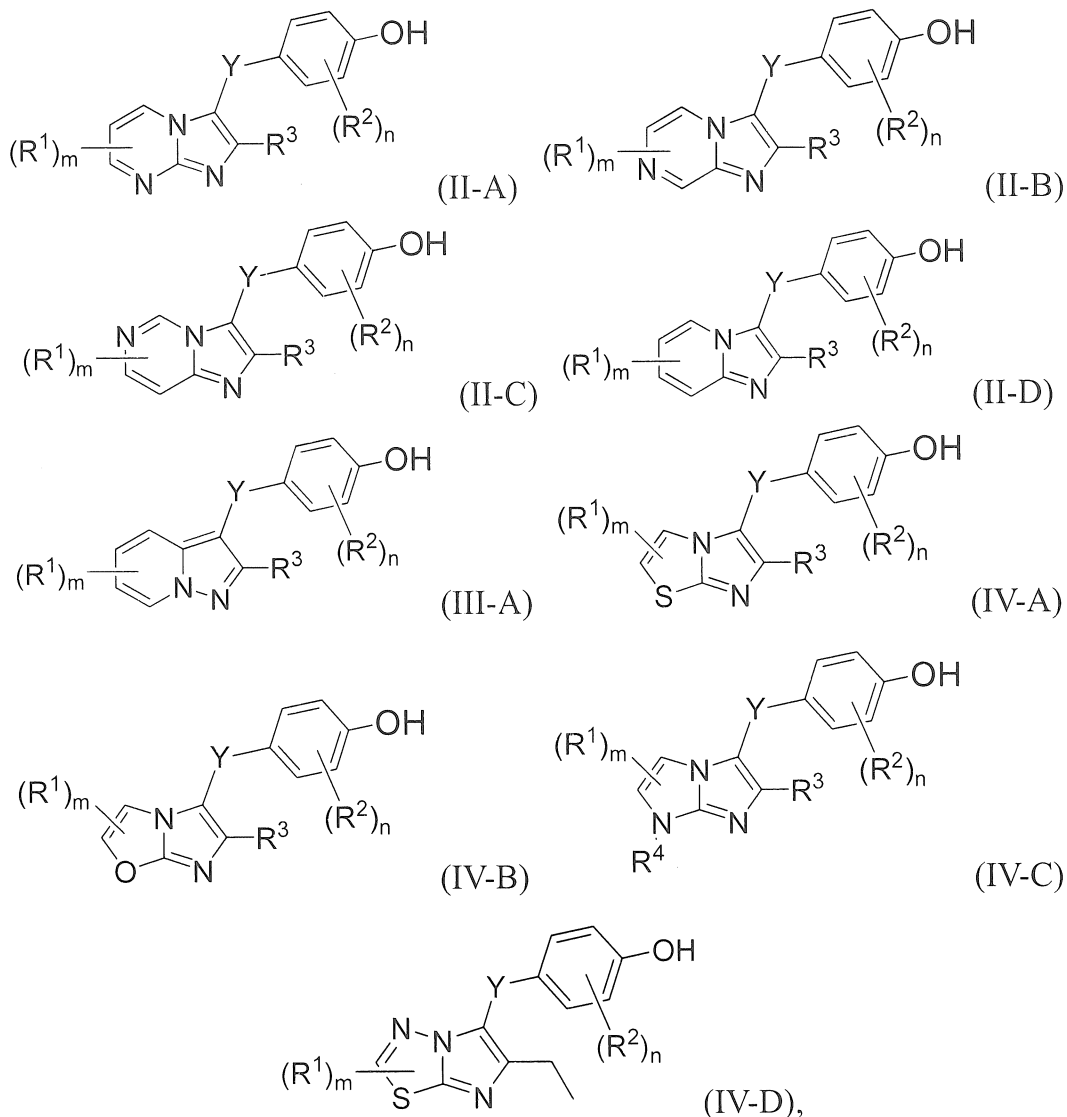
trong công thức (II-D) và công thức (III-A), Y không là nhóm cacbonyl;

với điều kiện là hợp chất này không là hợp chất (2-ethylimidazo [1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)metanon.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa hợp chất nêu trên hoặc muối được dụng của nó và chất mang được dụng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất được thể hiện bằng các cấu trúc được mô tả dưới đây:



trong đó

Y là cacbonyl, lưu huỳnh, sulfon, sulfoxit, metylen hoặc imino tùy ý được thế;

R^1 là hydro, đoteri, hydroxy, halogen, nitro, amino, xyano, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} amino được thế, C_{1-3} alkoxy hoặc C_{1-3} alkoxy được thế;

R^2 là hydro, halogen, nitro, xyano, C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} haloalkyl;

R^3 là C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế hoặc halogen;

m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3;

n bằng 1 hoặc 2

nhóm thế trong nhóm Y được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, amino, xyano,

cacboxyl, C₁₋₃alkoxy hoặc C₁₋₃ alkyl, nhóm thế trong nhóm R¹, R² hoặc R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, halogen, nitro, amino hoặc xyano;

trong công thức (II-D) và công thức (III-A), Y không là nhóm cacbonyl;

với điều kiện là hợp chất này không là hợp chất (2-ethylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)metanon.

Theo phương án được ưu tiên, trong các công thức trên đây, Y là nhóm CH-OH, CH-NH₂, CH-CN, NH(imino), NCH₃ hoặc CO(cacbonyl), và R³ là C₂₋₃ alkyl; trong công thức (II-D) và công thức (III-A), Y không là nhóm cacbonyl.

Theo phương án được ưu tiên, R¹ là hydro, đoteri, hydroxy, halogen, nitro, amino, xyano, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, C₁₋₃ alkoxy hoặc C₁₋₃ haloalkoxy, và m bằng 0, 1 hoặc 2.

Theo phương án được ưu tiên, R² là hydro, halogen, nitro, xyano, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃haloalkyl, và n bằng 1 hoặc 2.

Theo phương án được ưu tiên hơn nữa, sáng chế đề xuất các hợp chất hoặc muối được dụng của chúng theo sáng chế, trong đó các hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

- (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)metanon;
- (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)metanon;
- (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)metanon;
- 3-bromo-5-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitri
- l;
- 5-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril;
- 2,6-dibromo-4-[(6-ethylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)hydroxymetyl]phenol;
- 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)hydroxymetyl]phenol;
- 2-bromo-4-[(2-ethyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-6-flo phenol;
- 2,6-dibromo-4-[(2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]phenol;
- 2,6-dibromo-4-[(6-bromo-2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl] phenol;
- 2,6-dibromo-4- {[(2-ethyl-7-(triflometyl)imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)]
- hydroxymetyl} phenol;
- 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metyl]phenol;
- (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(6-ethylimidazo[2,1-b][1,3,4]thiodiazol-5-

yl)metanon;

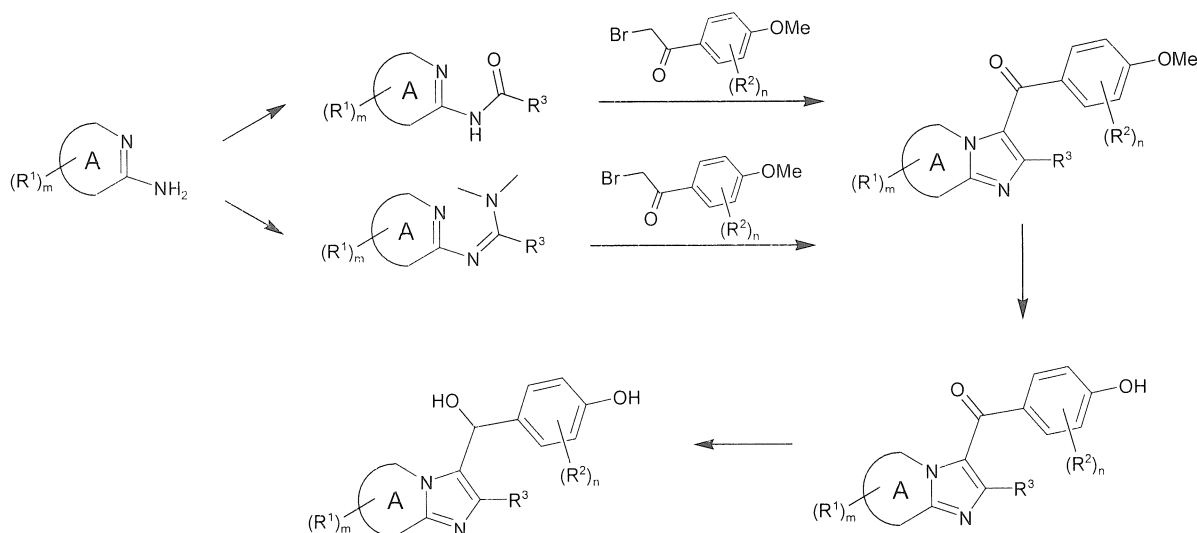
2-bromo-4-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl-6-metylphenol;

2,6-dibromo-4-{(2-ethyl-7-metoxymidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)}

hydroxymetyl}phenol.

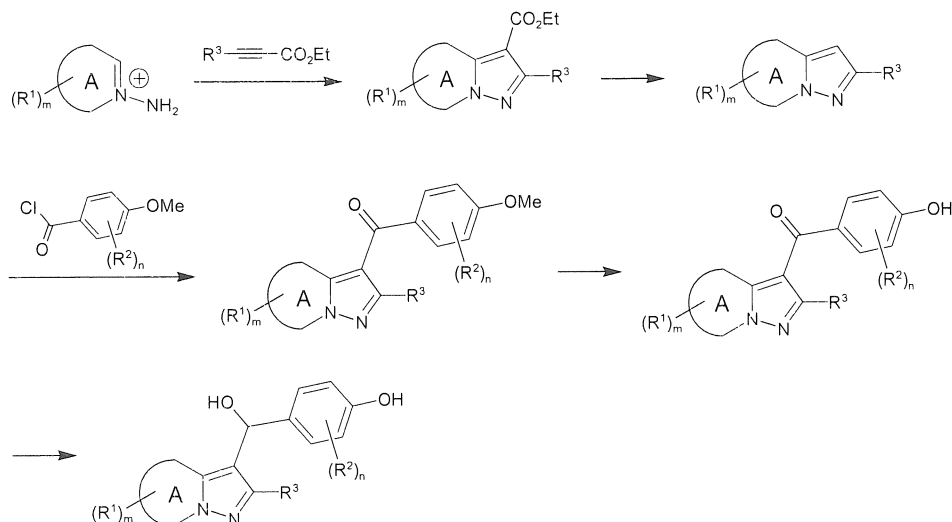
Phương pháp điều chế hợp chất của sáng chế được thể hiện dưới đây:

Sơ đồ 1:



Trong sơ đồ này, hợp chất amino vòng A (pyridin, pyrimidin, thiazol, pyrazin, v.v. được tạo thành hợp chất amit (hoặc hydrazin) và sau đó được cho phản ứng với hợp chất bromoacetophenon được thể để tạo ra hợp chất imidazo vòng A tương ứng (pyridin, pyrimidin, thiazol, pyrazin hoặc hợp chất tương tự), hợp chất này được cho tham gia phản ứng khử metyl hóa, halogen hóa, và/hoặc phản ứng khử hoặc phản ứng khác để tạo ra sản phẩm đích tương ứng.

