



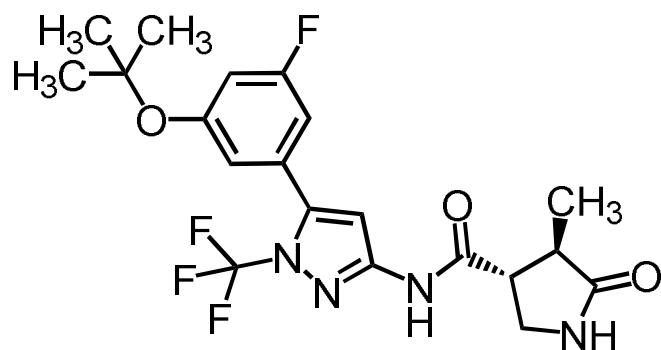
(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) 
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ 1-0045873
(51)^{2020.01} C07D 403/12; A61P 43/00; A61K (13) B
31/4155; A61P 3/10

(21) 1-2020-05156 (22) 28/02/2019
(86) PCT/JP2019/007799 28/02/2019 (87) WO2019/168096 A1 06/09/2019
(30) 2018-036307 01/03/2018 JP
(45) 26/05/2025 446 (43) 25/12/2020 393A
(73) JAPAN TOBACCO INC. (JP)
1-1, Toranomom 4-chome, Minato-ku, Tokyo 105-6927 Japan
(72) MIURA, Tomoya (JP); TAMATANI, Yoshinori (JP).
(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT VÒNG METYLLACTAM, DƯỢC PHẨM, CHẾ PHẨM ỨC CHẾ
SGLT1 VÀ THUỐC NGĂN NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ BỆNH ĐÁI THÁO ĐƯỜNG
CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2020-05156

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất vòng metyllum mà có hoạt tính ức chế SGLT1 và hữu ích dùng làm thuốc, hoặc muối dược dụng của nó; và dược phẩm chứa nó. Cụ thể, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức [I]:



[I]

hoặc muối dược dụng của nó, và dược phẩm chứa nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất vòng metyllumactam có hoạt tính ức chế SGLT1 hoặc muối được dụng của nó, được phẩm chứa nó, và việc sử dụng nó trong y học.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

SGLT1, tức là, natri-glucoza Cotransporter 1, được biết là góp phần lớn vào việc hấp thu glucoza và galactoza trong ruột non. Được báo cáo rằng các bệnh nhân thiếu hụt SGLT1 người gây ra tình trạng kém hấp thu glucoza-galactoza. Hơn nữa, được xác nhận rằng sự biểu hiện của SGLT1 trong ruột non tăng lên ở bệnh nhân bị đái tháo đường và được cho rằng tình trạng hấp thu đường tăng ở bệnh nhân bị đái tháo đường là do sự biểu hiện cao của SGLT1 trong ruột non gây ra.

Trên cơ sở kiến thức này, chế phẩm ức chế SGLT1 được mong đợi là có thể bình thường hóa mức đường huyết bằng cách ngăn chặn sự hấp thu glucoza trong ruột non. Do đó, chế phẩm ức chế SGLT1 được xem là có hiệu quả chống lại bệnh đái tháo đường và các biến chứng đái tháo đường liên quan đến sự tăng đường huyết. Nó cũng được xem là có hiệu quả chống lại bệnh béo phì bằng cách ức chế dòng glucoza vào cơ thể (Tài liệu phi sáng chế 1 và 2).

Voglibose, tên chung, là thuốc được cấp phép để sản xuất và lưu hành theo Điều 14 của Luật dược Nhật bản (Cấp phép số: 21600AMZ00368). Voglibose cải thiện đường huyết quá mức sau khi ăn bằng cách ức chế disacaridaza, α -glucosidaza, làm chuyển hóa disacarit có trong niêm mạc ruột thành monosacarit và ức chế hoặc trì hoãn quá trình tiêu hóa và hấp thu cacbohydrat trong đường ruột. Tác dụng dược lý này được biết là có hiệu quả chống lại sự khởi phát muộn của bệnh đái tháo đường typ 2 khi mức dung nạp đường bị suy giảm.

Trên cơ sở kiến thức này, việc ức chế hấp thu đường qua ruột non bằng chế

phẩm ức chế SGLT1 và nhờ đó cải thiện đường huyết sau khi ăn được xem là có hiệu quả chống lại sự khởi phát muộn của bệnh đái tháo đường typ 2 khi mức dung nạp đường bị suy giảm.

Sự biểu hiện của SGLT1 được xác nhận trong các tế bào cơ tim. Được biết rằng GLUT1 (chất vận chuyển glucoza typ 1) và GLUT4 (chất vận chuyển glucoza typ 4) thường có vai trò trong việc hấp thu glucoza vào các tế bào cơ tim và vai trò của SGLT1 bị giảm. Tuy nhiên, sự biểu hiện của SGLT1 gây ra trong cơ tim của chuột tại đó đưa vào các gen đột biến của PRKAG2 (tiểu đơn vị gamma 2 của AMPK (AMP-protein kinaza hoạt tính)) là gen gây ra bệnh cơ tim phì đại theo rãnh (bệnh cơ tim loại tích tụ glycogen), hoặc những con chuột mà đang điều trị bệnh thiếu máu cục bộ cơ tim, và SGLT1 được báo cáo là góp phần vào việc hấp thu glucoza đến các tế bào cơ tim trong những bệnh lý này. Glucoza được kết hợp bởi SGLT1 được cho là được tích lũy hoặc chuyển hóa quá mức trong các tế bào cơ tim và làm suy yếu tế bào. Được báo cáo trên mẫu chuột nêu trên rằng sự tích tụ glycogen trong cơ tim thực sự bị ức chế khi điều trị bằng chất ức chế SGLT không chọn lọc, phlorizin.

Trên cơ sở những kiến thức này, chế phẩm ức chế SGLT1 được cho là có hiệu quả chống lại bệnh cơ tim phì đại và bệnh tim do thiếu máu cục bộ bằng cách ức chế sự hấp thu quá mức glucoza vào các tế bào cơ tim (Tài liệu phi sáng chế 3 và 4).

SGLT1 được ổn định trong các tế bào ung thư nhờ các thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì, tức là các protein bề mặt trên nhiều loại tế bào ung thư. Được biết rằng các chất vận chuyển glucoza, axit lactic, và axit amino, v.v. có liên quan đến việc cung cấp dinh dưỡng cho các tế bào ung thư, và cụ thể là, liên quan đến sự vận chuyển glucoza, SGLT1 và GLUT1 liên tục cung cấp glucoza đến các tế bào ung thư. Khi glucoza không được cung cấp trong một khoảng thời gian dài, các tế bào bị phá hủy bằng cách tự tiêu.

Trên cơ sở những kiến thức này, chế phẩm ức chế SGLT1 được cho là ức

chế sự cung cấp glucoza đến các tế bào ung thư và thể hiện hoạt tính chống ung thư (Tài liệu phi sáng chế 5 và 6).

Do cacbohydrat bị chuyển hóa thành các monosacarit trong đường tiêu hóa trong khi ăn uống và được hấp thụ ở đường tiêu hóa trên, nên nhiều loại đường không bao giờ đến đường tiêu hóa dưới. Tuy nhiên, khi các thuốc mà trì hoãn hoặc ức chế sự hấp thụ glucoza được sử dụng, hoặc một lượng lớn polysacarit bền vững được tiêu hóa, sau đó đường chưa được tiêu hóa được giữ lại ở đường tiêu hóa dưới và đường chưa được tiêu hóa được giữ lại ở đường tiêu hóa dưới này gây ra bệnh tiêu chảy thẩm thấu.

Chế phẩm ức chế SGLT1 ức chế sự hấp thụ glucoza và làm tăng lượng monosacarit ở đường tiêu hóa dưới. Chế phẩm ức chế SGLT1, do đó, được tin là có hiệu quả chống lại tình trạng táo bón.

Bệnh đái tháo đường gây ra do mức đường huyết tăng cao do thiếu hụt hoạt động của insulin và tình trạng đường huyết tăng cao kéo dài có thể gây ra biến chứng của bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh võng mạc, bệnh thận, và bệnh thần kinh, mà được gọi là bệnh lý vi mạch; và bệnh mạch máu não, bệnh tim do thiếu máu cục bộ, và bệnh xơ cứng động mạch chi dưới, mà được gọi là bệnh lý liên quan đến các mạch máu lớn). Các bệnh khác liên quan đến mức đường huyết tăng cao bao gồm bệnh béo phì.

Bệnh đái tháo đường được phân loại thành bệnh đái tháo đường typ 1 và bệnh đái tháo đường typ 2. Bệnh đái tháo đường typ 1 được coi là phát triển do thiếu hoạt động của insulin gây ra do sự phá hủy tế bào β tuyến tụy tiết ra insulin, ngược lại bệnh đái tháo đường typ 2 được coi là phát triển do các yếu tố môi trường, như ăn quá nhiều, không tập thể dục đầy đủ, bệnh béo phì, và căng thẳng, và lão hóa cùng với các yếu tố di truyền bao gồm sự giảm tiết insulin và kháng insulin. Bệnh đái tháo đường được chẩn đoán theo ba loại, như loại thông thường, loại ranh giới, và loại bệnh đái tháo đường, được phân loại dựa trên mức đường huyết. Khi xác định được bất kỳ một trong số mục (1) đến (4) dưới đây:

- (1) mức đường huyết là 126 mg/dL hoặc cao hơn vào lúc đói buổi sáng
- (2) giá trị trong hai giờ là 200 mg/dL hoặc cao hơn trong 75g OGTT (thử nghiệm dung nạp glucoza đường uống)
- (3) mức đường huyết bình thường là 200 mg/dL hoặc cao hơn
- (4) HbA1c 6,5% hoặc cao hơn

thì đối tượng được xác định là loại bệnh đái tháo đường và được chẩn đoán là bệnh đái tháo đường hoặc nghi ngờ mắc bệnh đái tháo đường (tài liệu phi sáng chế 7).

OGTT được sử dụng trong mục (2) trên đây là một trong những phương pháp chẩn đoán bệnh đái tháo đường. Nói chung, khi đối tượng là người sử dụng dung dịch chứa 75g glucoza sau khi nhịn ăn, và một khoảng thời gian nhất định sau khi sử dụng glucoza, mức đường huyết được xác định là 200 mg/dL hoặc cao hơn, thì đối tượng này được chẩn đoán là bị bệnh đái tháo đường (tài liệu phi sáng chế 7). Do đó, OGTT là chỉ số chẩn đoán bệnh đái tháo đường, và hợp chất mà có thể làm giảm mức đường huyết của đối tượng nạp glucoza trong OGTT được coi là có hiệu quả chống lại bệnh đái tháo đường.

Tài liệu phi sáng chế

[Tài liệu phi sáng chế 1] Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002; 282(2):G241-8

[Tài liệu phi sáng chế 2] Nature. 1991; 350(6316):354-6

[Tài liệu phi sáng chế 3] J Mol Cell Cardiol. 2010; 49(4):683-92

[Tài liệu phi sáng chế 4] Cardiovasc Res. 2009; 84(1):111-8

[Non tài liệu sáng chế 5] Cancer Cell. 2008, 13: 385-93

[Tài liệu phi sáng chế 6] Pharmacol Ther. 2009, 121: 29-40

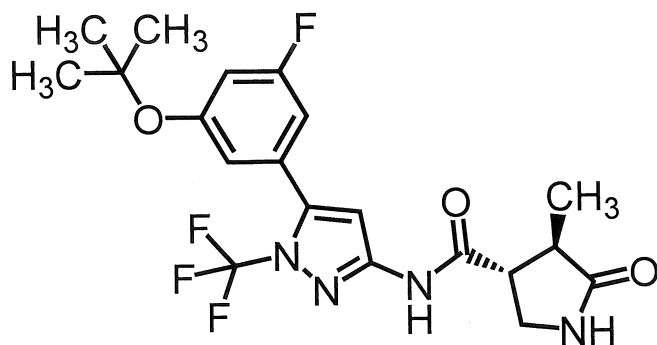
[Tài liệu phi sáng chế 7] Điều trị Guide for Diabetes 2016-2017

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất hợp chất vòng metylactam mà có hoạt tính ức chế SGLT1 và hữu ích dùng làm thuốc, hoặc muối được dùng của nó; dược phẩm chứa nó; và sử dụng nó trong y học.

Sau các nghiên cứu chuyên sâu, các tác giả sáng chế phát hiện ra hợp chất vòng metyrlactam cụ thể và đạt được sáng chế.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó, và sử dụng nó trong y học.



[I]

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó có hoạt tính ức chế SGLT1 và từ đó có thể hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể mong đợi là được cải thiện bằng cách điều hòa hoạt tính SGLT1. Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó có thể cũng hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể gây ra do mức đường huyết tăng lên.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

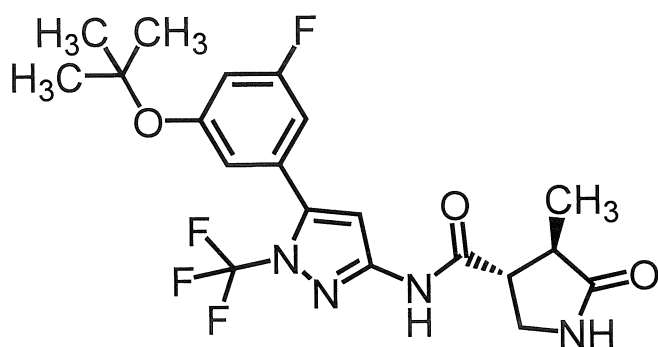
Fig.1 thể hiện rằng hợp chất theo ví dụ 1 (sau đây gọi là “Hợp chất 1”) làm giảm đáng kể mức đường huyết của chuột SD được nạp glucoza trong OGTT khi so sánh với chất dẫn thuốc.

Fig.2 thể hiện rằng, trong số các hợp chất thử nghiệm, chỉ hợp chất 1 làm giảm đáng kể mức đường huyết của chuột SD được nạp glucoza trong OGTT khi so sánh với chất dẫn thuốc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế bao gồm các phương án được minh họa dưới đây.

Mục 1. Hợp chất có công thức [I]:



[I]

hoặc muối dược dụng của nó.

Mục 2. Dược phẩm chứa hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

Mục 3. Chế phẩm ức chế SGLT1 chứa hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó.

Mục 4. Thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường chứa hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó.

Mục 5. Thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh theo mục 4, trong đó bệnh đái tháo đường là bệnh đái tháo đường typ 2.

Mục 6. Phương pháp ức chế SGLT1 bao gồm việc cho động vật có vú sử dụng lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó.

Mục 7. Phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường bao gồm lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó cho động vật có vú.

Mục 8. Phương pháp theo mục 7, trong đó bệnh đái tháo đường là bệnh đái tháo đường typ 2.

Mục 9. Sử dụng hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó trong việc sản xuất chế phẩm ức chế SGLT1.

Mục 10. Sử dụng hợp chất theo mục 1 hoặc muối dược dụng của nó trong việc sản xuất thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường.

Mục 11. Sử dụng theo mục 10, trong đó bệnh đái tháo đường là bệnh đái tháo

đường typ 2.

Mục 12. Hợp chất theo mục 1 hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong việc ức chế SGLT1.

Mục 13. Hợp chất theo mục 1 hoặc muối được dụng của nó để sử dụng trong việc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường.

Mục 14. Hợp chất theo mục 13 hoặc muối được dụng của nó, trong đó bệnh đái tháo đường là bệnh đái tháo đường typ 2.

Mục 15. Gói thương phẩm bao gồm chế phẩm theo mục 2 và tờ hướng dẫn sử dụng kèm theo, tờ hướng dẫn sử dụng này chỉ ra rằng chế phẩm có thể hoặc nên được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh đái tháo đường.

Mục 16. Kit bao gồm chế phẩm theo mục 2 và tờ hướng dẫn sử dụng kèm theo nó, tờ hướng dẫn sử dụng này chỉ ra rằng chế phẩm có thể hoặc nên được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh đái tháo đường.

Thuật ngữ “muối được dụng” bao gồm muối bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này mà không có độc tính quá mức. Muối được dụng này bao gồm, cụ thể là, muối với axit vô cơ, muối với axit hữu cơ, muối với bazơ vô cơ, và muối với bazơ hữu cơ. Các dạng muối được dụng đã được biết rõ trong lĩnh vực này và được mô tả trong, ví dụ, các tài liệu tham khảo dưới đây:

- (a) Berge et al., J. Pharm. Sci., 66, p1-19 (1977),
- (b) Stahl et al., “Handbook of Pharmaceutical Salt: Properties, Selection, và Use” (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002),
- (c) Paulekuhn et al., J. Med. Chem., 50, p6665-6672 (2007).

Hợp chất có công thức [I] có thể được phản ứng với axit vô cơ, axit hữu cơ, bazơ vô cơ, hoặc bazơ hữu cơ theo chính những phương pháp đã biết để tạo ra muối được dụng tương ứng của nó.

