



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0049592

(51)^{2022.01} C07D 403/14; A61P 43/00; A61K 31/53; (13) B
A61P 31/14

(21) 1-2022-07825

(22) 17/02/2022

(86) PCT/JP2022/006496 17/02/2022

(87) WO 2022/138988 30/06/2022

(30) 2021-068672 14/04/2021 JP; 2021-105802 25/06/2021 JP; 2021-153819 22/09/2021 JP

(45) 25/08/2025 449

(43) 25/07/2023 424A

(73) 1. SHIONOGI & CO., LTD. (JP)

1-8, Doshomachi 3-chome, Chuo-ku, Osaka-shi, Osaka 5410045 Japan

2. NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION HOKKAIDO UNIVERSITY (JP)

Kita 8-jyo Nishi 5-chome, Kita-ku, Sapporo-shi, Hokkaido 0600808 Japan

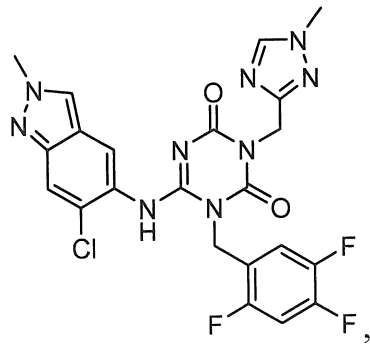
(72) TACHIBANA Yuki (JP); UEHARA Shota (JP); UNOH Yuto (JP); NAKAHARA Kenji (JP); TAODA Yoshiyuki (JP); YAMATSU Yukiko (JP); ANDO Shigeru (JP); SASAKI Michihito (JP).

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

(54) HỢP CHẤT TRIAZIN CÓ HOẠT TÍNH ỨC CHẾ SAO CHÉP VIRUT, PHỨC CHẤT BAO GỒM HỢP CHẤT NÀY VÀ ĐỒNG TINH THỂ CỦA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2022-07825

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut hoặc muối được dụng của nó. Sáng chế cũng đề cập đến dạng tinh thể có thể được sử dụng làm thành phần có dược tính. Hợp chất theo sáng chế được biểu diễn bởi công thức:



hoặc muối được dụng của nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut và dược phẩm bao gồm hợp chất thể hiện hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut. Hơn nữa, sáng chế đề cập đến tinh thể và đồng tinh thể của hợp chất hoặc muối được dụng của nó, thể hiện hoạt tính ức chế proteaza 3CL, và dược phẩm bao gồm loại như vậy.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các coronavirut, thuộc về bộ Nidovirales, họ Coronaviridae, và phân họ Coronavirinae, là các virut ARN sợi đơn hướng dương có kích thước hệ gen khoảng 30 kilobazo và lớn nhất trong số các virut ARN đã biết. Các coronavirut được phân loại thành bốn giống, đó là, giống Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus, và Deltacoronavirus, và tổng cộng bảy loại coronavirut, bao gồm hai loại thuộc giống Alphacoronavirus (HCoV-229E và HCoV-NL63) và năm loại thuộc giống Betacoronavirus (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, và SARS-CoV-2), được biết đến là các coronavirut lây nhiễm sang con người. Trong số chúng, bốn loại (HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, và HCoV-OC43) là các tác nhân gây bệnh cảm lạnh thông thường, trong lúc đó ba loại còn lại là coronavirut gây hội chứng hô hấp cấp tính (severe acute respiratory syndrome coronavirus, SARS-CoV), coronavirut gây hội chứng hô hấp Trung Đông (Middle East respiratory syndrome

coronavirus, MERS-CoV), và loại coronavirut mới (SARS-CoV-2), tất cả đều gây ra bệnh viêm phổi nặng.

Bệnh nhiễm coronavirut mới (COVID-19) xảy ra ở Vũ Hán, Trung Quốc, vào tháng 12 năm 2019, đã nhanh chóng lây lan ra cộng đồng quốc tế, và đại dịch đã được Tổ chức y tế thế giới (WHO) công bố vào ngày 11 tháng 3 năm 2020. Số lượng người nhiễm đã được xác nhận vào ngày 28 tháng 1 năm 2022, là trên 360 triệu, và số lượng tử vong lên đến hơn 5,63 triệu (tài liệu phi sáng chế 1). Sự nhiễm bệnh qua giọt bắn, nhiễm bệnh qua tiếp xúc, và nhiễm bệnh do sol khí đã được báo cáo là các con đường nhiễm bệnh chính của SARS-CoV-2, và đã xác nhận được rằng SARS-CoV-2 tiếp tục bị cuốn đi trong không khí cùng với sol khí và duy trì tính lây nhiễm trong khoảng 3 giờ (tài liệu phi sáng chế 2). Thời gian ủ bệnh là khoảng từ 2 đến 14 ngày, và các triệu chứng giống cảm lạnh như sốt (87,9%), ho khan (67,7%), khó chịu (38,1%), và đờm dãi (33,4%) là điển hình (tài liệu phi sáng chế 3). Ở các trường hợp nặng, tình trạng suy hô hấp do hội chứng suy hô hấp cấp tính, tổn thương phổi cấp tính, viêm phổi mô kẽ, và tình trạng tương tự xảy ra. Hơn nữa, tình trạng suy đa cơ quan như suy thận và suy gan cũng đã được báo cáo.

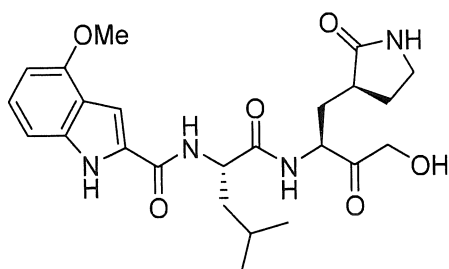
Ở Nhật Bản, nhờ việc tái định vị thuốc của các thuốc hiện hành, remdesivir, là thuốc kháng virus, dexametason, là thuốc chống viêm, và baricitinib, là thuốc trị bệnh viêm khớp, đã được phê duyệt làm chất trị liệu chống lại COVID-19, và vào tháng 1 năm 2022, tocilizumab, là kháng thể thụ thể kháng IL-6, đã được nhận phê duyệt bổ sung. Hơn nữa, vào tháng 7 năm 2021, ronapreve (casirivimab/imdevimab), là một liệu pháp hỗn hợp kháng thể, đã được phê duyệt là trường hợp phê duyệt đặc biệt, vào tháng 9 năm 2021, sotrovimab đã được phê duyệt là trường hợp phê duyệt đặc biệt, và vào

tháng 12 năm 2021, molnupiravir đã được phê duyệt là trường hợp phê duyệt đặc biệt. Chưa thu được bằng chứng đầy đủ về hiệu quả và độ an toàn của các loại thuốc này. Do đó, bắt buộc phải tạo ra các chất trị liệu chống lại COVID-19.

