



(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)



1-0039228

(51)¹⁹ C07D 249/12; C07D 495/04; A61K (13) B
31/4245; A61K 31/4427; A61K 31/4709;
A61K 31/4725; A61K 31/5375; A61P
25/00; A61P 27/00; A61P 29/00; A61P
35/00; C07D 249/08; C07D 257/04;
C07D 271/06; C07D 271/10; C07D
271/113; C07D 401/04; C07D 401/06;
C07D 403/04; C07D 405/04; C07D
405/06; C07D 405/14; C07D 409/04;
C07D 409/14; C07D 417/04; C07D
417/06; C07D 471/04; A61K 31/41;
A61K 31/4196

(21) 1-2019-05634

(22) 12/04/2018

(86) PCT/EP2018/059468 12/04/2018

(87) WO2018/189340 18/10/2018

(30) 102017000041723 14/04/2017 IT

(45) 25/03/2024 432

(43) 27/04/2020 385

(73) ITALFARMACO S.P.A. (IT)

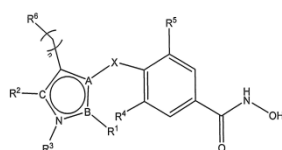
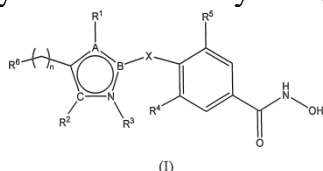
Viale Fulvio Testi, 330, I-20126 Milano (MI), Italy

(72) VERGANI, Barbara (IT); CAPRINI, Gianluca (IT); FOSSATI, Gianluca (IT);
LATTANZIO, Maria (IT); MARCHINI, Mattia (IT); PAVICH, Gianfranco (IT);
PEZZUTO, Marcello (IT); RIPAMONTI, Chiara (IT); SANDRONE, Giovanni (IT);
STEINKÜHLER, Christian (DE); STEVENAZZI, Andrea (IT).

(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

(54) CHẤT ỨC CHẾ ENZYM HISTON DEAXETYLaza 6 (HDAC6) CHỌN LỌC VÀ
DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất benzohydroxamic có công thức (I) và (II) và các muối được dung, chất đồng phân và tiền dược chất của chúng, có hoạt tính ức chế chọn lọc cao đối với enzym histon deacetylaza 6 (histone deacetylase 6: HDAC6)



Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất nêu trên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất ức chế benzohydroxamic chọn lọc đối với enzym histon deacetylaza 6 (histone deacetylase 6: HDAC6) và được phẩm chứa hợp chất này.

Do đó, các hợp chất này hữu ích trong việc điều trị các bệnh liên quan đến hoạt tính của HDAC6 như tình trạng thải bỏ mô ghép, bệnh mô ghép chống tức chủ (GVHD), bệnh viêm cơ, các bệnh liên quan đến chức năng bất thường của tế bào lymphô, bệnh đa u tủy, u lymphô không Hodgkin, bệnh thần kinh ngoại biên, các bệnh tự miễn, bệnh viêm, bệnh ung thư và các bệnh lý thoái hóa thần kinh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vật liệu di truyền của các tế bào có nhân điển hình được sắp xếp trong cấu trúc biến động và phức tạp gồm ADN và các protein, cromatin. Các thành phần protein chính của cromatin là histon, các protein bazơ tương tác với ADN để tạo ra đơn vị cấu trúc bazơ của cromatin, thể nhân, sự kết đặc bậc một của nhiễm sắc thể trong nhân. Sự tương tác giữa các gốc histon bazơ và các gốc axit ADN là rất quan trọng trong việc xác định sự kết đặc thể nhân và khả năng tiếp cận của ADN liên quan với các phức hợp phân tử điều hòa sự sao chép và sự phiên mã. Sự tương tác này bị ảnh hưởng chủ yếu bởi mức độ axetyl hóa của histon. Việc khử sự axetyl hóa của các gốc lysin ở đầu tận cùng N của histon có thể làm proton hóa nhóm amin, nhóm này mang điện tích dương, tương tác với các điện tích âm có trong ADN. Sự tương tác này diễn ra ở trạng thái kết đặc hơn của cromatin, liên quan đến làm bất hoạt sự biểu hiện của gen. Trái lại, sự axetyl hóa chính các gốc này lại ngăn ngừa sự tạo ra liên kết ion, tạo ra dạng kết đặc ít hơn của cromatin, điều này cho phép mức độ tiếp xúc với ADN lớn hơn và sự tương tác với các phức hợp đại phân tử làm hoạt hóa sự phiên mã gen.

Mức độ axetyl hóa của histon được điều hòa bởi sự cân bằng hoạt tính của hai nhóm enzym: histon axetyl transferaza (histone acetyl-transferase: HAT) và histon deaxetylaza (histone deacetylase: HDAC). Việc làm thay đổi sự cân bằng mỏng

manh này có thể dẫn đến sự mất tính nội cân bằng trong tế bào thường phát hiện được trong nhiều bệnh khác nhau ở người, bao gồm bệnh ung thư, các rối loạn thần kinh, bệnh viêm, và các bệnh tự miễn.

Các enzym histon deacetylaza còn được phân loại theo tác dụng xúc tác thuận nghịch của chúng đối với sự khử acetyl hóa các nhóm amin của gốc lysin ở đầu tận cùng N của histon. Sau đó, đã phát hiện được rằng có một số lượng lớn cơ chất của các enzym này do hoạt tính của chúng cũng là do protein không phải histon là cơ chất của enzym HAT chứa N-acetyl-lysin, như các yếu tố phiên mã, enzym sửa chữa ADN và các nhân khác và các protein của chất tế bào.

Nhóm enzym HDAC của người gồm 18 enzym, được chia thành hai nhóm: nhóm HDAC phụ thuộc kẽm và nhóm HDAC phụ thuộc NAD, còn được gọi là sirtuin (nhóm III). Các enzym HDAC phụ thuộc kẽm được phân loại tiếp thành bốn nhóm: 1) Nhóm I, bao gồm HDAC1, 2, 3 và 8, các isoenzym thường gặp, chủ yếu nằm ở nhân; 2) Nhóm IIa, bao gồm HDAC4, 5, 7 và 9, các isoenzym nằm ở cả nhân và chất tế bào; 3) Nhóm IIb, bao gồm HDAC6 và HDAC10, chủ yếu nằm trong chất tế bào và 4) Nhóm IV, chỉ bao gồm HDAC11. Khác với các enzym HDAC nhóm I, các enzym nhóm IIa và IIb có sự biểu hiện đặc hiệu mô.

Bằng cách điều hòa sự biểu hiện gen và tác dụng đối với histon và các yếu tố dịch mã, rõ ràng là các enzym này liên quan đến vô số chức năng của tế bào. Ngoài ra, bằng cách tác dụng đến nhiều cơ chất của protein khác, các enzym này cũng như enzym phosphatase, liên quan đến nhiều quá trình khác như sự truyền tín hiệu và sự tái cấu trúc khung tế bào.

Trong các thập kỷ gần đây, các enzym HDAC trở thành đích điều trị được nghiên cứu kỹ. Một số chất ức chế HDAC đã được tổng hợp, một số chất này hiện đang được sử dụng trong lâm sàng tiên tiến và bốn chất trong số chúng đã được chấp thuận sử dụng cho các loại bệnh ung thư khác nhau: Vorinostat và Romidepsin đối với u lymphô tế bào T ở da (Cutaneous T-cell lymphoma: CTCL), Belinostat đối với u lymphô tế bào T ngoại vi (Peripheral T-cell lymphoma: PTCL) và Panobinostat đối với bệnh đa u tủy. Các chất ức chế cuối cùng này có thể tương tác với các thể đồng dạng HDAC khác nhau ở mức độ khác nhau.

Mặc dù chúng hiệu quả lâm sàng, việc sử dụng các chất ức chế toàn diện không có tính chọn lọc đối với thể đồng dạng cụ thể bị hạn chế bởi độc tính và các

tác dụng phụ của chúng quan sát được ở cả mô hình tiền lâm sàng và, quan trọng nhất là trong các thử nghiệm lâm sàng. Do đó, cần phát triển các chất ức chế HDAC có profin được lý và cửa sổ điều trị (tỷ lệ hiệu quả/độc tính tế bào) tốt hơn.

Do đó, các nhà khoa học đã tập trung vào việc tổng hợp và nghiên cứu các chất ức chế chọn lọc đối với các thể đồng dạng HDAC riêng biệt, nhằm phát triển các phân tử có khả năng được lý tốt hơn.

Do đó, việc sử dụng các chất ức chế HDAC có thể là công cụ chẩn đoán và điều trị quan trọng đối với các bệnh lý do sự biểu hiện gen gây ra như các rối loạn viêm, bệnh đái tháo đường, các biến chứng của bệnh đái tháo đường, bệnh thiếu máu Địa trung hải đồng hợp tử, bệnh xơ hóa, bệnh xơ gan, bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp tính (acute promyelocytic leukaemia: APL), tình trạng thái ghép cơ quan, các bệnh tự miễn, bệnh nhiễm động vật đơn bào, bệnh ung thư, v.v.. Các chất ức chế chọn lọc đối với họ HDAC hoặc đối với thể đồng dạng cụ thể, đặc biệt là HDAC6, có thể đặc biệt hữu ích để điều trị các bệnh lý liên quan đến rối loạn tăng sinh và sự tích tụ protein, các rối loạn của hệ miễn dịch và bệnh thần kinh và thoái hóa thần kinh như đột quỵ, bệnh Huntington, bệnh xơ cứng cột bên teo cơ (ALS) và bệnh Alzheimer.

Đặc biệt là đối với thể đồng dạng HDAC6, các cơ chất khác nhau đã được xác định như α -tubulin, protein sốc nhiệt 90 (Heat Shock Protein 90: Hsp90), cortactin, β -catenin. Sự điều biến mức độ acetyl hóa của các protein này bằng HDAC6 có tương quan với một số quy trình quan trọng như đáp ứng miễn dịch (Wang et al., Nat. Rev. Drug Disc. (2009), 8(12), 969-981; J. Med. Chem. (2012), 55, 639-651; Mol. Cell. Biol. (2011), 31(10), 2066-2078), sự điều hòa động lực vi ống, bao gồm sự di trú của tế bào và sự tương tác tế bào-tế bào (Aldana-Masangkay et al., J. Biomed. Biotechnol. (2011), 2011, 875824), và sự thoái biến của các protein thoái hóa.

Ngoài ra, HDAC6 liên quan đến hiện tượng dị hóa của các protein thoái biến qua phức hợp được gọi là quần tụ: HDAC6 có thể gắn kết các protein được polyubiquitin hóa và dynein, nhờ đó hoạt hóa loại vận chuyển các protein biến tính dọc theo vi ống đến quần tụ (Kawaguchi et al., Cell (2003) 115 (6), 727-738).

Sự biến đổi hoạt tính bảo vệ tế bào của HDAC6 này có tương quan với nhiều bệnh lý thoái hóa thần kinh khác nhau như bệnh Parkinson (Outerio et al., Science (2007), 317 (5837), 516-519) và bệnh Huntington (Dompierre et al., J. Neurosci.

(2007), 27(13), 3571-3583), trong đó sự tích tụ các protein thoái biến là dấu hiệu bệnh lý phổ biến.

Ngoài ra, HDAC6 liên quan đến sự điều hòa nhiều protein gây ung thư, đặc biệt là ở các khối u huyết học, như các loại bệnh bạch cầu khác nhau (Fiskus et al., Blood (2008), 112(7), 2896-2905; Rodriguez-Gonzales, Blood (2008), 112(11), abstract 1923) và bệnh đa u tủy (Hideshima et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2005), 102(24), 8567-8572). Sự điều hòa mức độ axetyl hóa α -tubulin bằng HDAC6 có thể liên quan đến sự khởi phát di căn, trong đó tính di động của tế bào đóng vai trò quan trọng (Sakamoto et al., J. Biomed. Biotechnol. (2011), 2011, 875824).

Công bố đơn quốc tế số WO 2011/021209 bộc lộ các hợp chất 1,2,3-triazol có hoạt tính ức chế HDAC.

Công bố đơn quốc tế số WO 2012/178208 bộc lộ các hợp chất có dị vòng được thể như benzimidazol, benzimidazon và benzotriazol có hoạt tính ức chế HDAC6 chọn lọc.

Công bố đơn quốc tế số WO 2015/102426 bộc lộ dẫn xuất indol mới có hoạt tính ức chế HDAC.

Công bố đơn quốc tế số WO 2015/087151 bộc lộ các dẫn xuất azaindol mới có hoạt tính ức chế HDAC.

Công bố đơn quốc tế số WO 2012/106343 bộc lộ các chất ức chế HDAC và chế phẩm chứa các chất này. Phương pháp điều trị bệnh và tình trạng bệnh trong đó sự ức chế HDAC tạo ra lợi ích, như bệnh ung thư, rối loạn thoái hóa thần kinh, bệnh thần kinh ngoại biên, bệnh thần kinh, tổn thương não do chấn thương, đột quỵ, chứng tăng huyết áp, bệnh sốt rét, bệnh tự miễn, bệnh tự kỷ, các rối loạn phổ tự kỷ, và bệnh viêm, cũng được bộc lộ.

Tài liệu "Valente et al., Journal of Medicinal Chemistry (2014), 57(14), 6259-6265" mô tả hợp chất hydroxamat chứa 1,3,4-oxadiazol (2) và 2-aminoanilit (3) làm chất ức chế histon deacetylaza. Trong số các chất này, các hợp chất 2t, 2x, và 3i được mô tả là có hiệu quả mạnh và tính chọn lọc nhất đối với HDAC1.

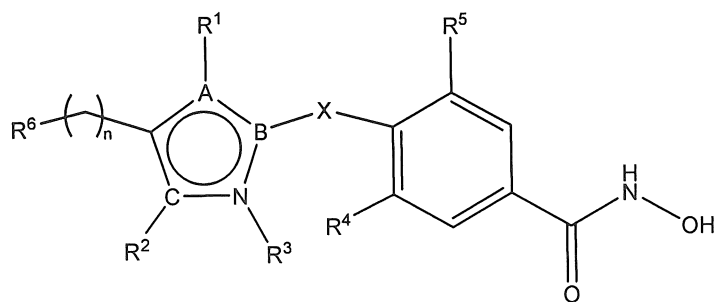
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát hiện qua thử nghiệm rằng các hợp chất benzo-hydroxamic, khác biệt bởi nhân trung tâm là dị vòng có năm cạnh, có hoạt tính ức

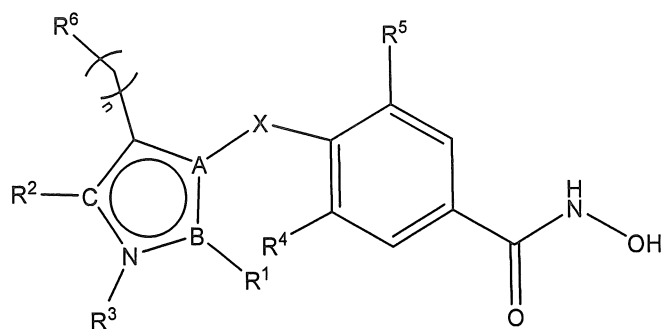
chế cao và chọn lọc đối với enzym HDAC6.

Các hợp chất này cũng có độc tính tế bào thấp, do đó cho phép sử dụng chúng lâu dài.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) và (II) và các muối được dụng, chất đồng phân và tiền dược chất của nó:



(I)



(II)

trong đó

A là N, O, S trong công thức (I), trong khi A là N trong công thức (II);

B là C, N;

C là N, O trong công thức (I), trong khi C là N trong công thức (II);

X là CH₂, S, NH, O, CD₂;

n bằng 0, 1;

khi n bằng 1, nguyên tử cacbon có thể được thế bằng nhóm R¹² và R¹³ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, D, -Me, -phenyl, -F và -OH hoặc cùng với nhóm R¹² và R¹³ có thể tạo thành gốc vòng no, tốt hơn nếu là xyclopropan, xyclobutan,

xyclopentan hoặc xyclohexan;

khi n bằng 1, R⁶ có thể không có mặt;

R⁴ và R⁵ là H, F;

R¹ không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm -H, -NH₂, C1-C4 alkyl, phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, arylalkyl, xycloalkyl, metylfuran, xyclobutylmetyl, tetrahydrofuran-2-yl-metyl, 3- (diethylamino)propyl, 2-metoxyletyl, vinyl, 2-(metylsulfanyl)etyl, 1-xyclopropyletyl, pyridin-2-yl, (pyridin-3-yl)metyl, 2-(pyridin-2-yl)etyl, 2- (thiophen-2-yl)etyl, 3,4-dimetoxypheyl, 4-metoxypheyl, metylphenyl, 2-clo-5- (morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 4-[(diflometyl)sulfanyl]phenyl, 4- (morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 5-(dimetylsulfamoyl)-2-metylphenyl, 3- (triflometyl)phenyl, 4-(triflometyl)phenyl, 2-(morpholin-4-yl) etyl, 3-(morpholin-4-yl)propyl, 1-naphtyl, 2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl, benzhydryl, 5-indanyl, thiophen và metylthiophen;

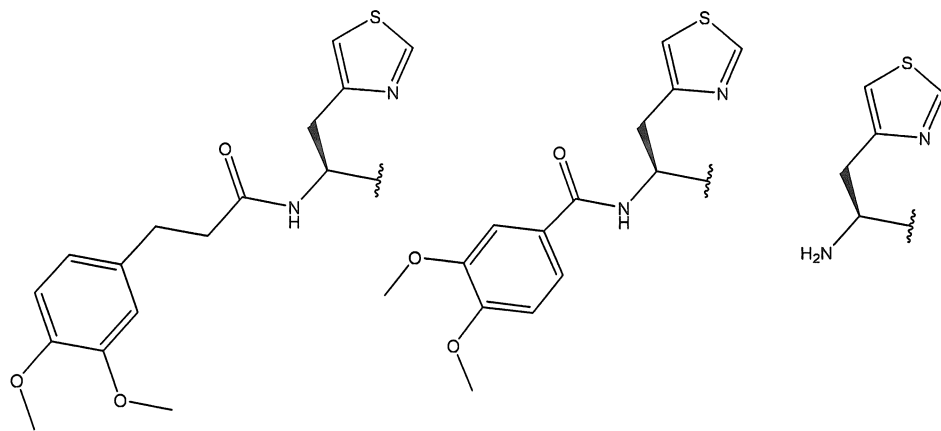
R² không có mặt hoặc được chọn từ H, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, benzyl, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxyclopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxyclopropyl)metyl, 4-hydroxypheyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxypheyl, 2-metyl-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, hoặc 2-benzyloxyphenyl;

R³ không có mặt hoặc được chọn từ H, alkoxyaryl, phenyl, phenyl được thế bằng CF₃, benzyl, pyridyl, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, benzyl, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxyclopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxyclopropyl)metyl, 4-hydroxypheyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxypheyl, metyl-2-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, hoặc 2-benzyloxyphenyl;

R⁶ được thế hoặc không được thế bằng gốc có một hoặc nhiều vòng, tùy ý không no một phần hoặc hoàn toàn, chứa các nguyên tử cacbon và tùy ý một hoặc

nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N, S hoặc O;

hoặc R⁶ có thể được chọn từ các nhóm có công thức sau:



với điều kiện là trong các hợp chất có công thức (I), khi nhân dị vòng có nằm cạnh là 1,3,4-oxadiazol, R⁶ không là naphthyl.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc các muối được dụng, chất đồng phân và tiền được chất được dụng của nó, cùng với ít nhất một tá được dụng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện mức độ ức chế sự biểu hiện PD-L1 ở iDC (các bạch cầu đơn nhân to được kích thích bằng GMCSF-IL-4). Các bạch cầu đơn nhân to ở người được xử lý bằng chất ức chế HDAC6 và kích thích bằng GMCSF-IL-4 trong 5 ngày. Sau khi ủ, các tế bào được thu gom và đánh dấu bằng kháng thể kháng PD-L1. Sau đó, các tế bào được rửa và thu được số liệu huỳnh quang bằng cách sử dụng máy đếm tế bào dòng chảy (BD FACSVerse). Các giá trị trên biểu đồ thể hiện kết quả trung bình của 3 thử nghiệm được tiến hành đối với 3 người cho khác nhau (n=3). Sự biểu hiện của PD-L1 được thể hiện bằng giá trị trung bình nhân của mức độ phát huỳnh quang. * = P<0,05 được xác định bằng kiểm định t-Student.

Fig.2 là đồ thị thể hiện hiệu quả làm giảm sự phát triển khối u *in vivo* của các hợp chất 8 và 10 và các hợp chất này có hiệu quả tương đương với hiệu quả của kháng thể kháng PD. Hình mũi tên thể hiện ngày bắt đầu điều trị.

Fig.3 là đồ thị thể hiện hiệu quả làm giảm sự phát triển khối u CT-26 *in vivo* của các chất ức chế HDAC6 và hoạt tính của chúng có thể được cải thiện bằng cách

điều trị kết hợp với kháng thể kháng PD-1. Ý nghĩa thống kê được đánh giá vào ngày 30 bằng kiểm định t-Student. *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$. Xem phần mô tả để biết thêm chi tiết.

Fig.4 là biểu đồ thể hiện hiệu quả điều trị *in vivo* bằng các chất ức chế HDAC6 chọn lọc tạo ra đáp ứng của tế bào T đặc hiệu. Các tế bào lách của động vật được xử lý bằng các hợp chất 8 và 10 và sự kết hợp với kháng thể Ab kháng PD-1 được kích thích bằng các peptit khối u có nguồn gốc từ tế bào CT-26 và sự sản sinh ra IFN- γ và TNF- α bởi các tế bào T CD4 được định lượng bằng thử nghiệm vết miễn dịch liên kết enzym (ELISPOT).

Fig.5 thể hiện hiệu quả điều trị *in vivo* bằng các chất ức chế HDAC6 chọn lọc tạo ra đáp ứng với tế bào T đặc hiệu. Các tế bào lách của động vật được xử lý bằng hợp chất 8 và 10 và sự kết hợp với kháng thể Ab kháng PD-1 được kích thích bằng các peptit khối u có nguồn gốc từ tế bào CT-26 và sự sản sinh ra IFN- γ và TNF- α bởi các tế bào T CD8 được định lượng bằng thử nghiệm ELISPOT.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Nếu không được định nghĩa theo cách khác, tất cả các thuật ngữ trong lĩnh vực này, các ký hiệu và thuật ngữ khoa học khác được sử dụng ở đây được dự định có ý nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực mà sáng chế này thuộc về. Trong một số trường hợp, các thuật ngữ có ý nghĩa thường được hiểu được định nghĩa ở đây để làm rõ và/hoặc để tham khảo; do đó, việc đưa ra các định nghĩa ở đây không được hiểu là sự khác biệt đáng kể so với định nghĩa thường được hiểu trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ "halogen" ở đây để chỉ flo (F), clo (Cl), brom (Br), hoặc iot (I).

Thuật ngữ "C1-C4 alkyl" ở đây để chỉ hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Ví dụ về các nhóm C1-C4 alkyl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl, isobutyl, tert-butyl.

Thuật ngữ "aryl" ở đây để chỉ các hệ vòng cacbon có một vòng và nhiều vòng thơm (i), trong đó các vòng cacbon riêng biệt trong hệ vòng cacbon có nhiều vòng có thể được dung hợp hoặc gắn với nhau bằng liên kết đơn. Các nhóm aryl thích hợp

bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phenyl, naphtyl và biphenyl.

Thuật ngữ "aryloxy" ở đây để chỉ nhóm O-aryl, trong đó nhóm "aryl" đã được định nghĩa trên đây.

Thuật ngữ "alkoxy" ở đây để chỉ nhóm O-alkyl, trong đó nhóm "alkyl" đã được định nghĩa trên đây.

Thuật ngữ "xycloalkyl" ở đây để chỉ vòng hydrocacbon no hoặc không no, tốt hơn là có từ 4 đến 10 nguyên tử cacbon. Các ví dụ về nhóm xycloalkyl bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl, xycloheptyl và xyclooctyl.

Thuật ngữ "arylalkyl" ở đây để chỉ gốc aryl như được định nghĩa ở đây, được gắn với gốc alkyl như được định nghĩa ở đây. Ví dụ về nhóm arylalkyl là benzyl.

Thuật ngữ "nhóm dị vòng" ở đây để chỉ vòng có một vòng, có 4, 5, 6, 7 hoặc 8 cạnh, vòng này no hoặc không no và gồm các nguyên tử cacbon và một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, và trong đó các nguyên tử khác loại nitơ và lưu huỳnh có thể tùy ý được oxy hóa và nguyên tử khác loại nitơ có thể tùy ý được thế bốn bậc. Nhân dị vòng có thể được gắn với nguyên tử khác loại hoặc nguyên tử cacbon bất kỳ, miễn là sự gắn kết này dẫn đến sự tạo ra cấu trúc ổn định. Thuật ngữ này còn bao gồm hệ có hai vòng bất kỳ trong đó vòng bất kỳ trong số các nhân dị vòng trên đây được dung hợp với aryl hoặc nhóm dị vòng khác. Khi nhân dị vòng là nhân dị vòng thơm, nó có thể được định nghĩa là "nhân dị thơm".

Thuật ngữ "vòng không no" ở đây để chỉ vòng không no một phần hoặc hoàn toàn. Ví dụ, vòng có một vòng có 6 nguyên tử cacbon không no để chỉ xyclohexen, xyclohexadien và benzen.

Thuật ngữ "được thế" ở đây để chỉ sự thế một hoặc nhiều lần bằng nhóm thế xác định (không xác định) với điều kiện là sự thế một hoặc nhiều lần này là được phép về mặt hóa học.

Thuật ngữ "tá được chấp nhận được về mặt sinh lý" ở đây để chỉ bản thân chất này không có tác dụng dược lý bất kỳ và không tạo ra các phản ứng có hại khi được sử dụng cho động vật có vú, tốt hơn là người. Các tá được chấp nhận được về mặt sinh lý là đã được biết rõ trong lĩnh vực này và được bộc lộ, ví dụ, trong tài liệu: Handbook of Pharmaceutical Excipients, sixth edition 2009, tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo.

Thuật ngữ "các muối hoặc dẫn xuất được dụng của chúng" ở đây để chỉ các

muối hoặc dẫn xuất có hiệu quả sinh học và đặc tính của hợp chất được tạo muối hoặc dẫn xuất hóa và không tạo ra các phản ứng có hại khi được sử dụng cho động vật có vú, tốt hơn là người. Các muối được dụng có thể là muối vô cơ hoặc hữu cơ; ví dụ về các muối được dụng bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: cacbonat, hydroclorua, hydrobromua, sulphat, hydrosulphat, xitrat, maleat, fumarat, trifloaxetat, 2-naphtalensulphonat, và para-toluensulphonat. Thông tin thêm về các muối được dụng có thể được tìm thấy trong tài liệu: Handbook of pharmaceutical salts, P. Stahl, C. Wermuth, WILEY-VCH, 127-133, 2008, tài liệu này được đưa vào đây để tham khảo. Các dẫn xuất được dụng bao gồm các este, ete và N-oxit.

Các thuật ngữ “bao gồm”, “có”, “kể cả” và “chứa” cần được hiểu là các thuật ngữ không giới hạn (có nghĩa là "bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở ") và cần được cho là cũng cung cấp cơ sở cho các thuật ngữ như “chủ yếu bao gồm”, “bao gồm chủ yếu”, “gồm” hoặc “gồm có”.

Các thuật ngữ “chủ yếu bao gồm”, “bao gồm chủ yếu” cần được hiểu là các thuật ngữ nửa giới hạn, có nghĩa là không có các thành phần và/hoặc bước khác làm ảnh hưởng đáng kể đến các đặc tính mới của sáng chế được bao gồm (do đó, các tá được tùy ý có thể được đưa vào).

Các thuật ngữ “gồm”, “gồm có” cần được hiểu là thuật ngữ giới hạn.

Thuật ngữ "chất đồng phân" ở đây để chỉ các chất đồng phân lập thể (hoặc các chất đồng phân có quan hệ không gian khác nhau) nghĩa là chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân đối ảnh.

Thuật ngữ "tiền dược chất" để chỉ các dẫn xuất không có hoạt tính dược lý, có thể tham gia quá trình biến đổi chuyển hóa *in vivo* để tạo ra hợp chất có hoạt tính được bao gồm trong công thức chung của sáng chế này. Nhiều tiền dược chất khác nhau là đã biết trong lĩnh vực này (Prodrug approach: an effective solution to overcome side-effects, Patil S.J., Shirote P.J., International Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences, 2011,1-13; Carbamate Prodrug Concept for Hydroxamate HDAC Inhibitors, Jung, Manfred et al., ChemMedChem, 2011, 1193-1198).

Thuật ngữ "bệnh lý" bao gồm một hoặc nhiều bệnh tự miễn hoặc rối loạn sau đây: bệnh đái tháo đường, bệnh viêm khớp (bao gồm cả bệnh viêm đa khớp dạng thấp, bệnh viêm đa khớp dạng thấp tuổi thiếu niên, bệnh viêm xương khớp, bệnh viêm khớp vảy nến), bệnh xơ cứng rải rác, chứng nhược cơ mức độ nặng, bệnh lupút

ban đỏ toàn thân, bệnh viêm tuyến giáp tự miễn, bệnh viêm da (bao gồm cả bệnh viêm da dị ứng và bệnh viêm da eczema), bệnh vẩy nến, hội chứng Sjogren, bao gồm cả bệnh viêm giác-kết mạc khô thứ phát do hội chứng Sjogren, bệnh rụng tóc từng vùng, các phản ứng dị ứng do động vật chân khớp cắn, bệnh Chron, bệnh loét dạ dày, bệnh viêm móng mắt, bệnh viêm kết mạc, bệnh viêm giác-kết mạc, bệnh viêm ruột kết mạn loét, bệnh hen, bệnh hen dị ứng, bệnh lupút ban đỏ da, bệnh cứng bì, bệnh viêm âm đạo, bệnh viêm trực tràng, phản ứng với thuốc, bệnh phong, bệnh lupút ban đỏ, bệnh viêm màng mạch nhỏ tự miễn, bệnh viêm não tủy dị ứng, bệnh não xuất huyết hoạt tử cấp tính, bệnh mất thính giác tự phát hai bên tiến triển, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh thiếu máu, bệnh giảm tiểu cầu vô căn, bệnh viêm đa sụn, bệnh u hạt Wegener, bệnh viêm gan hoạt động mạn tính, hội chứng Stevens-Johnson, bệnh spru tự phát, bệnh liken phẳng, bệnh mắt Graves, bệnh sacoit, bệnh xơ gan mật nguyên phát, bệnh viêm màng mạch nhỏ sau, bệnh xơ hóa phổi mô kẽ.

Thuật ngữ "bệnh lý" để chỉ một hoặc nhiều bệnh thần kinh hoặc thoái hóa thần kinh sau đây: bệnh Wilson, bệnh mất điều hòa tủy sống-tiểu não, bệnh prion, bệnh Parkinson, bệnh Huntington, bệnh xơ cứng cột bên teo cơ (amyotrophic lateral sclerosis: ALS), bệnh thoái hóa dạng tinh bột, bệnh Alzheimer, bệnh Alexander, bệnh gan do rượu, bệnh xơ nang, bệnh Pick, chứng teo cơ cột sống, và bệnh sa sút trí tuệ thể Lewy.

Thuật ngữ "bệnh lý" còn bao gồm một hoặc nhiều bệnh sau đây: bệnh viêm đốt sống dạng thấp, tổn thương tái tưới máu sau thiếu máu cục bộ, bệnh viêm ruột, bệnh phổi mạn tính, bệnh eczema, bệnh hen, hội chứng suy hô hấp cấp tính, bệnh viêm khớp nhiễm khuẩn, bệnh viêm khớp tiến triển mạn tính, bệnh viêm khớp biến dạng, bệnh khớp sau chấn thương, bệnh viêm khớp thống phong, hội chứng Reiter, bệnh viêm màng hoạt dịch cấp tính, bệnh viêm đốt sống cấp tính, bệnh viêm thận-tiểu cầu, bệnh thiếu máu tan huyết, bệnh thiếu máu không tái tạo, bệnh giảm bạch cầu trung tính, bệnh mô ghép chống chủ (graft-versus-host disease: GVHD), bệnh thải bỏ mô ghép, bệnh viêm tuyến giáp mạn tính, bệnh Grave, bệnh xơ gan mật nguyên phát hai bên, bệnh viêm da tiếp xúc, bệnh chấy ngứa, bệnh suy thận mạn tính, hội chứng Guillain-Barre, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh viêm tai giữa, bệnh nha chu, bệnh xơ hóa phổi mô kẽ, bệnh viêm phế quản, bệnh viêm xoang, bệnh bụi phổi, hội chứng suy phổi, bệnh tràn khí phổi, bệnh xơ hóa phổi, bệnh bụi silic phổi

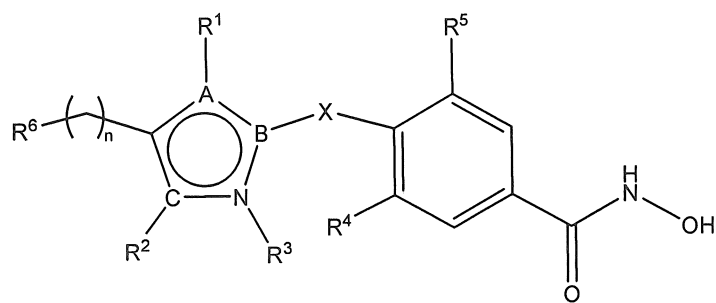
hoặc bệnh viêm phổi mạn tính.

Thuật ngữ "bệnh lý" còn bao gồm một hoặc nhiều bệnh sau đây: bệnh ung thư, sự phát triển khối u, bệnh ung thư ruột kết, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư xương, bệnh ung thư não và bệnh ung thư khác (ví dụ, bệnh sacôm xương, u nguyên bào thần kinh, caxinom tuyến ruột kết), bệnh bạch cầu dòng tủy mạn tính (chronic myeloid leukaemia: CML), bệnh bạch cầu dòng tủy cấp tính (acute myeloid leukaemia: AML), bệnh bạch cầu tiền tủy bào cấp tính (acute promyelocytic leukaemia: APL), bệnh ung thư tim (sacôm, u niêm, u cơ vân, u xơ, u mỡ và u quái), bệnh ung thư phổi (ví dụ, caxinom bắt nguồn từ phế quản, caxinom phế nang, u tuyến phế quản, bệnh sacôm, u lymphô, u mô thừa ở sụn, u trung biểu mô), bệnh ung thư dạ dày-ruột (ví dụ, bệnh ung thư thực quản, dạ dày, tuyến tụy, tiểu tràng, đại tràng), bệnh ung thư đường sinh dục-niệu (ví dụ, bệnh ung thư thận, bàng quang và niệu đạo, tuyến tiền liệt, tinh hoàn), bệnh ung thư gan (ví dụ, caxinom tế bào gan, caxinom đường mật, u nguyên bào gan, bệnh sacôm mạch, u tuyến tế bào gan, u mạch máu), bệnh ung thư xương (ví dụ, bệnh sacôm sinh xương, bệnh sacôm sợi, u mô bào sợi ác tính, bệnh sacôm sụn, bệnh sacôm Ewing, u lymphô ác tính, bệnh đa u tủy, khối u tế bào khổng lồ ác tính, u nguyên spong, u xương sụn, u sụn lành tính, u nguyên bào sụn, u xơ sụn nhầy, u xương dạng xương), các khối u ở hệ thần kinh (ví dụ, sọ, viêm màng não, não, tủy sống), các khối u phụ khoa (ví dụ, tử cung, cổ tử cung, buồng trứng, âm hộ và âm đạo), bệnh ung thư huyết học (ví dụ, các khối u máu, bệnh Hodgkin, bệnh không Hodgkin), bệnh ung thư da (ví dụ, u melanin ác tính, caxinom tế bào đáy, khối u tế bào vảy ác tính, bệnh sacôm Kaposi, bệnh novi loạn sản, bệnh u mỡ, bệnh u mạch, bệnh u xơ da, bệnh sẹo lồi, bệnh vảy nến) và các khối u tuyến thượng thận (ví dụ, u nguyên bào thần kinh).

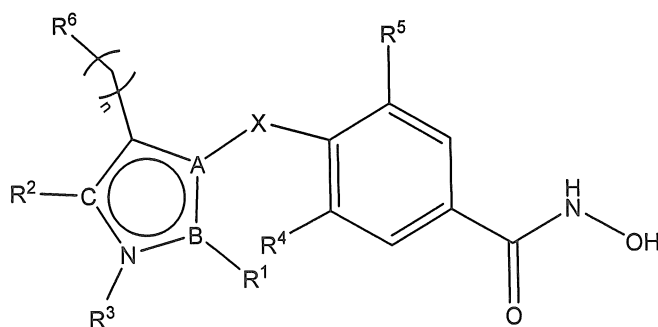
Các tác giả sáng chế đã phát hiện qua thử nghiệm rằng các hợp chất benzo-hydroxamic, khác biệt bởi nhân trung tâm là dị vòng có năm cạnh, có hoạt tính ức chế cao và chọn lọc đối với enzym HDAC6.

Các hợp chất này cũng có độc tính tế bào thấp, do đó cho phép sử dụng chúng lâu dài.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) và (II) và các muối được dung, chất đồng phân và tiền dược chất của nó:



(I)



(II)

trong đó

A là N, O, S trong công thức (I), trong khi A là N trong công thức (II);

B là C, N;

C là N, O trong công thức (I), trong khi C là N trong công thức (II);

X là CH₂, S, NH, O, CD₂;

n bằng 0, 1;

khi n bằng 1, nguyên tử cacbon có thể được thế bằng nhóm R¹² và R¹³ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, D, -Me, -phenyl, -F và -OH hoặc cùng với nhóm R¹² và R¹³ có thể tạo thành gốc vòng no, tốt hơn nếu là xyclopropan, xyclobutan, xyclopentan hoặc xyclohexan;

khi n bằng 1, R⁶ có thể không có mặt;

R⁴ và R⁵ là H, F;

R¹ không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm -H, -NH₂, C1-C4 alkyl, phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, arylalkyl, xycloalkyl, methylfuran, xyclobutylmetyl, tetrahydrofuran-2-yl-metyl, 3- (diethylamino)propyl, 2-

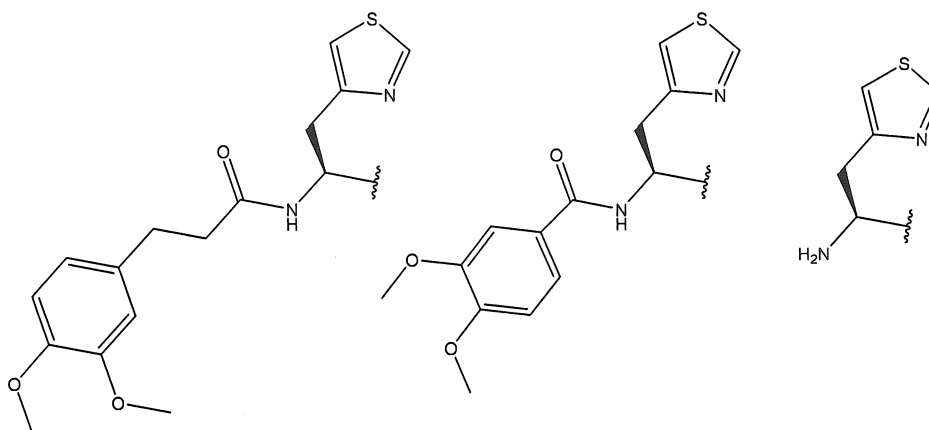
metoxyetyl, vinyl, 2-(metylsulfanyl)etyl, 1-xyclopropyletyl, pyridin-2-yl, (pyridin-3-yl)metyl, 2-(pyridin-2-yl)etyl, 2- (thiophen-2-yl)etyl, 3,4-dimetoxyphenyl, 4-metoxyphenyl, metylphenyl, 2-clo-5- (morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 4-[(diflometyl)sulfanyl]phenyl, 4- (morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 5-(dimetylsulfamoyl)-2-metylphenyl, 3- (triflometyl)phenyl, 4-(triflometyl)phenyl, 2-(morpholin-4-yl) etyl, 3-(morpholin-4-yl)propyl, 1-naphtyl, 2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl, benzhydryl, 5-indanyl, thiophen và metylthiophen;

R^2 không có mặt hoặc được chọn từ H, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, benzyl, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxylopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxylopropyl)metyl, 4-hydroxyphenyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxyphenyl, 2-metyl-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, hoặc 2-benzyloxyphenyl;

R^3 không có mặt hoặc được chọn từ H, alkoxyaryl, phenyl, phenyl được thế bằng CF_3 , benzyl, pyridyl, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, benzyl, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxylopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxylopropyl)metyl, 4-hydroxyphenyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxyphenyl, metyl-2-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, hoặc 2-benzyloxyphenyl;

R^6 được thế hoặc không được thế bằng gốc có một hoặc nhiều vòng, tùy ý không no một phần hoặc hoàn toàn, chứa các nguyên tử cacbon và tùy ý một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N, S hoặc O;

hoặc R^6 có thể được chọn từ các nhóm có công thức sau:



với điều kiện là trong các hợp chất có công thức (I), khi nhân dị vòng có năm cạnh là 1,3,4-oxadiazol, R⁶ không là naphtyl.

Nhóm khác của các hợp chất được ưu tiên bao gồm các hợp chất có công thức (I) và (II) và các muối được dụng, chất đồng phân và các este được dụng của chúng, trong đó nhân dị vòng có năm cạnh được chọn từ nhóm bao gồm tetrazol, 1,2,4-triazol, 1,3,4-oxadiazol, 1,2,4-oxadiazol, 1,3,4-thiadiazol.