Muối như vậy với axit vô cơ bao gồm muối với axit flohydric, axit clohydric, axit bromhydric, axit iốt hydric, axit nitric, axit phosphoric, và axit sulfuric. Muối như vậy tốt hơn là bao gồm muối với axit clohydric, axit nitric, axit sulfuric, axit

phosphoric, và axit bromhydric.

Muối với axit hữu cơ như vậy bao gồm muối với axit axetic, axit adipic, axit alginic, axit 4-aminosalixylic, axit anhydrometylen xitric, axit benzoic, axit benzensulfonic, canxi edetat, axit camphor, axit camphor-10-sulfonic, axit cacbonic, axit xitric, axit edetic, axit etan-1,2-disulfonic, axit dodexylsulfuric, axit etansulfonic, axit fumaric, axit glucoheptonic, axit gluconic, axit glucuronic, axit glucoheptonic, axit glycolylarsanilic, axit hexylresorcinol, axit hydroxynaphthoic, axit 2-hydroxy-1-etansulfonic, axit lactic, axit lactobionic, axit malic, axit maleic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit metylsulfuric, axit metylnitric, axit metylenbis(salicylic axit), galactaric, axit naphtalen-2-sulfonic, axit 2-naphthoic, axit 1,5-naphtalendisulfonic, axit oleic, axit oxalic, axit pamoic, axit pantothenic, axit pectic, axit picric, axit propionic, axit polygalacturonic, axit salicylic, axit stearic, axit succinic, axit tannic, axit tartaric, axit teoclic, axit thioxyanic, axit trifloaxetic, axit p-toluensulfonic, axit undecanoic, axit aspartic, và axit glutamic. Muối như vậy tốt hơn là bao gồm muối với oxalic, axit maleic, axit xitric, axit fumaric, axit lactic, axit malic, axit succinic, axit tartaric, axit axetic, axit trifloaxetic, axit benzoic, axit glucuronic, axit oleic, axit pamoic, axit metansulfonic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic, axit và axit 2-hydroxy-1-etansulfonic.

Muối với bazơ vô cơ như vậy bao gồm muối với lithi, natri, kali, magie, canxi, bari, nhôm, kẽm, bitmut, và amoni. Muối như vậy tốt hơn là bao gồm muối với natri, kali, canxi, magie, và kẽm.

Muối với bazơ hữu cơ như vậy bao gồm muối với arecolin, betain, colin, clemizol, etylendiamin, N-metylglucamin, N-benzylphenetylamin, tris(hydroxymetyl)metylamin, arginin, và lysin. Muối như vậy tốt hơn là bao gồm muối với tris(hydroxymetyl)metylamin, N-metylglucamin, và lysin.

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó có thể tồn tại ở dạng solvat của nó. Thuật ngữ “solvat” có nghĩa là hợp chất trong đó phân tử dung môi kết hợp với hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó, và bao gồm

hydrat. Solvat tốt hơn là solvat được dụng; và bao gồm, ví dụ, hydrat, etanolat, và dimetyl sulfoxit solvat của hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó. Solvat này cụ thể là bao gồm hemihydrat, monohydrat, dihydrat, và monoetanolat của hợp chất có công thức [I]; và monohydrat của muối natri của hợp chất có công thức [I] và 2/3 etanolat của muối dihydroclorua của nó. Những solvat này có thể thu được theo phương pháp bất kỳ đã biết.

Hợp chất có công thức [I] có thể được đánh dấu bằng chất đồng vị như ^2H , ^3H , ^{14}C , và ^{35}S .

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó tốt hơn là hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó mà hầu như là tinh khiết, và tốt hơn nữa là hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó mà có độ tinh khiết là 80% hoặc cao hơn.

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó có hoạt tính ức chế SGLT1, và do đó có thể hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể mong đợi là được cải thiện bằng cách điều hòa hoạt tính SGLT1, ví dụ, bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 1 và bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh béo phì, biến chứng của đái tháo đường (ví dụ, bệnh võng mạc, bệnh thận và bệnh thần kinh, tất cả được gọi là bệnh lý vi mạch; và bệnh mạch máu não, bệnh tim do thiếu máu cục bộ, và bệnh xơ cứng động mạch chi dưới, tất cả được gọi là bệnh lý liên quan đến các mạch máu lớn), bệnh cơ tim phì đại, bệnh tim do thiếu máu cục bộ, bệnh ung thư, và tình trạng táo bón.

Thuật ngữ “ức chế SGLT1” có nghĩa là chức năng của SGLT1 bị ức chế để làm biến mất hoặc giảm hoạt tính của nó; và, ví dụ, điều đó có nghĩa là chức năng của SGLT1 bị ức chế theo ví dụ thử nghiệm 1 dưới đây. Tốt hơn là, thuật ngữ “ức chế SGLT1” nghĩa là “ức chế SGLT1 người”. Sự ức chế chức năng, hoặc làm biến mất hoặc làm giảm hoạt tính tốt hơn là được thực hiện trong chỉ định lâm sàng ở người.

Thuật ngữ “chế phẩm ức chế SGLT1” có thể là chất bất kỳ mà ức chế SGLT1, và bao gồm hợp chất có phân tử nhỏ, axit nucleic, polypeptit, protein, kháng thể, và vắc-xin. Tốt hơn là, thuật ngữ “chế phẩm ức chế SGLT1” nghĩa là “chế phẩm ức chế SGLT1 người”.

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối dược dụng của nó có thể cũng hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể gây ra do mức đường huyết tăng lên.

Thuật ngữ “các bệnh hoặc tình trạng bệnh mà có thể do mức đường huyết tăng cao gây ra” bao gồm, ví dụ, bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh đái tháo đường typ 1 và bệnh đái tháo đường typ 2), bệnh béo phì, và biến chứng của bệnh đái tháo đường (ví dụ, bệnh võng mạc, bệnh thận và bệnh thần kinh, được gọi chung là bệnh lý vi mạch; và bệnh mạch máu não, bệnh tim do thiếu máu cục bộ, và bệnh xơ cứng động mạch chi dưới, được gọi chung là bệnh lý liên quan đến các mạch máu lớn).

Thuật ngữ “điều trị” được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm việc làm thuyên giảm tình trạng bệnh, ngăn ngừa tình trạng tăng nặng, duy trì sự thuyên giảm, ngăn chặn tình trạng trầm trọng và ngăn ngừa tái phát bệnh.

Thuật ngữ “ngăn ngừa” được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm việc trì hoãn sự khởi phát tình trạng bệnh. Ví dụ, “ngăn ngừa bệnh đái tháo đường” bao gồm trì hoãn sự khởi phát bệnh đái tháo đường typ 2 trong việc dung nạp glucoza suy giảm.

Dược phẩm trong bản mô tả này có thể được điều chế từ lượng hữu hiệu điều trị của hợp chất có công thức [I] hoặc muối dược dụng của nó và ít nhất một hoặc nhiều chất mang dược dụng, sau đó tùy ý trộn, theo phương pháp đã biết trong lĩnh vực bào chế thuốc. Lượng hợp chất có công thức [I] hoặc muối dược dụng của nó chứa trong dược phẩm khác nhau phụ thuộc vào yếu tố như dạng liều lượng và lượng liều lượng và loại, ví dụ, từ 0,1 đến 100% trọng lượng của tổng lượng chế phẩm.

Dạng liều được bào chế với hợp chất có công thức [I] hoặc muối dược dụng

của nó bao gồm chế phẩm dùng đường miệng như viên nén, viên nang, dạng hạt, bột, viên ngậm, xi-rô, nhũ tương và huyền phù; và chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa như chế phẩm dùng ngoài da, thuốc đạn, thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt, chế phẩm theo đường mũi và chế phẩm dùng cho phổi.

Thuật ngữ “chất mang dược dụng” bao gồm các chất mang vô cơ hoặc hữu cơ khác nhau mà thường được dùng làm thành phần của chế phẩm. Các chất này bao gồm, ví dụ, tá dược, chất gây rã, chất kết dính, chất hóa lỏng, và chất làm trơn dùng cho chế phẩm rắn; dung môi, chất hòa tan, chất tạo huyền phù, chất trương lực, chất đệm, và chất làm dịu cho chế phẩm lỏng; và bazơ, chất nhũ tương, chất làm ướt, chất ổn định, chất tạo ổn định, chất phân tán, chất làm dẻo, chất điều chỉnh độ pH, chất kích thích hấp thụ, chất tạo gel, chất khử trùng, chất độn, chất hòa tan, chất hòa tan và chất tạo huyền phù cho các chế phẩm bán rắn. Chất phụ gia như chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất tạo màu, và chất tạo ngọt có thể thêm vào, nếu cần.

“Tá dược” bao gồm, ví dụ, lactoza, đường kính, D-mannitol, D-sorbitol, tinh bột ngô, dextrin, xenluloza vi tinh thể, xenluloza tinh thể, carmenloza, carmenloza canxi, natri carboxymetyl tinh bột, hydroxypropylxenluloza thể thấp, và gôm arabic.

“Chất gây rã” bao gồm, ví dụ, carmenloza, carmenloza canxi, carmenloza natri, tinh bột natri carboxymetyl, crosscarmenloza natri, crospovidon, hydroxypropylxenluloza thể thấp, hydroxypropylmetyl xenluloza, và xenluloza tinh thể.

“Chất kết dính” bao gồm, ví dụ, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetyl xenluloza, povidon, xenluloza tinh thể, đường kính, dextrin, tinh bột, gelatin, carmenloza natri, và gôm arabic.

“Chất hóa lỏng” bao gồm, ví dụ, silicic axit khan nhẹ và magie stearat.

“Chất làm trơn” bao gồm, ví dụ, magie stearat, canxi stearat, và đá tan.

“Dung môi” bao gồm, ví dụ, nước tinh khiết, etanol, propylen glycol, macrogol, dầu mè, dầu ngô, và dầu ô liu.

“Chất hòa tan” bao gồm, ví dụ, propylen glycol, D-mannitol, benzyl benzoat, etanol, trietanolamin, natri cacbonat, và natri xitrat.

“Chất tạo huyền phù” bao gồm, ví dụ, benzalkonium clorua, carmenloza, hydroxypropylxenluloza, propylen glycol, povidon, metylxenluloza, và glyxeryl monostearat.

“Chất trương lực” bao gồm, ví dụ, glucoza, D-sorbitol, natri clorua, và D-mannitol.

“Chất đệm” bao gồm, ví dụ, dinatri hydro phosphat, natri axetat, natri cacbonat, và natri xitrat.

“Chất làm dịu” bao gồm, ví dụ, rượu benzyl.

“Bazo” bao gồm, ví dụ, nước, dầu động vật hoặc thực vật như dầu ô liu, dầu ngô, dầu lạc, dầu mè và dầu thầu dầu, cồn bậc thấp như etanol, propanol, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, và phenol, axit béo bậc cao và este của nó, sáp, rượu bậc cao, rượu polyhydric, hydrocacbon như vazolin trắng, parafin lỏng, và parafin, dầu hòa ưa nước, lanolin được tinh chế, thuốc mỡ hấp thụ, lanolin ngâm nước, thuốc mỡ ưa nước, tinh bột, pullulan, gôm arabic, gôm tragacan, gelatin, dextran, dẫn xuất xenluloza như metylxenluloza, carboxymetyl xenluloza, hydroxyetyl xenluloza, và hydroxypropyl xenluloza, polyme tổng hợp như carboxyvinyl polyme, natri polyacrylat, rượu polyvinyl, và polyvinylpyrrolidon, propylen glycol, macrogol như Macrogol 200 đến 600, và hỗn hợp bao gồm hai hoặc nhiều chất.

“Chất bảo quản” bao gồm, ví dụ, etyl parahydroxybenzoat, clobutanol, rượu benzyl, natri dehydroaxetat, và axit sorbic.

“Chất chống oxy hóa” bao gồm, ví dụ, natri sulfit và axit ascorbic.

“Chất tạo màu” bao gồm, ví dụ, màu thực phẩm (ví dụ, màu thực phẩm đỏ số 2 hoặc số 3, màu thực phẩm vàng số 4, hoặc số 5) và β -caroten.

“Chất tạo ngọt” bao gồm, ví dụ, sacarin natri, dikali glyxyrrhizinat, và aspartam.

Dược phẩm trong bản mô tả này có thể được sử dụng theo đường miệng

hoặc ngoài đường tiêu hóa (ví dụ, tại chỗ, theo đường trực tràng, tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp và tiêm dưới da) cho người và động vật có vú không phải người như chuột nhắt, chuột, chuột đồng, chuột lang, thỏ, mèo, chó, lợn, bò, ngựa, cừu, và khỉ. Liều lượng thay đổi tùy thuộc vào đối tượng được sử dụng, bệnh, tình trạng bệnh, dạng liều và đường dùng. Ví dụ, liều hàng ngày dùng qua đường miệng cho bệnh nhân là người lớn thường nằm trong khoảng từ 0,01mg đến khoảng 1g thành phần hoạt tính, tức là, hợp chất có công thức [I]. Liều lượng này có thể được sử dụng một lần hoặc nhiều lần.

Kit như kit để sử dụng, điều trị, và/hoặc ngăn ngừa, gói như hàng hóa được đóng gói, và hộp và/hoặc lọ thuốc mà bao gồm được phẩm chứa hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dùng của nó làm thành phần hoạt tính hoặc chất hoạt hóa và tờ hướng dẫn sử dụng liên quan đến chế phẩm chỉ ra rằng chế phẩm có thể hoặc nên được sử dụng để điều trị và/hoặc ngăn ngừa cũng là hữu ích. Kit, gói, và hộp thuốc có thể bao gồm một hoặc nhiều vật chứa có chứa được phẩm hoặc một hoặc nhiều thành phần hoạt tính và được phẩm hoặc thuốc (hoặc thành phần) khác được sử dụng cho chế phẩm. Ví dụ về kit, gói, và hộp thuốc bao gồm kit thương phẩm, gói thương phẩm, và hộp thuốc thương phẩm để sử dụng thích hợp trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh dự tính. Tờ hướng dẫn sử dụng có trong kit, gói, và hộp thuốc này bao gồm ghi chú cảnh báo hoặc đóng gói theo mẫu do tổ chức chính phủ ban hành để quy định về việc sản xuất, sử dụng, hoặc bán sản phẩm được phẩm hoặc sinh học mà đảm bảo được tổ chức chính phủ cấp phép sản xuất, sử dụng, hoặc bán sản phẩm liên quan đến việc sử dụng cho người. Kit, gói, và hộp thuốc có thể bao gồm sản phẩm được đóng gói cũng như các cấu trúc được định hình cho các bước sử dụng thích hợp và định hình để có thể đạt được hiệu quả điều trị và/hoặc ngăn ngừa tốt hơn bao gồm điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh đã định.

Phương pháp điều chế hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dùng của nó được minh họa như dưới đây. Phương pháp điều chế hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dùng của nó không bị giới hạn ở đây.

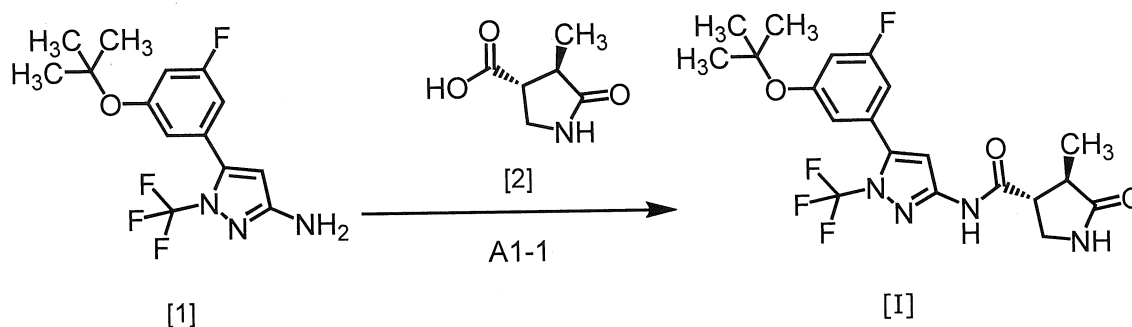
Mỗi hợp chất thu được trong mỗi bước có thể được tách và/hoặc được tinh chế, nếu cần, theo phương pháp bất kỳ đã biết như chưng cất, kết tinh lại, và sắc ký cột, hoặc một cách tùy ý, có thể tiến hành bước tiếp theo mà không cần tách và/hoặc tinh chế.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” dùng để chỉ nhiệt độ mà không được kiểm soát và bao gồm từ 1°C đến 40°C theo một phương án.

Phương pháp điều chế A

Hợp chất có công thức [I] có thể được điều chế theo phương pháp điều chế A1 hoặc A2 như được thể hiện trên sơ đồ dưới đây.

Phương pháp điều chế A1



(Bước A1-1)

Hợp chất có công thức [I] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [1] hoặc muối của nó phản ứng với với hợp chất có công thức [2] hoặc muối của nó với sự có mặt của chất ngưng tụ và phụ gia trong dung môi.

