



(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)



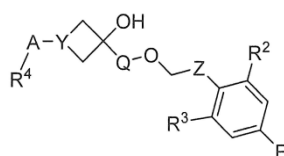
1-0041809

(51)⁷ C07D 401/14; A61K 31/4439; A61P 1/16; A61P 29/00; C07D 413/14; A61P 3/10; A61P 35/00; C07D 413/12; A61K 31/422; A61P 3/04 (13) B

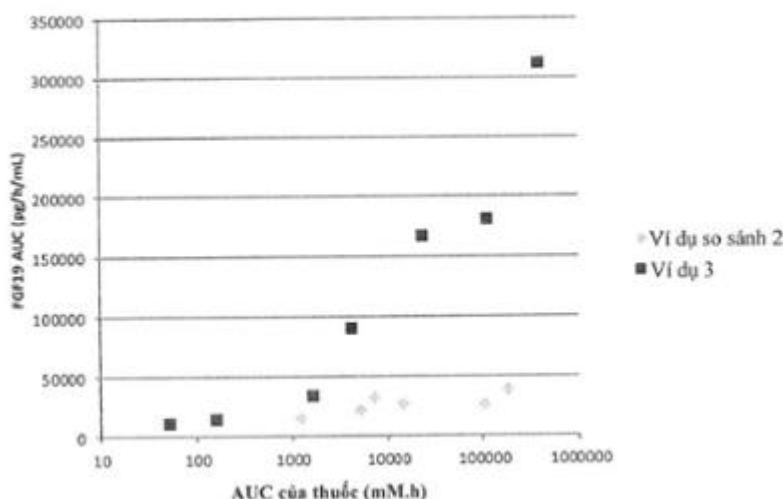
- (21) 1-2018-05687 (22) 09/06/2017
(86) PCT/US2017/036727 09/06/2017 (87) WO 2017/218330 21/12/2017
(30) 62/349,490 13/06/2016 US
(45) 25/11/2024 440 (43) 27/05/2019 374A
(73) GILEAD SCIENCES, INC. (US)
333 Lakeside Drive, Foster City, California 94404, United States of America
(72) BLOMGREN, Peter A. (US); CURRIE, Kevin S. (US); GEGE, Christian (DE);
KROPF, Jeffrey E. (US); XU, Jianjun (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ĐIỀU BIẾN THỤ THỂ FARNESOID (FXR) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) liên kết với thụ thể NR1H4 (FXR) và đóng vai trò chất chủ vận của FXR. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này và quy trình tổng hợp hợp chất này.



(I)



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất liên kết với thụ thể NR1H4 (FXR) và đóng vai trò các chất chủ vận hoặc các chất điều biến FXR. Sáng chế cũng đề cập đến việc sử dụng các hợp chất này để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh và/hoặc các tình trạng bệnh lý qua việc liên kết với thụ thể nhân nói trên bởi các hợp chất nói trên.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các sinh vật đa bào phụ thuộc vào các cơ chế truyền thông tin tiến bộ giữa các tế bào và các khoang cơ thể. Thông tin được truyền đi có thể rất phức tạp và có thể dẫn đến làm biến đổi các chương trình di truyền liên quan đến quá trình biệt hóa, quá trình tăng sinh hoặc quá trình sinh sản của tế bào. Các tín hiệu, hoặc các hoóc môn, thường là các phân tử có trọng lượng phân tử thấp, như các peptit, axit béo, hoặc các dẫn xuất cholesterol.

Nhiều tín hiệu này tạo ra các tác dụng của chúng bằng cách thay đổi căn bản sự phiên mã các gen đặc hiệu. Một nhóm protein đã biết làm trung gian cho đáp ứng tế bào với nhiều loại tín hiệu là họ yếu tố phiên mã được biết là các thụ thể nhân, sau đây thường gọi là “NR”. Các thành viên của nhóm này bao gồm các thụ thể đối với hoóc môn steroid, vitamin D, ecdyson, axit cis và trans retinoic, hoóc môn tuyến giáp, axit mật, các dẫn xuất cholesterol, axit béo (và các chất tăng sinh peroxisom), cũng như các thụ thể mồ côi, các protein có cấu trúc tương tự với các thành viên khác của nhóm này, song phối tử của chúng là chưa biết. Các thụ thể mồ côi có thể là chỉ báo về các con đường truyền tín hiệu chưa biết trong tế bào hoặc có thể là các thụ thể nhân mà hoạt động không có hoạt hóa phối tử. Sự hoạt hóa phiên mã bởi một số thụ thể mồ côi này có thể xảy ra khi không có phối tử ngoại sinh và/hoặc qua các con đường truyền tín hiệu bắt nguồn từ bề mặt tế bào.

Nói chung, ba miền chức năng đã được xác định trong NR. Miền đầu tận cùng amino được tin là có chức năng điều hòa nhất định. Tiếp theo là miền liên kết với ADN (sau đây gọi là “DBD”), miền này thường bao gồm hai yếu tố ngón tay kẽm (zinc finger

element) và nhận biết yếu tố đáp ứng hoóc môn (Hormone Responsive Element) (sau đây gọi là “HRE”) đặc hiệu bên trong gen khởi đầu thuộc các gen đáp ứng. Các gốc axit amin đặc hiệu trong “DBD” được chứng minh là tạo ra tính đặc hiệu liên kết với trình tự ADN. Miền liên kết với phối tử (sau đây gọi là “LBD”) là ở vùng đầu tận cùng carboxy của các NR đã biết.

Khi không có mặt hoóc môn, LBD dường như ngăn cản sự tương tác của DBD với HRE của nó. Sự liên kết với hoóc môn dường như dẫn đến thay đổi cấu hình trong NR và do đó dẫn đến sự ngăn cản này. NR không có LBD hoạt hóa về mặt cấu trúc sự phiên mã song ở mức thấp.

Các yếu tố đồng hoạt hóa hoặc các yếu tố hoạt hóa phiên mã được đề xuất tạo cầu nối giữa các yếu tố phiên mã đặc hiệu trình tự, và bộ máy phiên mã cơ sở và ngoài tác động đến cấu trúc cromatin của tế bào đích. Một số protein kiểu SRC-1, ACTR, và Grip1 tương tác với NR theo cách được tăng cường bởi phối tử.

Các chất điều biến thụ thể nhân như hoóc môn steroid tác động đến sự sinh trưởng và chức năng của các tế bào cụ thể bằng cách liên kết với các thụ thể nội bào và tạo ra các phức chất thụ thể nhân-phối tử. Tiếp theo, các phức chất thụ thể nhân-hoóc môn tương tác với HRE trong vùng điều khiển của các gen đặc hiệu và biến đổi sự biểu hiện của gen đặc hiệu.

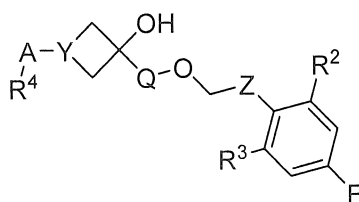
Farnesoid X Receptor alpha (sau đây thường được gọi là NR1H4 khi đề cập đến thụ thể người) là thụ thể nhân nguyên bản typ 2 hoạt hóa các gen sau khi liên kết với vùng gen khởi đầu của các gen đích theo kiểu dime khác loại với thụ thể Retinoid X Receptor. Các phối tử sinh lý liên quan của NR1H4 là axit mật. Loại mạnh nhất là axit chenodeoxycholic (CDCA), chất này điều hòa sự biểu hiện của một số gen tham gia vào cân bằng nội môi axit mật. Farnesol và các dẫn xuất, còn gọi là các farnesoit, ban đầu được mô tả là hoạt hóa thụ thể cùng nguồn của chuột cống ở nồng độ cao song chúng không hoạt hóa thụ thể của người hoặc chuột nhắt. FXR được biểu hiện trong gan, qua toàn bộ đường dạ dày-ruột bao gồm thực quản, dạ dày, tá tràng, ruột non, đại tràng, buồng trứng, tuyến thượng thận và thận. Vượt khỏi sự kiểm soát biểu hiện gen nội bào, FXR cũng liên quan đến sự truyền tín hiệu cận tiết và nội tiết bằng cách tăng điều hòa biểu hiện cytokin Fibroblast Growth Factor 15 (loài gặm nhấm) hoặc 19 (khỉ, người A).

Mặc dù nhiều chất chủ vận FXR là đã biết, vẫn cần có các chất chủ vận FXR được cải thiện.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất liên kết với thụ thể NR1H4 (FXR) và đóng vai trò chất chủ vận hoặc chất điều biến FXR. Sáng chế cũng đề cập đến sử dụng hợp chất để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh và/hoặc các tình trạng bệnh lý qua việc liên kết với thụ thể nhân nói trên bởi các hợp chất nói trên.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

Q là phenylen hoặc pyridylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, -CH₂F, -CHF₂, và -CF₃;

Y là N hoặc CH;

A là pyridylen hoặc phenylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkyl, và halo-C₁₋₄-alkyl;

Z là isoxazol được thế bằng R¹ hoặc pyrazol được thế bằng R¹;

R¹ là C₁₋₄-alkyl hoặc C₃₋₆-xycloalkyl, trong đó

C₁₋₄-alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy, và

C₃₋₆-xycloalkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkyl, flo-C₁₋₃-alkyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy;

R² và R³ độc lập được chọn từ hydro, halogen, metoxy, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃, và metyl;

R^4 là $-\text{CO}_2R^5$ hoặc $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5R^6$;

R^5 là hydro, C_{1-6} -alkyl, hoặc halo- C_{1-6} -alkyl; và

R^6 là hydro hoặc C_{1-6} -alkyl, trong đó C_{1-6} -alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 6 phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, $-\text{SO}_3\text{H}$, và $-\text{CO}_2\text{H}$;

hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

Một số phương án đề xuất được phẩm bao gồm hợp chất có công thức (I) và tá được dụng.

Cũng được mô tả là phương pháp điều trị bệnh nhân có tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR bao gồm dùng hợp chất có công thức (I) cho bệnh nhân có nhu cầu này.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1: Tiếp xúc huyết tương của Ví dụ 3 và Ví dụ so sánh 2 so với các mức FGF19 huyết tương ở khỉ đuôi dài (cynomolgus).

FIG. 2: Các mức FGF19 được tạo ra ở khỉ đuôi dài với gia tăng các liều dùng qua đường miệng của Ví dụ 3 và Ví dụ so sánh 2.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các định nghĩa

Phần mô tả sau đây đề cập đến các phương án được lấy làm ví dụ của sáng chế. Tuy nhiên, cần hiểu rằng phần mô tả này không dự tính giới hạn phạm vi của sáng chế mà thay vào đó là mô tả về các phương án được lấy làm ví dụ.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các từ, cụm từ và ký hiệu sau nói chung được dự tính có nghĩa như nêu ở dưới, trừ khi có quy định khác.

Sáng chế được mô tả trong bản mô tả này có thể được thực hiện một cách thích hợp mà không có yếu tố hoặc các yếu tố, giới hạn hoặc các giới hạn bất kỳ, không được bộc lộ cụ thể trong bản mô tả này. Do đó, ví dụ, thuật ngữ “gồm”, “bao gồm,” “chứa”, v.v. sẽ được hiểu theo nghĩa rộng và không giới hạn. Ngoài ra, các thuật ngữ và cách diễn đạt được sử dụng trong bản mô tả này được sử dụng nhằm mô tả và không giới hạn, và không dự tính sử dụng các thuật ngữ và cách diễn đạt này để loại trừ các dấu hiệu tương đương bất kỳ được thể hiện và được mô tả hoặc các phần của chúng, mà

nhận thấy rằng các cải biến là có thể có nằm trong phạm vi của sáng chế được yêu cầu bảo hộ.

Dấu gạch ngang (“-”) không nằm giữa hai chữ cái hoặc ký hiệu được dùng để chỉ điểm gắn đôi với phần tử thế. Ví dụ, $-C(O)NH_2$ được gắn qua nguyên tử cacbon. Dấu gạch ngang ở đầu hoặc cuối nhóm hóa học là tùy theo có thích hợp hay không; các nhóm hóa học có thể được mô tả có hoặc không có một hoặc nhiều dấu gạch ngang mà không làm mất đi nghĩa bình thường của chúng. Đường lượn sóng được vẽ qua đường trong cấu trúc chỉ ra điểm gắn của nhóm. Trừ khi có yêu cầu về mặt hóa học hoặc cấu trúc, không có định hướng nào được chỉ ra hoặc ngụ ý bởi thứ tự trong đó nhóm hóa học được viết hoặc gọi tên.

Đầu ngữ “C_{u-v}” chỉ ra rằng nhóm theo sau có từ u đến v nguyên tử cacbon. Ví dụ, “C₁₋₆ alkyl” chỉ ra rằng nhóm alkyl có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon.

Tham chiếu đến “khoảng” giá trị hoặc thông số trong bản mô tả này bao gồm (và mô tả) các phương án đề cập đến giá trị hoặc thông số. Theo các phương án xác định, thuật ngữ “khoảng” bao gồm lượng được chỉ ra $\pm 10\%$. Theo các phương án khác, thuật ngữ “khoảng” bao gồm lượng được chỉ ra $\pm 5\%$. Theo các phương án khác, thuật ngữ “khoảng” bao gồm lượng được chỉ ra $\pm 1\%$. Tương tự, với thuật ngữ “khoảng X” bao gồm mô tả về “X”. Tương tự, các dạng số ít không xác định bao gồm tham chiếu đến số nhiều trừ khi có quy định khác. Do đó, ví dụ, tham chiếu đến “hợp chất” bao gồm nhiều hợp chất trong số này và tham chiếu đến “thử nghiệm” bao gồm tham chiếu đến một hoặc nhiều thử nghiệm và tương đương của chúng được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ.

Theo sáng chế “alkyl” có nghĩa mạch hydrocacbon no, có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Theo sáng chế, “C₁₋₆-alkyl” có nghĩa mạch alkyl no có 1 đến 6 nguyên tử cacbon có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Các ví dụ về nhóm này bao gồm metyl, etyl, propyl, isopropyl, *n*-butyl, isobutyl, *tert*-butyl, *n*-pentyl, isopentyl, neopentyl và *n*-hexyl.

Thuật ngữ “haloalkyl” có nghĩa là một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong mạch alkyl được thay bằng halogen. Ví dụ không giới hạn về nhóm này là CF₃.

Nhóm “xycloalkyl” có nghĩa là hệ vòng hydrocacbon một vòng, hai vòng hoặc vòng spiro, no hoặc không no một phần.

Nhóm “alkoxy” chỉ -O-alkyl, trong đó alkyl là như được xác định trong bản mô tả này. Các ví dụ về nhóm alkoxy bao gồm metoxy, etoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, tert-butoxy, sec-butoxy, n-pentoxy, n-hexoxy, và 1,2-dimetylbutoxy.

“Halogen” hoặc “halo” chỉ nguyên tử F, Cl, Br, hoặc I.

“Hydroxyl” hoặc “hydroxy” chỉ -OH.

“Haloalkoxy” chỉ nhóm alkoxy như được xác định trong bản mô tả này trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong mạch alkyl được thay bằng halogen.

“Floalkyl” chỉ nhóm alkyl như được xác định trong bản mô tả này trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong mạch alkyl được thay bằng flo.

“Floalkoxy” chỉ nhóm alkoxy như được xác định trong bản mô tả này trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro trong mạch alkyl được thay bằng flo.

Thuật ngữ “tùy chọn” hoặc “tùy ý” có nghĩa sự kiện hoặc tình huống được mô tả kế tiếp có thể xảy ra hoặc không thể xảy ra, và mô tả này bao gồm các trường hợp trong đó sự kiện hoặc tình huống nói trên xảy ra và các trường hợp trong đó nó không xảy ra. Tương tự, thuật ngữ “tùy ý được thế” chỉ một hoặc nhiều nguyên tử hydro bất kỳ trên nguyên tử hoặc nhóm được chỉ định có thể hoặc không thể được thay bằng nhóm không phải hydro.

Hơn thế nữa, hợp chất theo sáng chế có thể có hiện tượng tautome. Trong đó, hiện tượng tautome, ví dụ, hiện tượng tautome keto-enol, của hợp chất theo sáng chế hoặc tiền được chất của nó có thể xảy ra, các dạng riêng rẽ, ví dụ, dạng keto và enol, đều nằm trong phạm vi của sáng chế cũng như các hỗn hợp của chúng theo tỷ lệ bất kỳ. Điều này áp dụng cho các chất đồng phân lập thể, ví dụ, chất đồng phân đối quang, chất đồng phân cis/trans, chất đồng phân cấu hình riêng và chất đồng phân tương tự.

Thuật ngữ “nhóm bảo vệ” chỉ nhóm của hợp chất có tác dụng che khuất hoặc biến đổi các đặc tính của nhóm chức hoặc các đặc tính của hợp chất nói chung. Các nhóm bảo vệ hóa học và các chiến lược bảo vệ/khử bảo vệ được biết rõ trong lĩnh vực này. *Xem, ví dụ*, Protective Groups in Organic Chemistry, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Nhóm bảo vệ thường được sử dụng để che khuất khả năng phản ứng của các nhóm chức xác định, hỗ trợ hữu hiệu các phản ứng hóa học

mong muốn, ví dụ, tạo và phá vỡ các liên kết hóa học một cách có trình tự và có kế hoạch. Thuật ngữ “khử bảo vệ” chỉ việc loại bỏ nhóm bảo vệ.

“Nhóm rời chuyển” bao gồm mảnh phân tử rời đi với một cặp electron từ liên kết cộng hóa trị đối với nguyên tử cacbon phản ứng trong phản ứng hóa học.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rằng khi danh mục các phân tử thế thay thế bao gồm các thành viên mà, do yêu cầu hóa trị của chúng hoặc các lý do khác, không thể được sử dụng để thay thế nhóm cụ thể, danh mục này được dự tính chỉ bao gồm các thành viên của danh mục mà thích hợp để thay thế nhóm cụ thể.

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng “tiền dược chất”. Thuật ngữ “tiền dược chất” được xác định trong lĩnh vực dược là chất dẫn xuất bất hoạt về mặt sinh học của dược chất mà sau khi dùng cho cơ thể người sẽ được chuyển hóa thành dược chất gốc có hoạt tính sinh học theo con đường hóa học hoặc enzym nhất định. Các ví dụ về tiền dược chất bao gồm các axit carboxylic được este hóa.

Trong gan người, UDP-glucuronosyltransferaza tác động lên các hợp chất xác định có các nhóm amino, carbamyl, thio (sulfhydryl) hoặc hydroxyl để tạo liên hợp uridin diphosphat-axit α -D-glucuronic qua các liên kết glycosit, hoặc axit hóa các hợp chất có nhóm carboxy hoặc hydroxyl trong quá trình chuyển hóa giai đoạn II. Các hợp chất theo sáng chế có thể được glucuronidat hóa, nghĩa là, được liên hợp với axit glucuronic, để tạo ra glucuronit, cụ thể là (β -D)glucuronit.

Một bước trong quá trình tạo mật là sự liên hợp của các axit mật riêng rẽ với axit amin, cụ thể là glyxin hoặc taurin. Các hợp chất theo sáng chế có thể được liên hợp với glyxin hoặc taurin ở vị trí có thể thế.

Hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng muối dược dụng. Thuật ngữ “các muối dược dụng” chỉ các muối được điều chế từ các bazơ hoặc axit không độc dược dụng, bao gồm các bazơ hoặc axit vô cơ và các bazơ hoặc axit hữu cơ. Trong trường hợp hợp chất theo sáng chế chứa một hoặc nhiều nhóm axit hoặc bazơ, sáng chế còn bao gồm các muối dược dụng hoặc chấp nhận được về độc tính tương ứng của chúng, cụ thể là các muối có thể dùng làm thuốc của chúng. Do đó, các hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm axit có thể có mặt trên các nhóm này và có thể được sử dụng theo sáng chế, ví dụ, dưới dạng các muối kim loại kiềm, các muối kim loại kiềm thổ hoặc các muối amoni. Các ví dụ chính xác hơn về các muối này bao gồm các muối natri, các muối kali, các

muối canxi, các muối magie hoặc các muối với amoniac hoặc các amin hữu cơ như, ví dụ, etylamin, etanolamin, trietanolamin hoặc axit amin. Hợp chất theo sáng chế chứa một hoặc nhiều nhóm bazơ, tức là các nhóm có thể được proton hóa, có thể có mặt và có thể được sử dụng theo sáng chế ở dạng các muối cộng của chúng với các axit vô cơ hoặc hữu cơ. Các ví dụ về các axit thích hợp bao gồm hydro clorua, hydro bromua, axit phosphoric, axit sulfuric, axit nitric, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit naphtalendisulfonic, axit oxalic, axit axetic, axit tartaric, axit lactic, axit salixylic, axit benzoic, axit formic, axit propionic, axit pivalic, axit diethyl axetic, axit malonic, axit suxinic, axit pimelic, axit fumaric, axit maleic, axit malic, axit sulfaminic, axit phenylpropionic, axit gluconic, axit ascorbic, axit isonicotinic, axit xitric, axit adipic, và các axit khác được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Nếu hợp chất theo sáng chế chứa đồng thời các nhóm axit và bazơ trong phân tử, sáng chế còn bao gồm, ngoài các dạng muối được nêu ở trên, các muối tro hoặc betain (ion lưỡng tính). Các muối tương ứng có thể thu được bằng các phương pháp thông thường được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ, ví dụ, bằng cách cho các muối này tiếp xúc với axit hoặc bazơ vô cơ trong dung môi hoặc chất phân tán, hoặc bằng cách trao đổi anion hoặc trao đổi cation với các muối khác. Sáng chế cũng bao gồm tất cả các muối của các hợp chất theo sáng chế mà, do tính tương thích sinh lý thấp, không trực tiếp thích hợp để sử dụng trong dược phẩm song có thể được sử dụng, ví dụ, làm các chất trung gian cho các phản ứng hóa học hoặc để điều chế các muối được dụng.

Các hợp chất khác theo sáng chế có thể có mặt dưới dạng solvat, như các hợp chất bao gồm dưới dạng nước solvat, hoặc solvat được dụng, như rượu, cụ thể là etanol. “Solvat” được tạo ra bởi sự tương tác của dung môi với hợp chất.

Theo các phương án xác định, sáng chế đề xuất các chất đồng phân quang học, các raxemat, hoặc các hỗn hợp khác của chúng của các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này hoặc các muối được dụng hoặc hỗn hợp của chúng. Nếu cần, các chất đồng phân có thể được tách ra bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực này, ví dụ, bằng sắc ký lỏng. Trong các trường hợp này, chất đồng phân đối quang hoặc chất đồng phân không đối quang đơn, *tức là*, dạng có hoạt tính quang học, có thể thu được bằng cách tổng hợp không đối xứng hoặc bằng cách phân giải. Việc phân giải có thể được hiện được, ví dụ, bằng các phương pháp thông thường như kết tinh với sự có mặt của

chất phân giải, hoặc sắc ký, bằng cách sử dụng, ví dụ, cột sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) không đối xứng.

“Chất đồng phân lập thể” chỉ hợp chất chứa các nguyên tử giống nhau được liên kết bởi các liên kết giống nhau song có các cấu trúc ba chiều khác nhau, chúng không thể thay thế cho nhau. Sáng chế bao gồm các chất đồng phân lập thể và các hỗn hợp của chúng và bao gồm “các chất đồng phân đối quang,” chỉ hai chất đồng phân lập thể mà các phân tử của chúng là các ảnh đối xứng qua gương không chồng chập. “Các chất đồng phân không đối quang” là các chất đồng phân lập thể có ít nhất hai nguyên tử không đối xứng, song không phải là các ảnh đối xứng qua gương.

Hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này và các muối dược dụng của chúng có thể bao gồm tâm không đối xứng và do đó có thể tạo ra các chất đồng phân đối quang, các chất đồng phân không đối quang, và các dạng chất đồng phân lập thể khác mà có thể được xác định, về hóa học lập thể tuyệt đối, là (*R*) hoặc (*S*) hoặc, là (*D*) hoặc (*L*) đối với các axit amin. Sáng chế dự tính bao gồm tất cả các chất đồng phân có thể có này, cũng như các dạng triệt quang và tinh khiết về mặt quang học của chúng. Các chất đồng phân có hoạt tính quang học (+) và (-), (*R*) và (*S*), hoặc (*D*) và (*L*) có thể được điều chế bằng cách sử dụng các synthon không đối xứng hoặc các chất phản ứng không đối xứng, hoặc được phân giải bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường, ví dụ, sắc ký và kết tinh phân đoạn. Các kỹ thuật thông thường để điều chế/tách các chất đồng phân đối quang riêng bao gồm tổng hợp không đối xứng từ tiền chất tinh khiết quang học thích hợp hoặc phân giải raxemat (hoặc raxemat của muối hoặc chất dẫn xuất) bằng cách sử dụng, ví dụ, sắc lý lỏng hiệu năng cao (HPLC) không đối xứng. Khi hợp chất được mô tả trong bản mô tả này chứa các liên kết đôi olefin hoặc các tâm không đối xứng hình học khác, và trừ khi có quy định khác, dự tính rằng hợp chất bao gồm cả hai chất đồng phân hình học *E* và *Z*.

Các dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này mà bao gồm hợp chất được mô tả trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng, chất đồng phân, hoặc hỗn hợp của chúng có thể bao gồm hỗn hợp triệt quang, hoặc các hỗn hợp chứa lượng dư một chất đồng phân đối quang hoặc các chất đồng phân không đối quang riêng hoặc các hỗn hợp chất đồng phân không đối quang. Tất cả các dạng đồng phân này của các hợp chất này

được bao gồm trong bản mô tả này như thể mỗi và mọi dạng đồng phân được nêu rõ ràng và cụ thể.