Sơ đồ 2:



Trong sơ đồ này, muối amino vòng A (pyridin, pyrimidin, pyrazin, v.v.) được cho tham gia phản ứng đóng vòng với alkyn để tạo ra hợp chất pyrazolo vòng A tương ứng (pyridin, pyrimidin, pyrazin, v.v.), hợp chất thu được sau khi thủy phân và khử cacboxyl hóa được cho phản ứng với axyl clorua trong điều kiện có chất xúc tác axit Lewis để thu được hợp chất diaryl keton, hợp chất này được cho tham gia phản ứng khử metyl hóa, halogen hóa, và/hoặc phản ứng khử hoặc phản ứng khác để tạo ra sản phẩm đích tương ứng.

Sự định nghĩa của mỗi nhóm trong phương pháp tổng hợp đã được mô tả trên đây.

Trừ khi được chỉ rõ theo cách khác, các thuật ngữ sau đây được sử dụng trong phân yêu cầu bảo hộ và bản mô tả có nghĩa như sau:

Thuật ngữ "vòng thơm có năm cạnh" để chỉ nhóm vòng ngưng tụ có cấu trúc vòng phẳng, được liên hợp gồm năm nguyên tử trong vòng, vòng này là vòng thơm và nguyên tử trong vòng có thể là nguyên tử khác với nguyên tử cacbon, nghĩa là nguyên tử khác loại. Khi vòng thơm có năm cạnh chứa nguyên tử khác loại, nguyên tử khác loại này có thể là N, S hoặc O, và số lượng nguyên tử khác loại không chỉ giới hạn ở một, và có thể là hai, ba hoặc nhiều hơn. Vòng thơm có năm cạnh chứa (các) nguyên tử khác loại trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vòng triazol, vòng imidazol, vòng thiazol, vòng oxazol, vòng oxadiazol hoặc vòng thiadiazol, v.v..

Thuật ngữ "vòng thơm có sáu cạnh" để chỉ nhóm vòng ngưng tụ có cấu trúc vòng phẳng, được liên hợp gồm sáu nguyên tử trong vòng, vòng này là vòng thơm và nguyên tử trong vòng có thể là nguyên tử khác với nguyên tử cacbon, nghĩa là nguyên tử khác loại. Khi vòng thơm có sáu cạnh chứa nguyên tử khác loại, nguyên tử khác loại này có thể là N, S hoặc O, và số lượng nguyên tử khác loại không chỉ giới hạn ở một, và có thể hai, ba hoặc nhiều hơn. Vòng thơm có sáu cạnh chứa (các) nguyên tử khác loại trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, vòng pyridin, vòng pyrimidin, vòng pyrazin, v.v..

Thuật ngữ "hydro" để chỉ proton ($1H$), là chất đồng vị ổn định chủ yếu của hydro.

Thuật ngữ "đơteri" để chỉ chất đồng vị về hình thái học ổn định của hydro, còn được gọi là hydro nặng, và ký hiệu nguyên tố của nó là D.

Thuật ngữ "halogen" để chỉ nguyên tử flo, nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc

nguyên tử iot.

Thuật ngữ "alkyl" để chỉ nhóm hydrocacbon C_{1-20} béo và no, bao gồm cả nhóm mạch thẳng và nhóm mạch nhánh (khoảng chữ số được thể hiện trong đơn sáng chế này như "1-20" để chỉ nhóm mà khi nhóm này là alkyl, có thể chứa 1 nguyên tử cacbon, 2 nguyên tử cacbon, 3 nguyên tử cacbon, v.v. tối đa là 20 nguyên tử cacbon). Nhóm alkyl có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon được gọi là nhóm alkyl thấp. Khi nhóm alkyl thấp không có nhóm thế, nhóm này được gọi là nhóm alkyl thấp không được thế. Tốt hơn nữa nếu nhóm alkyl là nhóm alkyl có kích thước trung bình có từ 2 đến 5 nguyên tử cacbon. Nhóm alkyl theo sáng chế là, ví dụ, metyl, etyl, propyl, 2-propyl, n-butyl, isobutyl, t-butyl hoặc pentyl. Tốt hơn nếu nhóm alkyl là nhóm alkyl thấp có từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon, như metyl, etyl, propyl, 2-propyl, n-butyl, isobutyl hoặc t-butyl. Nhóm alkyl có thể được thế hoặc không được thế.

Thuật ngữ "alkoxy" thể hiện nhóm -O- (alkyl không được thế). Các ví dụ làm đại diện bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metoxy, etoxy, propoxy, butoxy, và nhóm tương tự.

Thuật ngữ "cacbonyl" để chỉ nhóm $C=O$.

Thuật ngữ "nhóm sulfon" để chỉ $-S(O)_2-$.

Thuật ngữ "nhóm thionylen" để chỉ $-S(O)-$.

Thuật ngữ "metylen" để chỉ nhóm $-CH_2-$.

Thuật ngữ "imino" để chỉ nhóm $-NH-$.

Thuật ngữ "hydroxy" để chỉ nhóm $-OH$.

Thuật ngữ "nitro" để chỉ nhóm $-NO_2$.

Thuật ngữ "amino" để chỉ nhóm $-NH_2$.

Thuật ngữ "carboxy" để chỉ nhóm $-COOH$.

Thuật ngữ "xyano" để chỉ nhóm $-CN$.

Thuật ngữ "muối được dụng" là muối chứa hợp chất như được xác định trên đây với axit hữu cơ hoặc axit vô cơ, để chỉ các muối vẫn duy trì hiệu quả và đặc tính sinh học của hợp chất gốc. Các muối này bao gồm:

(1) muối cộng axit thu được bằng cách cho bazơ tự do của hợp chất gốc phản ứng với axit vô cơ hoặc hữu cơ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit clohydric, axit bromhydric, axit nitric, axit phosphoric, axit metaphosphoric, axit sulfuric, axit sulfuro

và axit perchloric, v.v., axit hữu cơ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit axetic, axit propionic, axit acrylic, axit oxalic, axit malic (D) hoặc (L), axit fumaric, axit maleic, axit hydroxybenzoic, axit γ -hydroxybutyric, axit metoxybenzoic, axit phthalic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit naphthalen-1-sulfonic, axit naphthalen-2-sulfonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, axit tartaric, axit citric, axit lactic, axit mandelic, axit succinic hoặc axit malonic.

(2) muối thu được bằng cách thay thế proton axit trong hợp chất gốc bằng ion kim loại hoặc bằng cách tạo phức với bazơ hữu cơ, ion kim loại này là, ví dụ như ion kim loại kiềm, ion kim loại kiềm thổ hoặc ion nhôm, bazơ hữu cơ là, ví dụ như etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, trometamin, N-metylglucamin, và bazơ tương tự.

Thuật ngữ "dược phẩm" để chỉ hỗn hợp của một hoặc nhiều hợp chất được mô tả ở đây hoặc các muối dược dụng của chúng và các tiền dược chất với các thành phần hóa học khác, như các chất mang và tá dược dược dụng. Mục đích của dược phẩm này là để tạo điều kiện thuận lợi cho việc sử dụng hợp chất vào cơ thể.

Sau đây, trừ khi được chỉ rõ theo cách khác, các hợp chất như được xác định trên đây làm hoạt chất của các chất điều trị bao gồm tất cả các muối dược dụng của chúng, cần được hiểu là vẫn nằm trong phạm vi của sáng chế này, Trong bản mô tả này, chúng được gọi đơn giản là "các hợp chất như được xác định trên đây" chỉ nhằm mục đích thuận tiện.

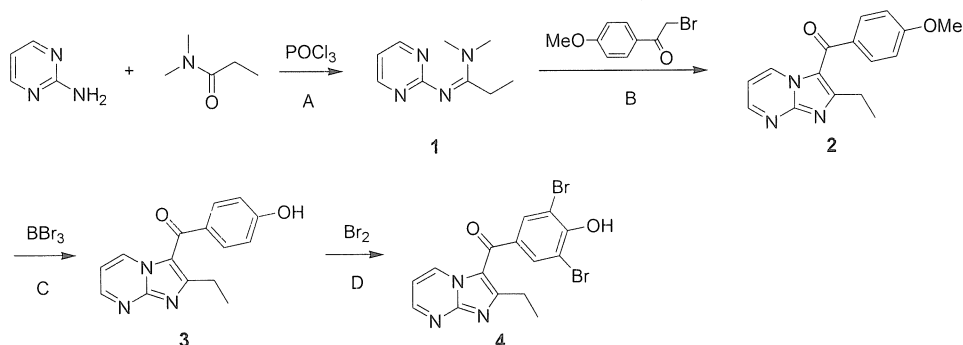
Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất là hợp chất bất kỳ của sáng chế làm thành phần hoạt tính, muối dược dụng của nó, và cũng như tá dược dược dụng.

Mỗi hợp chất của sáng chế hoặc muối dược dụng của nó đều có độc tính thấp và hiệu quả chữa bệnh tốt, và có thể được sử dụng để sản xuất thuốc có tác dụng kích thích sự bài tiết axit uric, cụ thể là để điều trị hoặc phòng ngừa chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút. Các thử nghiệm cho thấy rằng các hợp chất được đề xuất bởi sáng chế có tác dụng ức chế rất tốt đối với chất vận chuyển axit uric hURAT1 trong các tế bào chuyển nhiễm HEK293, điều này cho thấy rằng các hợp chất này có triển vọng sử dụng tốt trong việc điều trị chứng tăng axit uric-huyết hoặc bệnh gút.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thêm dưới đây qua các phương án.

Phương án 1: Tổng hợp hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl) (2-etylimidazo [1,2-a]-pyrimidin-3-yl)metanon (có công thức 4)



Bước A: Hỗn hợp của hợp chất 2-aminopyrimidin (570mg, 6,0mmol), phospho oxyclorua (4,6g, 30,0mmol), N,N-dimetylpropionamit (910mg, 9,0mmol) và metylbenzen (15ml) được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 110°C. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, sau đó được rót vào nước đá (60ml) và được điều chỉnh bằng dung dịch natri hydroxit 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40 ml×5) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:1 đến 20:1) để thu được hợp chất N,N-dimetyl- N'-(pyrimidin-2-yl)-propanimidamit (có công thức 1) (250mg). Hiệu suất bằng 23,4%.