Chất ngưng tụ được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dicyclohexylcarbodiimide (DCC), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride (WSC•HCl), diisopropylcarbodiimide, 1,1'-carbonyldiimidazole (CDI), O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorophosphate (HATU), {[(1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylidene)amino]oxy}-4-morpholinomethylene}dimethylammonium hexafluorophosphate (COMU), 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholine chloride n-hydrate (DMT-MM), (benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidino phosphonium hexafluorophosphate (PyBOP), diphenylphosphoryl azide, và anhydride axit propylphosphonic.

Chất phụ gia được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, 1-hydroxybenzotriazole

(HOBt), 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt), N-hydroxysuccinimide (HOSu), 4-dimethylaminopyridine, và 1-methylimidazole.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocarbon được halogen hóa như cloform; dung môi ête như tetrahydrofuran; dung môi phân cực như pyridine, axetonitril, N,N-dimethylformamide; và dung môi hỗn hợp bao gồm bất kỳ trong số những dung môi này.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 100°C.

Khi muối của hợp chất có công thức [1] được sử dụng, thì có thể tiến hành phản ứng với sự có mặt của bazơ. Bazơ này bao gồm, ví dụ, bazơ hữu cơ như triethylamine và muối kim loại kiềm như natri cacbonat.

Hợp chất có công thức [I] cũng có thể được điều chế bằng cách chuyển hóa hợp chất có công thức [2] bằng chất halogen hóa thành cacboxylic halogenua tương ứng trong dung môi, theo sau là phản ứng với hợp chất có công thức [1] với sự có mặt của bazơ.

Chất halogen hóa được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, oxalyl clorua và thionyl clorua. Chất halogen hóa được ưu tiên là oxalyl clorua.

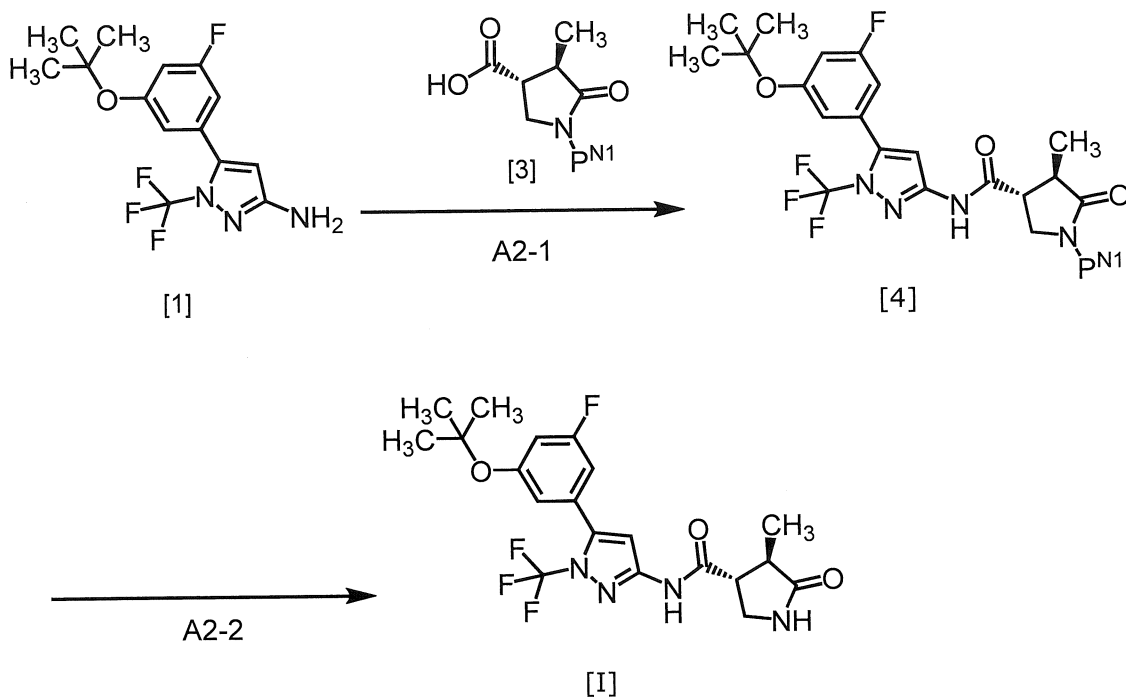
Bazơ được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, bazơ hữu cơ như pyridine, triethylamine, và N,N-diisopropylethylamine; và muối kim loại kiềm như natri hydro cacbonat và natri cacbonat. Bazơ được ưu tiên là pyridine.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocarbon được halogen hóa như cloform; dung môi ête như cyclopentyl methyl ête và tetrahydrofuran; dung môi hydrocarbon như toluen; và dung môi hỗn hợp bao gồm dung môi bất kỳ trong số các dung môi này với nước. Dung môi tốt hơn là cloform.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 80°C, tốt hơn là từ 0°C đến 60°C.

Trong việc điều chế cacboxylic halide, N,N-dimethylformamide có thể được thêm vào dưới dạng chất phụ gia.

Phương pháp điều chế A2



Trong sơ đồ này, P^{N1} là nhóm bảo vệ cho nhóm amino. P^{N1} tốt hơn là nhóm 2,4-dimetoxybenzyl.

Bước A2-1

Hợp chất có công thức [1] hoặc muối của nó và hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó có thể phản ứng theo phương pháp điều chế A1 bước A1-1 để tạo ra hợp chất có công thức [4].

Bước A2-2

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách loại bỏ P^{N1} khỏi hợp chất có công thức [4] thông qua phản ứng khử bảo vệ. Phản ứng khử bảo vệ có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp tùy thuộc vào P^{N1}.

Ví dụ, khi P^{N1} là 2,4-dimetoxybenzyl, hợp chất có công thức [I] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng phản ứng với axit với sự có mặt của chất phụ gia trong dung môi.

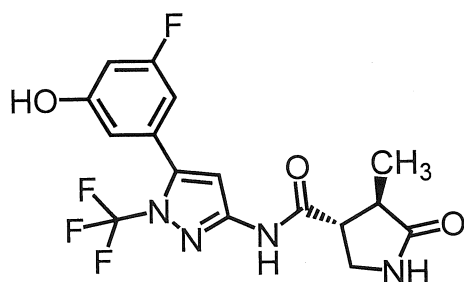
Axit được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic, và axit trifloaxetic. Axit tốt hơn là axit trifloaxetic.

Chất phụ gia được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, anisol và trietylsilan. Chất phụ gia tốt hơn là anisol.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocacbon được halogen hóa như diclometan, dung môi hydrocacbon như toluen, nước, và dung môi hỗn hợp chứa bất kỳ trong số những dung môi này. Axit hữu cơ như axit trifloaxetic có thể cũng được sử dụng cho dung môi.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 130°C, tốt hơn là từ 25°C đến 80°C.

Khi axit được sử dụng ở bước này, thu được hợp chất có công thức [5]:



[5]

hoặc muối của nó. Hợp chất có công thức [I] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách chuyển hóa nhóm hydroxyl thành nhóm tert-butoxy trong hợp chất có công thức [5] hoặc muối của nó theo phương pháp đã biết bất kỳ.

Ví dụ, hợp chất có công thức [I] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [5] hoặc muối của nó phản ứng với di-tert-butyl dicacbonat với sự có mặt của magie perchlorat.

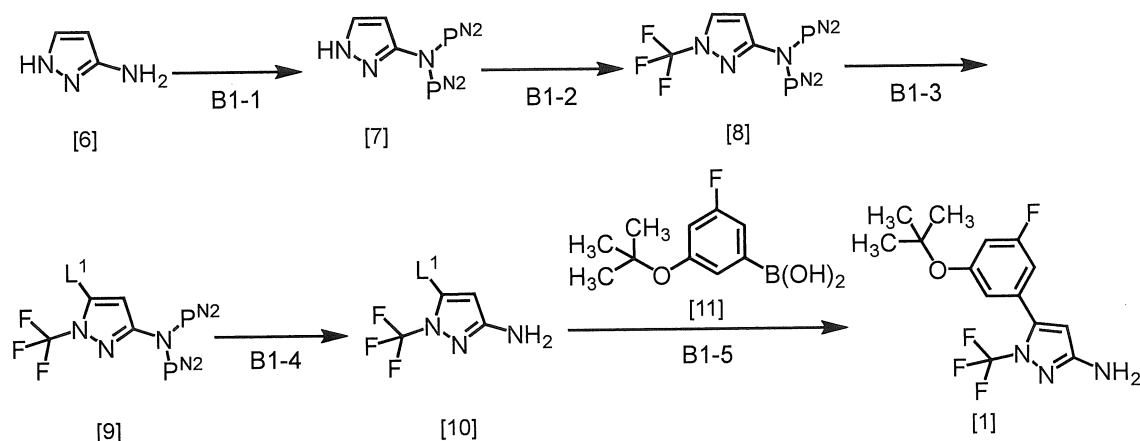
Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocacbon được halogen hóa như cloform và dung môi ête như tetrahydrofuran. Dung môi tốt hơn là cloform.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 100°C, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 70°C.

Phương pháp điều chế B

Hợp chất có công thức [1] có thể được điều chế theo phương pháp điều chế B1 như được thể hiện trên sơ đồ dưới đây.

Phương pháp điều chế B1



Trong sơ đồ này, L^1 là nhóm rời chuyển. L^1 tốt hơn là clo, brom, hoặc iot. Mỗi P^{N2} độc lập là nhóm bảo vệ amin. Hai P^{N2} tốt hơn là được kết hợp với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành 2,5-dimethylpyrrol.

Bước B1-1

Hợp chất có công thức [7] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách đưa P^{N2} vào nhóm amino trong hợp chất có công thức [6] hoặc muối của nó theo phương pháp đã biết bất kỳ. Việc đưa nhóm bảo vệ vào có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp phụ thuộc vào P^{N2} . Ví dụ, khi hai P^{N2} được kết hợp với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành 2,5-dimethylpyrrol, hợp chất có công thức [7] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [6] phản ứng với 2,5-hexandion trong dung môi trong điều kiện axit.

Axit được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, axit clohydric đậm đặc, axit sulfuric đậm đặc, axit amidosulfuric, axit p-toluensulfonic và axit axetic. Axit được ưu tiên là axit axetic.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi rượu như etanol, dung môi ête như tetrahydrofuran, dung môi hydrocarbon như toluen, dung môi phân cực như N,N-dimethylformamit, dung môi hydrocarbon được halogen hóa như dicloetan, và dung môi hỗn hợp bao gồm bất kỳ trong số những dung môi này. Axit hữu cơ như axit axetic cũng có thể được sử dụng cho dung môi.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C, tốt hơn là từ 80°C đến 140°C.

Bước B1-2

Hợp chất có công thức [8] có thể được điều chế theo, ví dụ, quy trình bao gồm:

bước (a): cho hợp chất có công thức [7] phản ứng với dibromdiflometan với sự có mặt của bazơ và chất xúc tác trong dung môi, và

bước (b): flo hóa chất tạo thành với sự có mặt của tetrametylamoni florua hoặc bạc (I) tetrafloborat trong dung môi.

Bazơ được sử dụng ở bước (a) bao gồm, ví dụ, natri hydrua và kali tert-butoxit. Bazơ được ưu tiên là natri hydrua.

Chất xúc tác được sử dụng ở bước (a) bao gồm, ví dụ, tetrabutylamoni bromua và kẽm. Chất xúc tác được ưu tiên là tetrabutylamoni bromua.

Dung môi được sử dụng ở bước (a) bao gồm, ví dụ, dung môi ête như tetrahydrofuran và dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit. Dung môi được ưu tiên là N,N-dimetylformamit.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 40°C, tốt hơn là từ 0°C đến nhiệt độ trong phòng.

Khi tetrametylamoni florua được sử dụng ở bước (b), dung môi được sử dụng trong đó bao gồm, ví dụ, dung môi ête như 1,4-dioxan và dung môi phân cực như sulfolan. Dung môi được ưu tiên là sulfolan. Khi bạc (I) tetrafloborat được sử dụng ở bước (b), dung môi được sử dụng trong đó bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocacbon được halogen hóa như diclometan. Dung môi được ưu tiên là diclometan.

Khi tetrametylamoni florua được sử dụng ở bước (b), nhiệt độ phản ứng trong đó nằm trong khoảng, ví dụ, từ 80°C đến 180°C, tốt hơn là từ 100°C đến 140°C. Khi bạc (I) tetrafloborat được sử dụng ở bước (b), nhiệt độ phản ứng trong đó nằm trong khoảng, ví dụ, từ -78°C đến 50°C, tốt hơn là từ -78°C đến nhiệt độ trong phòng.

Bước B1-3

Hợp chất có công thức [9] có thể được điều chế bằng cách đưa L^1 vào hợp chất có công thức [8] với sự có mặt của bazơ trong dung môi. Ví dụ, khi L^1 là iot, hợp chất có công thức [9] có thể được điều chế bằng cách iot hóa hợp chất có công thức [8] với sự có mặt của bazơ trong dung môi.

Bazơ được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, n-butyllithi, lithi diisopropylamit, lithi hexametyldisilazit, và lithi tetrametylpiperidit. Bazơ được ưu tiên là n-butyllithi.

Chất iot hóa được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, iôt, iôt monoclorua, N-iodosucinimit, và 1-clo-2-iodoetan. Chất iot hóa được ưu tiên là iot.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi ête như tetrahydrofuran, dung môi hydrocacbon như toluen, và dung môi hỗn hợp chứa bất kỳ trong số những dung môi này. Dung môi được ưu tiên là tetrahydrofuran.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ -100°C đến 40°C , tốt hơn là từ -78°C đến 20°C .

Bước B1-4

Hợp chất có công thức [10] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách loại bỏ $\text{P}^{\text{N}2}$ khỏi hợp chất có công thức [9] thông qua phản ứng khử bảo vệ. Phản ứng khử bảo vệ có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp tùy thuộc vào $\text{P}^{\text{N}2}$. Ví dụ, khi hai $\text{P}^{\text{N}2}$ được kết hợp với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào để tạo thành 2,5-dimethylpyrol, hợp chất có công thức [10] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [9] phản ứng với hydroxylamin trong dung môi.

Dung môi được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi rượu như etanol, nước, và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này. Dung môi được ưu tiên là dung môi hỗn hợp của dung môi cồn với nước.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 40°C đến 150°C , tốt hơn là từ 80°C đến 130°C .

Hydroxylamin hydroclorua có thể được sử dụng thay cho hydroxylamin.

Trong trường hợp này, phản ứng có thể được thực hiện với sự có mặt của bazơ. Bazơ được sử dụng ở đây bao gồm, ví dụ, bazơ hữu cơ như triethylamin và muối kim loại kiềm như natri cacbonat. Bazơ được ưu tiên là triethylamin.

Bước B1-5

Hợp chất có công thức [1] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng phản ứng kết hợp Suzuki giữa hợp chất có công thức [10] hoặc muối của nó với hợp chất có công thức [11]. Ví dụ, hợp chất có công thức [1] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [10] hoặc muối của nó phản ứng với hợp chất có công thức [11] với sự có mặt của bazơ và chất xúc tác paladi trong dung môi.

Chất xúc tác paladi được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, tetrakis(triphenylphosphin)paladi, sản phẩm cộng [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II)-diclometan, [1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II), và hỗn hợp bao gồm paladi (II) axetat và trixyclohexylphosphin, 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxybiphenyl, hoặc 2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl. Chất xúc tác paladi được ưu tiên là sản phẩm cộng [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II)-diclometan.

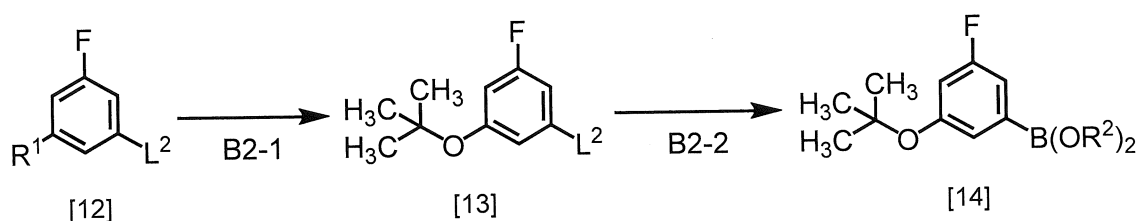
Bazơ được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, trikali phosphat, xeri cacbonat, natri cacbonat, natri hydro cacbonat, kali cacbonat, và triethylamin. Bazơ được ưu tiên là trikali phosphat, xeri cacbonat, hoặc natri cacbonat.

Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi ête như 1,4-dioxan, tetrahydrofuran, diethyl ête, và 1,2-dimetoxyetan; dung môi rượu như metanol, etanol, 1-propanol, và 2-propanol; dung môi hydrocacbon như toluen, n-hexan, và xylen; dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, và axetonitril; và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này với nước. Dung môi được ưu tiên là 1,2-dimetoxyetan, toluen, dimetyl sulfoxit, hoặc dung môi hỗn hợp bất kỳ trong số những dung môi này với nước.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 20°C đến 150°C, tốt hơn là từ 80°C đến 130°C.