Nhóm khác của các hợp chất được ưu tiên bao gồm các hợp chất có công thức (I) và (II) và các muối được dụng, chất đồng phân và các muối được dụng của chúng, trong đó :

A là N, O, S trong công thức (I), trong khi A là N trong công thức (II);

B là C, N;

C là N, O trong công thức (I), trong khi C là N trong công thức (II);

X là CH₂, S;

n bằng 0, 1;

khi n bằng 1, nguyên tử cacbon có thể được thế bằng nhóm R¹² và R¹³ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, -Me, -phenyl, -F và -OH hoặc cùng với nhóm R¹² và R¹³ có thể tạo thành gốc vòng no, tốt hơn nếu là xyclopropan, xyclobutan, xyclopentan hoặc xyclohexan;

khi n bằng 1, R⁶ có thể không có mặt;

R⁴ và R⁵ là H, F;

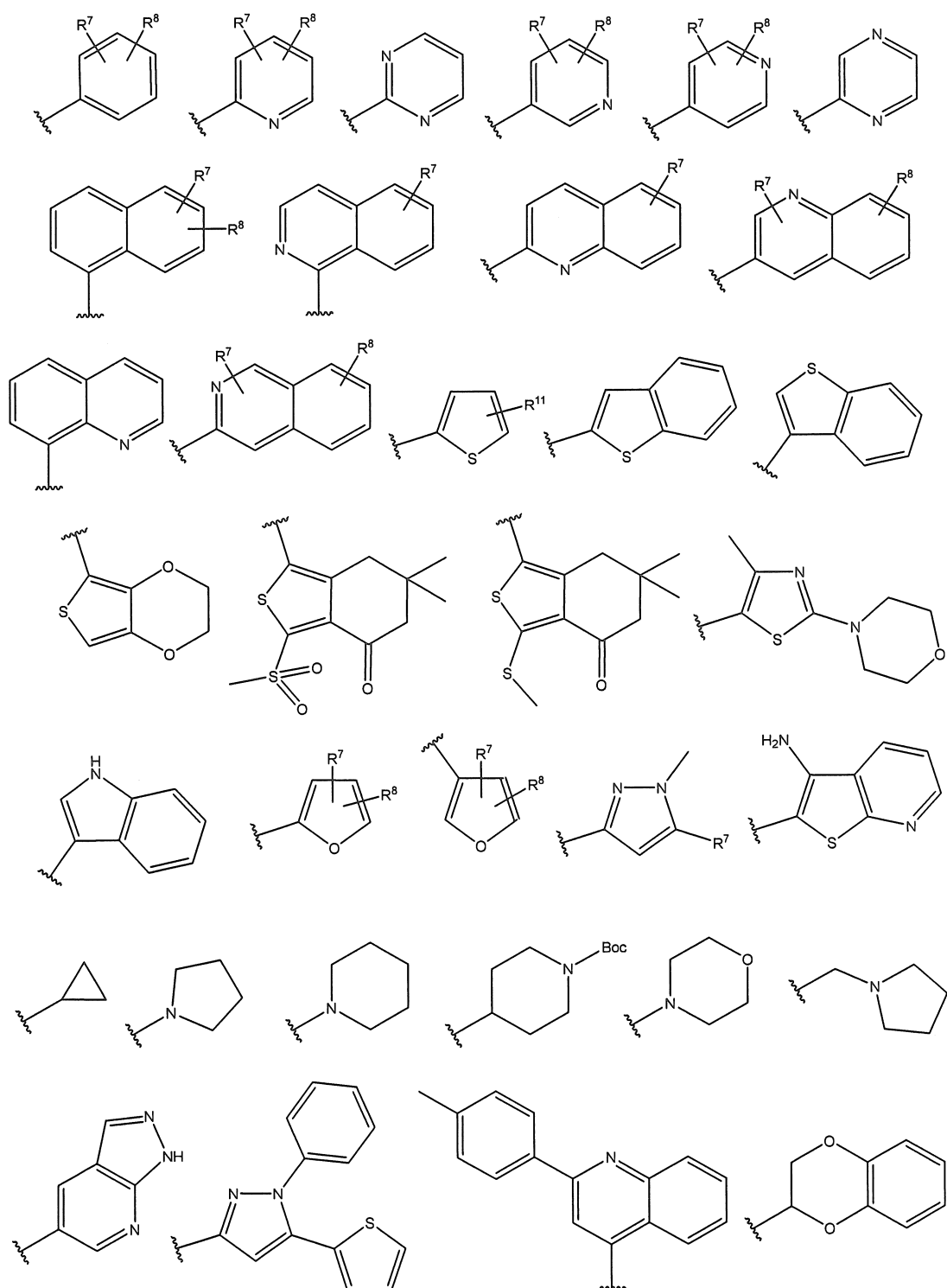
R¹ không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm -H, -NH₂, -CH₃, -CH₂CH₃, phenyl, p-flophenyl, m-clophenyl, p-clophenyl, benzyl, metylfuran,

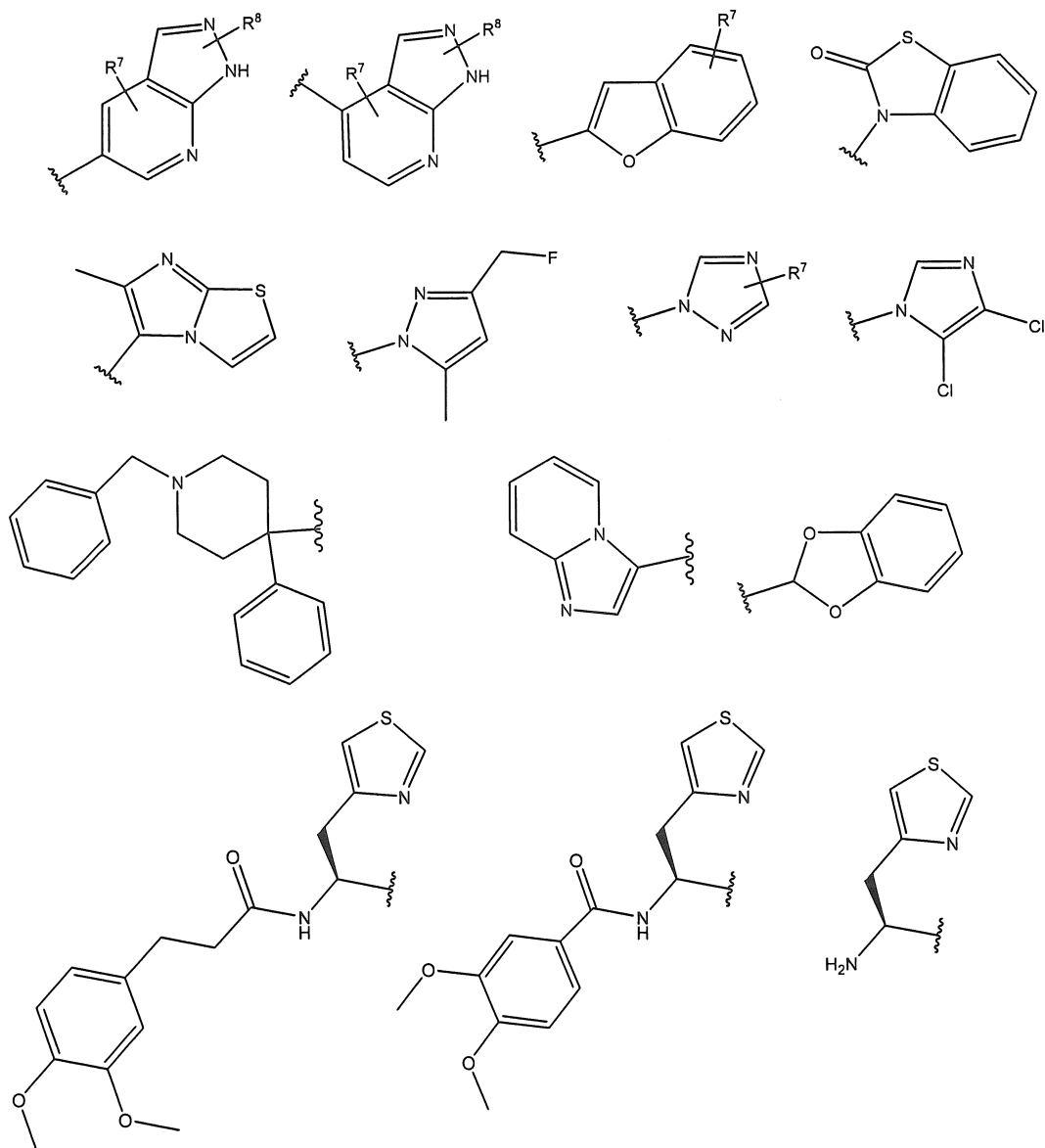
xyclopropyl, isobutyl, metylphenyl, triflophenyl, thiophen và 2- (morpholin-4-yl) ethyl;

R^2 không có mặt hoặc được chọn từ H, phenyl, hoặc p-diclophenyl;

R^3 không có mặt hoặc được chọn từ H, o-metoxypheyl, p-triflometylphenyl, benzyl, hoặc pyridyl;

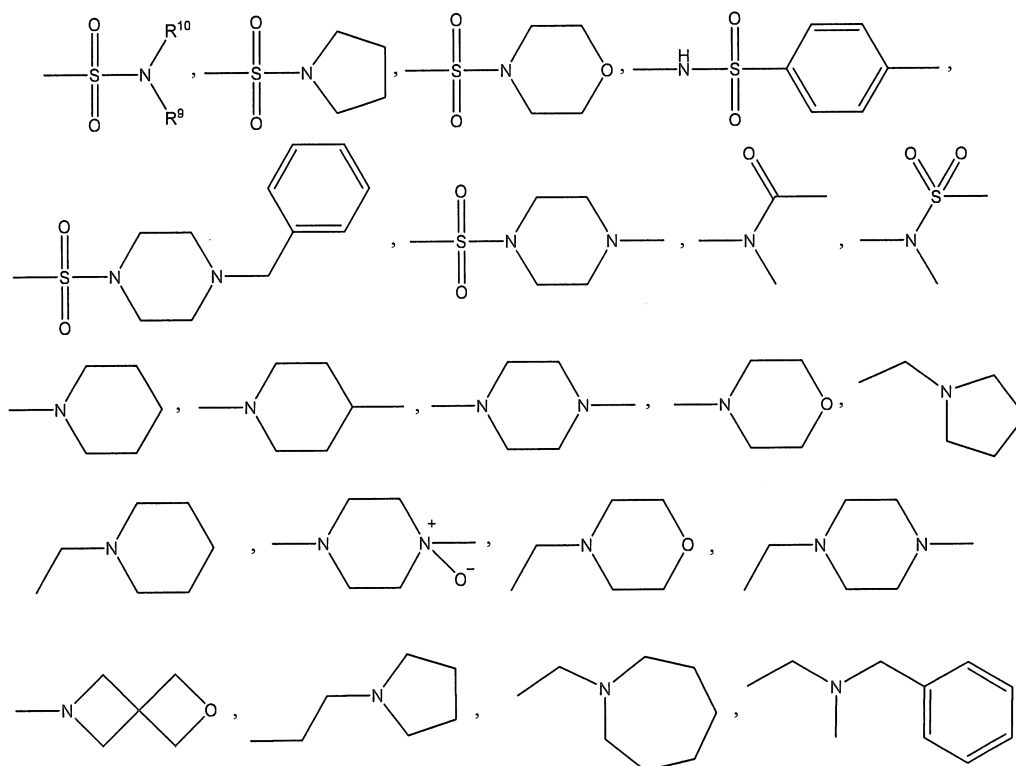
R^6 được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:





trong đó :

R⁷ và R⁸ độc lập được chọn từ nhóm bao gồm H, D, -Cl, -F, -Br, -CF₃, -Me, -Et, -OMe, -OBenzyl, -SF₅, -OCH₂F, -CH₂NH₂, -NH₂, -CH₂NMe₂, -NMe₂, -N(CH₂CH₂OCH₃)₂, -COOH, -COOMe, -OH, -NHNH₂, -NO₂, -OEt, -OCHF₂, -OiPr, -CHF₂, -NEt₂,



hoặc R^7 và R^8 cùng nhau tạo thành gốc dị vòng có năm cạnh ($-\text{OCH}_2\text{O}-$);

R^9 và R^{10} là $-\text{H}$, $-\text{Me}$, $-\text{Et}$;

R^{11} được chọn từ nhóm bao gồm $-\text{H}$, $-\text{Cl}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{NO}_2$ và $-\text{Br}$.

Các hợp chất có công thức (I) và (II) sau đây được đặc biệt ưu tiên:

- (S)-N-(1-(3-(4-(hydroxycarbamoyl)benzyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-2-(thiazol-4-yl)ethyl)-3,4-dimethoxybenzamid (hợp chất 1);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(naphtalen-1-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 2);
- 4-((5-(3-(N,N-dimetylsulfamoyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 3);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(2-phenylpropan-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 4);
- 4-((5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-3,5-diflo-N-hydroxybenzamid (hợp chất 5);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 6);
- diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyrimidin-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp

chất 7);

- N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 8);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(4-methyl-2-morpholinotiazol-5-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 9);
- N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 10);
- 4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 12);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 13);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(pyridin-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 14);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 15);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(4-(piperidin-1-ylmethyl)phenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 16);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 17);
- 3,5-diflo-4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 19);
- N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 20);
- 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-N-[(1S)-1-[3-[[4-(hydroxycarbonyl)phenyl]methyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-2-thiazol-4-yl-ethyl]propanamid (hợp chất 21);
- axit 4-[[5-[4-(trifluoromethyl)phenyl]tetrazol-2-yl]methyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 23);
- axit 4-[(4,5-diphenyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfonyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 24);
- axit 4-[[4-(2-furylmethyl)-5-(1H-indol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfonyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifluoroacetic (hợp chất 25);
- axit 4-[5-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-1,3,4-oxadiazol-2-

- yl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 26);
- axit 4-[[5-benzyl-4-(4-flophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 27);
 - axit 4-[[4-amino-5-[4-(diflometoxy)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 28);
 - axit 4-[[5-(4-flophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 29);
 - axit 4-[[4-etyl-5-(4-flophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 30);
 - axit 4-[[5-(4-clophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 31);
 - axit 4-[[5-(5-clo-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 32);
 - axit 4-[[5-(2-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 33);
 - axit 4-[[5-(4-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 34);
 - axit 4-[[5-(4-metoxypheyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 35);
 - axit 4-[(5-benzyltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 36);
 - axit 4-[(5-benzyltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 37);
 - axit 4-[[5-(2,4-diclophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 38);
 - axit 4-[[5-(3-metyl-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 39);
 - axit 4-[[5-(5-metyl-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 41);
 - axit 4-[[5-(benzothiophen-3-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 42);
 - axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 43);

- axit 4-[[5-[(3,4-dimetoxyphenyl)metyl]-2-[4-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 44);
- axit 4-[[5-[(3,4-dimetoxyphenyl)metyl]-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 45);
- axit 4-[[5-(2-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 46);
- axit 4-[[5-[(1S)-1-amino-2-thiazol-4-yl-etyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 48);
- axit 4-[[5-(3,4-dimetoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 49);
- axit 4-[[5-(2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 50);
- axit 4-[[2-benzyl-5-(4-clophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 51);
- axit 4-[[2-(2-pyridyl)-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 52);
- axit 4-[[2-(2-metoxyphenyl)-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 53);
- axit 4-[[5-(6,6-dimetyl-3-metylsulfanyl-4-oxo-5,7-dihydro-2-benzothiophen-1-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 54);
- axit 4-[[5-(benzothiophen-2-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 55);
- axit 4-[[5-(3,4-dimetoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 57);
- axit 4-[[5-(2,4-diflophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 58);
- axit 4-[[5-[3-(dimetylsulfamoyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 59);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino]benzencarbohydroxamic (hợp chất 60);
- axit 4-[[4-amino-5-[3-(dietylsulfamoyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-

- yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 61);
- axit 4-[[1-(2,4-diclophenyl)-5-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 62);
 - axit 4-[[5-(3-pyrolidin-1-ylsulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]amino]benzencarbohydroxamic (hợp chất 63);
 - axit 4-[[5-(3-morpholinosulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 64);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 65);
 - axit 4-[[5-[3-(diethylsulfamoyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 66);
 - axit 4-[[4-metyl-5-[2-(p-tolyl)-4-quinolyl]-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 67);
 - axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 68);
 - axit 4-[[5-(4-pyrolidin-1-ylsulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 69);
 - axit 4-[[5-(3-benzyloxy-4-metoxi-phenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 70);
 - axit 4-[[5-(3-benzyloxy-4-metoxi-phenyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 71);
 - axit 4-[(5-xyclopropyl-1-phenyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 72);
 - axit 4-[[5-[4-(dimethylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 73);
 - axit 4-[[5-(4-metyl-2-morpholino-thiazol-5-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 75);
 - axit 4-[[5-[3-(dimethylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 77);
 - axit 4-[[5-(3-metoxi-phenyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 78);

- axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 79);
- axit 4-[[5-[3-(dimethylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 80);
- tert-butyl 4-[5-[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]sulfanyl-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]piperidin-1-carboxylat (hợp chất 82);
- axit 4-[[5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 83);
- axit 4-[[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 84);
- axit 4-[[5-(1,5-dimethylpyrazol-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 85);
- axit 4-[[5-(2-furyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 86);
- axit 4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 87);
- axit 4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 88);
- axit 4-[[5-(2-pyridyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 89);
- axit 4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 90);
- axit 4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 91);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 92);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 93);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 94);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 95);

- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 96);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-thienyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 97);
- axit 4-[(5-benzhydryl-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 98);
- axit 4-[[5-(3-aminothieno[2,3-b]pyridin-2-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 99);
- axit 4-[[5-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 100);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(1-phenylxyclobutyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 101);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(3-flophenyl)xyclopentyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 102);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(4-metoxypheyl)xyclohexyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 103);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(4-metoxypheyl)xyclopropyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 104);
- axit 4-[[5-[3-(pentaflô-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 106);
- axit 4-[[5-[3-(pentaflô-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 107);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- [3-(pentaflô- lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol- 2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 108);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- [3-(pentaflô- lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol- 1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 109);
- axit 4-[[5-[4-(pentaflô-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol- 2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 110);
- axit 4-[[5-[4-(pentaflô-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 111);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-(pentaflô-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-

- yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 112);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-(pentaflor-lambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 113);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl-4-oxido-piperazin-4-ium-1-yl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 114);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-(4-flophenyl)-5-(1-piperidylmetyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 115);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-pyrolidin-1-yl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 116);
 - axit 4-[(4-benzyl-5-morpholino-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 117);
 - axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 118);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 121);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(2-quinolyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 122);
 - axit 4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 123);
 - axit 4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 124);
 - axit 3,5-diflo-4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 125);
 - axit 4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 126);
 - axit 4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 127);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 128);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-

- yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 129);
- axit 4-[[5-[3-morpholino-5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 130);
 - axit 4-[[5-[3-morpholino-5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 131);
 - axit 4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 132);
 - axit 4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 133);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 134);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 135);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-phenyl-5-(2-thienyl)pyrazol-3-yl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 136);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(6-flo-2-metyl-3-quinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 137);
 - axit 3,5-diflo-4-[[5-(4-flophenyl)-4-(2-morpholinoetyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 138);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-pyrazin-2-yl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 139);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(2-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 140);
 - axit 4-[[4-benzyl-5-(pyrolidin-1-yl-metyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 141);
 - axit 4-[[4-benzyl-5-(2-furyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 142);
 - axit 4-[[4-benzyl-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 143);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 144);

- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-flophenyl)-4-(2-furylmetyl)-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 145);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(4-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 146);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 147);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(3-isoquinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 148);
- axit 3,5-diflo-4-[(5- imidazo[1,2-a]pyridin-3-yl-4-metyl-1,2,4-triazol- 3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 149);
- axit 4-[[5-(1-benzyl-4-phenyl-4-piperidyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]- 3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 150);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl)piperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 151);
- axit 4-[[5-[3-(4-benzylpiperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-4-metyl-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 152);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 153);
- metyl 4-[[2-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoat (hợp chất 154);
- metyl 4-[[1-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoat (hợp chất 155);
- metyl 6-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylat (hợp chất 156);
- metyl 6-[1-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylat (hợp chất 157);
- axit 4-[[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 158);
- axit 4-[[1-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 159);
- axit 4-[[2-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-

- yl]metyl]benzoic (hợp chất 160);
- axit 4-[[1-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 161);
 - axit 6-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylic (hợp chất 162);
 - axit 3-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]benzoic (hợp chất 163);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(8-quinolylmetyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 164);
 - axit 4-[[5-(2,6-diflophenyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 165);
 - axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl)piperazin-1-yl]phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 166);
 - axit 4-[[5-[3-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 167);
 - axit 4-[[5-[4-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 168);
 - axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 169);
 - axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 170);
 - axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 171);
 - axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-1-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 172);
 - axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 173);
 - axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 174);
 - axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 175);

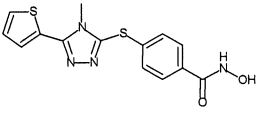
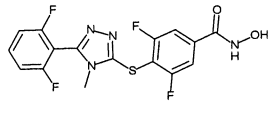
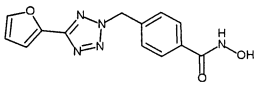
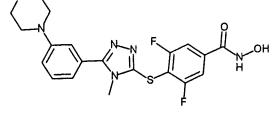
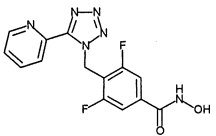
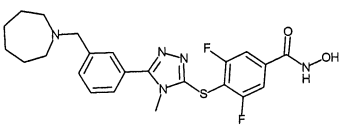
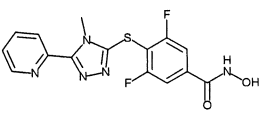
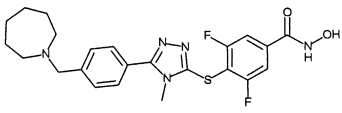
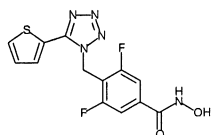
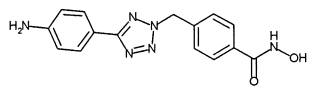
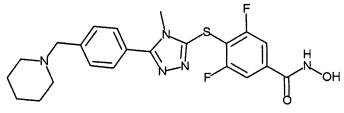
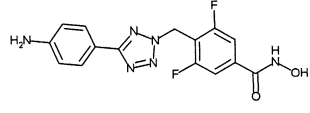
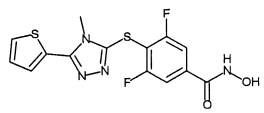
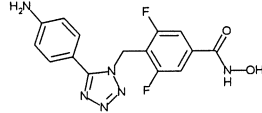
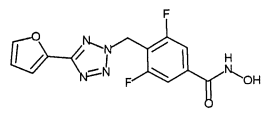
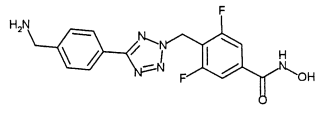
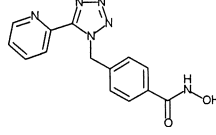
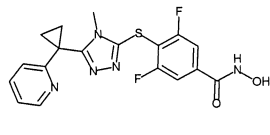
- axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 176);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(2-pyridyl)xyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 177);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(3-pyridyl)xyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 178);
- axit 3,5-diflo-4-[(4-metyl-5-pyridazin-3-yl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 179);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(3-flo-2-pyridyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 180);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(1-piperidylmetyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 181);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(morpholinometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 182);
- 4-((3-((1H-indol-3-yl)metyl)-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 183);
- axit 4-[[5-[3-[[benzyl(metyl)amino]metyl]phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 184);
- axit 4-[[3-[(3,4-dimetoxyphenyl)metyl]-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-4-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 185);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-metyl-1-(3-pyridyl)etyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 186);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-[metyl(metylsulfonyl)amino]phenyl]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 187);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 188);
- axit 4-[(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 189);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 190);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio)benzamid

- (hợp chất 191);
- axít 3,5-diflo-4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 192);
 - axít 4-[[5-(2-morpholino-4-pyridyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 193);
 - 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 194);
 - axít 3,5-diflo-4-[[5-(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 195);
 - axít 4-[[5-(5-bromo-3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 196);
 - axít 3,5-diflo-4-[[5-(5-morpholino-3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 197);
 - 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 198);
 - axít 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 199);
 - axít 4-[[5-[5-[bis(2-metoxymetyl)amino]-3-pyridyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 200);
 - axít 3,5-diflo-4-[[5-[5-(2-oxa-6-azaspiro[3.3]heptan-6-yl)-3-pyridyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 201);
 - axít 3,5-diflo-4-[[5-[5-(pyrrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 202);
 - axít 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(morpholinometyl)-3-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 203);
 - axít 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(morpholinometyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 204);
 - axít 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl]metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 205);
 - axít 4-[[5-[5-[(dimethylamino)metyl]-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 206);

- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 207);
- axit 4-[[5-[5-etyl-4-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 208);
- axit 4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl)metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 209);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[6-(2-pyrolidin-1-yletyl)-3-pyridyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 210);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 211);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(1-piperidylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 212);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-metyl-3-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 213);
- axit 4-[(5-phenyltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 214);
- axit 4-[(5-phenyltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 215);
- axit 4-[(5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 216);
- N-hydroxy-4-((4-metyl-5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 217).

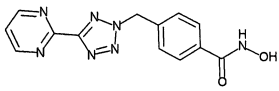
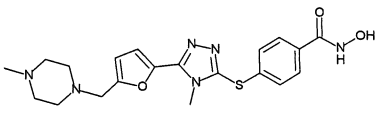
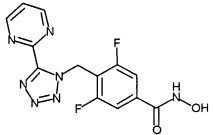
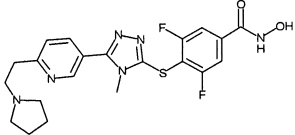
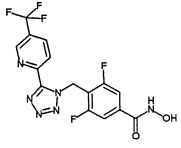
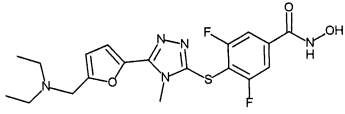
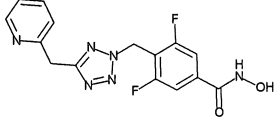
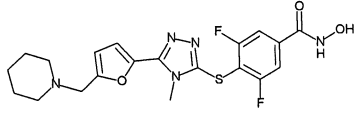
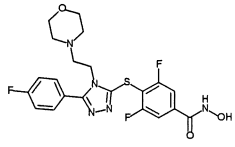
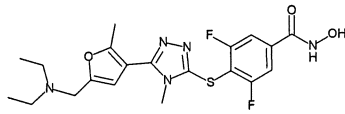
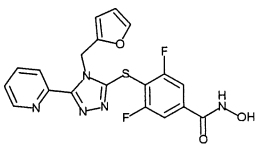
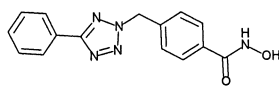
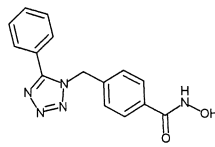
Các hợp chất có công thức (I) và (II) sau đây được đặc biệt ưu tiên:

1		141	
2		145	
3		146	
4		147	
5		149	
6		150	
7		151	
8		152	
9		153	

10		165	
12		166	
13		167	
14		168	
15		169	
16		171	
17		172	
19		175	
20		177	

68		178	
74		179	
75		180	
76		181	
77		182	
78		186	
79		191	
82		195	
84		197	

85		198	
87		199	
91		200	
92		202	
93		204	
94		205	
95		206	
121		207	
122		208	

123		209	
125		210	
129		211	
134		212	
138		213	
140		214	
		215	

Các hợp chất theo sáng chế có thể chứa một hoặc nhiều tâm không đối xứng (các nguyên tử cacbon không đối xứng), do đó, chúng có thể tồn tại ở dạng chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân không đối quang.

Tất cả các chất đồng phân dị cấu quang học, một mình hoặc trong hỗn hợp với nhau, vẫn nằm trong phạm vi của sáng chế.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng một mình hoặc kết hợp với

các dược chất khác như các chất ức chế proteasom, chất ức chế hóa học miễn dịch, steroid, các chất ức chế vùng bromo và các dược chất biểu sinh khác, các chất hóa trị liệu truyền thống, chất ức chế kinaza, ví dụ như, nhưng không chỉ giới hạn ở, họ JAK, CTLA4, chất ức chế phân tử kiểm soát miễn dịch PD1 hoặc PDL1, như nivolumab, pembrolizumab, pidilizumab hoặc BMS-936559 (kháng-PD1), atezolizumab hoặc avelumab (kháng-PDL1), ipilimumab hoặc tremelimumab (kháng-CTLA4).

Tốt hơn, nếu các hợp chất theo sáng chế một mình hoặc kết hợp hữu ích để điều trị bệnh do HDAC6 làm trung gian gây ra.

Tốt hơn, nếu các hợp chất theo sáng chế, một mình hoặc kết hợp, hữu ích để điều trị tình trạng thải bỏ mô ghép, bệnh mô ghép chống tủy chủ, bệnh viêm cơ, các bệnh liên quan đến chức năng bất thường của tế bào lymphô, bệnh đa u tủy, u lymphô không Hodgkin, bệnh thần kinh ngoại biên, các bệnh tự miễn, bệnh viêm, bệnh ung thư và các bệnh thoái hóa thần kinh, các bệnh về mắt (ví dụ, bệnh viêm màng mạch nhỏ).

Do đó, sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của hợp chất có công thức (I) hoặc (II) hoặc các muối dược dụng, chất đồng phân và tiền dược chất dược dụng của nó, cùng với ít nhất một tá dược dược dụng.

Các dược phẩm này có thể ở dạng lỏng, thích hợp để sử dụng qua đường ruột hoặc ngoài đường tiêu hóa, hoặc dạng rắn, ví dụ, ở dạng viên nang, viên nén, viên tròn, bột hoặc hạt để sử dụng qua đường miệng, hoặc ở dạng thích hợp để sử dụng trên da như kem hoặc thuốc mỡ, để cung cấp bằng cách xông hít.

Các dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng các phương pháp đã biết.

Phương pháp tổng hợp chung

Các hợp chất được mô tả trong sáng chế có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Tất cả các chất ban đầu, chất phản ứng, axit, bazơ, dung môi và chất xúc tác được sử dụng trong quá trình tổng hợp các hợp chất được mô tả đều có bán trên thị trường.

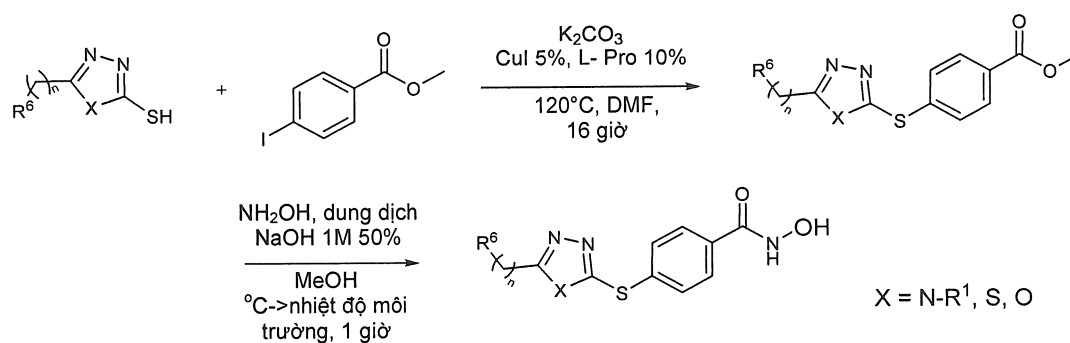
Quá trình phản ứng được theo dõi bằng cách phân tích sắc ký lỏng hiệu năng

cao (HPLC), sắc ký lỏng siêu hiệu năng (UPLC) hoặc phổ khối lượng-sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-MS).

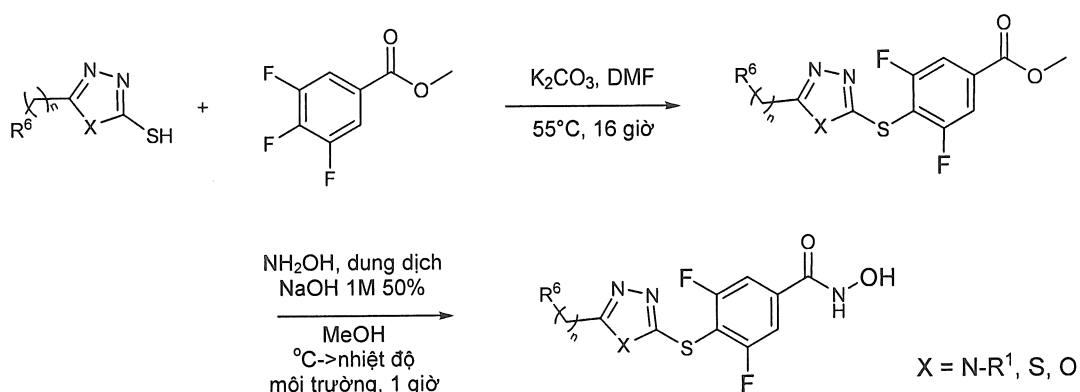
Các hợp chất có nhân triazol-thiol thu được bằng cách cho hợp chất 1,2,4-triazol-thiol tùy ý được thể phản ứng với metyl-4-iodo-benzoat hoặc metyl-3,4,5-triflo-benzoat, với sự có mặt của kali cacbonat trong DMF trong khi gia nhiệt qua đêm. Phản ứng với metyl 4-iodo-benzoat được xúc tác bằng đồng iodua và L-prolin (Sơ đồ 1) và được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C (Liang-Feng et al., Tetrahedron (2011), 67, 2878-2881). Mặt khác, phản ứng với metyl 3,4,5-triflo-benzoat diễn ra ngay cả trong các điều kiện êm dịu (55°C) và không có sự xúc tác (Sơ đồ 2) (Dudutiene et al., Bioorg. Med. Chem. (2013), 21(7), 2093-2106; Công bố đơn quốc tế WO03/062225).

Chính các điều kiện này được sử dụng để tổng hợp hợp chất có nhân 1,3,4-thiadiazol-2-thiol và 1,3,4-oxadiazol-2-thiol.

Sự chuyển hóa của các dẫn xuất este thành các axit hydroxamic tương ứng đạt được bằng cách xử lý bằng lượng dư lớn của dung dịch hydroxylamin trong môi trường bazơ (NaOH), trong metanol. Axit hydroxamic cũng có thể được tổng hợp bằng cách thủy phân este metyl bằng NaOH và sau đó ngưng tụ với hydroxylamin, khi hoạt hóa bằng HATU hoặc các chất phản ứng kết hợp khác.

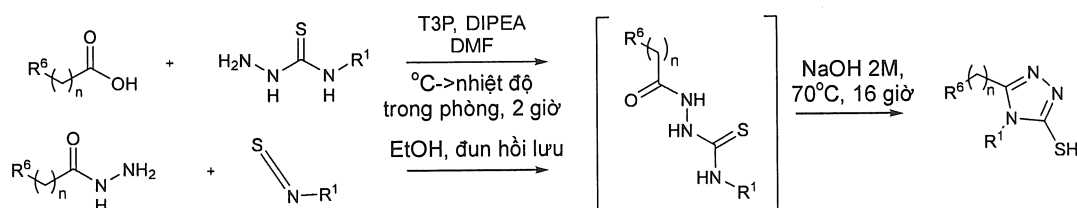


Sơ đồ 1 - Tổng hợp các dẫn xuất benzohydroxamic bằng hợp chất có nhân triazol, thiadiazol và oxadiazol



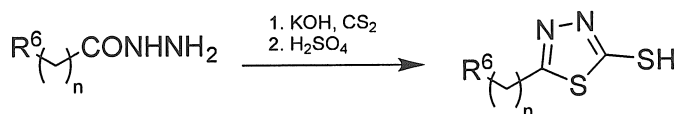
Sơ đồ 2 - Tổng hợp các dẫn xuất 3,5-diflobenzohydroxamic bằng hợp chất có nhân triazol, thiadiazol và oxadiazol

Nhiều hợp chất 1,2,4-triazol-thiol ban đầu có bán trên thị trường. Trong một số trường hợp, chúng được tổng hợp theo hai cách được thể hiện trên Sơ đồ 3. Hợp chất trung gian mạch hở được điều chế từ axit carboxylic bằng cách hoạt hóa bằng T3P và ngưng tụ với hợp chất hydrazin carbothioamid được thế N với sự có mặt của DIPEA trong DMF (công bố đơn đăng ký sáng chế Mỹ số US2007/0232808). Chính hợp chất trung gian này thu được từ chất ban đầu hydrazit, chất này được xử lý bằng hợp chất isothioxyanat được thế N trong khi đun hồi lưu ethanol (Lei et al., ChemMedChem (2016), 11, 822-826; Nadjat et al., Molecules (2015), 20, 16048-16067). Sự đóng vòng của hợp chất trung gian mạch hở đạt được bằng cách cho thêm dung dịch NaOH vào hỗn hợp phản ứng.



Sơ đồ 3 - Tổng hợp hợp chất 1,2,4-triazol-thiol

Các hợp chất 1,3,4-thiadiazol-2-thiol không có bán trên thị trường được tổng hợp bằng cách xử lý hợp chất hydrazit tương ứng bằng KOH và CS₂ ở nhiệt độ thấp (0-5°C) trong 1 giờ và bằng H₂SO₄ trong bước thứ hai, như được mô tả trong Sơ đồ 4.

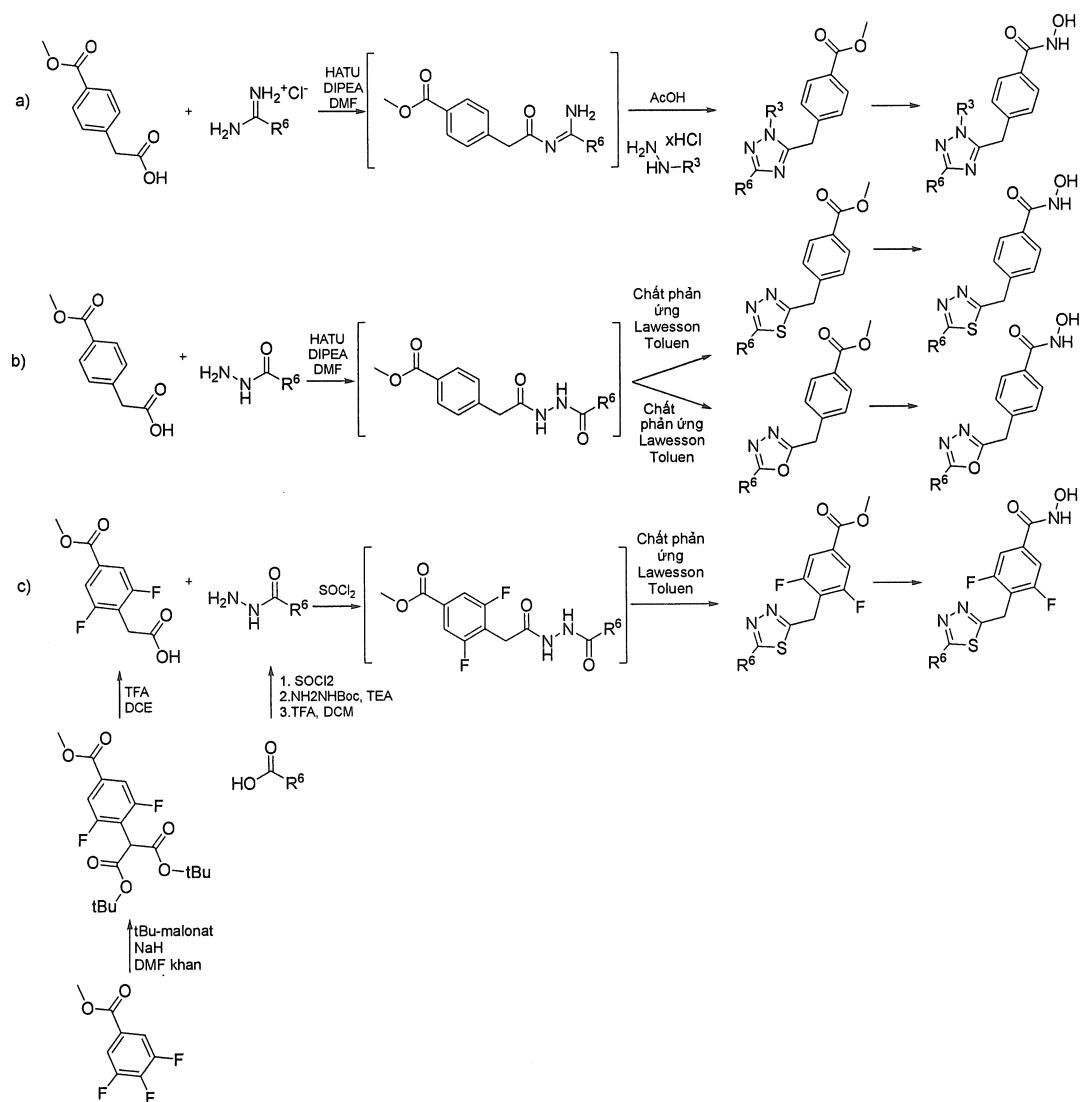


Sơ đồ 4 - Tổng hợp các hợp chất 1,3,4-thiadiazol-thiol

Các hợp chất có nhân triazol được điều chế như được mô tả trên **Sơ đồ 5a** từ axit 2-(4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic bằng cách cho phản ứng với carboxyimidamit với sự có mặt của HATU và DIPEA trong DMF. Khi chuyển hóa hoàn toàn các sản phẩm ban đầu thành hợp chất trung gian, hydrazin được thế và lượng dư axit axetic axit được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Thu được hợp chất vòng triazol bằng cách gia nhiệt hỗn hợp qua đêm (Castanedo et al., J. Org. Chem. (2011), 76(4), 1177-1179).