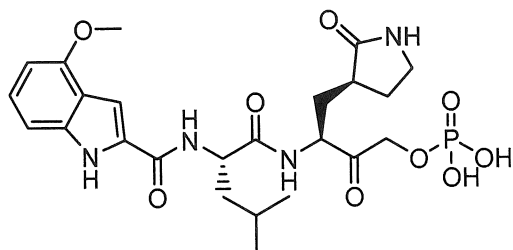
Khi nhiễm vào các tế bào, các coronavirus tổng hợp hai polyprotein. Trong hai polyprotein này, các protein cấu trúc để tạo ra các hạt virus mới, các phức chất sao chép tạo ra hệ gen virus, và hai proteaza được bao gồm. Các proteaza đóng một vai trò không thể thiếu được để phân cắt các polyprotein được tổng hợp bởi các virus và làm cho mỗi protein trong số các protein này hoạt động. Giữa hai proteaza này, proteaza 3CL (protease chính) chịu phần lớn sự phân cắt của các polyprotein (tài liệu phi sáng chế 4).

Liên quan đến các chất trị liệu COVID-19 nhắm vào các proteaza 3CL, đã được công bố trên ClinicalTrials.gov rằng các thử nghiệm pha 1b đối với Lufotrelvir (PF-07304814), là tiền chất của PF-00835231, đã được hoàn thành bởi công ty Pfizer Inc (NCT04535167). Hơn nữa, vào tháng 3 năm 2021, Pfizer Inc. đã thông báo rằng các thử nghiệm pha 1 đối với PF-07321332, một chất trị liệu chống lại các bệnh nhiễm coronavirus, sẽ được bắt đầu. Các công thức cấu tạo của PF-00835231, Lufotrelvir và PF-07321332 là như được thể hiện dưới đây, và các chất này khác biệt với hợp chất của sáng chế về cấu trúc hóa học (các tài liệu phi sáng chế 5, 12 và 13 và các tài liệu sáng chế 6 và 7).

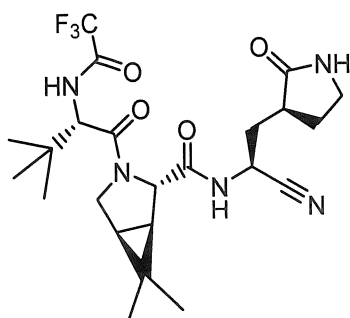
PF-00835231:



Lufotrelvir (PF-07304814):



PF-07321332:



Hơn nữa, vào tháng 7 năm 2021, đã được công bố trong ClinicalTrials.gov rằng các thử nghiệm pha 2/3 đối với hỗn hợp gồm PF-07321332 và ritonavir nhắm vào các bệnh nhân COVID-19 có các yếu tố nguy cơ cao sẽ được bắt đầu (NCT04960202). Hơn nữa, vào tháng 11 năm 2021, đã có báo cáo trên website của Pfizer rằng PAXLOVID (TM) (PF-07321332; ritonavir) làm giảm nguy cơ nhập viện hoặc tử vong đến khoảng 89% ở các bệnh nhân trưởng thành có nguy cơ cao so với placebo (tài liệu phi sáng chế 14). Hơn nữa, vào tháng 12 năm 2021, PAXLOVID (TM) đã được phê duyệt để sử dụng trong trường hợp khẩn cấp ở Mỹ, và vào ngày 10 tháng 2 năm 2022, Paxlovid®PACK được phê duyệt là trường hợp phê duyệt đặc biệt ở Nhật Bản.

Các hợp chất có hoạt tính ức chế proteaza 3CL được bộc lộ trong các tài liệu phi sáng chế 5 đến 8; tuy nhiên, các hợp chất liên quan đến sáng chế hoặc không được mô tả hoặc không được đề xuất trong tài liệu bất kỳ trong số các tài liệu này.

Các dẫn xuất triazin và các dẫn xuất uraxil có hoạt tính đối kháng thụ thể $P2X_3$ và/hoặc $P2X_{2/3}$ đã được bộc lộ trong các tài liệu sáng chế 1 đến 4 và 8 đến 12; tuy nhiên, hoạt tính ức chế proteaza 3CL và tác dụng kháng virus không được mô tả hoặc không được đề xuất trong tài liệu bất kỳ trong số các tài liệu này.

Các dẫn xuất triazin có các tác dụng kháng u đã được bộc lộ trong các tài liệu phi sáng chế 9 đến 11; tuy nhiên, hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirus và các tác dụng kháng virus không được mô tả trong tài liệu nào trong số các tài liệu này, và các hợp chất liên quan đến sáng chế không được mô tả hoặc không được đề xuất trong tài liệu bất kỳ trong số các tài liệu này.

Các dẫn xuất triazin có tác dụng điều hòa thụ thể galanin đã được bộc lộ trong tài liệu sáng chế 5; tuy nhiên, hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirus và các tác dụng kháng virus không được mô tả trong tài liệu này, và các hợp chất liên quan đến sáng chế không được mô tả hoặc không được đề xuất trong tài liệu này.