Hợp chất có công thức [11] có thể được điều chế theo phương pháp đã biết bất kỳ. Este của axit boric tương ứng có thể được sử dụng thay vì hợp chất có công thức [11] trong phản ứng ở bước B1-5. Ví dụ, este của axit boric này có thể được điều chế theo phương pháp điều chế B2 như được thể hiện trong sơ đồ dưới đây.

Phương pháp điều chế B2



Trong sơ đồ này, R^1 là flo hoặc nhóm hydroxyl. L^2 là nhóm rời chuyển. L^2 tốt hơn là clo, brom, iot, p-toluensulfonyloxy, metansulfonyloxy, hoặc triflometansulfonyloxy. $B(\text{hoặc}^2)_2$ là este của axit boric. Mỗi R^2 độc lập là, ví dụ, metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, sec-butyl, hoặc tert-butyl, hoặc ngoài ra, OR^2 có thể được kết hợp với bo mà chúng gắn vào để tạo thành este của axit boric mạch vòng. $B(OR^2)_2$ tốt hơn là pinacol este của axit boric.

Bước B2-1

Hợp chất có công thức [13] có thể được điều chế bằng cách chuyển hóa R^1 thành nhóm tert-butoxy trong hợp chất có công thức [12]. Phản ứng có thể được thực hiện theo phương pháp đã biết bất kỳ.

Khi R^1 là flo, hợp chất có công thức [13] có thể được điều chế bằng cách, ví dụ, cho hợp chất có công thức [12] phản ứng với natri tert-butoxit hoặc kali tert-butoxit trong dung môi. Dung môi được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm, ví dụ, dung môi ête như tetrahydrofuran; và dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit và dimetyl sulfoxit. Dung môi được ưu tiên là N,N-dimetylformamit. Nhiệt độ phản ứng trong bản mô tả này nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 100°C, tốt hơn là từ nhiệt độ trong phòng đến 85°C.

Khi R^1 là nhóm hydroxyl, hợp chất có công thức [13] có thể được điều chế theo, ví dụ, phương pháp điều chế hợp chất có công thức [I] hoặc muối của nó từ hợp chất có công thức [5] hoặc muối của nó, như được mô tả trong phương pháp điều chế A2 bước A2-2.

Bước B2-2

Hợp chất có công thức [14] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [13] phản ứng với hợp chất bo với sự có mặt của chất xúc tác paladi, hợp chất phospho hữu cơ, và bazơ trong dung môi.

Chất xúc tác paladi ở đây bao gồm, ví dụ, paladi (II) axetat, paladi (II) clorua, và tris(dibenzylideneaxeton)dipaladi (0).

Hợp chất phospho hữu cơ ở đây bao gồm, ví dụ, triphenylphosphin, trixyclohexylphosphin, 1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen, 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxybiphenyl, 2-dixyclohexylphosphino-2',4',6'-triisopropylbiphenyl, và 2-dixyclohexylphosphino-2'-(N,N-dimethylamino)biphenyl.

Thay vì chất xúc tác paladi và hợp chất phospho hữu cơ, tetrakis(triphenylphosphin)paladi, sản phẩm cộng [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II)-diclometan, hoặc [1,1'-bis(di-tert-butylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II) có thể được sử dụng.

Bazơ ở đây bao gồm, ví dụ, kali axetat, natri cacbonat, xeri cacbonat, và kali cacbonat. Bazơ được ưu tiên là kali axetat.

Hợp chất bo ở đây bao gồm, ví dụ, bis(pinacolato)dibo.

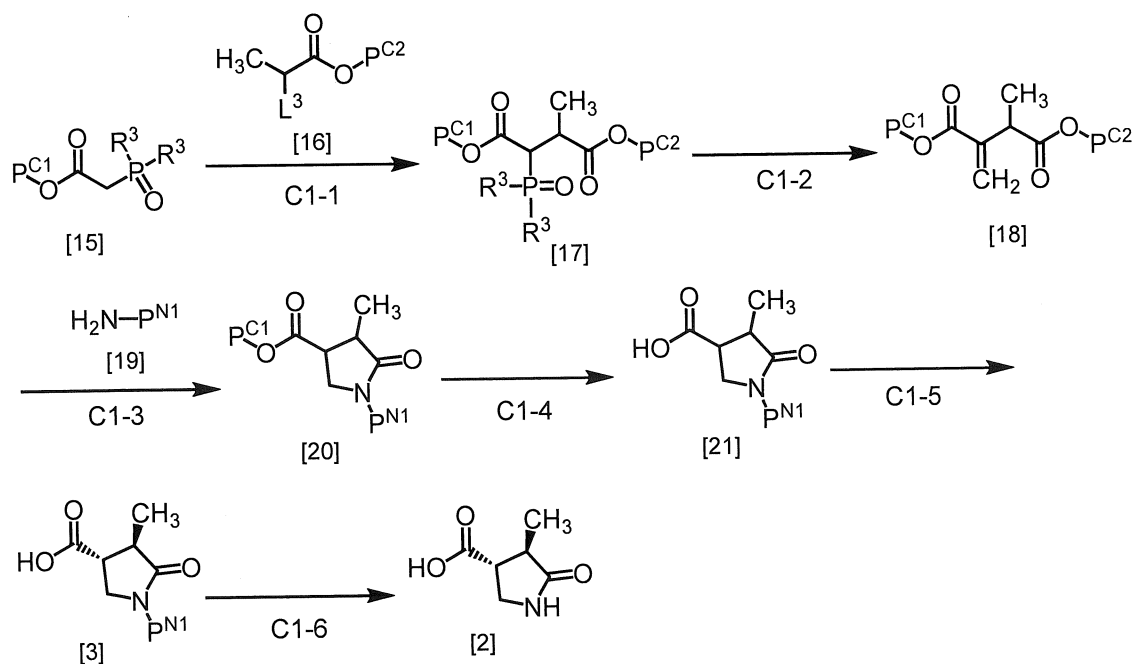
Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi ête như 1,4-dioxan, tetrahydrofuran, và 1,2-dimetoxietan; dung môi hydrocacbon như toluen; và dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit và dimetyl sulfoxit. Dung môi được ưu tiên là dimetyl sulfoxit.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ nhiệt độ trong phòng đến 150°C, tốt hơn là từ 70°C đến 110°C.

Phương pháp điều chế C

Hợp chất có công thức [2] hoặc muối của nó và hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó có thể được điều chế theo phương pháp điều chế C1 như được thể hiện trong sơ đồ dưới đây.

Phương pháp điều chế C1



Trong sơ đồ này, mỗi P^{C1} và P^{C2} độc lập là nhóm bảo vệ cho carboxy. Tốt hơn là, mỗi P^{C1} và P^{C2} độc lập là methyl, ethyl, tert-butyl, hoặc benzyl. Mỗi R^3 độc lập là metoxy hoặc etoxy. L^3 là nhóm rời chuyển. L^3 tốt hơn là brom hoặc clo. Các ký hiệu khác có cùng nghĩa như được mô tả trên đây.

Bước C1-1

Hợp chất có công thức [17] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [15] phản ứng với hợp chất có công thức [16] với sự có mặt của bazơ trong dung môi.

Bazơ được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, kali tert-butoxit, natri metoxit, natri etoxit, lithi diisopropylamit, kali hexametyldisilazan, kali cacbonat, xeri cacbonat, và natri hydrua. Bazơ được ưu tiên là kali tert-butoxit.

Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi ête như tetrahydrofuran; dung môi rượu như metanol và etanol; dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit và

dimethyl sulfoxit. Dung môi được ưu tiên là tetrahydrofuran.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ -78°C đến 100°C , tốt hơn là từ 0°C đến 70°C .

Bước C1-2

Hợp chất có công thức [18] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [17] phản ứng với formaldehyt (tốt hơn là, dung dịch formaldehyt) với sự có mặt của bazơ trong dung môi.

Bazơ được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, kali tert-butoxit, natri metoxit, natri etoxit, lithi diisopropylamit, kali hexametyldisilazan, kali cacbonat, xeri cacbonat, và natri hydrua. Bazơ được ưu tiên là kali cacbonat.

Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi ête như tetrahydrofuran; dung môi rượu như metanol và etanol; và dung môi phân cực như N,N-dimetylformamit và dimethyl sulfoxit. Dung môi được ưu tiên là tetrahydrofuran.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ -78°C đến 100°C , tốt hơn là từ 0°C đến 70°C .

Bước C1-3

Hợp chất có công thức [20] có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức [18] phản ứng với hợp chất có công thức [19] trong dung môi.

Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi hydrocacbon như toluen; dung môi rượu như metanol và etanol; và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này. Dung môi được ưu tiên là toluen.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 20°C đến 150°C , tốt hơn là từ 80°C đến 130°C .

Bước C1-4

Hợp chất có công thức [21] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách loại bỏ P^{Cl} khỏi hợp chất có công thức [20] thông qua phản ứng khử bảo vệ. Phản ứng khử bảo vệ có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp tùy thuộc vào P^{Cl} . Ví dụ, khi P^{Cl} là etyl, hợp chất có công thức [21] hoặc muối của nó có thể

được điều chế bằng cách thủy phân hợp chất có công thức [20] với sự có mặt của bazơ trong dung môi.

Bazơ được sử dụng trong phản ứng bao gồm, ví dụ, lithi hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit, natri etoxit. Bazơ được ưu tiên là natri etoxit.

Dung môi ở đây bao gồm, ví dụ, dung môi rượu như etanol, dung môi ête như tetrahydrofuran, nước, và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này. Dung môi được ưu tiên là dung môi hỗn hợp bao gồm etanol và nước.

Nhiệt độ phản ứng ở đây nằm trong khoảng, ví dụ, từ 0°C đến 100°C, tốt hơn là từ 0°C đến 40°C.

Bước C1-5

Hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó có thể thu được bằng cách tách từ hợp chất có công thức [21] hoặc muối của nó. Việc tách hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp cho quy trình tách theo phương pháp đã biết bất kỳ trong lĩnh vực này. Ví dụ, hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó có thể thu được bằng cách tách muối đồng phân lập thể phi đối hình của nó bằng chất giải quang học bazơ, sau đó xử lý muối bằng axit.

Chất phân giải quang học cơ bản ở đây bao gồm, ví dụ, (1R,2R)-(-)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol.

Dung môi được sử dụng để đưa vào muối đồng phân lập thể phi đối hình bao gồm, ví dụ, dung môi rượu như 2-propanol, dung môi ête như 1,2-dimetoxyetan, dung môi phân cực như axetonitril, và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này với nước. Dung môi được ưu tiên là axetonitril, 1,2-dimetoxyetan, hoặc dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số những dung môi này với nước.

Độ tinh khiết của muối đồng phân lập thể phi đối hình có thể gia tăng bằng cách kết tinh lại. Dung môi được sử dụng trong quá trình kết tinh lại bao gồm, ví dụ, dung môi ête như 1,2-dimetoxyetan, dung môi phân cực như axetonitril, và dung

môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này với nước. Dung môi được ưu tiên là dung môi hỗn hợp bao gồm axetonitril và nước.

Axit được sử dụng để xử lý muối đồng phân lập thể phi đối hình bao gồm, ví dụ, axit clohydric, axit sulfuric, và kali hydro sulfat. Axit được ưu tiên là axit clohydric.

Dung môi được sử dụng để xử lý muối đồng phân lập thể phi đối hình bao gồm, ví dụ, dung môi este như ethyl axetat, dung môi ête như tetrahydrofuran, nước, và dung môi hỗn hợp của dung môi bất kỳ trong số các dung môi này. Dung môi được ưu tiên là dung môi hỗn hợp bao gồm ethyl axetat và nước.

Bước C1-6

Hợp chất có công thức [2] hoặc muối của nó có thể được điều chế bằng cách loại bỏ P^{N1} khỏi hợp chất có công thức [3] hoặc muối của nó thông qua phản ứng loại bỏ nhóm bảo vệ. Phản ứng loại bỏ nhóm bảo vệ có thể được thực hiện trong điều kiện thích hợp tùy thuộc vào P^{N1} . Ví dụ, khi P^{N1} là 2,4-dimethoxybenzyl, hợp chất có công thức [2] hoặc muối của nó có thể được điều chế theo phương pháp điều chế A2 bước A2-2.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa chi tiết bằng các chế phẩm, ví dụ, ví dụ tham khảo, ví dụ thử nghiệm, và ví dụ điều chế như dưới đây, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ý nghĩa của các từ viết tắt được sử dụng trong bản mô tả này được thể hiện như sau.

DMF: N,N-dimethylformamit

DMSO: dimetyl sulfoxit

THF: tetrahydrofuran

CPME: xyclopentyl metyl ête

Phổ ^1H -NMR được đo trong CDCl_3 hoặc DMSO-d_6 bằng tetrametylsilan đối với chất nội chuẩn, và tất cả giá trị δ được thể hiện bằng ppm (phần triệu). Phép đo

được thực hiện bằng quang phổ kế NMR với 400MHz, trừ phi có quy định khác.

Ký hiệu trong ví dụ có nghĩa như sau.

s: vạch đơn

d: vạch kép

t: vạch ba

q: vạch bốn

dd: bộ đôi hai vạch

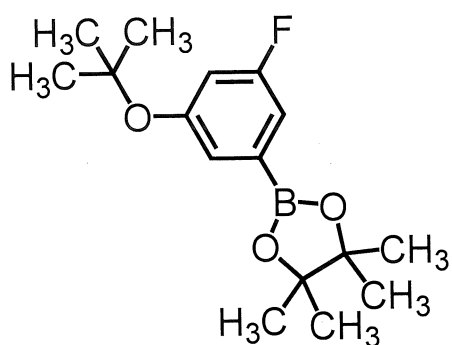
ddd: bộ đôi của các bộ đôi hai vạch

brs: vạch đơn rộng

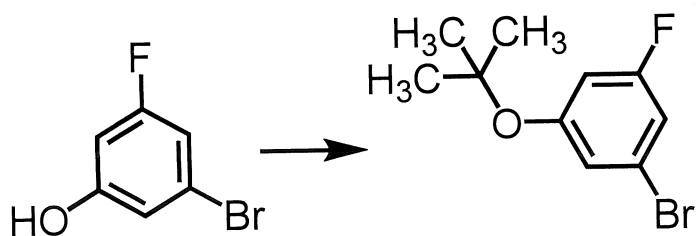
m: vạch bội

J: hằng số ghép

[Điều chế 1] Điều chế 2-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan



(bước 1) Điều chế 1-brom-3-(tert-butoxy)-5-flobenzen

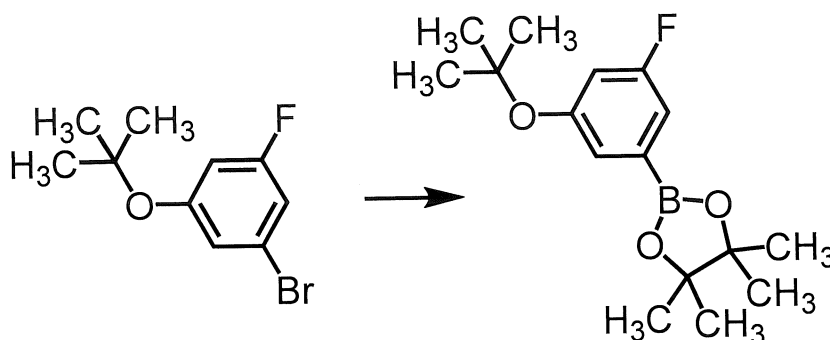


Lần lượt bổ sung di-tert-butyl dicacbonat (1,14g) và magie perclorat (58mg) vào 3-brom-5-flophenol (500mg) ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 50°C trong 1 giờ 20 phút. Bổ sung di-tert-butyl dicacbonat vào hỗn hợp phản ứng ở 50°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50°C

trong 1 giờ và tiếp tục khuấy ở 65°C trong 1 giờ, và sau đó làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung di-tert-butyl dicacbonat vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 65°C trong 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và bổ sung vào đó dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (1/1). Hỗn hợp phản ứng được rửa lần lượt bằng axit clohydric 3N, dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa, và nước muối, và sau đó được làm khô bằng natri sulfat và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 1/0 đến 20/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (437mg) với hiệu suất là 68%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,35 (s, 9H), 6,62-6,66 (m, 1H), 6,92-6,98 (m, 2H).