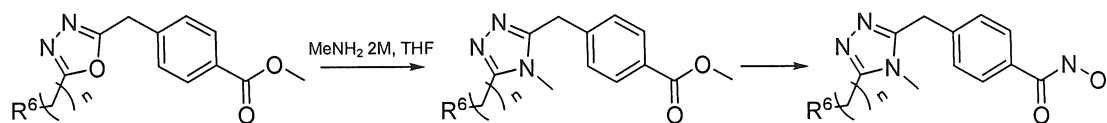
Cũng thu được các hợp chất có khung chính 1,3,4-thiadiazol và 1,3,4-oxadiazol bằng cách đóng vòng hợp chất trung gian mạch hở, được điều chế bằng cách ngưng tụ axit 2-(4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic hoặc axit 2-(2,6-diflo-4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic với hợp chất hydrazit thích hợp bằng cách hoạt hóa bằng HATU, DIPEA. Các hợp chất hydrazit có bán trên thị trường hoặc cũng có thể được điều chế dễ dàng từ axit carboxylic tương ứng (**Sơ đồ 5c**). Chất phản ứng Lawesson được sử dụng làm chất đóng vòng cho dẫn xuất 1,3,4-thiadiazol, trong khi chính hợp chất trung gian này được đóng vòng khi xử lý bằng lượng dư chất phản ứng Burgess khi đun hồi lưu toluen hoặc THF để tạo ra hợp chất 1,3,4-oxadiazol (**Sơ đồ 5b**). Do axit 2-(2,6-diflo-4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic không có bán trên thị trường, axit này được tổng hợp bằng cách cho hợp chất methyl 3,4,5-triflobenzoat phản ứng với di-ter-butyl malonat với sự có mặt của natri hydrua trong DMF khan. Sau đó, hợp chất di-ter-butyl 2-(2,6-diflo-4-(metoxycarbonyl)phenyl)malonat tạo thành được tách nhóm carboxyl bằng cách xử lý bằng TFA trong khi đun hồi lưu (**Sơ đồ 5c**).

Do khả năng phản ứng của axit 2-(2,6-diflo-4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic thấp, cần hoạt hóa axit này bằng thionyl clorua để đạt được sự ngưng tụ (**Sơ đồ 5c**). Sự chuyển hóa của các dẫn xuất este thành axit hydroxamic tương ứng đạt được bằng cách hydroxylamin phân, như đã mô tả trong các trường hợp trên đây.



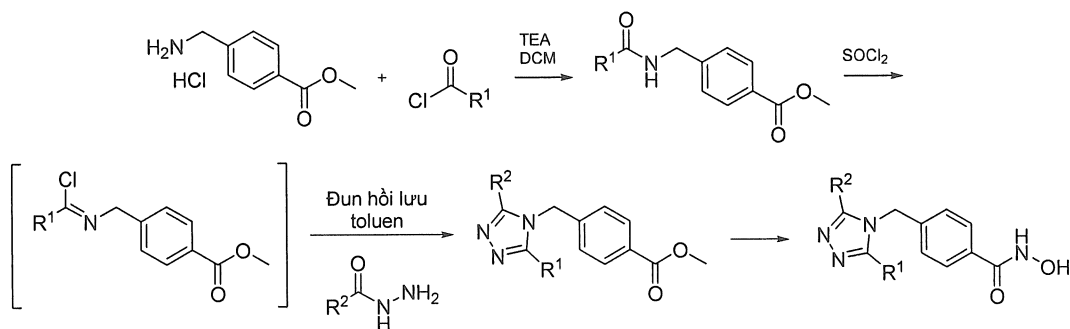
Sơ đồ 5 - Tổng hợp dẫn xuất benzohydroxamic bằng hợp chất có nhân triazol, thiadiazol và oxadiazol

Các dẫn xuất 1,3,4-oxadiazol được sử dụng làm chất ban đầu để tổng hợp các hợp chất mang nhân triazol. Thu được sự chuyển hóa bằng cách gia nhiệt oxadiazol trong THF với sự có mặt của MeNH_2 , như được mô tả trên Sơ đồ 6.



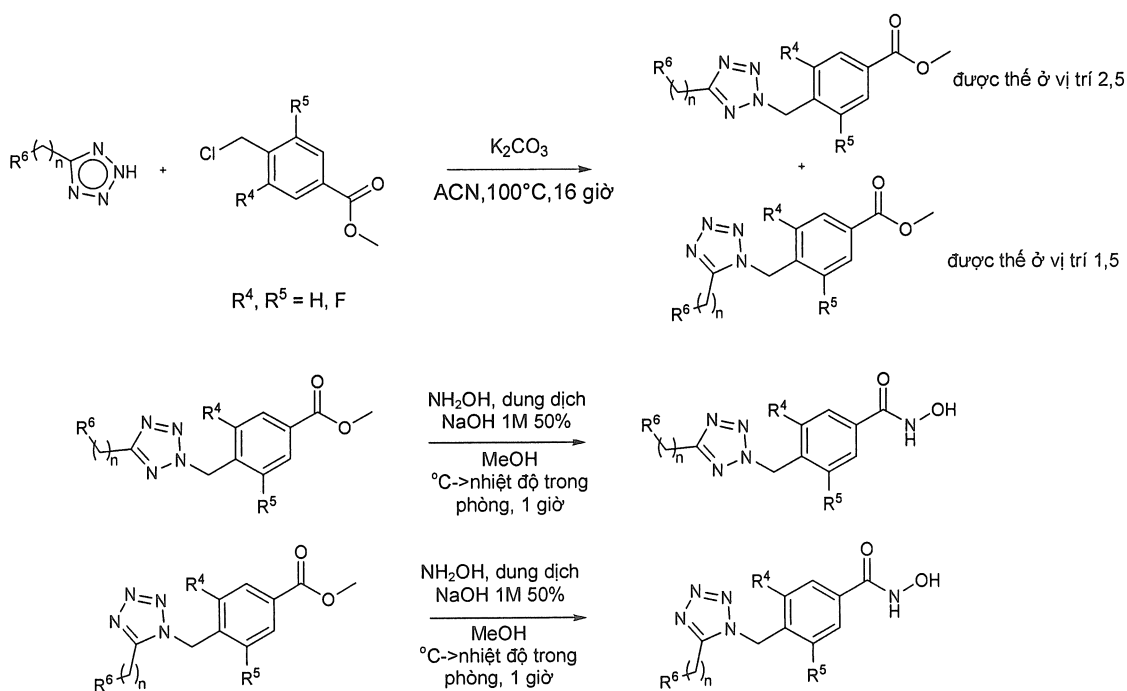
Sơ đồ 6 - Tổng hợp các dẫn xuất 1,2,3-triazol

Các hợp chất mang 1,2,4-triazol được thế ba lần ở vị trí 3,4,5 làm khung chính được điều chế bắt đầu từ hợp chất metyl p-aminometylbenzoat hydroclorua và axylclorua tương ứng với sự có mặt của trimetylamin. Amit thu được được đun hồi lưu trong thionyl clorua để tạo thành hợp chất trung gian imidoyl clorua, hợp chất này tạo ra sản phẩm mong muốn khi phản ứng với hợp chất hydrazit tương ứng và sau đó đóng vòng khi đun hồi lưu toluen (Sơ đồ 7). (Công bố đơn quốc tế số WO2011106650 (A2) — 2011-09-01; Begum et al *Med. Chem. Commun.* **2015**, 6, 80-89; Aster et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 2799–2804.)



Sơ đồ 7 - Tổng hợp dẫn xuất benzohydroxamic bằng hợp chất có nhân 1,2,4-triazol được thế ba lần ở vị trí 3,4,5

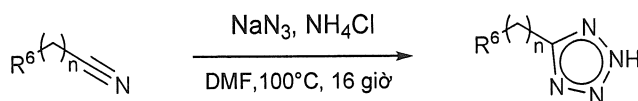
Các hợp chất chứa gốc tetrazol thu được bằng cách cho hợp chất *N*-H-tetrazol phản ứng với axit metyl 4-(clometyl)benzoic hoặc metyl 4-(clometyl)-3,5-diflô benzoat với sự có mặt của kali cacbonat trong axetonitril, trong khi gia nhiệt (Sơ đồ 8) (Công bố đơn quốc tế số WO2012/106995).



Sơ đồ 8 - Tổng hợp dẫn xuất Benzo-hydroxamic và 3,5-DifloBenzo-Hydroxamic bằng hợp chất có nhân Tetrazol

Tính chọn lọc vùng phụ thuộc vào chất nền tetrazol, thường là sản phẩm được thể hai lần ở vị trí 2,5 có xu hướng gấp từ 2 đến 10 lần so với sản phẩm được thể hai lần ở vị trí 1,5. Các chất đồng phân vị trí, được tách bằng cách sắc ký trên silic oxit, được xử lý riêng rẽ bằng lượng dư hydroxylamin và dung dịch natri hydroxit để thu được các sản phẩm hydroxamic tương ứng.

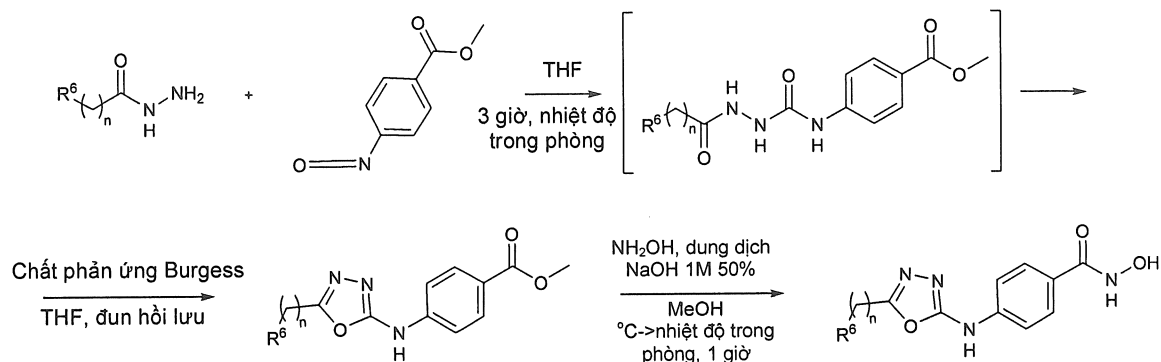
Một số hợp chất *N*-H-tetrazol ban đầu có bán trên thị trường trong khi một số hợp chất khác được tổng hợp bằng cách xử lý nitril tương ứng bằng natri azit và amoni clorua trong DMF trong khi gia nhiệt (Sơ đồ 9).



Sơ đồ 9 - Tổng hợp hợp chất NH-Tetrazol

Thu được các hợp chất chứa gốc 2-amino-1,3,4-oxadiazol bằng cách kết hợp axyl hydrazit với metyl 4-isoxyanatobenzoat trong THF ở nhiệt độ trong phòng

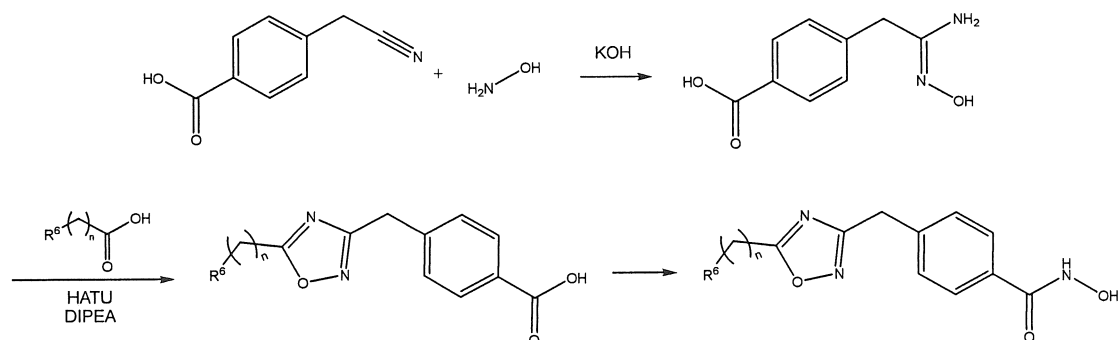
(room temperature: rt) và đun hồi lưu hợp chất trung gian vừa được tạo ra với sự có mặt của lượng dư chất phản ứng Burgess (**Sơ đồ 10**) (Dolman et al., J. Org. Chem. (2006), 71(25), 9548).



Sơ đồ 10 - Tổng hợp dẫn xuất Benzo-Hydroxamic bằng hợp chất có nhân 2-amino-1,3,4-oxadiazol

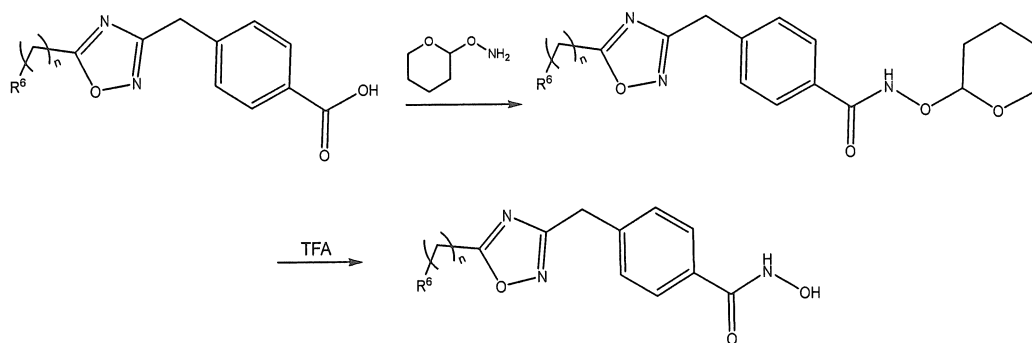
Sự chuyển hóa các hợp chất este thành axit hydroxamic đạt được, như được mô tả trong các trường hợp trên đây, bằng cách hydroxylamin phân.

Các hợp chất có nhân 1,2,4-oxadiazol được tổng hợp từ axit 4-(xyanometyl)benzoic, hoặc từ este metyl tương ứng, bằng cách xử lý bằng hydroxylamin hydroclorua với sự có mặt của lượng dư kali hydroxit hoặc natri bicacbonat khi đun hồi lưu etanol (**Sơ đồ 11**). Sau đó, axit (Z)-4-(2-amino-2-(hydroxyimino)etyl)benzoic thu được được cho phản ứng với axit carboxylic thích hợp đã được hoạt hóa từ trước bằng HATU và DIPEA hoặc các chất hoạt hóa khác để tạo ra hợp chất trung gian mạch hở, hợp chất này được đóng vòng bằng cách gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C và với sự có mặt của các râu phân tử hoặc chất đóng vòng, như carbonildiimidazol.



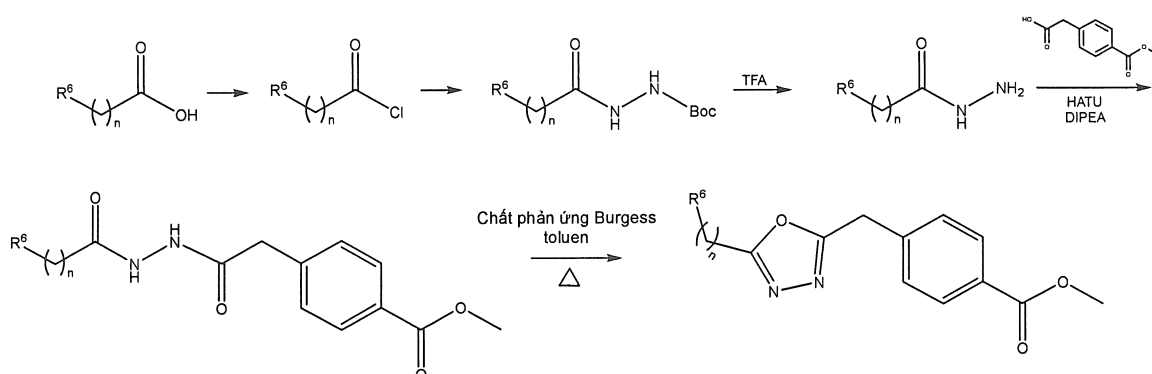
Sơ đồ 11 - Tổng hợp dẫn xuất benzohydroxamic bằng hợp chất có nhân 1,2,4-oxadiazol

Sự chuyển hóa của axit carboxylic thành axit hydroxamic có thể được thực hiện bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Thông thường, thu được hợp chất này bằng cách hoạt hóa bằng HATU, DCC hoặc axyl clorua và phản ứng của hợp chất được hoạt hóa với hydroxylamin trong nước. Trong một số trường hợp, cần ngưng tụ axit carboxylic với *O*-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)hydroxylamin để thu được dạng được bảo vệ của axit hydroxamic, dạng này có thể được giải phóng bằng cách xử lý bằng TFA (Sơ đồ 12).



Sơ đồ 12 - Sự chuyển hóa axit carboxylic thành axit hydroxamic axit bằng dạng được bảo vệ của nó

Để tổng hợp các hợp chất bằng hợp chất có nhân 1,3,4-oxadiazol (Sơ đồ 13), hợp chất hydrazit thích hợp được điều chế bằng phản ứng của axit tương ứng, được hoạt hóa bằng axyl clorua, với Boc-hydrazin và sau đó khử bảo vệ bằng cách xử lý bằng TFA. Tiếp đó, hydrazit được ngưng tụ với axit 2-(4-(metoxycarbonyl)phenyl)axetic, đã được hoạt hóa từ trước bằng HATU và DIPEA. Tiến hành đóng vòng hợp chất trung gian mạch hở bằng cách xử lý bằng lượng dư chất phản ứng Burgess trong toluen hoặc THF trong khi đun hồi lưu.



Sơ đồ 13 - Tổng hợp dẫn xuất hydroxamic bằng hợp chất có nhân 1,3,4-oxadiazol

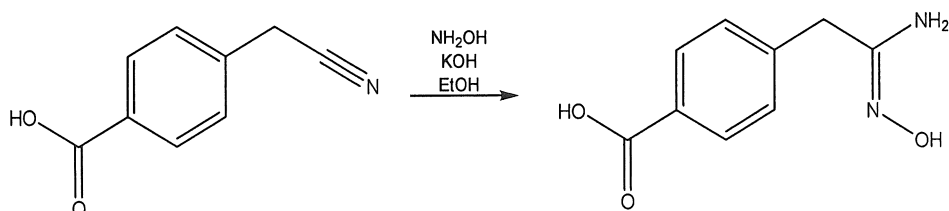
Như đã thể hiện trên đây, có thể thu được dẫn xuất hydroxamic cuối bằng cách cho este metyl tham gia phản ứng hydroxylamin phân với hydroxylamin, với sự có mặt của natri hydroxit với lượng dư lớn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau đây được dự định minh họa thêm sáng chế mà không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

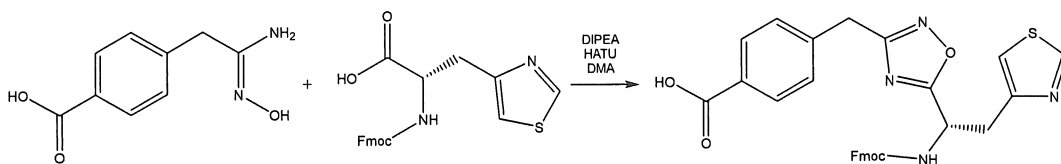
Ví dụ 1 - Tổng hợp (S)-N-(1-(3-(4-(hydroxycarbamoyl)benzyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-2-(thiazol-4yl)ethyl)-3,4-dimethoxybenzamid (hợp chất 1)

Bước A



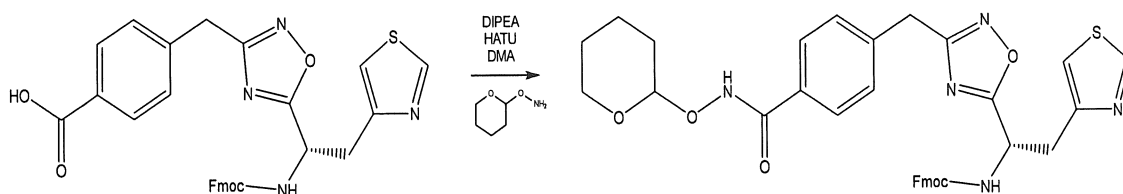
Cho thêm KOH (3,17g, 3 đương lượng) và hydroxylamin hydroclorua (2,62g, 2 đương lượng) vào dung dịch chứa axit 4-(xyanometyl)benzoic (3,04g, 1 đương lượng) trong EtOH (250ml). Hỗn hợp phản ứng được đun hồi lưu 20 giờ. Sau đó, dung dịch được làm lạnh, pha loãng bằng nước (300ml) và axit hóa đến độ pH = 6 bằng HCl đậm đặc. Chất rắn màu trắng kết tủa được lọc và làm khô trong chân không ở nhiệt độ 50°C qua đêm, thu được 2,6g sản phẩm, sản phẩm này được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước B



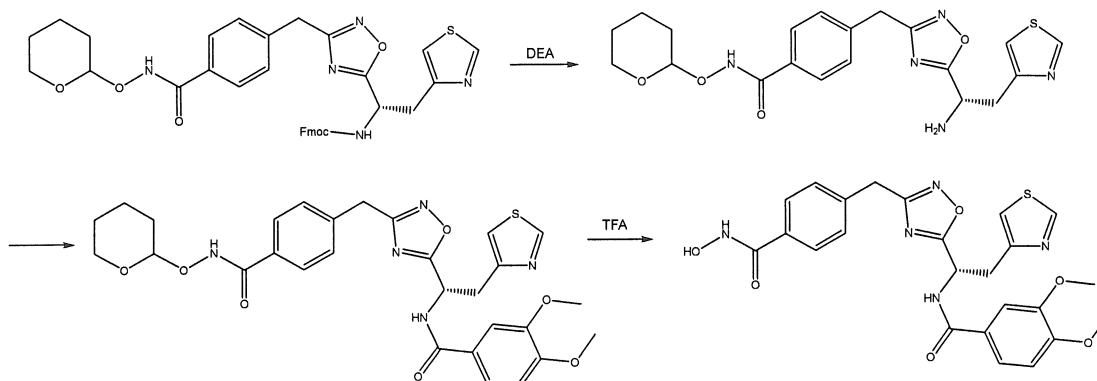
Axit (S)-2-(N-Fmoc-amino)-3-(thiazol-4-yl)propanoic (2g, 1 đương lượng) được hoạt hóa bằng cách xử lý bằng HATU (2,5g, 1,3 đương lượng) và DIPEA (1,4ml) trong DMA ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau đó, DIPEA bổ sung (1,4ml) và axit (Z)-4-(2-amino-2-(hydroxyimino)ethyl)benzoic (985mg, 1 đương lượng) được thêm vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi hòa tan hoàn toàn các sản phẩm ban đầu, các rây phân tử được thêm vào để loại bỏ nước tạo thành và hỗ trợ sự đóng vòng hợp chất trung gian mạch hở. Sau hai giờ, các rây phân tử được loại bỏ bằng cách lọc và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan trong metanol. Chất rắn màu trắng tách ra được loại bỏ bằng cách lọc. Dung môi được làm bay hơi một phần. Quan sát thấy sự kết tủa thêm của chất rắn màu trắng, chất này được lọc. Dung dịch được làm bay hơi đến khi khô và phần cặn was được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh pha ngược (C_{18}) theo gradien $H_2O/ACN/TFA$.

Bước C



Axit thu được trong bước B (82mg, 1 đương lượng) được hoạt hóa bằng cách xử lý bằng HATU (73mg, 1,3 đương lượng) và DIPEA (41 μ l, 1,3 đương lượng) trong DMF ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, O-(tetrahydro-2H-pyran-2-yl)hydroxylamin (17mg, 1 đương lượng) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi khuấy 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung môi được làm bay hơi trong máy ly tâm trong chân không. Phần cặn được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước D

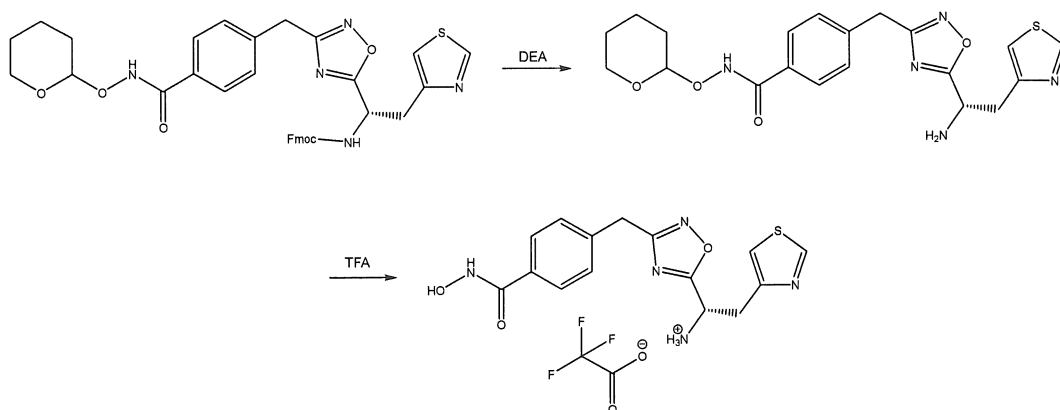


Sản phẩm thu được trong bước C được pha loãng trong 1ml THF và được xử lý bằng DEA (70 μ l, 4,5 đương lượng). Sau khi khuấy 4 giờ ở nhiệt độ 40°C, dung môi và lượng dư DEA được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan bằng 1ml DMF và axit 3,4-dimethoxybenzoic (27mg, 1 đương lượng), được hoạt hóa từ trước bằng HATU (74mg, 1,3 đương lượng) và DIPEA (41 μ l, 1,3 đương lượng) trong DMF (1ml), được cho thêm vào dung dịch. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng 4 giờ. Cuối cùng, 0,4ml TFA được thêm vào để khử bảo vệ nhóm chức hydroxamic. Sau 4 giờ, dung môi và lượng dư TFA được loại bỏ bằng cách làm bay hơi và phần cặn được tinh chế bằng cách phương pháp LC-MS nửa điều chế (m/z 509,84 [MH⁺]).

Hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng chính quy trình này :

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
21		537,97

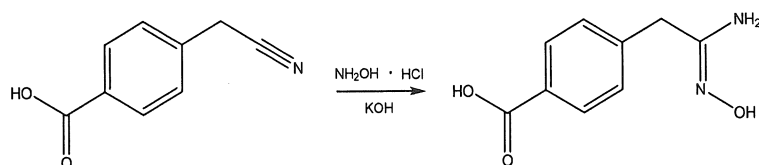
Ví dụ 2- Tổng hợp (S)-4 -((5-(1-amino-2-(thiazol-4-yl)etyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid 2,2,2-trifloaxetat (hợp chất 48)



Hợp chất (9H-floren-9-yl)metyl((1S)-1-(3-(4-(((tetrahydro-2H-pyran-2-yl)oxy)carbonyl)benzyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-2-(thiazol-4-yl)etyl)carbamate (thu được trong Bước C của quá trình tổng hợp hợp chất 1) (222mg, 1 đương lượng) được xử lý bằng DEA (159 μ l, 4,5 đương lượng) trong DMF (1ml) qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, 0,520ml TFA (20 đương lượng) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp LC-MS nửa điều chế (m/z 346,04 [MH⁺]).

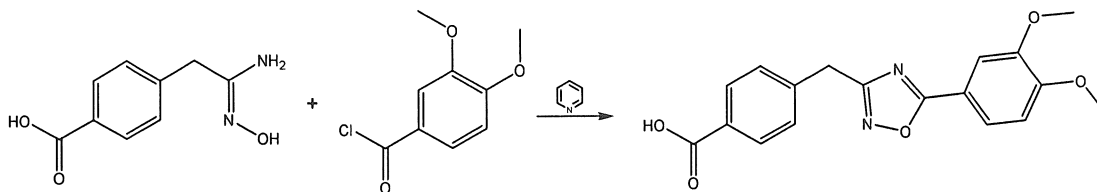
Ví dụ 3 - Tổng hợp axit 4-[[5-(3,4-dimethoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 49)

Bước A



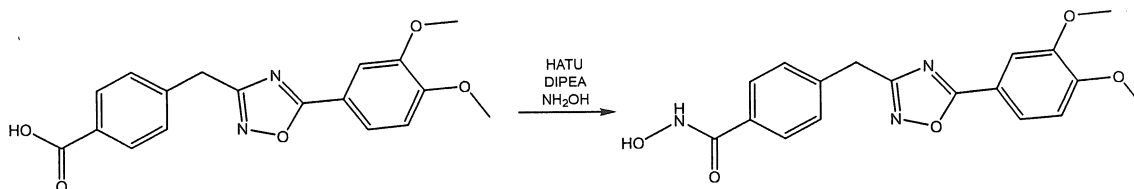
Hỗn hợp của axit 4-(xyanometyl)benzoic (3g, 1 đương lượng), hydroxylamin hydroclorua (2,6g, 2 đương lượng) và kali hydroxit (3,2g, 3 đương lượng) trong ethanol (250ml) được gia nhiệt qua đêm trong khi đun hồi lưu. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, 300ml nước và 15ml HCl 1N (độ pH $\approx$ 5) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Sản phẩm mong muốn, thu được dưới dạng chất kết tủa, được lọc trên màng ngăn xốp và làm khô trong chân không qua đêm, thu được 320mg sản phẩm sạch.

Bước B



Axit (Z)-4-(2-amino-2-(hydroxyimino)etyl)benzoic (319mg, 1,1 đương lượng) thu được trong bước A được hòa tan trong toluen (6ml) và pyridin (3ml) được thêm vào. 3,4-Dimetoxibenzoiclorua (300mg, 1 đương lượng), được điều chế từ trước bằng cách cho axit 3,4-dimetoxibenzoic phản ứng với lượng dư thionyl clorua, được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng này được đun hồi lưu 4 giờ. Dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm và sản phẩm được tinh chế bằng phương pháp LC-MS nửa điều chế.

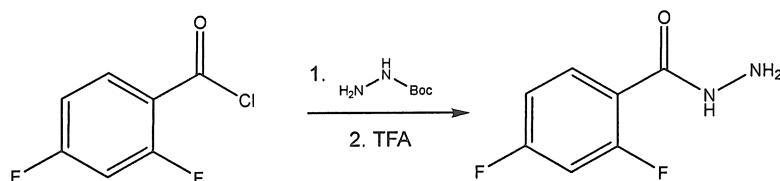
Bước C



Axit 4-((5-(3,4-dimetoxiphenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl)benzoic (71mg, 1 đương lượng) thu được trong Bước B được hoạt hóa bằng cách xử lý bằng HATU (103mg, 1,3 đương lượng) và DIPEA (47μl, 1,3 đương lượng) trong DMF (1ml) trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, hydroxylamin hydroclorua (14mg, 1 đương lượng) và DIPEA bổ sung (47μl, 1,3 đương lượng) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp LC-MS nửa điều chế, thu được 33mg sản phẩm sạch (m/z 356,08 [MH⁺]).

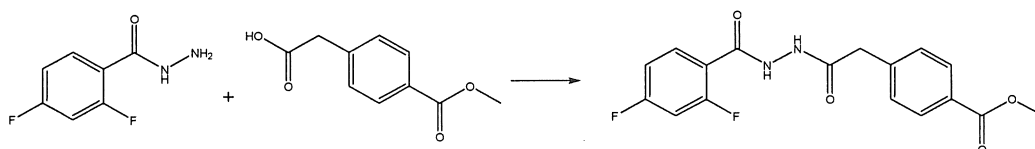
Ví dụ 4. Tổng hợp 4-((5-(2,4-diflophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 58)

Bước A



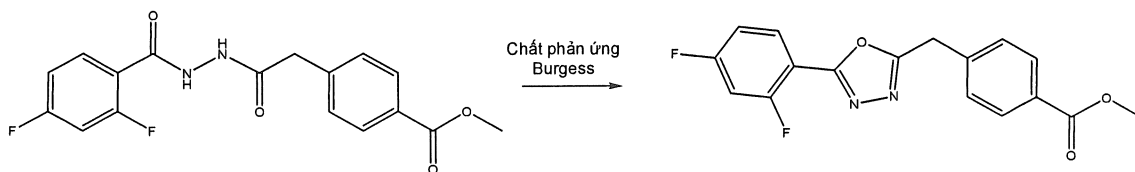
Dung dịch chứa Boc-hydrazin (150mg, 1 đương lượng) trong ACN (2ml) và 95mg NaHCO_3 (1 đương lượng) được cho thêm vào dung dịch chứa 2,4-diflobenzoyl clorua (200mg, 1 đương lượng) trong ACN (3ml). Sau ba giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung môi được làm bay hơi trong dòng không khí. Phần cặn được xử lý bằng TFA trong ba giờ. Axit được loại bỏ trong dòng không khí và phần cặn được hòa tan bằng EtOAc và rửa bằng dung dịch NaHCO_3 2,5%. Các pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và làm bay hơi đến khi khô, thu được 159mg sản phẩm, sản phẩm này được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước B



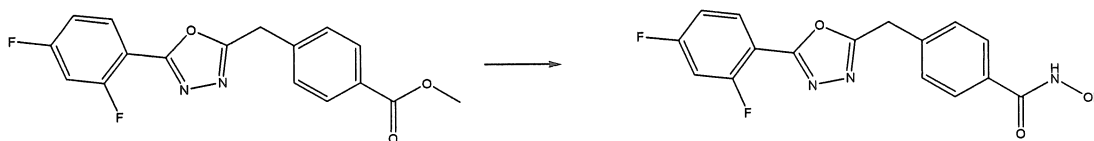
HATU (439mg, 1,3 đương lượng) và DIPEA (0,4ml, 2,6 đương lượng) được cho thêm vào dung dịch chứa axit 2-(4-(metoxycacbonyl)phenyl)axetic (224mg, 1,3 đương lượng) trong 5ml THF). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ cho đến khi hòa tan hoàn toàn các chất phản ứng. Sau đó, dung dịch chứa 2,4-diflobenzohydrazit (153mg, 1 đương lượng) trong THF (2ml) được cho thêm vào hỗn hợp. Sau 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng, quan sát được sự chuyển hóa hoàn toàn của các chất phản ứng ban đầu thành sản phẩm mong muốn. Dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi trong dòng không khí. Phần cặn được hòa tan trong H_2O và chất kết tủa tạo thành được lọc trên màng ngăn xốp. Sản phẩm (149mg) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước C



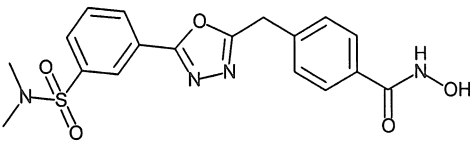
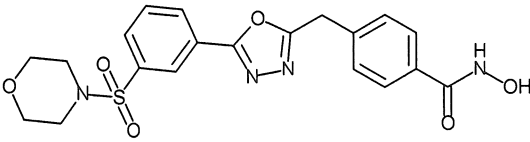
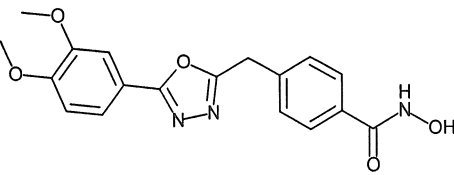
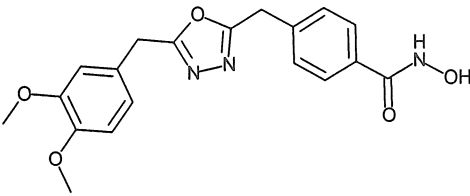
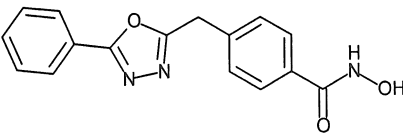
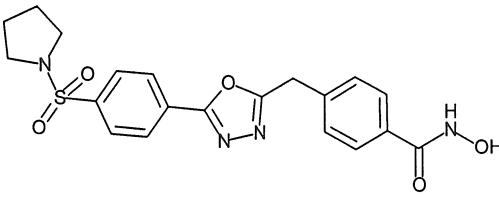
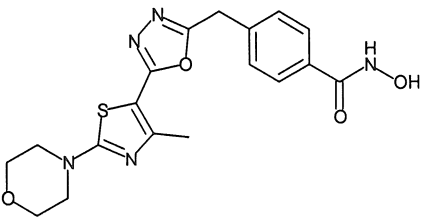
175mg chất phản ứng Burgess (1,72 đương lượng) được cho thêm vào huyền phù chứa hợp chất thu được trong Bước B (149mg, 1 đương lượng) trong 5ml toluen khô được gia nhiệt trong khi đun hồi lưu. Sau một giờ, quan sát được sự chuyển hóa hoàn toàn của hợp chất ban đầu thành sản phẩm dạng vòng. Dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi trong khi chân không. Phần cặn được hòa tan bằng DCM và rửa bằng HCl 1N và H₂O. Pha hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và làm bay hơi đến khi khô, thu được 132,3mg sản phẩm, sản phẩm này được sử dụng trong bước sau đây mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước D



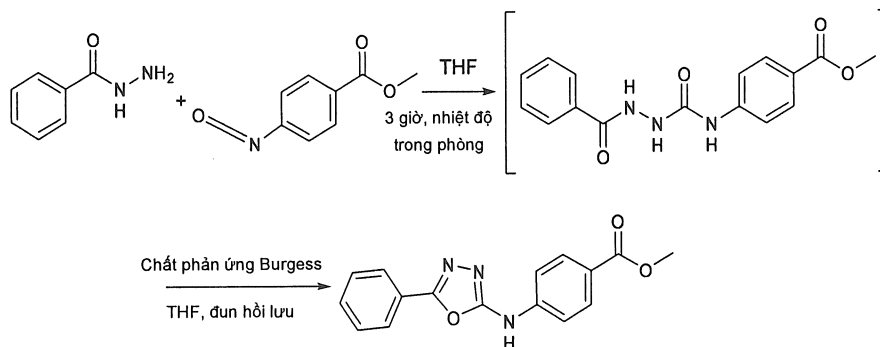
0,707ml dung dịch hydroxylamin (60 đương lượng) được cho vào dung dịch chứa hợp chất thu được trong bước C (132mg, 1 đương lượng) trong 4ml MeOH/THF. 1998ml NaOH 1N (5 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt từ từ. Sau khoảng một giờ, hệ chất phản ứng được làm trung hòa bằng cách cho thêm HCl 1N (2ml). Dung môi được làm bay hơi trong chân không và phần cặn được pha loãng bằng dung dịch NaHCO₃ 2,5%, được lọc và rửa bằng H₂O. Chất rắn được tạo huyền phù trong Et₂O và lọc, thu được 53mg sản phẩm tinh khiết (m/z 332,01 [MH⁺]).

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng chính quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
3		403,05
64		445,05
57		356,01
45		370,08
68		296,04
69		428,94
75		401,96

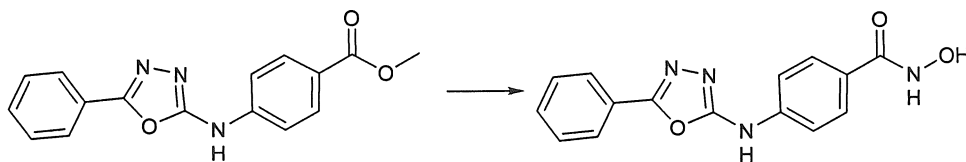
Ví dụ 5. Tổng hợp axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino]benzencarbohydroxamic (hợp chất 60)

Bước A



68mg benzohydrazit (1 đương lượng) và methyl 4-isoxyanobenzoat (88,5mg, 1 đương lượng) được trộn lẫn trong THF (5ml) ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch tạo thành được khuấy trong 3 giờ. Sự tạo thành hợp chất trung gian được khẳng định bằng phương pháp HPLC và LC-MS. Dung môi được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được hòa tan bằng toluen. Hỗn hợp này được đun hồi lưu và chất phản ứng Burgess (298mg, 2,5 đương lượng) được cho thêm theo từng phần nhỏ cho đến khi chuyển hóa hoàn toàn hợp chất trung gian thành sản phẩm vòng. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, tiến hành rửa bằng nước. Pha hữu cơ được làm khô, lọc và làm bay hơi đến khi khô. Sản phẩm này được tinh chế bằng cách kết tinh ra khỏi DCM, thu được 172mg sản phẩm sạch (Dolman et al., J. Org. Chem. (2006), 71(25), 9548).