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn quốc tế số WO 2012/020749A

Tài liệu sáng chế 2: Công bố đơn quốc tế số WO 2013/089212A

Tài liệu sáng chế 3: Công bố đơn quốc tế số WO 2010/092966A

Tài liệu sáng chế 4: Công bố đơn quốc tế số WO 2014/200078A

Tài liệu sáng chế 5: Công bố đơn quốc tế số WO 2012/009258A

Tài liệu sáng chế 6: Công bố đơn quốc tế số WO 2021/205298A

Tài liệu sáng chế 7: Công bố đơn quốc tế số WO 2021/250648A

Tài liệu sáng chế 8: Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN 113620888A

Tài liệu sáng chế 9: Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN 113666914A

Tài liệu sáng chế 10: Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN 113735838A

Tài liệu sáng chế 11: Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN 113773300A

Tài liệu sáng chế 12: Công bố đơn yêu cầu cấp Bằng độc quyền sáng chế Trung Quốc số CN 113801097A

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: “COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering at Johns Hopkins University”, [online], Johns Hopkins University, [tìm kiếm ngày 28 tháng 1 năm 2022], Internet <URL: <https://coronavirut.jhu.edu/map.html>>.

Tài liệu phi sáng chế 2: The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE (2020), Vol. 382, pp. 1564-1567.

Tài liệu phi sáng chế 3: “Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)”, [online], February 28, 2020, WHO, [tìm kiếm ngày 8 tháng 2 năm 2021], Internet <URL: <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirute/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>>.

Tài liệu phi sáng chế 4: Science (2003), Vol. 300, pp. 1763-1767.

Tài liệu phi sáng chế 5: “A comparative analysis of SARS-CoV-2 antivirals characterizes 3CLpro inhibitor PF-00835231 as a potential new treatment for COVID-19”, Journal of Virology, April 26, 2021, [tìm kiếm ngày 15 tháng 2 năm 2022], Internet <URL: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JVI.01819-20>><doi: 10.1128/JVI.01819-20>.

Tài liệu phi sáng chế 6: Cell Research (2020), Vol. 30, pp. 678-692.

Tài liệu phi sáng chế 7: Science (2020), Vol. 368, pp. 409-412.

Tài liệu phi sáng chế 8: ACS Central Science (2021), Vol. 7, số 3, pp.467-475.

Tài liệu phi sáng chế 9: Cancer Treatment Reviews (1984), Vol. 11, Supplement 1, pp. 99-110.

Tài liệu phi sáng chế 10: Contributions to Oncology (1984), Vol. 18, pp. 221-234.

Tài liệu phi sáng chế 11: Arzneimittel-Forschung (1984), Vol. 11, số 6, pp. 663-668.

Tài liệu phi sáng chế 12: 261st Am Chem Soc (ACS) Natl Meet · 2021-04-05 / 2021-04-16 · Virtual, N/A · Abst 243

Tài liệu phi sáng chế 13: Science (2021), Vol. 374, pp. 1586-1593.

Tài liệu phi sáng chế 14: "Pfizer's Novel COVID-19 Oral Antiviral Treatment Candidate Reduced Risk Of Hospitalization or Death By 89% In Interim Analysis Of Phase 2/3 EPIC-HR Study", [online], 5.11.2021, Pfizer Press Release, [tìm kiếm ngày 15 tháng 2 năm 2022], Internet <URL: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizers-novel-covid-19-oral-antiviral-treatment-candidate>>

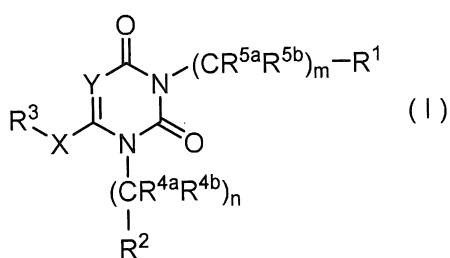
Vấn đề cần được giải quyết bởi sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirus. Tốt hơn là, sáng chế đề xuất hợp chất có hoạt tính kháng virus, đặc biệt là hoạt tính ức chế sao chép coronavirus, và thuốc bao gồm hợp chất này. Hơn nữa, một mục đích khác của sáng chế là đề xuất dạng tinh thể và đồng tinh thể của hợp chất hoặc muối được dụng của nó, thể hiện hoạt tính ức chế proteaza 3CL và thuốc chứa chúng.

Cách thức để giải quyết vấn đề

Sáng chế đề cập đến các mục sau đây.

(1) Hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I):



trong đó:

Y là N , hoặc CR^7 ;

R^7 là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

R^1 là dị vòng thơm được thế hoặc không được thế, dị vòng không thơm được thế hoặc không được thế, carbamoyl được thế hoặc không được thế, hoặc amino được thế hoặc không được thế;

R^2 là vòng cacbon thơm được thế hoặc không được thế (với điều kiện là para-flophenyl, para-clophenyl, và para-metylphenyl được loại trừ), vòng cacbon không thơm

được thế hoặc không được thế, dị vòng thơm được thế hoặc không được thế, dị vòng không thơm được thế hoặc không được thế, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

R^3 là vòng cacbon thơm được thế hoặc không được thế, vòng cacbon không thơm được thế hoặc không được thế, dị vòng thơm được thế hoặc không được thế, hoặc dị vòng không thơm được thế hoặc không được thế;

-X- là $-NR^6-$, $-CR^6R^{6'}-$, $-O-$, $-S-$, hoặc liên kết đơn;

mỗi R^6 và $R^{6'}$ độc lập là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

m bằng 0, 1, hoặc 2;