Công thức hoặc cấu trúc bất kỳ đưa ra trong bản mô tả này, đều dự tính thể hiện các dạng không được đánh dấu cũng như các dạng được đánh dấu đồng vị của hợp chất. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị có các cấu trúc được mô tả bằng các công thức đưa ra trong bản mô tả này ngoại trừ một hoặc nhiều nguyên tử được thay bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối đã chọn. Các ví dụ về chất đồng vị mà có thể được kết hợp vào các hợp chất sáng chế bao gồm các chất đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo và clo, như, nhưng không giới hạn ở ^2H (đoteri, D), ^3H (triti), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl và ^{125}I . Các hợp chất được đánh dấu đồng vị khác nhau theo sáng chế, ví dụ các hợp chất trong đó các chất đồng vị phóng xạ như ^3H , ^{13}C và ^{14}C được kết hợp vào. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị như vậy có thể hữu ích trong các nghiên cứu chuyển hóa, các nghiên cứu động học phản ứng, các kỹ thuật phát hiện hoặc tạo ảnh, như chụp cắt lớp phát xạ positron (positron emission tomography: PET) hoặc chụp cắt lớp vi tính phát xạ photon đơn (single-photon emission computed tomography: SPECT) bao gồm thử nghiệm phân phối thuốc hoặc cơ chất đến mô hoặc trong xạ trị cho bệnh nhân. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế và các tiền dược chất của chúng thường có thể điều chế được bằng cách thực hiện các quy trình được bộc lộ trong các sơ đồ hoặc trong các ví dụ và các quy trình điều chế được mô tả ở dưới bằng cách thay chất phản ứng được đánh dấu đồng vị để dùng cho chất phản ứng không được đánh dấu đồng vị.

Sáng chế cũng bao gồm “các chất tương tự được đoteri hóa” của hợp chất có công thức (I) trong đó từ 1 đến n hydro gắn với nguyên tử cacbon là/được thay bằng đoteri, trong đó n là số lượng hydro trong phân tử. Các hợp chất như vậy có thể biểu hiện tính kháng gia tăng đối với quá trình chuyển hóa và do đó là hữu ích để gia tăng thời gian bán hủy của hợp chất bất kỳ có công thức I khi được dùng cho động vật có vú, ví dụ, người. Xem, ví dụ, Foster, “Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism,” Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Các hợp chất này được tổng hợp bằng phương pháp được biết rõ trong lĩnh vực này, ví dụ, bằng cách sử dụng các nguyên liệu trong đó một hoặc nhiều hydro đã được thay bằng đoteri.

Các hợp chất điều trị được đánh dấu đoteri hoặc được thể sáng chế có thể có các đặc tính DMPK (chuyển hóa thuốc và dược động học) được cải thiện, liên quan đến việc phân phối, chuyển hóa và bài tiết (ADME). Việc thể bằng các chất đồng vị nặng hơn như đoteri có thể tạo ra các thuận lợi điều trị xác định do tính bền chuyển hóa cao hơn, ví dụ, gia tăng thời gian bán hủy *in vivo*, giảm yêu cầu liều lượng và/hoặc cải thiện chỉ số điều trị. Hợp chất được đánh dấu ^{18}F có thể hữu ích cho các nghiên cứu PET hoặc SPECT.

Nồng độ của chất đồng vị nặng hơn như vậy, cụ thể là đoteri, có thể được xác định bằng yếu tố giàu đồng vị. Trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử bất kỳ không được chỉ định rõ là chất đồng vị cụ thể có nghĩa là đại diện cho chất đồng vị ổn định bất kỳ của nguyên tử đó. Trừ khi có quy định khác, khi vị trí được chỉ định rõ là “H” hoặc “hydro”, vị trí này được hiểu là có hydro ở thành phần đồng vị phong phú trong tự nhiên của nó. Do đó, trong hợp chất theo sáng chế, nguyên tử bất kỳ được chỉ định rõ là đoteri (D) có nghĩa là đại diện cho đoteri.

Hơn thế nữa, sáng chế đề xuất được phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế, hoặc tiền dược chất của chúng, hoặc muối được dụng hoặc solvat của chúng dưới dạng hoạt chất cùng với chất mang được dụng.

“Dược phẩm” có nghĩa một hoặc nhiều hoạt chất, và một hoặc nhiều thành phần trợ tạo nên chất mang, cũng như sản phẩm bất kỳ tạo ra, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ việc kết hợp, tạo phức hoặc tổ hợp hai hoặc nhiều thành phần bất kỳ này, hoặc từ việc phân ly một hoặc nhiều thành phần này, hoặc từ các kiểu phản ứng hoặc tương tác khác của một hoặc nhiều thành phần này. Do đó, dược phẩm theo sáng chế bao gồm dược phẩm bất kỳ được tạo ra bằng cách trộn ít nhất một hợp chất theo sáng chế và chất mang được dụng.

Danh mục các từ và chữ viết tắt

Chữ viết tắt	Nghĩa
(±)-BINAP	(±)-2,2'-Bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtalen
2-MeTHF	2-methyl tetrahydrofuran

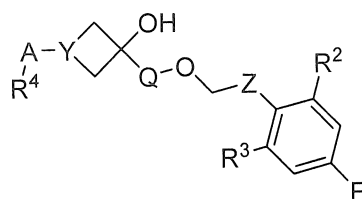
ACN hoặc MeCN	Axetonitril
aq.	Nước, chứa nước
Bn	Benzyl
BOC hoặc Boc	<i>t</i> -Butyloxycarbonyl
BSA	Albumin huyết thanh bò
BSS	Dung dịch muối cân bằng
calcd	Tính toán
DAST	(diethylamino)lưu huỳnh triflorua
DCM	Diclorometan
DIBAL-H	Diisobutylnhôm hydrua
DMF	Dimetylformamit
DMSO	Dimetylsulfoxit
EA	Etyl axetat
EDTA	Axit etylendiamintetraaxetic
ESI	Ion hóa bằng tia điện
Et	Etyl
Et ₂ O	Ete dietyl
EtOAc	Etyl axetat
FBS	Huyết thanh thai bò
h hoặc hr	Giờ

HATU	1-[Bis(dimethylamino)metylen]-1 <i>H</i> -1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]pyridini 3-oxid hexaflophosphat
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
IPA	Rượu isopropylic
IPTG	Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranosit
LCMS hoặc LC/MS	Sắc ký lỏng/Phép đo khối phổ
Me	Metyl
MEM	Môi trường cần thiết tối thiểu
MeOH	Metanol
min	Phút
MS	Phép đo khối phổ
m/z	Tỷ số khối lượng/điện tích
NADPH	Dihydronicotinamit-adenin dinucleotit phosphat
NMP	N-metylpyrrolidon
NMR	Phép đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân
n-BuLi	n-butyllithi
rpm	Vòng/phút
PE	Ete dầu hỏa
RT hoặc rt	Nhiệt độ trong phòng
sat.	Bão hòa
TBAF	Tetrabutylamoni florua
TBDMS	<i>t</i> -butyldimetylsilyl

TBS	<i>t</i> -butyldimethylsilyl
TEMPO	2,2,6,6-tetramethylpiperidin 1-oxyl
TFA	Axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
UPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng

Hợp chất

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



(I)

trong đó:

Q là phenylen hoặc pyridylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, -CH₂F, -CHF₂, và -CF₃;

Y là N hoặc CH;

A là pyridylen hoặc phenylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkyl, và halo-C₁₋₄-alkyl;

Z là isoxazol được thế bằng R¹ hoặc pyrazol được thế bằng R¹;

R¹ là C₁₋₄-alkyl hoặc C₃₋₆-xycloalkyl, trong đó

C₁₋₄-alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy, và

C₃₋₆-xycloalkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkyl, flo-C₁₋₃-alkyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy;

R² và R³ độc lập được chọn từ hydro, halogen, metoxy, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃, và metyl;

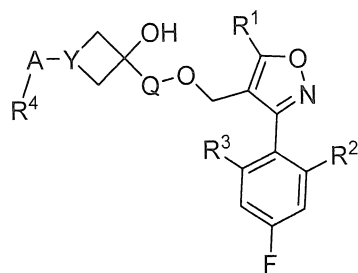
R⁴ là -CO₂R⁵ hoặc -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ là hydro, C₁₋₆-alkyl, hoặc halo-C₁₋₆-alkyl; và

R⁶ là hydro hoặc C₁₋₆-alkyl, trong đó C₁₋₆-alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 6 phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, -SO₃H, và -CO₂H;

hoặc muối được dung, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

Một phương án đề xuất hợp chất có công thức (Ia):



(Ia)

trong đó:

Q là phenylen hoặc pyridylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, -CH₂F, -CHF₂, và -CF₃;

Y là N hoặc CH;

A là pyridylen hoặc phenylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkyl, và halo-C₁₋₄-alkyl;

R¹ là C₁₋₄-alkyl hoặc C₃₋₆-xycloalkyl, trong đó

C₁₋₄-alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy, và

C₃₋₆-xycloalkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ flo, hydroxyl, C₁₋₃-alkyl, flo-C₁₋₃-alkyl, C₁₋₃-alkoxy, và flo-C₁₋₃-alkoxy;

R² và R³ độc lập được chọn từ hydro, halogen, metoxy, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃, và metyl;

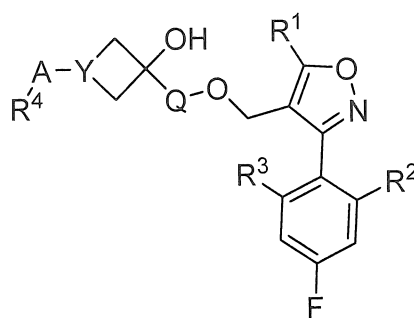
R⁴ là -CO₂R⁵ hoặc -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ là hydro, C₁₋₆-alkyl, hoặc halo-C₁₋₆-alkyl;

R⁶ là hydro hoặc C₁₋₆-alkyl, trong đó C₁₋₆-alkyl tùy ý được thế bằng 1 đến 6 phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, -SO₃H, và -CO₂H;

hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

Một phương án đề xuất hợp chất có công thức (Ia):



(Ia)

trong đó:

Q là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai halogen;

Y là N hoặc CH;

A là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen và C₁₋₄-alkoxy;

R¹ là C₁₋₄-alkyl hoặc C₃₋₆-xycloalkyl;

R² và R³ độc lập được chọn từ hydro và halogen;

R⁴ là -CO₂R⁵ hoặc -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ là hydro; và

R⁶ là C₁₋₂-alkyl tùy ý được thế bằng -CO₂H hoặc -SO₃H;

hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

Theo một phương án, Q là phenylen hoặc pyridylen, mỗi nhóm này tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, $-\text{CHF}_2$, và $-\text{CF}_3$. Theo một số phương án, Q là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, và $-\text{CF}_3$. Theo một số phương án, Q là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, metyl, và $-\text{CF}_3$.

Theo một phương án, Q là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai halogen. Theo một số phương án, Q là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai halogen. Theo một số phương án, Q là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai clo. Theo một số phương án, Q là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai clo.

Theo một phương án, Q là phenylen được thế bằng một clo. Theo một số phương án, Q là pyridylen được thế bằng một clo.

Theo một phương án, R^1 là C_{1-4} -alkyl. Theo một số phương án, R^1 là C_{3-6} -xycloalkyl. Theo một số phương án, R^1 là xyclopropyl hoặc metyl. Theo một số phương án, R^1 là xyclopropyl.

Theo một phương án, R^2 và R^3 không đồng thời là hydro. Theo một số phương án, R^2 và R^3 độc lập được chọn từ hydro, halogen, metoxy, $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCF}_3$, và metyl. Theo một số phương án, R^2 và R^3 độc lập được chọn từ halogen, metoxy, $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCF}_3$, và metyl.

Theo một phương án, R^2 và R^3 là halogen. Theo một số phương án, R^2 và R^3 là clo.

Theo một phương án, một trong số R^2 và R^3 là halogen và nhóm còn lại là hydro. Theo một phương án, một trong số R^2 và R^3 là clo và nhóm còn lại là hydro. Theo một số phương án, một trong số R^2 và R^3 là flo và nhóm còn lại là hydro.

Theo một phương án, Y là N. Theo một số phương án, Y là CH.

Theo một phương án, A là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai halogen. Theo một số phương án, A là pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai C_{1-4} -alkoxy.

Theo một phương án, A là pyridylen được thế bằng một flo. Theo một số phương án, A là pyridylen được thế bằng một metoxy. Theo một phương án, A là pyridylen không được thế.

Theo một phương án, A là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai halogen. Theo một phương án, A là phenylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai C₁₋₄-alkoxy.

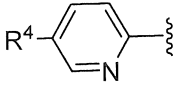
Theo một phương án, A là phenylen được thế bằng một flo. Theo một phương án, A là phenylen được thế bằng một metoxy. Theo một phương án, A là phenylen không được thế.

Theo một phương án, R⁴ là -CO₂R⁵, và R⁵ là hydro. Theo một phương án, R⁴ là -CO₂R⁵ và R⁵ là C₁₋₆-alkyl hoặc halo-C₁₋₆-alkyl.

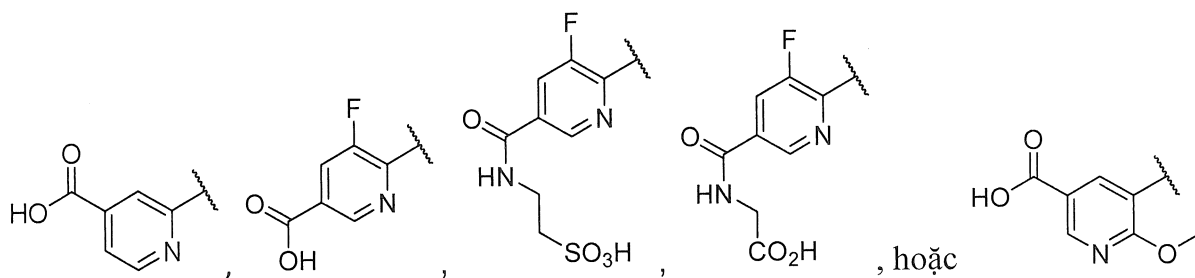
Theo một phương án, R⁴ là -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ là C₁₋₆-alkyl hoặc halo-C₁₋₆-alkyl, và R⁶ là C₁₋₂-alkyl, trong đó C₁₋₂-alkyl được thế bằng -SO₃H hoặc -CO₂H.

Theo một phương án, R⁴ là -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ là hydro, và R⁶ là C₁₋₂-alkyl, trong đó C₁₋₂-alkyl được thế bằng -SO₃H hoặc -CO₂H.

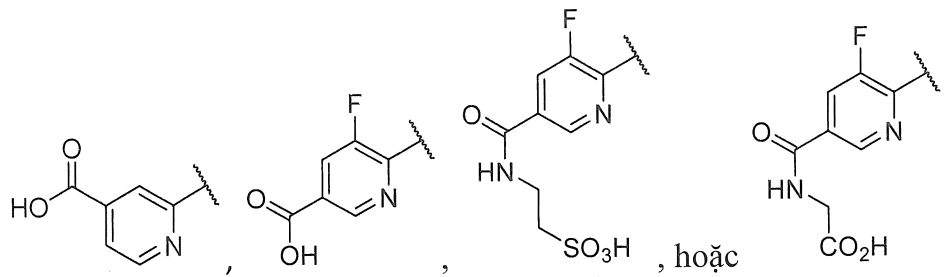
Theo một phương án, R⁴-A là:

, trong đó pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkyl, và halo-C₁₋₄-alkyl.

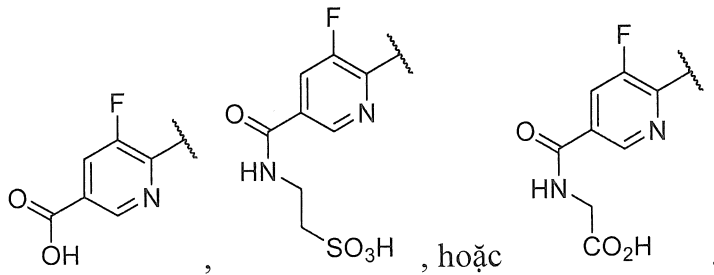
Theo một phương án, R⁴-A là:



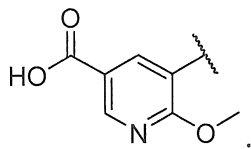
Theo một phương án, R⁴-A là:



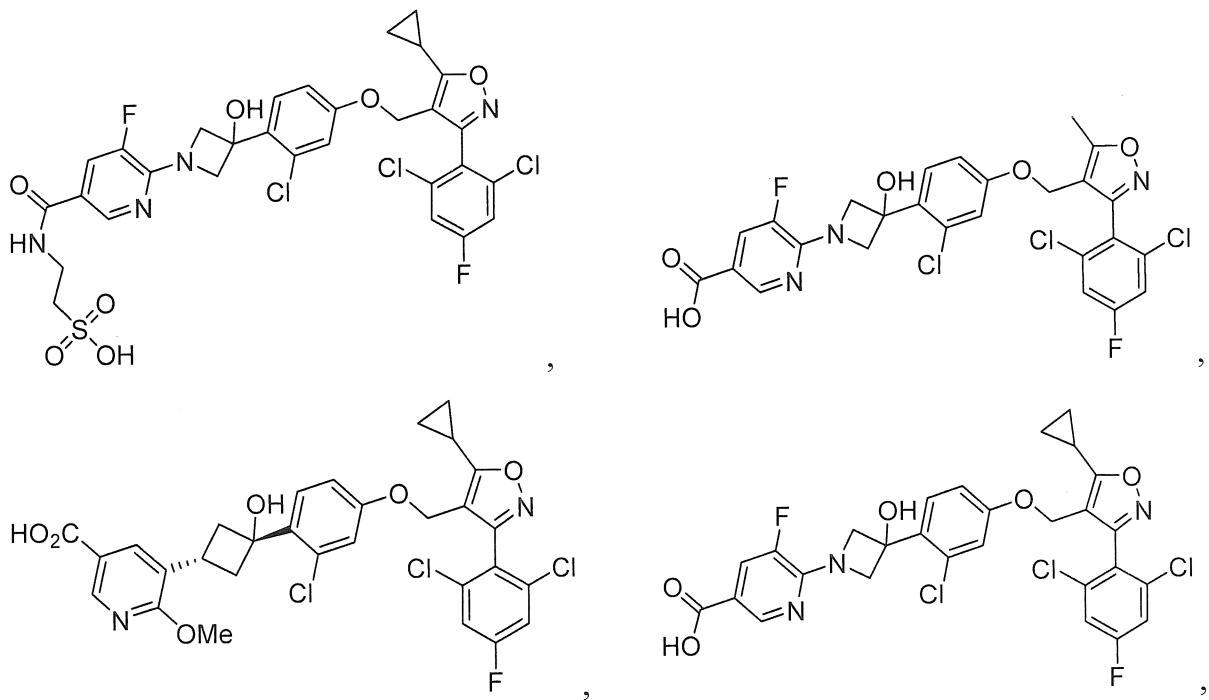
Theo một phương án, R⁴-A là:

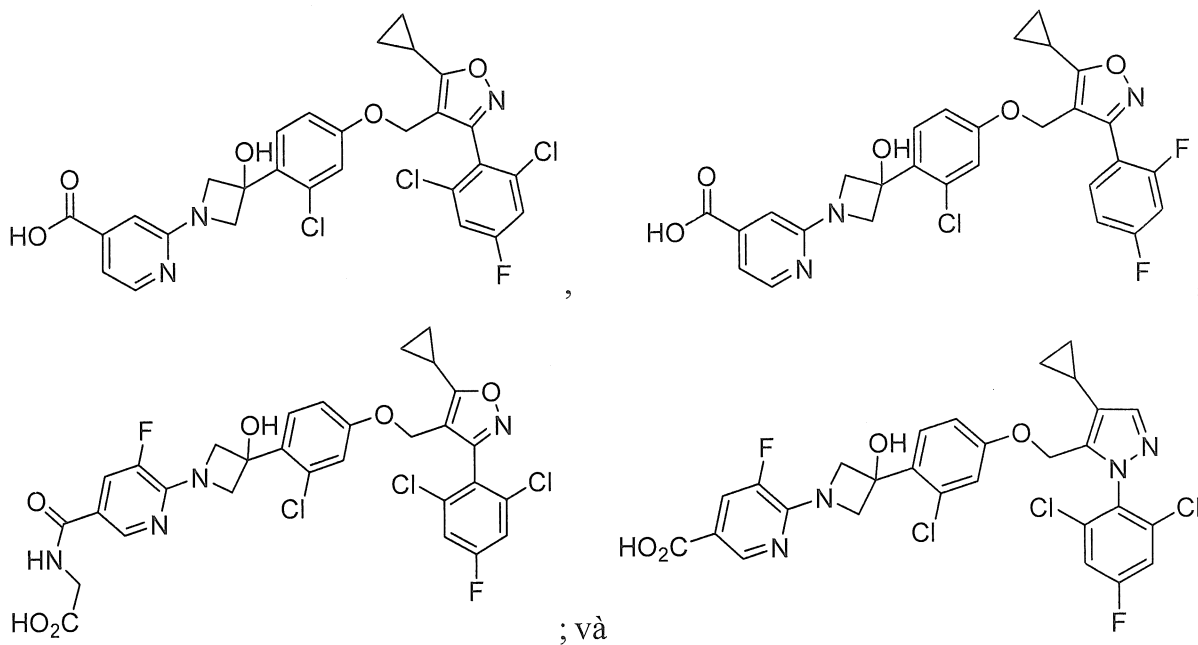


Theo một phương án, R⁴-A là



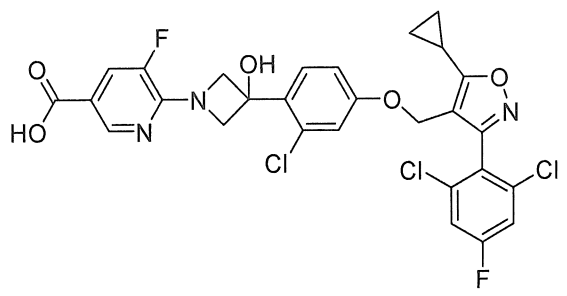
Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:





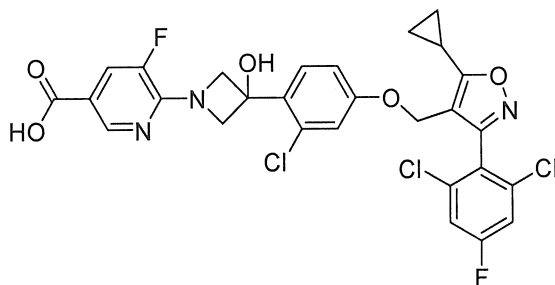
hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau:



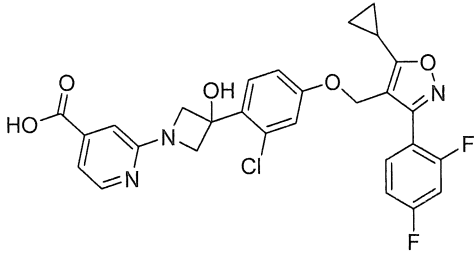
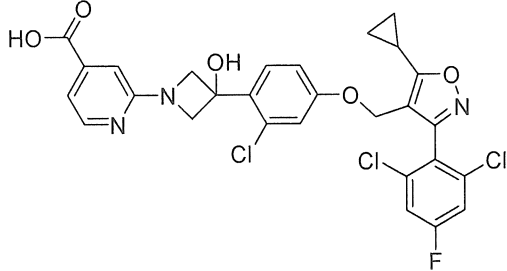
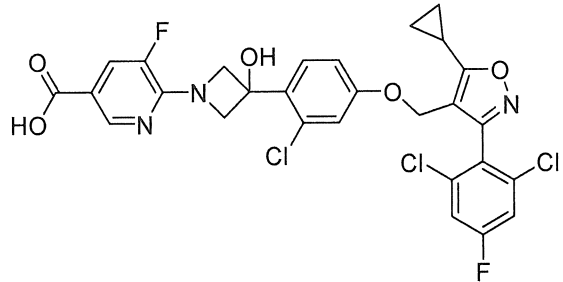
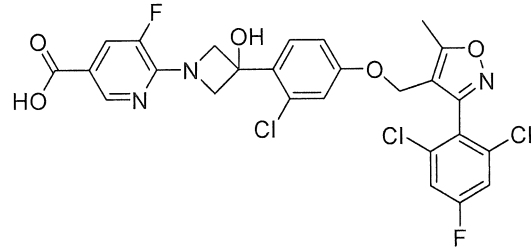
hoặc muối được dụng của nó.

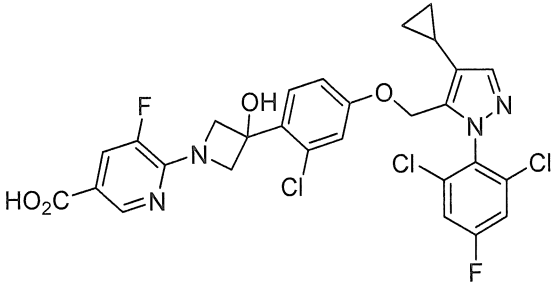
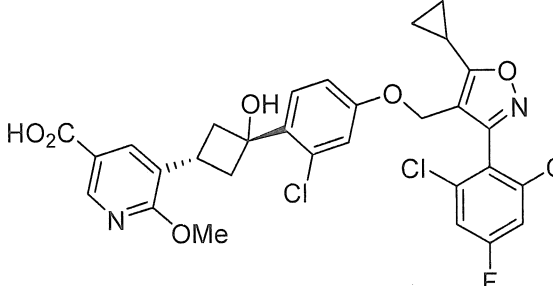
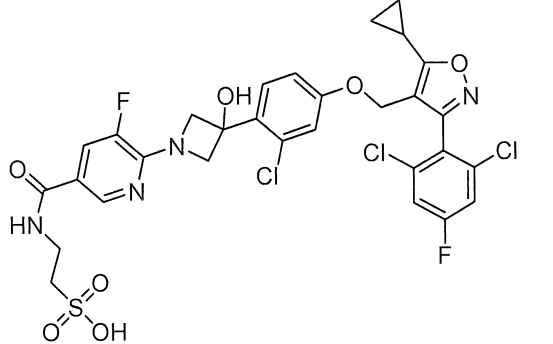
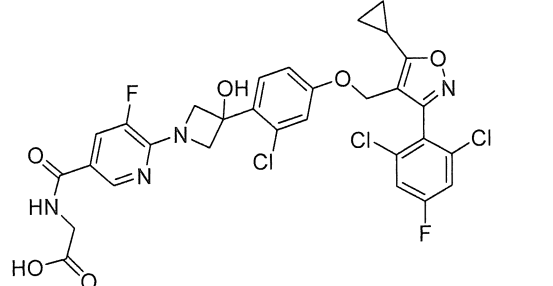
Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức sau:



Tên hóa học của mỗi hợp chất này được nêu trong Bảng 1 ở dưới.