(Bước 2) Điều chế 2-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan

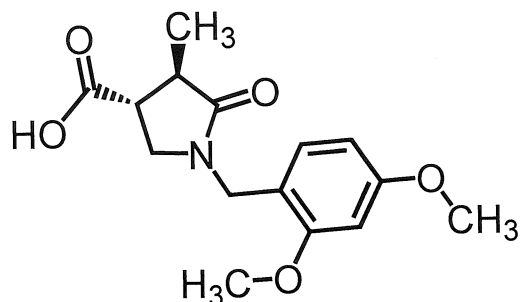


Bổ sung lần lượt kali axetat (434mg), bis(pinacolato)dibo (898mg), và sản phẩm cộng [1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocen]diclopaladi (II)-diclometan (144mg) vào dung dịch chứa 1-brom-3-(tert-butoxy)-5-flobenzen (437mg) thu được ở bước 1 trong DMSO (5mL) trong môi trường argon ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 90°C trong 2,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung lần lượt dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (1/1) và nước vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 50 phút và để yên qua đêm. Bổ sung lần lượt dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (1/1), nước, silica gel, và xelit vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy, và sau đó lọc ra các chất không hòa

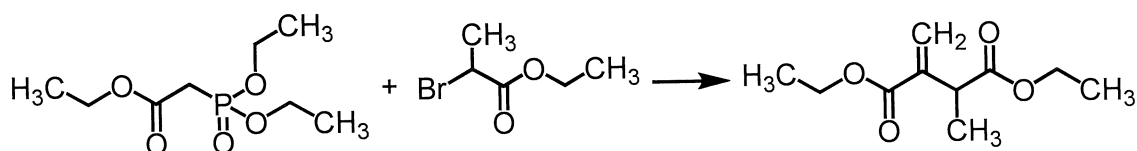
tan và các chất không hòa tan này được rửa bằng dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (1/1). Chất lọc được chiết bằng dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (1/1). Lớp hữu cơ được rửa lần lượt bằng nước hai lần và nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 10/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (443mg) với hiệu suất là 85%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,33 (s, 12H), 1,36 (s, 9H), 6,77-6,82 (m, 1H), 7,18-7,23 (m, 2H).

[Điều chế 2] Điều chế axit (3R,4R)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxylic



(bước 1) Điều chế diethyl 2-metyl-3-metylsuccinat



Bổ sung THF (2,55L) vào kali tert-butoxit (180g) ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Bổ sung từng giọt triethyl phosphonoacetat (314g) vào hỗn hợp trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 13 phút. Phần nhỏ giọt được sử dụng được rửa bằng THF (511mL), và nước rửa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ 9 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung từng giọt etyl 2-bromopropionat (247g) vào hỗn hợp phản ứng trong 20 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Phần nhỏ giọt được sử dụng được rửa bằng THF (79mL), và nước rửa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 22 giờ 45 phút. Bổ sung kali cacbonat (188g)

vào hỗn hợp phản ứng trong 1 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung từng giọt dung dịch nước formaldehyt 37% trọng lượng (152mL) vào hỗn hợp phản ứng trong 10 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 19 giờ 44 phút. Bổ sung nước (1,57L) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ 48 phút. Hỗn hợp phản ứng được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng THF (200mL) hai lần. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp và cô. Bổ sung toluen (471mL) và nước muối (471mL) vào chất cặn. Hỗn hợp phản ứng được khuấy và tách. Lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat (63g). Natri sulfat được lọc ra. Một cách riêng biệt, phản ứng tương tự được thực hiện bằng triethyl phosphonoacetat (300g) để tạo ra chất lọc, mà sau đó được kết hợp với chất lọc thu được ở trên để tạo ra dung dịch chứa hợp chất nêu ở đề mục (tương đương với 2,66 mol) trong toluen (khoảng 921mL). Dung dịch tạo thành chứa hợp chất nêu ở đề mục trong toluen được coi là đạt hiệu suất 100% và được sử dụng ở bước tiếp theo. Việc tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phép phân tích HPLC.

Thiết bị và điều kiện đo HPLC được thể hiện như sau.

Thiết bị đo: hệ thống HPLC, Shimadzu Corporation, máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Prominence

Điều kiện đo:

Cột: Kinetex C18: 2,6 μ m, 50 mm x 2,1 mm (Phenomenex)

Nhiệt độ cột: 40°C

Tốc độ dòng: 0,4 mL/phút.

Thời gian phân tích: 10 phút.

Chiều dài bước sóng dò: UV (220 nm)

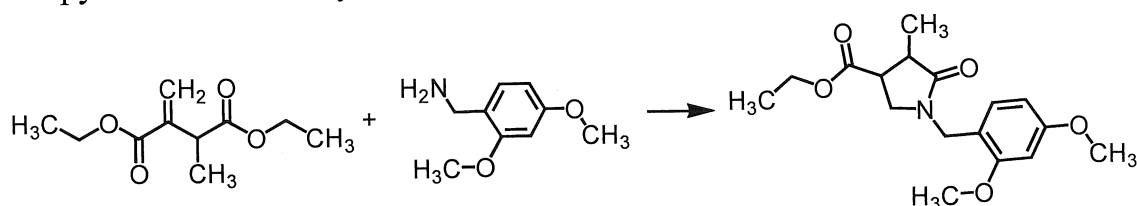
Pha động: (Dung dịch A) nước, (Dung dịch B) axetonitril

Phân phối pha động: Tỷ lệ trộn (Dung dịch A/Dung dịch B (% thể tích)) giữa Dung dịch A và Dung dịch B được duy trì 80/20 từ 0 phút đến 0,01 phút sau khi bơm vào, thay đổi thẳng từ 80/20 đến 10/90 từ 0,01 phút đến 7 phút, duy trì 10/90

từ 7 phút đến 8 phút, thay đổi thang từ 10/90 đến 80/20 từ 8 phút đến 9 phút, và duy trì 80/20 từ 9 phút đến 10 phút.

Thời gian lưu của hợp chất nêu ở đề mục là khoảng 3,7 phút trong điều kiện đo HPLC.

(Bước 2) Điều chế hỗn hợp bao gồm ethyl (cis)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat và ethyl (trans)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat



Bổ sung từng giọt 2,4-dimethoxybenzylamin (468g) vào dung dịch chứa diethyl 2-methyl-3-methylsuccinat (tương đương với 2,66 mol) thu được ở bước 1 trong toluen (khoảng 921mL) trong 2 phút ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 120°C trong 5 giờ 45 phút. Hỗn hợp phản ứng được để yên trong một tuần ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng nước đá đến nhiệt độ hỗn hợp khoảng 15°C. Bổ sung từng giọt axit clohydric 2N (1,33L) vào hỗn hợp phản ứng, và hỗn hợp này được khuấy. Hỗn hợp phản ứng được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng toluen (150mL). Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp, được rửa bằng dung dịch trộn lẫn chứa nước muối và nước (600mL, nước muối/nước = 1/1), được làm khô bằng natri sulfat (120g), cô, và được làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ trong phòng qua đêm để tạo thành sản phẩm thô chứa hợp chất nêu ở đề mục (790g; cis/trans = khoảng 1/1, 5,5% trọng lượng bao gồm cả toluen). Việc tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phép phân tích HPLC.

Thiết bị và điều kiện đo HPLC được thể hiện như sau.

Thiết bị đo: Hệ thống HPLC, Shimadzu Corporation, máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Prominence

Điều kiện đo:

Cột: Atlantis T3: 5 μ m, 150mm x 4,6mm (Waters)

Nhiệt độ cột: 40°C

Tốc độ dòng: 1,15 mL/phút.

Thời gian phân tích: 18 phút.

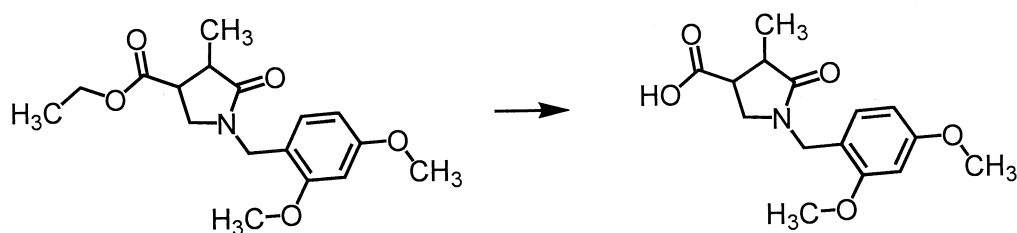
Chiều dài bước sóng dò: UV (220 nm)

Pha động: (Dung dịch A) chất đệm (natri) phosphat 10 mM (pH = 2,6), (Dung dịch B) axetonitril

Phân phối pha động: Tỷ lệ trộn (Dung dịch A/Dung dịch B (% thể tích)) giữa Dung dịch A và Dung dịch B được duy trì ở 60/40 từ 0 phút đến 0,5 phút sau khi tiêm, thay đổi thẳng từ 60/40 đến 10/90 từ 0,5 phút đến 8 phút, duy trì 10/90 từ 8 phút đến 12,5 phút, thay đổi thẳng từ 10/90 đến 60/40 từ 12,5 phút đến 13,5 phút, và duy trì 60/40 từ 13,5 phút đến 18 phút.

Thời gian lưu là khoảng 6,6 phút đối với etyl (cis)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat và khoảng 6,9 phút đối với etyl (trans)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat trong điều kiện đo HPLC.

(Bước 3) Điều chế axit (trans)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic



Bổ sung ethanol (1,15L) vào hỗn hợp thô (790 g, 5,5% trọng lượng bao gồm cả toluen) bao gồm etyl (cis)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat và etyl (trans)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylat, thu được ở bước 2 ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Bổ sung từng giọt natri etoxit (20% trọng lượng dung dịch trong ethanol, 1,15L) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 31 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở

nhệt độ trong phòng trong 2 giờ 57 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng nước đá, và bổ sung từng giọt nước (1,84L) vào đó trong 33 phút. Bổ sung CPME (1,8L) và toluen (1,8L) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp này được tách (Lớp hữu cơ 1). Bổ sung CPME (1,8L) vào lớp nước tạo thành, và hỗn hợp được tách (Lớp hữu cơ 2). Dung môi (1,8L) được loại bỏ từ lớp nước tạo thành bằng cách bay hơi. Bổ sung từng giọt axit clohydric 6N (110mL) vào lớp nước tạo thành trong khi làm lạnh bằng nước đá, và bổ sung etyl axetat (1,8L) vào đó. Bổ sung từng giọt axit clohydric 6N (300mL) vào hỗn hợp trong khi làm lạnh bằng nước đá, và hỗn hợp được khuấy trong khoảng 10 phút. Bổ sung lần lượt nước (2,2L), axit clohydric 6N (50mL), nước (1,0L), 10% trọng lượng dung dịch nước natri hydro sulfat (300mL), và etanol (300mL) vào hỗn hợp trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung etyl axetat (600mL) vào hỗn hợp, và hỗn hợp được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng etyl axetat (600mL) hai lần. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp (ngoại trừ lớp hữu cơ 1 và lớp hữu cơ 2) và được rửa bằng hỗn hợp bao gồm nước muối và nước (1L, nước muối/nước = 1/1). Bổ sung natri sulfat (120g) và cacbon hoạt tính (30g) vào lớp hữu cơ tạo thành, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được lọc bằng xelit để loại bỏ các chất không hòa tan. Các chất không hòa tan được rửa bằng etyl axetat (3L). Chất lọc tạo thành được kết hợp và cô, và được làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ để tạo thành sản phẩm thô chứa hợp chất nêu ở đề mục (561g).

Lớp hữu cơ 1 và lớp hữu cơ 2 nêu trên được kết hợp và cô một cách riêng biệt. Bổ sung toluen (450mL) và nước (450mL) vào chất cặn, và hỗn hợp được tách. Lớp nước tạo thành được rửa bằng toluen (450mL) hai lần. Bổ sung etyl axetat (450mL) vào lớp nước. Bổ sung từng giọt axit clohydric 6N (70mL) trong khi làm lạnh bằng nước đá vào hỗn hợp. Bổ sung etyl axetat (300mL) vào hỗn hợp, và hỗn hợp được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng etyl axetat (150mL). Lớp hữu cơ tạo thành chứa etyl axetat được kết hợp và được rửa bằng hỗn hợp bao gồm

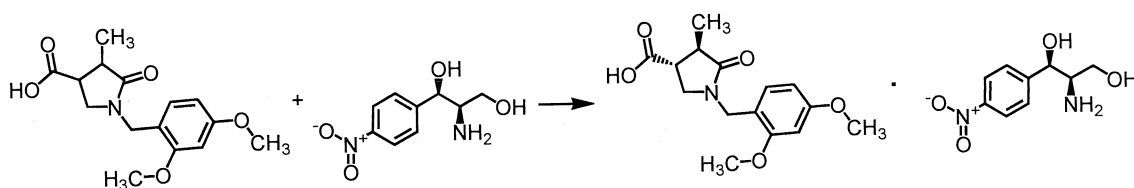
nước muối và nước (225mL, nước muối/nước = 1/1). Bổ sung natri sulfat (30g) và cacbon hoạt tính (7,5g) vào lớp hữu cơ, và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được lọc để loại bỏ các chất không hòa tan. Các chất không hòa tan được rửa bằng etyl axetat (750mL). Chất lọc tạo thành được kết hợp và cô, và được làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ để tạo thành sản phẩm thô chứa hợp chất nêu ở đề mục (87,3g).

Sản phẩm thô này được kết hợp với sản phẩm thô chứa hợp chất nêu ở đề mục thu được trên đây, và bổ sung CPME (3L) vào đó dưới dòng argon. Hỗn hợp được khuấy ở 120°C. Hỗn hợp làm mát từ từ đến nhiệt độ trong phòng kết hợp khuấy trong 17 giờ 34 phút. Hỗn hợp được làm lạnh bằng nước đá và khuấy ở khoảng 1°C của nhiệt độ bên trong trong 3 giờ. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng CPME được làm mát (900mL). Chất kết tủa được làm khô dưới áp suất giảm ở 50°C qua đêm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (585g) với tổng hiệu suất là 75% trong 3 bước. Việc tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phép phân tích HPLC và NMR.

Thiết bị đo và điều kiện đo HPLC là tương tự thiết bị và điều kiện đo ở bước 2. Thời gian lưu của hợp chất nêu ở đề mục là khoảng 3,1 phút dưới điều kiện đo đối với HPLC.

¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1,33 (d, 3H, J = 6,5 Hz), 2,68-2,85 (m, 2H), 3,33-3,48 (m, 2H), 3,80 (s, 6H), 4,43 (s, 2H), 6,42-6,46 (m, 2H), 7,11-7,15 (m, 1H).

(Bước 4) Điều chế muối đồng phân lập thể phi đối hình chứa axit (3R,4R)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxylic với (1R,2R)-(-)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol



Bổ sung axetonitril (2,9L) vào axit (trans)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxylic (585g) thu được ở bước 3 ở nhiệt độ trong phòng dưới

dòng argon. Hỗn hợp được khuấy ở 85°C. Bổ sung (1R,2R)-(-)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol (254g) vào hỗn hợp trong 14 phút ở 85°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 90°C trong 2 giờ 48 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng kèm theo khuấy qua đêm. Chất kết tủa được lọc và được rửa bằng axetonitril (2,4L). Chất kết tủa được làm khô dưới áp suất bình thường trong 8,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng để tạo ra tinh thể thô chứa hợp chất nêu ở đề mục (516g). Bổ sung axetonitril (2,5L) và nước (0,5L) vào tinh thể thô này ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Hỗn hợp được khuấy ở 100°C trong 1 giờ 14 phút. Bổ sung từng giọt axetonitril (1,5L) vào hỗn hợp ở 100°C trong 1 giờ 7 phút. Hỗn hợp được khuấy ở 100°C trong 10 phút. Hỗn hợp được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng kèm theo khuấy trong 21 giờ 10 phút. Hỗn hợp được khuấy trong 3 giờ 54 phút trong khi làm lạnh bằng nước đá. Chất kết tủa được gom lại bằng cách lọc và được rửa bằng axetonitril (1,5L). Chất kết tủa được làm khô dưới áp suất bình thường ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ để thu được hợp chất nêu ở đề mục (448g, 99,8%de) với hiệu suất là 45%. Việc tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phép phân tích HPLC.

Thiết bị và điều kiện đo HPLC được thể hiện như sau.

Thiết bị đo: Hệ thống HPLC, Shimadzu Corporation, máy sắc ký lỏng hiệu năng cao Prominence

Điều kiện đo:

Cột: CHIRAL PAK AD-3R: 3 μ m, 150 mm x 4,6 mm (Daicel)

Nhiệt độ cột: 40°C

Tốc độ dòng: 0,50 mL/phút.

Thời gian phân tích: 10 min.

Chiều dài bước sóng dò: UV (220 nm)

Pha động: (Dung dịch A) chất đệm (natri) phosphat 10 mM (pH = 2,6), (Dung dịch B) axetonitril

Phân phối pha động: Tỷ lệ trộn (Dung dịch A/Dung dịch B (% thể tích)) của

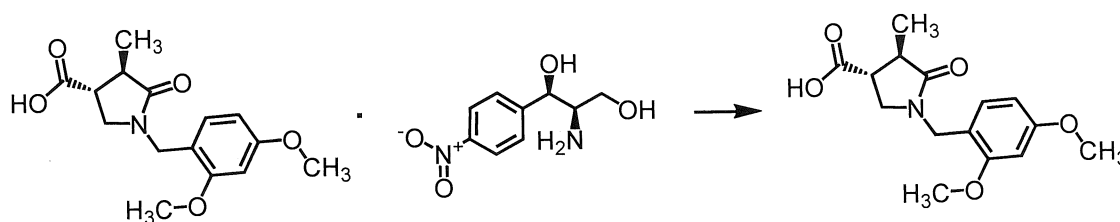
Dung dịch A và Dung dịch B được duy trì 60/40.