mỗi R^{5a} độc lập là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

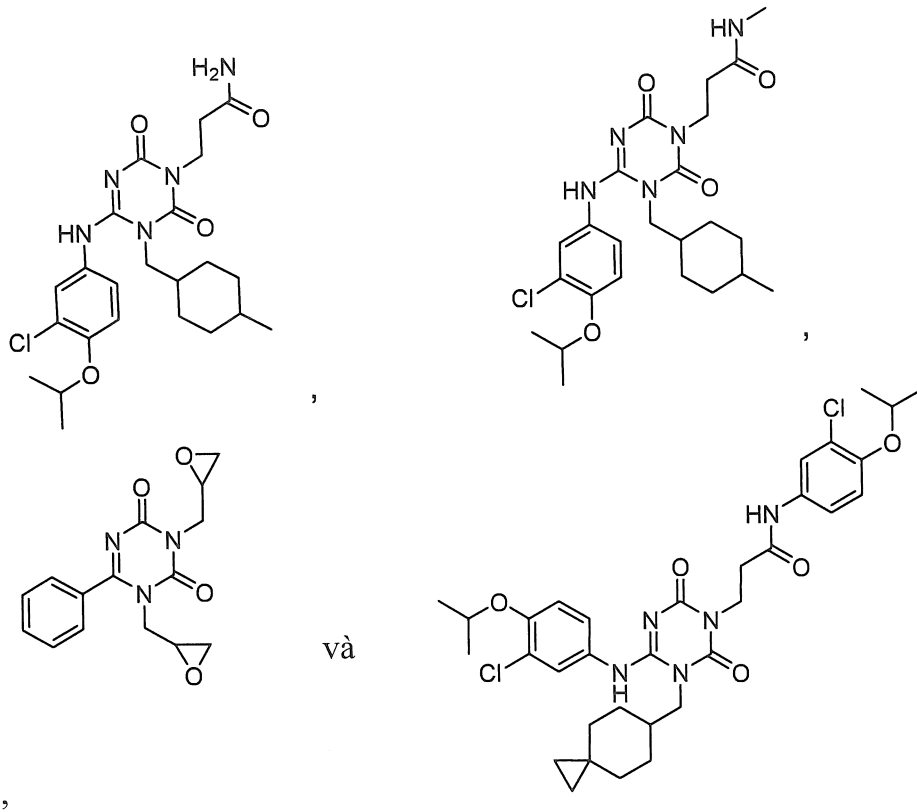
mỗi R^{5b} độc lập là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

n bằng 0, 1, hoặc 2;

mỗi R^{4a} độc lập là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

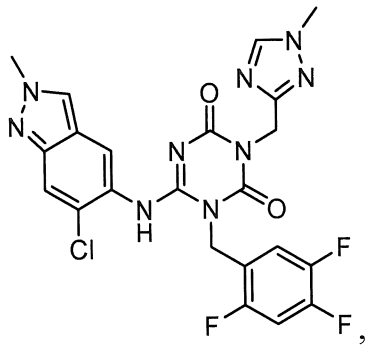
mỗi R^{4b} độc lập là nguyên tử hydro, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

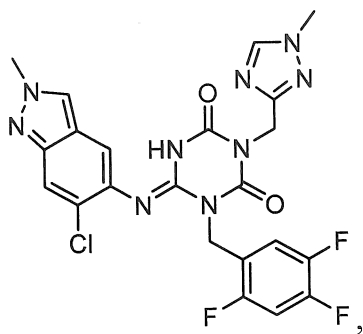
với điều kiện là các hợp chất sau đây được loại trừ:



hoặc muối được dụng của nó.

(AA1) Hợp chất được biểu diễn bởi công thức:





hoặc muối dược dụng của nó.

(AA2) Dược phẩm bao gồm hợp chất theo mục bất kỳ trong số các mục (AA1) hoặc (AA1') nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó.

(AA3) Chất ức chế proteaza 3CL coronavirus bao gồm hợp chất theo mục bất kỳ trong số các mục (AA1) hoặc (AA1') nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó.

(AA4) Chất ức chế sao chép coronavirus bao gồm hợp chất theo mục bất kỳ trong số các mục (AA1) hoặc (AA1') nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó.

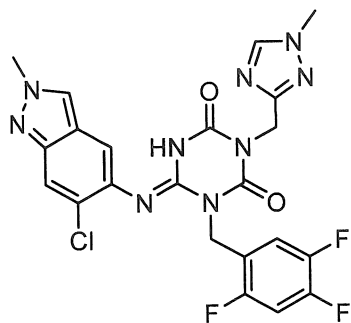
(AA5) Chất ức chế sao chép coronavirus theo mục (AA4) nêu trên, trong đó coronavirus là alpha coronavirus và/hoặc beta coronavirus.

(AA6) Chất ức chế sao chép coronavirus theo mục (AA4) nêu trên, trong đó coronavirus là SARS-CoV-2.

(AA7) Phương pháp để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến các proteaza 3CL coronavirus, trong đó phương pháp này được đặc trưng bởi việc sử dụng hợp chất theo mục bất kỳ trong số các mục (AA1) hoặc (AA1') nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó.

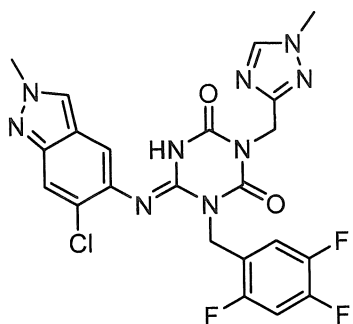
(AA8) Hợp chất theo mục bất kỳ trong số các mục (AA1) hoặc (AA1') nêu trên, hoặc muối dược dụng của nó, để sử dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến các proteaza 3CL coronavirus.

(1B) Phức chất bao gồm hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



và axit fumaric.

(2B) Phức chất theo mục (1B) nêu trên, trong đó hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



và axit fumaric có mặt theo tỷ lệ mol 1:1.

(3B) Đồng tinh thể axit fumaric theo mục (1B) hoặc (2B) nêu trên.

(4B) Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$, và $24,6 \pm 0,2^\circ$.

(5B) Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $7,8 \pm 0,2^\circ$, $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,1 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $13,8 \pm 0,2^\circ$, $14,7 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $22,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$, và $24,6 \pm 0,2^\circ$.

(6B') Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, thể hiện phổ Raman có các đỉnh phổ Raman ở $676,3\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $748,0\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1029,3\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1374,4\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1515,5\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1665,7\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1715,7\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, và $1739,1\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$.

(6B) Dược phẩm bao gồm đồng tinh thể theo mục bất kỳ trong số các mục (3B) đến (5B) và (6B') nêu trên.