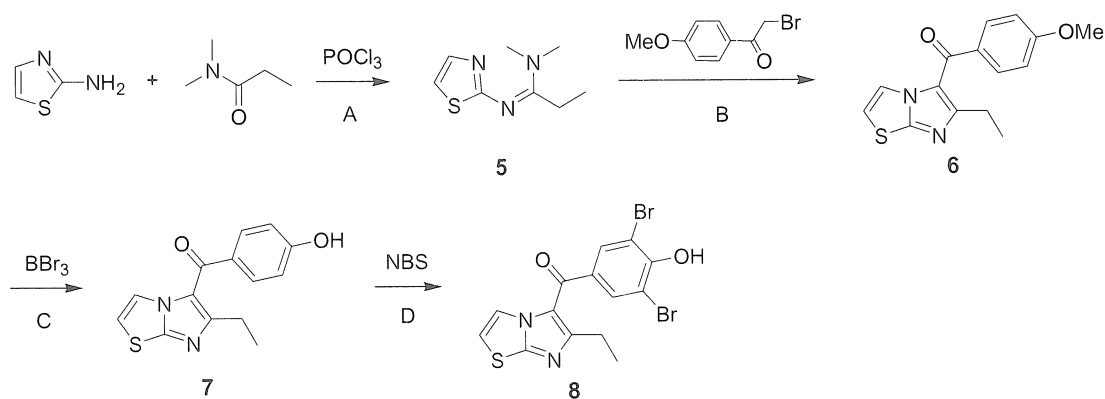
Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 1 (240mg, 1,35mmol), 2-bromo-1-(4-metoxiphenyl)etanon (308mg, 1,35mmol) và DMF (10ml) được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C và khuấy liên tục trong 1,5 giờ. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (40ml), điều chỉnh bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8, và được chiết bằng etyl axetat (40ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (20ml) và nước muối (20ml), và sau đó làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:4 đến 2:5) để thu được hợp chất (2-etylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-metoxiphenyl)metanon (có công

thức 2) (190mg). Hiệu suất bằng 50,0%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,45-9,43 (m, 1H), 8,77-8,75 (m, 1H), 7,74 (dd, J = 2,0, 6,8 Hz, 2H), 7,31-7,29 (m, 1H), 7,12 (dd, J = 2,0, 6,8 Hz, 2H), 3,88 (s, 3H), 2,52-2,51 (m, 2H), 1,15 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Bước C: Dung dịch chứa bo tribromua 1,0M trong metylbenzen (1,7ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 2 (120mg, 0,427mmol) trong diclometan khan (10ml) trong bể nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được rót vào nước đá (20ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (30ml $\times$ 3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ: THF với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:5:1 đến 5:5:1) để thu được hợp chất (2-ethylimidazo [1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)metanon (có công thức 3) (101mg). Hiệu suất bằng 88,5%.

Bước D: Dung dịch chứa brom (66mg, 0,413mmol) trong axit axetic (2ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 3 (50mg, 0,187mmol) và natri axetat (46mg, 0,561mmol) trong axit axetic (5ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch natri hydrosulfit bão hòa trong nước được cho thêm nhỏ giọt vào hỗn hợp phản ứng cho đến khi màu nhạt dần. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và hỗn hợp phản ứng được cho thêm nước (30ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng hỗn hợp etyl axetat (40ml $\times$ 2) và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tái kết tinh bằng etyl axetat/ete dầu mỏ để thu được hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)metanon (có công thức 4). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,42 (dd, J = 2,0, 6,8 Hz, 1H), 8,78 (dd, J = 2,0, 7,6 Hz, 1H), 7,91 (s, 2H), 7,34-7,31 (m, 1H), 2,51-2,48 (m, 2H), 1,20 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 426,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương án 2: Tổng hợp hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)
(6-ethylimidazo[2,1-b]-thiazol-5-yl)metanon (có công thức 8)



Bước A: Hỗn hợp của hợp chất 2-aminothiazol (600mg, 6,0mmol), phospho oxyclorua (4,6g, 30,0mmol), N,N-dimethylpropionamit (910mg, 9,0mmol) và metylbenzen (15ml) được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 110°C. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, sau đó được rót vào nước đá (60ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri hydroxit 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (20ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất N,N-dimetyl-N'-(thiazol-2-yl) propanimidamit (có công thức 5) (890mg). Hiệu suất bằng 80,9%.

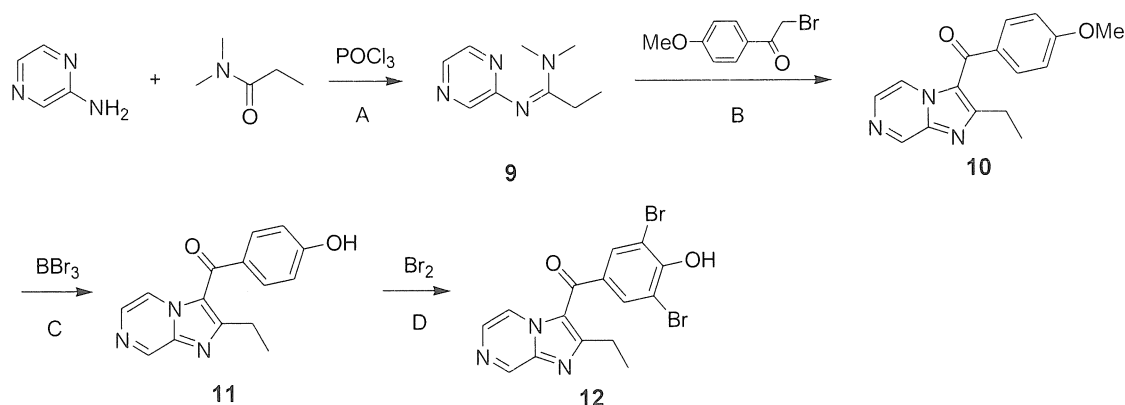
Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 5 (439mg, 2,40mmol), 2-bromo-1-(4-metoxypheyl)etanon (604mg, 2,64mmol) và DMF (10ml) được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng, sau đó được gia nhiệt đến nhiệt độ 60°C và khuấy liên tục trong 5 giờ, và sau đó được gia nhiệt đến nhiệt độ 130°C và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (40ml), điều chỉnh bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8, được chiết bằng etyl axetat (40ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (20ml) và nước muối (20ml), và sau đó được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:30 đến 1:20) để thu được hợp chất (6-etylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)-(4-metoxypheyl)metanon (có công thức 6) (311mg). Hiệu suất bằng 45,3%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,14 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,45

(q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,10 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Bước C: Dung dịch chứa bo tribromua 1,0M trong metylbenzen (1,6ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 6 (113mg, 0,395mmol) trong diclometan khan (10ml) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được rót vào nước đá (20ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (30ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: diclometan với tỷ lệ 1:2) để thu được hợp chất (2-ethylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)-metanon (có công thức 7) (39mg). Hiệu suất bằng 36,3%.

Bước D: NBS (48mg, 0,270mmol) được cho vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 7 (37mg, 0,136mmol) trong DMF (3ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (20ml) và được lọc. Bánh lọc được rửa bằng lượng lớn nước, và chất rắn thu được được hòa tan bằng dung môi hỗn hợp của THF/etyl axetat và làm khô bằng natri sulfat khan. Hỗn hợp này lọc bằng tấm silicagel để thu được hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)-metanon (có công thức 8) (40mg). Hiệu suất bằng 68,4%. ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 8,14 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 7,86 (s, 2H), 7,46 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 2,43 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,15 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 430,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương án 3: Tổng hợp hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylimidazo[1,2-a]-pyrazin-3-yl)metanon (có công thức 12)



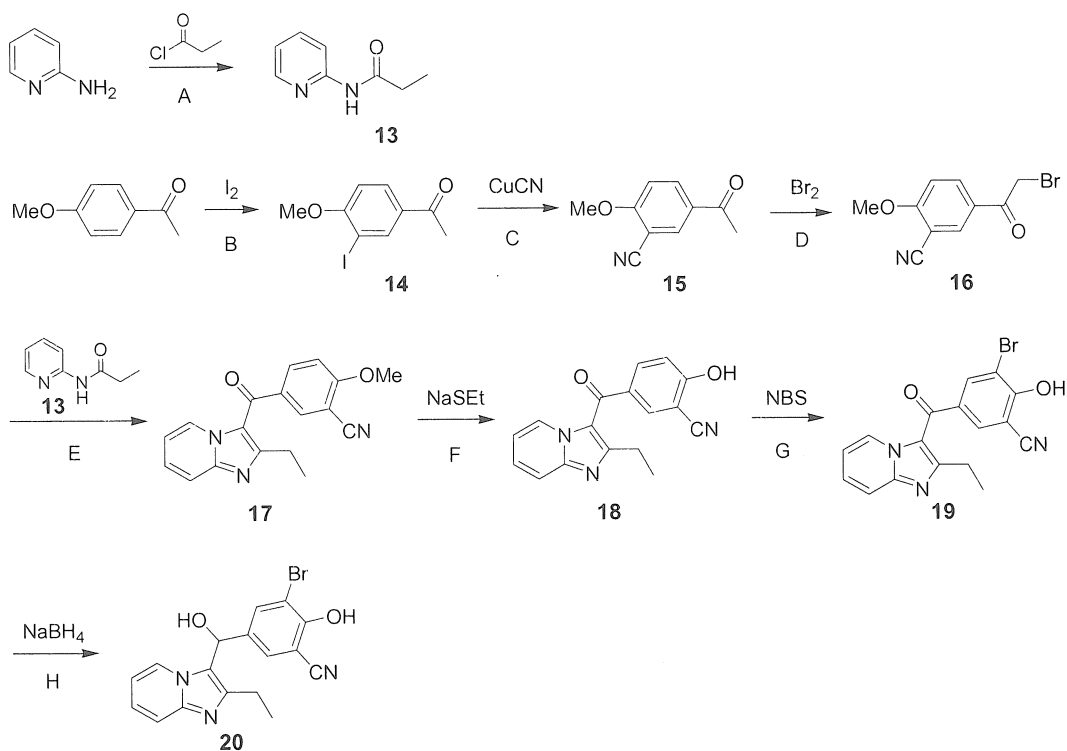
Bước A: Triethylamin (4,68g, 46,2mmol) được cho thêm nhỏ giọt vào hỗn hợp của 2-aminopyrazin (2,0g, 21,0mmol), phospho oxyclorea (4,84g, 31,6mmol), N,N-dimethylpropionamit (2,34g, 23,1mmol) và clorofom (20ml) trong bể nước đá, và hỗn hợp thu được được đun hồi lưu và khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng này được rót vào nước đá (60ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri hydroxit 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (50ml×5), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Sau đó, hỗn hợp này được lọc bằng cột silicagel ngắn, và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất N,N-dimetyl-N'-(pyrazin-2-yl)propanimidamit (có công thức 9) (1,82g). Hợp chất này được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế.

Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 9 dạng thô (900mg), 2-bromo-1-(4-metoxyphenyl)-etanon (1,27g, 5,54mmol) và THF (25ml) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (50ml), điều chỉnh bằng dung dịch natri cacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8, và chiết bằng etyl axetat (50ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (20ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:4 đến 2:5) để thu được hợp chất (2-etylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)(4-metoxyphenyl) metanon (có công thức 10) (160mg). Tổng hiệu suất của các phản ứng trong bước A và B là 5,5%, ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,23 (d, J = 1,2 Hz, 1H), 8,93-8,91 (m, 1H), 8,14 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 2,0, 6,8 Hz, 2H), 7,12 (dd, J = 2,0, 6,8 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H), 2,57 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,17 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Quy trình thử nghiệm trong bước C và D được tiến hành giống như bước C và D trong Phương án 1 để thu được hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl) (2-etylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)metanon (có công thức 12). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 9,11 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 8,59-8,58 (m, 1H), 7,98-7,97 (m, 1H), 7,72 (s, 2H), 2,71 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,27 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 426,0 [M+H]⁺.

Phương án 4: Tổng hợp hợp chất 3-bromo-5-[(2-etylimidazo

[1,2-a]pyridin-3-yl)-hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril (có công thức 20)



Bước A: Hợp chất 2-aminopyridin (2,0g, 21,3mmol) và triethylamin (2,58g, 25,5mmol) được hòa tan trong diclometan (20ml) và được cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (2,07g, 22,4mmol) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được làm ấm tự động đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được cho thêm nước (40ml) và chiết bằng diclometan (40ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:15 đến 1:10) để thu được hợp chất N-(pyridin-2-yl)-propionamit (có công thức 13) (2,74g). Hiệu suất bằng 85,6%.

Bước B: hợp chất 4-metoxaxetophenon (44g, 293mmol) được cho thêm vào hỗn hợp của 1-clometyl-4-flo-1,4-diazabixyclo[2.2.2]octan bis(tetraflororat) (104g, 294mmol), iot (38,6g, 152mmol) và axetonitril (440ml) trong bể nước-nước đá. Sau khi cho thêm, hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được cho thêm nước (1350ml), và một lượng lớn chất rắn được tách ra. Hỗn hợp này được lọc và làm khô để thu được hợp chất 3-iodo-4-metoxaxetophenon (có công thức 14) (70,0g). Hiệu suất bằng 86,5%.

Bước C: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 14 (70,0g, 254mmol), đồng (I)

xyanua (34,0g, 380mmol) và DMF (400ml) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ 130°C. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, lọc qua xelit, cho thêm nước (1600ml) và chiết bằng etyl axetat (800ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (400ml×2) và nước muối (400ml), và sau đó được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất 5-axetyl-2-metoxymetabenzonitril (có công thức 15) (50,0g). Hợp chất này được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo mà không cần xử lý thêm.

Bước D: Dung dịch chứa brom (49,0g, 307mmol) trong metanol (50ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất thô có công thức 15 (45,0g) trong metanol (250ml), và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (900ml), được lọc và làm khô để thu được hợp chất 5-(2-bromo-axetyl)-2-hydroxy-3-metylbenzonitril (có công thức 16) (41,0g). Tổng hiệu suất của các phản ứng trong bước B và C bằng 70,6%.

Bước E: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 16 (41,0g, 161mmol), hợp chất có công thức 13 (24,0g, 161mmol) và metylbenzen (600ml) được đun hồi lưu và khuấy trong 48 giờ. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (400ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (600ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:30 đến 2:1) để thu được hợp chất 5-(2-etylimidazo [1,2-a]pyridin-3-carbonyl)- 2-metoxymetabenzonitril (có công thức 17) (25,7g). Hiệu suất bằng 52,3%.

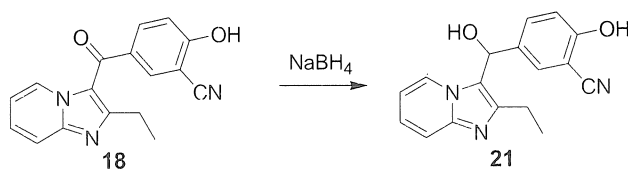
Bước F: natri hydrua 60% (4,8g, 120mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa etanthiol (8,4ml) trong THF (30ml), hỗn hợp này được khuấy trong khoảng 5 phút và sau đó được lọc, và bánh lọc được thu gom. Sau đó, bánh lọc được cho thêm vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 17 (9,0g, 29,5mmol) và DMF (25ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 60°C. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, lọc qua xelit, cho thêm nước (100ml) và điều chỉnh bằng dung dịch axit xitric 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6. Hỗn hợp này được lọc, và bánh lọc được tái kết tinh với axetonitril để thu được hợp chất

5-(2-ethylimidazo[1,2-a] pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril (có công thức 18) (7,2g). Hiệu suất bằng 83,8%.

Bước G: NBS (5,28g, 29,7mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 18 (7,2g, 24,7mmol) trong DMF (70ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (210ml) và được lọc, và bánh lọc được rửa bằng nước (100ml×3) và được tái kết tinh với axetonitril để thu được hợp chất 3-bromo-5-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-cacbonyl)-2-hydroxybenzonitril (có công thức 19) (7,0g). Hiệu suất bằng 76,8%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 9,01 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,58-2,50 (m, 2H), 1,19 (t, J = 7,2 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 368,0 [M-H]⁻.

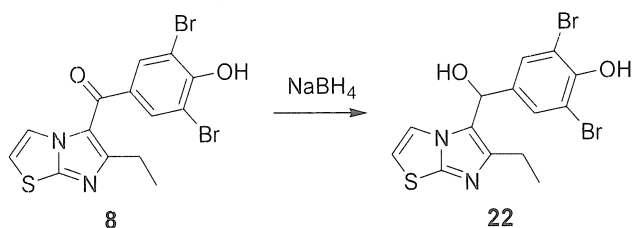
Bước H: Natri bohydrua (50mg, 1,32mmol) được cho vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 19 (50mg, 0,135mmol) trong metanol (5ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 0,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng và cho thêm natri bohydrua (50mg, 1,32mmol). Hỗn hợp này được khuấy trong 0,5 giờ, cho thêm nước (20ml), điều chỉnh bằng dung dịch axit xitric 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6, chiết bằng etyl axetat/THF (với tỷ lệ theo thể tích 7/1, 30ml×3), và àm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat:ete dầu mỏ:THF theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10:30:1 đến 20:10:1) để thu được hợp chất 3-bromo-5-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril (có công thức 20). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,18 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,52-7,50 (m, 2H), 7,24-7,20 (m, 1H), 6,84-6,82 (m, 1H), 6,33 (s, 1H), 6,23 (s, 1H), 2,71 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,24 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 372,1 [M+H]⁺.

Phương án 5: Tổng hợp hợp chất 5-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril (có công thức 21)



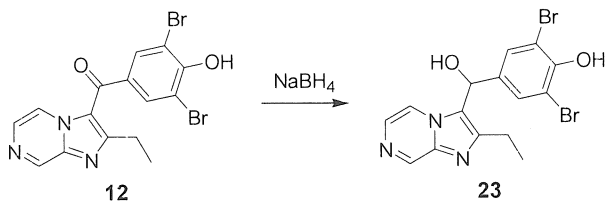
Hợp chất có công thức 18 được sử dụng làm nguyên liệu, và phương pháp điều chế hợp chất có công thức 21 được tiến hành theo bước H trong Phương án 4. ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,14 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,48-7,45 (m, 2H), 7,25-7,22 (m, 1H), 7,18-7,14 (m, 1H), 6,85-6,83 (m, 1H), 6,78-6,74 (m, 1H), 6,16 (s, 1H), 2,71 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,24 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 294,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương án 6: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(6-ethylimidazo [2,1-*b*]thiazol-5-yl)-hydroxymetyl]phenol (có công thức 22)



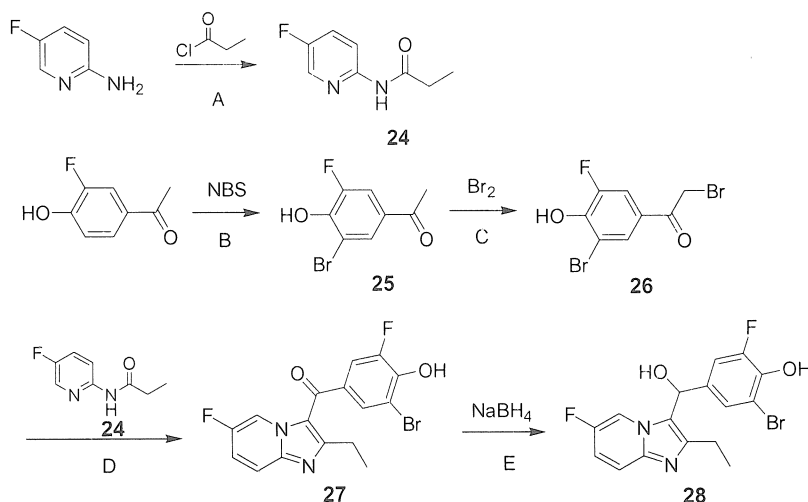
Hợp chất có công thức 8 được sử dụng làm nguyên liệu, và phương pháp điều chế hợp chất có công thức 22 được tiến hành theo bước H trong Phương án 4. ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,93 (s, 1H), 7,52 (d, *J* = 4,8 Hz, 1H), 7,46 (s, 2H), 7,12 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 6,02 (s, 1H), 2,59 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,17 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 432,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Phương án 7: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo [1,2-*a*]pyrazin-3-yl)-hydroxymetyl]phenol (có công thức 23)



Hợp chất có công thức 12 được sử dụng làm nguyên liệu, và phương pháp điều chế hợp chất có công thức 23 được tiến hành theo bước H trong Phương án 4. ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,98 (s, 1H), 8,97 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 8,27-8,26 (m, 1H), 7,81 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 7,47 (s, 2H), 6,46 (d, *J* = 4,4 Hz, 1H), 6,30 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 2,75 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,24 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 425,9 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Phương án 8: Tổng hợp hợp chất 2-bromo-4-[(2-ethyl-6-floimidazo [1,2-*a*]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-6-flophenol (có công thức 28)



Bước A: hợp chất 2-amino-5-flopyridin (2,5g, 22,3mmol) và trietylamin (2,71g, 26,8mmol) được hòa tan trong diclometan (25ml) và cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (2,17g, 23,5mmol) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được làm ấm tự động đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được cho thêm nước (40ml) và chiết bằng diclometan (40ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ 1:5) để thu được hợp chất N-(5-flopyridin- 2-yl)-propionamit (có công thức 24) (3,04g). Hiệu suất bằng 81,1%.

Bước B: NBS (977mg, 5,49mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa 3-flo-4-hydroxyaxetophenon (806mg, 5,23mmol) trong DMF (10ml), và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (50ml) và chiết bằng etyl axetat (50ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (30ml×3) và nước muối (30ml) và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tái kết tinh với hỗn hợp ete dầu mỏ/etyl axetat để thu được hợp chất 3-bromo-5-flo-4-hydroxyaxetophenon (có công thức 25) (1,0g). Hiệu suất bằng 82,0%.