Bảng 1

Ví dụ	Cấu trúc	Tên IUPAC
1		Axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic
2		Axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic
3		Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic
4		Axit 6-(3-(2-clo-4-((3-(2,6-diclo-4-flophenyl)-5-metylisoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic

5		Axit 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic
6		Axit 5-((1S,3S)-3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinic
7		Axit 2-(6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinamido)etan-1-sulfonic
8		(6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxin

Dược phẩm và đường dùng

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế, hoặc tiền dược chất, muối dược dụng, hoặc solvat của chúng dưới dạng hoạt chất cùng với chất mang dược dụng.

Dược phẩm theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều hợp chất khác dưới dạng hoạt chất như tiền dược chất hoặc các chất điều biến thụ thể nhân khác.

Các dược phẩm này là thích hợp để dùng qua đường miệng, trực tràng, khu trú, ngoài đường tiêu hóa (bao gồm dưới da, trong bắp, và trong tĩnh mạch), mắt (nhãn khoa), phổi (xông qua đường mũi hoặc má) hoặc qua đường mũi, mặc dù đường thích hợp nhất trong trường hợp đưa ra bất kỳ sẽ phụ thuộc vào tính chất và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý được điều trị và tính chất của hoạt chất. Chúng có thể được trình bày một cách phù hợp trong dạng liều đơn vị và được bào chế bằng phương pháp bất kỳ đã biết rõ trong lĩnh vực dược.

Để sử dụng thực tế, hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp dưới dạng hoạt chất trong hỗn hợp trộn nhuyễn với chất mang dược theo các kỹ thuật hỗn hợp dược thông thường. Chất mang có thể tạo ra nhiều dạng khác nhau phụ thuộc vào dạng dược phẩm cần dùng, ví dụ, qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa (bao gồm trong tĩnh mạch). Để bào chế dược phẩm đối với dạng liều dùng qua đường miệng, môi trường dược thông thường bất kỳ đều có thể được sử dụng, như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu, chất điều vị, chất bảo quản, chất tạo màu và chất tương tự trong trường hợp của các dược phẩm lỏng dùng qua đường miệng, như, ví dụ, huyền phù, cồn ngọt và dung dịch; hoặc các chất mang như tinh bột, đường, xenluloza vi tinh thể, chất pha loãng, chất tạo hạt, chất làm trơn, chất liên kết, chất gây rã và chất tương tự trong trường hợp của các dược phẩm rắn dùng qua đường miệng như, ví dụ, bột, viên nang cứng và mềm và viên nén, với các dược phẩm rắn dùng qua đường miệng được ưu tiên so với các dược phẩm lỏng.

Do dễ dùng, viên nén và viên nang đại diện cho dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng có lợi nhất trong trường hợp đó các chất mang rắn được sử dụng. Nếu cần, viên nén có thể được bao bằng các kỹ thuật chuẩn có nước hoặc không có nước. Các dược phẩm và chế phẩm chứa ít nhất 0,1 phần trăm hoạt chất. Tỷ lệ phần trăm hoạt chất trong các dược phẩm này có thể, tất nhiên, được thay đổi và có thể phù hợp là nằm

trong khoảng từ 2 đến 60 phần trăm trọng lượng của đơn vị. Lượng hoạt chất trong các được phẩm hữu hiệu điều trị này được điều chỉnh sao cho thu được liều hữu hiệu. Các hoạt chất cũng có thể được dùng qua đường trong mũi, ví dụ, dưới dạng thuốc nhỏ giọt lỏng hoặc thuốc xịt.

Viên nén, viên tròn, viên nang, và dạng tương tự có thể cũng chứa chất liên kết như gôm tragacanth, acacia, tinh bột ngô hoặc gelatin; tá dược như canxi hydrophosphat; chất gây rã như tinh bột ngô, tinh bột khoai tây, axit alginic; chất làm trơn như magie stearat; và chất ngọt như sucroza, lactoza hoặc sacarin. Khi dạng đơn vị liều là viên nang, nó có thể chứa, ngoài các vật liệu thuộc loại nêu trên, chất mang lỏng như dầu béo.

Các chất khác có thể có mặt dưới dạng lớp bao hoặc cải biến dạng vật lý của đơn vị liều. Ví dụ, viên nén có thể được bao bằng senlac, đường hoặc cả hai. Xi-rô hoặc cồn ngọt có thể chứa, ngoài hoạt chất, sucroza dưới dạng chất ngọt, metyl và propylparaben dưới dạng chất bảo quản, thuốc nhuộm và chất điều vị như vị anh đào hoặc vị cam.

Do hợp chất theo sáng chế chủ yếu đại diện cho các axit carboxylic hoặc các đẳng cấu điện tử anion của chúng, và do các dạng muối của các hợp chất ion có thể hầu như tác động đến độ sinh khả dụng, hợp chất theo sáng chế có thể cũng được sử dụng dưới dạng muối với các cation trái dấu để tạo ra chế phẩm khả dụng qua đường miệng. Các cation được dụng này có thể là các ion hóa trị một hoặc hóa trị hai khác như amoni, các kim loại kiềm natri hoặc kali hoặc các kim loại kiềm thổ magie hoặc canxi, các amin được dụng xác định như tris(hydroxymetyl)aminometan, etylendiamin, dietylamin, piperazin hoặc các amin khác, hoặc các axit amin cation xác định như lysin hoặc arginin.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa. Các dung dịch hoặc huyền phù chứa hoạt chất này có thể được điều chế trong nước được trộn thích hợp với chất hoạt động bề mặt như hydroxy-propylxenluloza. Các hệ phân tán cũng có thể được điều chế trong glyxerol, các polyetylen glycol lỏng và các hỗn hợp của chúng trong dầu. Trong các điều kiện bảo quản và sử dụng bình thường, các chế phẩm này chứa chất bảo quản để ngăn ngừa sự sinh trưởng của các vi sinh vật.

Các dạng dược phẩm thích hợp để tiêm bao gồm các dung dịch hoặc hệ phân tán chứa nước vô trùng và các bột vô trùng để điều chế tức thì các dung dịch hoặc hệ

phân tán để tiêm vô trùng. Trong tất cả các trường hợp, dạng này phải là vô trùng và phải lỏng tới mức để tiêm. Nó phải ổn định trong các điều kiện sản xuất và bảo quản và phải được bảo quản chống hoạt động gây nhiễm của các vi sinh vật như vi khuẩn và nấm. Chất mang có thể là dung môi hoặc môi trường phân tán chứa, ví dụ, nước, etanol, polyol (ví dụ, glyxerol, propylen glycol và polyetylen glycol lỏng), các hỗn hợp thích hợp của chúng, và các dầu thực vật.

Đường dùng thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng để cho động vật có vú, đặc biệt là người, dùng liều hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế. Ví dụ, có thể dùng qua đường miệng, trực tràng, khu trú, ngoài đường tiêu hóa, qua đường mắt, qua đường phổi, qua đường mũi, và đường tương tự. Các dạng liều bao gồm viên nén, viên ngậm dẹt, hệ phân tán, huyền phù, dung dịch, viên nang, kem, thuốc mỡ, sol khí, và dạng tương tự. Theo một số phương án, các hợp chất theo sáng chế được dùng qua đường miệng.

Kit

Sáng chế cũng đề xuất kit bao gồm hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dùng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất, hoặc chất tương tự được đơteri hóa của chúng, và bao bì thích hợp. Theo một phương án, kit còn bao gồm hướng dẫn sử dụng. Theo một khía cạnh, kit bao gồm hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dùng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất, hoặc chất tương tự được đơteri hóa của chúng, và nhãn và/hoặc hướng dẫn sử dụng hợp chất để điều trị các chỉ định, bao gồm các bệnh hoặc các tình trạng bệnh lý, được mô tả trong bản mô tả này.

Sáng chế cũng đề xuất vật phẩm bao gồm hợp chất được mô tả trong bản mô tả này hoặc muối được dùng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, tiền dược chất, hoặc chất tương tự được đơteri hóa của chúng trong vật chứa thích hợp. Vật chứa có thể là lọ, bình, ampun, ống tiêm nạp sẵn, và túi truyền tĩnh mạch.

Phương pháp điều trị và sử dụng

“Việc điều trị” hoặc “điều trị” là phương án để thu các kết quả có lợi hoặc mong muốn bao gồm các kết quả lâm sàng. Các kết quả lâm sàng có lợi hoặc mong muốn có thể bao gồm một hoặc nhiều kết quả sau: a) ức chế bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ,

giảm một hoặc nhiều triệu chứng do bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, và/hoặc thu hẹp phạm vi của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý); b) làm chậm hoặc làm ngừng sự phát triển của một hoặc nhiều triệu chứng lâm sàng liên quan đến bệnh hoặc tình trạng bệnh lý (ví dụ, làm ổn định bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự trầm trọng hoặc sự tiến triển của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, và/hoặc ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự lan rộng (ví dụ, di căn) của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý); và/hoặc c) làm giảm nhẹ bệnh, tức là, làm thoái triển các triệu chứng lâm sàng (ví dụ, cải thiện tình trạng bệnh, làm thoái triển một phần hoặc hoàn toàn bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, tăng cường tác dụng của thuốc khác, trì hoãn sự tiến triển của bệnh, gia tăng chất lượng cuộc sống, và/hoặc kéo dài thời gian sống.

“Việc ngăn ngừa” hoặc “ngăn ngừa” có nghĩa điều trị bất kỳ bệnh hoặc tình trạng bệnh lý mà khiến cho các triệu chứng lâm sàng của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý này không phát triển. Theo một số phương án, các hợp chất có thể được dùng cho đối tượng (bao gồm người) có nguy cơ hoặc có tiền sử gia đình mắc bệnh hoặc tình trạng bệnh lý này.

“Đối tượng” chỉ động vật, như động vật có vú (bao gồm người), đã hoặc sẽ được dùng để điều trị, theo dõi hoặc thử nghiệm. Các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này có thể là hữu ích trong điều trị cho người và/hoặc các ứng dụng trong thú y. Theo một số phương án, đối tượng là động vật có vú. Theo một phương án, đối tượng là người.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu điều trị” hoặc “lượng hữu hiệu” của hợp chất được mô tả trong bản mô tả này hoặc muối dược dụng, tautome, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của chất đồng phân lập thể, tiền dược chất, hoặc chất tương tự được đơteri hóa của chúng có nghĩa lượng đủ để điều trị hiệu quả khi được dùng cho đối tượng, tạo ra lợi ích điều trị như cải thiện các triệu chứng hoặc làm chậm sự tiến triển của bệnh. Ví dụ, lượng hữu hiệu điều trị có thể là lượng đủ để làm giảm triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý nhằm đáp lại việc ức chế hoạt tính Cot. Lượng hữu hiệu điều trị có thể thay đổi phản ứng với đối tượng, và bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được điều trị, thể trọng và tuổi của đối tượng, mức độ nghiêm trọng của bệnh hoặc tình trạng bệnh lý, và cách dùng, chúng có thể được xác định dễ dàng bởi người có trình độ trung bình trong lĩnh vực này.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng các hợp chất nói trên để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh và/hoặc các tình trạng bệnh lý qua việc liên kết với thụ thể nhân nói trên bởi các hợp chất nói trên. Sáng chế còn mô tả việc sử dụng các hợp chất nói trên để bào chế thuốc để điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh và/hoặc các tình trạng bệnh lý qua việc liên kết với thụ thể nhân nói trên bởi các hợp chất nói trên.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị cho bệnh nhân có tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR bao gồm dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó được đề xuất để sử dụng trong điều trị tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó, được đề xuất để sản xuất dược phẩm để điều trị tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR.

Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR là:

dạng trong gan mạn tính hoặc dạng xác định của tình trạng ứ mật ngoài gan;

xơ hóa gan;

rối loạn viêm tắc nghẽn của gan;

rối loạn viêm mạn tính của gan;

bệnh xơ gan;

bệnh gan nhiễm mỡ hoặc hội chứng liên quan;

các tác dụng ứ mật hoặc xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu hoặc liên quan đến các dạng viêm gan do virus;

suy gan hoặc thiếu máu cục bộ gan sau cắt bỏ phần lớn gan;

bệnh viêm gan nhiễm mỡ liên quan đến hóa trị (CASH);

suy gan cấp tính; hoặc

bệnh viêm ruột.

Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR là:

rối loạn lipid và lipoprotein;

bệnh đái tháo đường typ I;

bệnh đái tháo đường typ II;

các biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II được chọn từ nhóm bao gồm bệnh thận do đái tháo đường, bệnh thần kinh do đái tháo đường, bệnh võng mạc do đái tháo đường và các tác dụng quan sát được khác của bệnh đái tháo đường kéo dài có biểu hiện lâm sàng;

bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD);

bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH);

bệnh béo phì;

hội chứng chuyển hóa được chọn từ nhóm bao gồm các tình trạng bệnh lý kết hợp của rối loạn lipid máu, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường;

bệnh nhồi máu cơ tim cấp;

đột quy cấp; hoặc

chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của bệnh xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính.

Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR là:

rối loạn tăng sinh không ác tính; và

rối loạn tăng sinh ác tính được chọn từ nhóm bao gồm bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, u tuyến đại tràng, và bệnh polyp;

bệnh ung thư biểu mô tuyến đại tràng;

bệnh ung thư vú;

bệnh ung thư biểu mô tuyến tụy;

thực quản Barrett; hoặc

các dạng khác của các bệnh tân sinh của đường dạ dày-ruột và gan.

Theo một số phương án, tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR là bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH).

Ví dụ, sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (I) trong bào chế thuốc để phòng ngừa và/hoặc điều trị dạng trong gan mạn tính hoặc các dạng xác định của tình trạng ứ mật ngoài gan, xơ hóa gan, tình trạng ứ mật trong gan cấp tính, rối loạn viêm tắc nghẽn hoặc mạn tính do thành phần mật không chính xác, tình trạng bệnh lý dạ dày-ruột với sự giảm tái hấp thu chất béo của thức ăn và vitamin của thức ăn tan trong chất béo, bệnh viêm ruột, các rối loạn lipid và lipoprotein, bệnh đái tháo đường typ II và các biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II, tình trạng bệnh lý và bệnh phát sinh từ thoái hóa mỡ và xơ mạn tính của cơ quan do sự tích tụ lipid bắt buộc và cụ thể là triglycerit và tiếp theo là sự hoạt hóa các con đường tiền xơ hóa, bệnh béo phì và hội chứng chuyển hóa (các tình trạng bệnh lý kết hợp của rối loạn lipid máu, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường), bệnh nhồi máu cơ tim cấp, đột quỵ cấp, chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của bệnh xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính, các bệnh nhiễm kéo dài bởi vi khuẩn nội bào hoặc trùng ký sinh, rối loạn tăng sinh không ác tính, rối loạn tăng sinh ác tính, bệnh ung thư biểu mô tuyến đại tràng và bệnh ung thư biểu mô tế bào gan cụ thể, bệnh gan nhiễm mỡ và các hội chứng liên quan, suy gan hoặc rối loạn chức năng gan do các bệnh gan mạn tính hoặc cắt bỏ gan bằng phẫu thuật, sự nhiễm virus viêm gan B, sự nhiễm virus viêm gan C và/hoặc các tác dụng ứ mật hoặc xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu hoặc liên quan đến các dạng viêm gan do virus.

Các dược phẩm được đề cập trong bản mô tả này có thể được bào chế bằng các quy trình thông thường, bao gồm việc kết hợp hợp chất theo sáng chế và chất mang dược dụng.

FXR được coi là cảm biến axit mật trong nhân. Kết quả là, nó điều biến cả hai, kết quả tổng hợp axit mật trong gan và tái sinh chúng trong ruột (bằng cách điều hòa các protein liên kết với axit mật). Song vượt ra khỏi sinh lý học về axit mật, FXR dường như tham gia vào việc điều hòa nhiều quá trình sinh lý khác nhau liên quan đến căn bệnh học và để điều trị các bệnh đa dạng như sỏi mật, các rối loạn chuyển hóa như bệnh đái tháo đường typ II, rối loạn lipid máu hoặc bệnh béo phì, các bệnh viêm mạn tính như bệnh viêm ruột hoặc các dạng ứ mật trong gan mạn tính và nhiều bệnh khác.

FXR điều hòa mô hình phức tạp của các gen đáp ứng trong gan và trong đường dạ dày-ruột. Các sản phẩm gen này tác động đến nhiều quá trình sinh lý. Trong quá trình phân tích chức năng của FXR, mạng điều hòa thứ nhất được phân tích là sự điều hòa quá trình tổng hợp axit mật. Trong khi LXR cảm ứng enzym chính của phản ứng chuyển hóa cholesterol thành axit mật, Cyp7A1, thông qua việc cảm ứng thụ thể nhân điều hòa LRH-1, FXR ức chế việc cảm ứng Cyp7A1 thông qua việc tăng điều hòa ARN thông tin mã hóa SHP, một thụ thể nhân khác ức chế trội LRH-1. Do FXR liên kết với các sản phẩm cuối của các con đường này, các axit mật chủ yếu như axit cholic (CA) hoặc CDCA, đây có thể được coi là một ví dụ về ức chế phản hồi đối với mức biểu hiện gen. Song song với việc ức chế tổng hợp axit mật qua SHP, FXR cảm ứng nhiều chất vận chuyển gọi là ABC (chỉ cat-xet (cassette) liên kết với ATP) có chức năng bài tiết các axit mật độc từ bào tương tế bào gan vào các tiểu quản, các nhánh ống mật nhỏ nơi tạo ra mật. Chức năng bảo vệ gan này của FXR trước hết trở nên rõ ràng với việc phân tích chuột nhất thiếu (bất hoạt gen) FXR. Trong đó sự biểu hiện dưới mức hoặc quá mức một số chất vận chuyển ABC trong gan được thể hiện. Phân tích chi tiết hơn chỉ ra rằng bơm tiết muối mật chủ yếu BSEP hoặc ABCB11 (cũng như enzym chính làm trung gian cho việc chuyển lipid từ lipoprotein thành phospholipid, PLTP, và hai chất vận chuyển màng tiểu quản chính đối với các phospholipid, MRP-2 (ABCC4) và MDR-3 (ABCB4), là các đích trực tiếp cho việc hoạt hóa phiên mã bởi FXR có định hướng bởi phối tử.

Thực tế FXR dường như là cảm biến chuyển hóa chính và yếu tố điều hòa đối với việc tổng hợp, bài tiết và tái tuần hoàn các axit mật gợi ý việc sử dụng các phối tử FXR để cảm ứng dòng mật và thay đổi thành phần axit mật thành thành phần ưa nước hơn. Với việc phát triển phối tử FXR tổng hợp đầu tiên GW4064 dưới dạng hợp chất công cụ và phối tử axit mật nhân tạo bán tổng hợp 6- α -etyl-CDCA, các tác dụng siêu kích thích FXR bởi các chất chủ vận hiệu nghiệm có thể được phân tích. Đã chứng minh được rằng cả hai phối tử này đều cảm ứng dòng mật trong các động vật được gắn ống mật. Hơn nữa, ngoài tác dụng lợi mật, tác dụng bảo vệ gan cũng được chứng minh. Tác dụng bảo vệ gan này được thu hẹp hơn đến tác dụng chống xơ hóa có được từ việc ức chế các enzym Tissue Inhibitors of Matrix-Metalloproteinase, TIMP-1 và 2, việc cảm ứng lắng đọng collagen bằng cách phân giải Matrix-Metalloproteinase 2 trong các tế bào gan hình sao và tiếp theo là việc khử ARN thông tin của α -collagen và ARN thông tin của yếu tố sinh trưởng chuyển hóa beta (TGF- β) đều là hai yếu tố tiền xơ

hóa bởi các chất chủ vận FXR. Hơn thế nữa, hoạt tính chống ứ mật được chứng minh trong các mô hình động vật gấn ống mật cũng như trong các mô hình động vật về chứng ứ mật được cảm ứng bởi estrogen.

Các nghiên cứu di truyền chứng minh rằng trong các dạng ứ mật do di truyền (Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis = PFIC, các typ I – IV), sự khu trú trong nhân của chính FXR giảm do đột biến trong gen FIC1 (trong PFIC typ I, còn gọi là bệnh Byler) (F. Chen et al., *Gastroenterology* 2004, 126, 756; L. Alvarez et al., *Hum. Mol. Genet.* 2004, 13, 2451) hoặc mức gen đích FXR mã hóa bơm bài tiết phospholipit MDR-3 giảm (trong PFIC typ III). Nói chung, ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy các hợp chất liên kết với FXR sẽ có lợi ích lâm sàng căn bản trong chế độ điều trị tình trạng ứ mật mạn tính như xơ gan mật tiên phát (PBC) hoặc viêm đường mật xơ cứng tiên phát (PSC).

Tác động sâu sắc của việc hoạt hóa FXR đến sự chuyển hóa và bài tiết axit mật không chỉ liên quan đến các hội chứng ứ mật mà thậm chí liên quan trực tiếp đến liệu pháp chống tạo sỏi mật. Sỏi mật tạo thành do độ tan thấp của cholesterol là chất được bơm chủ động ra khỏi tế bào gan vào lumen của các tiểu quản. Tỷ lệ phần trăm tương đối về hàm lượng của ba thành phần chính, axit mật, phospholipit và cholesterol tự do xác định sự tạo thành các mixen hỗn hợp và, do đó, độ tan biểu kiến của cholesterol tự do trong mật. Tính đa hình của FXR xác lập các locut tính trạng định lượng như là một yếu tố góp phần gây ra bệnh sỏi mật. Bằng cách sử dụng hợp chất công cụ FXR tổng hợp GW4064, có thể chứng minh rằng việc hoạt hóa FXR dẫn đến cải thiện chỉ số bão hòa cholesterol (Cholesterol Saturation Index: CSI) và trực tiếp loại bỏ sự hình thành sỏi mật ở chuột nhắt dễ bị sỏi mật C57L trong khi việc điều trị bằng thuốc ở chuột nhắt thiếu FXR không cho tác dụng đối với sự hình thành sỏi mật.

Các kết quả này xác định FXR là đích tốt để phát triển các chất chủ vận phân tử nhỏ mà có thể được sử dụng để ngăn ngừa sự hình thành sỏi mật hoặc ngăn ngừa sự tái hình thành sỏi mật sau khi loại bỏ bằng phẫu thuật hoặc thủ thuật nghiền sỏi bằng sóng xung kích.

Do đó, theo một phương án của sáng chế, hợp chất có công thức (I) và dược phẩm chứa hợp chất nói trên được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị các rối loạn

viêm tắc nghẽn hoặc mạn tính phát sinh do thành phần mật không chính xác như bệnh sỏi mật còn được biết là sỏi mật cholesterol.

Ngoài các tác dụng bảo vệ gan và lợi mật cũng như chống xơ hóa mạnh mà FXR thể hiện khi sự hoạt hóa trong gan được kích thích bởi phân tử nhỏ, FXR dường như đóng vai trò bảo vệ ruột khỏi sự chuyển hóa thành ung thư và sự phát triển của polyp và sự chuyển tiếp của chúng thành bệnh ung thư biểu mô tuyến trong ruột. Giống như trường hợp trong ruột, sự không có mặt của FXR dẫn đến tăng nhanh quá trình hình thành bệnh ung thư biểu mô tế bào gan (HCC), dạng ung thư gan phổ biến nhất. Trong khi FXR chức năng ngăn ngừa sự hình thành bệnh ung thư biểu mô tuyến đại tràng và bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, việc hoạt hóa FXR cảm ứng sự tái sinh gan sau khi cắt bỏ gan.

Các tác dụng bảo vệ gan, chống ung thư và tái sinh gan kết hợp liên quan đến việc hoạt hóa FXR có thể được khai thác về mặt điều trị để sử dụng các chất chủ vận FXR trong điều trị một số bệnh về gan. Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế và được phẩm chứa các hợp chất nói trên được sử dụng để điều trị các bệnh về gan như HCC, kích thích sự tái sinh gan và cải thiện các tác dụng phụ liên quan đến việc cắt bỏ phần lớn gan, bệnh xơ gan không liên quan đến căn bệnh học và ngăn ngừa hoặc điều trị chứng thiếu máu cục bộ gan trong giai đoạn ghép gan hoặc phẫu thuật phần lớn gan.

Do việc phát hiện ra chất chủ vận FXR tổng hợp đầu tiên và việc dùng nó cho các loại gặm nhấm, rõ ràng rằng FXR là chất điều hòa chính đối với các triglycerit trong huyết thanh. Bằng chứng thu thập trong sáu năm qua đã công bố rằng việc hoạt hóa FXR bởi các chất chủ vận tổng hợp dẫn đến làm giảm đáng kể các triglycerit trong huyết thanh, chủ yếu ở dạng VLDL được khử, song cũng làm giảm tổng lượng cholesterol trong huyết thanh.