(7B) Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, trong đó dạng này có dữ liệu tinh thể học khi được đo ở 298K (25°C) được đặc trưng bởi dữ liệu tinh thể học sau đây:

Nhóm không gian: P-1

$$a = 8,4\text{\AA} \pm 0,5\text{\AA}$$

$$b = 11,7\text{\AA} \pm 0,5\text{\AA}$$

$$c = 15,2\text{\AA} \pm 0,5\text{\AA}$$

$$\alpha = 83,8^\circ \pm 0,5^\circ$$

$$\beta = 78,9^\circ \pm 0,5^\circ$$

$$\gamma = 77,1^\circ \pm 0,5^\circ$$

(8B) Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, trong đó dạng này có dữ liệu tinh thể học khi được đo ở 298K về căn bản là theo dữ liệu tinh thể học sau đây:

Nhóm không gian: P-1

$$a = 8,4374\text{\AA}$$

$$b = 11,6780\text{\AA}$$

$$c = 15,1612\text{\AA}$$

$$\alpha = 83,827^\circ$$

$$\beta = 78,868^\circ$$

$$\gamma = 77,147^\circ$$

(9B) Đồng tinh thể axit fumaric dạng I theo mục (3B) nêu trên, được đặc trưng bởi phổ (các phổ) và/hoặc đường cong được chọn từ (a) đến (c) sau đây:

(a) phổ nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là tương ứng với Fig.1;

(b) phổ Raman về cơ bản là tương ứng với Fig.3;

(c) đường cong đo nhiệt lượng quét vi sai về cơ bản là tương ứng với Fig.4.

(10B) Dược phẩm bao gồm đồng tinh thể theo mục bất kỳ trong số các mục (7B) đến (9B) nêu trên.

Tác dụng của sáng chế

Hợp chất của sáng chế có hoạt tính ức chế chống lại các proteaza 3CL coronavirut và có thể được sử dụng làm chất trị liệu (điều trị) và/hoặc chất dự phòng (ngăn ngừa) các bệnh nhiễm coronavirut.

Ngoài ra, dược phẩm bao gồm đồng tinh thể axit fumaric của hợp chất (I-0115) rất hữu hiệu dùng làm chất trị liệu đối với các bệnh nhiễm coronavirut mới (COVID-19).

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X của đồng tinh thể axit fumaric dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn $2\theta(^{\circ})$, và trục tung biểu diễn cường độ (số đếm).

Fig.2 thể hiện cấu trúc phân tử theo đơn vị không đối xứng của đồng tinh thể axit fumaric dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Fig.3 thể hiện phổ Raman của đồng tinh thể axit fumaric dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn độ dịch chuyển Raman (cm^{-1}), và trục tung biểu diễn cường độ đỉnh.

Fig.4 thể hiện các kết quả của phép phân tích DSC của đồng tinh thể axit fumaric dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$), và trục tung biểu diễn dòng nhiệt chuẩn hóa (W/g).

Fig.5 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của muối kali dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn $2\theta(^{\circ})$, và trục tung biểu diễn cường độ (số đếm).

Fig.6 thể hiện phổ Raman của dạng tinh thể của muối kali dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn độ dịch chuyển Raman (cm^{-1}), và trục tung biểu diễn cường độ đỉnh.

Fig.7 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X của đồng tinh thể axit succinic dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn $2\theta(^{\circ})$, và trục tung biểu diễn cường độ (số đếm).

Fig.8 thể hiện phổ Raman của đồng tinh thể axit succinic dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn độ dịch chuyển Raman (cm^{-1}), và trục tung biểu diễn cường độ đỉnh.

Fig.9 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của anhydrit dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn $2\theta(^{\circ})$, và trục tung biểu diễn cường độ (số đếm).

Fig.10 thể hiện phổ Raman của dạng tinh thể của anhydrit dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn độ dịch chuyển Raman (cm^{-1}), và trục tung biểu diễn cường độ đỉnh.

Fig.11 thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của muối natri dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn $2\theta(^{\circ})$, và trục tung biểu diễn cường độ (số đếm).

Fig.12 thể hiện phổ Raman của dạng tinh thể của muối natri dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục hoành biểu diễn độ dịch chuyển Raman (cm^{-1}), và trục tung biểu diễn cường độ đỉnh.

Fig.13 thể hiện các kết quả của phép phân tích TG/DTA của dạng tinh thể của muối natri dạng I (dạng I) của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Trục tung biểu diễn dòng nhiệt (μV) hoặc sự thay đổi trọng lượng (%), và trục hoành biểu diễn nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$). Cel trong biểu đồ có nghĩa là độ Xenxiut ($^{\circ}\text{C}$).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, ý nghĩa của mỗi thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này sẽ được mô tả. Trừ khi có quy định đặc biệt khác, mỗi thuật ngữ được sử dụng theo cùng một nghĩa, hoặc một mình hoặc phối hợp với các thuật ngữ khác.

Thuật ngữ “gồm có” có nghĩa là chỉ có các nguyên tố cấu thành.

Thuật ngữ “bao gồm” có nghĩa là các nguyên tố không bị giới hạn ở các nguyên tố cấu thành, và các nguyên tố mà không được mô tả không bị loại trừ.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả trong lúc đó thể hiện các phương án ví dụ. Trong suốt bản mô tả này, nên hiểu rằng, trừ khi được quy định theo cách khác, một diễn đạt của dạng số ít cũng bao gồm khái niệm của dạng số nhiều của nó. Do đó, cần hiểu rằng, trừ khi có quy định đặc biệt theo cách khác, dạng số ít (chẳng hạn, trong trường hợp từ “một”, hoặc tương tự) cũng bao gồm khái niệm của dạng số nhiều của nó.

Hơn nữa, cần hiểu rằng, trừ khi có quy định đặc biệt theo cách khác, các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này được sử dụng theo các nghĩa thông thường được sử dụng trong lĩnh vực kỹ thuật đã được mô tả ở trên. Do đó, trừ khi được xác định theo cách khác, tất cả các thuật ngữ và thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này có các ý nghĩa giống như thường được hiểu bởi người có kỹ năng trong lĩnh vực mà sáng chế thuộc về. Trong trường hợp ngược lại, ưu tiên được đưa ra cho bản mô tả này (bao gồm các định nghĩa).

“Halogen” bao gồm nguyên tử flo, nguyên tử clo, nguyên tử brom, và nguyên tử iot. Đặc biệt là, nguyên tử flo và nguyên tử clo là được ưu tiên.