Bước C: Dung dịch chứa brom (824mg, 5,16mmol) trong metanol (5ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 25 (1,0g, 4,29mmol) trong metanol (20ml), và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (60ml) và chiết bằng etyl axetat (60ml×3), và pha hữu cơ

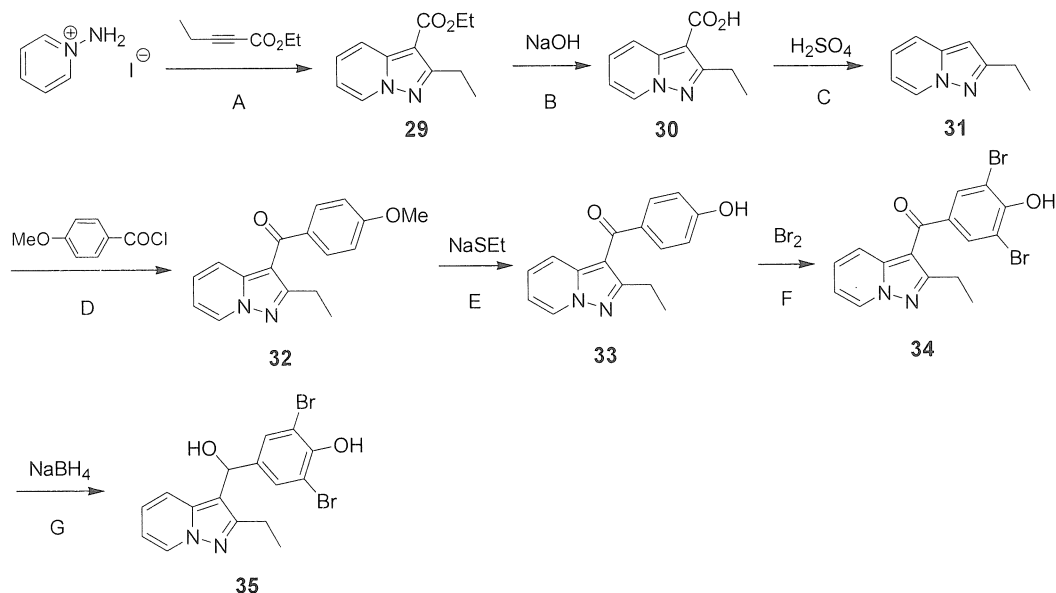
kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:5) để thu được hợp chất 2-bromo-1-(3-bromo-5-flo-hydroxyphenyl)etanon (có công thức 26) (940mg). Hiệu suất bằng 70,2%.

Bước D: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 24 (210mg, 1,25mmol), hợp chất có công thức 26 (300mg, 0,962mmol) và N-metylpyrrolidon (10ml) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ 150°C. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (50ml), điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8, và điều chỉnh bằng dung dịch axit xitric 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (50ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:25 đến 1:5) để thu được hợp chất (3-bromo-5-flo-4-hydroxyphenyl)(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a] pyridin-3-yl)metanon (có công thức 27). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 11,44 (s, 1H), 9,24-9,22 (m, 1H), 7,88-7,85 (m, 1H), 7,75-7,71 (m, 2H), 7,63-7,60 (m, 1H), 2,47 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,18 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 379,0 [M-H]⁺.

Bước E: Natri bohydrua (80mg, 2,11mmol) và lithi clorua (14mg, 0,330mmol) được cho thêm vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 27 (80mg, 0,210mmol) trong metanol (10ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 2,5 giờ ở nhiệt độ 35°C. Hỗn hợp này được cho thêm nước (20ml), điều chỉnh bằng dung dịch axit xitric 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6, và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Hỗn hợp này được lọc bằng tấm silicagel ngấn, dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tái kết tinh bằng hỗn hợp etyl axetat/ete dầu mỏ để thu được hợp chất 2-bromo-4-[(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-hydroxymetyl]-6-flophenol (có công thức 28). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,43 (s, 1H), 8,27-8,25 (m, 1H), 7,59-7,56 (m, 1H), 7,31-7,25 (m, 2H), 7,15-7,12 (m, 1H), 6,33 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 6,21

(d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 2,66 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,21 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 383,0 $[M+H]^+$.

Phương án 9: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethylpyrazolo [1,5-a]pyridin-3-yl)-hydroxymetyl]phenol (có công thức 35)



Bước A: Hỗn hợp của hợp chất 1-aminopyridini iodua (15,54g, 70,0mmol), etyl 2-pentynoat (9,72g, 77,1mmol), kali cacbonat (21,26g, 154mmol) và DMF (150ml) được khuấy trong 4,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (450ml) và lọc, và bánh lọc được rửa bằng nước (100ml) để thu được hợp chất etyl 2-ethylpyrazolo[1,5-a]-pyridin-3-format (có công thức 29) (12,25g). Hợp chất này được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo mà không cần làm khô.

Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 29 dạng ướt (12,25 g), ethanol (30ml), THF (30ml) và dung dịch natri hydroxit 2M trong nước (70ml) được khuấy qua đêm ở 60°C. Khoảng một nửa dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và hỗn hợp này được cho thêm nước (150ml) và điều chỉnh bằng axit clohydric 2M cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6. Hỗn hợp này được lọc để thu được axit 2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-formic (có công thức 30) (10,0g). Hợp chất này được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo mà không cần làm khô.

Bước C: hợp chất có công thức 30 dạng ướt (5,60g) được tạo huyền phù trong nước (100ml) và cho thêm axit sulfuric đậm đặc (4ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ 80°C. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và điều chỉnh bằng dung dịch natri hydroxit 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm

trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (30ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất 2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin (có công thức 31) (3,18g). Tổng hiệu suất của các phản ứng trong các bước A, B và C bằng 47,7%.

Bước D: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 31 (584mg, 3,99mmol), 4-metoxycarbonyl chloride (680mg, 3,99mmol) và nhôm trichlorua (800mg, 6,0mmol) được khuấy qua đêm ở nhiệt độ 100°C. Hỗn hợp này được làm nguội một chút, cho thêm etyl axetat (30ml) và nước (30ml), và điều chỉnh bằng dung dịch natri hydroxit 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 9 đến 10. Hỗn hợp này tách lớp, và lớp hữu cơ được thu gom. Pha nước được chiết bằng etyl axetat (30ml×2), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:30 đến 1:10) để thu được hợp chất (2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl) (4-metoxyphenyl)methanone (có công thức 32) (305mg). Hiệu suất bằng 27,3%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 8,79 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 7,44-7,39 (m, 1H), 7,33-7,30 (m, 1H), 7,08-7,03 (m, 3H), 3,86 (s, 3H), 2,84 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,21 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Bước E: natri hydrua 60% (218mg, 5,45mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa etanthiol (338mg, 5,44mmol) trong DMF (3ml), hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong khoảng 5 phút và sau đó được cho thêm dung dịch chứa hợp chất có công thức 32 (305mg, 1,09mmol) trong DMF (3ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ 120°C. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (30ml) và điều chỉnh bằng axit clohydric loãng cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Sau đó, hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (30ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (20ml×3) và nước muối (20ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất (2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl) (4-hydroxyphenyl)methanone (có công thức 33) (420mg). Hợp chất này được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 10,22 (s, 1H), 8,76 (d, J = 6,6 Hz,

1H), 7,56 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,42-7,31 (m, 2H), 7,05-7,01 (m, 1H), 6,87 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 2,84 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,20 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 265,1 $[M-H]^-$.

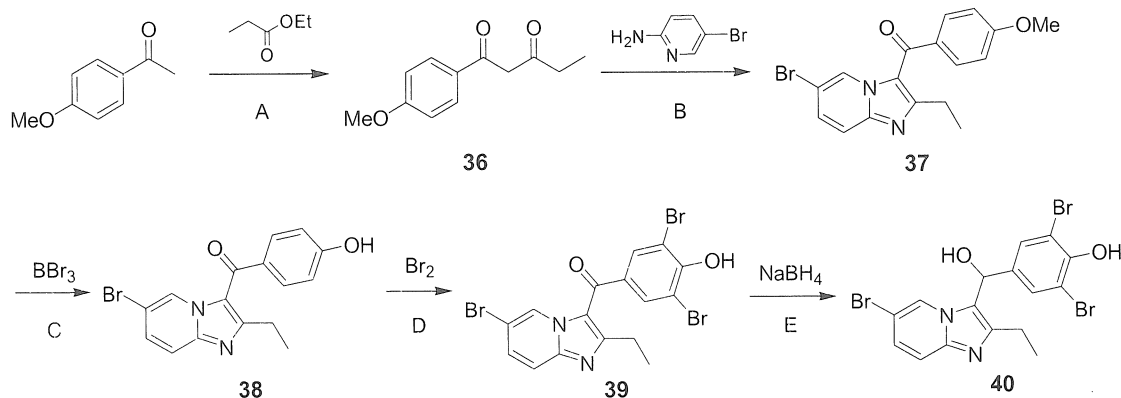
Bước F: Dung dịch chứa brom (67mg, 0,419mmol) trong axit axetic (1ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 33 (73mg) và natri axetat khan (46,3mg, 0,564mmol) trong axit axetic (5ml), và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch natrihydro sulfit loãng trong nước được cho thêm nhỏ giọt vào hỗn hợp phản ứng cho đến khi màu nhạt dần. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và hỗn hợp phản ứng được cho thêm lượng nước thích hợp và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×2) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:20 đến 1:1) để thu được hợp chất

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)metanon (có công thức 34) (60mg). Tổng hiệu suất của các phản ứng trong bước A và B là 75,4%. 1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 10,77 (s, 1H), 8,81 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 7,80 (s, 2H), 7,50-7,40 (m, 2H), 7,12-7,07 (m, 1H), 2,82 (q, $J = 7,5$ Hz, 2H), 1,23 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 420,9 $[M-H]^-$.

Bước G: Natri bohydrua (143mg, 3,78mmol) được cho thêm vào hỗn hợp của hợp chất có công thức 34 (160mg, 0,377mmol), metanol (15ml) và nước amoniac đậm đặc (5ml). Hỗn hợp thu được được đun hồi lưu và khuấy trong 0,5 giờ, cho thêm natri bohydrua (143mg, 3,78mmol) và khuấy liên tục trong 0,5 giờ, và được cho thêm natri bohydrua (143mg, 3,78mmol) và được khuấy liên tục trong 1 giờ ở nhiệt độ này. Hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (20ml), điều chỉnh bằng dung dịch axit xitric 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 5 đến 6, và chiết bằng etyl axetat (30ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ 1:5) để thu được hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethylpyrazolo [1,5-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-phenol (có công thức

35). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 9,84 (s, 1H), 8,55-8,54 (m, 1H), 7,46-7,43 (m, 3H), 7,14-7,10 (m, 1H), 6,79-6,76 (m, 1H), 5,98 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 5,88 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 2,72 (q, $J = 7,6$ Hz, 2H), 1,18 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H). MS (EI, m/z): 425,0 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

Phương án 10: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(6-bromo-2-ethylimidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)hydroxymetyl]phenol (có công thức 40)



Bước A: natri hydrua 60% (1,68g, 42mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa p-metoxaxetophenon (3,0g, 20,0mmol) trong DMF (15ml) ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 0°C . Sau khi cho thêm, hỗn hợp được khuấy liên tục trong 40 phút ở nhiệt độ này và sau đó được cho thêm nhỏ giọt etyl propionat (2,04g, 20mmol). Sau đó, hỗn hợp này được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được cho thêm nước (60ml) và chiết bằng etyl axetat (30ml $\times$ 3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml $\times$ 2) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ 1:30) để thu được hợp chất 1-(4-metoxyphenyl)pentan-1,3-dion (có công thức 36) (3,16g). Hiệu suất bằng 76,6%.