Song sự giảm các triglycerit trong huyết thanh không phải là tác dụng duy nhất. Việc điều trị cho các chuột nhắt db/db hoặc ob/ob bằng chất chủ vận FXR tổng hợp GW4064 dẫn đến làm giảm đáng kể và kết hợp đối với các triglycerit trong huyết thanh, tổng lượng cholesterol, các axit béo tự do, các thể keton như 3-OH Butyrat. Hơn nữa, việc hoạt hóa FXR gắn với con đường truyền tín hiệu insulin nội bào trong các tế bào gan, dẫn đến giảm sản xuất glucoza từ quá trình hình thành glucoza của gan song đồng thời gia tăng glycogen của gan. Độ nhạy với insulin cũng như sự dung nạp glucoza được

tác động tích cực bởi việc điều trị bằng FXR. Gần đây, tác dụng làm giảm thể trọng cũng được quan sát thấy ở chuột nhắt được cấp quá nhiều thức ăn có hàm lượng lipid cao. Tác dụng làm giảm thể trọng này có thể là do sự cảm ứng FXR bởi FGF-19, một yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi được biết là dẫn đến làm giảm thể trọng và kiểu hình vận động. Tác dụng của chất chủ vận FXR đến sự giảm thể trọng đã được chứng minh.

Nói chung, các tác dụng dược lý này của các chất chủ vận FXR có thể được khai thác theo các cách điều trị khác nhau: các hợp chất liên kết với FXR được tin là các ứng viên tốt để điều trị bệnh đái tháo đường typ II do có các tác dụng nhạy với insulin, tạo glycogen, và giảm lipid.

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế và dược phẩm chứa các hợp chất nói trên được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh đái tháo đường typ II mà có thể khắc phục được bằng cách tăng điều hòa qua trung gian FXR đối với độ nhạy với insulin toàn thân và quá trình truyền tín hiệu insulin nội bào trong gan, gia tăng tái hấp thu và chuyển hóa glucoza ngoại vi, gia tăng dự trữ glycogen trong gan, làm giảm bài tiết glucoza vào huyết thanh từ quá trình hình thành glucoza của gan.

Theo phương án khác, các hợp chất nói trên và dược phẩm được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị chứng ứ mật trong gan mạn tính, như PBC, PSC, chứng ứ mật di truyền tiến triển (PFIC), bệnh xơ gan do rượu và chứng ứ mật liên quan, và một số dạng của tình trạng ứ mật ngoài gan, hoặc xơ hóa gan.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm chứa hợp chất nói trên để phòng ngừa và/hoặc điều trị các tình trạng bệnh lý dạ dày-ruột với sự giảm tái hấp thu chất béo của thức ăn và vitamin của thức ăn tan trong chất béo mà có thể khắc phục được bằng cách gia tăng các mức axit mật và phospholipit trong ruột.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm nói trên được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh được chọn từ nhóm bao gồm các rối loạn lipid và lipoprotein như chứng tăng cholesterol trong máu, chứng tăng triglycerit trong máu, và bệnh xơ vữa động mạch dưới dạng tình trạng bệnh lý có biểu hiện lâm sàng mà có thể được cải thiện bằng tác dụng có lợi của FXR đến sự giảm tổng lượng cholesterol trong huyết tương, sự giảm các triglycerit trong huyết thanh, sự gia tăng chuyển hóa cholesterol gan thành axit mật và sự gia tăng thanh thải và chuyển hóa VLDL và các lipoprotein khác trong gan.

Theo một phương án khác, hợp chất và dược phẩm nói trên được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị các bệnh trong đó các tác dụng làm giảm lipit, chống ứ mật và chống xơ hóa kết hợp của các thuốc hướng đích FXR có thể được khai thác để điều trị bệnh gan nhiễm mỡ và các hội chứng liên quan như bệnh viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH), hoặc để điều trị các tác dụng ứ mật hoặc xơ hóa liên quan đến bệnh xơ gan do rượu, hoặc liên quan đến các dạng viêm gan do virus.

Liên quan đến tác dụng làm giảm lipit trong máu, cũng đã chứng minh được rằng sự mất FXR chức năng dẫn đến gia tăng bệnh xơ vữa động mạch ở chuột thiếu ApoE. Do đó, các chất chủ vận FXR có thể có ứng dụng lâm sàng dưới dạng các thuốc chống xơ vữa động mạch và bảo vệ tim. Việc giảm điều hòa Endothelin-1 trong tế bào cơ trơn của mạch có thể cũng góp phần vào các tác dụng điều trị có lợi này.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm bao gồm hợp chất nói trên để ngăn ngừa và điều trị sau chấn thương rối loạn tim mạch, như bệnh nhồi máu cơ tim cấp, đột quỵ cấp, hoặc chứng huyết khối xảy ra dưới dạng điểm cuối của bệnh xơ vữa động mạch tắc nghẽn mạn tính.

Ngoài việc kiểm soát sự hình thành polyp ruột và đại tràng, FXR dường như được biểu hiện trong mô và các dòng tế bào ung thư vú mà không biểu hiện trong mô vú khỏe mạnh và dường như tương tác với thụ thể estrogen (ER) trong các tế bào ung thư vú dương tính với ER.

Điều này cũng có thể cho phép coi FXR là đích tiềm tàng để điều trị các bệnh tăng sinh, đặc biệt là các dạng ung thư di căn biểu hiện dạng đáp ứng với phân tử nhỏ của FXR.

Theo phương án khác, các hợp chất và dược phẩm nói trên được sử dụng để phòng ngừa và/hoặc điều trị rối loạn tăng sinh ác tính như các dạng ung thư khác nhau, cụ thể là các dạng xác định của bệnh ung thư vú, bệnh ung thư gan hoặc bệnh ung thư đại tràng trong đó việc can thiệp bằng phối tử FXR sẽ có tác dụng có lợi.

Cuối cùng, FXR dường như cũng liên quan đến việc kiểm soát hệ thống phòng thủ kháng khuẩn trong ruột mặc dù cơ chế chính xác chưa được đề xuất. Tuy nhiên, từ số liệu đã công bố này, có thể kết luận rằng việc điều trị bằng các chất chủ vận FXR có thể có tác dụng có lợi trong điều trị bệnh viêm ruột (Inflammatory Bowel Disorder: IBD), cụ thể là các dạng trong đó phần trên của ruột (hồi tràng) bị ảnh hưởng (ví dụ,

bệnh Crohn ở hồi tràng) do đây dường như là vị trí tác động kiểm soát của FXR đối với sự sinh trưởng của vi khuẩn. Trong IBD, sự mất độ nhạy của đáp ứng miễn dịch thích ứng bị suy giảm theo cách nào đó trong hệ miễn dịch ruột. Tiếp theo, sự sinh trưởng quá mức của vi khuẩn là nguyên nhân dẫn đến việc thiết lập đáp ứng viêm mạn tính. Do đó, việc ức chế sự sinh trưởng của vi khuẩn bằng các cơ chế do FXR tạo ra có thể là cơ chế chính để ngăn ngừa các cơn viêm cấp tính.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) hoặc dược phẩm chứa hợp chất này để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh liên quan đến bệnh viêm ruột, như bệnh Crohn hoặc bệnh viêm loét đại tràng. Sự phục hồi chức năng màng nhầy ruột qua trung gian FXR và giảm tải lượng vi khuẩn không hội sinh được tin là hữu ích để làm giảm sự tiếp xúc của kháng nguyên vi khuẩn với hệ miễn dịch ruột và do đó có thể làm giảm các đáp ứng viêm.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất hoặc dược phẩm để phòng ngừa và/hoặc điều trị bệnh béo phì và các rối loạn liên quan như hội chứng chuyển hóa (các tình trạng bệnh lý kết hợp của rối loạn lipid máu, bệnh đái tháo đường và chỉ số khối cơ thể cao bất thường) mà có thể được khắc phục bằng cách làm giảm các triglycerit trong huyết thanh qua trung gian FXR, glucoza máu và độ nhạy với insulin gia tăng và sự giảm cân qua trung gian FXR.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế là hữu ích trong ngăn ngừa và/hoặc điều trị các biến chứng lâm sàng của bệnh đái tháo đường typ I và typ II. Các ví dụ về các biến chứng như vậy bao gồm bệnh thận do đái tháo đường, bệnh võng mạc do đái tháo đường, bệnh thần kinh do đái tháo đường, hoặc bệnh tắc động mạch ngoại vi (PAOD). Các biến chứng lâm sàng khác của bệnh đái tháo đường cũng nằm trong phạm vi của sáng chế.

Hơn thế nữa, các tình trạng bệnh lý và các bệnh phát sinh từ thoái hóa mỡ và xơ mạn tính của cơ quan do sự tích tụ lipid bắt buộc và cụ thể là triglycerit và tiếp theo là sự hoạt hóa các con đường tiền xơ hóa cũng có thể được ngăn ngừa và/hoặc được điều trị bằng cách dùng hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế. Các tình trạng bệnh lý và các bệnh như vậy bao gồm NASH và tình trạng ứ mật mạn tính trong gan, bệnh xơ cứng tiểu cầu thận và bệnh thận do đái tháo đường trong thận, bệnh thoái hóa điểm vàng và bệnh võng mạc do đái tháo đường trong mắt và các bệnh thoái hóa thần kinh, như

bệnh Alzheimer trong não, hoặc bệnh thần kinh do đái tháo đường trong hệ thần kinh ngoại biên.

Liều lượng

Liều lượng hữu hiệu của hoạt chất được sử dụng có thể thay đổi phụ thuộc vào hợp chất cụ thể được sử dụng, đường dùng, tình trạng bệnh lý được điều trị và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh lý được điều trị. Liều lượng này có thể được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này xác định dễ dàng.

Khi điều trị hoặc ngăn ngừa các tình trạng bệnh lý qua trung gian FXR mà hợp chất theo sáng chế được chỉ định, các kết quả phù hợp thường thu được khi hợp chất theo sáng chế được dùng ở liều hằng ngày từ khoảng 0,1 miligam đến khoảng 100 miligam/kilogam thể trọng động vật. Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được dùng dưới dạng đơn liều hằng ngày hoặc các liều chia nhỏ hai đến sáu lần/ngày, hoặc ở dạng giải phóng ổn định. Đối với hầu hết động vật có vú lớn, tổng liều hằng ngày là từ khoảng 1 miligam đến khoảng 1000 miligam, hoặc từ khoảng 1 miligam đến khoảng 50 miligam. Trong trường hợp người trưởng thành có thể trọng 70 kg, tổng liều hằng ngày thường là từ khoảng 7 miligam đến khoảng 350 miligam. Chế độ liều này có thể được điều chỉnh để tạo ra đáp ứng điều trị tối ưu. Theo một số phương án, tổng liều hằng ngày là từ khoảng 1 miligam đến khoảng 900 miligam, khoảng 10 miligam đến khoảng 800 miligam, khoảng 20 miligam đến khoảng 700 miligam, khoảng 30 miligam đến khoảng 600 miligam, khoảng 40 miligam đến khoảng 550 miligam, hoặc khoảng 50 miligam đến khoảng 400 miligam.

Hợp chất theo sáng chế hoặc được phẩm chứa nó có thể được dùng một lần, hai lần, ba lần, hoặc bốn lần hằng ngày, bằng cách sử dụng đường thích hợp bất kỳ được mô tả ở trên. Tương tự, việc dùng hoặc điều trị bằng hợp chất có thể liên tục trong nhiều ngày; ví dụ, điều trị chung có thể liên tục trong ít nhất 7 ngày, 14 ngày, hoặc 28 ngày, đối với mỗi chu kỳ điều trị. Các chu kỳ điều trị đã được biết rõ trong hóa trị ung thư, và thường được xen kẽ các khoảng nghỉ từ 1 đến 28 ngày, thường là khoảng 7 ngày hoặc khoảng 14 ngày, giữa các chu kỳ. Chu kỳ điều trị, theo các phương án khác, cũng có thể liên tục.

Theo phương án cụ thể, các phương pháp được đề xuất trong bản mô tả này bao gồm bước cho đối tượng dùng liều hằng ngày ban đầu khoảng 1 đến 800 mg hợp chất

được mô tả trong bản mô tả này và gia tăng liều theo các khoảng tăng cho đến khi đạt được hiệu quả lâm sàng. Các khoảng tăng khoảng 5, 10, 25, 50, hoặc 100 mg có thể được sử dụng để gia tăng liều. Liều lượng có thể được gia tăng hằng ngày, cách nhật, hai lần mỗi tuần, hoặc một lần mỗi tuần.

Liệu pháp kết hợp

Theo một số phương án, hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này được dùng kết hợp với một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung để điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh lý được bộc lộ trong bản mô tả này. Theo một số phương án, một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung là chất ức chế a(n) ACE, chất ức chế Acetyl CoA carboxylaza, chất chủ vận thụ thể Adenosin A3, chất chủ vận thụ thể Adiponectin, chất ức chế protein kinaza AKT, protein kinaza được hoạt hóa bởi AMP (AMPK), chất chủ vận thụ thể Amylin, chất đối kháng thụ thể Angiotensin II AT-1, chất ức chế Autotaxin, lipid có hoạt tính sinh học, chất chủ vận Canxitonin, chất ức chế Caspaza, chất kích thích Caspaza-3, chất ức chế Cathepsin, chất ức chế Caveolin 1, chất đối kháng chemokin CCR2, chất đối kháng chemokin CCR3, chất đối kháng chemokin CCR5, chất kích thích kênh clorua, chất ức chế CNR1, chất ức chế Cyclin D1, chất ức chế Cytochrome P450 7A1, chất ức chế DGAT1/2, chất ức chế Dipeptidyl peptidaza IV, chất điều biến Endosialin, chất ức chế phối tử Eotaxin, chất điều biến protein nền ngoại bào, chất chủ vận thụ thể Farnesoid X, chất ức chế axit béo synthaza, chất chủ vận thụ thể FGF1, phối tử yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi (FGF-15, FGF-19, FGF-21), chất ức chế Galectin-3, chất chủ vận thụ thể Glucagon, chất chủ vận peptit kiểu Glucagon-1, chất chủ vận thụ thể axit mật liên hợp với protein-G 1, chất điều biến Hedgehog (Hh), chất ức chế NS3 proteaza của virus viêm gan C, chất điều biến yếu tố nhân tế bào gan-4 alpha (HNF4A), chất điều biến yếu tố sinh trưởng tế bào gan, chất ức chế HMG CoA reductaza, chất chủ vận IL-10, chất đối kháng IL-17, chất ức chế đồng vận chuyển natri axit mật hồi tràng, chất nhạy với insulin, chất điều biến integrin, chất ức chế liên hợp thụ thể interleukin-1 - kinaza 4 (IRAK4), chất ức chế tyrosin kinaza Jak2, chất kích thích Klotho beta, chất ức chế 5-Lipoxygenaza, chất ức chế Lipoprotein lipaza, thụ thể Liver X, chất kích thích gen LPL, chất đối kháng thụ thể Lysophosphatidat-1, chất ức chế chất tương đồng Lysyl oxidaza 2, chất ức chế Matrix metalloproteinaza (MMP), chất ức chế protein kinaza MEKK-5, chất ức chế đồng amin oxidaza màng (VAP-1), chất ức chế Methionin aminopeptidaza-2, chất điều biến protein liên kết với Methyl CpG 2, chất ức

chế MicroRNA-21(miR-21), chất khử cặp ty thể, chất kích thích protein nền myelin, chất ức chế protein miền NACHT LRR PYD 3 (NLRP3), chất ức chế deacetylaza phụ thuộc NAD sirtuin, chất ức chế NADPH oxidaza (NOX), chất chủ vận thụ thể axit nicotinic 1, chất kích thích thụ thể purin P2Y13, chất ức chế PDE 3, chất ức chế PDE 4, chất ức chế PDE 5, chất điều biến thụ thể PDGF beta, chất ức chế Phospholipaza C, chất chủ vận PPAR alpha, chất chủ vận PPAR delta, chất chủ vận PPAR gama, chất điều biến PPAR gama, chất đối kháng thụ thể được hoạt hóa bởi Proteaza 2, chất điều biến Protein kinaza, chất ức chế protein kinaza liên hợp với Rho, chất ức chế vận chuyển Natri glucoza-2, chất ức chế yếu tố phiên mã SREBP, chất ức chế STAT-1, chất ức chế Stearoyl CoA desaturaza-1, chất kích thích chất ức chế truyền tín hiệu cytokin-1, chất kích thích chất ức chế truyền tín hiệu cytokin-3, yếu tố sinh trưởng chuyển hóa β (TGF- β), Kinaza được hoạt hóa bởi yếu tố sinh trưởng chuyển hóa β 1 (TAK1), chất chủ vận thụ thể hoóc môn tuyến giáp beta, chất đối kháng TLR-4, chất ức chế Transglutaminaza, chất điều biến thụ thể Tyrosin kinaza, chất điều biến GPCR, chất điều biến thụ thể hoóc môn nhân, chất điều biến WNT, hoặc chất điều biến YAP/TAZ.

Các ví dụ không giới hạn về một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung bao gồm:

Các chất ức chế ACE, như enalapril;

Các chất ức chế Axetyl CoA carboxylaza (ACC), như DRM-01, gemcabene, PF-05175157, và QLT-091382;

Các chất chủ vận thụ thể Adenosin, như CF-102, CF-101, CF-502, và CGS21680;

Các chất chủ vận thụ thể Adiponectin, như ADP-355;

Các chất chủ vận thụ thể Amylin/canxitonin, như KBP-042;

Các chất kích thích protein kinaza được hoạt hóa bởi AMP, như O-304;

Các chất đối kháng thụ thể Angiotensin II AT-1, như irbesartan;

Các chất ức chế Autotaxin, như PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380, và AM-063;

Các lipid có hoạt tính sinh học, như DS-102;

Các chất ức chế kiểu thụ thể cannabinoit 1 (CNR1), như nacamizumab và GWP-42004;

Các chất ức chế caspaza, như emricasan;

Các chất ức chế Pan cathepsin B, như VBY-376;

Các chất ức chế Pan cathepsin, như VBY-825;

Các chất đối kháng chemokin CCR2/CCR5, như cenicriviroc;

Các chất đối kháng chemokin CCR2, như propagermanium;

Các chất đối kháng chemokin CCR3, như bertilimumab;

Các chất kích thích kênh clorua, như cobiprostion;

Các chất ức chế Diglyxerit axyltransferaza 2 (DGAT2), như IONIS-DGAT2Rx;

Các chất ức chế Dipeptidyl peptidaza IV, như linagliptin;

Các chất ức chế phối tử Eotaxin, như bertilimumab;

Các chất điều biến protein nền ngoại bào, như CNX-024;

Các chất chủ vận thụ thể Farnesoid X (FXR), như AGN-242266, AKN-083, EDP-305, GNF-5120, LJN-452, LMB-763, axit obeticholic, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M480, PX20606, EYP-001, và INT-2228;

Các chất chủ vận thụ thể Farnesoid X (FXR)/ thụ thể axit mật liên hợp với protein-G 1(TGR5), như INT-767;

Các chất ức chế axit béo synthaza, như TVB-2640;

Các chất ức chế Yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi 19 (rhFGF19)/cytochrome P450 (CYP)7A1, như NGM-282;

Phối tử Yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi 21(FGF-21), như BMS-986171, BMS-986036;

Các chất chủ vận Yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi 21(FGF-21)/peptit kiểu glucagon 1 (GLP-1), như YH-25723;

Các chất ức chế Galectin-3, như GR-MD-02;

Các chất chủ vận peptit kiểu glucagon 1(GLP1R), như AC-3174, liraglutit, semaglutit;

Các chất chủ vận thụ thể axit mật liên hợp với protein-G 1(TGR5), như RDX-009, INT-777;

Các chất ức chế protein sốc nhiệt 47 (HSP47), như ND-L02-s0201;

Các chất ức chế HMG CoA reductaza, như atorvastatin, fluvastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin, và simvastatin;

Các chất chủ vận IL-10, như peg-ilodecakin;

Các chất ức chế đồng vận chuyển natri axit mật hồi tràng, như A-4250, volixibat kali etanolat hydrat (SHP-262), và GSK2330672;

Các chất nhạy với insulin, như, KBP-042, MSDC-0602K, Px-102, RG-125 (AZD4076), và VVP-100X;

Chất chủ vận beta Klotho (KLB)- FGF1c, như NGM-313;

Các chất ức chế 5-Lipoxygenaza, như tielukast (MN-001);

Các chất ức chế Lipoprotein lipaza, như CAT-2003;

Các chất kích thích gen LPL, như alipogen tiparvovec;

Các chất điều biến thụ thể Liver X (LXR), như PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965, và SR-9238;

Các chất đối kháng thụ thể Lysophosphatidat-1, như BMT-053011, UD-009. AR-479, ITMN-10534, BMS-986020, và KI-16198;

Các chất ức chế chất tương đồng Lysyl oxidaza 2, như simtuzumab;

Các chất ức chế Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase/Vascular Adhesion Protein-1 (SSAO/VAP-1), như PXS-4728A;

Các chất ức chế methionin aminopeptidaza-2, như ZGN-839;

Các chất ức chế protein liên kết với methyl CpG 2, như mercaptamin;

Các chất khử cặp ty thể, như 2,4-dinitrophenol;

Các chất kích thích protein nền myelin, như olesoxim;

Các chất ức chế NADPH oxidaza 1/4, như GKT-831;

Các chất chủ vận thụ thể axit nicotinic 1, như ARI-3037MO;

Các chất ức chế protein miền NACHT LRR PYD 3 (NLRP3), như KDDF-201406-03, và NBC-6;

Các chất điều biến thụ thể nhân, như DUR-928;

Các chất kích thích thụ thể purin P2Y13, như CER-209;

Các chất ức chế PDE 3/4, như tielukast (MN-001);

Các chất ức chế PDE 5, như sildenafil;

Các chất điều biến thụ thể PDGF beta, như BOT-191, BOT-509;

Các chất chủ vận PPAR, như elafibranor (GFT-505), MBX-8025, chất đồng phân quang học R pioglitazon được đơteri hóa, pioglitazone, DRX-065, saroglitazar, và IVA-337;

Các chất đối kháng thụ thể được hoạt hóa bởi proteaza 2, như PZ-235;

Các chất điều biến protein kinaza, như CNX-014;

Các chất ức chế protein kinaza liên hợp với Rho (ROCK), như KD-025;

Các chất ức chế vận chuyển Natri glucoza 2 (SGLT2), như ipragliflozin, remogliflozin etabonat, ertugliflozin, dapagliflozin, và sotagliflozin;

Các chất ức chế yếu tố phiên mã SREBP, như CAT-2003 và MDV-4463;

Các chất ức chế Stearoyl CoA desaturaza-1, như aramchol;

Các chất chủ vận thụ thể hoóc môn tuyến giáp beta, như MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;

Các chất đối kháng TLR-4, như JKB-121;

Các chất điều biến thụ thể Tyrosin kinaza, như CNX-025;

Các chất điều biến GPCR, như CNX-023; và

Các chất điều biến thụ thể hoóc môn nhân, như Px-102.

Theo các phương án cụ thể xác định, một hoặc nhiều thuốc điều trị bổ sung được chọn từ A-4250, AC-3174, axit axetylsalixylic, AK-20, alipogen tiparvovec,

aramchol, ARI-3037MO, ASP-8232, bertilimumab, Betain khan, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, CAT-2003, cenicriviroc, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, cobiproston, colesevelam, dapagliflozin, chất đồng phân quang học R pioglitazon được đoteri hóa, 2,4-dinitrophenol, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, elafibranor (GFT-505), emricasan, enalapril, ertugliflozin, evogliptin, F-351, GKT-831, GNF-5120, GR-MD-02, hydroclothiazit, este etyl icosapent, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, ipragliflozin, Irbesarta, propagermanium, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, metformin, sildenafil, LC-280126, linagliptin, liraglutit, LJN-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, mercaptamin, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, namacizumab, NC-101, ND-L02-s0201, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, axit norursodeoxycholic, O-304, axit obeticholic, 25HC3S, olesoxim, PAT-505, PAT-048, peg-ilodecakin, pioglitazon, pirfenidon, PRI-724, PX20606, Px-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, remogliflozin etabonat, RG-125 (AZD4076), saroglitazar, semaglutit, simtuzumab, solitromyxin, sotagliflozin, các statin (atorvastatin, fluvastatin, pitavastatin, pravastatin, rosuvastatin, simvastatin), TCM-606F, TEV-45478, tielukast (MN-001), TLY-012, TRX-318, TVB-2640, UD-009, axit ursodeoxycholic, VBY-376, VBY-825, VK-2809, vismodegib, volixibat kali etanolat hydrat (SHP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974, và ZGN-839.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau được bao gồm để chứng minh các phương án cụ thể của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rằng các kỹ thuật được bộc lộ trong các ví dụ kèm theo đại diện cho các kỹ thuật hoạt động tốt trong việc thực hiện sáng chế, và do đó có thể được coi là cấu thành các phương án thực hiện cụ thể. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, nhờ sáng chế, có thể nhận thấy rằng nhiều thay đổi có thể được thực hiện theo các phương án cụ thể được bộc lộ và vẫn thu được kết quả tương tự mà không vượt ra khỏi phạm vi của sáng chế.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế theo các quy trình của các sơ đồ và các ví dụ sau, bằng cách sử dụng các vật liệu thích hợp và được lấy làm ví dụ thêm bằng các ví dụ cụ thể sau. Ngoài ra, bằng cách sử dụng các quy trình được mô tả trong

bản mô tả này, kết hợp với các kỹ năng bình thường trong lĩnh vực này, các hợp chất bổ sung theo sáng chế được yêu cầu bảo hộ trong bản mô tả này có thể dễ dàng điều chế được. Hợp chất được minh họa trong các ví dụ, tuy nhiên, không được coi là loại duy nhất để xem xét dưới dạng sáng chế. Các ví dụ thực hiện sáng chế cũng mô tả chi tiết việc điều chế hợp chất theo sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dễ dàng hiểu rằng các biến đổi đã biết đối với các điều kiện và các quy trình điều chế sau có thể được sử dụng để điều chế các hợp chất này. Để tổng hợp các hợp chất là các phương án được mô tả trong sáng chế, việc kiểm tra cấu trúc của các hợp chất được tổng hợp sẽ tạo ra mã nhận dạng của mỗi nhóm thể. Mã nhận dạng của thành phẩm thường làm rõ mã nhận dạng của các nguyên liệu cần thiết bằng quy trình kiểm tra đơn giản, nhờ các ví dụ trong bản mô tả này. Các hợp chất theo sáng chế thường được tách ra dưới dạng các muối được dụng, như các muối được mô tả ở trên. Nói chung, các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này thường ổn định và có thể tách ra ở nhiệt độ và áp suất trong phòng.