“Alkyl” bao gồm các nhóm hydrocacbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh mỗi nhóm có từ 1 đến 15 nguyên tử cacbon, tốt hơn là từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, tốt hơn nữa là từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, và ngay cả tốt hơn nữa là từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon. Các ví dụ bao gồm methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, n-pentyl, isopentyl, neopentyl, n-hexyl, isohexyl, n-heptyl, isoheptyl, n-octyl, isooctyl, n-nonyl, và n-dexyl.

Các phương án được ưu tiên của “alkyl” bao gồm methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl, và n-pentyl. Các phương án được ưu tiên hơn bao gồm methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, và tert-butyl.

“Vòng cacbon thơm” có nghĩa là nhóm hydrocacbon thơm mạch vòng có một vòng hoặc hai hoặc nhiều vòng. Các ví dụ bao gồm phenyl, naphthyl, antryl, và phenantryl. Các ví dụ về vòng cacbon thơm 6 cạnh bao gồm phenyl.

“Dị vòng thơm” có nghĩa là vòng thơm có một vòng hoặc hai hoặc nhiều vòng, mà có một hoặc nhiều dị nguyên tử giống hoặc khác nhau tùy ý được chọn từ O, S, và N trong (các) vòng.

Dị vòng thơm có hai hoặc nhiều vòng còn bao gồm dị vòng thơm có một vòng hoặc hai hoặc nhiều vòng, mà một vòng trong “vòng cacbon thơm” được ngưng tụ, và liên kết kết nối có thể được thực hiện bằng vòng bất kỳ trong số các vòng này.

Dị vòng thơm có một vòng tốt hơn là vòng có từ 5 đến 8 cạnh, và tốt hơn nữa là vòng 5 cạnh hoặc 6 cạnh. Các ví dụ về dị vòng thơm 5 cạnh bao gồm pyrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, furyl, thienyl, isoxazolyl, oxazolyl, oxadiazolyl, isothiazolyl, thiazolyl, và thiadiazolyl.

Dị vòng thơm có hai vòng tốt hơn là vòng có từ 8 đến 10 cạnh, và tốt hơn nữa là vòng 9 cạnh hoặc 10 cạnh. Các ví dụ bao gồm indolyl, isoindolyl, indazolyl, indoliziny, quinoliny, isoquinoliny, xinoliny, phtalaziny, quinazoliny, naphtyridiny, quinoxaliny, puriny, pteridiny, benzimidazolyl, benzisoxazolyl, benzoxazolyl, benzoxadiazolyl, benzisothiazolyl, benzothiazolyl, benzothiadiazolyl, benzofuryl, isobenzofuryl, benzothienyl, benzotriazolyl, imidazopyridyl, triazolopyridyl, imidazothiazolyl, pyrazinopyridaziny, oxazolopyridyl, và thiazolopyridyl. Các ví dụ về dị vòng thơm 9 cạnh bao gồm indolyl, isoindolyl, indazolyl, indoliziny, puriny, benzimidazolyl, benzisoxazolyl, benzoxazolyl, benzoxadiazolyl, benzisothiazolyl, benzothiazolyl, benzothiadiazolyl, benzotriazolyl, benzofuranyl, imidazopyridyl, triazolopyridyl, oxazolopyridyl, và thiazolopyridyl.

Các ví dụ về các nhóm thế của “dị vòng thơm được thế hoặc không được thế” trong R^1 bao gồm:

halogen; xyano; hydroxy;

alkyl được thế (các ví dụ về các nhóm thế bao gồm halogen, hydroxy, carbamoyl, vòng cacbon thơm, vòng cacbon không thơm); alkyl không được thế;

alkyloxy không được thế;

alkyloxyacbonyl không được thế;

vòng cacbon thơm không được thế. Nó có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ các nhóm thế này.

Các ví dụ về các nhóm thế của “vòng cacbon thơm được thế hoặc không được thế” trong R^2 bao gồm:

halogen; xyano;

alkyl được thế (các ví dụ về các nhóm thế bao gồm halogen); alkyl không được thế;

alkyloxy được thế (các ví dụ về các nhóm thế bao gồm halogen, vòng cacbon thơm);

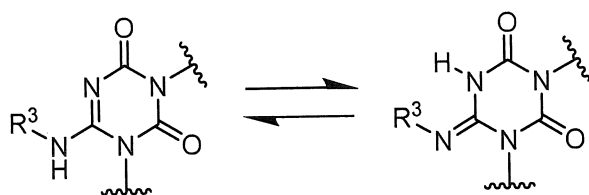
alkyloxy không được thế. Nó có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ các nhóm thế này.

Các ví dụ về các nhóm thế của “dị vòng thơm được thế hoặc không được thế” trong R^3 bao gồm:

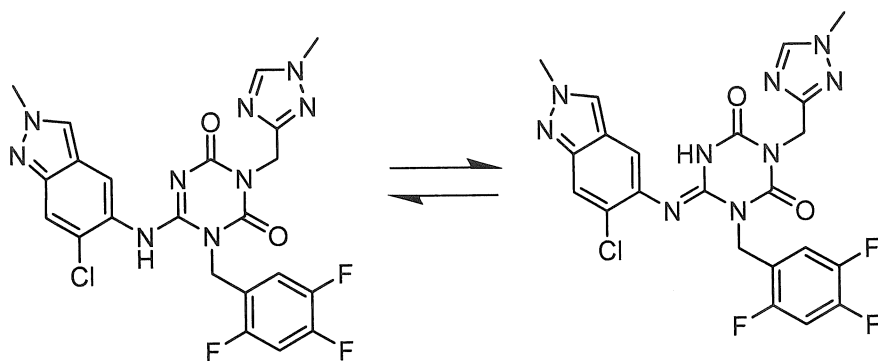
halogen; hydroxy;

alkyl được thế (các ví dụ về các nhóm thế bao gồm halogen, hydroxy, alkyloxy, haloalkyloxy, alkylamino, alkylcacbonylamino, alkylcarbamoyl, alkylsulfonyl, vòng cacbon không thơm, dị vòng không thơm); alkyl không được thế. Nó có thể được thế bằng một hoặc nhiều nhóm được chọn từ các nhóm thế này.