Thời gian lưu là khoảng 5,6 phút đối với axit (3R,4R)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic và khoảng 6,5 phút đối với axit (3S,4S)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic dưới điều kiện đo HPLC.

Cấu trúc của hợp chất nêu ở đề mục được xác định bằng tinh thể học tia X của tinh thể đơn của nó thu được sau khi kết tinh lại từ methyl isobutyl keton.

Lượng dư đồng phân lập thể phi đối hình được xác định từ phần trăm diện tích HPLC trong kết quả đo ((3R,4R)/(3S,4S) = 99,886%/0,114%).

(Bước 5) Điều chế axit (3R,4R)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic

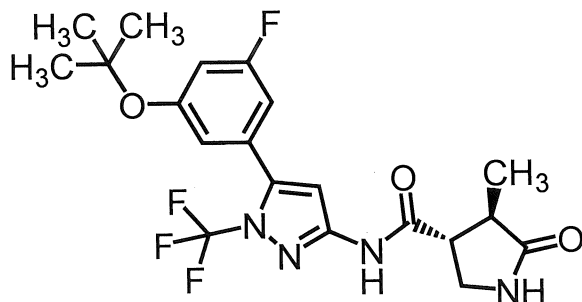


Bổ sung ethyl axetat (1,8L) và nước (1,34L) vào muối đồng phân lập thể phi đối hình của axit (3R,4R)-1-(2,4-dimethoxybenzyl)-4-methyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic với (1R,2R)-(-)-2-amino-1-(4-nitrophenyl)-1,3-propanediol (448g) thu được ở bước 4 ở nhiệt độ trong phòng. Bổ sung từng giọt axit clohydric 6N (168mL) ở nhiệt độ trong phòng vào hỗn hợp trong 16 phút. Hỗn hợp được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng ethyl axetat (450mL) ba lần. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp và được rửa tuần tự bằng axit clohydric 2N (224mL) và nước muối (224mL), và sau đó được làm khô bằng natri sulfat (90g) và cô. Bổ sung toluen (220mL) vào chất cặn, và hỗn hợp được cô. Chất cặn được làm khô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ trong phòng để thu được hợp chất nêu ở đề mục (254g) với hiệu suất là 98%.

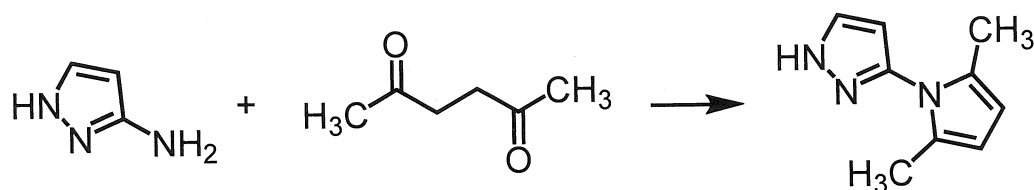
¹H-NMR (DMSO-D₆) δ: 1,15 (d, 3H, J = 7,2 Hz), 2,50-2,58 (m, 1H), 2,73-2,83 (m, 1H), 3,18-3,25 (m, 1H), 3,30-3,38 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 4,19-4,35 (m,

2H), 6,48 (dd, 1H, $J = 8,4, 2,3$ Hz), 6,56 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 7,00 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 12,61 (br s, 1H).

[Ví dụ 1] Tổng hợp (3R,4R)-N-(5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxamit



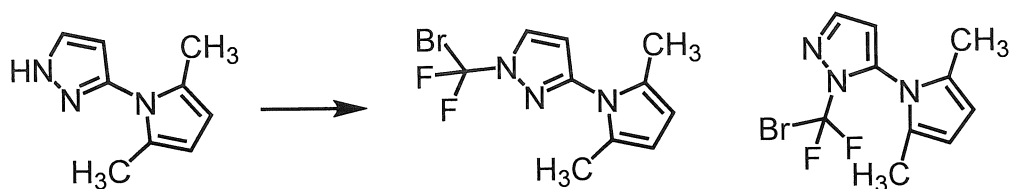
(bước 1) Điều chế 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol



Bổ sung axit axetic (1L) vào 1H-pyrazol-3-amin (100g) ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 5 phút. Bổ sung 2,5-hexandion (148mL) vào hỗn hợp ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được khuấy trong 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 120°C trong 2,5 giờ và làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung nước (1L) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 50 phút. Chất rắn kết tủa được gom lại bằng cách lọc và được rửa bằng nước (1L). Chất rắn ướt tạo thành được làm khô dưới áp suất bình thường ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, và sau đó được làm khô dưới áp suất giảm ở 65°C trong 3 ngày và 8,5 giờ để thu được hợp chất nêu ở đề mục (172,47g) với hiệu suất là 89%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,11 (s, 6H), 5,90 (s, 2H), 6,25 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 7,51 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz).

(bước 2) Điều chế hỗn hợp bao gồm 1-(bromdiflometyl)-3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol và 1-(bromdiflometyl)-5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol

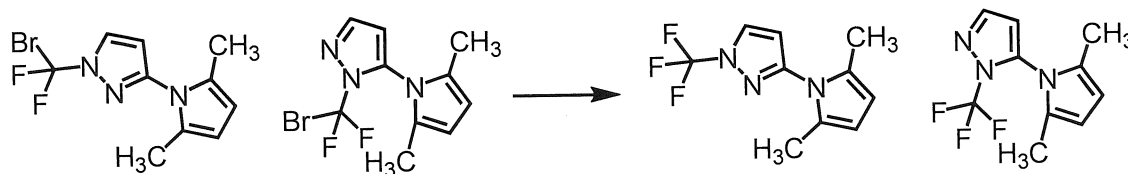


DMF (100mL) được bổ sung vào natri hydrua (14,9g) dưới dòng argon trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung từng giọt huyền phù chứa 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol (40g) thu được ở bước 1 vào hỗn hợp trong DMF (150mL) trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 20 phút. Phễu nhỏ giọt được sử dụng được rửa bằng DMF (50mL) và nước rửa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước trong 1,5 giờ. Bổ sung tetrabutylamoni bromua (0,80g) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 15 phút. Bổ sung từng giọt dung dịch chứa dibromdiflometan (45mL) trong DMF (50mL) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 15 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 2 giờ và 10 phút. Bổ sung từng giọt dibromdiflometan (20mL) vào hỗn hợp phản ứng trong môi trường argon trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 40 phút, và sau đó để yên qua đêm. Bổ sung dung dịch nước amoni clorua bão hòa (200mL) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung etyl axetat và nước vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và chất lọc được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp, và nước muối được bổ sung vào đó. Hỗn hợp được lọc qua xelit và chất lọc được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp, và sau đó được làm khô bằng natri sulfat và cô. Toluen (250mL) được bổ sung vào phần cặn, và hỗn hợp được cô. Quá trình này được lặp lại. Etyl axetat (khoảng 150mL) được bổ sung vào phần cặn, và các chất không hòa tan được lọc ra. Các chất không hòa tan được rửa bằng etyl axetat. Chất lọc tạo thành được kết hợp và cô. Chất cặn được làm khô dưới áp suất giảm kèm theo khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút.

Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 30/1 to 20/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (40,6 g, 3,7% trọng lượng bao gồm hexan, 1-(bromdiflometyl)-3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol:1-(bromdiflometyl)-5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol = khoảng 3:1) với hiệu suất là 54%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,03 (s, 1,5H), 2,18 (s, 4,5H), 5,89 (s, 1,5H), 5,91 (s, 0,5H), 6,39-6,41 (m, 1H), 7,86-7,88 (m, 1H).

(bước 3) Điều chế hỗn hợp bao gồm 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol và 5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol

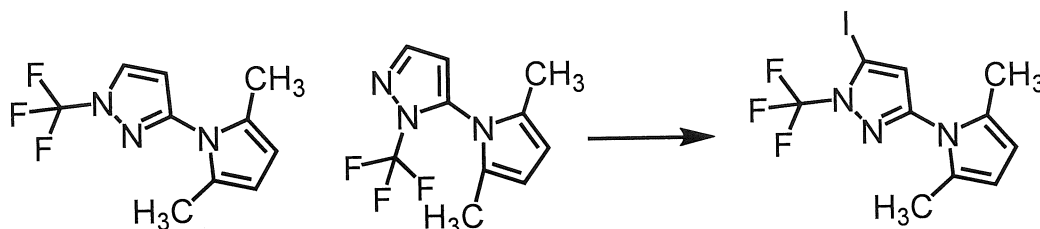


Bổ sung tetrametylamoni florua (13,0g) vào dung dịch chứa hỗn hợp bao gồm 1-(bromdiflometyl)-3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol và 1-(bromdiflometyl)-5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1H-pyrazol (40,6g, 3,7% trọng lượng bao gồm hexan) thu được ở bước 2 trong sulfolan (400mL) ở nhiệt độ trong phòng dưới dòng argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100°C trong 1 giờ. Bổ sung tetrametylamoni florua (9,4g) vào hỗn hợp phản ứng ở 100°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100°C trong 1 giờ 15 phút. Bổ sung tetrametylamoni florua (10g) vào hỗn hợp phản ứng ở 100°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100°C trong 40 phút. Ngoài ra, bổ sung tetrametylamoni florua (5g) vào hỗn hợp phản ứng ở 100°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100°C trong 2 giờ 5 phút, và sau đó được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung từ từ và lần lượt nước (400mL) và dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa (200mL) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl axetat (2/3) (400mL) vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và chất lọc được tách. Lớp hữu cơ tạo thành được rửa bằng nước muối. Lớp nước tạo thành được kết hợp và được chiết bằng dung dịch trộn lẫn chứa n-hexan/etyl

axetat (2/3) (300mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối. Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (rửa giải: n-hexan/ethyl axetat = 30/1 đến 25/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (21,85g, 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol:5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol = khoảng 6:1, 24,4% trọng lượng bao gồm n-hexan) với hiệu suất là 51%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,00 (s, 0,86H), 2,16 (s, 5,1H), 5,89 (s, 1,7H), 5,91 (s, 0,29H), 6,40 (d, 0,86H, $J = 2,8$ Hz), 6,42 (d, 0,14H, $J = 1,6$ Hz), 7,83 (d, 0,14H, $J = 1,6$ Hz), 7,87 (d, 0,86H, $J = 2,8$ Hz).

(bước 4) Điều chế 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-5-iodo-1-(triflometyl)-1H-pyrazol

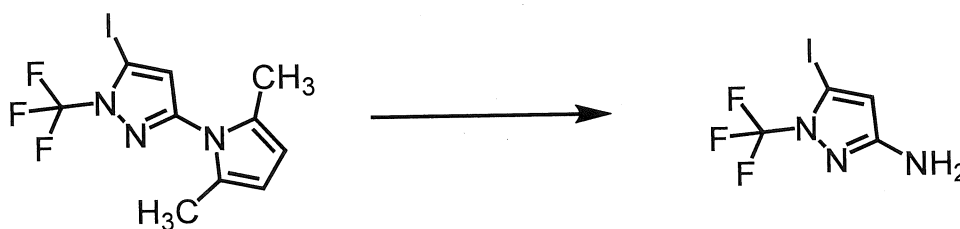


Bổ sung từng giọt dung dịch chứa n-butyllithi trong n-hexan (1,55M, 51,1mL) vào dung dịch chứa hỗn hợp bao gồm 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol và 5-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol (21,85 g, 24,4% trọng lượng bao gồm n-hexan) thu được ở bước 3 trong THF (180mL) ở -70°C trong 5 phút trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -70°C trong 25 phút. Bổ sung từng giọt dung dịch chứa iot (18,3g) vào hỗn hợp phản ứng trong THF (50mL) ở -70°C trong 5 phút. Phễu nhỏ giọt được sử dụng được rửa bằng THF (10mL), và nước rửa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -70°C trong 30 phút. Bổ sung iot (0,90g) vào hỗn hợp phản ứng ở -70°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở -70°C trong 0,5 giờ. Bổ sung lần lượt nước (250mL) và ethyl axetat (250mL) vào hỗn hợp phản ứng ở -70°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng và được tách. Lớp hữu cơ được rửa theo thứ tự bằng 10% trọng lượng dung dịch nước natri hydro sulfit (250mL) và nước muối (150mL), được làm khô bằng natri sulfat,

và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 50/1 đến 30/1). Các phân đoạn mà bao gồm hợp chất nêu ở đề mục được gom lại và cô. Bổ sung n-hexan vào chất cặn. Hỗn hợp được cô sao cho trọng lượng của chất cặn là 27,5g. Bổ sung n-hexan (20mL) vào chất cặn. Huyền phù này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Chất kết tủa được gom lại bằng cách lọc, được rửa bằng n-hexan (30mL), và được làm khô dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục (17,14g) với hiệu suất là 67%. Sau đó, chất lọc được cô. Chất cặn được kết tinh từ n-hexan để thu được hợp chất nêu ở đề mục (1,63g) với hiệu suất là 6,4%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 2,15 (s, 6H), 5,88 (s, 2H), 6,60 (s, 1H).

(bước 5) Điều chế 5-iodo-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-amin

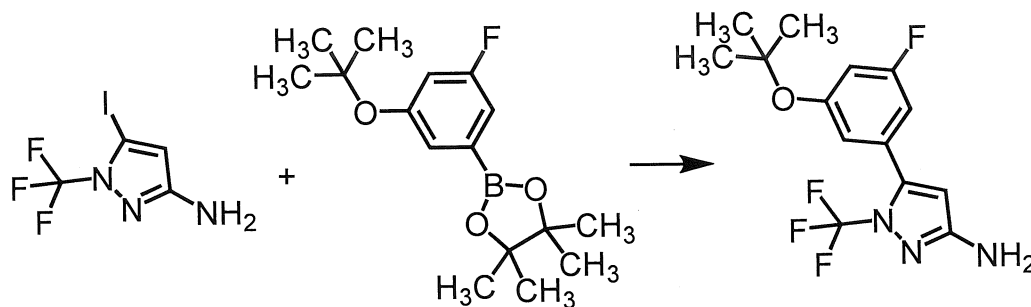


Bổ sung lần lượt hỗn hợp bao gồm etanol và nước (etanol/nước = 2/1, 480mL), hydroxylamin hydroclorua (73,5g), và trietylamin (14,7mL) vào 3-(2,5-dimetyl-1H-pyrol-1-yl)-5-iodo-1-(triflometyl)-1H-pyrazol (18,77g) thu được ở bước 4 ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 100°C trong 38 giờ 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và etanol được loại bỏ bằng cách bay hơi. Bổ sung từ từ dung dịch chứa natri hydroxit (42,3g) vào hỗn hợp phản ứng trong nước (130mL), sau đó bổ sung etyl axetat (200mL), trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy, và được tách. Lớp nước tạo thành được chiết bằng etyl axetat (200mL). Lớp hữu cơ tạo thành được kết hợp, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Bổ sung etyl axetat (30mL) và n-hexan (30mL) vào chất cặn, và lọc ra các chất không hòa tan. Chất lọc được cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký cột silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 4/1 đến 3/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục

(16,27 g, 14% trọng lượng bao gồm etyl axetat) với hiệu suất là 96%.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 3,93 (br s, 2H), 6,09 (s, 1H).

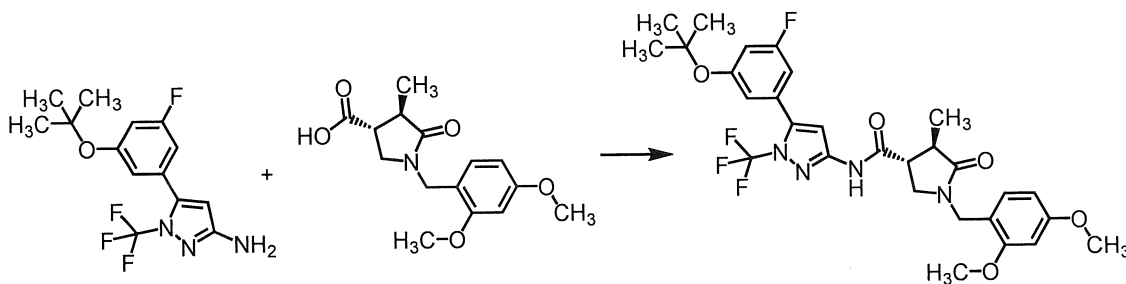
(bước 6) Điều chế 5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-amin



Bổ sung lần lượt 2-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan (127mg) thu được ở bước 2 của phương pháp điều chế 1, paladi (II) axetat (6,5mg), và 2-dixyclohexylphosphino-2',6'-dimetoxibiphenyl (20mg) vào dung dịch chứa 5-iodo-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-amin (80 mg, 14% trọng lượng bao gồm etyl axetat) thu được ở bước 5 trong toluen (3mL) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 phút. Bổ sung dung dịch nước trikali phosphat 2M (1,5mL) vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 90°C trong 47 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Bổ sung etyl axetat và dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa vào hỗn hợp phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được lọc bằng vải bông và được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ được rửa lần lượt bằng dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa và nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được kết hợp với một phần của hợp chất nêu ở đề mục (15mg) thu được một cách riêng biệt theo phương pháp tương tự như bước này bằng cách sử dụng 5-iodo-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-amin (70 mg, 14% trọng lượng bao gồm etyl axetat) thu được ở bước 5, và hỗn hợp được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 3/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (108mg).