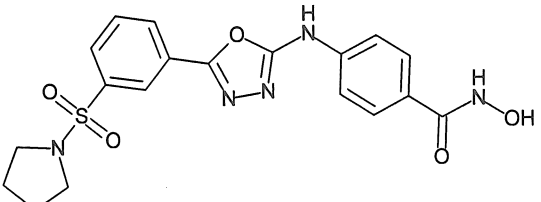
Bước B



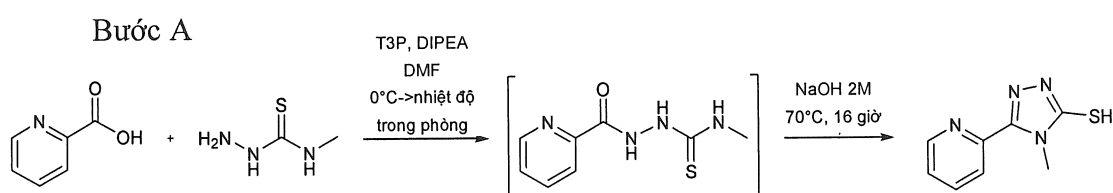
Este thu được trong bước A (172mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 4ml metanol và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 1,365ml, 40 đương lượng), dung dịch nước natri hydroxit 1M (6ml, 10 đương lượng)

được cho thêm nhỏ giọt từ từ vào. Bể nước đá được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa của sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau một giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 6ml dung dịch HCl 1M trong nước và 6ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc, và cô đến khi khô, thu được 26mg sản phẩm tinh khiết (m/z 297,09 $[MH^+]$).

Hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng chính quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z $[MH^+]$
63		430,00

Ví dụ 6. Tổng hợp 3,5-difluo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(pyridin-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 14)

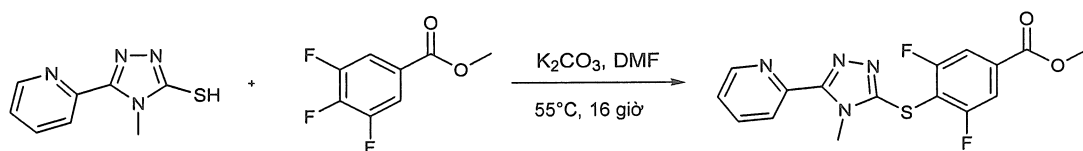


Axit 2-pyridylcarboxylic (123mg, 1 đương lượng) và 4-metyl-3-thiosemicarbazit (116mg, 1,1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 2ml DMF và hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C bằng bể nước đá. T3P (dung dịch DMF 50%, 893μl, 1,5 đương lượng) và diisopropyletylamin (310μl, 1,78 đương lượng) được cho thêm từ từ vào hỗn hợp phản ứng trong khi khuấy. Bể nước đá được loại bỏ và hỗn hợp được cho phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Sự chuyển hóa hoàn toàn của chất ban đầu được khẳng định bằng phương pháp HPLC. 2ml etyl

axetat, 2ml nước và 2ml dung dịch NaOH 4M trong nước được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Các pha được tách ra, và lớp hữu cơ được chiết lại bằng dung dịch NaOH 4M trong nước. Các pha nước kết hợp được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ 70°C. Sự chuyển hóa của hợp chất trung gian mạch hở thành sản phẩm mong muốn được khẳng định bằng phương pháp LC-MS. Độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến 5 bằng cách cho thêm nhỏ giọt axit clohydric đậm đặc trong khi khuấy. Chất kết tủa được thu gom bằng cách lọc.

157mg sản phẩm thu được được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước B

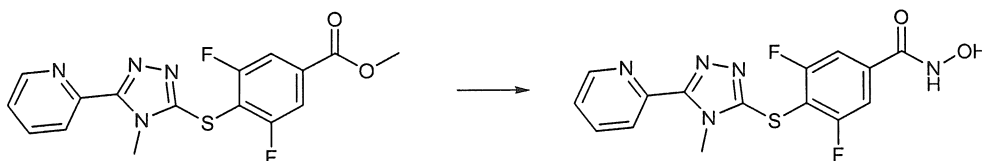


Hợp chất 4-metyl-5-(pyridin-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol (157mg, 1 đương lượng), metyl 3,4,5-triflobenzoat (156mg, đương lượng) và kali cacbonat (261mg, 2,3 đương lượng) được tạo huyền phù trong 2ml DMF trong môi trường argon. Hỗn hợp tạo thành được làm ấm đến nhiệt độ 40°C và khuấy qua đêm.

Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 10ml etyl axetat và 10ml nước. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, được lọc và cô.

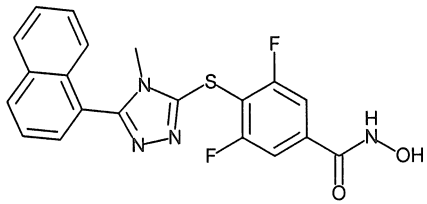
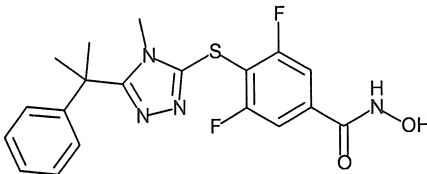
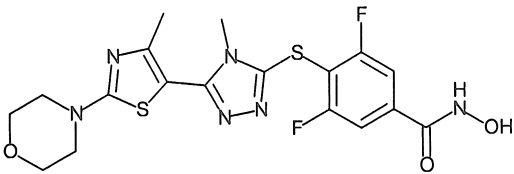
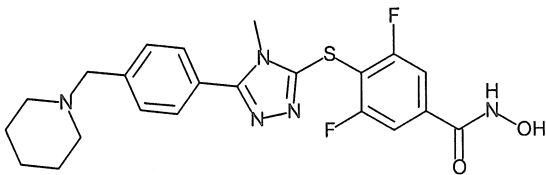
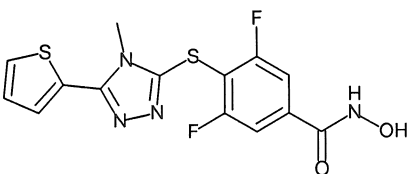
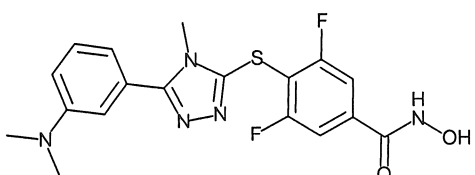
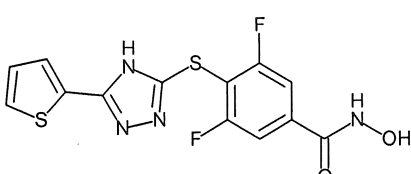
Hỗn hợp phản ứng dạng thô được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (Grace Reveleris X2, hexan: etyl axetat), thu được 149mg sản phẩm sạch (Dudutiene et al., Bioorg. Med. Chem. (2013), 21(7), 2093-2106; Công bố đơn quốc tế số WO03/062225).

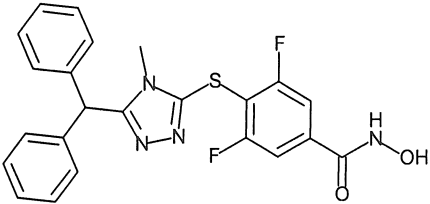
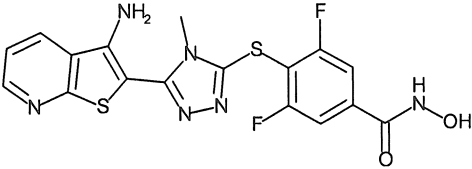
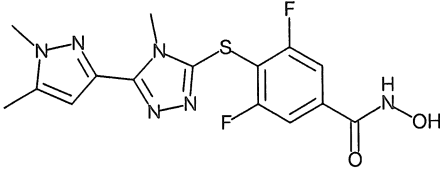
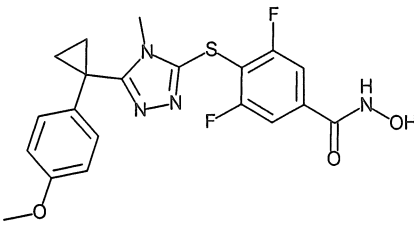
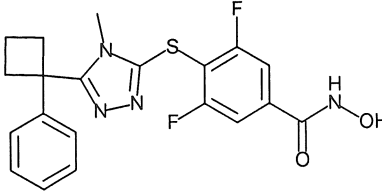
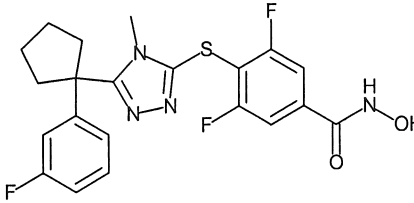
Bước C



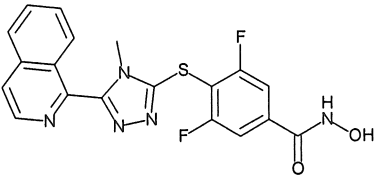
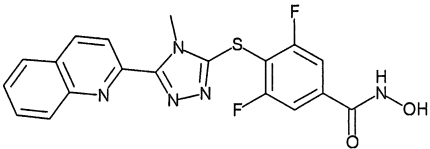
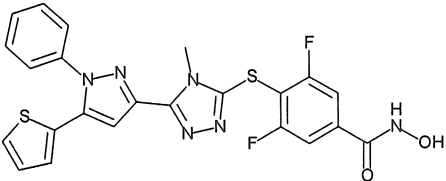
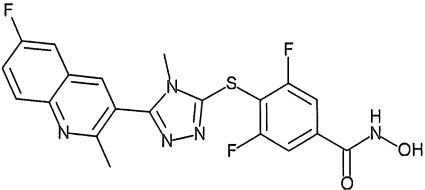
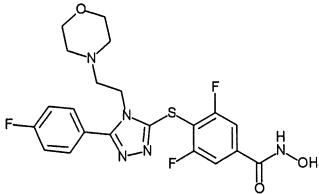
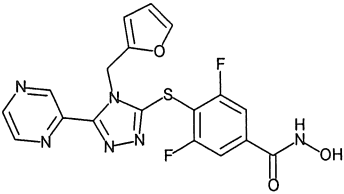
Este thu được trong bước B (149mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 5ml metanol và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 0,97ml, 40 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M (4,1ml, 10 đương lượng) trong nước được cho thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại bỏ để nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa của sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó, phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 4,1ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 6ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ xung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat dung dịch bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, được lọc, và cô đến khi khô, thu được 113mg sản phẩm tinh khiết (m/z 363,94 [MH⁺]).

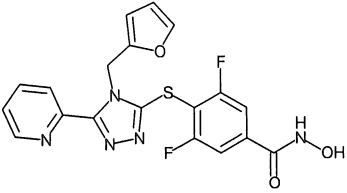
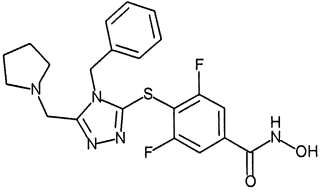
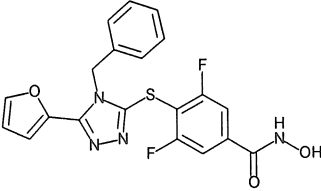
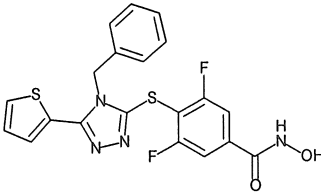
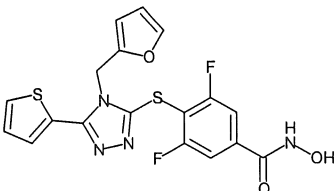
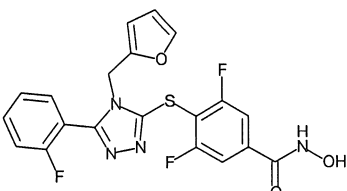
Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

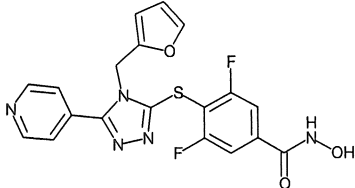
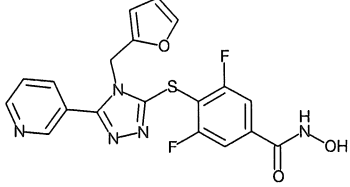
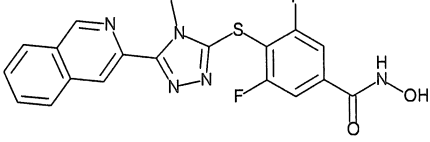
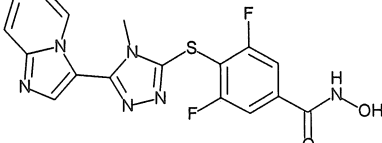
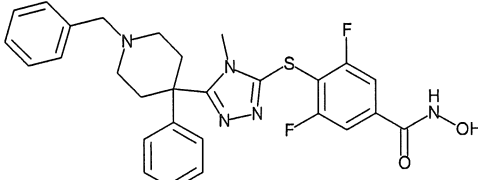
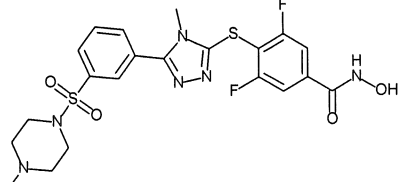
Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH+]
2		412,89
4		405,01
9		468,97
16		460,01
17		368,91
80		405,92
97		354,92

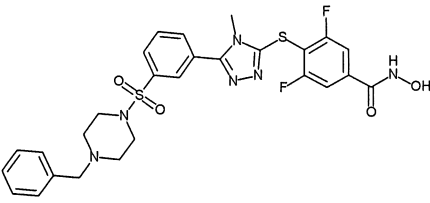
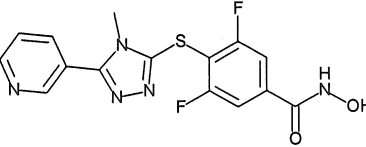
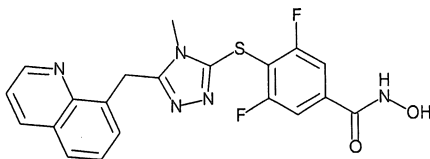
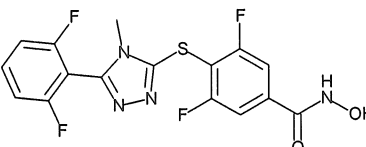
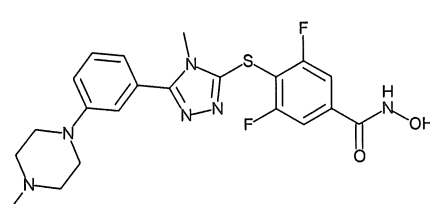
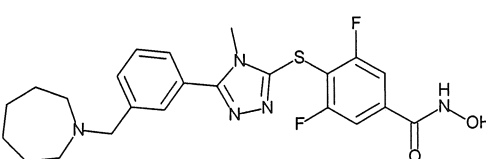
98		452,94
99		434,89
100		380,94
104		432,93
101		417,04
102		449,02

103		475,05
114		477,08
115		464,00
116		422,01
117		448,04
118		426,91

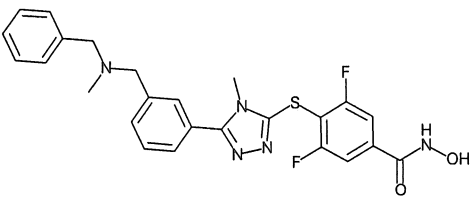
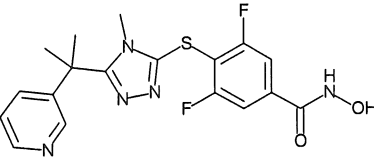
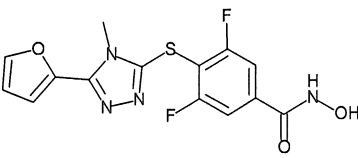
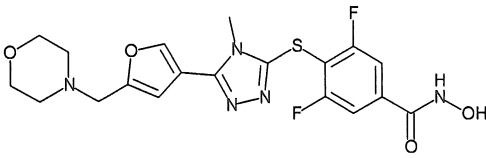
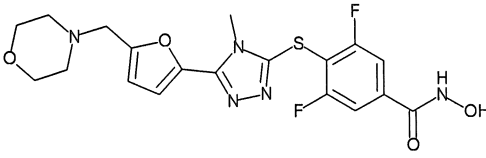
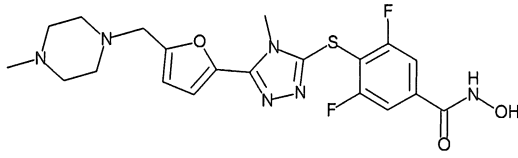
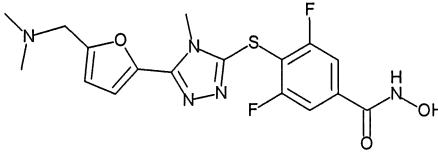
121		413,89
122		413,96
136		510,89
137		445,87
138		479,88
139		430,9

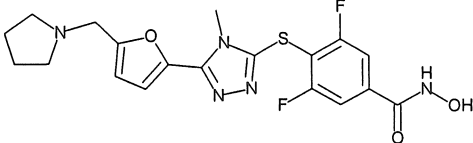
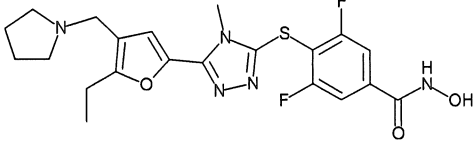
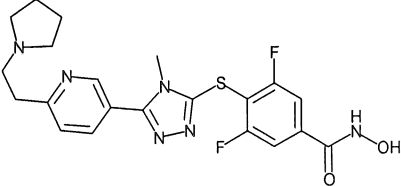
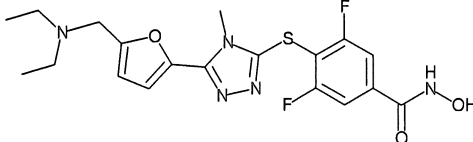
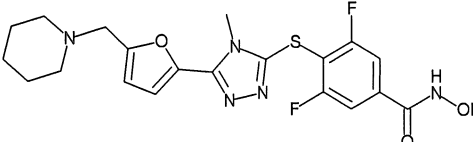
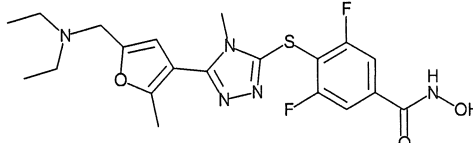
140		429,78
141		445,94
142		428,87
143		444,82
144		434,82
145		447,00

146		430,10
147		430,10
148		414,00
149		403,1
150		536,1
151		525,1

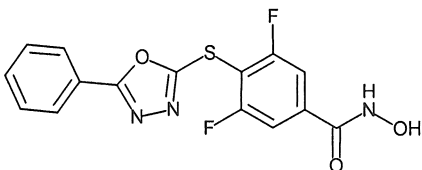
152		601,2
153		364,1
164		428,3
165		399,5
166		461,3
167		474,4

168		474,5
177		404,8
178		404,8
179		365,1
180		382,1
181		460,7
182		462,2

184		496,3
186		406,5
199		353,12
203		452,07
204		452,09
205		465,08
206		410,1

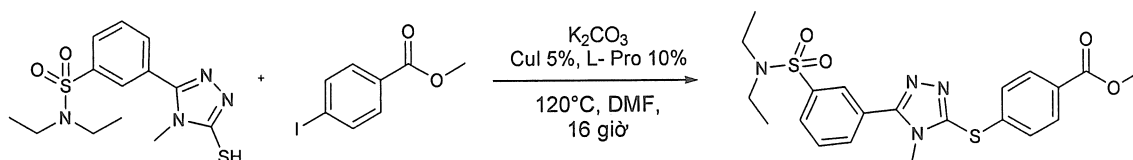
207		433,8
208		464,04
210		461,05
211		438,0
212		449,76
213		452,05

Hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này, bắt đầu từ hợp chất 2-mercapto-1,3,4-oxadiazol thay cho hợp chất 2-mercapto-1,3,4-triazol:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH+]
192		350,03

Ví dụ 7. Tổng hợp axit 4-[[5-[3-(dietylsulfamoyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 66)

Bước A

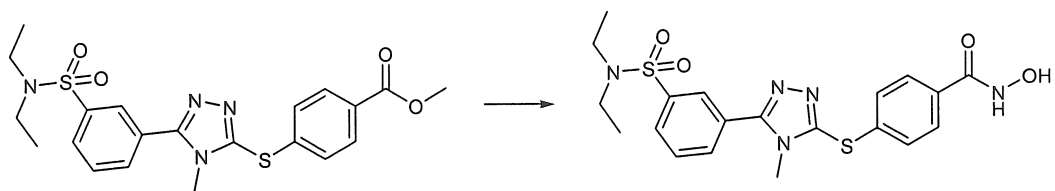


Dung dịch chứa đồng iodua (10mg, 0,05 đương lượng), L-prolin (11mg, 0,1 đương lượng) và kali cacbonat (152mg, 1,1 đương lượng) trong 1ml DMF trong môi trường argon, được cho thêm lần lượt methyl 4-iodobenzoat (288mg, 1,1 đương lượng) và *N,N*-dietyl-3-(5-mercapto-4-metyl-4H-1,3,4-triazol-3-yl)benzensulfonamid (326mg, 1 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C và khuấy qua đêm. Lượng tiêu thụ hợp chất thiol dị thơm được quan sát bằng phương pháp HPLC.

Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 10ml etyl axetat và 10ml nước. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc và cô.

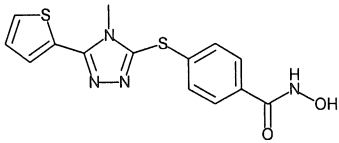
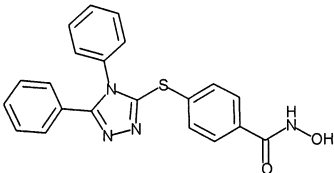
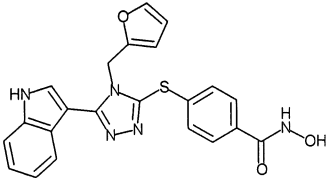
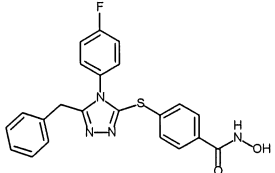
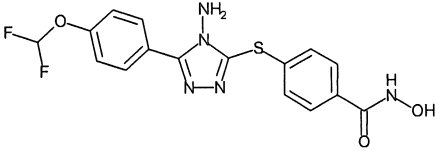
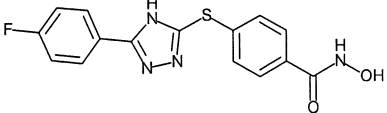
Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (Grace Reveleris X2, hexan: etyl axetat), thu được 236mg sản phẩm.

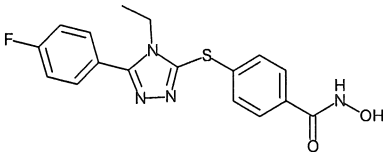
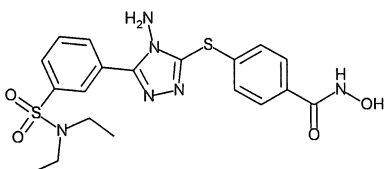
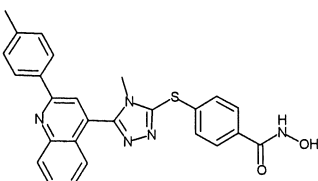
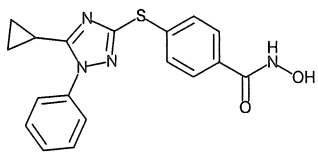
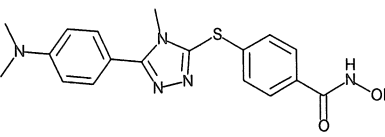
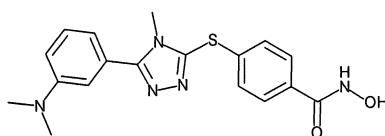
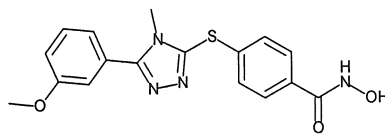
Bước B

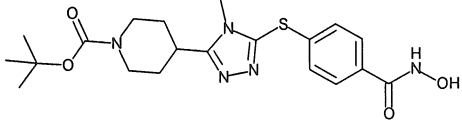
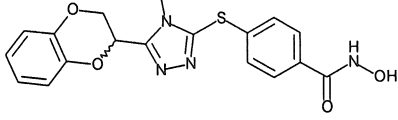
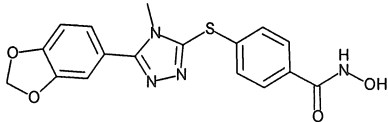
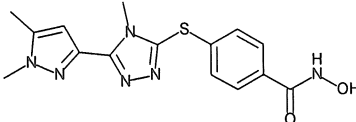
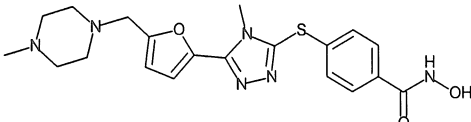


Este thu được trong bước A (236mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 15ml metanol và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 1,2ml, 40 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M trong nước (4,1ml, 10 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa của sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 4,1ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 6ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng natri dung dịch bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc, và cô đến khi khô, thu được 207mg sản phẩm tinh khiết (m/z 432,00 [MH⁺]).

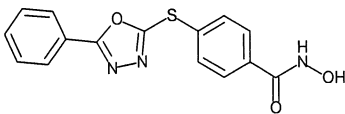
Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
10		332,99
24		389,05
25		432,03
27		421,11
28		393,11
29		331,03

30		359,09
61		463,12
67		468,02
72		353,07
73		369,96
77		370,03
78		356,94

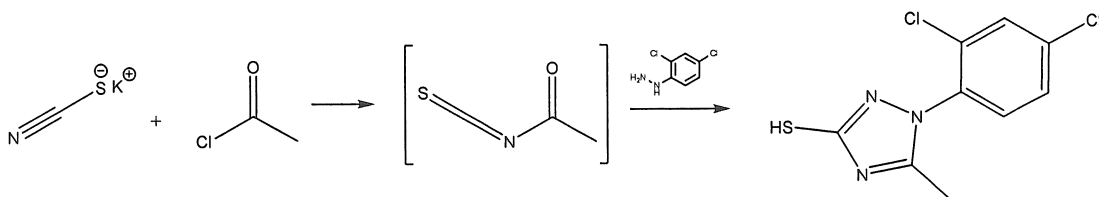
82		434,05
83		384,93
84		370,94
85		344,98
209		429,07

Hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này, bắt đầu từ hợp chất 2-mercapto-1,3,4-oxadiazol thay cho hợp chất 2-mercapto-1,3,4-triazol:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
188		314,3

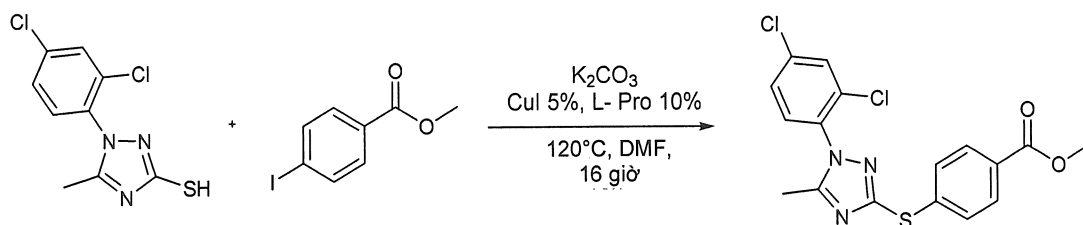
Ví dụ 8. Tổng hợp axit 4-[[1-(2,4-diclophenyl)-5-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 62)

Bước A



Dung dịch chứa kali thioxyanat (194mg, 1 đương lượng) trong axetonitril khan (6ml) được cho thêm từ từ axetyl clorua (143 μ l, 1 đương lượng). Hỗn hợp này được đun hồi lưu trong một giờ, sau đó kali clorua tạo thành được loại bỏ bằng cách lọc. (2,4-diclophenyl)hydrazin (427mg, 1 đương lượng) được cho thêm vào dung dịch và hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt trong khi đun hồi lưu. Sau 1,5 giờ, tiến hành phân tích LC-MS cho thấy lượng hydrazin đã được sử dụng hết. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng nhiều bằng nước lạnh (50ml) và chất rắn kết tủa được thu hồi bằng cách lọc. Sản phẩm được tinh chế bằng cách kết tinh ra khỏi n-Hex/EtOAc theo tỷ lệ 75:25, thu được 60mg sản phẩm.

Bước B

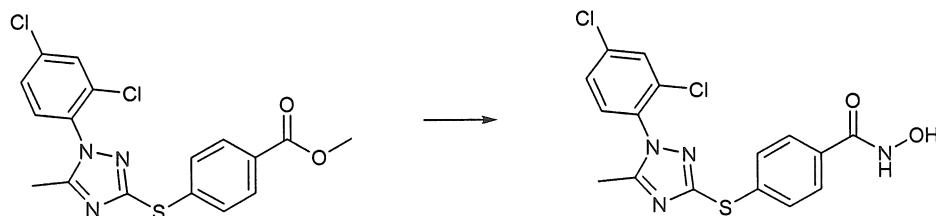


Dung dịch chứa đồng iodua (2mg, 0,05 đương lượng), L-prolin (3mg, 0,1 đương lượng) và kali cacbonat (35mg, 1,1 đương lượng) trong 2ml DMF trong môi trường argon, được cho thêm methyl 4-iodobenzoat (66,5mg, 1,1 đương lượng) và 1-(2,4-diclophenyl)-5-metyl-1H-1,2,4-triazol-3-thiol (60mg, đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C và khuấy qua đêm. Lượng tiêu thụ hợp chất thiol dị thơm được quan sát bằng phương pháp HPLC.

Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 6ml etyl axetat và 6ml nước. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc và

cô. Phần cặn thu được được sử dụng trong bước sau đây mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

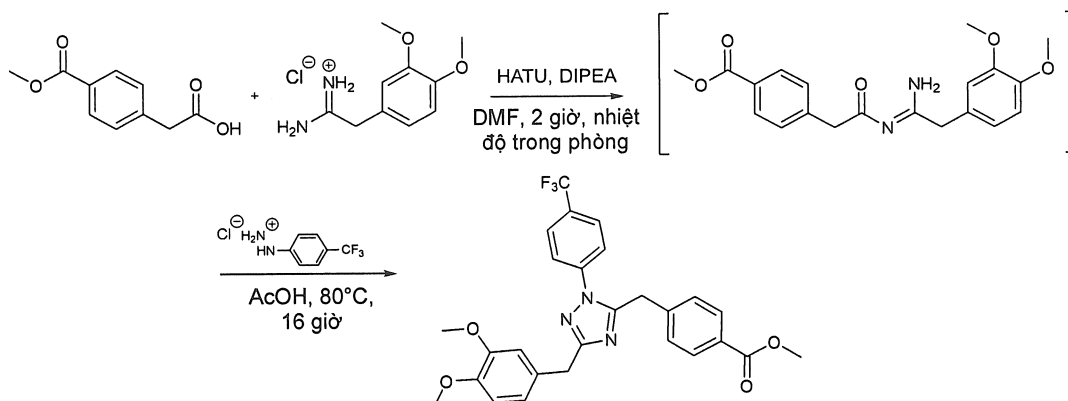
Bước C



Este thu được trong bước B (40mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 6ml metanol và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 236μl, 40 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M trong nước (1ml, 10 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 1ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 1ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, được lọc, và cô đến khi khô, thu được 30mg sản phẩm tinh khiết (m/z 396,89 $[MH^+]$).

Ví dụ 9. Tổng hợp axit 4-[[5-[(3,4-dimetoxyphenyl)metyl]-2-[4-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 44)

Bước A



Lọ nhỏ có nắp đây kiểu xoáy được nạp axit 2-(4-(metoxycacbonyl)phenyl)axetic (97mg, 0,5 mmol), 1-amino-2-(3,4-dimethoxyphenyl)etan-1-imino hydroclorua 200mg, 1,73 đương lượng) và HATU (209mg, 1,1 đương lượng). 2ml DMF và DIPEA (248μl, 3 đương lượng) được cho thêm lần lượt vào trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và được kiểm tra bằng phương pháp HPLC về lượng tiêu thụ axit carboxylic và sự tạo ra hợp chất trung gian axylamidin. Quan sát ĐƯỢC sự chuyển hóa hoàn toàn thành hợp chất trung gian trong thời gian từ 2 đến 3 giờ.

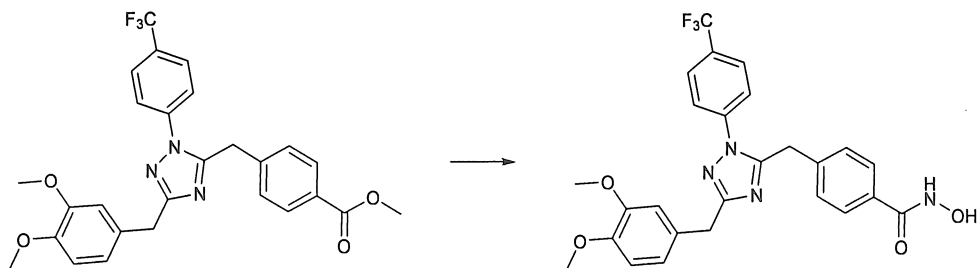
Sau đó, hợp chất (4-(triflometyl)phenyl)hydrazin hydroclorua (187mg, 1,76 đương lượng) và axit axetic (286μl, 10 đương lượng) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng. Lọ nhỏ được bịt kín và hỗn hợp được gia nhiệt đến nhiệt độ 80°C và khuấy qua đêm.

Quan sát lượng tiêu thụ hợp chất trung gian axylamidin bằng phương pháp HPLC.

Hỗn hợp được để yên đến khi đạt nhiệt độ trong phòng trước khi pha loãng hỗn hợp này bằng etyl axetat và sau đó rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước và nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulphat, lọc và cô đến khi khô.

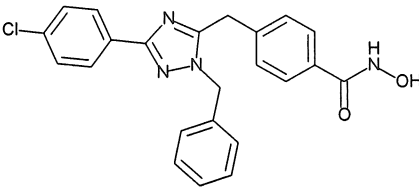
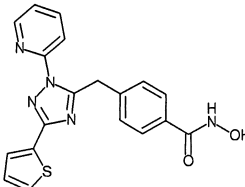
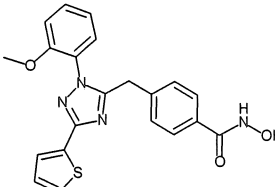
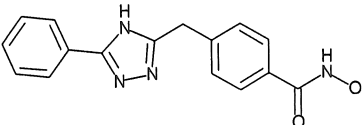
Sản phẩm này được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh (hexan: etyl axetat) (Castanedo et al., J. Org. Chem. (2011), 76(4), 1177-1179).

Bước B



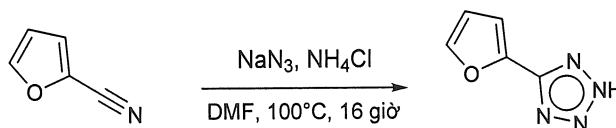
Ester thu được trong bước A (82mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 5ml metanol và hỗn hợp phản ứng tạo thành được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 189 μ l, 20 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M trong nước (1,6ml, 10 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt vào. Bể nước được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa của sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 1,6ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 3ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc, và cô đến khi khô, thu được 27mg sản phẩm tinh khiết (m/z 513,18 [MH⁺]).

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
51		419,01
52		377,99
53		407,04
216		293,1

Ví dụ 10. Tổng hợp 4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 12)

Bước A

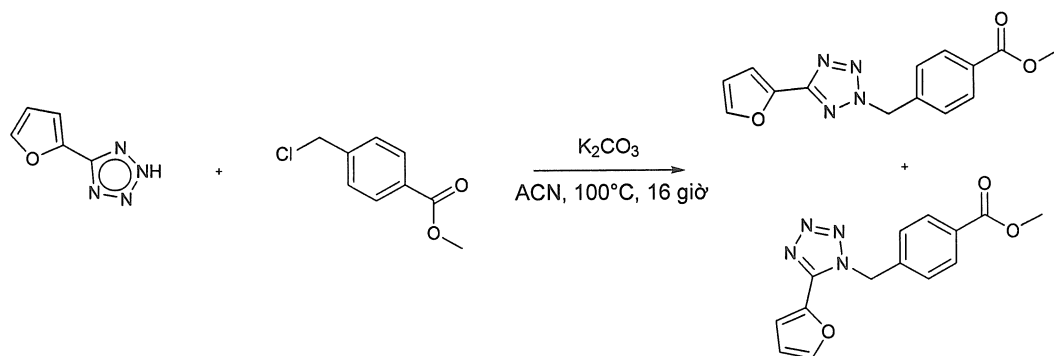


Hợp chất furan-2-carbonitril (500mg, 1 đương lượng) được hòa tan trong 10ml DMF. Natri azit (770mg, 2,2 đương lượng) và amoni clorua (631mg, 2,2 đương lượng) được cho thêm vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong khi khuấy từ. Hỗn hợp được gia nhiệt ở nhiệt độ 120°C và khuấy qua đêm. Quan sát được sự chuyển hóa hoàn toàn của chất ban đầu bằng phương pháp LC-MS.

Hỗn hợp này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C bằng bể nước đá, pha loãng

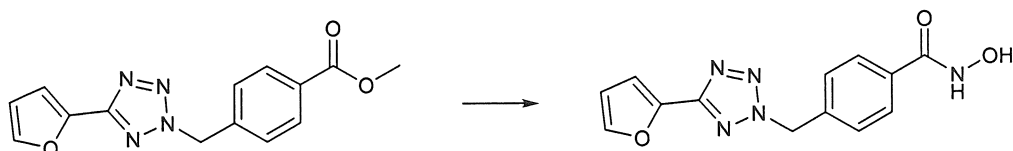
bằng 10ml nước và axit hóa bằng dung dịch axit clohydric 1M trong nước. Chất kết tủa tạo thành được thu gom bằng cách lọc và rửa hai lần bằng nước trước khi làm khô trong chân không, thu được 720mg sản phẩm (International Patent Application Công bố đơn quốc tế số WO2006/003096).

Bước B



Bình phản ứng được nạp kali cacbonat (742mg, 1 đương lượng) và 5ml axetonitril. Hợp chất tetrazol thu được trong bước A (364mg, 1 đương lượng) được thêm vào dưới dạng chất rắn trong khi khuấy từ ở nhiệt độ trong phòng, trong khi methyl 4-clometylbenzoat (1,1 đương lượng) được thêm vào dưới dạng dung dịch trong 5ml axetonitril. Hỗn hợp này được gia nhiệt ở nhiệt độ $100^\circ C$ và khuấy qua đêm. Kiểm tra sự chuyển hóa hoàn toàn của chất ban đầu thành hai sản phẩm đồng phân vị trí bằng phương pháp LC-MS. Chất không tan được loại bỏ bằng cách lọc và phần nước lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Hai chất đồng phân vị trí này được tách bằng cách sắc ký cột trên silicagel (toluen:etyl axetat), thu được 384mg chất đồng phân được thể hai lần ở vị trí 2,5 và 234mg chất đồng phân được thể hai lần ở vị trí 1,5 (Công bố đơn quốc tế số WO2012/106995).