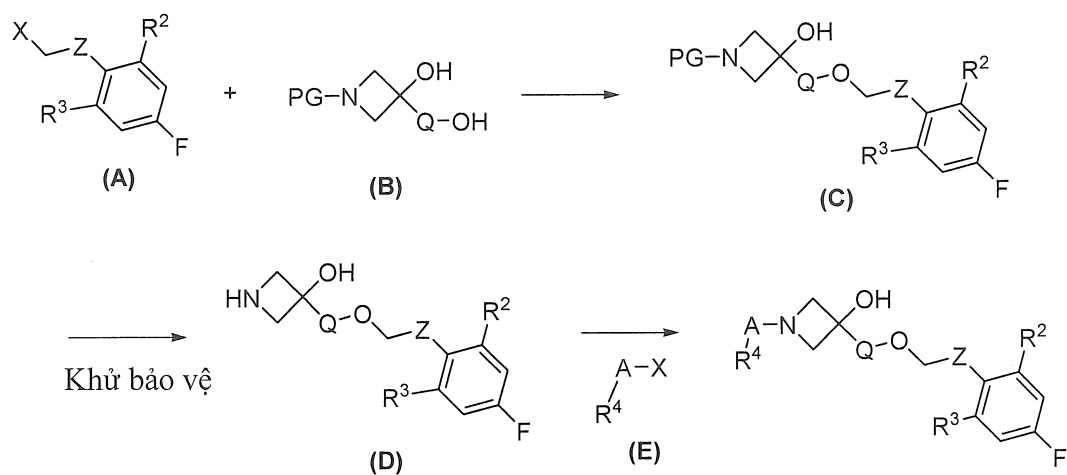
Các bazơ tự do amin tương ứng với các muối được tách có thể được tạo ra bằng cách trung hòa bằng bazơ thích hợp, như dung dịch nước natri hydro cacbonat, natri cacbonat, natri hydroxit và kali hydroxit, và chiết bazơ không chứa amin được giải phóng ra trong dung môi hữu cơ, tiếp theo là làm bay hơi. Bazơ không chứa amin, tách ra theo cách này, có thể được chuyển hóa tiếp thành muối được dụng khác bằng cách hòa tan trong dung môi hữu cơ, tiếp theo là bổ sung axit thích hợp và tiếp theo làm bay hơi, kết tủa hoặc kết tinh. Các axit tự do carboxylic tương ứng với các muối được tách có thể được tạo ra bằng cách trung hòa bằng axit thích hợp, như dung dịch nước axit clohydric, natri hydro sulfat, natri dihydro phosphat, và chiết axit tự do carboxylic được giải phóng ra trong dung môi hữu cơ, tiếp theo là làm bay hơi. Axit carboxylic, tách ra theo cách này, có thể được chuyển hóa tiếp thành muối được dụng khác bằng cách hòa tan trong dung môi hữu cơ, tiếp theo là bổ sung bazơ thích hợp và tiếp theo làm bay hơi, kết tủa hoặc kết tinh.

Việc điều chế các hợp chất theo sáng chế được thể hiện ở dưới. Trừ khi có quy định khác trong các sơ đồ, các biến sẽ có nghĩa tương tự như được mô tả ở trên. Các ví dụ được trình bày ở dưới được dự tính để minh họa các phương án cụ thể của sáng chế. Các nguyên liệu, đơn thể và chất phản ứng thích hợp được sử dụng trong quá trình tổng hợp như được mô tả ở dưới là có bán trên thị trường từ Sigma-Aldrich hoặc Acros

Organics, ví dụ, hoặc có thể được điều chế theo cách thông thường bằng các quy trình được mô tả trong tài liệu chuyên ngành, ví dụ, trong "March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, và Structure", 5th Edition; John Wiley & Sons hoặc T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis và Application", 2nd edition, Wiley-VCH 2003; Fieser et al. "Fiesers' Reagents for organic Synthesis" John Wiley & Sons 2000.

Sơ đồ tổng hợp chung

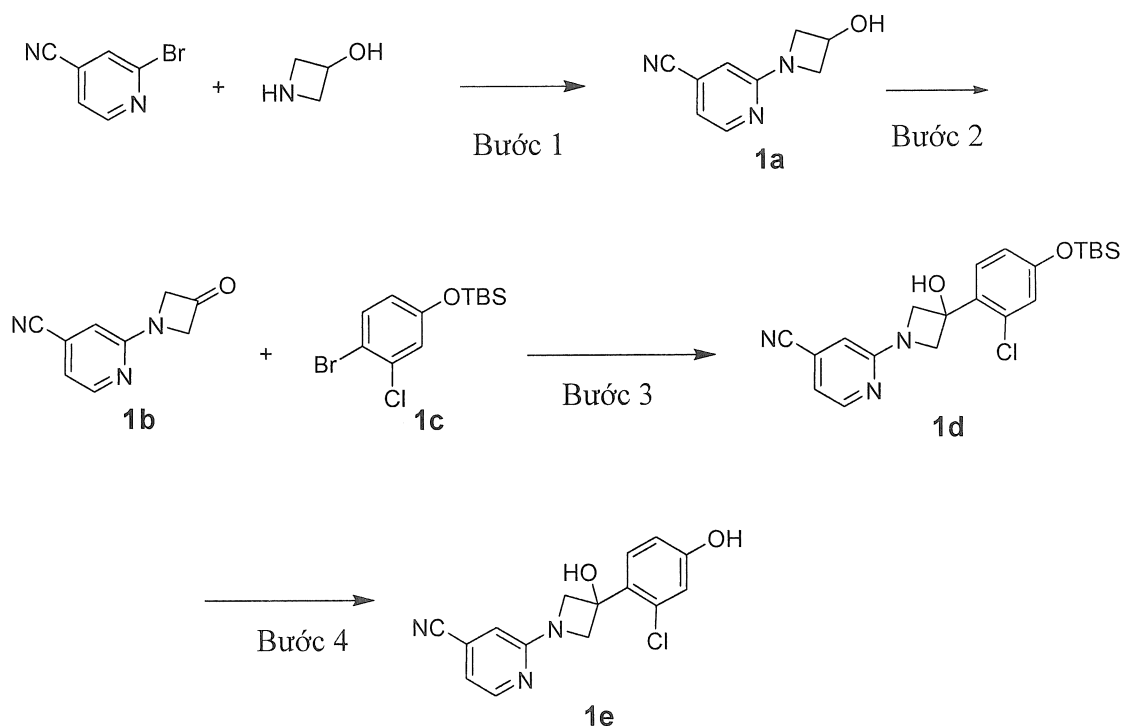
Hợp chất có công thức (I) trong đó Y là N có thể được tổng hợp theo sơ đồ tổng hợp chung sau.



Trong sơ đồ tổng hợp chung ở trên, X là nhóm rời chuyển, PG là nhóm bảo vệ, và các biến còn lại là như được xác định trong bản mô tả này. Hợp chất có công thức (C) có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức (A) phản ứng với hợp chất có công thức (B) với sự có mặt của bazơ để tạo ra hợp chất có công thức (C). Hợp chất có công thức (D) được tạo ra từ hợp chất có công thức (C) trong điều kiện khử bảo vệ thích hợp. Hợp chất có công thức (D) có thể được kết hợp với hợp chất có công thức (E) với sự có mặt của bazơ để tạo ra hợp chất có công thức (I).

Các hợp chất có công thức (A) và (B) thích hợp có thể được điều chế theo các phương pháp cụ thể được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế sau hoặc bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Theo một số phương án, X là halo. Theo một số phương án, PG là BOC.

Quy trình tổng hợp chung 1

Bước 1: 2-(3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1a**)

Kali cacbonat (4,6 g, 33 mmol) được bổ sung vào 2-clo-4-pyridincarbonitril (2,0 g, 14,4 mmol) và 3-hydroxyazetidin hydroclorua (1,7 g, 16 mmol) trong NMP (12 mL) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được gia nhiệt đến 80°C trong 2 giờ trong ống bịt kín. Hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, xử lý bằng H₂O và chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô bằng Na₂SO₄ và cô. Tinh chế bằng sắc ký (Cột silic oxit ISCO 24 g) bằng cách sử dụng gradien 1:1 hexan/ EtOAc – 100% EtOAc thu được 2-(3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1a**).

Bước 2: 2-(3-oxoazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1b**)

N-metylmorpholin (1,9 g, 16 mmol) tiếp theo tetrapropylamoni peruthenat (190 mg, 0,5 mmol) được bổ sung vào 2-(3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (1,9 g, 10,7 mmol) trong CH₂Cl₂ (200 mL) với rây phân tử (1 g, dạng bột hoạt tính, 4 Å) ở nhiệt độ trong phòng. Sau 20 phút có khuấy mạnh, hỗn hợp được lọc qua đệm Celite và cô. Tinh chế bằng sắc ký (cột silic oxit ISCO 24 g) bằng cách sử dụng gradien 100% hexan – 1:3 hexan/EtOAc thu được 2-(3-oxoazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1b**).

Tổng hợp 1c: (4-bromo-3-clophenoxy)(tert-butyl)dimetylsilan (**1c**)

Dung dịch chứa 4-bromo-3-clophenol (250 g, 1,21 mol) và TBSCl (272 g, 1,81 mol) trong DMF (2,0 L) được bổ sung imidazol (164 g, 2,41 mol). Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 30°C trong 12 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào H₂O (3 L) và chiết bằng EtOAc (2 L) hai lần. Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng H₂O (1 L) và nước muối (1 L), sấy khô trên Na₂SO₄, lọc và cô trong chân không. Tinh chế bằng sắc ký trên silicagel được giải hấp bằng ete dầu hỏa thu được (4-bromo-3-clophenoxy)(tert-butyl)dimetylsilan (**1c**).

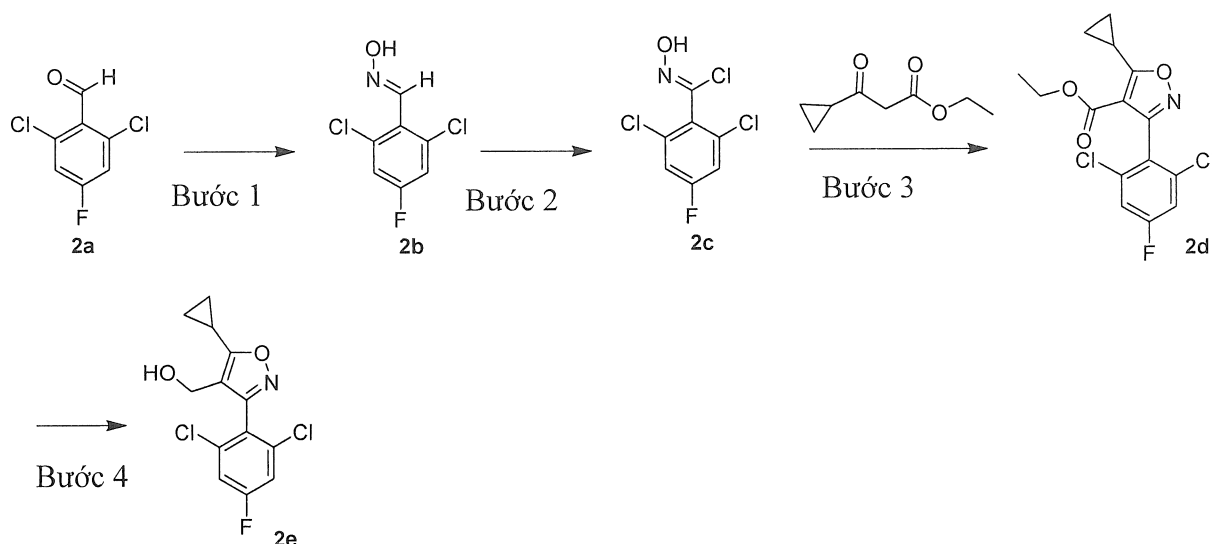
Bước 3: 2-(3-(4-((tert-Butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1d**)

Phức chất isopropylmagie clorua lithi clorua (1,3 ml, 1,7 mmol, 1,5 M trong THF) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt vào (4-bromo-3-clophenoxy)(tert-butyl)dimetylsilan (**1c**, 370 mg, 1,15 mmol) trong THF (0,9 ml) ở nhiệt độ trong phòng. Sau 3 giờ, hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và xử lý bằng 2-(3-oxoazetidin-1-yl)isonicotinonitril (199 mg, 1,15 mmol) từng phần dưới dạng chất rắn. Sau 1 giờ, phản ứng được dập tắt bằng H₂O và EtOAc. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô bằng Na₂SO₄ và cô. Tinh chế bằng sắc ký (Cột silic oxit ISCO 4 g) bằng cách sử dụng gradien 100% hexan – 1:3 hexan/EtOAc thu được 2-(3-(4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1d**).

Bước 4: 2-(3-(2-Clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1e**)

Dung dịch chứa 2-(3-(4-((tert-butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1d**) (180 mg, 0,43 mmol) trong 2-MeTHF (4 mL) được bổ sung dung dịch TBAF 1 M trong THF (0,6 mL, 0,59 mmol) ở nhiệt độ trong phòng. Sau 30 phút, hỗn hợp được dập tắt bằng nước, chiết bằng EtOAc. Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (10 mL), sấy khô bằng Na₂SO₄, và cô thu được 2-(3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (**1e**), chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Quy trình tổng hợp chung 2



Bước 1: 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt oxim (2b)

Huyền phù chứa 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt (6,0 g, 31,2 mmol), $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (4,3g, 62,4 mmol), Na_2CO_3 (8,3g, 78,7 mmol) trong etanol-nước (50 ml, 5:1) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không và cặn được xử lý bằng nước tiếp theo là chiết bằng etyl axetat. Lớp etyl axetat được rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 , và cô thu được 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt oxim (2b).

Bước 2: 2,6-diclo-4-flo-N-hydroxybenzimidoyl clorua (2c)

Dung dịch chứa 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt oxim (2b, 5,5g, 26,7mmol) trong DMF (10 mL) được bổ sung N-closuxinimit (4,3 g, 32,0 mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp dập tắt bằng H_2O và chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na_2SO_4 khan, lọc và cô thu được 2,6-diclo-4-flo-N-hydroxybenzimidoyl clorua (2c), chất này được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 3: etyl 5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-carboxylat (2d)

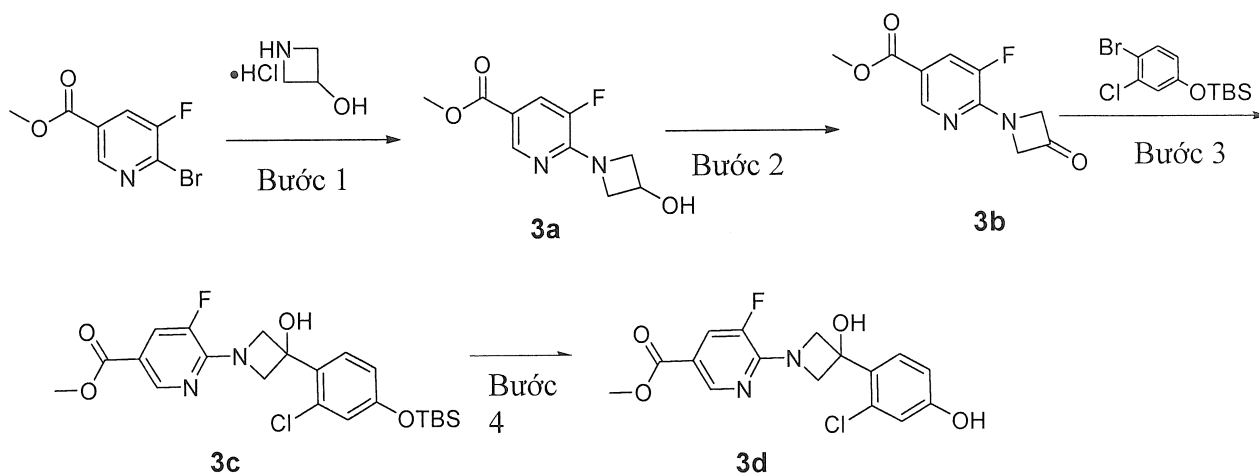
Dung dịch chứa este etyl của axit 3-xyclopropyl-3-oxo-propionic (5,0g, 32,0mmol) trong 30 mL THF được bổ sung Et_3N (10,8g, 107,2mmol), hỗn hợp phản ứng thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, tiếp theo hỗn hợp phản ứng từ bước trước đó (2,6-diclo-4-flo-N-hydroxybenzimidoyl clorua (2c)) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt. Hỗn hợp thu được được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung môi được loại bỏ và cặn được phân đoạn bằng 100 mL nước và 50 mL EtOAc.

Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô, lọc, cô và tinh chế bằng cột silicagel (PE/EA=10/1) thu được ethyl 5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-carboxylat (**2d**).

Bước 4: (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (**2e**)

Dung dịch chứa ethyl 5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-carboxylat (**2d**, 3,4g, 9,3mmol) trong THF (30ml) được bổ sung LiAlH_4 (11,1ml, 11,1mmol, 1 M trong hexan) bằng cách nhỏ giọt ở 0°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 30 phút. 1,0 ml nước được bổ sung, tiếp theo 2,0 g NaOH 10%, 3,0 mL nước được bổ sung. Hỗn hợp được lọc và cô. Chất thô được tinh chế bằng cột silicagel (PE/EA=2/1) thu được (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (**2e**). LCMS (ESI): m/z 302,0 ($\text{M}+1$)⁺. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,22-7,20(d, $J=8,5\text{Hz}$, 2H), 4,42-4,41(d, $J=6,0\text{Hz}$, 2H), 2,19-2,16(m, 1H), 1,41-1,39(m, 1H), 1,29-1,26(m, 2H), 1,16-1,13(m, 2H).

Quy trình tổng hợp chung 3



Bước 1: metyl 5-flo-6-(3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinat (**3a**)

Hỗn hợp của azetidin-3-ol hydroclorua (2,8 g, 26 mmol), metyl 6-bromo-5-flonicotinat (5,0 g, 21 mmol), và kali cacbonat (7,4 g, 53 mmol) trong DMF (100 mL) được gia nhiệt ở 65°C trong 19 giờ. Hỗn hợp này được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) tạo ra sản phẩm mong muốn. LCMS-ESI⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ tính toán cho $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$: 227,1; phát hiện: 227,0.

Bước 2: metyl 5-flo-6-(3-oxoazetidin-1-yl)nicotinat (**3b**)

Dung dịch chứa methyl 5-fluoro-6-(3-hydroxyazetidin-1-yl)nicotinat (4,7 g, 21 mmol) trong diclometan (270 mL) được xử lý bằng Dess-Martin periodinan (9,7 g, 23 mmol). Sau 6 giờ khuấy ở nhiệt độ trong phòng, phần Dess-Martin periodinan khác (1,5 g) được bổ sung, và hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi khuấy qua đêm, hỗn hợp được xử lý bằng dung dịch nước natri thiosulfat và dung dịch nước bão hòa natri hydro cacbonat. Pha nước được chiết ba lần bằng diclometan. Các phần chiết đã thu gom được sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được tinh chế hai lần bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được chất mong muốn. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H₂O+H]⁺ tính toán cho C₁₀H₁₂FN₂O₄: 243,1; phát hiện: 243,0.

Bước 3: methyl 6-(3-(4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (3c)

Dung dịch chứa (4-bromo-3-clophenoxy)(tert-butyl)dimethylsilan (4,5 g, 14 mmol) trong 2-methyltetrahydrofuran (14 mL) được xử lý bằng dung dịch isopropylmagie clorua/lithi clorua (Aldrich, 1,3M, 11 mL, 15 mmol) bằng cách nhỏ giọt qua xylanh. Hỗn hợp thu được được khuấy trong khoảng một giờ và tiếp theo được làm lạnh trong bể nước đá. Methyl 5-fluoro-6-(3-oxoazetidin-1-yl)nicotinat (2,0 g, 8,9 mmol) được bổ sung từng phần trong 2 giờ. Hỗn hợp được để qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được dập tắt bằng dung dịch nước axit xitric 10%. Pha nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chất hữu cơ đã thu gom được rửa một lần bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm thu được sản phẩm mong muốn thô được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₂₂H₂₉ClFN₂O₄Si: 467,2; phát hiện: 467,1.

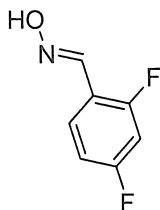
Bước 4: methyl 6-(3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (3d)

Chất thô methyl 6-(3-(4-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (xấp xỉ 10 mmol) được hấp thụ vào tetrahydrofuran (70 mL) và xử lý bằng dung dịch tetra-n-butylamoni florua (Aldrich, 1,0 M trong THF, 18 mL, 18 mmol). Hỗn hợp được để ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi được coi là kết thúc bằng LC/MS và tiếp theo tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel)

thu được chất trung gian **3d**. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₁₆H₁₅ClFN₂O₄: 353,1; phát hiện: 353,0.

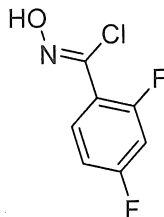
Ví dụ 1: 5-((4-Bromo-3-clophenoxy)metyl)-4-xyclopropyl-1-(2,6-diclophenyl)-1H-pyrazol

Bước 1: 2,4-diflobenzaldehyt oxim



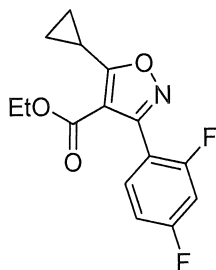
Hợp chất này được tổng hợp theo quy trình như được mô tả trong Quy trình tổng hợp chung 2, Bước 1 bắt đầu bằng 2,4-diflobenzaldehyt (10 g, 70 mmol).

Bước 2: 2,4-diflo-N-hydroxybenzimidoyl clorua



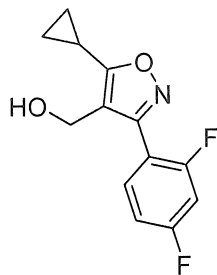
Hợp chất này được tổng hợp theo quy trình như được mô tả trong Quy trình tổng hợp chung 2, Bước 2 bắt đầu bằng 2,4-diflobenzaldehyt oxim (9 g, 57 mmol).

Bước 3: etyl 5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-carboxylat



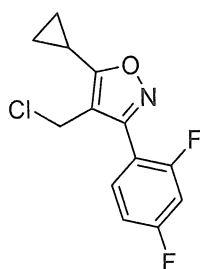
Hợp chất này được tổng hợp theo quy trình như được mô tả trong Quy trình tổng hợp chung 2, Bước 3 bắt đầu bằng 2,4-diflo-N-hydroxybenzimidoyl clorua (11 g, 57 mmol).

Bước 4: (5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metanol



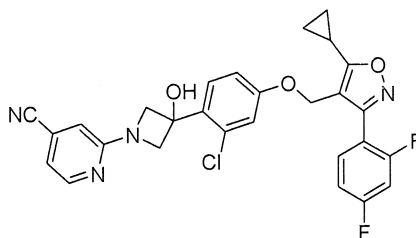
Hợp chất này được tổng hợp theo quy trình như được mô tả trong Quy trình tổng hợp chung 2, Bước 4 bắt đầu bằng ethyl 5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-carboxylat (2,2 g, 8 mmol).