Các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) không bị giới hạn ở các chất đồng phân cụ thể, mà còn bao gồm tất cả các chất đồng phân có thể (ví dụ, chất đồng phân keto-enol, các chất đồng phân imin-enamin, các chất đồng phân không đối quang, các chất đồng phân quang học, các chất đồng phân quay, v.v.), các raxemat hoặc các hỗn hợp của chúng. Chẳng hạn, hợp chất có công thức (I), trong đó Y là N và X là NH bao gồm các tautome sau đây.



Chẳng hạn, hợp chất (I-0115) bao gồm các tautome sau đây.



Một hoặc nhiều nguyên tử hydro, cacbon, và/hoặc nguyên tử khác của các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) có thể được thế bằng (các) chất đồng vị của nguyên tử hydro, cacbon, và/hoặc nguyên tử khác, tương ứng. Các ví dụ về các chất đồng vị như vậy bao gồm hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, lưu huỳnh, flo, iot, và clo, như trong các trường hợp của ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{123}I , và ^{36}Cl , tương ứng. Các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) còn bao gồm các hợp chất được thế bằng các chất đồng vị như vậy. Các hợp chất được thế bằng các chất đồng vị cũng có thể được sử dụng làm các sản phẩm dược và bao gồm tất cả các dạng được đánh dấu phóng xạ của các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I). Hơn nữa, “phương pháp đánh dấu phóng xạ” để tạo ra “các dạng được đánh dấu phóng xạ” cũng được bao gồm trong sáng chế, và “dạng được đánh dấu phóng xạ” có thể được sử dụng làm các công cụ cho các nghiên cứu dược động học chuyển hóa, các nghiên cứu về thử nghiệm gắn kết, và/hoặc chẩn đoán.

Hơn nữa, dạng tinh thể của sáng chế có thể cũng là dạng được đơteri hóa. Dạng tinh thể của sáng chế có thể cũng có thể được đánh dấu bằng các chất đồng vị phóng xạ (chẳng hạn, ^3H , ^{14}C , ^{35}S , và ^{125}I).

Các dạng được đánh dấu phóng xạ của các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) có thể được điều chế bằng các phương pháp đã biết rõ trong lĩnh vực thích hợp.

Chẳng hạn, hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) được đánh dấu triti có thể được điều chế bằng cách đưa triti vào trong một hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) cụ thể, bằng phản ứng khử loại halogen xúc tác bằng cách sử dụng triti. Phương pháp này bao gồm việc làm cho các tiền chất thu được bằng cách thích hợp các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) bằng halogen, phản ứng với khí triti với sự có mặt của chất xúc tác thích hợp, chẳng hạn, Pd/C và với sự có mặt hoặc vắng mặt của bazơ. Về các phương pháp thích hợp khác để điều chế các hợp chất được đánh dấu triti, “Isotopes in the Physical and Biomedical Sciences, Vol. 1, Labeled Compounds (Part A), Chapter 6 (1987)” có thể được tham khảo. Hợp chất được đánh dấu ^{14}C có thể được điều chế bằng cách sử dụng nguyên liệu thô có cacbon ^{14}C .

Các ví dụ về các muối được dung của các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) bao gồm các muối của các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) với các kim loại kiềm (chẳng hạn, lithi, natri, và kali), các kim loại kiềm thổ (chẳng hạn, canxi và bari), magie, các kim loại chuyển tiếp (chẳng hạn, kẽm và sắt), amoniac, các bazơ hữu cơ (chẳng hạn, trimetylamin, trietylamin, dicyclohexylamin, etanolamin, dietanolamin, trietanolamin, meglumin, etylendiamin, pyridin, picolin, và quinolin), và các axit amin, hoặc các muối với các axit vô cơ (chẳng hạn, axit clohydric, axit sulfuric, axit nitric, axit cacbonic, axit bromhydric, axit phosphoric, và axit iohydric) và các axit hữu cơ (chẳng hạn, axit formic, axit axetic, axit propionic, axit trifloaxetic, axit xitric, axit lactic, axit tartric, axit oxalic, axit maleic, axit fumaric, axit succinic, axit mandelic, axit glutaric, axit malic, axit benzoic, axit phtalic, axit ascorbic, axit benzensulfonic, axit p-toluensulfonic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, và axit trifloaxetic). Các muối này có thể được tạo ra theo các phương pháp thường được thực hiện.

Các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) của sáng chế hoặc các muối được dụng của chúng có thể tạo ra các solvat (chẳng hạn, các hydrat), các hạt đồng tinh thể, và/hoặc các dạng đa hình tinh thể, và sáng chế còn bao gồm các solvat, các hạt đồng tinh thể, và các dạng đa hình tinh thể khác nhau như vậy. “Các solvat” có thể có các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) được phối trí với số lượng bất kỳ của các phân tử dung môi (chẳng hạn, các phân tử nước). Hơn nữa, các dạng đa hình tinh thể có thể được tạo ra bằng cách kết tinh lại các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) hoặc các muối được dụng của chúng.

“Tinh thể” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là chất rắn trong đó các nguyên tử, các ion, các phân tử cấu thành, và tương tự được sắp xếp đều đặn trong không gian ba chiều, và được phân biệt với chất rắn vô định hình mà không có cấu trúc bên trong đều đặn như vậy. Tinh thể của sáng chế có thể là đơn tinh thể, song tinh, đa tinh thể, hoặc loại tương tự.

Hơn nữa, “tinh thể” có thể bao gồm “các dạng đa hình tinh thể” mà có cùng một thành phần nhưng có các cách sắp xếp khác nhau trong tinh thể, và các hạt tinh thể bao gồm các dạng đa hình tinh thể này được gọi là “các dạng tinh thể”.