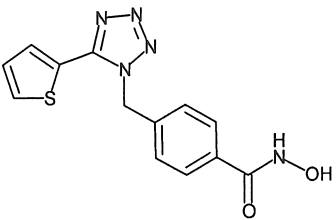
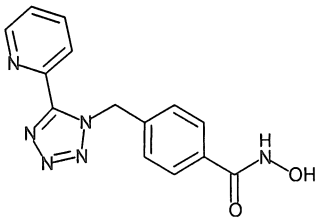
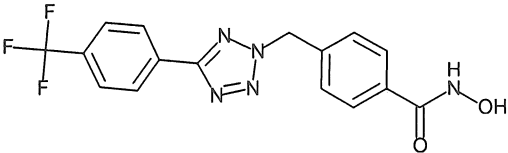
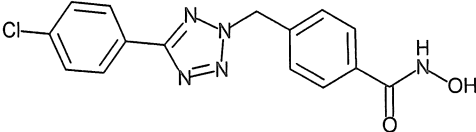
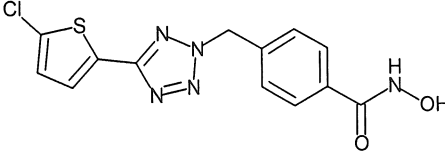
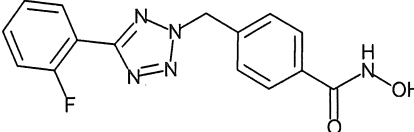
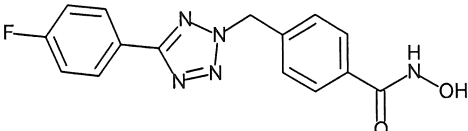
Bước C

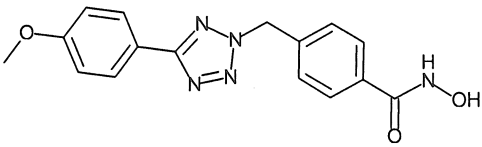
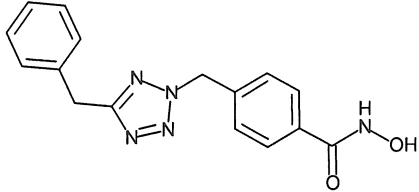
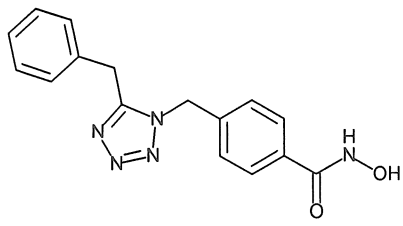
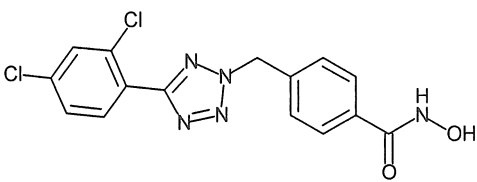
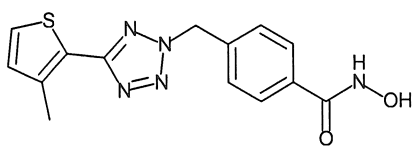
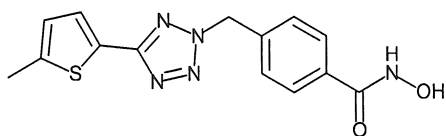
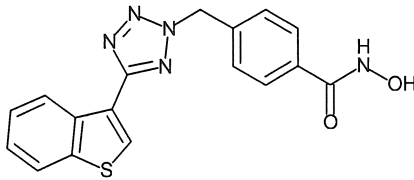


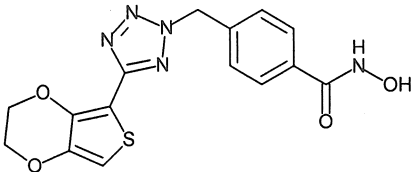
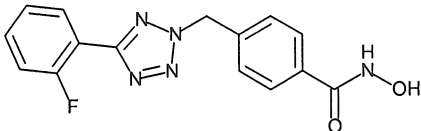
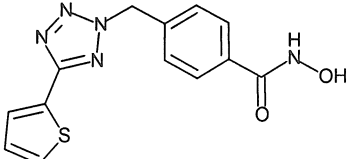
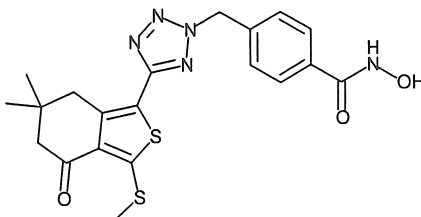
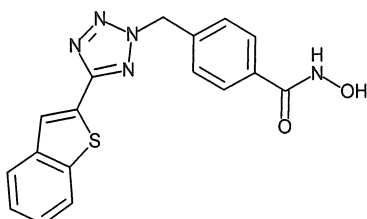
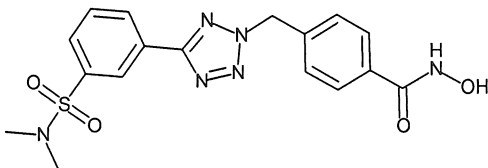
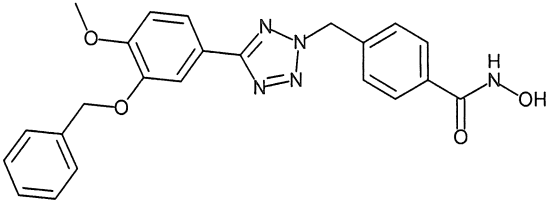
Este thu được trong bước B (100mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 10ml metanol và hỗn hợp phản ứng tạo thành được làm lạnh bằng bể nước đá ở

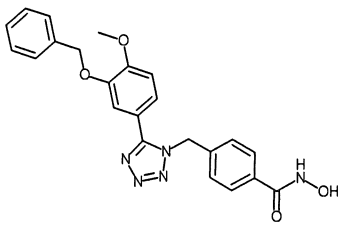
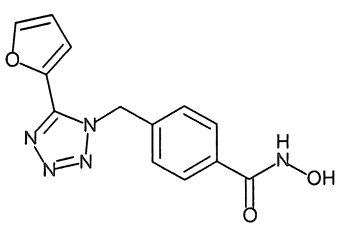
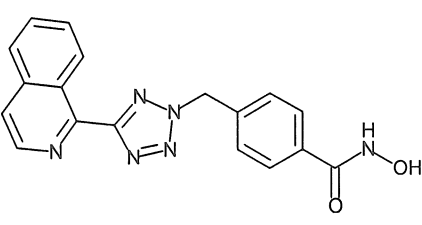
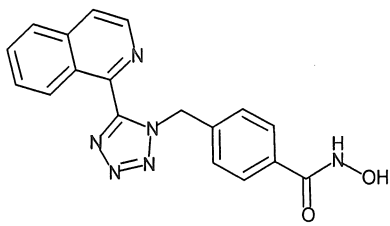
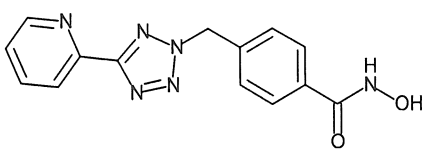
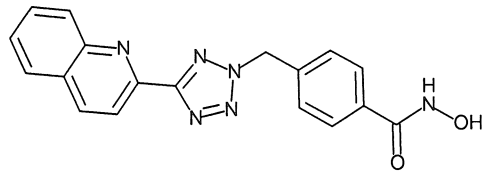
nhệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 700 μ l, 30 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M trong nước (3,52 ml, 10 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa của sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 3,52ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 6ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc, và cô đến khi khô, thu được 93,5mg sản phẩm sạch (m/z 286,02 [MH⁺]).

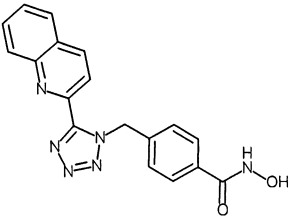
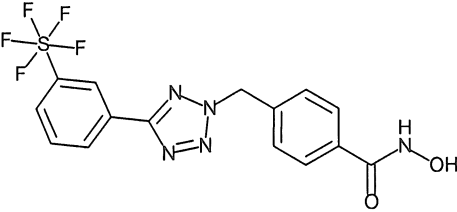
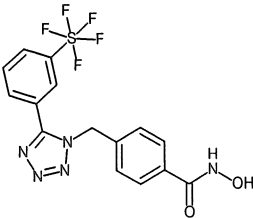
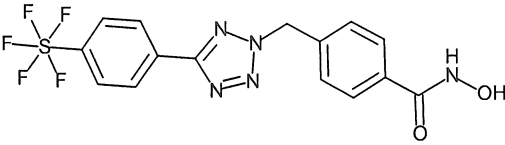
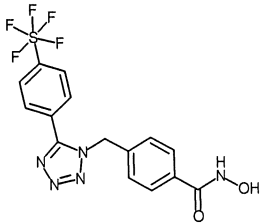
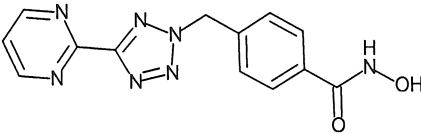
Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

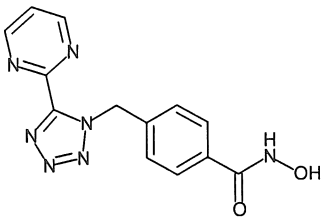
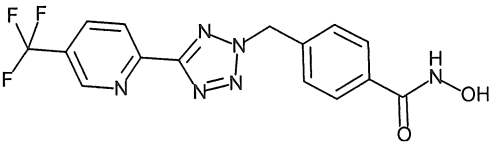
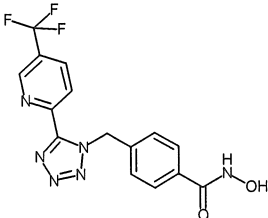
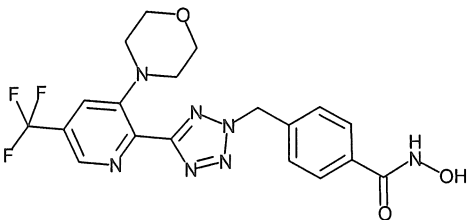
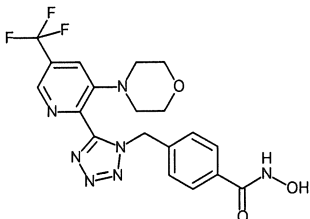
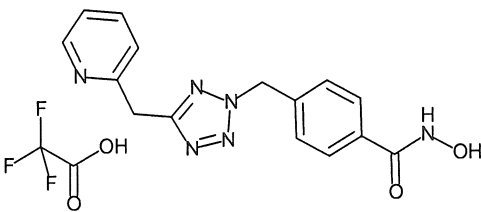
Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
8		301,92
20		297,01
23		364,06
31		330,12
32		336,07
33		314,1
34		314,1

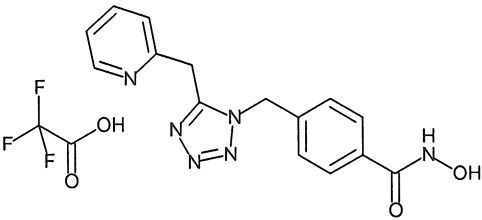
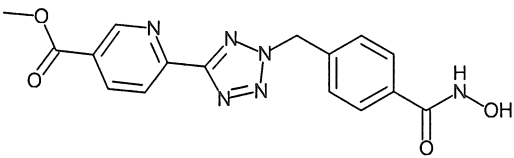
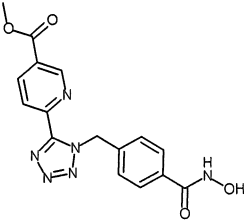
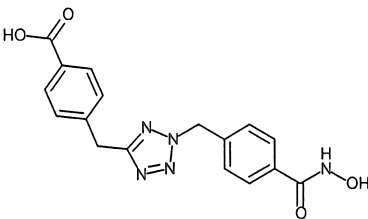
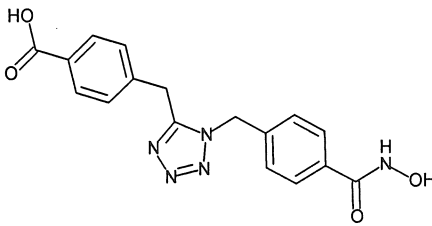
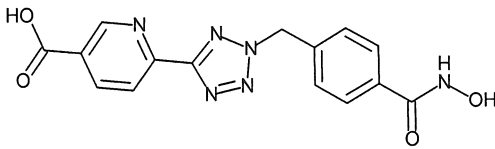
35		326,13
36		310,18
37		310,18
38		365,95
39		316,12
41		316,05
42		352,09

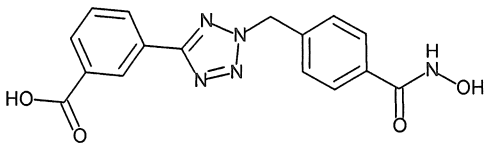
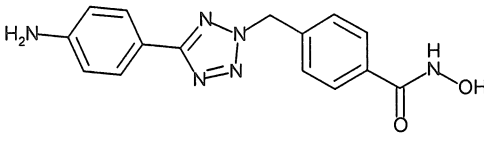
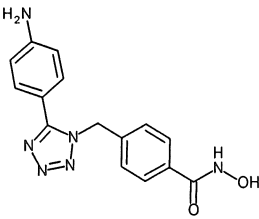
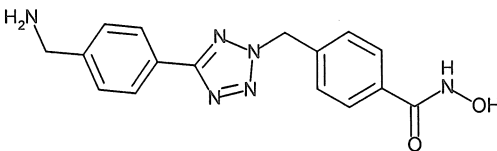
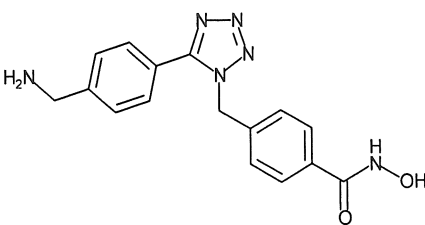
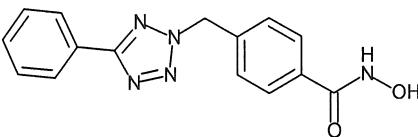
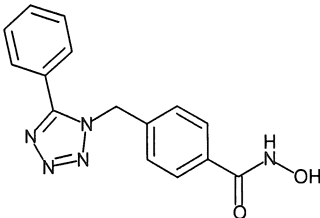
43		360,00
46		314,03
50		301,99
54		444,00
55		352,03
59		403,12
70		431,92

71		431,95
86		286,02
87		347,01
88		347,02
89		297,03
90		347,02

91		347,01
106		421,94
107		421,94
110		421,94
111		421,94
123		297,98

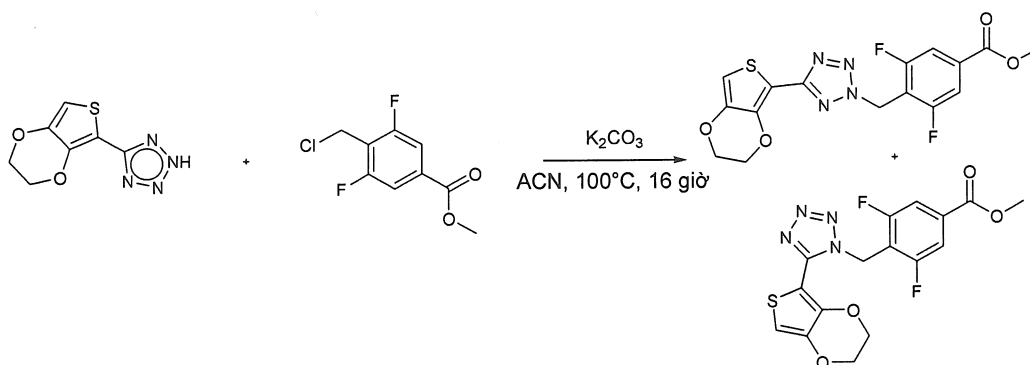
124		297,99
126		364,99
127		364,99
130		449,99
131		450,00
132		311,03

133		311,03
156		355,3
157		355,5
158		354,2
159		354,4
162		341,4

163		340,4
169		311,5
170		311,5
173		325,3
174		325,1
214		296,08
215		294,0

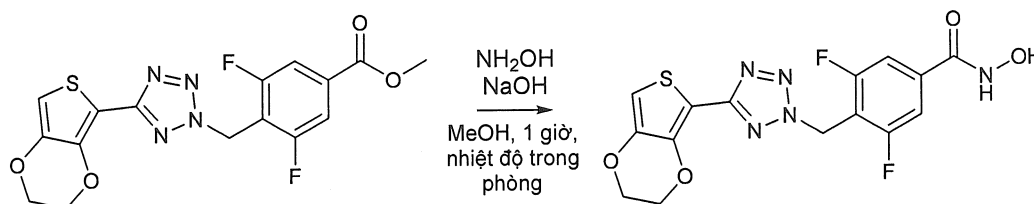
Ví dụ 11. Tổng hợp 4-((5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)-3,5-diflo-N-hydroxybenzamid (hợp chất 5)

Bước A



Bình phản ứng được nạp kali cacbonat (85mg, 1 đương lượng) và 2ml axetonitril. Tetrazol (105mg, 1 đương lượng) được thêm vào dưới dạng chất rắn trong khi khuấy từ ở nhiệt độ trong phòng, trong khi metyl 3,5-diflo-4-clometylbenzoat (122,3mg, 1,1 đương lượng) được thêm vào dưới dạng dung dịch trong 2ml axetonitril. Hỗn hợp này được gia nhiệt ở nhiệt độ 100°C và khuấy qua đêm. Sự chuyển hóa hoàn toàn của chất ban đầu thành hai sản phẩm đồng phân vị trí được kiểm tra bằng phương pháp LC-MS. Chất không tan được loại bỏ bằng cách lọc và phần nước lọc được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Hai chất đồng phân vị trí được tách bằng cách sắc ký cột trên silicagel (toluen : etyl axetat), thu được 23mg chất đồng phân được thể hai lần ở vị 2,5 và 52mg chất đồng phân được thể hai lần ở vị trí 1,5 (Công bố đơn quốc tế số WO2012/106995).

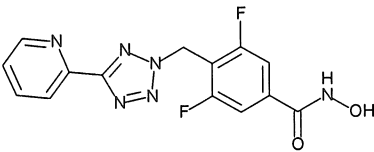
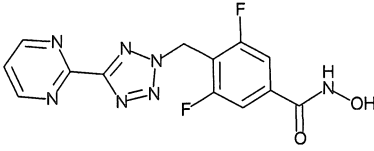
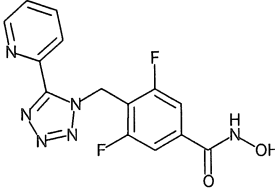
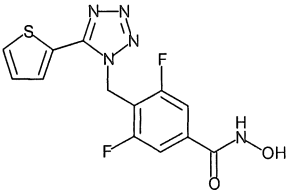
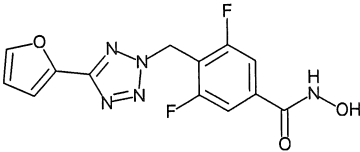
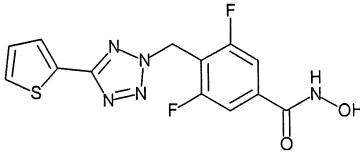
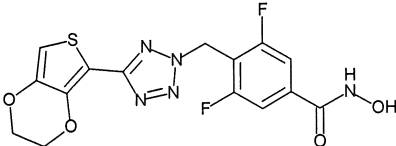
Bước B

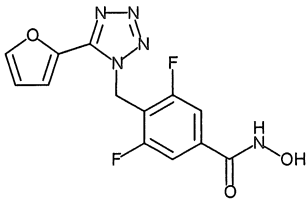
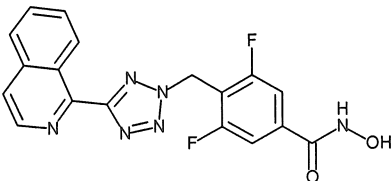
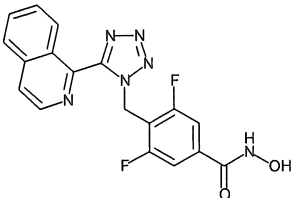
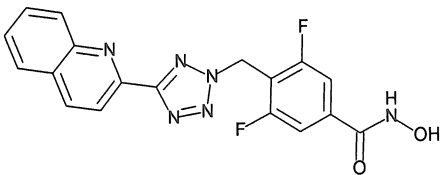
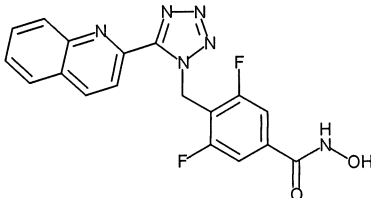
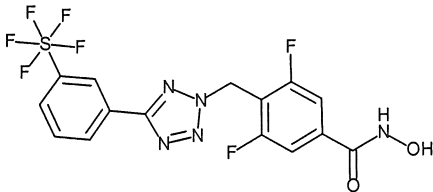


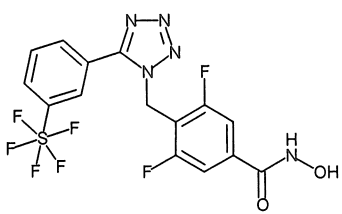
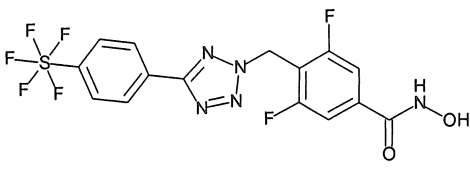
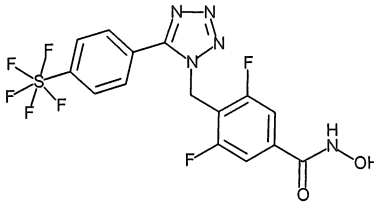
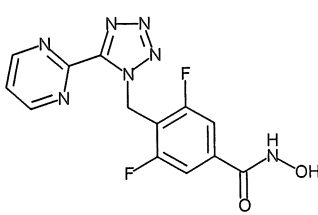
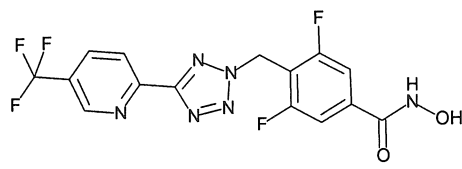
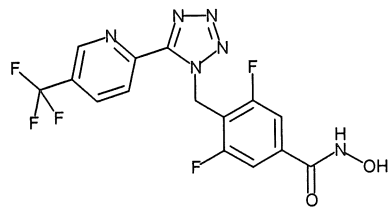
Este thu được trong bước A (52mg, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 2ml metanol và hỗn hợp phản ứng tạo thành được làm lạnh bằng bể nước đá ở nhiệt độ 0°C và được khuấy từ. Sau khi cho thêm hydroxylamin (50%, dung dịch nước, 311μl, 40 đương lượng), dung dịch natri hydroxit 1M trong nước (1,3 ml, 10 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt. Bể nước đá được loại bỏ để cho nhiệt độ dung dịch

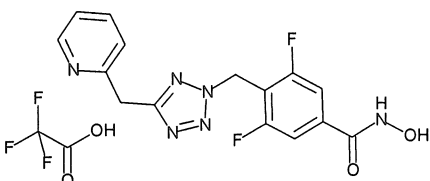
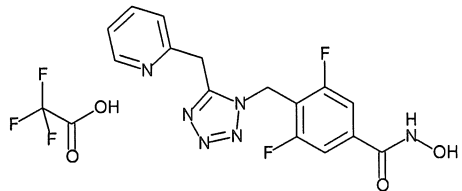
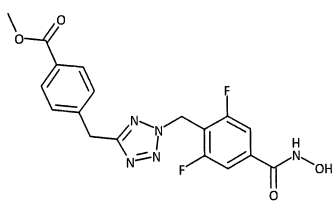
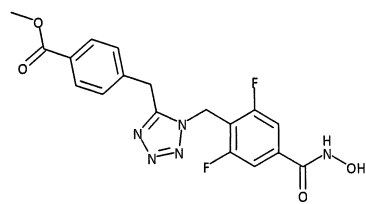
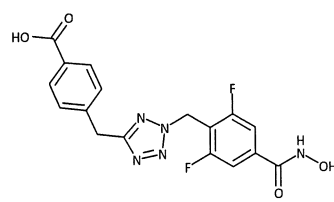
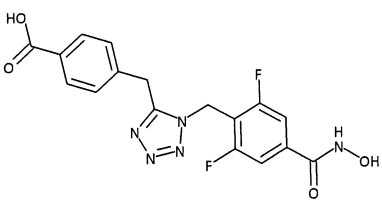
đạt đến nhiệt độ trong phòng. Sự chuyển hóa sản phẩm ban đầu thành axit hydroxamic được khẳng định bằng phương pháp HPLC sau 1 giờ. Phần metanol được loại bỏ bằng cách làm bay hơi dưới áp suất giảm, và sau đó phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 1,3ml dung dịch axit clohydric 1M trong nước và 2ml etyl axetat. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết lại bằng etyl axetat bổ sung (3 lần). Các pha hữu cơ được kết hợp và rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa (2 lần), nước muối (2 lần), làm khô bằng natri sulphat, lọc, và cô đến khi khô để thu được 32mg sản phẩm sạch (m/z 395,91 $[MH^+]$).

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
6		333,02
7		333,96
13		333,02
15		337,96
19		321,97
65		337,96
79		395,91

92		321,97
93		382,97
94		382,97
95		382,98
96		382,97
108		457,91

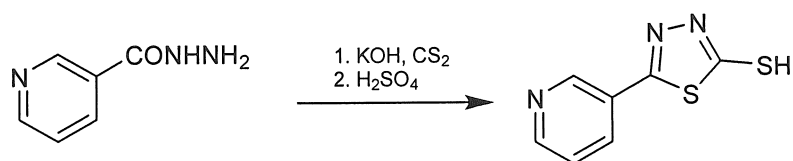
109		457,91
112		457,91
113		457,91
125		333,95
128		400,94
129		400,94

134		347,00
135		346,99
154		404,4
155		404,5
160		390,3
161		390,4

171		347,5
172		347,3
175		361,4
176		361,1

Ví dụ 12 – Tổng hợp 3,5-difluo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio)benzamid (hợp chất 191)

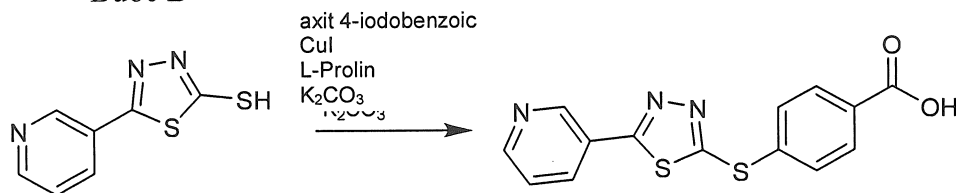
Bước A



KOH (1,48g, 26,47mmol, 1,1 đương lượng) được hòa tan trong 45ml etanol khan. Hydrazit (3,30g, 24,06mmol, 1 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C. CS₂ (1,66ml, 27,67mmol, 1,15 đương lượng) được cho thêm nhỏ giọt và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C trong 1 giờ. Chất kết tủa tạo thành được thu gom, rửa bằng axeton lạnh và làm khô để thu được 5,50g chất rắn màu vàng. Hợp chất trung gian thu được được cho thêm theo từng phần nhỏ vào 25ml

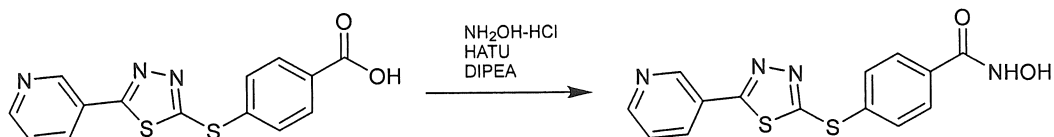
axit sulfuric được làm lạnh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C. Sau 1 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 5°C, hỗn hợp phản ứng được rót vào nước đá và chất kết tủa tạo thành được thu gom, rửa bằng nước và làm khô.

Bước B



Hỗn hợp của hợp chất 5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-thiol thu được trong bước A (0,8g, 4,1mmol, 1 đương lượng), axit 4-iodobenzoic (1,22g, 4,92mmol, 1,2 đương lượng), L-prolin (0,047g, 0,4 mmol, 0,1 đương lượng) và K₂CO₃ (2,26g, 16,4mmol, 4 đương lượng) trong 20ml DMF khan được loại khí và CuI (0,039g, 0,2mmol, 0,05 đương lượng) được thêm vào. Bình phản ứng được bịt kín và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 120°C trong 48 giờ. Sự chuyển hóa hoàn toàn của thiol ban đầu được theo dõi bằng phương pháp LC-MS. Hỗn hợp phản ứng được rót vào 150ml nước và lọc qua tấm xelit. Phần nước lọc được axit hóa bằng HCl. Chất kết tủa tạo thành được lọc và rửa lần lượt bằng nước, axetonitril và ete dietyl.

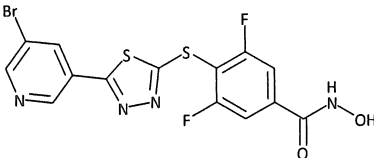
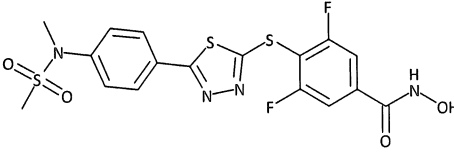
Bước C



HATU (0,181mg, 0,476mmol, 1,5 đương lượng) được cho vào dung dịch chứa axit carboxylic thu được trong bước B (0,1g, 0,317mmol, 1 đương lượng) và DIPEA (0,333ml, 1,902mmol, 6 đương lượng) trong 2ml DMF khan. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và theo dõi bằng phương pháp LC-MS về sự chuyển hóa hoàn toàn của axit thành hợp chất trung gian HATU: sau 1 giờ, sự chuyển hóa kết thúc. NH₂OH-HCl (0,066g, 0,951mmol, 3 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ nữa. Phản ứng được theo dõi bằng phương pháp LC-MS. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước đến tổng thể tích bằng 50ml và chiết bằng EtOAc (225ml). Sau khi làm bay hơi, thu được 101mg dầu màu cam rất nhớt. Nghiền với axetonitril (siêu âm ~15 phút) để tạo ra chất kết

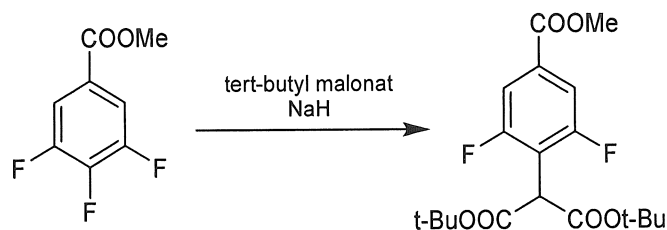
tủa, chất này được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng axetonitril và ete dietyl và làm khô, thu được 40mg sản phẩm tinh khiết (m/z 366,99 $[MH^+]$). LCMS: 94,5%. NMR: OK.

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z $[MH^+]$
196		443,7
187		473,4

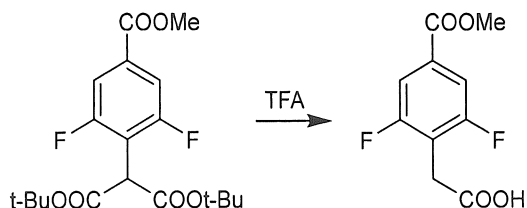
Ví dụ 13 – Tổng hợp 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 198)

Bước A



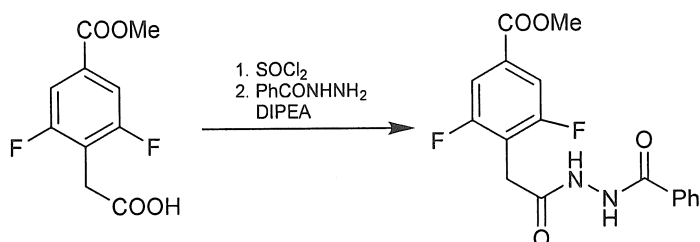
Cho thêm nhỏ giọt tert-butyl malonat (11,4g, 52,73mmol, 2 đương lượng) vào huyền phù chứa NaH (1,5 đương lượng) trong 70ml DMF khan. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng, metyl 3,4,5-triflobenzoat (5g, 26,3mmol, 1 đương lượng) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng (quan sát được sự tạo ra chất kết tủa màu trắng), pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Sau khi cô, phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột, thu được 11,0g hỗn hợp không tách được của sản phẩm và tert-butyl malonat theo tỷ lệ 1:3 (bằng phương pháp NMR). Hỗn hợp này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước B



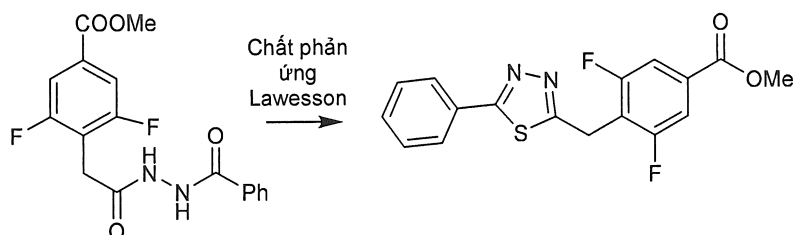
Hỗn hợp thu được trong bước A (8,6g, 22mmol, 1 đương lượng) và TFA (17ml, 10 đương lượng) được hòa tan trong 10ml DCE khan và được đun hồi lưu qua đêm. Sau khi làm nguội, dung môi được làm bay hơi và phần cặn được xử lý bằng hexan và chất kết tủa tạo thành được thu gom. Phân tích NMR chất kết tủa và phần nước lọc cho thấy rằng thu được hỗn hợp của sản phẩm và axit malonic (với cùng tỷ lệ khoảng 2:1 đối với sản phẩm). Các sản phẩm thu được được kết hợp và sử dụng trong bước tiếp theo.

Bước C



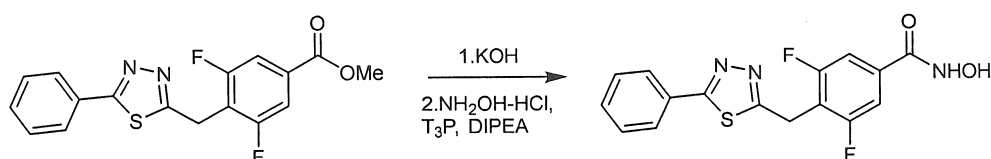
Hỗn hợp thu được trong bước B (0,5g, 2,17mmol, 1 đương lượng) được hòa tan trong 5ml SOCl_2 , đun hồi lưu trong 1 giờ và cô. Cloanhydrit dạng thô thu được được trộn lẫn với benzoylhydrazin (0,643g, 4,72mmol, 2 đương lượng) trong 10ml DMF khan, sau đó cho thêm DIPEA (1,99ml, 11,45mmol, 5 đương lượng). Sau khi được khuấy qua đêm, hỗn hợp phản ứng được tôi bằng nước, chiết bằng EtOAc và cô. Phần cặn được xử lý bằng DCM và lọc.

Bước D



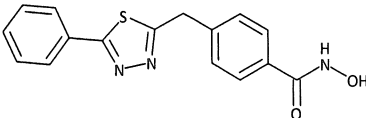
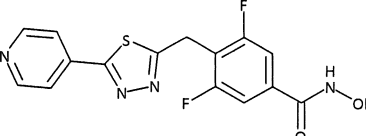
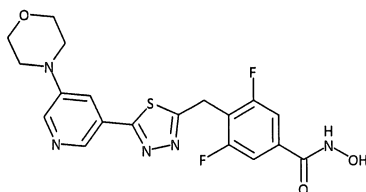
Hỗn hợp của hợp chất thu được trong bước C (0,277g, 0,88mmol, 1 đương lượng) và chất phản ứng Lawesson (0,35g, 0,86mmol, 0,98 đương lượng) trong 5ml toluen được khuấy trong bình được bịt kín ở nhiệt độ 120°C trong 15 phút. Sự chuyển hóa hoàn toàn của chất ban đầu được theo dõi bằng phương pháp UPLC. Dung môi được làm bay hơi và phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột trước tiên sử dụng EtOAc trong hexan (gradient từ 20% đến 100%), sau đó sử dụng MeOH 5% trong DCM.

Bước E



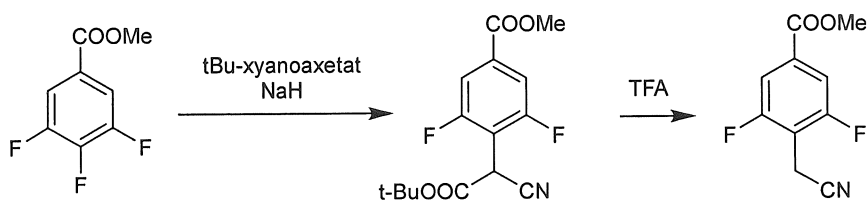
Cho thêm KOH (0,021g, 0,37mmol, 2 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất vòng thu được trong bước D (0,06g, 0,18mmol, 1 đương lượng) trong 14ml hỗn hợp THF/nước theo tỷ lệ 4/1. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và axit hóa bằng HCl 1M. Chất kết tủa tạo thành được thu gom và làm khô trong chân không. Sau đó, chất rắn này được hòa tan trong THF cùng với DIPEA (0,333ml, 1,902mmol, 6 đương lượng). HATU (0,181mg, 0,476mmol, 1,5 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và sự chuyển hóa hoàn toàn của axit thành hợp chất trung gian HATU được theo dõi bằng phương pháp LC-MS. NH₂OH-HCl (0,066g, 0,951mmol, 3 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ nữa. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước đến tổng thể tích bằng 50ml và chiết bằng EtOAc (225ml). Sau khi làm bay hơi, thu được 101mg dầu rất nhớt. Nghiền với axetonitril (siêu âm ~15 phút) để tạo ra chất kết tủa, chất này được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng axetonitril và ete và làm khô, thu được 33mg sản phẩm tinh khiết (m/z 348,09 [MH⁺]).

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
190		312,12
195		349,11
197		433,8

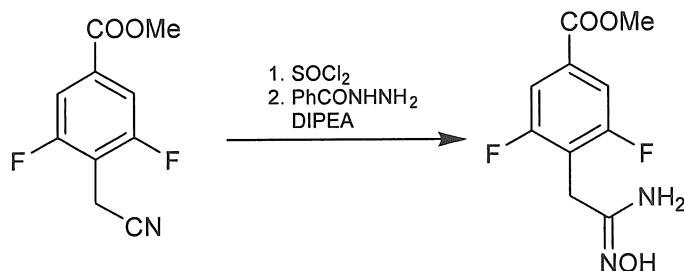
Ví dụ 14 – Tổng hợp 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 194)

Bước A



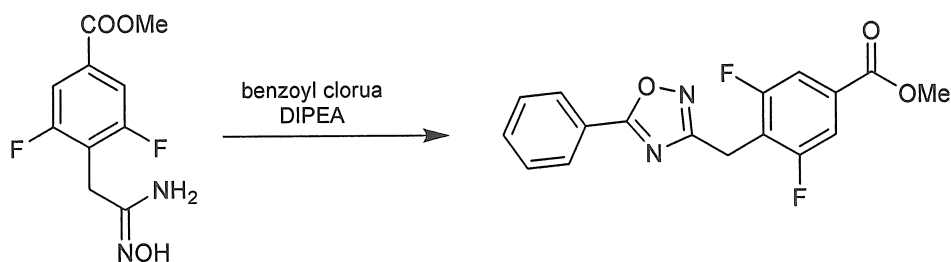
Cho thêm nhỏ giọt tert-butyl xyanoacetat (11,4g, 52,73mmol, 2 đương lượng) vào huyền phù chứa NaH (1,5 đương lượng) trong 70ml DMF khan. Sau khi khuấy 5 phút ở nhiệt độ trong phòng, methyl 3,4,5-triflobenzoat (5g, 26,3mmol, 1 đương lượng) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc. Sau khi cô, phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký cột, sau đó được pha loãng trong 20ml DCE khan và xử lý bằng TFA (8,6ml, 10 đương lượng) trong khi đun hồi lưu qua đêm. Dung môi được làm bay hơi, phần cặn được hòa tan trong DCM, rửa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa, làm khô bằng Na₂SO₄ và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sắc ký cột.

Bước B



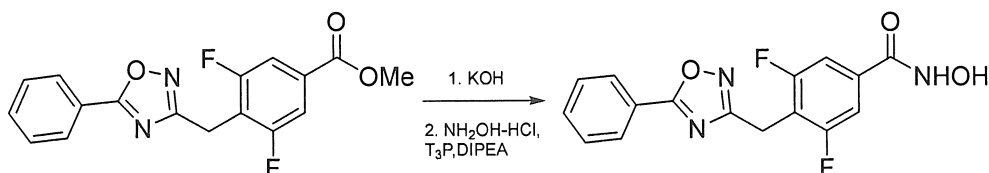
Hỗn hợp chứa dẫn xuất nitril thu được trong bước A (2g, 11mmol, 1 đương lượng), NH_2OH hydroclorua (1,5g, 22mmol, 2 đương lượng) và NaHCO_3 (1,81, 22mmol, 2 đương lượng) trong 40ml metanol được đun hồi lưu qua đêm. Sau khi lọc và cô, sản phẩm thô tạo thành được tinh chế bằng cách sắc ký cột (EtOAc 10% trong DCM).

Bước C



Cho thêm benzoyl clorua (0,243g, 1,73mmol, 1,2 đương lượng) vào dung dịch chứa methyl (Z)-4-(2-amino-2-(hydroxyimino)ethyl)-3,5-diflobenzoat thu được trong bước B (0,3g, 1,44mmol, 1 đương lượng) và DIPEA (0,75ml, 4,32mmol, 3 đương lượng) trong 2ml DMF khan. Sau khi được khuấy qua đêm, hỗn hợp phản ứng được tôi bằng nước và chiết bằng EtOAc. Tinh chế bằng cách sắc ký cột (DCM tinh khiết) thu được 41mg sản phẩm.

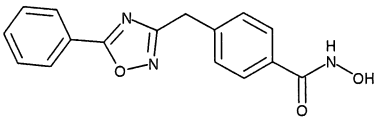
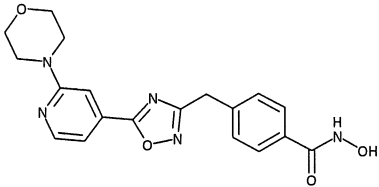
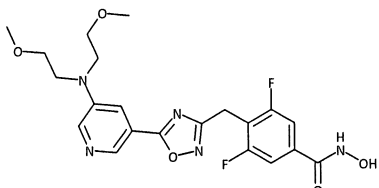
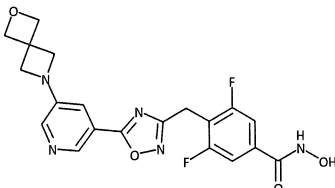
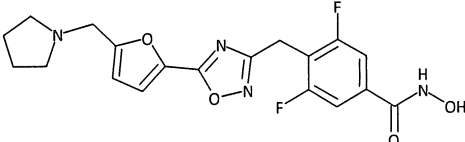
Bước D



Cho thêm KOH (0,014g, 0,24mmol, 2 đương lượng) vào dung dịch chứa este methyl thu được trong bước C (0,04g, 0,12mmol, 1 đương lượng) trong 14ml hỗn hợp THF/nước theo tỷ lệ 4/1. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua

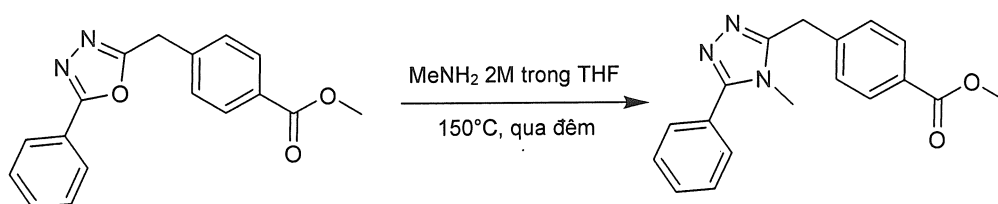
đêm và axit hóa bằng HCl 1M. Chất kết tủa tạo thành được thu gom và làm khô trong chân không. Axit carboxylic thu được được hòa tan trong 2ml THF khan. DIPEA (0,72mmol, 6 đương lượng) và HATU (0,18 mmol, 1,5 đương lượng) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và theo dõi bằng phương pháp LC-MS về sự chuyển hóa hoàn toàn của axit thành hợp chất trung gian HATU. NH_2OH hydroclorua (0,025g, 0,36mmol, 3 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ nữa, sau đó pha loãng hỗn hợp bằng nước đến tổng thể tích bằng 50ml và chiết bằng EtOAc (225ml). Sau khi làm bay hơi, thu được 101mg dầu rất nhớt. Nghiền với axetonitril (siêu âm ~15 phút) để tạo ra chất kết tủa, chất này được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng axetonitril và ete và làm khô, thu được 20mg sản phẩm tinh khiết (m/z 332,13 $[\text{MH}^+]$).