Bước 5: 4-(Clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol



Dung dịch chứa (5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (113 mg, 0,45 mmol) trong CH_2Cl_2 (2,3 mL) được bổ sung thionyl clorua (164 μL , 2,3 mmol) ở 0°C . Hỗn hợp được gia nhiệt hồi lưu trong 15 phút và làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được cô *trong chân không*. CH_2Cl_2 khác (5 mL) được bổ sung và hỗn hợp lại được cô. Quy trình này được lặp lại lần ba để loại bỏ thionyl clorua dư. Cặn thô được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

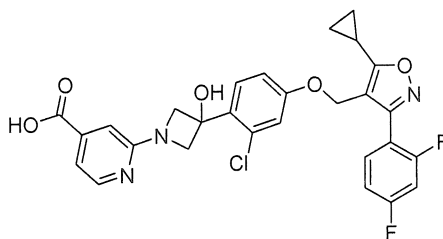
Bước 6: 2-(3-(2-Cl-4-((5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril



4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol (113 mg, 0,45 mmol), 2-(3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (Chất trung gian 1e) (149 mg, 0,5 mmol) và K_2CO_3 (124 mg, 0,9 mmol) được kết hợp trong DMF khan (2,3 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được gia nhiệt đến 65°C trong nitơ. Sau

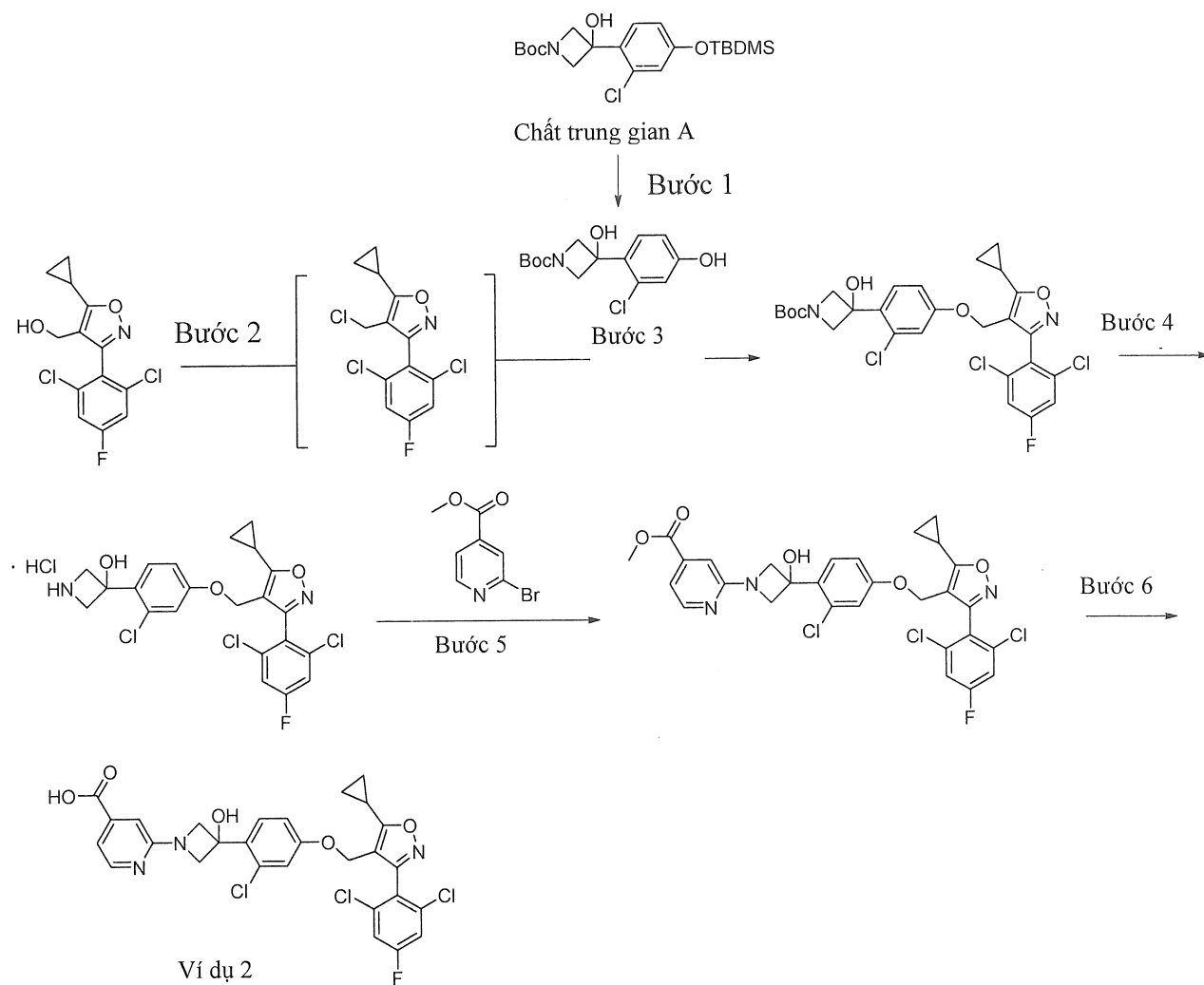
2 giờ, dung dịch được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, dập tắt bằng H₂O và chiết bằng EtOAc. Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng nước muối, sấy khô trên Na₂SO₄ khan, lọc và cô. Tinh chế bằng sắc ký: ISCO (cột silic oxit 12g) bằng cách sử dụng gradien 100% CH₂Cl₂ – 3:1 CH₂Cl₂ / hỗn hợp trộn sẵn 60:35:5 CH₂Cl₂:Et₂O:MeOH thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 7: Axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic (Ví dụ 1)



Dung dịch nước natri hydroxit 10 M (0,67 ml) được bổ sung vào 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinonitril (210 mg, 0,39 mmol) trong ethanol (2 mL) và H₂O (2 mL) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được gia nhiệt ở 60°C trong 90 phút trong ống bịt kín. Hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và điều chỉnh độ pH đến khoảng 5 bằng HCl 1 M gây kết tủa ra khỏi dung dịch. Dung dịch được lọc và chất rắn được rửa bằng Et₂O và sấy khô *trong chân không* thu được axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,4-diflophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic (**Ví dụ 1**). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 13,41 (s, 1H), 8,19 (dd, *J* = 5,2, 0,8 Hz, 1H), 7,59 (td, *J* = 8,5, 6,5 Hz, 1H), 7,49 – 7,34 (m, 2H), 7,28 – 7,15 (m, 1H), 7,05 – 6,96 (m, 2H), 6,88 – 6,74 (m, 2H), 6,20 (s, 1H), 5,00 (s, 2H), 4,47 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H), 4,18 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 2,40 (tt, *J* = 8,3, 5,3 Hz, 1H), 1,20 – 1,00 (m, 4H). MS (ESI⁺) (*m/z*) 554,0 (M + H).

Ví dụ 2: Axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic



Tổng hợp Chất trung gian A:

Dung dịch chứa (4-bromo-3-clophenoxy)(tert-butyl)dimetylsilan (**1c**, 60 g, 187 mmol) trong THF (500 mL) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt n-BuLi (2,5 M, 75 mL) ở -78°C trong N₂. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -78°C trong 1 giờ. Tiếp theo, dung dịch chứa tert-butyl 3-oxoazetidin-1-carboxylat (27 g, 155 mmol) trong THF (500 mL) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt vào hỗn hợp ở -78°C. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 20°C trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào H₂O (1 L) và chiết bằng EtOAc (2 L) ba lần. Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng nước (1 L), sấy khô trên Na₂SO₄, lọc và cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel được giải hấp bằng 10:1 ete dầu hỏa:EtOAc thu được 3-(4-((tert butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)azetidin-3-ol (**Chất trung gian A**).

Bước 1: tert-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat

Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(4-((*tert*-butyldimetylsilyl)oxy)-2-clophenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (**Chất trung gian A**, 1,27 g, 3,07 mmol) trong THF (50,0 mL) ở -10°C được bổ sung 1M TBAF trong THF (3,68 mL, 3,68 mmol) bằng cách nhỏ giọt. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ và được cô thu được *tert*-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Bước 2: 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol

Dung dịch chứa (5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metanol (**2e**); 845 mg, 2,80 mmol) trong DCM (28,0 mL) được làm lạnh đến 0°C. Thionyl clorua (1,02 mL, 14,0 mmol) được bổ sung và dung dịch được gia nhiệt ở 45°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đến khô và được sử dụng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 3: *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat

Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (922 mg, 3,07 mmol) trong DMF (28,0 mL) được bổ sung vào chất thô 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol, tiếp theo là bổ sung kali cacbonat (773 mg, 5,60 mmol). Hỗn hợp được gia nhiệt ở 60°C trong 8 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3x). Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng nước, nước muối, sấy khô trên MgSO₄, lọc và cô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel (DCM/Et₂O/MeOH) thu được *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [(M+H)-BOC]⁺ tính toán 483,04; phát hiện 483,04.

Bước 4: 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol

Dung dịch chứa *tert*-butyl 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-carboxylat (1,52 g, 2,60 mmol) trong DCM (130 mL) được bổ sung HCl 4 N trong 1,4-dioxan (26,0 mL, 104 mmol). Dung dịch được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2,5 giờ và được cô đến khô thu được 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-

yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol dưới dạng muối hydroclorua, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 483,04; phát hiện 483,03.

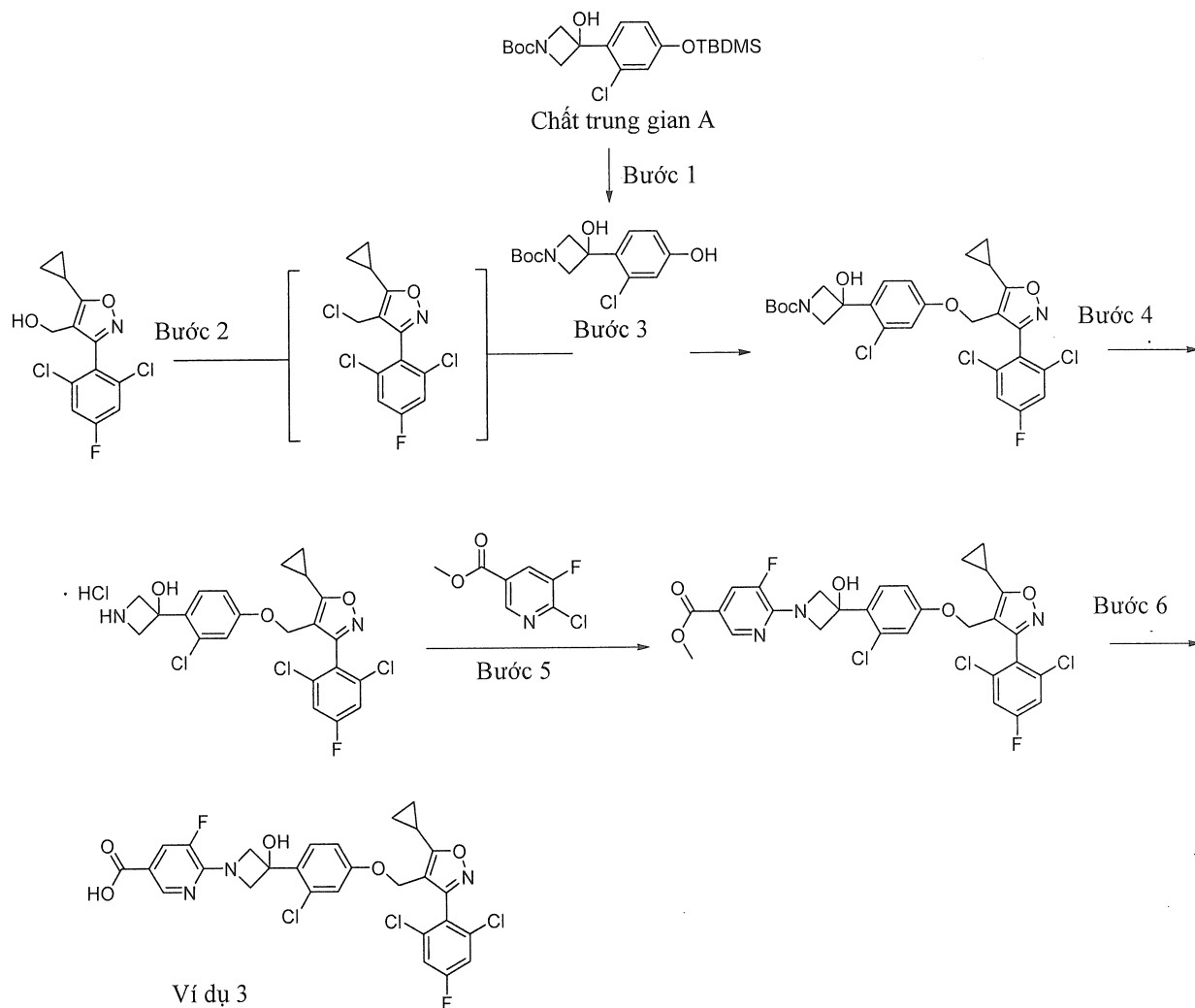
Bước 5: metyl 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinat

Hỗn hợp của metyl 2-bromopyridin-4-carboxylat (0,466 g, 2,16 mmol), 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol dưới dạng muối hydroclorua (1,02 g, 1,96 mmol), xesi cacbonat (2,56 g, 7,85 mmol), (±)-BINAP (0,244 g, 0,392 mmol), paladi axetat trime (88,0 mg, 0,131 mmol) và 1,4-dioxan (40,0 mL) được gia nhiệt ở 85°C trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, lọc qua celite và tinh chế bằng sắc ký silicagel (axeton / hexan) thu được metyl 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinat. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 618,08; phát hiện 618,20.

Bước 6: 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic acid (Ví dụ 2).

Dung dịch chứa 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinat (617 mg, 0,997 mmol) trong THF / nước (1:1, 10 mL) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (83,6 mg, 1,99 mmol). Dung dịch được khuấy trong 90 phút, cô để loại bỏ THF và pha loãng bằng nước. Axit axetic (0,23 mL, 3,99 mmol) được bổ sung trong khi khuấy dẫn đến kết tủa các chất rắn. Các chất rắn được lọc, rửa bằng nước, IPA và ete, và sấy khô trong chân không thu được axit 2-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)isonicotinic (Ví dụ 2). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 604,06; phát hiện 604,15. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,47 (br s, 1H), 8,18 (dd, *J* = 5,3, 0,8 Hz, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,02 (dd, *J* = 5,3, 1,4 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,86 (br s, 1H), 6,75 (dd, *J* = 8,6, 2,6 Hz, 1H), 6,20 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,49 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H), 4,19 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H), 2,46 – 2,37 (m, 1H), 1,23 – 1,04 (m, 4H).

Ví dụ 3: Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic



Các bước 1-4 là như được mô tả đối với tổng hợp **Ví dụ 2**.

Bước 5: metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat

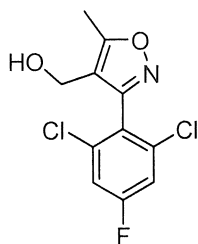
Hỗn hợp của metyl 6-clo-5-flopyridin (235 mg, 1,24 mmol), 3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)azetidin-3-ol dưới dạng muối hydroclorua (495 mg, 0,952 mmol) và kali cacbonat (1,05 g, 7,61 mmol) trong DMF (30,0 mL) được gia nhiệt ở 60°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô, pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3x). Các lớp hữu cơ đã thu gom được rửa bằng nước muối, sấy khô trên MgSO₄, lọc và cô. Hỗn hợp thô này được tinh chế bằng sắc ký silicagel (DCM / Et₂O / MeOH) thu được metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-

3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 636,07; phát hiện 635,96.

Bước 6: Axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (Ví dụ 3)

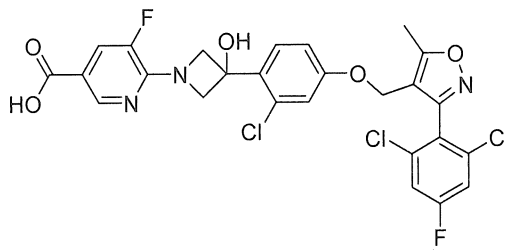
Dung dịch chứa metyl 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (364 mg, 0,571 mmol) trong THF / nước (1:1, 20,0 mL) được bổ sung lithi hydroxit monohydrat (41,3 mg, 0,984 mmol). Dung dịch được khuấy trong 18 giờ, cô để loại bỏ THF và pha loãng bằng nước (10,0 mL). Độ pH được điều chỉnh đến 3 bằng cách sử dụng HCl 1N. Các chất rắn được lọc, rửa bằng nước, hòa tan trong ACN / nước và đông khô nhanh thu được axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (**Ví dụ 3**). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 622,05; phát hiện 622,12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,84 (bs, 1H), 8,44 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,79 – 7,63 (m, 3H), 7,39 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,6, 2,6 Hz, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,70 (d, J = 9,8 Hz, 2H), 4,34 (d, J = 9,5 Hz, 2H), 2,50-2,43 (m, 1H), 1,22 – 1,08 (m, 4H).

Chất trung gian 4: (3-(2,6-diclo-4-flophenyl)-5-metylisoxazol-4-yl)metanol



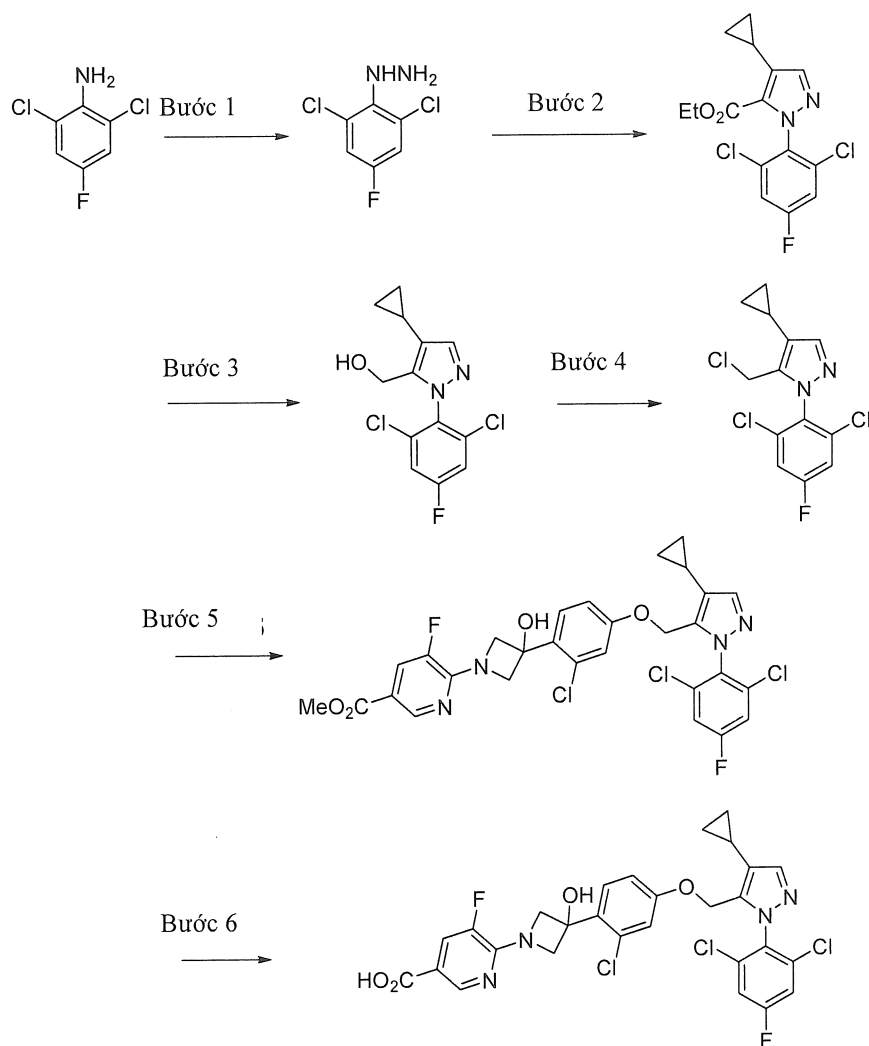
Theo **Quy trình tổng hợp chung 2**, bắt đầu bằng 2,6-diclo-4-flobenzaldehyt trong **Bước 1** và bằng cách sử dụng etyl axetoaxetat trong **Bước 3**, (3-(2,6-diclo-4-flophenyl)-5-metylisoxazol-4-yl)metanol (Chất trung gian 4) được tổng hợp. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 276,00; phát hiện 276,05.

Ví dụ 4: Điều chế axit 6-(3-(2-clo-4-((3-(2,6-diclo-4-flophenyl)-5-metylisoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic



Theo quy trình chung được mô tả trong ví dụ 3, bằng cách sử dụng chất trung gian 4, axit 6-(3-(2-clo-4-((3-(2,6-diclo-4-flophenyl)-5-metylisoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic được tổng hợp. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán 596,04; phát hiện 596,12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,82 (bs, 1H), 8,44 (t, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,74 – 7,66 (m, 3H), 7,39 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,75 (dd, *J* = 8,7, 2,6 Hz, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,69 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H), 4,34 (d, *J* = 9,8 Hz, 2H), 2,57 (s, 3H).

Ví dụ 5: Axit 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic



Ví dụ 5

Bước 1: (2,6-diclo-4-flophenyl)hydrazin hydroclorua

Dung dịch - 5°C (nhiệt độ nội, bể nước đá/axeton) chứa 2,6-diclo-4-floanilin (3,0 g, 17 mmol) trong axit clohydric 37% (30 mL) và axit trifloaxetic (20 mL) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt dung dịch nước natri nitrit (1,4 g, 20 mmol, 6 mL nước). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 90 phút, tiếp theo dung dịch chứa thiếc clorua dihydrat (5,6 g, 25 mmol) trong axit clohydric 37% (16 mL) được bổ sung trong 15 phút, giữ nhiệt độ nội $\leq 2^{\circ}\text{C}$. Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được lọc và chất rắn đã thu gom được rửa bằng rượu isopropylic và sấy khô trong chân không thu được hợp chất nêu ở đề mục này. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán for C₆H₆Cl₂FN₂: 195,0; phát hiện: 194,9.

Bước 2: Etyl 4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-carboxylat

N,N-Dimetylformamit dimetyl axetal (2,7 mL, 20 mmol) được bổ sung vào etyl 3-xyclopropyl-2-oxopropanoat (Synnovator, 1,6 g, 10 mmol) và khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp tiếp theo được cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được bổ sung liên tiếp ethanol (40 mL), (2,6-diclo-4-flophenyl)hydrazin hydroclorua (2,6 g, 11 mmol), và axit clohydric 37% (150 μL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong bốn giờ, tiếp theo là 2 ngày gia nhiệt hồi lưu. Hỗn hợp đã làm lạnh được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được hợp chất nêu ở đề mục này. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₁₅H₁₄Cl₂FN₂O₂: 343,0; phát hiện: 343,1.

Bước 3: (4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metanol

Dung dịch chứa etyl 4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-carboxylat (1,5 g, 4,4 mmol) in tetrahydrofuran (50 mL) được làm lạnh đến nhiệt độ nằm trong khoảng từ -12 đến -10°C. Dung dịch chứa lithi nhôm hydrua (Aldrich, 2 M trong tetrahydrofuran, 2,6 mL, 5,2 mmol) được bổ sung bằng cách nhỏ giọt. Hỗn hợp được khuấy trong 35 phút. Hỗn hợp được dập tắt (quy trình Fieser) và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được hợp chất nêu ở đề mục này. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₁₃H₁₂Cl₂FN₂O: 301,0; phát hiện: 301,1.

Bước 4: 5-(clometyl)-4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol

Thionyl clorua (110 μL , 1,5 mmol) được bổ sung dung dịch chứa (4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metanol (0,15 g, 0,51 mmol)

trong diclometan (2,5 mL). Hỗn hợp được gia nhiệt ở 60°C trong 40 phút và tiếp theo cô trong điều kiện áp suất giảm thu được sản phẩm mong muốn thô, được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₁₃H₁₁Cl₃FN₂: 319,0; phát hiện: 319,1.

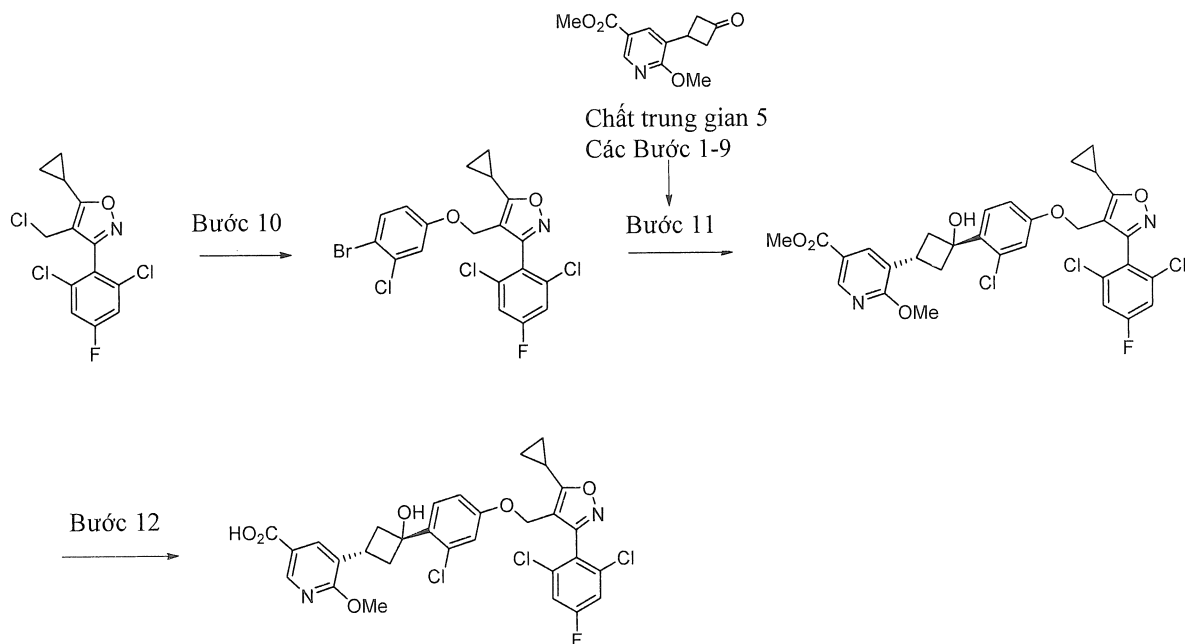
Bước 5: metyl 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat

Dung dịch chứa 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol (0,16 g, 0,51 mmol) trong DMF (3 mL) được xử lý bằng metyl 6-(3-(2-clo-4-hydroxyphenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (0,20 g, 0,56 mmol), natri iodua (0,13 g, 0,86 mmol), và kali cacbonat (0,14 g, 1,0 mmol). Hỗn hợp được gia nhiệt 65°C qua đêm và tiếp theo tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được chất mong muốn. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₂₉H₂₄Cl₃F₂N₄O₄: 635,1; phát hiện: 635,2.

Bước 6: Axit 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (Ví dụ 5)

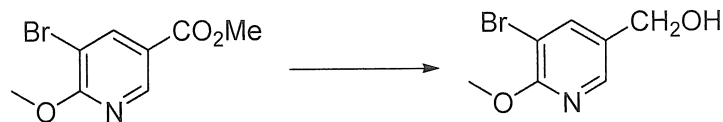
Hỗn hợp của metyl 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinat (0,35 g, 0,39 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (49 mg, 1,2 mmol) được hấp thụ trong 1:1 nước tetrahydrofuran (6 mL), và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi kết thúc, hỗn hợp được axit hóa bằng axit axetic băng và cô. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được axit 6-(3-(2-clo-4-((4-xyclopropyl-1-(2,6-diclo-4-flophenyl)-1H-pyrazol-5-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (**Ví dụ 5**). LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₂₈H₂₂Cl₃F₂N₄O₄: 621,1; phát hiện: 621,2. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,85 (s, 1H), 8,44 (t, J = 1,6 Hz, 1H), 7,76 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,70 (dd, J = 12,7, 1,7 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 6,80 (dd, J = 8,7, 2,6 Hz, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,69 (d, J = 9,8 Hz, 2H), 4,34 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 1,89 (tt, J = 8,4, 5,1 Hz, 1H), 0,93 (m, 2H), 0,65 (m, 2H).