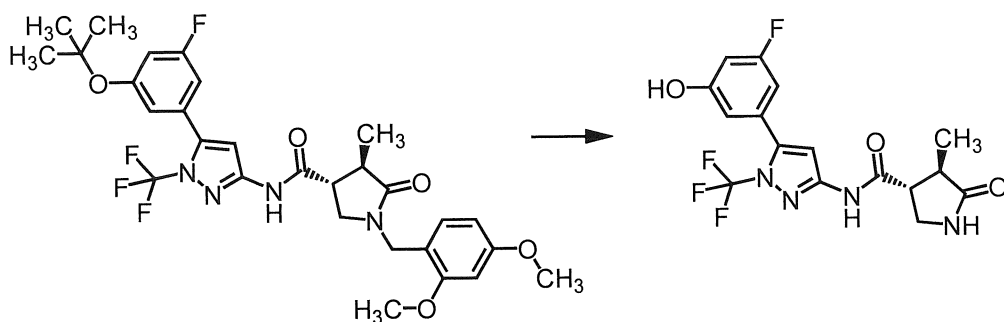
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1,36 (s, 9H), 3,93 (br s, 2H), 5,83 (s, 1H), 6,75-6,85 (m, 3H).

(bước 7) Điều chế (3R,4R)-N-(5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrolidin-3-cacboxamit



Bổ sung lần lượt DMF (1 μ L) và oxalyl clorua (33 μ L) vào dung dịch chứa (3R,4R)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrolidin-3-cacboxylic axit (55mg) thu được theo cách tương tự bước 5 trong phương pháp điều chế 2 trong cloform (0,55mL) trong khi làm lạnh bằng nước đá trong môi trường argon. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 50 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô và làm khô dưới áp suất giảm. Bổ sung lần lượt cloform (0,4mL) và 5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-amin (40mg) thu được ở bước 6 vào chất cặn trong môi trường argon trong khi làm lạnh bằng nước đá. Bổ sung pyridin (50 μ L) vào hỗn hợp phản ứng trong khi làm lạnh bằng nước đá. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong khi làm lạnh bằng nước đá trong 5 phút và ở nhiệt độ trong phòng trong 35 phút. Bổ sung dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa vào hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng, và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat. Lóp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 1/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (60mg) với hiệu suất là 80%. Việc tạo ra hợp chất nêu ở đề mục được xác nhận bằng phép sắc ký lớp mỏng (rửa giải: n-hexan/etyl axetat = 2/1, Rf: 0,19).

(bước 8) Điều chế (3R,4R)-N-(5-(3-flo-5-hydroxyphenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-4-metyl-5-oxopyrolidin-3-cacboxamit

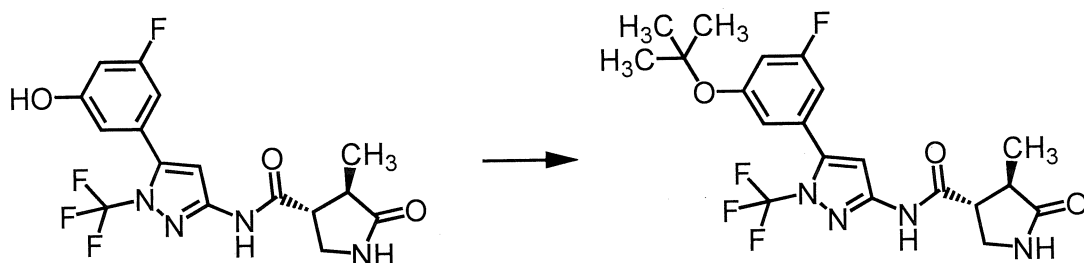


Bổ sung anisol (58 μ L) và axit trifloaxetic (2mL) vào (3R,4R)-N-(5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-1-(2,4-dimetoxybenzyl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxamit (60mg) thu được ở bước 7 ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 80°C trong 1 giờ 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô. Bổ sung dung dịch nước natri hydro cacbonat bão hòa vào chất cặn, và hỗn hợp được chiết bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (rửa giải: cloform/etyl axetat = 1/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (29,9mg) với hiệu suất là 76%.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1,06 (d, 3H, J = 7,2 Hz), 2,50-2,53 (m, 1H), 2,96-3,04 (m, 1H), 3,17-3,23 (m, 1H), 3,40-3,46 (m, 1H), 6,67-6,81 (m, 3H), 6,96 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 10,34 (s, 1H), 11,26 (s, 1H).

[0001]

(bước 9) Điều chế (3R,4R)-N-(5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxamit



Bổ sung lần lượt di-tert-butyl dicacbonat, cloform (1mL) và magie perclorat vào (3R,4R)-N-(5-(3-flo-5-hydroxyphenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-4-metyl-5-oxopyrrolidin-3-cacboxamit (30mg) thu được ở bước 8 ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 55°C trong 0,5 giờ. Bổ sung magie

perclorat vào hỗn hợp phản ứng ở 55°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 55°C trong 1 giờ 10 phút. Bổ sung magie perclorat bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở 55°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 55°C trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, và sau đó bổ sung etyl axetat vào đó. Hỗn hợp phản ứng được rửa lần lượt bằng axit clohydric 1N và nước muối, được làm khô bằng natri sulfat, và cô. Chất cặn được tinh chế bằng sắc ký lớp mỏng silica gel (rửa giải: cloform/metanol = 15/1) để thu được hợp chất nêu ở đề mục (19,2mg) với hiệu suất là 56%.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1,08 (d, 3H, $J = 7,2$ Hz), 1,34 (s, 9H), 2,51-2,55 (m, 1H), 2,98-3,06 (m, 1H), 3,19-3,25 (m, 1H), 3,42-3,48 (m, 1H), 6,95 (s, 1H), 7,00-7,07 (m, 2H), 7,11-7,17 (m, 1H), 7,68 (s, 1H), 11,28 (s, 1H).

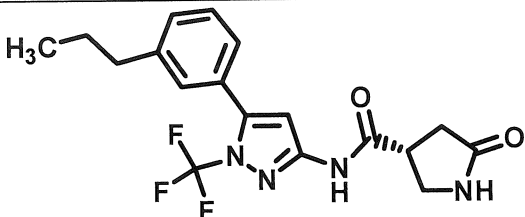
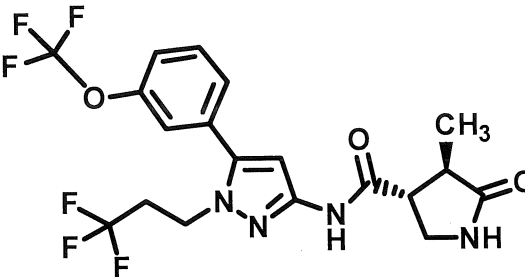
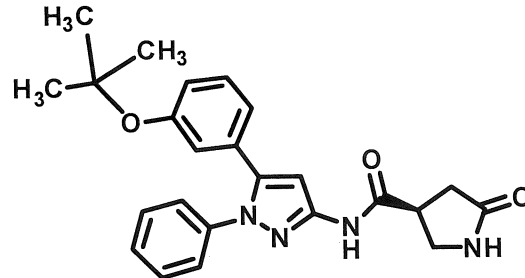
MS (M+H) 443, MS (M-H) 441

(bước 10) Điều chế tinh thể của (3R,4R)-N-(5-(3-(tert-butoxy)-5-flophenyl)-1-(triflometyl)-1H-pyrazol-3-yl)-4-metyl-5-oxopyrolidin-3-cacboxamit

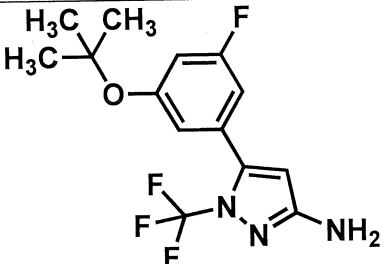
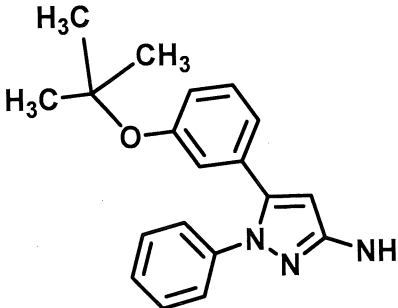
Hợp chất nêu ở đề mục (100mg) được khuấy trong etanol (0,4mL) ở 65°C trong 8 phút và được hòa tan. Bổ sung từng giọt nước (0,4mL) vào dung dịch được trộn ở 65°C trong 2 phút. Hỗn hợp được khuấy ở 65°C trong 10 phút. Hỗn hợp được làm mát đến 25°C kèm theo khuấy trong 2 giờ. Ngoài ra, hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất rắn được kết tủa từ hỗn hợp được gom lại bằng cách lọc. Chất rắn thu được được rửa bằng dung dịch trộn lẫn chứa etanol/nước (= 1/1) và được làm khô dưới áp suất giảm ở 60°C để thu được tinh thể của hợp chất nêu ở đề mục (87,8mg) với hiệu suất là 88%.

Ví dụ tham khảo

Mỗi trong số các hợp chất A, hợp chất B, và hợp chất C được thể hiện ở bảng dưới đây, thu được theo phần mô tả trong công bố quốc tế số WO 2013/031922.

Hợp chất A	
Hợp chất B	
Hợp chất C	

Mỗi trong số chất chuyển hóa 1 (tức là, chất chuyển hóa của hợp chất 1) và chất chuyển hóa C (tức là, chất chuyển hóa của hợp chất C) được thể hiện trong bảng sau, thu được theo ví dụ 1 ở trên và phân mô tả trong công bố quốc tế số WO 2013/031922.

Chất chuyển hóa 1	
Chất chuyển hóa C	

Ví dụ thử nghiệm 1

Hoạt tính ức chế SGLT1 của các hợp chất thử nghiệm (giá trị IC_{50}) được tính toán dựa trên lượng hấp thụ nội bào của α -metyl-D-glucopyranosit (^{14}C -AMG) được đánh dấu được vận chuyển bởi SGLT1.

1) Tạo ra plasmid biểu hiện SGLT1 người

Đoạn DNA chứa SGLT1 người được khuếch đại bằng PCR (Phản ứng chuỗi polymeraza) bằng cách sử dụng pCMV6-hSGLT1 (OriGene) làm khuôn mẫu. Trong SGLT1 người, trình tự nhận biết và phân cắt *NheI* được chèn vào phần đầu của trình tự đồng nhất Kozac có nguồn gốc từ vector, và codon kết thúc, TAG, và trình tự nhận biết và phân cắt *Sall* được chèn vào phần gần cuối của vùng dịch mã protein của SGLT1 người. Đoạn DNA tinh khiết được phân cắt bằng enzym giới hạn *NheI* và *Sall*, sau đó thất bằng pcDNA3,1 (+) được phân cắt bằng *NheI* và *XhoI*, nhờ đó tạo thành plasmid biểu hiện SGLT1 người. Trình tự axit nucleic của SGLT1 người được chèn vào vector hoàn toàn giống với vùng được dịch mã protein của trình tự SGLT1 người (Số truy nhập NM_000343) được đăng ký tại GenBank, và trình tự của phần được kết nối với vector là như mong đợi.

2) Thiết lập các dòng tế bào biểu hiện ổn định SGLT1

Plasmid biểu hiện SGLT người, pcDNA-hSGLT1, được chuyển nạp vào mỗi tế bào CHO-K1 bằng Lipofectamin 2000 (Invitrogen) và được nuôi cấy với sự có mặt của G418 (Nacalai Tesque) để chọn lọc dòng tế bào kháng thuốc. Dòng tế bào có tỉ lệ cao nhất (tỉ lệ S/B) giữa lượng hấp thụ nội bào của ^{14}C -AMG trên mỗi tế bào so với lượng hấp thụ nội bào của ^{14}C -AMG sau khi xử lý bằng chất ức chế SGLT, phlorizin, được chọn làm dòng tế bào biểu hiện SGLT1 người từ dòng tế bào kháng thuốc.

3) Đánh giá hoạt tính ức chế SGLT1

Dòng tế bào biểu hiện ổn định SGLT1 người được cấy với lượng 5×10^4 tế bào/lỗ trên đĩa BioCoat™ Poly-D-Lysine 96 lỗ bằng Lid (Becton, Dickinson và Company) và nuôi cấy ở 37°C trong CO_2 5% qua đêm. Môi trường được thay thế bằng chất đệm Na(-)100 μL /lỗ (140mM colin clorua, 2mM KCl, 1mM MgCl_2 , 1mM CaCl_2 , 10mM HEPES, 5mM Tris, pH 7,4), và sau đó hỗn hợp được để yên ở 37°C trong CO_2 5% trong 20 phút. Sau khi loại bỏ chất đệm Na(-), bổ sung vào đó 40 μL /lỗ dung dịch hợp chất thử nghiệm được điều chế

bằng chất đệm Na(+) (140mM NaCl, 2mM KCl, 1mM MgCl₂, 1mM CaCl₂, 10mM HEPES, 5mM Tris, pH 7,4) bao gồm BSA. Sau đó, bổ sung vào đó 40 µL/lỗ chất đệm Na(+) bao gồm 8 kBq ¹⁴C-AMG và 2mM AMG, và hỗn hợp được trộn đều. Đối với mẫu trắng, 40 µL/lỗ chất đệm Na(-) bao gồm BSA được bổ sung, và ngoài ra, 40 µL/lỗ chất đệm Na(-) bao gồm 8 kBq ¹⁴C-AMG và 2mM AMG được bổ sung vào, và hỗn hợp được trộn đều. Sau khi ủ bằng cách để yên trong 1 giờ ở 37°C trong CO₂ 5%, các tế bào được rửa hai lần bằng 100 µL/lỗ dung dịch đệm rửa đã được làm lạnh bằng nước đá (100mM AMG, 140mM colin clorua, 2mM KCl, 1mM MgCl₂, 1mM CaCl₂, 10mM HEPES, 5mM Tris, pH 7,4) để dừng phản ứng. Dịch phân giải tế bào được điều chế bằng cách bổ sung 50 µL/lỗ dung dịch nước NaOH 0,2N. Trong đánh giá về khả năng hấp thu ¹⁴C-AMG, tổng lượng dịch phân giải tế bào được chuyển vào đĩa OptiPlate 96 (Perkin-Elmer) bằng 100 µL/lỗ MicroScint-40 (Perkin-Elmer) được phân phối và ¹⁴C CPM được đo bằng TOPCOUNT NXT (Perkin-Elmer).

Dữ liệu được tính toán bằng cách lấy giá trị trung bình của CPM cho mỗi lỗ được xử lý trừ đi giá trị trung bình của CPM cho lỗ trống. Tỷ lệ ức chế đối với mỗi hợp chất thử nghiệm ở mỗi nồng độ được tính theo công thức sau:

$$[(A-B)/A] \times 100$$

trong đó A là dữ liệu để kiểm soát dung môi và B là dữ liệu để xử lý với từng hợp chất thử nghiệm.

Mỗi giá trị IC₅₀ (nồng độ ức chế 50%) đối với mỗi hợp chất thử nghiệm được tính toán dựa trên hai nồng độ trước và sau tỷ lệ ức chế 50% và tỷ lệ ức chế. Hợp chất 1 được xác nhận là có hoạt tính ức chế SGLT1 trong đánh giá này.

Ví dụ thử nghiệm 2

OGTT (Thử nghiệm dung nạp glucoza qua đường miệng)

Chất dẫn thuốc (dung dịch metylxenluloza 0,5%) hoặc hợp chất 1 (1, 3, hoặc 10 mg/kg) được tạo huyền phù trong dung dịch metylxenluloza 0,5% được sử dụng theo đường miệng với lượng 5 mL/kg cho chuột đực đã bị bỏ đói khoảng 4 giờ (8

tuần tuổi, Nihon Charles River K.K., 6 chuồng cho mỗi nhóm). Sau 16 giờ, glucoza được nạp bằng cách sử dụng theo đường miệng dung dịch glucoza 0,4 g/mL với lượng 5 mL/kg. Máu được lấy từ tĩnh mạch ở đuôi ngay trước khi nạp glucoza, và 30, 60 và 120 phút sau khi nạp glucoza; và mức đường huyết được đo bằng máy phân tích sinh hóa tự động (HITACHI, Model No. 7180).

Kết quả được thể hiện trong Fig.1. Dữ liệu thể hiện giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn của tỉ lệ diện tích dưới đường cong (Δ AUC) đối với mức đường huyết của các nhóm sử dụng hợp chất từ khi nạp glucoza đến 120 phút so với nhóm chất dẫn thuốc (% chất dẫn thuốc). Phép phân tích thống kê được dựa trên thử nghiệm nhiều lần Steel. Mức ý nghĩa là 5% hai phía. Kết quả này thể hiện rằng hợp chất 1 làm giảm đáng kể mức đường huyết sau khi nạp glucoza so với chất dẫn thuốc.