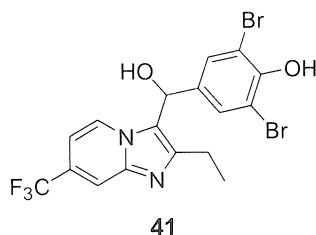
Bước B: 2-amino-5-bromopyridin (1,3g, 7,51mmol) và hợp chất có công thức 36 (1,86g, 9,02mmol) được hòa tan trong THF (26ml), và hỗn hợp này được cho thêm lần lượt iodobenzendiaxetat (2,9g, 9,00mmol) và sản phẩm ete hóa bo triflorua dietyl (220mg, 1,55mmol) trong bể nước-nước đá, sau đó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được cho thêm nước (30ml), điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8, và được chiết bằng etyl axetat (30ml $\times$ 3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (20ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp

suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ theo tỷ lệ 1:30) để thu được hợp chất (6-bromo-2-ethylimidazo [1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxypheyl)metanon (có công thức 37) (575mg). Hiệu suất bằng 21,3%.

Quy trình thử nghiệm trong bước C và D được tiến hành giống như bước C và D trong Phương án 1.

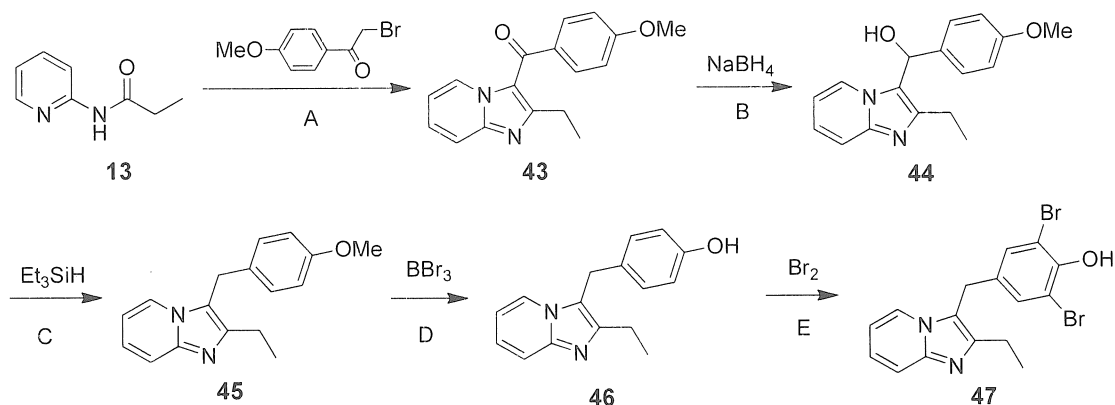
Quy trình thử nghiệm trong bước E được tiến hành giống như bước H trong Phương án 4, và thu được hợp chất 2,6-dibromo-4-[(6-bromo-2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl) hydroxymetyl]phenol (có công thức 40). ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,98 (s, 1H), 8,40 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,55-7,48 (m, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,35-7,32 (m, 1H), 6,38 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 6,26 (d, *J* = 4,0 Hz, 1H), 2,60 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,18 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 502,9 [M-H]⁻.

Phương án 11: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4- {[2-etyl-7-(triflometyl)-imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl]hydroxymetyl}phenol (có công thức 41)



Phương pháp điều chế hợp chất có công thức 41 được tiến hành theo Phương án 10, trong đó hợp chất 2-amino-3-bromopyridin trong bước B của Phương án 10 được thay thế bằng hợp chất 2-amino-4-triflometylpyridin. ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,39 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,44 (s, 2H), 7,12-7,10 (m, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,46 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 2,76 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 494,9 [M+H]⁺.

Phương án 13: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)-metyl]phenol (có công thức 47)



Bước A: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 13 (300mg, 2,0mmol), 2-bromo-1-(4-metoxypheyl)etanon (460mg, 2,0mmol) và metylbenzen (10ml) được đun hồi lưu và khuấy trong 48 giờ. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (30ml) và điều chỉnh bằng dung dịch kali cacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silica gel cỡ từ 200 đến 300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ theo tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:30 đến 1:1) để thu được hợp chất (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxypheyl)-metanon (có công thức 43) (254mg). Hiệu suất bằng 45,3%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ 9,18 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,74-7,69 (m, 3H), 7,58-7,55 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 7,09 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,45 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 1,11 (t, J = 7,5 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 281,1 [M+H]⁺.

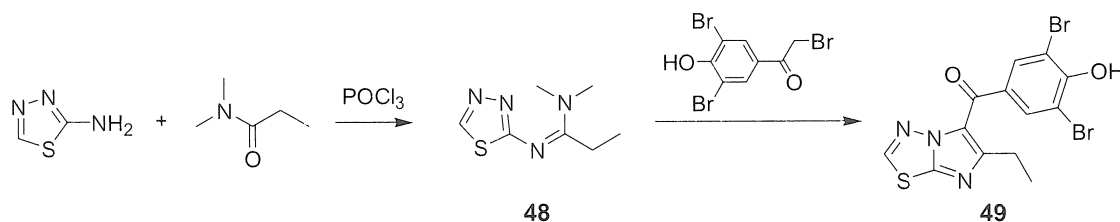
Bước B: Natri bohydrua (267mg, 7,06mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 43 (1,32g, 4,71mmol) trong metanol (20ml). Sau khi cho thêm, hỗn hợp này được khuấy liên tục trong 20 phút. Hỗn hợp này được cho thêm nước (100ml), và một lượng lớn chất rắn được tách ra. Hỗn hợp này được lọc, và bánh lọc được hòa tan bằng etyl axetat (120ml). Dung dịch tạo thành được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất (2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxypheyl)metanon (có công thức 44) (1,29g). Hiệu suất bằng 97,0%. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 8,14-8,12 (m, 1H), 7,48-7,45 (m, 1H), 7,24 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,16-7,12 (m, 1H), 6,90-6,88 (m, 2H), 6,74-6,72 (m, 1H), 6,23 (s, 1H), 6,07 (s,

1H), 3,72 (s, 3H), 2,74 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,26 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

Bước C: Hợp chất triethylsilican (1,31g, 11,3mmol) được cho vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 44 (1,06g, 3,75mmol) và sản phẩm ete hóa bo triflorua dietyl (2,66g, 18,7mmol) trong diclometan (40ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (40ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này tách lớp, pha nước được chiết bằng diclometan (40ml×2), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tái kết tinh với hỗn hợp ete diclometan/ete dầu mỏ để thu được hợp chất 2-etyl-3-(4-metoxymethyl)imidazo[1,2-a]pyridin (có công thức 45) (896mg). Hiệu suất bằng 89,7%.

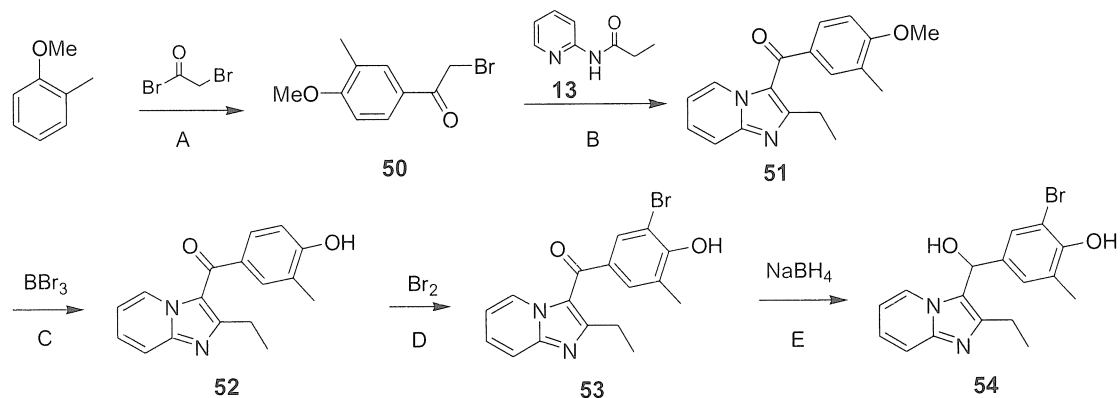
Quy trình thử nghiệm trong bước D và E được thực hiện theo bước C và D trong Phương án 1 để thu được hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo [1,2-a]pyridin-3-yl)methyl]phenol (có công thức 47). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,84 (s, 1H), 8,15 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,49 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,29 (s, 2H), 7,20-7,16 (m, 1H), 6,86-6,83 (m, 1H), 4,25 (s, 2H), 2,75 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,25 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 409,0 [M-H]⁺.

Phương án 14: Tổng hợp hợp chất (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl) (6-ethylimidazo-[2,1-b][1,3,4]thiadiazol-5-yl)metanon (có công thức 49)



Phương pháp điều chế hợp chất có công thức 49 được tiến hành theo các bước A và B trong Phương án 2, trong đó hợp chất 2-aminothiazol trong bước A của Phương án 2 được thay thế bằng hợp chất 2-amino-1,3,4-thiadiazol và hợp chất 2-bromo-1-(4-metoxymethyl)etanon được thay thế bằng hợp chất 2-bromo-1-(3,5-dibromo-4-metoxymethyl)etanon. ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,23 (s, 1H), 7,84 (s, 2H), 2,69 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 1,22 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 429,8 [M-H]⁺.

Phương án 15: Tổng hợp hợp chất 2-bromo-4-(2-ethylimidazo [1,2-a] pyridin-3-yl)-hydroxymethyl-6-metylphenol (có công thức 54)



Bước A: Dung dịch chứa hợp chất bromoaxetyl bromua (9,9g, 49,0mmol) trong diclometan (10ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa 2-metylanisol (5,0g, 40,9mmol) và nhôm triclơrua (6,0g, 45,0mmol) trong diclometan (40ml) trong khoảng 20 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 5°C. Sau khi cho thêm, hỗn hợp thu được được khuấy liên tục trong 2,0 giờ ở nhiệt độ này. Hỗn hợp phản ứng được rót vào lượng nước đá thích hợp trong theo các mẻ và chiết bằng diclometan (60ml×3). Pha hữu cơ kết hợp được rửa lần lượt bằng nước (30ml), dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (30ml×2), nước (30ml) và nước muối (30ml) và sau đó được làm khô bằng natri sulfat khan. Pha hữu cơ được lọc bằng cột silicagel ngắn. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:100 đến 1:30) để thu được hợp chất 2-bromo-1-(3-metyl-4-metoxypheyl)etanon (có công thức 50) (3,0g). Hiệu suất bằng 30,2%.

Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 13 (1,85g, 12,3mmol), hợp chất có công thức 50 (3,0g, 12,3mmol) và metylbenzen (30ml) được đun hồi lưu và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (50ml) và điều chỉnh bằng dung dịch kali cacbonat 2M trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (60ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Sản phẩm này được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silica gel cỡ từ 200 đến 300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:10 đến 1:5) để thu được hợp chất

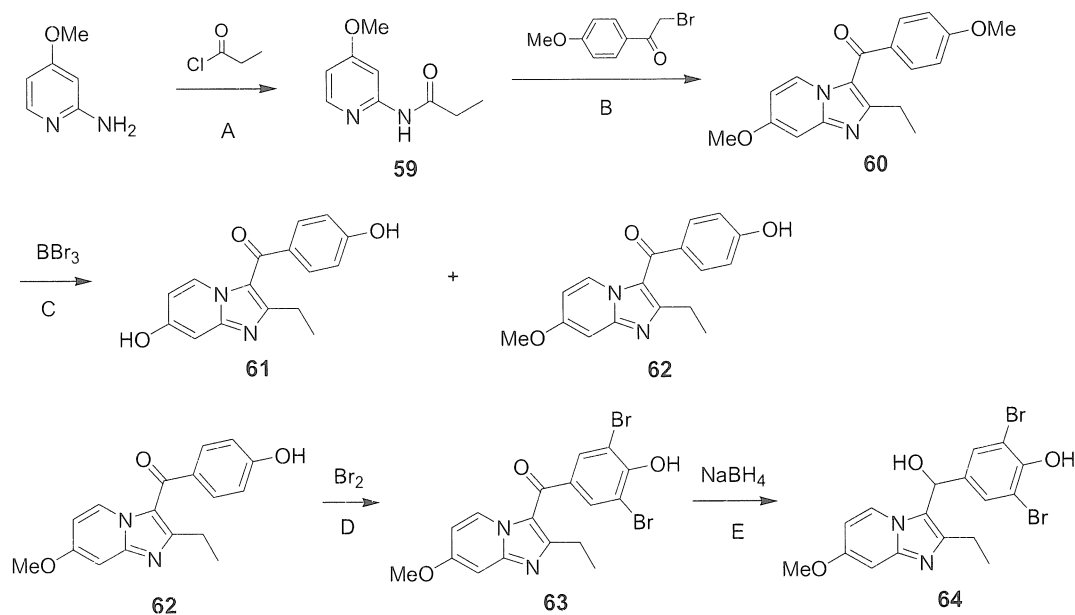
(3-metyl-4-metoxypheyl)(2-etylimidazo [1,2-a]pyridin-3-yl)- metanon (có công thức 51) (1,7g). Hiệu suất bằng 47,0%.

Bước C: Dung dịch chứa bo tribromua 1,0M trong metylbenzen (6,8ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 51 (800mg, 2,72mmol) trong diclometan khan (20ml) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 6 giờ trong bể nước-nước đá. Hỗn hợp phản ứng này được rót vào lượng nước đá thích hợp và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×2) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:5 đến 2:1) để thu được hợp chất (3-metyl-4-hydroxypheyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metanon (có công thức 52) (630mg). Hiệu suất bằng 82,6%.

Bước D: NBS (440mg, 2,47mmol) được cho thêm từng phần vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 52 (630mg, 2,25mmol) trong DMF (10ml), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (40ml), chiết bằng etyl axetat (30ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:1) để thu được hợp chất (3-bromo-4-hydroxy-5-metylphenyl)-(2-etylimidazo [1,2-a]pyridin-3-yl) metanon (có công thức 53) (625mg). Hiệu suất bằng 77,3%.

Quy trình thử nghiệm trong bước E được thực hiện theo bước H trong Phương án 4 để thu được hợp chất 2-bromo-4-(2-etylimidazo[1,2-a] pyridin-3-yl)hydroxymetyl-6-metylphenol (có công thức 54). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,07 (s, 1H), 8,04 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,26-7,17 (m, 2H), 6,97 (s, 1H), 6,80-6,77 (m, 1H), 5,86 (s, 1H), 2,77 (q, J = 7,6 Hz, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,25 (t, J = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, m/z): 360,0 [M-H]⁺.

Phương án 17: Tổng hợp hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-etyl-7-metoxymidazo[1,2-a]-pyridin-3-yl)hydroxymetyl]phenol (có công thức 64)



Bước A: hợp chất 2-amino-4-metoxypyridin (4,9g, 39,5mmol) và trietylamin (4,4g, 43,5mmol) được hòa tan trong tetrahydrofuran (30ml) và cho thêm nhỏ giọt propionyl clorua (4,0g, 43,5mmol) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được cho thêm nước (100ml) và chiết bằng etyl axetat (60ml×3), pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (30ml), và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Kali cacbonat (4,1g, 29,7mmol), metanol (50ml) và nước (12ml) được cho thêm vào sản phẩm, và hỗn hợp thu được được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, hỗn hợp này được cho thêm nước (20ml) và chiết bằng etyl axetat (30ml×3), và pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (15ml) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất N-(4-metoxypyridin-2-yl)-propionamit (có công thức 59) (4,85g). Hiệu suất bằng 68,2%.

Bước B: Hỗn hợp của hợp chất có công thức 59 (4,85g, 26,9mmol), 2-bromo-1-(4-metoxyphenyl)etanon (6,14g, 26,9mmol) và metylbenzen (50ml) được đun hồi lưu và khuấy qua đêm. Hỗn hợp này được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, cho thêm nước (50ml) và điều chỉnh bằng dung dịch kali cacbonat 2M cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 8 đến 9. Hỗn hợp này được chiết bằng diclometan (70ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp etyl axetat: ete dầu mỏ với tỷ lệ nằm trong khoảng từ

1:5 đến 2:3) để thu được hợp chất (2-ethyl-7-metoxymidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)(4-metoxymethyl)metanon (có công thức 60) (900mg). Hiệu suất bằng 10,8%. ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 9,08 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,67 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,17 (s, 1H), 7,08 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,88-6,86 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 2,38 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,10 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Bước C: Dung dịch chứa bo tribromua 1,0M trong metylbenzen (9ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 60 (900mg, 2,9mmol) trong diclometan khan (25ml) trong bể nước-nước đá, và hỗn hợp thu được được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch phản ứng này được rót vào nước đá (50ml) và điều chỉnh bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước cho đến khi giá trị độ pH nằm trong khoảng từ 7 đến 8. Hỗn hợp này được chiết bằng etyl axetat (40ml×3) và làm khô bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sản phẩm được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (rây silicagel cỡ 200-300 mesh, được rửa giải bằng hỗn hợp metanol: diclometan với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 1:50 đến 1:20) để thu được hợp chất (2-ethyl-7-hydroxymidazo[1,2-a]pyridin-3-yl) (4-hydroxymethyl)metanon (có công thức 61) (477mg) và hợp chất (2-ethyl-7-metoxymidazo[1,2-a]pyridin-3-yl) (4-hydroxymethyl)-metanon (có công thức 62) (277mg). Hiệu suất tương ứng bằng 58,3% và 32,2%. Hợp chất có công thức 61: ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,83 (s, 1H), 10,22 (s, 1H), 9,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,89-6,84 (m, 3H), 6,77-6,75 (m, 1H), 2,37 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,08 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). Hợp chất có công thức 62: ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 10,25 (s, 1H), 9,03 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,57 (dd, *J* = 2,0, 6,8 Hz, 2H), 7,15 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,91-6,83 (m, 3H), 3,91 (s, 3H), 2,45 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,11 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

Quy trình thử nghiệm trong bước D và E được thực hiện theo bước F và G trong Phương án 9 để thu được hợp chất 2,6-dibromo-4-[(2-ethyl-7-metoxymidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)methyl]phenol (có công thức 64). ^1H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 7,95 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,40 (s, 2H), 6,87 (s, 1H), 6,52 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 6,25 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 6,14 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 2,63 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H), 1,22 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). MS (EI, *m/z*): 453,0 [*M*-H]⁻.

Phương án 19: Thử nghiệm tác dụng ức chế sự vận chuyển axit uric của các hợp chất đối với dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1

I. Nguyên liệu

Dòng tế bào HEK293 được mua từ Trung tâm tài nguyên tế bào của Viện khoa học sinh học Thượng Hải - Học viện khoa học Trung Quốc. Plasmid pCMV6-hURAT1 được mua từ công ty Origene Technologies, Inc. Geneticin (G418) được mua từ công ty Sangon Biotech Co., Ltd. Poly-lysine được mua từ công ty Sigma-Aldrich Co. LLC. ^{14}C -axit uric được mua từ công ty American Radiolabeled Chemicals, Inc. Natri gluconat, kali gluconat, canxi gluconat, KH_2PO_4 , MgSO_4 , glucoza và HEPES được mua từ công ty Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. Môi trường nuôi cấy DMEM và huyết thanh bào thai bò được mua từ công ty Thermo Fisher Scientific Inc. Benzbromarone được mua từ công ty Sigma-Aldrich Co. LLC.

II. Phương pháp thử nghiệm

1. Tạo cấu trúc của dòng tế bào HEK293 có sự biểu hiện của hURAT1 ở mức cao:

Plasmid pCMV6-hURAT1 được chuyển nhiễm vào các tế bào HEK293, và sau đó thu được chủng ổn định bằng cách sàng lọc tính kháng G418 (nồng độ cuối bằng 500 $\mu\text{g/ml}$), chủng này có mức độ biểu hiện của protein màng vận chuyển hURAT1 ở mức cao. Nó cũng có thể được sử dụng cho thử nghiệm *in vitro* của chất vận chuyển axit uric hURAT1 (Weaver YM, Ehresman DJ, Butenhoff JL, et al. Roles of rat renal organic anion transporters in transporting perfluorinated carboxylates with different chain lengths. Toxicological Sciences, 2009, 113(2):305-314). Các tế bào HEK293 là tế bào thận của phôi người có hiệu quả chuyển nhiễm cao, và là dòng tế bào được thiết kế được sử dụng rất phổ biến để biểu hiện các gen ngoại sinh.

2. Đĩa có 24 lỗ có phủ được cho thêm 200 μl poly-lysine 0,1 mg/ml vào mỗi lỗ và đĩa này được để qua đêm. Poly-lysine được loại bỏ ra khỏi các lỗ. Các lỗ này được làm sạch kỹ bằng nước vô khuẩn và được làm khô để sử dụng.

3. Đĩa có 24 lỗ có phủ trên đây được cho thêm các tế bào ổn định HEK293-hURAT1 (2×10^5 tế bào/lỗ). Các tế bào này được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong môi trường 5% CO_2 trong 3 ngày.

4. Điều chế dung dịch đệm HBSS: các chất phản ứng sau đây được định lượng theo nồng độ cuối: natri gluconat 125mM, kali gluconat 4,8mM, canxi gluconat 1,3mM, KH_2PO_4 1,2mM, MgSO_4 1,2mM, glucoza 5,6mM và HEPES 25mM với nước đã loại ion.