Ví dụ 6: Axit 5-((1*S*,3*S*)-3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxycyclobutyl)-6-metoxynicotinic



Tổng hợp Chất trung gian 5

Bước 1: (5-bromo-6-metoxypyridin-3-yl)metanol



Dung dịch chứa methyl 5-bromo-6-metoxynicotinat (52,8 g, 215,0 mmol) trong THF (500 mL) được bổ sung DIBAL-H (1,0 M, trong toluen) (344 ml, 344 mmol) ở -20°C. Tiếp theo hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được dập tắt bằng dung dịch bão hòa NH_4Cl và pha loãng bằng etyl axetat. Phần hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô trên natri sulfat khan, lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (PE/EtOAc = 4/1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

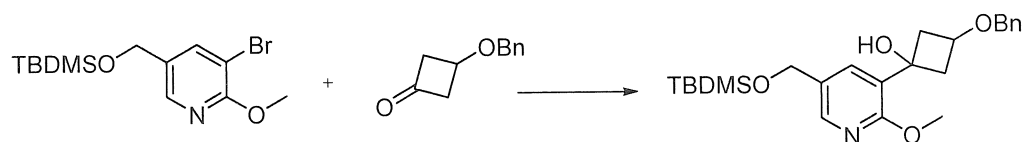
Bước 2: 3-bromo-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-2-metoxypyridin



Dung dịch chứa (5-bromo-6-metoxypyridin-3-yl)metanol (42,2 g, 194 mmol) và tert-butyldimethylsilyl clorua (35,0 g, 232 mmol) trong CH_2Cl_2 (500 ml) được bổ sung imidazol (19,8 g, 291 mmol). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ.

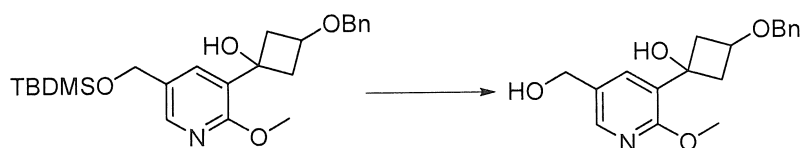
Hỗn hợp được đập tắt bằng nước và pha loãng bằng etyl axetat. Phần hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô trên natri sulfat khan, lọc, cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (PE/EtOAc = 10/1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 3: 3-(benzyloxy)-1-(5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-metoxypyridin-3-yl)xyclobutan-1-ol



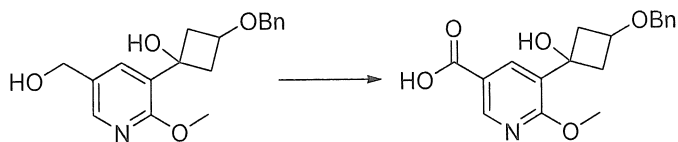
3-bromo-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-metoxypyridin (61,2 g, 184 mmol) được hòa tan trong THF tuyệt đối (500 mL) trong agon,) dung dịch n-butyllithi 1,6 M (138 mL, 221 mmol) trong THF được bổ sung bằng cách nhỏ giọt ở -78°C . Hỗn hợp được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ này. Dung dịch chứa 3-(benzyloxy)xyclobutan-1-on (35,7 g, 202mmol) trong THF (100 mL) tiếp theo được bổ sung ở -78°C , và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ này trong 30 phút. Dung dịch nước bão hòa amoni clorua được bổ sung vào và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng nước và dung dịch bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat và lọc. Sau khi loại bỏ dung môi trên máy bay hơi quay, cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (PE/EtOAc = 2/1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 4: 3-(benzyloxy)-1-(5-(hydroxymethyl)-2-metoxypyridin-3-yl)xyclobutan-1-ol



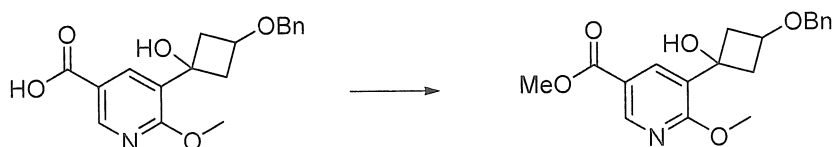
Dung dịch chứa 3-(benzyloxy)-1-(5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-metoxypyridin-3-yl)xyclobutan-1-ol (31,6 g, 73,6mmol) trong THF (300mL) được bổ sung TBAF (88 mL, 1 mol/L). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 6 giờ, tiếp theo rót vào nước và chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng nước và dung dịch bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat và lọc. Pha hữu cơ được cô thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 5: Axit 5-(3-(benzyloxy)-1-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinic



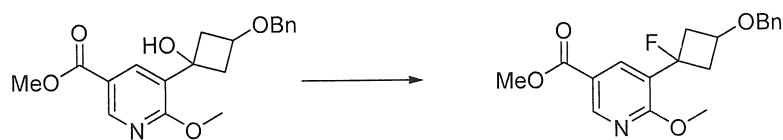
Dung dịch chứa 3-(benzyloxy)-1-(5-(hydroxymethyl)-2-methoxypyridin-3-yl)cyclobutan-1-ol (23,2 g, 73,6 mmol) trong MeCN (300 mL) và H₂O (100 mL) được bổ sung iodobenzen diacetat (64,4 g, 200mmol) và TEMPO (7,86g, 50 mmol), và dung dịch được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được dập tắt bằng dung dịch bão hòa natri bicacbonat và pha loãng bằng etyl axetat. Phần hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô trên natri sulfat khan, lọc; pha hữu cơ được cô thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 6: metyl 5-(3-(benzyloxy)-1-hydroxyxyclobutyl)-6- metoxynicotinat



Dung dịch chứa axit 5-(3-(benzyloxy)-1-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinic (17,5g, thô) trong THF/MeOH (200/50 mL) được bổ sung TMSN₂CH₃ (50 mL, 20 mol/L) ở 0°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, tiếp theo rót vào nước và chiết bằng etyl axetat. Pha hữu cơ được rửa bằng nước và dung dịch bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat và lọc. Phần lọc được cô trong điều kiện áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (PE/EA=10,1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

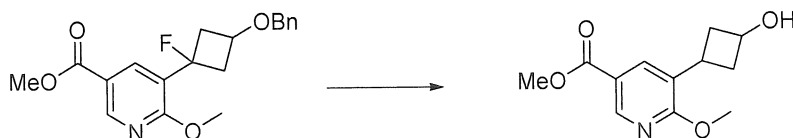
Bước 7: metyl 5-(3-(benzyloxy)-1-floxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat



Dung dịch đã làm lạnh chứa metyl 5-(3-(benzyloxy)-1-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat (15,2g, 44,3 mmol) trong DCM (200mL) được bổ sung DAST (8,0 mL) ở -78°C bằng cách nhỏ giọt bằng xylanh. Sau khuấy 5 phút ở -78°C, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến -20°C và khuấy trong 75 phút, tiếp theo nó được dập tắt bằng H₂O (100 mL), pha loãng bằng EtOAc và các pha được tách ra. Pha hữu cơ được rửa bằng nước bão hòa NaHCO₃ và nước muối, tiếp theo sấy khô trên MgSO₄, lọc, và cô.

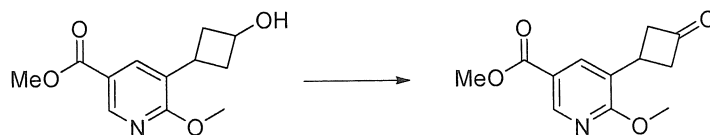
Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký (PE: EtOAc=4:1) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 8: metyl 5-(3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat



Dung dịch chứa metyl 5-(3-(benzyloxy)-1-floxyclobutyl)-6-metoxynicotinat (12,7 g, 3,68 mmol) trong MeOH (200 mL) và axit formic (10 mL) được bổ sung Pd đen (bột đen Pd, 3,0 g). Hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh trong N₂. Sau khoảng 1,5 giờ, Pd đen khác được bổ sung (1,5 g) và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc và cô. Cặn được hòa tan trong EtOAc và rửa bằng dung dịch bão hòa Na₂CO₃. Pha hữu cơ được sấy khô trên MgSO₄, lọc và cô thành cặn dầu. Cặn được tinh chế bằng sắc ký (MeOH: CH₂Cl₂ = 1:20) thu được hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 9: metyl 6-metoxy-5-(3-oxocyclobutyl)nicotinat (Chất trung gian 5)



Dung dịch chứa metyl 5-(3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat (4,0 g, 16,9 mmol) trong MeCN (100 mL) và H₂O (30 mL) được bổ sung iodobenzen diaxetat (16,1 g, 50 mmol) và TEMPO (2,92 g, 18,6 mmol), và dung dịch được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được dập tắt bằng Na₂CO₃ bão hòa và tiếp theo pha loãng bằng etyl axetat. Phần hữu cơ được rửa bằng nước muối, sấy khô trên natri sulfat khan, lọc, và pha hữu cơ được cô và tinh chế bằng sắc ký (PE: EA= 5:1) thu được **Chất trung gian 5**.

Bước 10: 4-((4-bromo-3-clophenoxy)metyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol

Dung dịch chứa chất thô 4-(clometyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol (được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 2, bước 2; 0,42 g, 1,3 mmol) trong N,N-dimetylformamit (DMF, 6 mL) được xử lý bằng 4-bromo-3-clophenol (0,27 g, 1,3 mmol), natri iodua (0,34 g, 2,2 mmol), và kali cacbonat (0,37 g,

2,6 mmol). Hỗn hợp được gia nhiệt ở 60°C trong 35 phút trước khi nó được làm lạnh và tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được chất mong muốn. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₁₉H₁₃BrCl₃FNO₂: 491,9; phát hiện: 492,0.

Bước 11: Metyl 5-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat

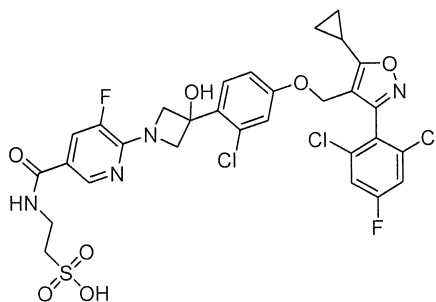
Dưới áp suất khí agon (argon), dung dịch chứa 4-((4-bromo-3-clophenoxy)metyl)-5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol (0,83 g, 1,7 mmol) trong 2-metyltetrahydrofuran (2 mL) được xử lý bằng dung dịch isopropylmagie clorua/lithi clorua (Aldrich, 1,3 M trong tetrahydrofuran, 1,3 mL, 1,7 mmol) bằng cách nhỏ giọt qua xylanh. Sau 4 giờ, thể tích khác của dung dịch isopropylmagie clorua/lithi clorua (1,3 mL) được bổ sung. Trong bình riêng, dưới áp suất khí agon, dung dịch chứa metyl 6-metoxi-5-(3-oxoxyclobutyl)nicotinat (Chất trung gian 5), 0,21 g, 0,90 mmol) trong tetrahydrofuran (5 mL) được xử lý bằng dung dịch lantan (III) clorua/2 lithi clorua (Aldrich, 0,6 M trong tetrahydrofuran, 1,5 mL, 0,9 mmol). Hỗn hợp được khuấy trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng trước khi nó được làm lạnh trong bể nước đá/axeton -8°C. Dung dịch Grignard được bổ sung bằng cách nhỏ giọt vào dung dịch keton ở trên qua xylanh. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm trong khí agon. Hỗn hợp được đập tắt bằng dung dịch nước bão hòa amoni clorua. Pha nước được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chất hữu cơ đã thu gom được rửa một lần bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được hợp chất nêu ở đề mục này. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₃₁H₂₇Cl₃FN₂O₆: 647,1; phát hiện: 647,1.

Bước 12: Axit 5-((1*S*,3*S*)-3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinic (Ví dụ 6)

Hỗn hợp của metyl 5-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinat (0,26 g, 0,40 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (33 mg, 0,79 mmol) được hấp thụ trong 1:1 nước tetrahydrofuran (10 mL) và khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Chất dễ bay hơi hầu như được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Hỗn hợp nước được pha

loãng bằng nước và xử lý bằng cách nhỏ giọt axit clohydric 10%. Hỗn hợp thu được được chiết bằng etyl axetat ba lần. Các chất hữu cơ đã thu gom được rửa bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua (với lượng nhỏ axit clohydric được bổ sung vào). Các chất hữu cơ đã thu gom được sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được tinh chế trước hết bằng sắc ký nhanh (silicagel) và tiếp theo bằng HPLC điều chế (axetonitril/nước, TFA). Các phân đoạn thu gom bằng HPLC được trung hòa bằng dung dịch nước bão hòa natri hydro cacbonat, làm bão hòa bằng natri clorua, và chiết ba lần bằng etyl axetat. Các chất hữu cơ đã thu gom được sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô. Cặn được hấp thụ vào etyl axetat, xử lý bằng magie sulfat khan, lọc, và cô. Cặn lại được hấp thụ vào etyl axetat và lọc qua đệm diatomit Celite. Phần lọc được cô thu được axit 5-((1*S*,3*S*)-3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyxyclobutyl)-6-metoxynicotinic (Ví dụ 6). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ tính toán cho C₃₀H₂₅Cl₃FN₂O₆: 633,1; phát hiện: 633,1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,00 (bs, 1H), 8,58 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 8,13 (dd, *J* = 2,3, 0,8 Hz, 1H), 7,72 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,51 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H), 6,79 (dd, *J* = 8,7, 2,6 Hz, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,15 – 3,03 (m, 2H), 2,91 (p, *J* = 8,8 Hz, 1H), 2,49 – 2,41 (m, 1H), 2,41 – 2,30 (m, 2H), 1,21 – 1,09 (m, 4H).

Ví dụ 7: Axit 2-(6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinamido)etan-1-sulfonic

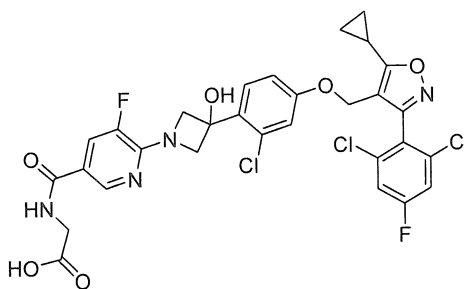


Dung dịch chứa axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)methoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (Ví dụ 3, 0,11 g, 0,18 mmol) trong DMF (4 mL) được xử lý bằng HATU (1-[bis(dimethylamino)metylen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridini 3-oxid hexaflophosphat, 0,10 g, 0,27 mmol) tiếp theo là taurin (34 mg, 0,27 mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (90 µL, 0,54 mmol). Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng và tiếp theo

tinh chế bằng HPLC điều chế (nước/axetonitril/TFA). Các phân đoạn đã thu gom được xử lý bằng dung dịch amoni hydroxit và cô thu được axit 2-(6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-

hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinamido)etan-1-sulfonic (Ví dụ 7) dưới dạng muối amoni. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₃₀H₂₆Cl₃F₂N₄O₇S: 729,1; phát hiện: 729,2. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,34 (m, 2H), 7,73 – 7,61 (m, 3H), 7,37 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,29 – 6,95 (m, 4H), 6,92 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,75 (dd, J = 8,6, 2,5 Hz, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,63 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 4,29 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 3,46 (q, J = 6,5 Hz, 2H), 2,63 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,45 – 2,38 (m, 1H), 1,16 (dt, J = 8,5, 3,1 Hz, 2H), 1,10 (dt, J = 5,4, 2,9 Hz, 2H).

Ví dụ 8: (6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxin



Bước 1: metyl (6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxinat

Dung dịch chứa axit 6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinic (Ví dụ 3, 0,12 g, 0,19 mmol) trong DMF (4 mL) được xử lý bằng HATU (1-[bis(dimetylaminometylen)]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridini 3-oxid hexaflophosphat, 0,11 g, 0,29 mmol) tiếp theo là glyxin metyl este hydroclorua (36 mg, 0,29 mmol) và N,N-diisopropyletylamin (100 µL, 0,58 mmol). Hỗn hợp được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng và tiếp theo dập tắt bằng dung dịch nước bão hòa natri hydro cacbonat. Pha nước được chiết hai lần bằng etyl axetat. Các phần chiết đã thu gom được rửa một lần bằng 1:1 dung dịch nước bão hòa natri clorua/dung dịch nước bão hòa natri hydro cacbonat, sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô trong điều kiện áp suất giảm thu được sản phẩm mong muốn, được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₃₁H₂₆Cl₃F₂N₄O₆: 693,1; phát hiện: 693,2.

Bước 2: (6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxin (Ví dụ 8)

Hỗn hợp của chất thô metyl (6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxinat (xấp xỉ 0,19 mmol) và lithi hydroxit monohydrat (38 mg, 0,91 mmol) trong nước tetrahydrofuran (2:1, 3 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3,5 giờ. Dung môi dễ bay hơi được loại bỏ trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được pha loãng bằng nước và axit hóa đến pH 1 bằng nước axit clohydric 10%. Hỗn hợp nước axit được chiết ba lần bằng etyl axetat. Các phần chiết hữu cơ đã thu gom được rửa một lần bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua, sấy khô trên magie sulfat khan, lọc, và cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (silicagel) thu được (6-(3-(2-clo-4-((5-xyclopropyl-3-(2,6-diclo-4-flophenyl)isoxazol-4-yl)metoxy)phenyl)-3-hydroxyazetidin-1-yl)-5-flonicotinoyl)glyxin (Ví dụ 8). LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ tính toán cho C₃₀H₂₄Cl₃F₂N₄O₆: 679,1; phát hiện: 679,3. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,68 (s, 1H), 8,68 (t, J = 5,8 Hz, 1H), 8,44 (t, J = 1,7 Hz, 1H), 7,80 (dd, J = 13,2, 1,8 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,39 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,77 (dd, J = 8,6, 2,6 Hz, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,66 (d, J = 9,5 Hz, 2H), 4,32 (d, J = 9,3 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 2,48 – 2,42 (che khuất một phần bởi DMSO, m, 1H), 1,16 (m, 4H).

Ví dụ 9: Thử nghiệm hoạt tính FRET

Việc xác định tương tác peptit đồng nhân tố qua trung gian phối tử để định lượng sự liên kết phối tử với thụ thể nhân FXR được thực hiện như sau.

Điều chế miền liên kết với phối tử FXR alpha của người: LBD FXRalpha của người được biểu hiện trong chủng *E. coli* BL21(DE3) dưới dạng protein dung hợp gắn đuôi (gắn thẻ) GST ở đầu tận cùng N. ADN mã hóa miền liên kết với phối tử FXR được nhân dòng trong vector pDEST15 (Invitrogen). Sự biểu hiện được kiểm soát bởi gen khởi đầu T7 dễ cảm ứng bởi IPTG. Giới hạn axit amin của miền liên kết với phối tử là các axit amin 187–472 của Database entry NM_005123 (RefSeq). Biểu hiện và tinh chế FXR-LBD: Nuôi cấy sơ bộ qua đêm chủng *E. coli* đã biến nạp được pha loãng 1:20 trong môi trường LB-Ampicillin và được sinh trưởng ở 30°C đến mật độ quang OD₆₀₀=0,4–0,6. Tiếp theo biểu hiện gen được cảm ứng bằng cách bổ sung 0,5 mM IPTG. Tế bào

được ủ thêm trong 6 giờ ở 30°C, 180 rpm. Tế bào được thu bằng ly tâm (7000 x g, 7 phút, rt). Với mỗi lít giống tế bào ban đầu, các tế bào được tạo huyền phù lại trong 10 mL dung dịch đệm làm tan (50 mM Glucoza, 50 mM Tris pH 7,9, 1 mM EDTA và 4 mg/mL lysozym) và để trên băng trong 30 phút. Tiếp theo các tế bào được tác động sóng âm và mảnh vỡ tế bào được loại bỏ bằng ly tâm (22000 x g, 30 phút, 4°C). Với mỗi 10 mL dịch nổi, 0,5 mL huyền phù đặc Glutathione 4B sepharose đã rửa sơ bộ (Qiagen) được bổ sung và huyền phù được quay từ từ trong 1 giờ ở 4°C. Hạt Glutathione 4B sepharose được tạo viên bằng ly tâm (2000 x g, 15 giây, 4°C) và rửa hai lần trong dung dịch đệm rửa (25 mM Tris, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ và 1M NaCl). Viên được tạo huyền phù lại trong 3 mL dung dịch đệm giải hấp cho mỗi lít giống ban đầu (dung dịch đệm giải hấp: 20 mM Tris, 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ và 80 mM glutathion được bổ sung ngay trước khi sử dụng dưới dạng bột). Huyền phù được quay trong 15 phút ở 4°C, các hạt được tạo viên và lại giải hấp với nửa thể tích dung dịch đệm giải hấp so với lần đầu. Nước giải hấp được gom và thẩm tách qua đệm trong 20 mM dung dịch đệm Hepes (pH 7,5) chứa 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ cũng như 1 mM dithiothreitol và 10% (v/v) glyxerol. Protein được phân tích bằng SDS-Page.

Phương pháp này đo khả năng phối tử giả định điều biến tương tác giữa miền liên kết với phối tử (LBD) của FXR biểu hiện ở vi khuẩn đã tinh chế và peptit được biotin hóa tổng hợp trên cơ sở các gốc 676–700 của SRC-1 (LCD2, 676–700). Trình tự của peptit được sử dụng là B-CPSSHSSLTERHKILHRLQLQEGSPS-COOH (SEQ ID NO: 1) trong đó đầu tận cùng N được biotin hóa (B). Miền liên kết với phối tử (LBD) của FXR được biểu hiện dưới dạng protein dung hợp với GST trong tế bào BL-21 bằng cách sử dụng vector pDEST15. Tế bào được làm tan bằng sóng âm, và protein dung hợp tinh chế trên glutathione sepharose (Pharmacia) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Để sàng lọc các hợp chất về tác động của chúng đến tương tác FXR-peptit, công nghệ Perkin Elmer LANCE được sử dụng. Phương pháp này dựa trên sự truyền năng lượng phụ thuộc liên kết từ thể cho sang thể nhận huỳnh quang gắn với thành viên liên kết nghiên cứu. Để dễ thao tác và khử nền do phát huỳnh quang của hợp chất, công nghệ LANCE sử dụng các chất đánh dấu huỳnh quang chung và phát hiện phân giải theo thời gian. Các thử nghiệm được thực hiện trong thể tích cuối 25 µL trong đĩa 384 lỗ, trong dung dịch đệm trên cơ sở Tris (20 mM Tris-HCl pH 7,5; 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂; 35 ng/µL BSA), chứa 20–60 ng/lỗ FXR-LBD được biểu hiện bằng con đường tái tổ hợp

dung hợp với GST, 200–600 nM peptit được biotin hóa ở đầu tận cùng N, biểu hiện các axit amin SRC1 676–700, 200 ng/lỗ thể liên hợp Streptavidin-xlAPC (Prozyme) và 6–10 ng/lỗ Eu W1024 – antiGST (Perkin Elmer). Hàm lượng DMSO của mẫu được giữ ở 1%. Sau khi tạo ra hỗn hợp thử nghiệm và pha loãng các phối tử điều biến FXR tiềm năng, hỗn hợp thử nghiệm được cân bằng trong 1 giờ trong tối ở rt trong đĩa FIA đen 384 lỗ (Greiner). Tín hiệu LANCE được phát hiện bằng Perkin Elmer VICTOR2VTM Multilabel Counter. Kết quả được quan sát bằng cách vẽ tỷ số giữa ánh sáng bức xạ ở 665 và 615 nm. Mức nền tạo FXR-peptit được quan sát mà không có phối tử bổ sung. Các phối tử thúc đẩy tạo phức chất cảm ứng sự gia tăng phụ thuộc nồng độ về tín hiệu phát huỳnh quang phân giải theo thời gian. Các hợp chất liên kết ngang bằng với cả monome FXR và với phức chất FXR-peptit được tin là không làm thay đổi tín hiệu, trong khi các phối tử ưu tiên liên kết với thụ thể monome được tin là cảm ứng sự giảm phụ thuộc nồng độ về tín hiệu quan sát được.

Để đánh giá khả năng chủ vận của hợp chất, giá trị EC_{50} được xác định đối với các hợp chất ví dụ và được nêu ở dưới trong Bảng 2 (FRET EC_{50}).

Ví dụ 10: Thử nghiệm một thể lai động vật có vú (M1H)

Việc xác định sự chuyển hoạt hóa được điều khiển bởi gen khởi đầu Gal4 qua trung gian phối tử để định lượng sự hoạt hóa FXR qua trung gian liên kết với phối tử được thực hiện như sau.