Ví dụ thử nghiệm 3

OGTT (Thử nghiệm dung nạp glucoza qua đường miệng)

Chất dẫn thuốc (dung dịch methylxenluloza 0,5%) hoặc hợp chất 1, hợp chất A, hoặc hợp chất B (mỗi hợp chất 3 mg/kg) được tạo huyền phù trong dung dịch methylxenluloza 0,5% được dùng theo đường miệng với liều lượng 5 mL/kg cho chuột đực SD bị bỏ đói khoảng 4 giờ (8 tuần tuổi, Nihon Charles River K.K., 5 chuồng cho mỗi nhóm). Sau 16 giờ, glucoza được nạp bằng cách sử dụng theo đường miệng dung dịch glucoza 0,4 g/mL với lượng 5 mL/kg. Máu được lấy từ tĩnh mạch ở đuôi ngay trước khi nạp glucoza, và 30, 60 và 120 phút sau khi nạp glucoza; và mức đường huyết được đo bằng máy phân tích sinh hóa tự động (HITACHI, Model No. 7180).

Kết quả được thể hiện trong Fig.2. Dữ liệu thể hiện giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn của tỉ lệ diện tích dưới đường cong (Δ AUC) đối với mức đường huyết của nhóm sử dụng hợp chất từ khi nạp glucoza đến 120 phút so với nhóm chất dẫn thuốc (% chất dẫn thuốc). Phép phân tích thống kê được dựa trên thử nghiệm nhóm nhiều lần Dunnett. Mức ý nghĩa là 5% hai phía. Kết quả thể hiện rằng hợp chất 1 làm giảm đáng kể mức đường huyết sau khi nạp glucoza so với chất dẫn thuốc.

Ví dụ thử nghiệm 4

Thử nghiệm Ames (Thử nghiệm đột biến ngược)

Từng chất chuyển hóa 1 và chất chuyển hóa C được thử nghiệm ở đây. Mục đích của thử nghiệm này là để đánh giá khả năng gây ra đột biến ngược trong ở các chủng *Salmonella typhimurium* chuẩn (TA98, TA1537, TA100, và TA1535) và *Escherichia coli* (WP2uvrA) của mỗi chất chuyển hóa, khi có hoặc không có hệ thống hoạt hóa chuyển hóa ở gan chuột (hỗn hợp S9).

Dung môi được sử dụng trong ở đây là dimetyl sulfoxit (DMSO, 100 μ L/đĩa).

Thử nghiệm này được thực hiện bằng phương pháp ủ sơ bộ có hoặc không có hỗn hợp S9. Khi thực hiện thử nghiệm mà không có hỗn hợp S9, dung dịch đệm natri phosphat (pH 7,4) được thêm vào.

0,5mL hỗn hợp S9 hoặc 0,5mL dung dịch đệm natri phosphat 0,1 mol/L (pH 7,4), và 0,1mL dung dịch nuôi cấy vi khuẩn được bổ sung vào ống thử nghiệm chứa 0,1mL chế phẩm đối chứng âm (chỉ riêng DMSO), chất chuyển hóa, hoặc chế phẩm đối chứng dương. Hỗn hợp này được ủ trước ở 37°C trong 20 phút trong khi lắc. Sau giai đoạn ủ sơ bộ, 2mL thạch aga trên cùng được bổ sung vào và hỗn hợp này được trộn xoáy và cấy trên đĩa. Hai đĩa mỗi lần điều trị được sử dụng. Mỗi đĩa được ủ ở 37 $\pm$ 1°C trong 48 giờ hoặc lâu hơn và đếm các khuẩn lạc hồi biến. Sau đó, số lượng khuẩn lạc hồi biến trung bình cho mỗi đĩa xử lý được tính. Sự có hoặc không có tình trạng ức chế tăng trưởng do bất kỳ tác dụng kháng khuẩn nào của sản phẩm thử nghiệm và sự kết tủa của sản phẩm thử nghiệm được quan sát cẩn thận hoặc quan sát bằng kính hiển vi. Kết quả được đánh giá là dương tính nếu số lượng trung bình của các khuẩn lạc hồi biến thể hiện sự gia tăng phụ thuộc vào liều lượng mà đạt gấp 2 lần so với đối chứng âm ở một hoặc nhiều liều. Việc đánh giá dựa trên giá trị trung bình mà không sử dụng phép so sánh số liệu.

Kết quả của thử nghiệm được thể hiện trong bảng dưới đây (Bảng 1 đến 4 và Bảng 5 đến 7). Nói tóm lại, chất chuyển hóa 1 không có khả năng gây ra đột biến ngược ở bất kỳ chủng vi khuẩn thử nghiệm nào, trong khi chất chuyển hóa C có

khả năng gây ra đột biến ngược ở chủng vi khuẩn thử nghiệm của TA98 với hỗn hợp S9 và TA100 với hỗn hợp S9.

Bảng 1.							
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/đĩa)		Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến			
				TA98		TA100	
DMSO	(0,1mL)		+	36		133	
Chất chuyển hóa 1	2,3		+	35		120	
	6,9		+	31		119	
	21		+	35		117	
	62		+	28		104	
	185		+	16	*	78	*
	556	†	+	15	*	59	*
	1667	†	+	13	*	50	*
	5000	†	+	13	*	52	*
B[a]P	5,0		+	455		1069	

+: Có hỗn hợp S9

*: Sự ức chế tăng trưởng

†: Sự tạo kết tủa

DMSO: Dimetyl sulfoxit

B[a]P: Benzo[a]pyren

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 2.									
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/đĩa)		Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến					
				TA1537		TA1535		WP2 _{uvrA}	
DMSO	(0,1mL)		+	13		12		25	
Chất chuyển hóa 1	2,3		+	11		13		31	
	6,9		+	10		7		31	
	21		+	9		6		32	
	62		+	6		8		40	
	185		+	2	*	5	*	16	*
	556		+	0	*	4	*	18	*
	1667		+	0	*	4	*	9	*
	5000	†	+	0	*	2	*	0	*
2AA	2,0		+	--		223		--	
	10,0		+	--		--		818	
B[a]P	5,0		+	119		--		--	

+: Có hỗn hợp S9

*: Sự ức chế tăng trưởng

†: Sự tạo kết tủa

--: Không được thử nghiệm

DMSO: Dimetyl sulfoxit

2AA: 2-Aminoanthracen

B[a]P: Benzo[a]pyren

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 3.				
Sản phẩm thử nghiệm	Liều ($\mu\text{g}/\text{đĩa}$)	Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến	
			WP2 $uvrA$	
DMSO	(0,1mL)	+	31	
Chất chuyển hóa 1	6,9	+	31	
	12	+	28	
	21	+	25	
	36	+	34	
	62	+	35	
	107	+	25	
	185	+	9	*
2AA	10,0	+	740	

+: Có hỗn hợp S9

*: Sự ức chế tăng trưởng

DMSO: Dimetyl sulfoxit

2AA: 2-Aminoanthraxen

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 4.												
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/ đĩa)		Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến								
				TA98		TA1537		TA100		TA1535		WP2 _{uvrA}
DMSO	(0,1mL)		-	18		8		100		8		26
Chất chuyển hóa 1	2,3		-	14		7		99		6		32
	6,9		-	16		10		113		9		27
	21		-	14		9		124		8		31
	62		-	21		9		88		8		24
	185		-	9	*	0	*	38	*	0	*	15
	556		-	0	*	0	*	0	*	0	*	8
	1667		-	0	*	0	*	0	*	0	*	5
	5000	†	-	0	*	0	*	0	*	0	*	0
AF-2	0,01		-	--		--		633		--		69
	0,1		-	341		--		--		--		--
ICR-191	1,0		-	--		1170		--		--		--
SA	0,5		-	--		--		--		217		--

--: Không được thử nghiệm

*: Sự ức chế tăng trưởng

†: Sự tạo kết tủa

DMSO: Dimetyl sulfoxit

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamit

SA: natri azit

ICR-191: 2-Metoxi-6-clo-9-[3-(2-cloetyl)-aminopropylamino]acridin

dihydroclorua

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 5.						
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/đĩa)	Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến			
			TA98		TA100	
DMSO	(0,1mL)	+	28		117	
Chất chuyển hóa C	2,34	+	38		526	#
	4,69	+	36		778	#
	9,38	+	73	#	1210	#
	18,8	+	107	#	1745	#
	37,5	+	133	#	2049	#
	75	+	153	#	2147	#
	150	+	133	#	2043	#
	300	+	138	*	1412	*
B[a]P	5,0	+	404		1078	

#: Kết quả được đánh giá là dương tính nếu số lượng khuẩn lạc hồi biến trung bình thể hiện sự gia tăng phụ thuộc liều lượng mà đạt gấp 2 lần so với đối chứng âm.

*: Sự ức chế tăng trưởng

DMSO: Dimetyl sulfoxit

B[a]P: Benzo[a]pyren

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 6.									
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/đĩa)		Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến					
				TA1537		TA1535		WP2 _{uvrA}	
DMSO	(0,1mL)		+	6		5		21	
Chất chuyển hóa C	2,3		+	6		8		28	
	6,9		+	7		8		23	
	21		+	7		5		21	
	62		+	9		4		26	
	185		+	9	*	5	*	17	
	556	†	+	4	*	4	*	8	*
	1667	†	+	4	*	5	*	12	*
	5000	†	+	5	*	4	*	16	*
2AA	2,0		+	--		250		--	
	10,0		+	--		--		685	
B[a]P	5,0		+	80		--		--	

--: Không được thử nghiệm

*: Sự ức chế tăng trưởng

†: Sự tạo kết tủa

DMSO: Dimethyl sulfoxit

2AA: 2-Aminoanthraxen

B[a]P: Benzo[a]pyren

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Bảng 7.												
Sản phẩm thử nghiệm	Liều (µg/ đĩa)		Hỗn hợp S9	Số lượng khuẩn lạc hồi biến								
				TA98		TA1537		TA100		TA1535		WP2 _{uvrA}
DMSO	(0,1mL)		-	17		6		86		6		18
Chất chuyển hóa C	2,3		-	14		3		87		6		15
	6,9		-	15		1	*	99		5	*	16
	21		-	17		3	*	48	*	6	*	17
	62		-	8		3	*	41	*	3	*	13
	185		-	8	*	2	*	45	*	4	*	13
	556	†	-	8	*	0	*	33	*	0	*	13 *
	1667	†	-	8	*	0	*	25	*	1	*	10 *
	5000	†	-	0	*	0	*	35	*	0	*	11 *
AF-2	0,01		-	--		--		54 2		--		74
	0,1		-	317		--		--		--		--
ICR-191	1,0		-	--		1131		--		--		--
SA	0,5		-	--		--		--		222		--

--: Không được thử nghiệm

*: Sự ức chế tăng trưởng

†: Sự tạo kết tủa

DMSO: Dimetyl sulfoxit

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamit

SA: natri azit

ICR-191: 2-Metoxy-6-clo-9-[3-(2-cloetyl)-aminopropylamino]acridine dihydroclorua

Số lượng khuẩn lạc hồi biến thể hiện số lượng trung bình của mỗi đĩa.

Ví dụ bào chế

Ví dụ bào chế của hợp chất này bao gồm, ví dụ, chế phẩm như dưới đây.

Sáng chế, tuy nhiên, không bị giới hạn ở các ví dụ bào chế này.

Ví dụ bào chế 1 (bào chế viên nang)

(1)	Hợp chất 1	30 mg
(2)	Microxenluloza tinh thể	10 mg
(3)	Lactoza	19 mg
(4)	Magie stearat	1 mg

Các thành phần (1), (2), (3), và (4) được trộn để nạp vào trong viên nang gelatin.

Ví dụ bào chế 2 (bào chế viên nén)

(1)	Hợp chất 1	10 g
(2)	Lactoza	50 g
(3)	Tinh bột ngô	15 g
(4)	Carmenloza canxi	44 g
(5)	Magie stearat	1 g

Lượng tổng các thành phần (1), (2), và (3) và 30g thành phần (4) được kết hợp với nước, làm khô trong chân không, và sau đó tạo hạt. Các hạt tạo thành được trộn với 14g thành phần (4) và 1g thành phần (5), và tạo viên nén bằng máy tạo viên nén. Theo cách này, thu được 1000 viên nén bao gồm 10mg hợp chất 1 cho mỗi viên nén.

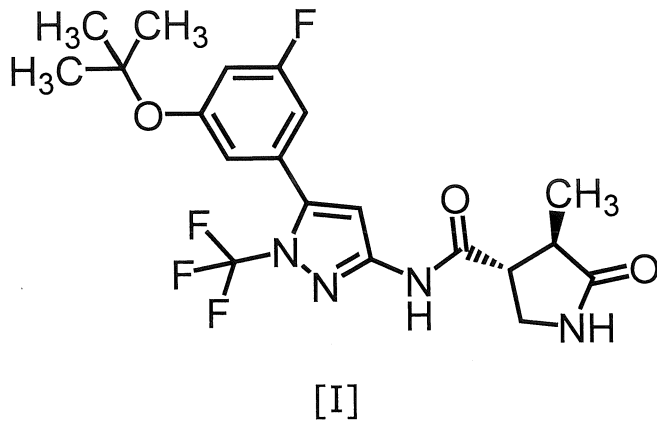
Khả năng áp dụng công nghiệp

Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó có hoạt tính ức chế SGLT1 và từ đó có thể hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể mong đợi là được cải thiện bằng cách điều hòa

hoạt tính SGLT1. Hợp chất có công thức [I] hoặc muối được dụng của nó cũng có thể hữu ích trong việc điều trị và/hoặc ngăn ngừa các bệnh hoặc tình trạng bệnh khác nhau mà có thể gây ra do mức đường huyết gia tăng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

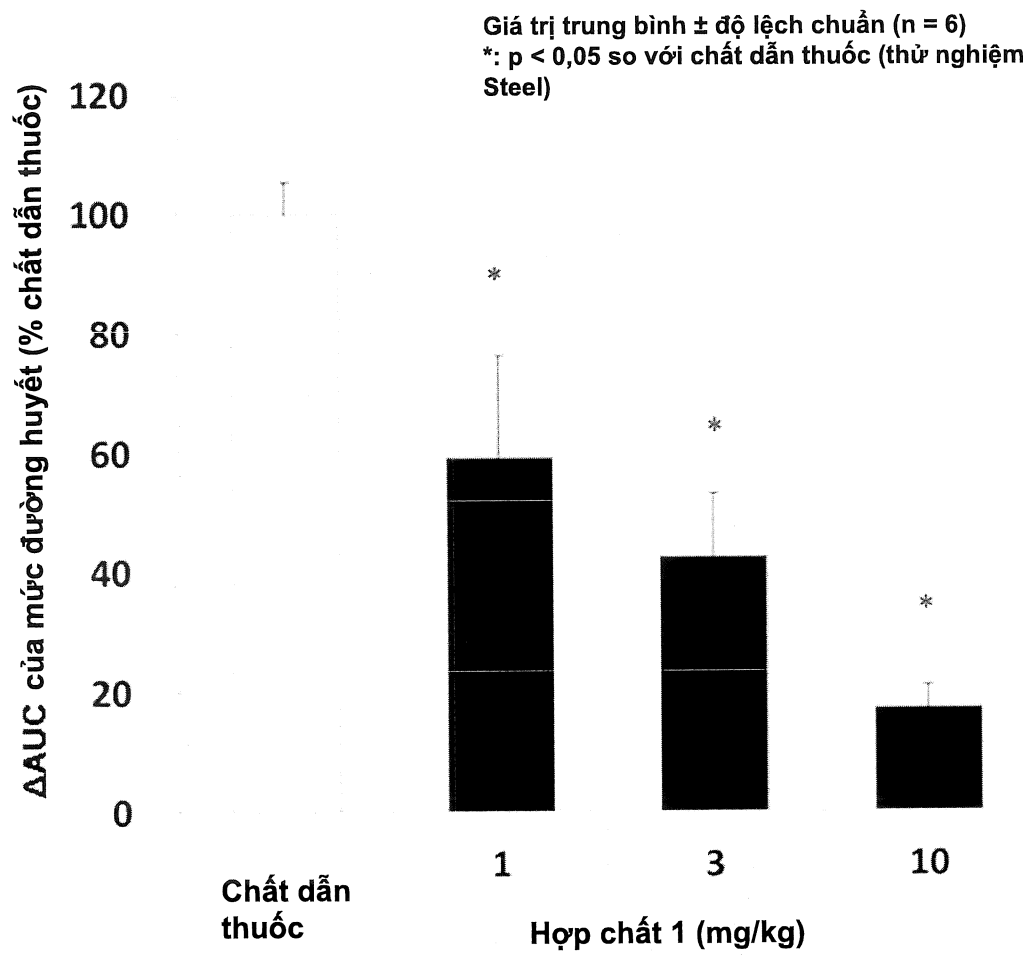
1. Hợp chất có công thức [I]:



hoặc muối dược dụng của nó.

2. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.
3. Chế phẩm ức chế SGLT1 bao gồm hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó.
4. Thuốc ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