Dung dịch này được trộn đều để thu được HBSS (độ pH = 7,4). Dung dịch đệm này được bảo quản ở nhiệt độ -20°C.

5. Dung dịch đệm HBSS được làm ấm đến nhiệt độ 37°C trong bể nước. Lấy đĩa có 24 lỗ chứa các tế bào ổn định HEK293-hURAT1, loại bỏ môi trường nuôi cấy và rửa các tế bào bằng HBSS, sau đó cho thêm 160µl HBSS và 20µl hợp chất thử nghiệm vào mỗi lỗ. Nồng độ cuối của hợp chất thử nghiệm trong mỗi lỗ là 500nM. Lỗ đối chứng trống chỉ chứa 180µl HBSS mà không có hợp chất thử nghiệm. Đĩa này được để ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút.

6. Mỗi lỗ này được cho thêm 20µl ^{14}C -Axit uric 50µM. Đĩa có 24 lỗ này được để ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút.

7. Dung dịch trong mỗi lỗ được loại bỏ và các tế bào được rửa bằng dung dịch đệm HBSS đã được làm lạnh từ trước. Mỗi lỗ được cho thêm NaOH 0,2M để hòa tan các tế bào. Dung dịch chứa các mảnh tế bào được thu gom và lượng thích hợp của dung dịch nhấp nháy được thêm vào. Sau đó, cường độ chất đồng vị phóng xạ của ^{14}C -Axit uric (giá trị số lần đếm trong một phút (CPM)) được phát hiện bằng cách sử dụng thiết bị phân tích sự nhấp nháy của chất lỏng PerkinElmer MicroBeta Trilux 1450.

8. Công thức tính tỷ lệ ức chế sự vận chuyển axit uric của các hợp chất được thể hiện như dưới đây (Bảng 1), giá trị CPM của các hợp chất được thử nghiệm được thể hiện là $\text{CPM}_{(\text{hợp chất thử nghiệm})}$ và giá trị CPM của đối chứng trống được thể hiện là $\text{CPM}_{(\text{đối chứng trống})}$. Tất cả các thử nghiệm được lặp lại ba lần, và các kết quả được tính trung bình và độ lệch chuẩn (standard deviation: SD) được tính toán:

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)}_{(\text{nồng độ hợp chất 500nM})} = (\text{CPM}_{(\text{đối chứng trống})} - \text{CPM}_{(\text{hợp chất thử nghiệm})}) / \text{CPM}_{(\text{đối chứng trống})} \times 100\%$$

III. Kết quả thử nghiệm

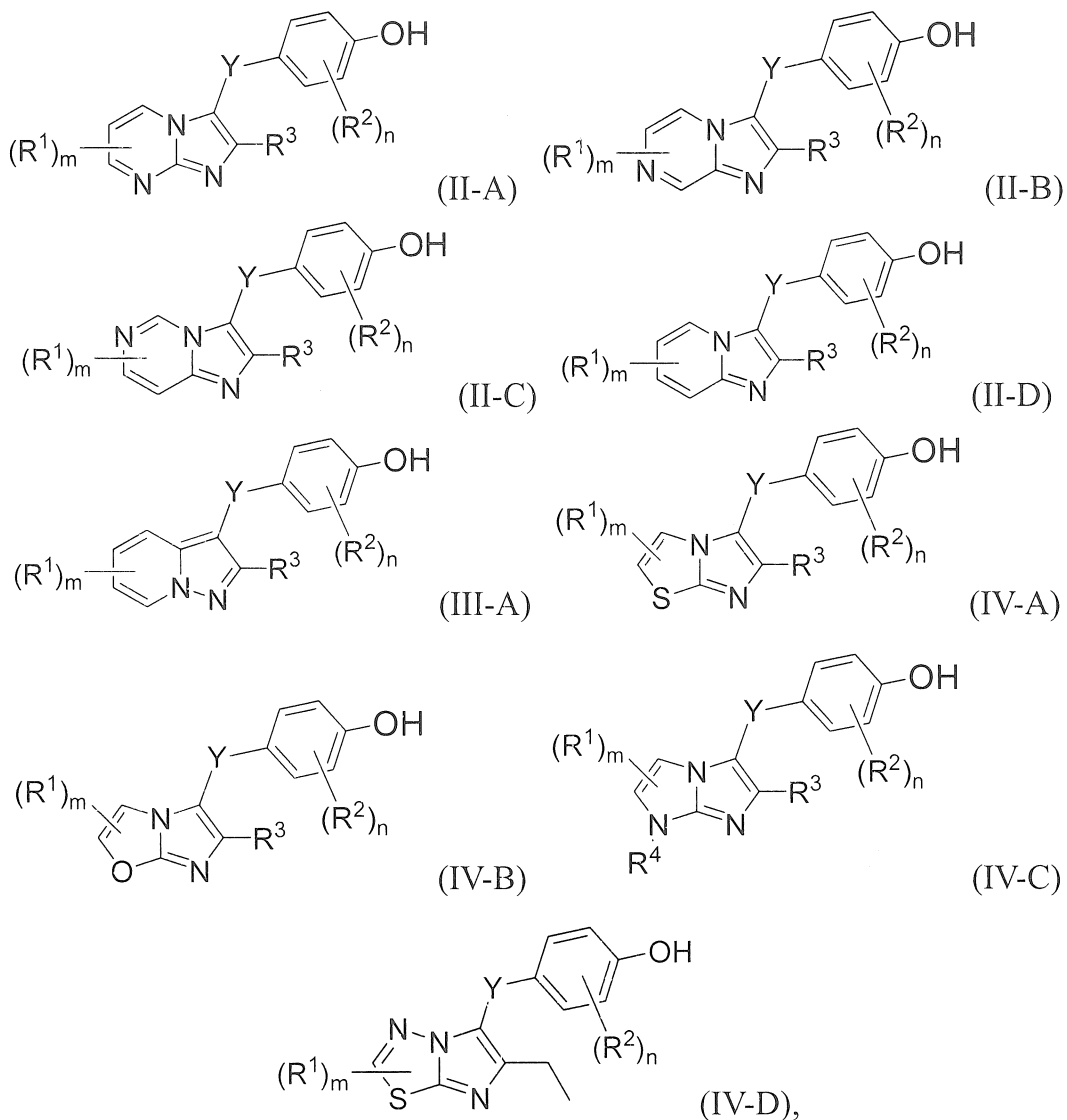
Các kết quả cho thấy rằng so với dược chất đối chứng benzbromarone ở nồng độ 500nM, các hợp chất có công thức 8, 12, 20, 23 và 40 có hiệu quả ức chế rất tốt đối với sự vận chuyển axit uric trong dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1.

Bảng 1: Tỷ lệ ức chế sự vận chuyển axit uric của các hợp chất được thử nghiệm và benzbromarone ở nồng độ 500nM trong dòng tế bào chuyển nhiễm HEK293-hURAT1

Hợp chất có công thức hoặc dược chất	Tỷ lệ ức chế sự vận chuyển axit uric, $\pm$ SD (%)	Hợp chất có công thức hoặc dược chất	Tỷ lệ ức chế sự vận chuyển axit uric, $\pm$ SD (%)
Benzbromarone	$54,77 \pm 5,12$	35	$36,26 \pm 1,79$
4	$49,98 \pm 5,38$	40	$51,70 \pm 2,43$
8	$55,23 \pm 3,94$	41	$37,36 \pm 5,52$
12	$51,31 \pm 0,16$	42	$37,40 \pm 2,36$
20	$62,10 \pm 1,26$	49	$31,91 \pm 0,23$
21	$32,95 \pm 7,33$	54	$42,89 \pm 3,44$
22	$48,16 \pm 3,86$	58	$48,68 \pm 5,61$
23	$50,16 \pm 1,02$	64	$39,94 \pm 5,34$
28	$41,18 \pm 1,92$		

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này được chọn từ các hợp chất được thể hiện bằng các cấu trúc sau,



trong đó

Y là cacbonyl, lưu huỳnh, sulfon, sulfoxit, metylen hoặc imino tùy ý được thế;

R^1 là hydro, đơteri, hydroxy, halogen, nitro, amino, xyano, C_{1-3} alkyl, C_{1-3} alkyl được thế, C_{1-3} amino được thế, C_{1-3} alkoxy hoặc C_{1-3} alkoxy được thế;

R^2 là hydro, halogen, nitro, xyano, C_{1-3} alkyl hoặc C_{1-3} haloalkyl;

R^3 là C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkyl được thế hoặc halogen;

m là số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 3;

n bằng 1 hoặc 2

nhóm thế trong nhóm Y được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, amino, xyano, cacboxyl, C₁₋₃alkoxy hoặc C₁₋₃ alkyl, nhóm thế trong nhóm R¹, R² hoặc R³ được chọn từ nhóm bao gồm hydroxyl, halogen, nitro, amino hoặc xyano;

trong công thức (II-D) và công thức (III-A), Y không là nhóm cacbonyl;

với điều kiện là hợp chất này không là hợp chất (2-etylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)(4-hydroxyphenyl)metanon.

2. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, trong đó Y là nhóm CH-OH, CH-NH₂, CH-CN, NH, NCH₃ hoặc CO, và R³ là C₂₋₃ alkyl; trong công thức (II-D) và công thức (III-A), Y không là nhóm cacbonyl.

3. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, trong đó R¹ là hydro, đoteri, hydroxy, halogen, nitro, amino, xyano, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ haloalkyl, C₁₋₃ alkoxy hoặc C₁₋₃ haloalkoxy, và m bằng 0, 1 hoặc 2.

4. Hợp chất hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm:

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyrimidin-3-yl)metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)metanon;

(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(2-etylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)metanon

;

3-bromo-5-[(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril;

5-[(2-etylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-2-hydroxybenzonitril;

2,6-dibromo-4-[(6-etylimidazo[2,1-b]thiazol-5-yl)hydroxymetyl]phenol;

2,6-dibromo-4-[(2-etylimidazo[1,2-a]pyrazin-3-yl)hydroxymetyl]phenol;

2-bromo-4-[(2-etyl-6-floimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl]-6-

flophenol;

2,6-dibromo-4-[(2-ethylpyrazolo[1,5-a]pyridin-3-yl)hydroxymethyl]phenol;
 2,6-dibromo-4-[(6-bromo-2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymethyl]
 phenol;
 2,6-dibromo-4- {[(2-ethyl-7-(triflometyl)imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)]hydrox
 ymetyl} phenol;
 2,6-dibromo-4-[(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)metyl]phenol;
 (3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)(6-ethylimidazo[2,1-b][1,3,4]thiodiazol-5-yl
)metanon;
 2-bromo-4-(2-ethylimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl-6-metylphenol
 ;
 2,6-dibromo-4- {(2-ethyl-7-metoxymimidazo[1,2-a]pyridin-3-yl)hydroxymetyl}
 phenol.

5. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 hoặc muối được dụng của nó làm hoạt chất hoặc hoạt chất chính, và chất mang được dụng.