Phân ADN bổ trợ mã hóa miền liên kết với phối tử FXR được nhân dòng (tách dòng) trong vector pCMV-BD (Stratagene) dưới dạng dung hợp với miền liên kết với ADN GAL4 nấm men dưới sự kiểm soát của gen khởi đầu CMV. Giới hạn axit amin của miền liên kết với phối tử là các axit amin 187–472 của Database entry NM_005123 (RefSeq). Plasmid pFR-Luc (Stratagene) được sử dụng làm plasmid thông báo, chứa gen khởi đầu tổng hợp với năm đoạn lặp nối tiếp của các vị trí liên kết với GAL4 nấm men, điều khiển sự biểu hiện của gen luciferaza của *Photinus pyralis* (đom đóm Mỹ) làm gen thông báo. Để cải thiện độ chính xác thử nghiệm, plasmid pRL-CMV (Promega) được đồng chuyển nhiễm. pRL-CMV chứa gen khởi đầu CMV cấu trúc, kiểm soát sự biểu hiện của *Renilla reniformis* luciferaza. Tất cả các thử nghiệm về gen thông báo Gal4 đều được thực hiện trong tế bào HEK293 (thu được từ DSMZ, Braunschweig, Germany) sinh trưởng trong MEM có L-Glutamin và Earle's BSS có bổ sung 10% huyết thanh thai

bò, 0,1 mM các axit amin không thiết yếu, 1 mM natri pyruvat, và 100 đơn vị Penicilin/Streptavidin cho mỗi mL ở 37°C trong 5% CO₂. Môi trường và các chất bổ sung được thu từ Invitrogen. Đối với thử nghiệm này, 5×10^5 tế bào được cấy cho mỗi lỗ trong các đĩa 96 lỗ trong 100 µL/lỗ MEM mà không có Phenol Red và L-Glutamin và có Earle's BSS có bổ sung 10% FBS được xử lý bằng than/dextran (HyClone, South Logan, Utah), 0,1 mM các axit amin không thiết yếu, 2 mM glutamin, 1 mM natri pyruvat, và 100 đơn vị Penicilin/ Streptavidin/mL, ủ ở 37°C trong 5% CO₂. Ngày tiếp theo tế bào ở mức nhập dòng >90%. Môi trường được loại bỏ và tế bào được chuyển nhiễm tạm thời bằng cách sử dụng 20 µL/lỗ chất chuyển nhiễm trên cơ sở OptiMEM - polyetylen-imin (OptiMEM, Invitrogen; Polyethyleneimine, Aldrich Cat No. 40,827-7) bao gồm ba plasmit được mô tả ở trên. MEM có cùng thành phần như được sử dụng để cấy tế bào được bổ sung 2–4 giờ sau khi bổ sung hỗn hợp chuyển nhiễm. Tiếp theo, các dung dịch gốc hợp chất, pha loãng trước trong MEM được bổ sung (nồng độ chất dẫn cuối không vượt quá 0,1%). Tế bào được ủ thêm trong 16 giờ trước khi hoạt tính luciferaza của đom đóm và renilla được đo theo thứ tự trong phần chiết tế bào này bằng cách sử dụng hệ thống Dual-Light-Luciferase-Assay (Dyer et al., *Anal. Biochem.* 2000, 282, 158–161). Tất cả các thử nghiệm đều được lặp lại ba lần.

Để đánh giá khả năng chủ vận FXR của các hợp chất ví dụ, hiệu nghiệm được xác định trong thử nghiệm M1H và được nêu trong Bảng 2 (M1H EC₅₀).

Bảng 2

Ví dụ	FRET EC ₅₀ (nM)	M1H EC ₅₀ (nM)
1	263	3000
2	25	831
3	7,4	3,8
4	35	176
5	18	8,6

6	49	353
7	6,9	1696
8	8,1	1264

Ví dụ 11: Thử nghiệm ID chuyển hóa trong vi thể gan người

Khả năng chuyển hóa của **Ví dụ 3** và **Ví dụ so sánh 1** trong vi thể gan người được thực hiện theo quy trình sau. Vi thể gan người (35 μ L protein, nồng độ 20 mg/mL), 350 μ L dung dịch đệm kali phosphat 100 mM (pH 7,4), 245 μ L nước đã loại ion và 0,7 μ L dung dịch gốc hợp chất (5mM) được kết hợp trong ống vi ly tâm 1,5 mL. Ống được bịt kín và cuộn xoáy nhẹ trong 10 giây, tiếp theo đặt vào Eppendorf ThermoMixer C và làm ấm sơ bộ ở 37°C có lắc ở 1100 rpm trong 5 phút.

Dung dịch NADPH (70 μ L; 10 mM trong nước) được bổ sung có lắc, hỗn hợp được hút vài lần bằng pipet, và 200 μ L được chuyển sang ống vi ly tâm 1,5 mL mới trên băng chứa 200 μ L axetonitril lạnh. Phần mẫu này được cuộn xoáy ở tốc độ cao trong 10 giây tiếp theo đặt lên băng. Sau 30 và 60 phút, các phần mẫu bổ sung 200 μ L được lấy ra và chuyển sang ống vi ly tâm 1,5 mL mới trên băng chứa 200 μ L axetonitril lạnh. Phần mẫu này được cuộn xoáy ở tốc độ cao trong 10 giây tiếp theo đặt lên băng.

Các phần mẫu đã làm lạnh này được ly tâm ở 14.300 vòng/phút trong máy vi ly tâm trong 10 phút ở 10°C, tiếp theo dịch nổi được chuyển sang đĩa 96 lỗ sâu (1 mL) và bịt kín bằng miếng đệm silic. Mẫu được chuyển sang Cool Stack của thiết bị tiêm tự động (nhiệt độ đặt ở 10°C) và 20 μ L được tiêm vào khối phổ kế Thermo Elite Orbitrap. 20 μ L mẫu được phân tích bằng UPLC-MS để xác nhận và định lượng các chất chuyển hóa (Agilent 1290 G4220 binary pump UPLC với lò cột Agilent G1316 TCC; cột Waters Acquity UPLC BEH C18 (cỡ lỗ 130 Å, cỡ hạt 1,7 μ m, 2,1 $\times$ 50 mm) giữ ở 40°C; mạng diot Agilent 1290 G4212 DAD có giới hạn bước sóng 190 đến 400 nm; khối phổ kế Thermo Electron Orbitrap Elite theo kiểu FTMS dương).

Nồng độ protein vi thể cuối: 1 mg/mL

Nồng độ NADPH cuối: 1 mM

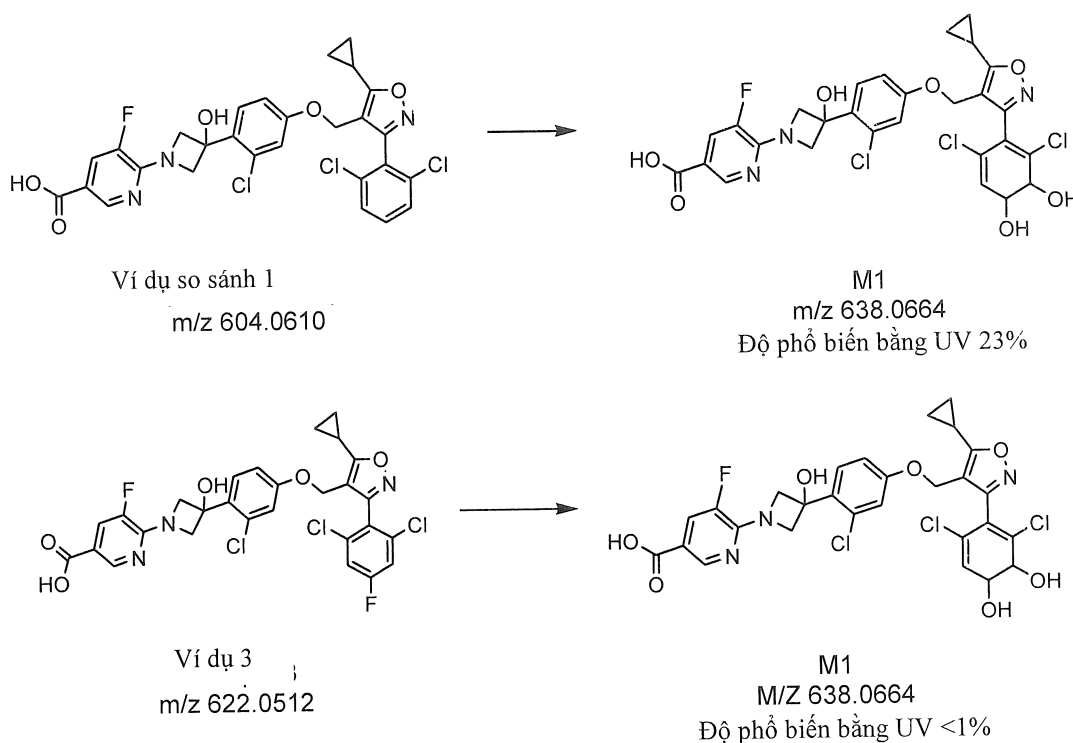
Nồng độ cơ chất cuối: 5 μ M

Các thời điểm: 0, 30, 60 phút

Thể tích ủ/thời điểm: 200 μ L

Ví dụ so sánh 1, so sánh trực tiếp với **Ví dụ 3** thiếu phân tử thế 4-flophenyl có mặt trong hợp chất được bộc lộ trong bản mô tả này, được phát hiện là được chuyển hóa thành hợp chất diol (**M1**) trong điều kiện được mô tả ở trên (**Sơ đồ 1**). Việc đưa vào phân tử thế 4-flo ức chế sự tạo chất chuyển hóa M1 trong cùng điều kiện.

Sơ đồ 1



Ví dụ 12: Đánh giá dược động lực học *In Vivo* ở khi đuôi dài

Dược động lực học (Dược lực học) *In vivo* của hợp chất đại diện có công thức (I) và hợp chất Ví dụ so sánh được xác định như sau.

Vật phẩm thử nghiệm và chế phẩm

Các liều huyền phù dùng qua đường miệng của hợp chất đại diện có công thức (I) (**Ví dụ 3**) và **Ví dụ so sánh 2** (**Ví dụ 13/9** của Patent Mỹ số 9,139,539) được điều chế ở các nồng độ 2, 6, 20, và 60 mg/mL trong các huyền phù nước chứa 0,5% natri carboxymethylxenuloza (Na CMC), 1% etanol, và 98,5% dung dịch đệm 50mM Tris, ở pH 8.

Động vật

Mỗi nhóm định liều gồm ba khí đuôi dài đực. Khi định liều, khí có thể trọng nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,4 kg.

Định liều

Các vật phẩm thử nghiệm được dùng cho khí bằng ống thông đường miệng ở 5 mL/kg. Trước khi rút ra, ống thông được súc rửa bằng khoảng 10 mL nước.

Lấy mẫu

Các mẫu máu tĩnh mạch được lấy tại các thời điểm cụ thể sau định liều từ mỗi khí. Các mẫu máu được lấy và chuyển vào các ống chứa chất chống đông kali (K_2) EDTA.

Xác định nồng độ FGF19 trong huyết tương

Kit thử nghiệm FGF19 ELISA từ BioVendor (tên sản phẩm RD191107200R) được sử dụng để xác định nồng độ FGF19 trong các mẫu máu được lấy.

Xác định nồng độ thuốc trong huyết tương

Phần mẫu 50 μ L của mỗi mẫu huyết tương từ các nhóm định liều 10 và 30 mg/kg và các mẫu $t = 0$ từ các nhóm 100 và 300 mg/kg được xử lý bằng 200 μ L axetonitril (ACN) chứa chuẩn nội. Phần mẫu 25 μ L của các mẫu còn lại từ nhóm 100 mg/kg được kết hợp với 25 μ L huyết tương trống để có độ pha loãng 1:2 và xử lý bằng 200 μ L axetonitril (ACN) chứa chuẩn nội. Phần mẫu 10 μ L của các mẫu còn lại từ nhóm 300 mg/kg được kết hợp với 40 μ L huyết tương trống để có độ pha loãng 1:5 và xử lý bằng 200 μ L axetonitril (ACN) chứa chuẩn nội. Các dung dịch ở trên được ly tâm ở 5000 RPM trong 10 phút và 50 μ L dịch nổi được chuyển sang đĩa 96 lỗ sạch, tiếp theo là bổ sung 200 μ L nước. Phần mẫu 10 μ L được tiêm vào hệ thống API 5000 LC/MS/MS. Các mẫu vượt quá giới hạn hiệu chỉnh của thiết bị được pha loãng và phân tích lại.

Điều kiện HPLC

Cột Zorbax Extend C18 HPLC (50 x 2,1 mm, 3,5 μ) từ Agilent Technologies (Part # 735700-902) được sử dụng. Pha động A chứa dung dịch nước 1% axetonitril trong 10 mM amoni format được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng axit formic. Pha động B

chứa và 10% 10 mM amoni format trong axetonitril được điều chỉnh đến pH 5,2 bằng axit formic. Hệ thống ghép kênh (Thermo Aria multiplexer) có hai bơm kép Agilent 1200 (P/N G1312A Bin Pump) được sử dụng cho giải hấp và tách. Chương trình giải hấp được nêu trong Bảng 3.

Bảng 3

<i>Thời gian (giây)</i>	<i>Nhận xét Bước</i>	<i>Lưu tốc (mL/phút)</i>	<i>Pha động A (%)</i>	<i>Pha động B (%)</i>
30	Nạp mẫu	0,50	85	15
180	Bước nhảy	0,50	50	50
90	Bước nhảy	0,50	99	1
60	Giải hấp	0,50	99	1
120	Tái cân bằng	0,50	85	15

Khối phổ kế 3 tứ cực (API 5000 triple quadrupole) từ AB Sciex, Foster City, CA được sử dụng trong kiểu theo dõi đa phản ứng để định lượng hợp chất. Các thông số của Khối phổ kế được nêu trong Bảng 4.

Bảng 4

Nguồn ion	Điện thế phun (V)	Khí 1 (Arb)	Khí 2 (Arb)	Khí va chạm (Arb)	Nhiệt độ sấy (°C)
Phun ion Turbo	5500	70	50	6	550

Kết quả

Mức FGF19 được so sánh sau khi dùng qua đường miệng các liều gia tăng của **Ví dụ 3** hoặc **Ví dụ so sánh 2** (3 đến 300 mg/kg). Sự gia tăng phụ thuộc liều về tiếp xúc với huyết tương được quan sát thấy đối với cả hai hợp chất và AUC cực đại đạt được với mỗi hợp chất ở 300mg/kg là tương đương (Fig. 1). **Ví dụ 3** làm gia tăng FGF19

huyết tương phụ thuộc liều, đạt đến $C_{\max}$ 16000 pg/ml ở liều cao nhất (Fig. 2). Việc dùng **Ví dụ so sánh 2** cũng làm gia tăng FGF19 huyết tương, song mức FGF19 cực đại thấp hơn đáng kể ($C_{\max}$ 3000 ng/ml) so với ví dụ **3**. Hơn thế nữa, cảm ứng FGF19 cực đại bởi **Ví dụ so sánh 2** là đạt được ở 5 mg/kg; các liều cao hơn không làm gia tăng thêm mặc dù tiếp xúc thuốc huyết tương lâu hơn (Fig. 2). Ví dụ này chứng tỏ rằng việc dùng IV hoặc qua đường miệng **Ví dụ 3** có thể cảm ứng mức FGF19 cao hơn so với **Ví dụ so sánh 2**.

* * *

Trừ khi có quy định khác, tất cả các thuật ngữ khoa học kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này đều có nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Do đó, cần phải hiểu rằng mặc dù sáng chế được bộc lộ cụ thể bằng các phương án ưu tiên và các dấu hiệu tùy ý, việc cải biến, cải thiện và biến đổi các bộ phận được thể hiện trong đó có thể được viện đến bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, và các cải biến, cải thiện và biến đổi như vậy được coi là nằm trong phạm vi của sáng chế. Các vật liệu, phương pháp và ví dụ được cung cấp trong bản mô tả này đại diện cho các phương án ưu tiên, được lấy làm ví dụ, và không dự tính giới hạn phạm vi của sáng chế.

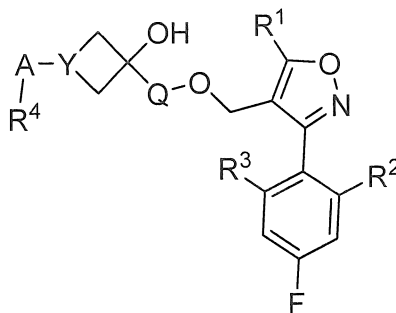
Sáng chế đã được mô tả rộng và chung trong bản mô tả này. Mỗi loại và phân nhóm nằm trong bộ phận chung cũng tạo nên một phần của sáng chế. Điều này bao gồm mô tả chung về sáng chế với điều kiện hoặc giới hạn phủ định loại bỏ đối tượng bất kỳ khỏi giống, bất kể vật liệu chính xác có được viện dẫn cụ thể trong bản mô tả này hay không.

Ngoài ra, khi các dấu hiệu hoặc khía cạnh của sáng chế được mô tả liên quan đến nhóm Markush, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận thấy rằng sáng chế cũng được mô tả liên quan đến bộ phận hoặc phân nhóm bộ phận cụ thể bất kỳ của nhóm Markush.

Cần phải hiểu rằng mặc dù bản mô tả được mô tả kết hợp với các phương án ở trên, phần mô tả ở trên và các ví dụ được dự tính minh họa và không làm giới hạn sáng chế. Các khía cạnh, ưu điểm và cải biến khác trong phạm vi của sáng chế sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (Ia):



(Ia)

trong đó:

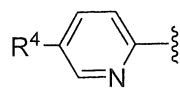
Q là phenylen được thế bằng một clo;

Y là N;

R¹ là xyclopropyl hoặc metyl;

R² và R³ là clo;

R⁴-A là:



, trong đó pyridylen tùy ý được thế bằng một hoặc hai nhóm độc lập được chọn từ halogen, C₁₋₄-alkoxy, halo-C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkyl, và halo-C₁₋₄-alkyl và R⁴ là -CO₂R⁵ hoặc -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ là hydro; và

R⁶ là C₁₋₂-alkyl tùy ý được thế bằng -CO₂H hoặc -SO₃H;

hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là pyridylen được thế bằng một flo; hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó A là pyridylen không được thế; hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^4 là $-\text{CO}_2R^5$, và R^5 là hydro; hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

5. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó:

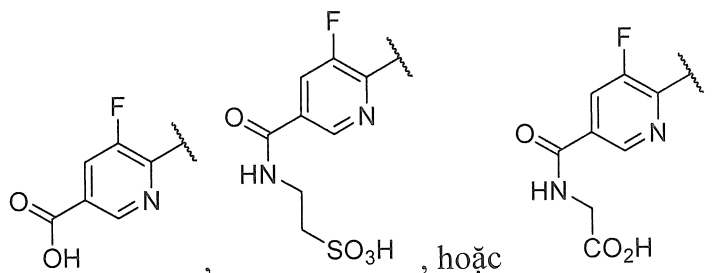
R^4 là $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5R^6$;

R^5 là hydro; và

R^6 là C_{1-2} -alkyl, trong đó C_{1-2} -alkyl này được thế bằng $-\text{SO}_3\text{H}$ hoặc $-\text{CO}_2\text{H}$;

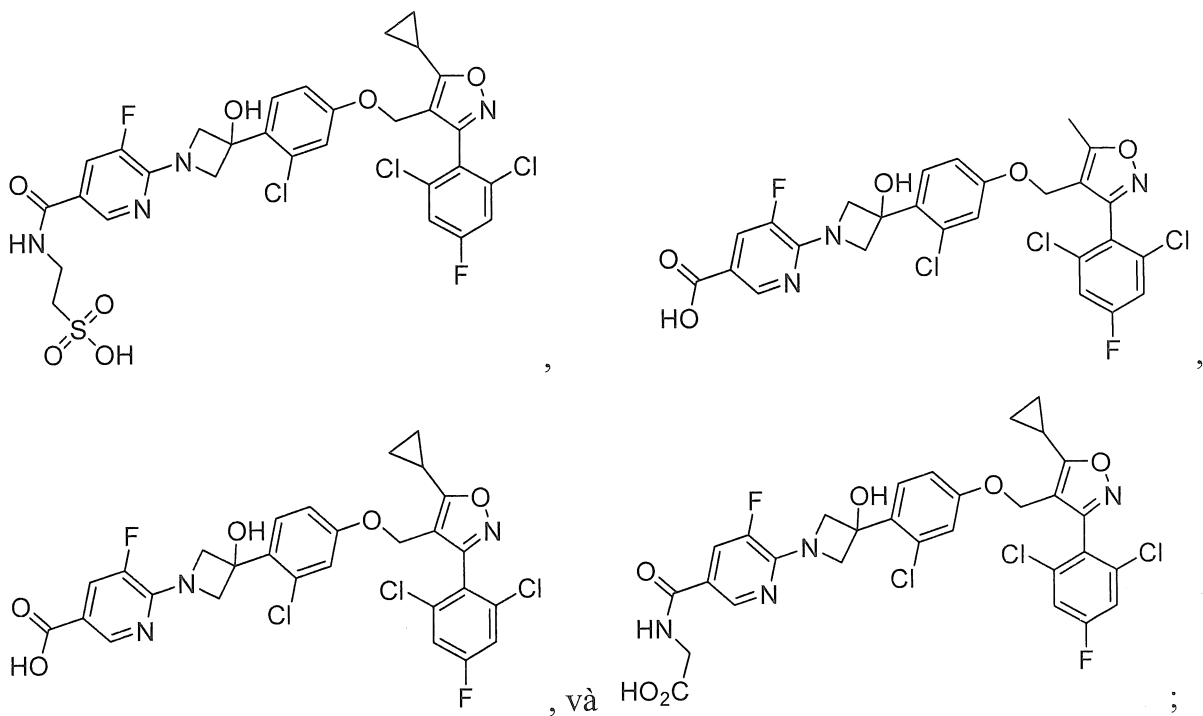
hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó $R^4\text{-A}$ là:



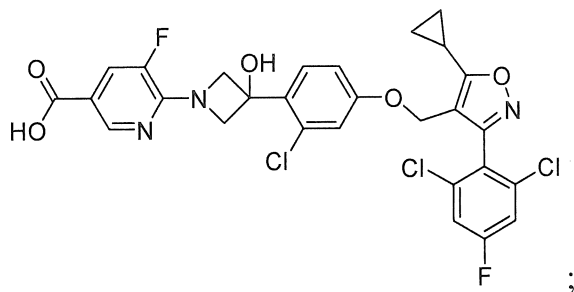
hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

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



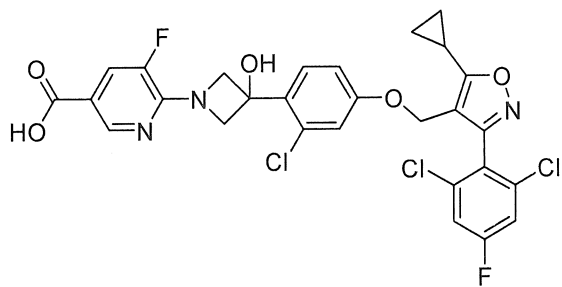
hoặc muối được dụng, chất đồng phân lập thể, hỗn hợp của các chất đồng phân lập thể, hoặc tautome của nó.

8. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức sau:



hoặc muối được dụng của nó.

9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức sau:



10. Dược phẩm chứa hợp chất hoặc muối được dụng theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 và tá dược được dụng.

1/2

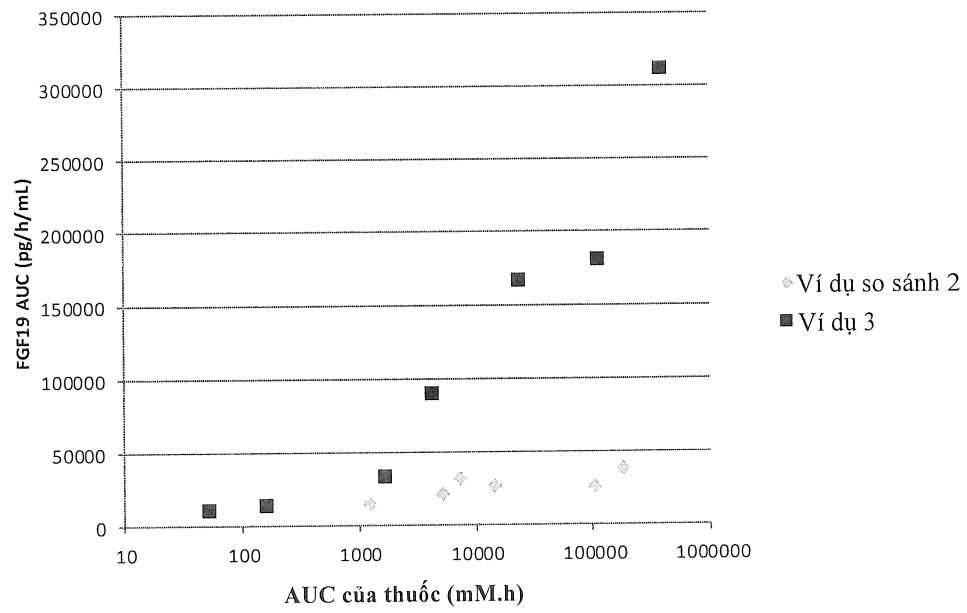
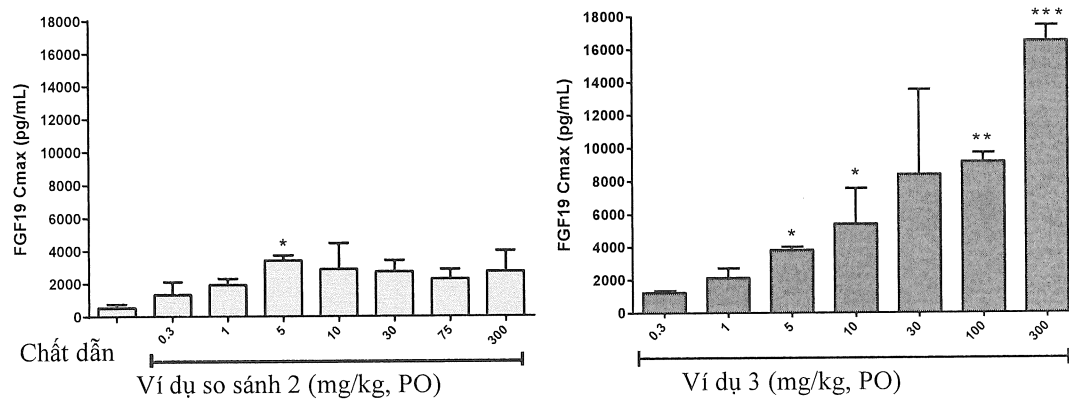


FIG. 1



* $p < 0,05$ so với 1 mg/kg; ** $p < 0,05$ so với 5 mg/kg; *** $p < 0,05$ so với 100 mg/kg; một đối tượng nằm ngoài nhóm 10 mg/kg của Ví dụ 3 do >3 SD từ giá trị trung bình.

FIG. 2

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Gilead Sciences, Inc.

<120> HỢP CHẤT ĐIỀU BIẾN THỤ THỂ FARNESOID X (FXR) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

<130> <http://1165.PF>

<150> 62/349,490

<151> 2016-06-13

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Tổng hợp

<400> 1

Cys	Pro	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	His	Lys	Ile	Leu	His
1				5					10					15	

Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Gly	Ser	Pro	Ser
			20					25