Các hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này:

Hợp chất	Cấu trúc	m/z [MH ⁺]
189		296,5
193		382,13
200		464,13
201		430,1
202		405,12

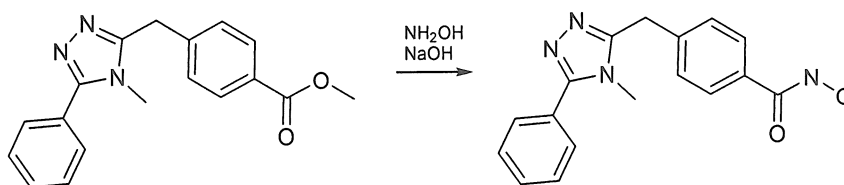
Ví dụ 15 – Tổng hợp N-hydroxy-4-((4-metyl-5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 217)

Bước A



Axit axetic (0,3ml) được cho thêm nhỏ giọt vào dung dịch chứa methyl 4-((5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)benzoat dạng thô (0,38g, 1,29mmol, 1 đương lượng) trong dung dịch chứa MeNH₂ 2M trong THF (15ml). Bình phản ứng được bịt kín và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 150°C qua đêm. Sau khi làm nguội, dung môi được làm bay hơi; phần cặn được xử lý bằng nước và chiết bằng EtOAc. Pha hữu cơ được làm khô và làm bay hơi để thu được 258mg dầu màu cam, dầu này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

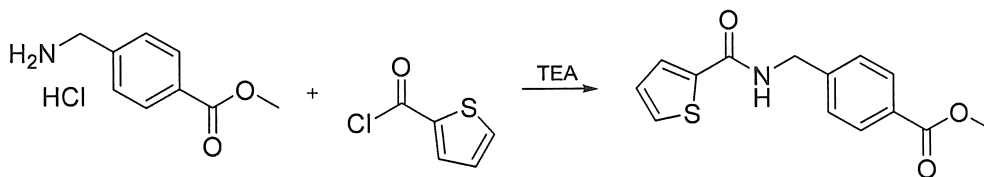
Bước B



Este methyl thu được trong bước A (0,041g, 0,139mmol, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 8ml metanol và dung dịch tạo thành được làm lạnh bằng bể nước đá. Dung dịch chứa NH₂OH 50% trong nước (0,34ml, 40 đương lượng) được thêm vào, sau đó cho thêm từ từ dung dịch NaOH 1M (1,4ml, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy để nhiệt độ đạt đến nhiệt độ trong phòng (khoảng 1 giờ) và axit hóa bằng HCl 1M. Chất kết tủa màu trắng được thu gom bằng cách lọc. Tinh chế bằng cách HPLC điều chế thu được 24mg sản phẩm tinh khiết (m/z 309,12 [MH⁺]).

Ví dụ 16 – Tổng hợp 4-((3-((1H-indol-3-yl)methyl)-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl)methyl)-N-hydroxybenzamidit (hợp chất 183)

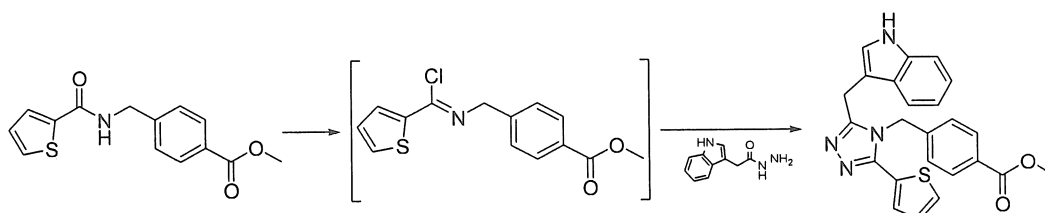
Bước A



Hợp chất methyl 4-(aminometyl)benzoat hydroclorua (402mg, 2mmol, 1 đương lượng) được hòa tan trong diclometan (8ml) với sự có mặt của trimetylamin (616ul, 4,4mmol, 2,2 đương lượng). Sau đó, 2-thiophencacbonyl clorua (236ul, 2,2mmol, 1,1 đương lượng) được thêm vào và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm.

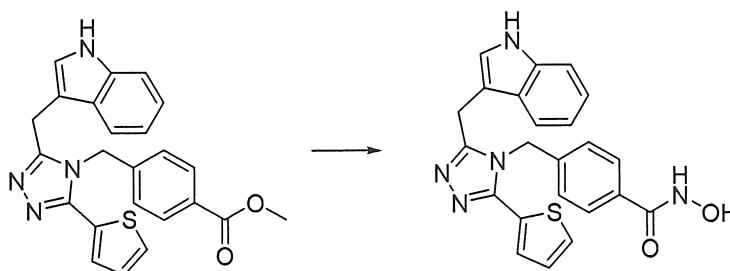
Khi kết thúc, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng diclometan và rửa bằng nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 , lọc và cô để thu được sản phẩm dạng thô, sản phẩm này được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm bất kỳ.

Bước B



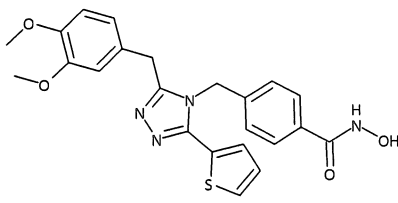
Hợp chất methyl 4-((thiophen-2-carboxamido)metyl)benzoat (1mmol, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong tionyl clorua (4ml, 5,5 đương lượng) trong môi trường argon, và được khuấy ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm. Hỗn hợp này được cô ở áp suất giảm để loại bỏ lượng SOCl_2 dư. Hợp chất imidoyl clorua dạng thô thu được được tạo huyền phù trong toluen khan, và axit indol-3-axetic hydrazit (189mg, 1mmol, 1 đương lượng) được thêm vào dưới dạng chất rắn. Hỗn hợp tạo thành được gia nhiệt đến 120°C và được khuấy trong thời gian cuối tuần. Hỗn hợp này được cô bằng cách làm bay hơi kiểu quay. Sản phẩm được làm kết tủa ra khỏi hỗn hợp EtOAc/MeOH 1% và được thu gom bằng cách lọc, thu được 113mg sản phẩm.

Bước C



Este metyl thu được trong bước B (0,041g, 0,139mmol, 1 đương lượng) được tạo huyền phù trong 8ml metanol và dung dịch tạo thành được làm lạnh bằng bể nước đá. Dung dịch NH_2OH 50% trong nước (0,34ml, 40 đương lượng) được thêm vào, sau đó cho thêm từ từ dung dịch NaOH 1M (1,4ml, 10 đương lượng). Hỗn hợp phản ứng được khuấy để nhiệt độ đạt đến nhiệt độ trong phòng (khoảng 1 giờ) và axit hóa bằng HCl 1M. Chất kết tủa màu trắng được thu gom bằng cách lọc. Tinh chế bằng cách HPLC điều chế thu được sản phẩm tinh khiết (m/z 430,3 $[\text{MH}^+]$).

Hợp chất sau đây được tổng hợp bằng cách sử dụng quy trình này

Hợp chất	Cấu trúc	m/z $[\text{MH}^+]$
185		451,3

Ví dụ 17 - Sàng lọc enzym

Hoạt tính enzym đối với HDAC6 và HDAC3 của người tái tổ hợp được đánh giá (Bảng 2) đối với mỗi hợp chất tổng hợp được. Các hợp chất có tính chọn lọc HDAC6 tốt, được xác định theo giá trị og của tỷ lệ IC_{50} giữa HDAC6 và thể đồng dạng khác nhỏ hơn -2, cũng được sàng lọc đối với tất cả các thể đồng dạng còn lại để thu được profin đầy đủ (Bảng 3).

Mỗi với mỗi hợp chất thử nghiệm, các dung dịch với 5 nồng độ khác nhau (thường nằm trong khoảng từ 3 đến 30000nM) được cô đặc 5 lần trong dung dịch đệm của phản ứng (25mM Tris-HCl, độ pH = 8, NaCl 130mM, Tween-20 0,05%, Glyxerol 10%) cùng với DMSO được chuẩn hóa với lượng có mặt trong dung dịch chất ức chế đậm đặc hơn, thường là 0,75% đương lượng với nồng độ cuối 0,15% trong đĩa được chuẩn bị. 10 μl dung dịch mẫu lặp ba đối với mỗi nồng độ cả hợp chất thử nghiệm được đưa vào đĩa có 96 lỗ và 15 μl dung dịch enzym được cô đặc 3,33 lần trong dung dịch đệm của phản ứng (25mM Tris-HCl, độ pH = 8, NaCl 130mM, Tween-20 0,05%, glyxerol 10%, BSA 1 mg/ml hoặc 2 mg/ml đối với HDAC4, HDAC5 và HDAC9 - lưu ý: đối với HDAC7, 50mM TRIS-HCl, độ pH = 8, NaCl 137mM, KCl 2,7mM, và MgCl_2 1mM được sử dụng) được cho vào mỗi lỗ. Sau một

khoảng thời gian ủ ở nhiệt độ 30°C (thời gian ủ thay đổi đối với các thể đồng dạng khác nhau và được thể hiện trong Bảng 1), 25µl dung dịch chứa cơ chất được thêm vào. Để làm cơ chất, cơ chất deacetylaza FLUOR DE LYS® (Enzo Life Sciences, cat# BML-KI104, FdL), cơ chất FLUOR DE LYS®-Green (Enzo Life Sciences, cat# BML-KI572 FdL_G) và trifloacetyl-L-lysine (Tfal)– dung dịch được cô 2 lần trong Tris-HCl 25mM, độ pH = 8, NaCl 130mM, Tween-20 0,05%, glycerol 10%) được sử dụng. Sau một khoảng thời gian phản ứng ở nhiệt độ 30°C (thời gian phản ứng thay đổi đối với các thể đồng dạng khác nhau và được thể hiện trong Bảng 1), 50µl dung dịch làm hiện màu gồm chất làm hiện màu FLUOR DE LYS® I đậm đặc (Enzo Life Sciences, cat# BML-KI105), được pha loãng 200 lần trong HAB cùng với 2µM TSA được thêm vào và sau khi để trong 25 phút ở nhiệt độ trong phòng trong tối, bằng cách sử dụng thiết bị Victor 1420 Multilabel Counter Perkin Elmer Wallac, tiến hành đọc kết quả phát huỳnh quang.

Bảng 1 - chi tiết tiến hành đối với thử nghiệm enzym của mỗi thể đồng dạng riêng biệt

Enzym			Cơ chất	Ủ sơ bộ	Phản ứng	Phương pháp đọc λ kích thích/ λ phát xạ (0,1 giây)
Thể đồng dạng	Nguồn	Nồng độ				
HDAC1	BPS cat 50051	1,6nM	FdL 150µM	30 phút ở nhiệt độ 30°C	30 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC2	BPS cat 50002	3nM	FdL 150µM	30 phút ở nhiệt độ 30°C	30 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC3	BPS cat 50003	400pM	FdL 60µM	30 phút ở nhiệt độ 30°C	30 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC4	BPS cat 50004	32 pM	Tfal 20µM	30 phút ở nhiệt độ 30°C	80 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm

HDAC5	BPS cat 50005	700pM	Tfal 20 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	60 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC6	BPS cat 50006	1,5nM	FdL 60 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	30 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC7	BPS cat 50007	14pM	Tfal 20 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	30 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC8	BPS cat 50008	3,9nM	FdL_G 25 μ M	55 phút ở nhiệt độ trong phòng	25 phút ở nhiệt độ 30°C	485/535 nm
HDAC9	BPS cat 50009	900pM	Tfal 20 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	80 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC1 0	BPS cat 50010	13nM	FdL 150 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	180 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm
HDAC1 1	BML cat SE560	25 nM	FdL 150 μ M	30 phút ở nhiệt độ 30°C	240 phút ở nhiệt độ 30°C	355/460 nm

Số liệu về mức độ ức chế enzyme HDAC6 và HDAC3 của các hợp chất tổng hợp được thể hiện trong Bảng 2. Profin ức chế hoàn toàn đối với tất cả các thể đồng dạng đối với các hợp chất được chọn được thể hiện trong Bảng 3. Các phân tử có hoạt tính HDAC6 tốt và tính chọn lọc đáng kể đối với các thể đồng dạng khác.

Bảng 2 - Thử nghiệm hoạt tính ức chế enzyme đối với HDAC6 (IC₅₀ nM) và tính chọn lọc đối với HDAC3 (log tỷ lệ giữa các nồng độ IC₅₀ đối với hai enzyme)

Hợp chất	Tính chọn lọc đối với HDAC3	IC ₅₀ đối với HDAC6 (nM)
1	-1,6	81
2	-2,7	16
3	-1,6	11
4	-3,0	20

5	-2,8	17
6	-3,0	7
7	-3,0	5
8	-1,6	19
9	-2,9	79
10	-1,8	8
12	-2,0	4
13	-2,8	4
14	-2,7	8
15	-2,5	19
16	-2,7	5
17	-2,5	9
19	-2,9	4
20	-2,0	4
21	-1,4	116
22	-1,8	5
23	-1,7	11
24	-1,4	56
25	-1,7	47
26	-0,4	258
27	-1,1	77
28	-1,6	10
29	-1,1	19
30	-1,7	25
31	-1,5	14

32	-1,4	6
33	-1,7	3
34	-1,6	7
35	-1,6	5
36	-1,4	52
37	-1,4	212
38	-1,6	10
39	-1,5	3
40	-1,6	7
41	-1,4	4
42	-0,9	5
43	-1,7	3
44	-0,7	415
45	-1,1	68
46	-1,7	5
47	-1,5	6
48	-1,6	257
49	-1,6	7
50	-1,9	2
51	-1,4	368
52	-1,6	344
53	-1,2	333
54	-1,5	18
55	-1,2	6
57	-1,5	8

58	-1,5	6
59	-1,8	7
60	-1,0	136
61	-1,7	9
62	-1,5	127
63	-1,0	682
64	-1,4	13
65	-2,5	6
66	-2,2	6
67	-1,8	70
68	-1,5	4
69	-1,5	11
70	-1,6	9
71	-0,7	52
72	-1,1	162
73	-1,7	8
74	-1,8	17
75	-1,7	4
76	-2,3	28
77	-1,8	17
78	-1,8	20
79	-2,3	8
80	-2,1	16
82	-1,7	27
83	-1,1	22

84	-1,7	21
85	-1,9	5
86	-1,7	39
87	-2,1	20
88	-1,3	2
89	-2,3	9
90	-0,9	20
91	-1,9	3
92	-2,5	27
93	-2,8	22
94	-1,7	7
95	-1,8	10
96	-2,3	7
97	-2,4	51
98	-2,2	61
99	-2,4	7
100	-2,6	7
101	-2,4	18
102	-2,6	33
103	-2,4	56
104	-2,2	48
106	-1,5	26
107	-1,2	162
108	-2,1	108
109	-2,1	35

100	-2,6	7
110	-1,7	25
111	-0,2	271
112	-2,2	123
113	-1,6	158
114	-3,1	256
115	-2,5	122
116	-2,6	25
117	-2,7	17
118	-2,4	6
121	-2,7	12
122	-2,1	12
123	-2,1	8
124	-2,0	72
125	-2,8	17
126	-1,4	86
127	-1,8	9
128	-2,4	45
129	-2,5	13
130	-1,2	837
131	-1,1	57
132	-2,2	25
133	-1,8	283
134	-3,1	10
135	-2,5	93

136	-2,6	40
137	-2,8	14
138	-2,8	12
139	-2,9	18
140	-2,6	14
141	-2,5	25
142	-2,3	20
143	-1,9	25
144	-2,3	12
145	-2,6	16
146	-2,9	20
147	-2,9	16
148	-2,1	6
149	-2,6	11
150	-2,1	24
151	-2,8	9
152	-2,5	22
153	-2,9	25
154	-2,2	32
155	-2,0	172
156	-1,2	61
157	-1,2	27
158	-1,6	231
159	-1,5	1370
160	-2,5	115

161	-2,5	327
162	-1,1	138
163	-1,6	12
164	-1,8	45
165	-2,6	8
166	-2,5	9
167	-2,7	6
168	-2,6	7
169	-1,9	1
170	-1,5	8
171	-2,2	4
172	-2,4	8
173	-1,5	2
174	-0,8	129
175	-2,0	4
176	-1,7	55
177	-2,8	21
178	-2,7	23
179	-3,1	11
180	-2,7	6
181	-2,7	10
182	-2,5	16
183	-2,2	212
184	-2,1	17
185	-1,9	1004

186	-3,3	23
187	-2,4	55
188	-1,2	7
189	-1,6	9
190	-1,7	3
191	-2,7	22
192	-2,2	31
193	-1,8	6
194	-2,4	11
195	-2,7	4
196	-2,4	53
197	-2,2	10
198	-2,1	5
199	-2,5	6
200	-2,7	8
201	-1,6	16
202	-3,0	9
203	-1,8	14
204	-2,3	7
205	-2,4	5
206	-2,6	7
207	-2,5	7
208	-2,2	4
209	-1,9	11
210	-2,7	7

211	-2,5	8
212	-2,5	6
213	-2,6	13
214	-1,9	3
215	-1,9	9

Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế có giá trị IC_{50} đối với HDAC6 thấp hơn 20nM và chỉ số tính chọn lọc đối với HDAC3 thấp hơn -1,6.

Bảng 3 - Profin ức chế hoàn toàn đối với tất cả các enzym HDAC của một số hợp chất được ưu tiên theo sáng chế (IC_{50} nM)

Hợp chất	HDAC										
	1	2	3	8	6	4	5	7	9	10	11
1	1927	6663	2866	710	81	10113	12042	3528	5866	2477	2681
2	11585	>30000	8648	#N/D	16	1459	1854	1087	592	14100	8050
6	7512	27504	7255	1024	7	1036	1046	750	756	10879	5172
8	1094	4017	979	1355	27	2994	2690	1484	1733	2008	1373
10	1015	4449	487	506	9	2502	2678	817	1084	2818	981
13	2886	11374	2492	490	4	606	512	623	640	2680	1470
15	7091	8799	6293	999	19	660	706	473	659	8625	4589
17	3991	16022	2827	193	9	1393	1538	550	496	6863	2289
19	2517	9478	2635	647	4	675	597	1017	592	2697	798
22	416	1561	271	933	5	3459	3742	1202	1854	684	423
23	616	2033	568	2831	11	4242	4812	6674	2686	1099	486
28	426	1568	373	270	10	1331	1170	1029	328	636	568
33	232	810	138	413	3	1914	2360	608	948	441	225
50	254	958	154	455	2	1950	1955	611	800	398	245
58	364	1748	206	1001	6	3930	3688	1511	2170	591	282
59	353	2315	448	547	7	2487	4125	820	1545	542	515
61	495	6911	488	494	9	1593	2515	529	884	991	904
65	2411	17667	1856	1081	6	831	1194	1076	995	1454	975

66	747	1035	921	419	6	481	325	214	168	1339	1006
77	581	5233	1152	795	17	2650	4467	1362	1732	2812	1441
79	2315	6747	1649	#N/D	8	541	687	1306	514	1912	659
80	4641	13782	1866	548	16	731	1281	764	426	5577	2816
85	469	1704	339	216	5	1030	559	514	452	954	557
98	1009	4236	8926	186	61	1614	2657	1990	844	1478	2086

#N/D: không xác định

Ví dụ 18 - Độc tính tế bào

Hoạt tính gây độc tế bào của tất cả các hợp chất tổng hợp được được đánh giá đối với dòng tế bào tiền tủy bào B 697 và của các hợp chất có profin hiệu lực/tính chọn lọc tốt đối với các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell: PBMC).

Các tế bào được cấy vào đĩa (2×10^4 tế bào/lỗ đối với các tế bào 697, 5×10^5 tế bào/lỗ đối với các tế bào PBMC). Các hợp chất thử nghiệm (nồng độ nằm trong khoảng từ 1,5nM đến 10000nM đối với các tế bào PBMC và từ 1nM đến 10000nM đối với các tế bào 697) được thêm vào sau 24 giờ và được ủ trong 72 giờ. Hoạt tính gây độc tế bào của các phân tử được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm tăng sinh tế bào một dung dịch nước CellTiter 96® (Promega), để xác định chức năng của ty thể theo các hướng dẫn của nhà sản xuất.

Các giá trị IC_{50} được thể hiện trong Bảng 4. Phần lớn các phân tử có độc tính thấp.

Bảng 4 - Độc tính tế bào đối với dòng tế bào 697 và PBMC (IC_{50} nM)

Hợp chất	Độc tính tế bào đối với tế bào 697	Độc tính tế bào đối với tế bào PBMC (72 giờ)
1	10390	7000
2	6079	>1000
3	2878	735
4	>10000	10000>X>1000
5	88692	10000>X>1000

6	>10000	20000
7	4188	10000
8	8881	3500
9	>10000	>10000
10	4329	4500
12	>10000	10000>X>1000
13	10000>X>1000	10000>X>1000
14	3941	>10000
15	8723	>10000
16	7882	7500
17	5203	9000
19	1164	>10000
20	1121	2000
74	2283	2000
75	1199	514
76	>10000	>10000
77	11086	2000
78	22173	6000
79	22173	3000
82	6504	n.a
84	5203	4500
85	1157	2000
87	6656	6000
91	783	812
92	>10000	>10000

93	>10000	>10000
94	908	n.a
100	7092	10000
121	5911	n.a
122	1028	n.a
123	1970	n.a
125	>10000	>10000
129	13175	n.a
134	>10000	n.a
141	>10000	n.a
146	>10000	n.a
147	>10000	n.a
149	794	n.a
150	1256	n.a
151	287	n.a
152	1447	n.a
154	22668	>10000
155	22670	n.a
156	1567	>10000
157	913	940
158	16947	n.a
159	16945	n.a
160	16945	n.a
161	16945	n.a
162	16945	n.a

163	48981	n.a
164	1403	661
165	55283	>10000
166	61437	>10000
167	42998	>10000
168	36855	7001
169	271	24
170	61431	n.a
171	6143	>10000
172	61425	>10000
173	1886	948
174	50287	n.a
175	10055	1261
176	50287	5302
177	50287	>10000
178	50287	>10000
179	50287	>10000
180	40221	>10000
181	50287	>10000
182	50287	100000
183	50287	n.a
184	14691	100000
185	10448	n.a
186	10448	100000
189	291	1050

190	333	983
195	3124	>10000
203	15161	>10000
204	15369	n.a
205	15369	n.a
208	15369	n.a
209	15369	n.a
210	10414	>10000
212	15369	n.a
213	15369	n.a
214	409	n.a
215	340	n.a
216	288	n.a

n.a (not available): không có số liệu

Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế có giá trị IC_{50} đối với dòng tế bào 697 cao hơn 1000nM và đối với dòng tế bào PBMC cao hơn 5000nM.

Ví dụ 19 – Tính ổn định với quá trình chuyển hóa pha I trong phần chiết gan S9 của chuột và người

Các hợp chất thử nghiệm được ủ trong phần chiết gan S9 của chuột và người ở nhiệt độ 37°C trong tối đa 90 phút để đánh giá tính ổn định của chúng với quá trình chuyển hóa pha I bằng các enzym ở gan.

Mỗi hợp chất thử nghiệm được ủ ở nồng độ tính theo μM (50 μM khi các mẫu được phân tích bằng phương pháp UV/HPLC, 1 hoặc 2 μM khi các mẫu được phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS) với phần chiết S9 (hàm lượng protein 2 mg/ml) trong chất đệm phosphat 100mM (độ pH = 7,4), MgCl_2 3,3mM và NADPH 1,3mM trong 0, 10, 30, 60 và 90 phút ở nhiệt độ 37°C trong bể lắc ổn định nhiệt. Phản ứng được làm ngừng bằng cách đặt mẫu lên bề nước đá và cho thêm axetonitril axit hóa.

Sau khi ly tâm (10 phút ở tốc độ 14000 vòng/phút), phần phân ước của dịch nổi bề mặt được pha loãng bằng nước, lọc bằng bộ lọc kiểu bơm tiêm loại xenluloza tái sinh 0,45µm và được bơm vào thiết bị HPLC-UV hoặc LC-MS/MS. Tỷ lệ % lượng còn lại ở các thời điểm ủ khác nhau so với lượng ban đầu được tính toán. Độ thanh thải nội tại cũng được tính toán.

Ví dụ 20 - Tính ổn định trong huyết tương của chuột và người

Để đánh giá tính ổn định với enzyme khi tuần hoàn, các hợp chất được ủ với huyết tương của người và chuột ở nhiệt độ 37°C trong bể lắc ổn định nhiệt. Mỗi hợp chất thử nghiệm được ủ với nồng độ tính theo µM (50µM khi các mẫu được phân tích bằng phương pháp UV/HPLC, 1 hoặc 2µM khi các mẫu được phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS) trong 0, 15, 30 phút và 1, 2 và 4 giờ. Phản ứng được làm ngừng bằng cách đặt ống trên bề nước đá và cho thêm axetonitril axit hóa. Sau khi ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 14000 vòng/phút, phần phân ước của dịch nổi bề mặt được pha loãng bằng nước, lọc bằng bộ lọc kiểu bơm tiêm loại 0,45µm và được bơm vào thiết bị HPLC-UV hoặc LC-MS/MS. Tỷ lệ % lượng còn lại ở các thời điểm ủ khác nhau so với lượng ban đầu được tính toán. Thời gian bán hủy trong huyết tương cũng được tính toán.

Số liệu về tính ổn định chuyển hóa *in vitro* được tóm tắt trong các Bảng 5 và 5'. Phần lớn các phân tử có tính ổn định tốt.

Bảng 5 – Thử nghiệm tính ổn định enzyme *in vitro* của các hợp chất được quấy trộn (tỷ lệ % lượng còn lại trong phần chiết S9 sau 90 phút và trong huyết tương sau 4 giờ).

Hợp chất	Huyết tương của chuột	Huyết tương của người	Phần chiết S9 của chuột	Phần chiết S9 của người
1	86	102	70	81
2	79	71	1	78
3	79	100	66	93
4	106	n.a.	34	n.a.
5	97	n.a.	36	n.a.

6	87	96	96,6	85,6
7	77	93	96	89
8	62	91	82	100
9	106	n.a.	75	n.a.
10	86	99	82	95
12	87	n.a.	44	n.a.
13	96,7	94	90,9	98
14	38	77	88	87
15	78	91	60	83
16	75	n.a.	74	n.a.
17	87	98	71	83
19	96	100	68	94
20	98,5	94,3	88	101,7
68	77	n.a.	34	n.a.
74	94	100	61	84
75	116	n.a.	75	n.a.
76	98	96	76	77
77	n.a.	n.a.	40	n.a.
79	99	n.a.	73	n.a.
85	76	n.a.	75	n.a.
87	0	n.a.	77	n.a.
91	93	n.a.	8	n.a.
92	79	n.a.	71	n.a.
93	10	n.a.	53	n.a.
94	75	n.a.	22	n.a.

95	75	n.a.	41	n.a.
100	80	92	30	76
121	100	n.a.	25	n.a.
122	94	n.a.	47	n.a.
123	99	n.a.	99	n.a.
125	78	77	90	83
129	93	n.a.	45	n.a.
134	76	n.a.	95	n.a.
138	n.a.	n.a.	79	n.a.
140	85	n.a.	12	n.a.
141	73	n.a.	36	n.a.
145	79	n.a.	7	n.a.
146	n.a.	n.a.	59	n.a.
147	89	n.a.	76	n.a.
149	n.a.	n.a.	84	n.a.
150	92	n.a.	35	n.a.
151	87	n.a.	62	n.a.
152	113	n.a.	31	n.a.
153	76	n.a.	91	n.a.
167	85	91	55	78
169	68	n.a.	44	n.a.
171	77	88	48	74
179	98	100	58	79
180	100	97	70	80
186	75	n.a.	9	n.a.

187	101	92	17	54
188	93	90	7	49
189	78	100	5	72
190	73	99	9	64
191	92	93	35	42
192	90	100	17	43
193	81	100	63	71
194	89	99	3	29
195	84	93	32	68
196	99	89	23	26
197	82	96	62	86
198	63	95	6	51
199	92	90	57	75
200	96	102	32	37
201	95	88	34	75
203	94	95	58	74
204	89	79	72	84
205	89	80	71	95
206	88	92	50	97
208	81	87	81	81
209	69	77	84	100
210	84	79	71	80
211	86	76	67	59
212	81	83	60	75
213	80	97	58	63

214	60	92	9	73
215	57	90	65	82
216	89	91	62	84

n.a. = không có số liệu

Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế có tỷ lệ % còn lại trong phần chiết S9 của chuột S9 cao hơn 25%, trong phần chiết S9 của người cao hơn 85%, trong huyết tương của chuột cao hơn 75% và trong huyết tương của người cao hơn 90%.

Bảng 5' - Thử nghiệm tính ổn định enzyme *in vitro* (tỷ lệ % còn lại trong phần chiết S9 sau 90 phút và trong huyết tương sau 4 giờ)

Hợp chất	Huyết tương của chuột	Phần chiết S9 của chuột
22	81	6
23	77	8
25	77	9
28	90	68
29	103	74
30	49	63
31	76	0
33	52	2
36	60	38
37	6	82
38	n.a.	1
39	63	0
42	n.a.	16
44	32	87
45	81	69
47	76	0

49	82	57
54	n.a.	0
55	n.a.	46
57	94	71
58	106	15
59	53	8
61	71	49
62	83	55
65	88	8
66	66	54
67	101	44
70	79	18
71	4	58
80	77	32
83	76	92
89	70	97
96	99	41
98	89	88
99	91	108
101	73	9
102	82	16
103	79	5
109	10	72
110	92	16
115	73	57

116	78	65
117	82	88
135	78	96
137	100	52
139	90	40

n.a. = không có số liệu

Các hợp chất được ưu tiên của sáng chế có tỷ lệ % còn lại trong phần chiết S9 của chuột cao hơn 25% và trong huyết tương của chuột cao hơn 75%.

Ví dụ 21 - Sự axetyl hóa α -tubulin và H3 histon *in vitro* ở dòng tế bào 697

Việc xác định mức độ axetyl hóa của α -tubulin và H3 histon *in vitro* được đánh giá trên dòng tế bào tiền tủy bào B 697.

Các phân tử thử nghiệm được pha loãng từ dung dịch gốc 20mM trong DMSO bằng môi trường RPMI 10% FCS + DMSO 0,01% ở nồng độ 20 lần so với nồng độ cuối, được cho thêm vào các tế bào (15×10^6 tế bào trong tổng thể tích 30ml trong môi trường RPMI 10% FCS + 0,01% DMSO) để thu được nồng độ cuối bằng 1000, 333, 111 và 37nM và được ủ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5% trong 16 giờ.

Khi kết thúc quá trình ủ, lấy 5×10^6 tế bào từ mỗi mẫu, ly tâm trong 5 phút với tốc độ 1100 vòng/phút và rửa trong NaCl 0,9% ở nhiệt độ 4°C. Viên vón tạo thành được làm tan bằng cách xử lý ở nhiệt độ 4°C trong 30 phút bằng 150µl chất đệm Complete Lysis-M (Roche, cat-04719956051) chứa chất ức chế proteaza và phosphatase (viên nén hỗn hợp chất ức chế proteinaza Complete Easy Pack, cat: 04693116001; hỗn hợp chất ức chế phosphatase Phostop easypack, cat: 01906837001- Roche), sau đó được ly tâm 10 phút ở tốc độ 14000 vòng/phút (20817x g). 0,150µg dịch nổi bề mặt (chất chiết protein toàn phần) được pha loãng trong 100µl 1x PBS và được cố định trong đĩa Maxisorp F96 NUN-IMMUNO (Nunc cat # 5442404) ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Các đĩa được rửa hai lần bằng dung dịch đệm rửa (PBS1X + Tween 20 0,005%) và được bão hòa trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng bằng 300µl 1x PBS chứa 10FCS. Sau khi rửa bằng dung dịch đệm (1x

PBS chứa tween 0,005%), các đĩa được ủ trong hai giờ ở nhiệt độ trong phòng với sự có mặt của kháng thể kháng α -tubulin được axetyl hóa (kháng thể đơn dòng kháng tubulin axetyl hóa, dòng 6-11B-1, dịch cổ trướng của chuột, cat#T6793 Sigma, 100 μ l được pha loãng theo tỷ lệ 1 : 1000 trong 1x PBS chứa 10% FCS) hoặc bằng kháng thể toàn phần kháng- α -tubulin (kháng thể đơn dòng kháng alpha-tubulin được tạo ra ở chuột; cat#T6074 Sigma). Sau khi rửa, cho thêm kit cơ chất TMB với lượng 100 μ l/lỗ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng trong chỗ tối. Phản ứng được làm ngừng bằng cách cho thêm 50 μ l H₂SO₄ 2N. Các đĩa được đọc bằng phổ kế phân cực Multiskan ở bước sóng 450nm.

Mức độ axetyl hóa được tính toán bằng cách chia hệ số hấp thụ thu được đối với α -tubulin axetyl hóa cho hệ số hấp thụ của tổng lượng α -tubulin.

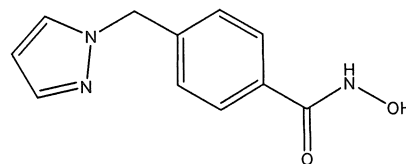
Các tế bào còn lại (10x10⁶) được xử lý bằng cách chiết histon bằng axit (Kazuhiro et al., PNAS (2002), 99 (13) 8921-8926). Các tế bào được ly tâm 5 phút ở tốc độ 1100 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C và rửa một lần trong NaCl 0,9%. Viên vón tạo thành được làm tan bằng dung dịch đệm lysin (Tris 10mM · HCl, độ pH = 6,5/natri bisulphit 50mM, Triton X-100 1%/MgCl₂ 10mM/sacaroza 8,6% chứa hỗn hợp chất ức chế proteaza (Roche)) trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Viên vón nhân tạo thành được rửa nhiều lần trong dung dịch đệm cho đến khi làm trong dịch nổi bề mặt (được ly tâm ở tốc độ 7500 xg, 5 phút sau mỗi lần rửa) và cuối cùng, được rửa trong dung dịch đệm nhân (Tris 10mM · HCl/EDTA 13mm, độ pH = 7, 4) và được tái tạo huyền phù trong 250 μ l HCl/H₂SO₄ 0,2M. Các protein histon được chiết trong môi trường axit bằng cách ủ qua đêm ở nhiệt độ 4°C trong khi lắc nhẹ. Sau khi ly tâm ở tốc độ 14000 vòng/phút ở nhiệt độ 4°C trong 10 phút, 1250 μ l axeton lạnh được cho thêm vào dịch nổi bề mặt và ủ qua đêm ở nhiệt độ -20°C, tạo ra sự kết tủa của các protein histon. Viên vón thu được sau khi ly tâm trong 10 phút ở tốc độ 14000 vòng/phút và 4°C được rửa bằng axeton lạnh, được làm bay hơi đến khi khô và được tái tạo huyền phù trong 50 μ l nước cất. Việc xác định hàm lượng protein của cả chất chiết toàn phần và chất chiết histon được tiến hành bằng thử nghiệm so màu bằng cách sử dụng kit thử nghiệm protein BCA (Pierce cat: 23227).

Mức độ axetyl hóa histon H3 và tổng lượng H3 được định lượng bằng kit Elisa kiểu kẹp giữa đối với histon H3 axetyl hóa PathScan, cat#7232C và kit Elisa kiểu kẹp giữa đối với histon toàn phần H3 PathScan dùng cho thử nghiệm ELISA có

bán trên thị trường, sự truyền tín hiệu tế bào cat#7253C) theo phương pháp đã được thông báo của nhà cung cấp và bằng cách phát hiện hệ số hấp thụ ở bước sóng 450nm bằng cách sử dụng phổ Multiskan. Các thử nghiệm ELISA được thực hiện bằng cách phân tích 0,250µg và 0,500µg chất chiết histon của mỗi mẫu. Mức độ axetyl hóa được tính bằng cách chia hệ số hấp thụ của histon H3 cho hệ số hấp thụ toàn phần của histon.

Các kết quả thử nghiệm mức độ axetyl hóa tubulin và histon H3, được thể hiện theo số lần *tăng gấp* của tỷ lệ α -tubulin/ α -tubulin axetyl hóa và H3Ac/H3Tot tương ứng, của mỗi mẫu so với mẫu đối chứng (không được xử lý) được tóm tắt trong các Bảng 6 và 6'. Các phân tử có mức độ axetyl hóa tubulin tốt và mức độ axetyl hóa histon H3 kém.

Givinostat, chất ức chế HDAC toàn diện được sử dụng làm hợp chất tham chiếu. Như dự kiến, hợp chất tham chiếu có mức độ axetyl hóa tốt đối với cả tubulin và histon H3e. Hợp chất theo ví dụ 43 của Công bố đơn quốc tế WO 2012/106343, chất ức chế HDAC, được sử dụng làm hợp chất so sánh để chứng minh hiệu quả bất ngờ của các hợp chất theo sáng chế so với hợp chất của các giải pháp đã biết có công thức sau:



Hợp chất theo ví dụ 43

Bảng 6 – Mức độ axetyl hóa tubulin ở dòng tế bào 697 (số lần tăng gấp của tỷ lệ tubulin axetyl và tubulin toàn phần so với đối chứng)

Hợp chất	Nồng độ (nM)			
	1000	333	111	37
8	12	9	4	3
10	16	13	7	3
15	12	5	3	1
17	10	9	8	3

19	17	21	15	7
100	14	9	3	2
7	11	8	3	2
125	14	6	3	1
167	13	9	3	2
168	16	19	11	3
171	22	20	19	10
179	14	6	7	2
180	19	15	7	2
195	14	10	11	6
Ví dụ 43 (giải pháp đã biết)	7	3	1	1
Givinostat	18	12	4	1

So với hợp chất theo Ví dụ 43, các phân tử của sáng chế có mức độ axetyl hóa của tubulin cao hơn.

Bảng 6': Mức độ axetyl hóa của histon H3 trong dòng tế bào 697 (số lần tăng gấp của kết quả thu được giữa H3 được axetyl hóa và H3 toàn phần so với đối chứng)

Hợp chất	Nồng độ (nM)		
	1000	333	111
8	3	2	1
10	2	1	1
17	2	1	2
15	1	1	1
19	2	2	1
100	2	3	1
7	1	1	1

125	1	1	1
167	2	1	1
168	2	1	1
171	3	n.a.	n.a.
179	1	n.a.	n.a.
180	1	n.a.	n.a.
195	1	1	1
Ví dụ 43 (theo giải pháp đã biết)	1	1	1
Givinostat	23	17	8

n.a. = không có số liệu

Ngoại trừ Givinostat, tất cả các phân tử đều có mức độ axetyl hóa của histon H3 kém.

Ví dụ 22 - Dược động học

Nồng độ trong huyết tương và các thông số dược động học chính của các hợp chất thử nghiệm được đánh giá sau khi sử dụng qua đường trong tĩnh mạch và đường miệng một lần cho chuột.

Các liều dùng được sử dụng là từ 1,3 đến 2,6 mg/kg qua đường trong tĩnh mạch và từ 2,6 đến 5,2 mg/kg qua đường ống thông qua miệng. Các dạng bào chế được bào chế trong hỗn hợp của DMSO/PEG400/H₂O. Lấy máu ở các thời điểm lấy mẫu sau đây: 5, 10, 15, 30 phút, 1, 2, 4 và 6 giờ sau khi sử dụng. Các mẫu huyết tương (100µl) được khử protein bằng cách cho thêm axit formic 1% trong ACN, sau khi được trộn lẫn kiểu xoay tròn và ly tâm. Phần phân ước của dịch nổi bề mặt của mỗi mẫu được thu gom và pha loãng bằng nước, được lọc bằng bộ lọc xenluloza tái sinh loại 0,45µm và được phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS. Nồng độ của các hợp chất thử nghiệm trong huyết tương được tính toán dựa trên đường cong hiệu chỉnh thu được trong khoảng nồng độ từ 0,5 đến 200 ng/ml.

Các thông số dược động học được tính toán dựa trên đường cong nồng độ trong huyết tương trung bình bằng cách sử dụng chương trình phần mềm

Kinetica™ v. 5.1, theo phương pháp không ngăn.

Các thông số chính được tóm tắt trong Bảng 7. Ba phân tử được thử nghiệm có độ khả sinh khả dụng qua đường miệng tốt.

Bảng 7 - các thông số dược động học ở chuột của ba hợp chất được ưu tiên

	Hợp chất 8		Hợp chất 17		Hợp chất 10	
	đường trong tĩnh mạch (i.v.)	đường miệng (Os)	i.v.	Os	i.v.	Os
Liều (mg/kg)	2,6	5,2	1,3	2,6	2,6	5,2
C _{max} (ng/ml)	-	238	-	60	-	144
T _{max} (giờ)	-	0,08	-	0,08	-	0,25
AUC _{tot} (ng*giờ/ml)	253	94	114	42	239	123
C ₀ (ng/ml)	1287	-	727	-	949	-
CL (L/giờ*kg)	10,3	-	11,4	-	10,9	-
V _d (L/kg)	15,3	-	16,8	-	20,5	-
T _{1/2} (giờ)	1	-	1	-	1,3	-
F%	18,5		18,4		25,8	

Ví dụ 23 - Đánh giá liều dung nạp tối đa (Maximum Tolerated Dose: MTD)

Sau khi sử dụng qua đường trong màng bụng lâu dài ở chuột C57BL/6, liều MTD của các hợp chất được đánh giá bằng các thông số trong lâm sàng (trọng lượng cơ thể và hành vi) và trong máu (bạch cầu và tiểu cầu). Các hợp chất được sử dụng sau khi hòa tan trong hỗn hợp H₂O/PEG400 theo tỷ lệ trọng lượng 1: 1 chứa DMSO 5% (đối với hợp chất 17, DMSO 20% được sử dụng).

Tất cả các con chuột được cân trọng lượng vào ngày trước khi điều trị (ngày 0) và xác định trọng lượng cơ thể trung bình.

Các con chuột (8 con/nhóm) được điều trị một lần mỗi ngày bắt đầu từ ngày 1 trong 5 ngày liên tiếp mỗi tuần bằng:

- Các hợp chất với liều 10, 30, 50 mg/kg, qua đường trong màng bụng (ip),

- b) Givinostat với liều 100 mg/kg (đối chứng nội), và
- c) Các dung dịch chất dẫn thuốc được sử dụng để hòa tan các chất.

Thể tích của các dung dịch được sử dụng là 10ml/kg. Việc điều trị được lặp lại trong 2 tuần, với tổng cộng là 10 lần điều trị/nhóm.

Dựa vào các dấu hiệu lâm sàng bất kỳ hàng ngày (về bề ngoài của da, sự linh hoạt và sự hoạt động của chuột, sự hô hấp, v.v.) cho thấy độc tính có thể có của các hợp chất được thông báo. Trọng lượng chuột được đánh giá vào các ngày 2, 4, 9 và 11.

Vào ngày 1, 3, 5, 8, 10 và 12, lấy mẫu máu (khoảng 50µl) từ đuôi của chuột để đánh giá hiệu quả của các chất đối với các thông số máu. Không lấy mẫu máu của 4 con/nhóm vào các ngày xen kẽ.

Các mẫu được thu hoạch vào ống chứa EDTA, được pha loãng thích hợp trong dung dịch sinh lý và được phân tích bằng máy đếm tế bào.

Vào ngày kết thúc nghiên cứu (ngày 12), các con chuột bị giết sau khi điều trị lần cuối 60 phút. Thực hiện việc đánh giá khám nghiệm xác tổng thể để phát hiện tính bất thường của cơ quan bên trong bất kỳ. Bảng 8 thể hiện tóm tắt số liệu thu được trong các thử nghiệm xác định liều MTD của một số hợp chất theo sáng chế. Givinostat là chất ức chế HDAC toàn diện và được sử dụng làm chất tham chiếu. Các phân tử được thử nghiệm được dung nạp tốt.

Bảng 8 - các giá trị thông số vào ngày 12 được theo dõi trong thử nghiệm đối với bốn hợp chất được ưu tiên của sáng chế

	Tỷ lệ % trọng lượng cơ thể so với đối chứng	Tỷ lệ % tiểu cầu so với đối chứng	Tỷ lệ % bạch cầu so với đối chứng
Hợp chất 8 50 mg/kg	-0,3	12	-15
Hợp chất 10 50 mg/kg	1,7	3,6	-30
Hợp chất 17 30 mg/kg	-6	-17	-22
Hợp chất 50	0	-0,1	-47

50 mg/kg			
Givinostat 100 mg/kg	0,9	-7	-72

Ví dụ 24 - mức độ tăng sinh của tế bào lymphô T CD4 qua thử nghiệm ức chế các tế bào T điều hòa ở chuột

Để đánh giá khả năng làm tăng hoạt tính ức chế tế bào T điều hòa của các phân tử theo sáng chế này (Treg, $CD4^+CD25^+$), thử nghiệm ức chế sự tăng sinh của tế bào T (các tế bào T đáp ứng, Teff) được sử dụng. Các tế bào Treg với nồng độ khác nhau được nuôi cấy với các tế bào Teff ($CD4^+CD25^-$) với sự có mặt của tác nhân kích thích tăng sinh. Các tế bào T cần có hai tác nhân kích thích tăng sinh: tác nhân thứ nhất dựa vào sự nhận biết của kháng nguyên liên quan đến MHC bằng thụ thể tế bào T (T cell receptor: TCR) và tác nhân thứ hai có nguồn gốc từ các phân tử đồng kích thích như CD28. Khi không có mặt kháng nguyên cụ thể, sự hoạt hóa TCR có thể diễn ra với kháng thể nhận biết một trong số các cấu trúc dưới phân tử thành phần CD3ε. Trong thử nghiệm này, kháng thể đơn dòng kháng CD3ε và các tế bào lách làm cạn kiệt tế bào T CD4 được sử dụng làm tác nhân kích thích hoạt hóa. Do đó, khả năng làm giảm mức độ tăng sinh của tế bào Teff bởi tế bào Treg với sự có mặt hoặc không có mặt của các chất ức chế HDAC6 được đánh giá.

Các tế bào Treg và Teff được tách ra bằng cách sử dụng kit phân lập Treg dựa trên kỹ thuật tách hạt từ tính (Miltenyi Biotec) bằng quy trình chọn lọc âm tính ban đầu và quy trình chọn lọc dương tính cuối.

Thu được hỗn dịch đơn bào từ lách chuột C57BL/6 bằng cách sử dụng bộ lọc cỡ 70μm.

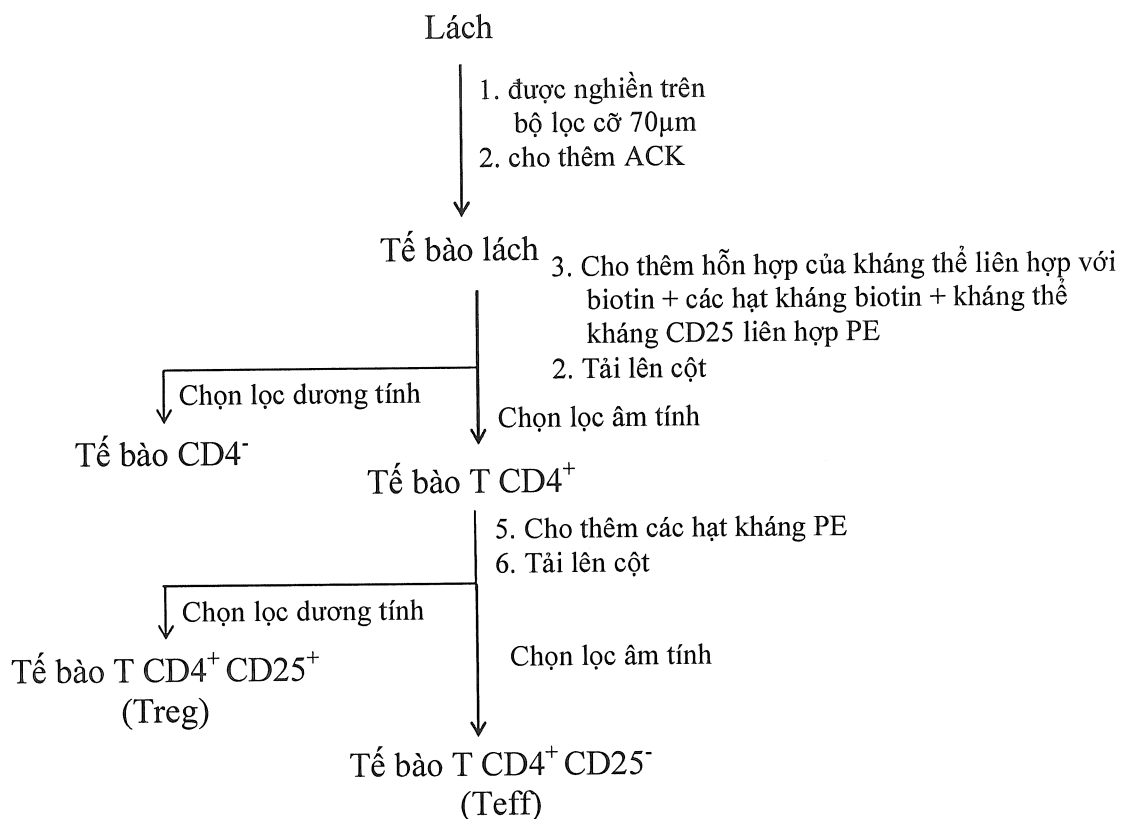
Hỗn dịch tế bào được xử lý bằng dung dịch đệm ACK để làm tan hồng cầu và sau đó được ly tâm trong 5 phút ở tốc độ 300 x g. Sau khi ly tâm, các tế bào được tái tạo hỗn dịch trong PBS (nước muối đệm phosphat, Gibco) và được đếm. Sau đó, các tế bào lách được tái tạo hỗn dịch trong dung dịch đệm chứa PBS, BSA và EDTA 2mM.

Để tiếp tục bước thứ nhất của quá trình tách Treg, các tế bào CD4 âm tính được đánh dấu bằng phương pháp từ tính theo cách gián tiếp bằng hỗn hợp của các

kháng thể liên hợp với biotin đối với CD8a, CD11b, CD45R, CD49b, Ter-119 và tế bào CD4⁺ dạng vi hạt kháng biotin thu được bằng cách chọn lọc âm tính theo dòng qua cột MACS từ tính.

Các tế bào gắn kết với vi hạt được rửa giải và bảo quản để sử dụng chúng làm tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell: APC) trong thử nghiệm tăng sinh.

Trong bước thứ hai của quá trình tinh chế Treg, các tế bào CD4⁺ đã làm giàu sơ bộ được đánh dấu bằng kháng thể kháng-CD25 liên hợp với R-phycoerythrin (PE) để gắn kết ưu tiên với các tế bào Treg và các hạt từ tính được ghép đôi với kháng thể kháng PE. Sau đó, hỗn dịch tế bào được tải lên cột. Các tế bào Teff đi qua cột mà không gắn kết (chọn lọc âm tính), trong khi các hạt gắn kết với tế bào Treg bám dính qua các hạt từ tính (chọn lọc dương tính). Sau đó, các tế bào Treg được rửa giải ra khỏi cột bằng dòng chất đệm bằng cách sử dụng pit tông. Quá trình tinh chế tế bào Treg và Teff được tóm tắt trong sơ đồ sau:



Các tế bào thu được được sử dụng cho thử nghiệm ức chế Treg như sau:

- Các tế bào CD4⁻ thu được từ sự chọn lọc dương tính thứ nhất dưới dạng APC

- Các tế bào Treg CD4⁺ CD25⁺ dưới dạng tế bào ức chế
 - Các tế bào Teff CD4⁺ CD25⁻ dưới dạng tế bào đáp ứng/tăng sinh
- Các tế bào CD4⁺ được xử lý bằng mitomycin C (50 µg/ml, Sigma) trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C để ngăn ngừa sự tăng sinh của chúng. Sau đó, chúng được tái tạo hỗn dịch với nồng độ $4,0 \times 10^5/50\mu\text{l}$ trong môi trường toàn vẹn (RPMI, FBS 10%, penicillin/streptomycin 1X, 50µM beta mercaptoethanol). Các tế bào Teff được đánh dấu bằng este carboxy florescein succinimidyl (carboxy fluorescein succinimidyl ester: CFSE) với nồng độ 2µM trong PBS ở nhiệt độ 37°C, và sau khi ủ 10 phút, phản ứng được làm ngừng bằng dung dịch PBS 10% FBS. Sự đánh dấu CFSE cho phép sự cải biến đồng hóa trị của tế bào T để phân tích sự tăng sinh của chúng bằng cách pha loãng huỳnh quang. Sau đó, các tế bào Teff đã đánh dấu được ly tâm và tái tạo hỗn dịch với nồng độ cuối bằng $5,0 \times 10^4/50\mu\text{l}$ trong môi trường toàn vẹn. Cuối cùng, các tế bào Treg thu được bằng cách tinh chế được pha loãng đến nồng độ cuối bằng $5,0 \times 10^4/50\mu\text{l}$ trong môi trường toàn vẹn.

Tiếp đó, môi trường đồng nuôi cấy của các tế bào Teff ($5,0 \times 10^4$), tế bào T CD4⁺ ($4,0 \times 10^5$) được chuẩn bị và các tế bào Treg với tỷ lệ khác nhau (tỷ lệ của tế bào Teff với tế bào Treg là 1:1, 1:2, 1:4, 1:8) được cho thêm vào môi trường này. Các hợp chất thử nghiệm với nồng độ khác nhau hoặc chất dẫn thuốc DMSO được cho thêm vào hỗn dịch tế bào. Cuối cùng, kháng thể đơn dòng kháng CD3ε (Miltenyi Biotec) được thêm vào với nồng độ 1 µg/ml. Các tế bào được đàn mỏng trong đĩa đáy phẳng có 96 lỗ và mỗi điều kiện được chuẩn bị theo mẫu lặp đôi loại kỹ thuật. Để xác định cơ chế của các chất khác nhau ảnh hưởng trực tiếp đến sự tăng sinh tế bào, hiệu quả của các hợp chất đối với môi trường đồng nuôi cấy tế bào Teff và tế bào CD4⁺ với sự có mặt của tác nhân kích thích được tạo ra bởi kháng thể đơn dòng kháng CD3ε, khi không có mặt các tế bào Treg, được đánh giá. Sự kiểm soát âm tính mức độ tăng sinh tế bào chỉ được xác định đối với các tế bào Teff đã đánh dấu, khi không có mặt tế bào T CD4⁺ và kháng thể đơn dòng kháng-CD3ε cần phải không tăng sinh.

Say khi ủ 72 giờ, các tế bào đã đồng nuôi cấy được đánh dấu bằng kháng thể kháng CD4 được đánh dấu bằng PE/Cy5 (tỷ lệ pha loãng 1:200, Biolegend) trong 15

phút ở nhiệt độ trong phòng (room temperature: RT). Sau khi đánh dấu, các tế bào được rửa và tái tạo hỗn dịch trong 200µl PBS.

Tỷ lệ % các tế bào Teff tăng sinh được phát hiện bằng phương pháp đếm tế bào theo dòng bằng cách quan sát mức độ làm loãng tín hiệu từ CFSE trong quần thể tế bào T CD4+. Việc đánh dấu bằng CFSE được thừa hưởng bởi các tế bào con sau khi gián phân được cảm ứng bởi sự hoạt hóa tế bào. Phép phân tích tín hiệu huỳnh quang CFSE cho phép thu được tỷ lệ % tế bào tăng sinh được thể hiện bởi các quần thể có mức độ huỳnh quang thấp hơn so với quần thể không tăng sinh.

Trong thử nghiệm này, hoạt tính chống tăng sinh trực tiếp của các chất được thử nghiệm phải được loại trừ. Do đó, một ngưỡng được thiết lập trong đó nếu sự giảm mức độ tăng sinh ở các tế bào Teff > 10% mà không quan sát được với các tế bào Treg, sự ức chế tăng sinh hoàn toàn không thể được cho là do hoạt tính ức chế của Treg gây ra một mình.

Để so sánh hiệu quả của các hợp chất đối với khả năng ức chế của các tế bào Treg, tỷ lệ tăng sinh chuẩn hóa được tính toán bằng cách sử dụng sự chuẩn hóa tối thiểu-tối đa với tỷ lệ tăng sinh đối với mỗi mẫu so với đối chứng. Các giá trị thu được được biến đổi thành tỷ lệ ức chế được chuẩn hóa:

Mức độ ức chế được chuẩn hóa = 100 - (tỷ lệ % mức độ ức chế được chuẩn hóa)

Sau đó, tính được diện tích dưới đường cong (area under the curve: AUC) của đồ thị giá trị tỷ lệ % ức chế tiêu chuẩn. Mức độ ức chế tương đối được tính theo công thức: (AUC của dược chất/AUC của đối chứng) là giá trị cho phép so sánh hoạt tính của các hợp chất. Quy trình trên đây được thực hiện bằng cách xử lý số liệu sử dụng chương trình phần mềm GraphPad Prism 7.

Chi tiết thêm của quy trình này có thể được tìm thấy trong tài liệu: Akimova et al., *Methods Mol Biol* (2016), 1371: 43-78.

Kết quả của thử nghiệm ức chế tế bào Treg được thể hiện trong các Bảng 9 và 10. Hợp chất có giá trị mức độ ức chế tương đối (RS) cao hơn 1,5 tạo ra hoạt tính ức chế tốt trong các tế bào Treg. Các giá trị RS cao hơn 2,5 thể hiện hoạt tính cao trong thử nghiệm này. Nhiều phân tử được thử nghiệm có hoạt tính cao.

Bảng 9 - Mức độ ức chế tế bào T-reg tương đối của một số hợp chất được ưu tiên của sáng chế

Hợp chất	Nồng độ, μM	Thử nghiệm số #	RS
8	0,25	2	1,5
8	0,5	1	2,24
8	1	1	2,1
10	1	4	5,2
10	0,75	3	7,4
10	0,5	5	3,2
15	1	3	3,0
17	1	6	1,9
17	0,5	3	1,7
19	1	2	2,3
6	1	3	1,7
13	1	3	1,9
77	1	3	2,4
79	1	1	1,7
85	1	2	3,8
85	0,5	3	3,0
85	0,25	3	2,0
đối chứng	1,5	23	1,8

Bảng 10 - Mức độ ức chế tế bào T-reg tương đối của các hợp chất khác theo sáng chế

Hợp chất	Nồng độ, μM	Thử nghiệm số #	RS
22	0,25	5	4,2

23	0,25	3	4,2
28	0,25	1	2,9
33	0,10	2	4,6
50	0,25	5	4,2
58	0,25	1	3,4
59	0,5	1	4,8
61	1	3	1,1
65	1	3	4,4
66	1	3	2,6
đối chứng	1,5	23	1,8

Ví dụ 25 - Phản ứng của tế bào lymphô hỗn hợp (Mixed Lymphocytes Reaction: MLR) với các tế bào PBMC của người

Để nghiên cứu khả năng ức chế sự hoạt hóa các tế bào T CD4+ dị sinh của các chất ức chế HDAC6, thử nghiệm phản ứng của tế bào lymphô hỗn hợp (MLR hoặc môi trường nuôi cấy tế bào lymphô hỗn hợp, CLM) được thực hiện. Đây là phản ứng liên quan đến sự chuyển hóa tàn lụi của các tế bào lymphô được nuôi cấy *in vitro* với sự có mặt của các tế bào lymphô dị sinh. Phản ứng này còn được gọi là phản ứng "hai chiều" trong đó hai quần thể tế bào lymphô kích thích nhau tăng sinh, và còn được gọi là phản ứng "một chiều", trong đó sự tăng sinh của một trong hai quần thể bị ức chế bởi mitomycin C hoặc sự chiếu xạ, các tế bào này tạo ra tác nhân kích thích (chất kích thích) tăng sinh với các tế bào còn được gọi là "đáp ứng".

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) của người được sử dụng trong phản ứng MLR thu được bằng cách tách gradien Ficoll ra khỏi vỏ bạch cầu của người cho khỏe mạnh.

Tác giả sáng chế đã sử dụng phản ứng MLR hai chiều. Các tế bào từ hai người cho được đàn mỏng với tỷ lệ 1:1 (kích thích dị sinh) đến nồng độ cuối bằng 2×10^5 tế bào/lỗ trong đĩa có 96 lỗ, đáy hình chữ U trong môi trường RPMI 1640 với FBS 10% và chất kháng sinh. Để làm đối chứng, các tác giả sáng chế đàn mỏng

riêng biệt các tế bào từ mỗi người cho (tác nhân kích thích cùng gen). Thử nghiệm đối với mỗi chất ức chế được thiết lập theo kiểu mẫu lặp mười đối với tác nhân kích thích khác loại và theo kiểu mẫu lặp năm đối với tác nhân kích thích cùng gen. Các tế bào được nuôi cấy trong 6 ngày trong tủ ấp ở nhiệt độ 37°C.

Sau 6 ngày, hiệu quả của các hợp chất thử nghiệm được đánh giá bằng cách xác định mức độ sản sinh ra xytokin tiền viêm được nhận biết bởi các đặc tính của thử nghiệm này. Nhằm mục đích này, dịch nổi bề mặt nuôi cấy được thu hoạch và sử dụng cho thử nghiệm xytokin gây viêm IFN- γ , TNF- α và IL-6.

Kết quả của các thử nghiệm MLR được tóm tắt trong các Bảng 11 và 12. Chất ức chế JAK ruxolitinib được sử dụng làm hợp chất tham chiếu có hoạt tính trong thử nghiệm này.

Bảng 11 - Thử nghiệm MLR đối với một số hợp chất được ưu tiên theo sáng chế

Hợp chất	Nồng độ, μM	Thử nghiệm MLR #	IFN- γ	TNF- α	IL-6
8	1	2	15,7	28,1	-1,5
8	0,5	3	35,3	35,1	-13,0
8	0,25	2	24,1	54,7	-33,1
10	1	7	25,6	49,4	20,6
15	1	6	21,0	33,9	22,9
17	1	3	41,6	39,4	31,2
19	1	2	-7,85	25,9	4,62
6	1	3	-6,5	13,5	15,5
13	1	3	-10,9	37,2	38,3
77	1	4	32,1	64,2	34,3
79	1	3	27,5	50,9	38,6
85	1	5	51,8	73,8	66,9
đối chứng	1,5	17	20,6	32,0	13,8
ruxolitinib	0,05	15	87,9	61,2	73,3

Các giá trị trong bảng thể hiện tỷ lệ % ức chế. Giá trị âm thể hiện sự cảm ứng.

Bảng 12 - Thử nghiệm MLR đối với các hợp chất khác theo sáng chế

Hợp chất	Nồng độ, μM	Thử nghiệm MLR #	IFN- γ	TNF- α	IL-6
58	0,25	n.a	n.a	n.a	n.a
59	0,5	n.a	n.a	n.a	n.a
61	1	1	16	n.a	-21
65	1	2	45,0	67,3	5,4
66	1	3	53,0	42,8	12,9
ctrl	1,5	17	20,6	32,0	13,8
ruxolitinib	0,05	15	87,9	61,2	73,3

Ví dụ 26 - Ức chế sự biểu hiện của PD-L1 trong các tế bào có tua thu được *in vitro*

Tài liệu đã biết mô tả các chất ức chế HDAC6 chọn lọc có tiềm năng tốt làm chất điều biến miễn dịch được sử dụng liệu pháp miễn dịch trị bệnh ung thư (Tavares MT et al. ACS Med Chem Lett. 2017; 8(10):1031-1036).

Các khối u dạng rắn đã được biết là có thành phần tùy mạnh góp phần vào sự phát triển, sự tiến triển và phát tán của khối u.

Các tế bào có tua (dendritic cell: DC) là các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen-presenting cell: APC) chuyên nghiệp đóng vai trò quan trọng trong sự điều hòa đáp ứng miễn dịch thích ứng. Chúng có thể trình diện hữu hiệu các kháng nguyên khối u mới trong trường hợp phức hợp MHC nhóm I và II để kích thích các đáp ứng của tế bào T đối với khối u. Tuy nhiên, trong vi môi trường khối u, các tế bào ung thư có thể ngăn cản sự hoạt hóa của tế bào T qua DC theo nhiều cách khác nhau. Hoạt tính này được ví dụ bằng cách gây ra sự biểu hiện của các chất ức chế phân tử kiểm soát miễn dịch PD-L1 trên bề mặt của DC. PD-L1 có thể tương tác với PD-1 được biểu hiện trên các tế bào T và ức chế sự hoạt hóa của chúng. Do đó, việc làm giảm mức độ biểu hiện của PD-L1 trên DC có thể cách chống lại quá trình này.

Các tác giả sáng chế giả thiết rằng sự ức chế HDAC6 chọn lọc có thể làm

giảm mức độ biểu hiện của PD-L1 trên các tế bào DC, do đó làm tăng hoạt tính kích thích tế bào T của chúng.

Để thu được các tế bào DC *in vitro*, các bạch cầu đơn nhân to của người được tinh chế từ PBMC, được xử lý trong 5 ngày bằng GMCSF (50ng/ml) và IL-4 (10ng/ml) với sự có mặt của hai chất ức chế HDAC6 chọn lọc được mô tả trong sáng chế này (các hợp chất 10 và 19) và chất ức chế HDAC theo ví dụ 43 của Công bố đơn quốc tế WO 2012/106343. Các tế bào đối chứng được xử lý bằng chất dẫn thuốc của chất ức chế. Quá trình này tạo ra các tế bào có tua chưa trưởng thành (immature dendritic cell: iDC) biểu hiện PD-L1 (Brown JA et al. J Immunol. 2003;170:1257-66). Sau 5 ngày, các tế bào iDC được phân tích về sự biểu hiện của dấu hiệu ức chế PD-L1.

Như được thể hiện trên Fig.1, các hợp chất 10 và 19 của sáng chế này làm giảm mức độ biểu hiện của PD-L1 theo cách có ý nghĩa thống kê. Trái lại, hợp chất theo ví dụ 43 của Công bố đơn quốc tế WO 2012/106343 không thể làm giảm mức độ biểu hiện của PD-L1, điều này cho thấy hoạt tính sinh học khác nhau của phân tử này so với hoạt tính sinh học quan sát được đối với các hợp chất 10 và 19.

Ví dụ 27 - Mô hình khối u ở chuột *in vivo*

Bốn mô hình chuột ung thư-miễn dịch khác nhau của bệnh ung thư được sử dụng để đánh giá hiệu quả *in vivo* của các hợp chất 8 và 10 theo sáng chế này. Trong thử nghiệm này, các tác giả sáng chế so sánh hiệu quả của kháng thể kháng PD-1 với hiệu quả được thể hiện bởi các chất ức chế HDAC6. Kháng thể kháng PD-1 hướng đích trực tiếp PD-1/PD-L1 kiểm soát miễn dịch và là liệu pháp miễn dịch được thiết lập đối với nhiều bệnh ác tính gia tăng (Pardoll D.M., Nature Reviews Cancer, 2012, 12: 252–264).

Các khối u được tạo ra ở chuột có khả năng miễn dịch bằng cách sử dụng các dòng tế bào sau đây:

- EMT6 (bệnh ung thư vú ở chuột)
- CT26 (bệnh ung thư ruột kết ở chuột)
- 4T1 (bệnh ung thư vú bộ ba âm tính ở chuột)

Theo các tài liệu chuyên ngành, tính miễn cảm của các khối u ở chuột này với

việc điều trị bằng kháng thể kháng PD-1 xử lý được tóm tắt trong bảng sau đây:

Dòng tế bào	Tính miễn cảm dự kiến với kháng thể kháng PD-1 <i>in vivo</i>
EMT6	++++
CT26	+++
4T1	++

- Việc điều trị trị liệu được bắt đầu khi các hạch khối u có đường kính khoảng 3mm.
- Các hợp chất 8 và 10 được sử dụng qua đường ống thông qua miệng một lần mỗi ngày trong 5 ngày một tuần với liều 50 mg/kg.
- Kháng thể kháng PD-1 được sử dụng ba lần một tuần bằng cách tiêm qua đường ip với liều 10 mg/kg.

Các kết quả của thử nghiệm được thể hiện trên **Fig.2**. Các hợp chất 8, 10 và kháng thể kháng PD1 có hiệu quả làm giảm sự phát triển của khối u tương đương. Các kết quả này cũng giống với hiệu quả dự kiến của kháng thể kháng PD-1. Các chất ức chế HDAC6 chọn lọc của sáng chế này làm giảm hoạt tính kháng u trực tiếp như được ví dụ bởi việc không có hoạt tính gây độc tế bào *in vitro*. Do đó, các kết quả *in vivo* của mô hình ung thư-miễn dịch gợi ý rằng việc điều trị bằng các chất ức chế HDAC6 chọn lọc dẫn đến có thể hoạt hóa đáp ứng miễn dịch kháng u.

Để chứng minh rằng hoạt tính kháng u *in vivo* của các hợp chất 8 và 10 được trung gian bởi sự hoạt hóa hệ miễn dịch, các tác giả sáng chế đã tiến hành các thử nghiệm khác bằng cách sử dụng mô hình chuột có khối u CT-26.

Chuột BALB/c được tiêm qua đường dưới da (s.c.) 1×10^6 tế bào khối u CT26 (được pha loãng đến 100 μ l bằng nước muối đệm phosphat). Một tuần sau, các con chuột được cho sử dụng hàng ngày các hợp chất 8 và 10 với liều 50mg/kg qua đường miệng và/hoặc tiêm kháng thể kháng-PD1 với liều 10mg/kg. Vào thời điểm bị giết, lách chuột được lấy ra để phân tích *ex vivo* về mức độ đáp ứng miễn dịch với khối u. Các tế bào lách được kích thích bằng hỗn hợp của các peptit đặc hiệu khối u CT-26 được nhận biết trong cả hai trường hợp MHC I và MHC II. Do đó, bằng cách sử dụng sự kích thích *ex vivo* này, có thể phát hiện được sự đáp ứng với khối u đặc hiệu được trung gian bởi các tế bào T CD4 và CD8.

Các kết quả được thể hiện trên **Fig.3** khẳng định các số liệu trước đó về hiệu quả của các phân tử theo sáng chế dưới dạng các chất riêng rẽ làm giảm sự phát triển của khối u. Mức độ giảm này cũng tương đương với kết quả thu được với kháng thể kháng PD-1. Ngoài ra, việc điều trị kết hợp bằng kháng thể kháng PD-1 và các chất ức chế HDAC6 làm cải thiện thêm, đặc biệt là với hợp chất 10,

Để chứng minh sự hoạt hóa đặc hiệu của hệ miễn dịch đối với khối u, lách chuột được phân lập và các tế bào lách được nuôi cấy với sự có mặt của các peptit CT-26 đặc hiệu được nhận biết bởi cả tế bào CD4 và CD8 T (Kreiter S. et al. Nature, 2015, 520:692-696).

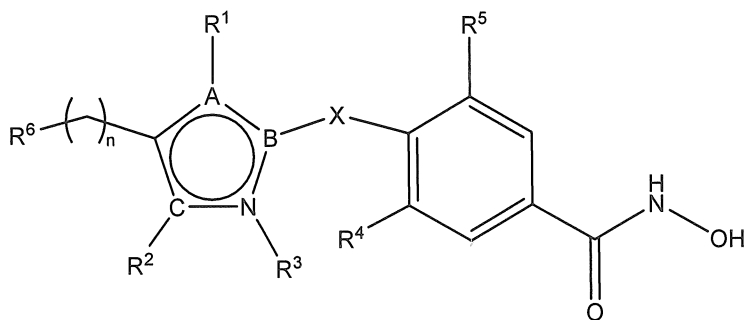
Các kết quả được thể hiện trên **Fig.4** và **Fig.5** trong đó tỷ lệ % tế bào T CD4 và CD8 sản sinh ra IFN- γ và TNF- α được thể hiện đối với mỗi nhóm điều trị.

Tóm lại, các kết quả được thể hiện trên các hình vẽ từ **Fig.3** đến **Fig.5** cho thấy rằng:

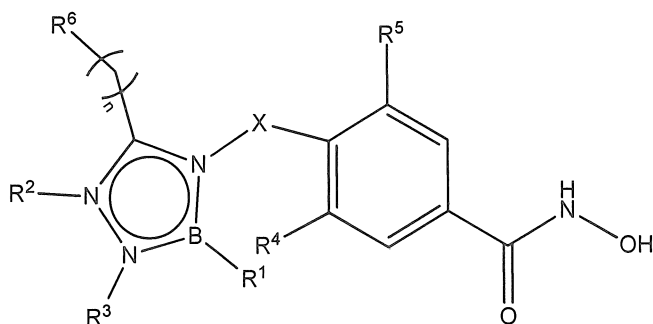
- Các hợp chất 8 và 10 là chất ức chế HDAC6 chọn lọc có thể làm giảm đáng kể sự tiến triển của khối u CT-26.
- Hiệu quả của hai hợp chất này là tương đương với hiệu quả của kháng thể kháng PD-1.
- Sự kết hợp hợp chất 10 với kháng thể kháng PD-1 cải thiện thêm hiệu quả ức chế sự phát triển của khối u.
- Sự kích thích *ex vivo* bằng các peptit đặc hiệu CT-26 cho thấy rằng việc điều trị bằng các chất ức chế HDAC6, một mình và kết hợp với kháng thể kháng PD-1, tạo ra đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào T kháng u đặc hiệu.
- Các kết quả của thử nghiệm *ex vivo* cho thấy rằng đáp ứng miễn dịch của kháng nguyên mới của các hợp chất 8 và 10 được tạo ra là lớn hơn so với kháng thể kháng PD-1.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) hoặc công thức (II), hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể hoặc tiền dược chất của nó:



(I)



(II)

trong đó

A là N, O hoặc S;

B là C hoặc N;

C là N hoặc O;

X là CH₂, S, NH, O hoặc CD₂;

n bằng 0 hoặc 1;

khi n bằng 1, nguyên tử cacbon có thể được thế bằng nhóm R¹² và R¹³, các nhóm này được chọn độc lập từ nhóm bao gồm H, D, -Me, -phenyl, -F và -OH, hoặc nhóm R¹² và R¹³ cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành gốc vòng no;

khi n bằng 1, R⁶ không có mặt;

R⁴ và R⁵ độc lập là H hoặc F;

R¹ không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm -H, -NH₂, C1-C4 alkyl,

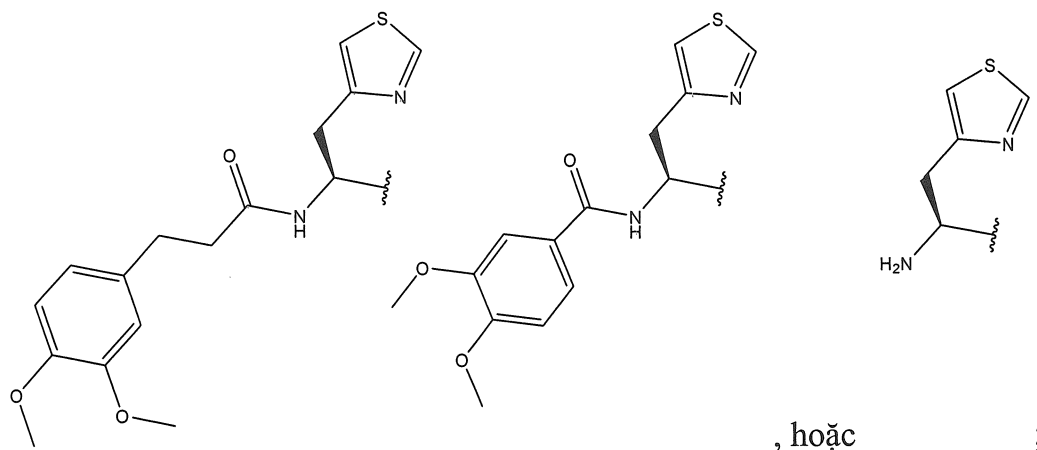
phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, arylalkyl, xycloalkyl, metylfuran, xyclobutylmetyl, tetrahydrofuran-2-yl-metyl, 3- (diethylamino)propyl, 2-metoxymetyl, vinyl, 2-(metylsulfanyl)etyl, 1-xyclopropyletyl, pyridin-2-yl, (pyridin-3-yl)metyl, 2-(pyridin-2-yl)etyl, 2- (thiophen-2-yl)etyl, 3,4-dimetoxymetyl, 4-metoxymetyl, metylphenyl, 2-clo-5- (morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 4-[(diflometyl)sulfanyl]phenyl, 4-(morpholin-4-sulfonyl)phenyl, 5-(dimetylsulfamoyl)-2-metylphenyl, 3- (triflometyl)phenyl, 4-(triflometyl)phenyl, 2-(morpholin-4-yl)etyl, 3-(morpholin-4-yl)propyl, 1-naphtyl, 2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-6-yl, benzhydryl, 5-indanyl, thiophen và metylthiophen;

R^2 không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm H, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, benzyl, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxyclopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxyclopropyl)metyl, 4-hydroxymetyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxymetyl, 2-metyl-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, và 2-benzyloxyphenyl;

R^3 không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm H, alkoxyaryl, phenyl, phenyl được thế bằng CF_3 , benzyl, pyridyl, alkyl, xycloalkyl, xycloalkyl-metyl, heteroaryl, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều halogen, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm alkoxy, phenyl được thế bằng một hoặc nhiều nhóm nitro, alkyl được thế bằng benzyl, (2,2-difloxyclopentyl)metyl, 2-bromo-3-flophenyl, (2,2-dimetylxyclopropyl)metyl, 4-hydroxymetyl, 2-(benzyloxy)etyl, 2-bromo-4-metoxymetyl, metyl-2-quinolin, 3-metylpyridin-4-yl, 4-metansulfonyl-2-metylphenyl, 2-clo-4,6-dinitrophenyl, 1,3-benzodioxol-5-ylmetyl, và 2-benzyloxyphenyl;

R^6 là gốc có một hoặc nhiều vòng được thế hoặc không được thế, tùy ý không no một phần hoặc hoàn toàn, chứa các nguyên tử cacbon và tùy ý một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm N, S và O;

hoặc R^6 là nhóm có công thức:



với điều kiện là trong hợp chất có công thức (I), khi nhân dị vòng có năm cạnh là 1,3,4-oxadiazol, R^6 không là naphtyl.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

A là N, O hoặc S;

B là C hoặc N;

C là N hoặc O;

X là CH_2 hoặc S;

n bằng 0 hoặc 1;

khi n bằng 1, nguyên tử cacbon có thể được thế bằng nhóm R^{12} và R^{13} , các nhóm này được chọn độc lập từ nhóm bao gồm H, -Me, -phenyl, -F và -OH, hoặc các nhóm R^{12} và R^{13} cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành gốc vòng no;

khi n bằng 1, R^6 không có mặt;

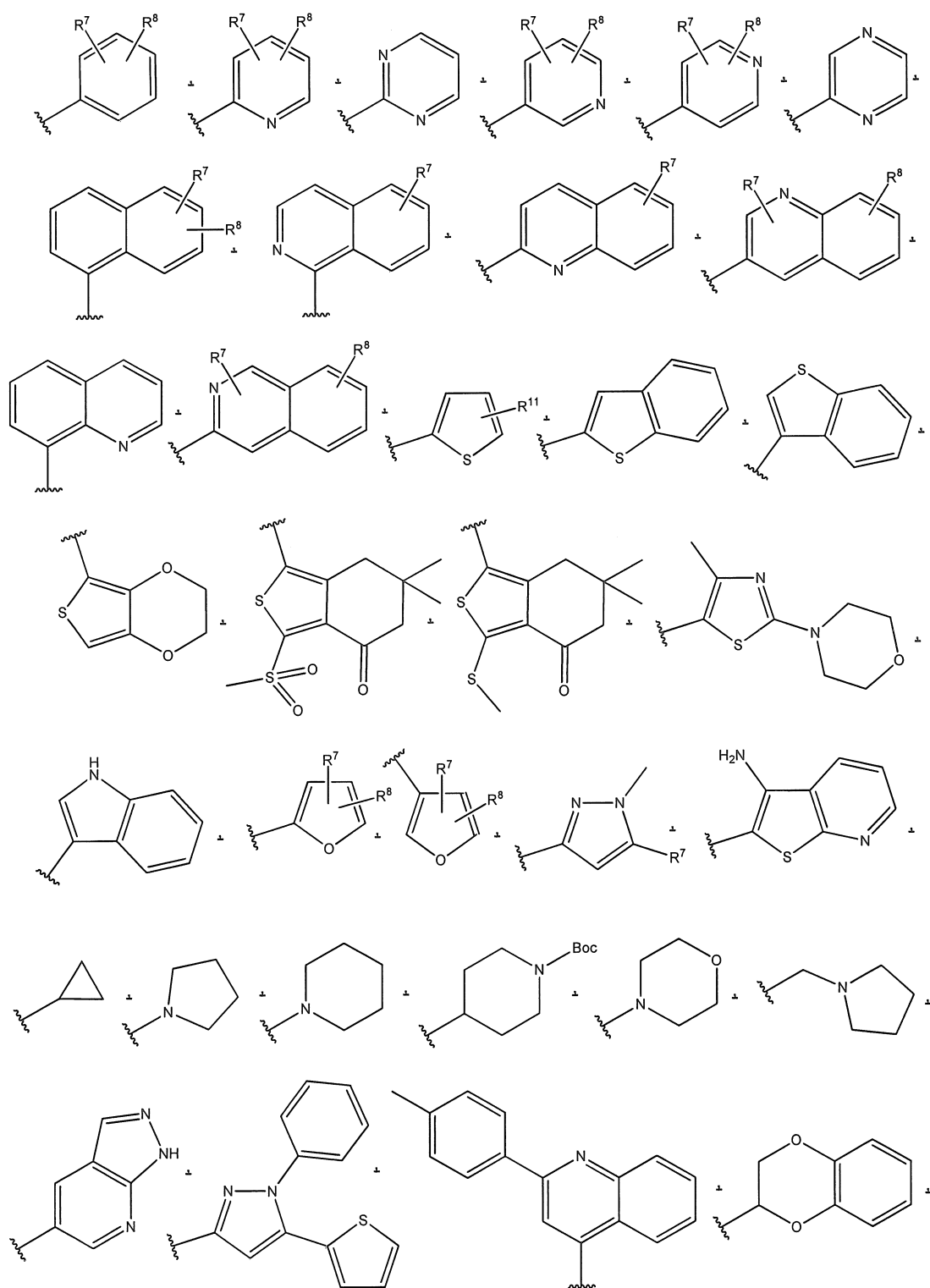
R^4 và R^5 độc lập là H hoặc F;

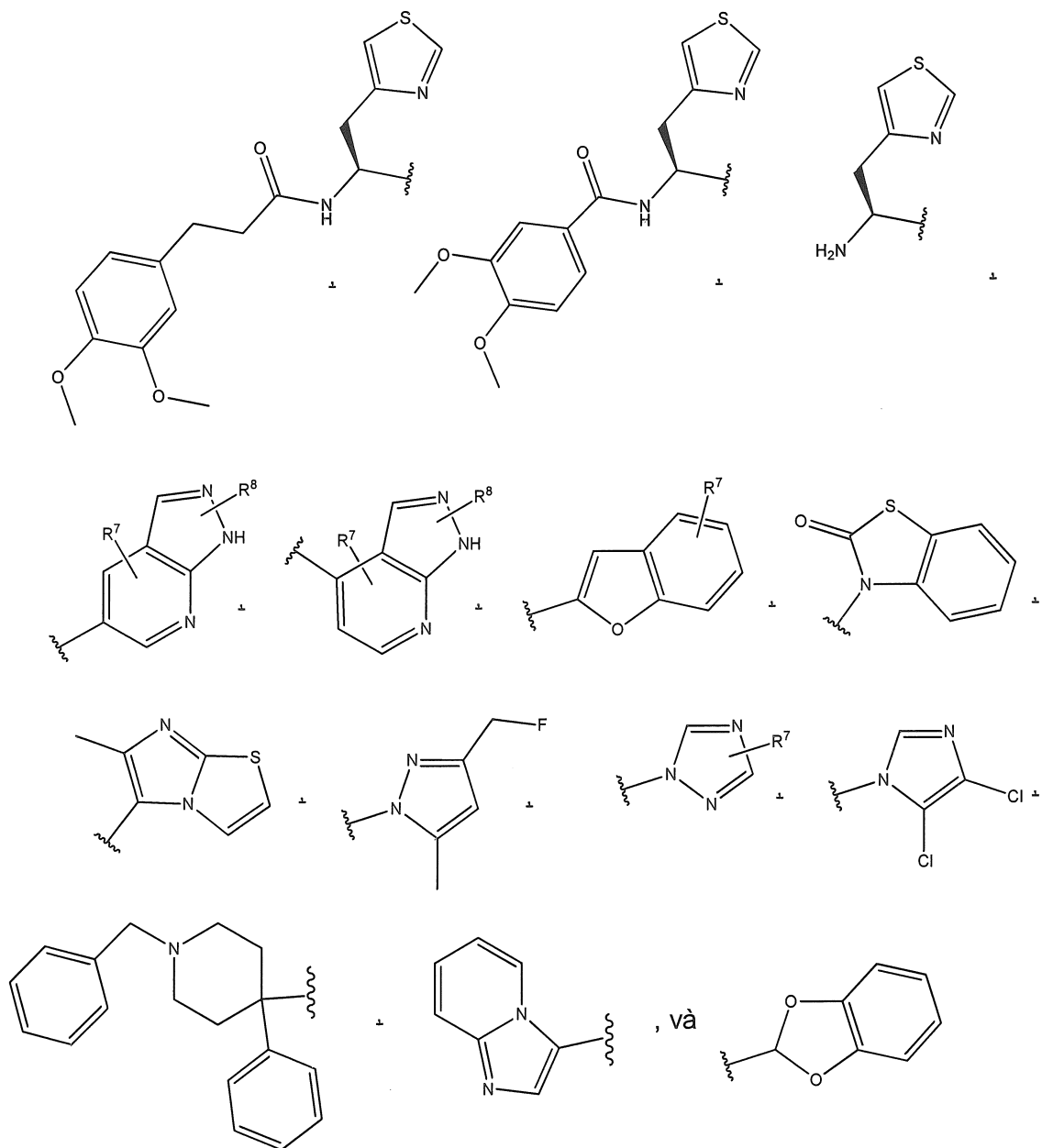
R^1 không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm -H, - NH_2 , - CH_3 , - CH_2CH_3 , phenyl, p-flophenyl, m-clophenyl, p-clophenyl, benzyl, metylfuran, xyclopropyl, isobutyl, metylphenyl, triflophenyl, thiophen và 2-(morpholin-4-yl) etyl;

R^2 không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm H, phenyl, và p-diclophenyl;

R^3 không có mặt hoặc được chọn từ nhóm bao gồm H, o-metoxypheyl, p-triflometylphenyl, benzyl, và pyridyl;

R^6 được chọn từ nhóm bao gồm các nhóm có công thức:





trong đó:

R^7 và R^8 được chọn độc lập từ nhóm bao gồm H, D, -Cl, -F, -Br, -CF₃, -Me, -Et, -OMe, -OMe, -OBenzyl, -SF₅, -OCH₂F, -CH₂NH₂, -CH₂NMe₂, -NH₂, -NMe₂, -N(CH₂CH₂OCH₃)₂, -COOH, -COOMe, -OH, -NHNH₂, -NO₂, -OEt, -OCHF₂, -OiPr, -CHF₂, -NEt₂,

R⁹ và R¹⁰ độc lập là -H, -Me, hoặc -Et;

R^{11} được chọn từ nhóm bao gồm -H, -Cl, -CH₃, -NO₂ và -Br.

- 153-

- chất 6);
- diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyrimidin-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 7);
- N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)benzamid (hợp chất 8);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(4-metyl-2-morpholinothiazol-5-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 9);
- N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 10);
- 4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 12);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)benzamid (hợp chất 13);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(pyridin-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 14);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)benzamid (hợp chất 15);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(4-(piperidin-1-yl)metyl)phenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 16);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 17);
- 3,5-diflo-4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)metyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 19);
- N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)metyl)benzamid (hợp chất 20);
- 3-(3,4-dimethoxyphenyl)-N-[(1S)-1-[3-[[4-(hydroxycarbonyl)phenyl]metyl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-2-thiazol-4-yl-etyl]propanamid (hợp chất 21);
- axit 4-[[5-[4-(triflormetyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 23);
- axit 4-[(4,5-diphenyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 24);
- axit 4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(1H-indol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 25);
- axit 4-[5-[(3,4-dimethoxyphenyl)metyl]-1,3,4-oxadiazol-2-yl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 26);

- axit 4-[[5-benzyl-4-(4-flophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 27);
- axit 4-[[4-amino-5-[4-(diflometoxy)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 28);
- axit 4-[[5-(4-flophenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 29);
- axit 4-[[4-etyl-5-(4-flophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 30);
- axit 4-[[5-(4-clophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 31);
- axit 4-[[5-(5-clo-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 32);
- axit 4-[[5-(2-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 33);
- axit 4-[[5-(4-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 34);
- axit 4-[[5-(4-metoxyphephenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 35);
- axit 4-[(5-benzyltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 36);
- axit 4-[(5-benzyltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 37);
- axit 4-[[5-(2,4-diclophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 38);
- axit 4-[[5-(3-metyl-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 39);
- axit 4-[[5-(5-metyl-2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 41);
- axit 4-[[5-(benzothiophen-3-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 42);
- axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 43);
- axit 4-[[5-[(3,4-dimetoxyphephenyl)metyl]-2-[4-(triflometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 44);
- axit 4-[[5-[(3,4-dimetoxyphephenyl)metyl]-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 45);

axit 4-[[5-(2-flophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 46);
 axit 4-[[5-[(1S)-1-amino-2-thiazol-4-yl-etyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 48);
 axit 4-[[5-(3,4-dimetoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 49);
 axit 4-[[5-(2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 50);
 axit 4-[[2-benzyl-5-(4-clophenyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 51);
 axit 4-[[2-(2-pyridyl)-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 52);
 axit 4-[[2-(2-metoxyphenyl)-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 53);
 axit 4-[[5-(6,6-dimetyl-3-metylsulfanyl-4-oxo-5,7-dihydro-2-benzothiophen-1-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 54);
 axit 4-[[5-(benzothiophen-2-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 55);
 axit 4-[[5-(3,4-dimetoxyphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 57);
 axit 4-[[5-(2,4-diflophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 58);
 axit 4-[[5-[3-(dimetylsulfamoyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 59);
 axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)amino]benzencarbohydroxamic (hợp chất 60);
 axit 4-[[4-amino-5-[3-(dietylsulfamoyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 61);
 axit 4-[[5-(3-pyrolidin-1-ylsulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]amino]benzencarbohydroxamic (hợp chất 63);
 axit 4-[[5-(3-morpholinosulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 64);
 axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-thienyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 65);

- axit 4-[[5-[3-(dietylsulfamoyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 66);
- axit 4-[[4-metyl-5-[2-(p-tolyl)-4-quinolyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 67);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 68);
- axit 4-[[5-(4-pyrolidin-1-ylsulfonylphenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 69);
- axit 4-[[5-(3-benzyloxy-4-metoxi-phenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 70);
- axit 4-[[5-(3-benzyloxy-4-metoxi-phenyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 71);
- axit 4-[(5-xyclopropyl-1-phenyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 72);
- axit 4-[[5-[4-(dimetylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 73);
- axit 4-[[5-(6,6-dimetyl-3-metylsulfonyl-4-oxo-5,7-dihydro-2-benzothiophen-1-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 74);
- axit 4-[[5-(4-metyl-2-morpholino-thiazol-5-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 75);
- axit 4-[[5-[5-(dietylsulfamoyl)-2-flo-phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 76);
- axit 4-[[5-[3-(dimetylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 77);
- axit 4-[[5-(3-metoxi-phenyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 78);
- axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 79);
- axit 4-[[5-[3-(dimetylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 80);
- tert-butyl 4-[5-[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]sulfanyl-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]piperidin-1-carboxylat (hợp chất 82);

- axit 4-[[5-(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 83);
- axit 4-[[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 84);
- axit 4-[[5-(1,5-dimethylpyrazol-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 85);
- axit 4-[[5-(2-furyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 86);
- axit 4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 87);
- axit 4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 88);
- axit 4-[[5-(2-pyridyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 89);
- axit 4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 90);
- axit 4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 91);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 92);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 93);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 94);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 95);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 96);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-thienyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 97);
- axit 4-[(5-benzhydryl-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 98);
- axit 4-[[5-(3-aminothieno[2,3-b]pyridin-2-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 99);
- axit 4-[[5-(1,5-dimethylpyrazol-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 100);

- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(1-phenylxyclobutyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 101);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(3-flophenyl)xyclopentyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 102);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(4-metoxyphephenyl)xyclohexyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 103);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[1-(4-metoxyphephenyl)xyclopropyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (comp 104);
- axit 4-[[5-[3-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 106);
- axit 4-[[5-[3-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 107);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[3-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 108);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[3-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 109);
- axit 4-[[5-[4-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 110);
- axit 4-[[5-[4-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 111);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 112);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-(pentaflolambda6-sulfanyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 113);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl-4-oxido-piperazin-4-ium-1-yl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 114);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(4-flophenyl)-5-(1-piperidylmetyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 115);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-pyrolidin-1-yl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 116);
- axit 4-[(4-benzyl-5-morpholino-1,2,4-triazol-3-yl)sulfanyl]-3,5-diflo-

- benzencarbohydroxamic (hợp chất 117);
- axit 4-[[5- (2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5- yl)-4-metyl-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo- benzencarbohydroxamic (hợp chất 118);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5-(1-isoquinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 121);
- axit 3,5-diflo- 4-[[4-metyl-5-(2-quinolyl)-1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 122);
- axit 4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 123);
- axit 4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 124);
- axit 3,5-diflo-4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-1- yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 125);
- axit 4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 126);
- axit 4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 127);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 128);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 129);
- axit 4-[[5-[3-morpholino-5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 130);
- axit 4-[[5-[3-morpholino-5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 131);
- axit 4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 132);
- axit 4-[[5- (2-pyridylmetyl)tetrazol- 1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 133);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 134);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic;

- axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 135);
- axit 3,5-diflo- 4-[[4- metyl-5- [1-phenyl- 5-(2- thienyl)pyrazol-3- yl]-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 136);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- (6-flo- 2-metyl- 3-quinolyl)- 4-metyl- 1,2,4-triazol- 3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 137);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- (4-flophenyl)- 4-(2- morpholinoetyl)-1,2,4- triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 138);
- axit 3,5-diflo- 4-[[4-(2-furylmetyl)- 5-pyrazin- 2-yl- 1,2,4-triazol- 3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 139);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)- 5-(2-pyridyl)-1,2,4- triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 140);
- axit 4-[[4- benzyl-5- (pyrolidin-1- ylmetyl)-1,2,4- triazol-3- yl]sulfanyl]-3,5- diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 141);
- axit 4-[[4- benzyl-5- (2-furyl)- 1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]- 3,5-diflo- benzencarbohydroxamic (hợp chất 142);
- axit 4-[[4- benzyl-5- (2-thienyl)- 1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]- 3,5-diflo- benzencarbohydroxamic (hợp chất 143);
- axit 3,5-diflo- 4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(2- thienyl)-1,2,4-triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 144);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- (2-flophenyl)- 4-(2- furylmetyl)-1,2,4- triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 145);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(4-pyridyl)-1,2,4-triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 146);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 147);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(3-isoquinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3- yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 148);
- axit 3,5-diflo- 4-[(5- imidazo[1,2-a]pyridin- 3-yl- 4-metyl- 1,2,4-triazol- 3- yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 149);
- axit 4-[[5-(1-benzyl- 4-phenyl- 4-piperidyl)-4-metyl- 1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]- 3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 150);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl-piperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-1,2,4-

- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 151);
- axit 4-[[5-[3-(4-benzylpiperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 152);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 153);
- metyl 4-[[2-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoat (hợp chất 154);
- metyl 4-[[1-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoat (hợp chất 155);
- metyl 6-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylat (hợp chất 156);
- metyl 6-[1-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylat (hợp chất 157);
- axit 4-[[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 158);
- axit 4-[[1-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 159);
- axit 4-[[2-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 160);
- axit 4-[[1-[[2,6-diflo-4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]metyl]benzoic (hợp chất 161);
- axit 6-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]pyridin-3-carboxylic (hợp chất 162);
- axit 3-[2-[[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]metyl]tetrazol-5-yl]benzoic (hợp chất 163);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(8-quinolylmetyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 164);
- axit 4-[[5-(2,6-diflophenyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 165);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl-piperazin-1-yl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 166);
- axit 4-[[5-[3-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-

- diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 167);
 axit 4-[[5-[4-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 168);
 axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 169);
 axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 170);
 axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 171);
 axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-1-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 172);
 axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 173);
 axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 174);
 axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 175);
 axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-1-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 176);
 axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(2-pyridyl)xyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 177);
 axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(3-pyridyl)xyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 178);
 axit 3,5-diflo-4-[(4-metyl-5-pyridazin-3-yl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 179);
 axit 3,5-diflo-4-[[5-(3-flo-2-pyridyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 180);
 axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(1-piperidylmetyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 181);
 axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(morpholinometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 182);
 4-((3-((1H-indol-3-yl)metyl)-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl)metyl)-N-

- hydroxybenzamid (hợp chất 183);
- axit 4-[[5-[3-[[benzyl(metyl)amino]metyl]phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 184);
- axit 4-[[3-[(3,4-dimetoxyphenyl)metyl]-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-4-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 185);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-metyl-1-(3-pyridyl)etyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 186);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[4-[metyl(metylsulfonyl)amino]phenyl]-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 187);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 188);
- axit 4-[(5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 189);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 190);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio)benzamid (hợp chất 191);
- axit 3,5-diflo-4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 192);
- axit 4-[[5-(2-morpholino-4-pyridyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 193);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 194);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 195);
- axit 4-[[5-(5-bromo-3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 196);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(5-morpholino-3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 197);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 198);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-

- yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 199);
- axit 4-[[5-[5-[bis(2-metoxymetyl)amino]-3-pyridyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 200);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(2-oxa-6-azaspiro[3.3]heptan-6-yl)-3-pyridyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 201);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 202);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(morpholinometyl)-3-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 203);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(morpholinometyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 204);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl]metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 205);
- axit 4-[[5-[5-[(dimethylamino)metyl]-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 206);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 207);
- axit 4-[[5-[5-etyl-4-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 208);
- axit 4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl]metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 209);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[6-(2-pyrolidin-1-yletyl)-3-pyridyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 210);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 211);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(1-piperidylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 212);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-metyl-3-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 213);
- axit 4-[(5-phenyltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 214);
- axit 4-[(5-phenyltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 215);
- axit 4-[(5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất

216); và

N-hydroxy-4-((4-metyl-5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)metyl)benzamid (hợp chất 217).

4. Hỗn hợp chứa hợp chất theo điểm 1 và được chất được chọn từ nhóm bao gồm các chất ức chế proteasom, chất ức chế phân tử kiểm soát miễn dịch, steroid, chất ức chế miền bromodomain, được chất biểu sinh, liệu pháp hóa học truyền thống, và chất ức chế kinaza
5. Dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của ít nhất một hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng, chất đồng phân hoặc tiền được chất của nó, cùng với ít nhất một tá được dụng.
6. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này ở dạng thích hợp để sử dụng qua đường ruột, ngoài đường tiêu hóa, đường miệng, đường khu trú, hoặc đường xông hít.
7. Dược phẩm theo điểm 5, trong đó dược phẩm này ở dạng lỏng hoặc dạng rắn.
8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó nhóm R^{12} và R^{13} cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành gốc vòng no được chọn từ nhóm bao gồm xyclopropan, xyclobutan, xyclopentan, và xyclohexan.
9. Hợp chất theo điểm 2, trong đó nhóm R^{12} và R^{13} cùng với nguyên tử cacbon mà chúng gắn vào tạo thành gốc vòng no được chọn từ nhóm bao gồm xyclopropan, xyclobutan, xyclopentan, và xyclohexan.
10. Hợp chất theo điểm 3, trong đó hợp chất này được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất sau:
 (S)-N-(1-(3-(4-(hydroxycarbamoyl)benzyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl)-2-(thiazol-4-yl)etyl)-3,4-dimetoxybenzamid (hợp chất 1);
 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((4-metyl-5-(naphtalen-1-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-

- yl)thio)benzamid (hợp chất 2);
- 4-((5-(3-(N,N-dimethylsulfamoyl)phenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 3);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(2-phenylpropan-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 4);
- 4-((5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)-3,5-difluoro-N-hydroxybenzamid (hợp chất 5);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)benzamid (hợp chất 6);
- difluoro-N-hydroxy-4-((5-(pyrimidin-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)benzamid (hợp chất 7);
- N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 8);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(4-methyl-2-morpholinotiazol-5-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 9);
- N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 10);
- 4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 12);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 13);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(pyridin-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 14);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((5-(thiophen-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 15);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(4-(piperidin-1-yl)methyl)phenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 16);
- 3,5-difluoro-N-hydroxy-4-((4-methyl-5-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)benzamid (hợp chất 17);
- 3,5-difluoro-4-((5-(furan-2-yl)-2H-tetrazol-2-yl)methyl)-N-hydroxybenzamid (hợp chất 19);
- N-hydroxy-4-((5-(pyridin-2-yl)-1H-tetrazol-1-yl)methyl)benzamid (hợp chất 20);
- axit 4-[(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)methyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 68);

- axit 4-[[5-(6,6-dimetyl-3-metylsulfonyl-4-oxo-5,7-dihydro-2-benzothiophen-1-yl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 74);
- axit 4-[[5-(4-metyl-2-morpholino-thiazol-5-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 75);
- axit 4-[[5-[5-(dimetylsulfamoyl)-2-flo-phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 76);
- axit 4-[[5-[3-(dimetylamino)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 77);
- axit 4-[[5-(3-metoxypheyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 78);
- axit 4-[[5-(2,3-dihydrothieno[3,4-b][1,4]dioxin-5-yl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 79);
- tert-butyl 4-[5-[4-(hydroxycarbamoyl)phenyl]sulfanyl-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]piperidin-1-carboxylat (hợp chất 82);
- axit 4-[[5-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 84);
- axit 4-[[5-(1,5-dimetylpyrazol-3-yl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 85);
- axit 4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 87);
- axit 4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 91);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 92);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 93);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(1-isoquinolyl)tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 94);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-quinolyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 95);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5-(1-isoquinolyl)-4-metyl-1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 121);

- axit 3,5-diflo- 4-[[4-metyl-5-(2-quinolyl)-1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 122);
- axit 4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 123);
- axit 3,5-diflo-4-[(5-pyrimidin-2-yltetrazol-1- yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 125);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(triflometyl)-2-pyridyl]tetrazol-1-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 129);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-pyridylmetyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic; axit 2,2,2-trifloaxetic (hợp chất 134);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5-(4-flophenyl)- 4-(2- morpholinoetyl)-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 138);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)- 5-(2-pyridyl)-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 140);
- axit 4-[[4- benzyl-5- (pyrolidin-1- ylmetyl)-1,2,4- triazol-3- yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 141);
- axit 3,5-diflo- 4-[[5- (2-flophenyl)- 4-(2- furylmetyl)-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 145);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(4-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 146);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-(2-furylmetyl)-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 147);
- axit 3,5-diflo- 4-[(5- imidazo[1,2-a]pyridin- 3-yl- 4-metyl- 1,2,4-triazol- 3-yl)sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 149);
- axit 4-[[5-(1-benzyl- 4-phenyl- 4-piperidyl)-4-metyl- 1,2,4-triazol- 3-yl]sulfanyl]- 3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 150);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl piperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 151);
- axit 4-[[5-[3-(4-benzyl piperazin-1-yl)sulfonylphenyl]-4-metyl-1,2,4- triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 152);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-(3-pyridyl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 153);

- axit 4-[[5-(2,6-diflophenyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 165);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(4-metyl piperazin-1-yl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 166);
- axit 4-[[5-[3-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 167);
- axit 4-[[5-[4-(azepan-1-ylmetyl)phenyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 168);
- axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 169);
- axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 171);
- axit 4-[[5-(4-aminophenyl)tetrazol-1-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 172);
- axit 4-[[5-[4-(aminometyl)phenyl]tetrazol-2-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 175);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(2-pyridyl)xcyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 177);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-(3-pyridyl)xcyclopropyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 178);
- axit 3,5-diflo-4-[(4-metyl-5-pyridazin-3-yl)-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 179);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(3-flo-2-pyridyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 180);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(1-piperidylmetyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 181);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[3-(morpholinometyl)phenyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 182);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[1-metyl-1-(3-pyridyl)etyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 186);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-(pyridin-3-yl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio)benzamid (hợp chất 191);

- axit 3,5-diflo-4-[[5-(4-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 195);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(5-morpholino-3-pyridyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 197);
- 3,5-diflo-N-hydroxy-4-((5-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)metyl)benzamid (hợp chất 198);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-(2-furyl)-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 199);
- axit 4-[[5-[5-[bis(2-metoxymetyl)amino]-3-pyridyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 200);
- axit 3,5-diflo-4-[[5-[5-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl]metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 202);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(morpholinometyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 204);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl]metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 205);
- axit 4-[[5-[5-[(dimethylamino)metyl]-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 206);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 207);
- axit 4-[[5-[5-etyl-4-(pyrolidin-1-ylmetyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 208);
- axit 4-[[4-metyl-5-[5-[(4-metyl)piperazin-1-yl]metyl]-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 209);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[6-(2-pyrolidin-1-yletyl)-3-pyridyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 210);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 211);
- axit 3,5-diflo-4-[[4-metyl-5-[5-(1-piperidylmetyl)-2-furyl]-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 212);
- axit 4-[[5-[5-(diethylaminometyl)-2-metyl-3-furyl]-4-metyl-1,2,4-triazol-3-yl]sulfanyl]-3,5-diflo-benzencarbohydroxamic (hợp chất 213);

axit 4-[(5-phenyltetrazol-2-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 214); và
axit 4-[(5-phenyltetrazol-1-yl)metyl]benzencarbohydroxamic (hợp chất 215).

11. Hỗn hợp theo điểm 4, trong đó dược chất là chất ức chế họ JAK, chất ức chế CTLA4, chất ức chế PD1 hoặc chất ức chế phân tử kiểm soát miễn dịch PDL1.
12. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó dược phẩm này ở dạng viên nang, viên nén, viên nén được bao, hạt, kem hoặc thuốc mỡ.

1/5

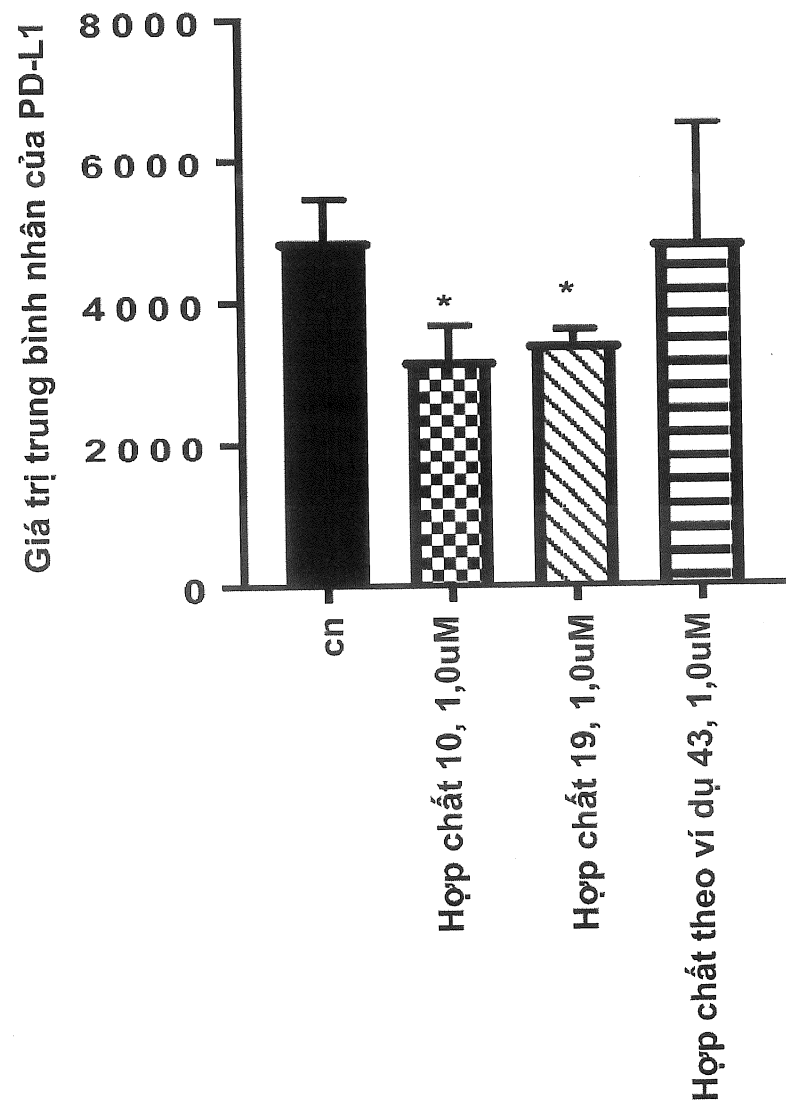
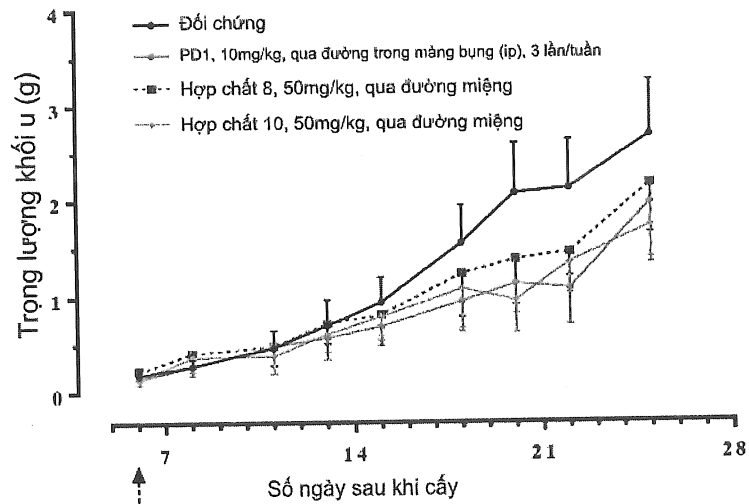
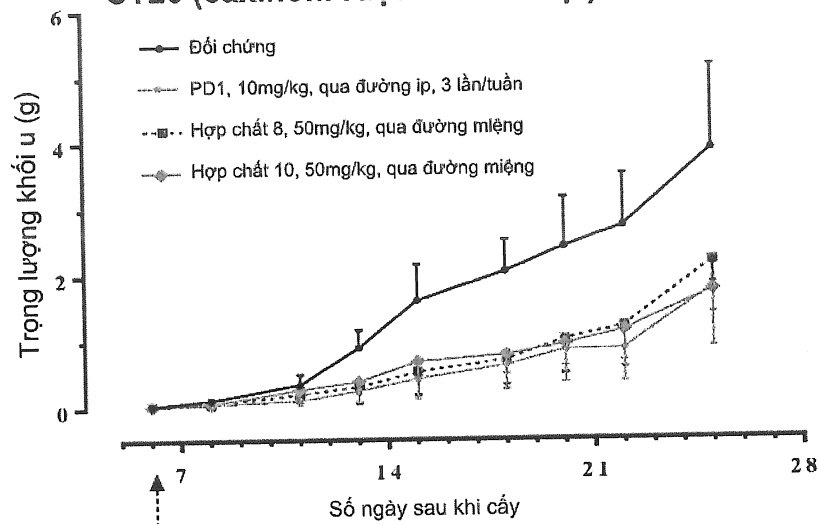
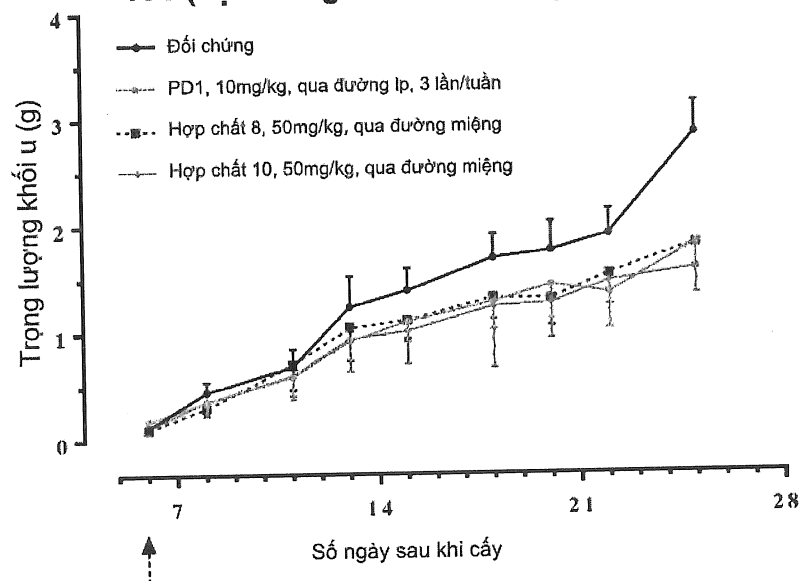


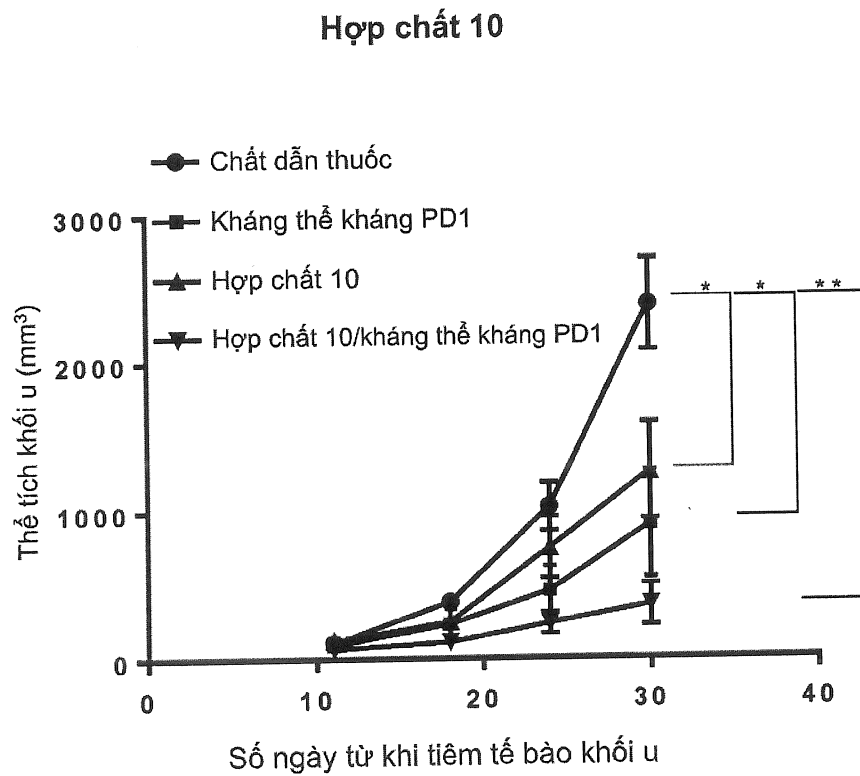
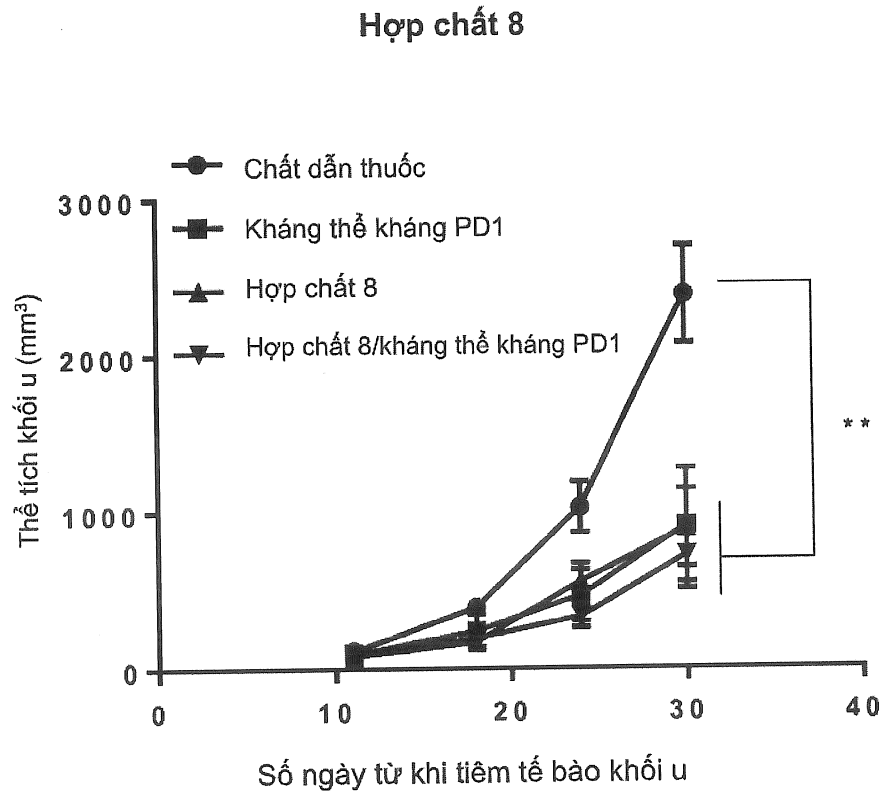
Fig.1

2 / 5

EMT (bệnh ung thư vú ở chuột)**CT26 (caxinom ruột kết ở chuột)****4T1 (bệnh ung thư vú ở chuột)**

3 / 5

Fig.3



4/ 5

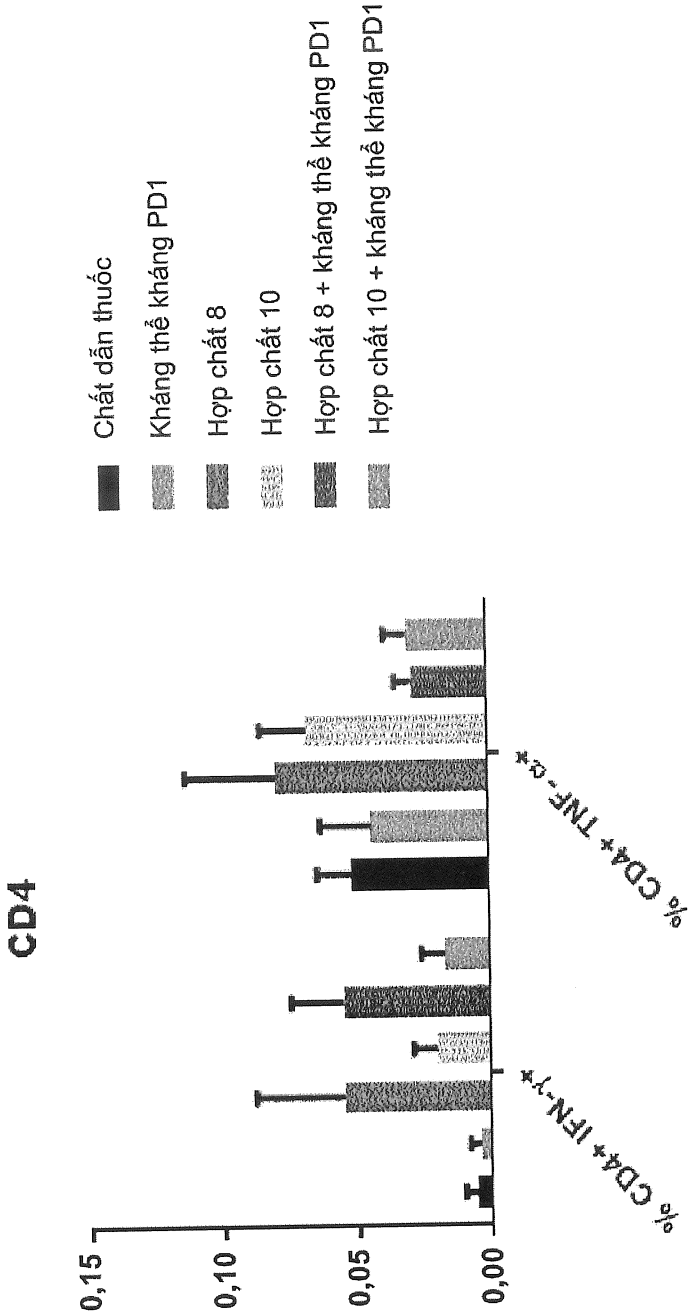


Fig.4

5/5

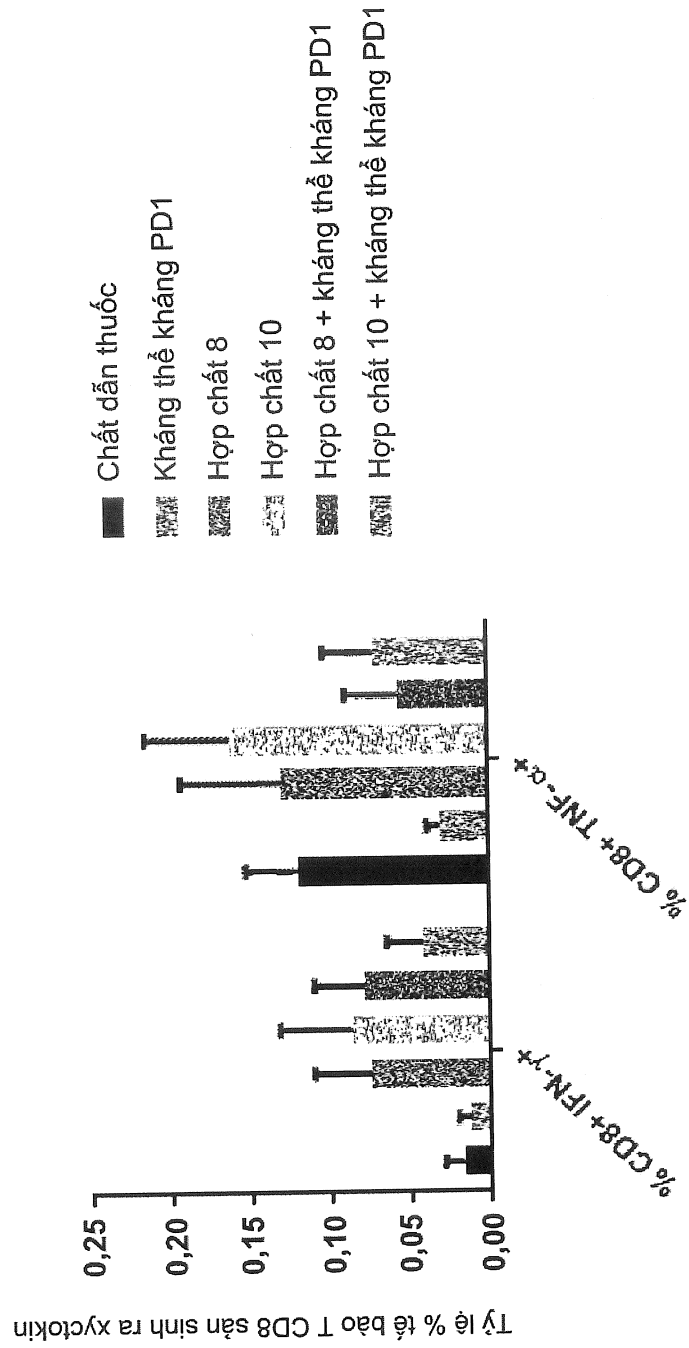


Fig.5