Ngoài ra, các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) có thể được chuyển hóa thành các muối được dụng của chúng hoặc các solvat được dụng của các hợp chất và các muối này. Tinh thể của sáng chế có thể là loại bất kỳ trong số các muối, các hydrat, các solvat, và các dạng đa hình tinh thể, và ngay cả các hỗn hợp của hai hoặc nhiều loại được dự định để được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Dạng tinh thể và độ kết tinh có thể được đo bằng nhiều công nghệ bao gồm, chẳng hạn, phép đo nhiễu xạ bột tia X, phổ Raman, phổ hấp thụ hồng ngoại, phép đo hấp thụ và giải hấp nước, phép đo nhiệt lượng quét vi sai, và các đặc tính hòa tan.

“Đồng tinh thể” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là, chẳng hạn, hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) và phân tử đối được sắp xếp đều đặn trong cùng một mạng tinh thể, và có thể bao gồm số lượng bất kỳ của các phân tử đối. Hơn nữa, đồng tinh thể ngụ ý rằng sự tương tác liên phân tử giữa hợp chất và phân tử đối liên quan đến tương tác hóa học không cộng hóa trị và không ion như liên kết hydro và lực van der Waals. Đồng tinh thể được phân biệt với muối từ quan điểm là hợp chất này gần như không mang điện hoặc trung tính. Đồng tinh thể được phân biệt với hydrat hoặc solvat từ quan điểm là phân tử đối không phải là nước hoặc dung môi.

Phức chất bao gồm hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) của sáng chế bao gồm, theo nghĩa rộng, muối, đồng tinh thể và hợp chất clathrat, hoặc solvat của chúng.

“Solvat” như được sử dụng trong bản mô tả này có nghĩa là, chẳng hạn, về các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) và công thức (I-B), các hợp chất và số lượng bất kỳ của các phân tử dung môi được bố trí có tính đều đặn.

Các ví dụ về các phân tử dung môi bao gồm axetonitril, clobenzen, cloroform, xyclohexan, 1,2-dicloeten, diclometan, 1,2-dimetoxyetan, N,N-dimetylaxetamit, N,N-dimetylformamit, 1,4-dioxan, 2-etoxyetanol, etylen glycol, formamit, hexan, metanol, 2-metoxyetanol, metyl butyl keton, metylxyclohexan, N-metylpyrrolidon, nitrometan, pyridin, sulfolan, tetralin, toluen, 1,1,2-tricloeten, xylen, axit axetic, anisol, 1-butanol, 2-butanol, n-butyl axetat, t-butyl metyl ete, cumen, dimetyl sulfoxit, etyl axetat, dietyl ete, etyl format, axit formic, heptan, isobutyl axetat, isopropyl axetat, metyl axetat, 3-

metyl-1-butanol, metyl etyl keton, metyl isobutyl keton, 2-metyl-1-propanol, pentan, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, propyl axetat, tetrahydrofuran, nước (nghĩa là, hydrat), etanol, axeton, 1,1-dietoxypropan, 1,1-dimetoxymetan, 2,2-dimetoxipropan, isooctan, isopropyl ete, metyl isopropyl keton, metyltetrahydrofuran, ete dầu mỡ, axit tricloaxetic, và axit trifloaxetic ; tốt hơn là axit axetic, anisol, 1-butanol, 2-butanol, n-butyl axetat, t-butyl metyl ete, cumen, dimetyl sulfoxit, etyl axetat, dietyl ete, etyl format, axit formic, heptan, isobutyl axetat, isopropyl axetat, metyl axetat, 3-metyl-1-butanol, metyl etyl keton, metyl isobutyl keton, 2-metyl-1-propanol, pentan, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol, propyl axetat, tetrahydrofuran, nước (nghĩa là, hydrat), etanol, axeton, 1,1-dietoxypropan, 1,1-dimetoxymetan, 2,2-dimetoxipropan, isooctan, isopropyl ete, metyl isopropyl keton, metyltetrahydrofuran, ete dầu mỡ, axit tricloaxetic, và axit trifloaxetic ; và tốt hơn nữa là nước (nghĩa là, hydrat), etanol, axeton, 1,1-dietoxypropan, 1,1-dimetoxymetan, 2,2-dimetoxipropan, isooctan, isopropyl ete, metyl isopropyl keton, metyltetrahydrofuran, ete dầu mỡ, axit tricloaxetic, và axit trifloaxetic.

Hơn nữa, các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I), hoặc các muối được dùng, các hạt đồng tinh thể, và các phức chất của các hợp chất hấp thụ ẩm bằng cách dễ yên trong môi trường khí và có thể có nước hấp thụ bám vào đó hoặc có thể tạo ra các hydrat.

Các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) của sáng chế hoặc các muối được dùng của chúng có thể tạo ra các tiền chất, và sáng chế còn bao gồm các tiền chất khác nhau như vậy. Tiền chất là dẫn xuất của hợp chất của sáng chế có nhóm có thể bị phân hủy hóa học hoặc chuyển hóa, và là hợp chất mà trở thành hợp chất có được tính của sáng chế in vivo nhờ sự dung môi phân hoặc các điều kiện sinh lý. Các tiền chất bao

gồm các hợp chất được oxy hóa bằng enzym, khử, thủy phân, và tương tự trong các điều kiện sinh lý trong cơ thể sống và được chuyển hóa thành các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I); các hợp chất được thủy phân bằng axit dạ dày hoặc loại tương tự và được chuyển hóa thành các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I); và tương tự. Các phương pháp để lựa chọn và sản xuất dẫn xuất tiền chất thích hợp được mô tả trong, chẳng hạn, “Design of Prodrugs, Elsevier, Amsterdam, 1985”. Tiền chất có thể tự nó có hoạt tính.

Nhiều xạ bột tia X (Powder X-ray diffraction, XRPD)

Nhiều xạ bột tia X (XRPD) là một trong số các phương pháp phân tích có độ nhạy cao nhất để đo dạng tinh thể và độ kết tinh của chất rắn. Khi tia X được chiếu vào tinh thể, các tia được phản xạ ở các mặt phẳng mạng tinh thể, giao thoa với nhau, và thể hiện các vạch nhiễu xạ có trật tự tốt tương ứng với chu kỳ của cấu trúc. Mặt khác, trong chất rắn vô định hình, hiện tượng nhiễu xạ không xảy ra vì chất rắn vô định hình thường không có chu kỳ lặp lại có trật tự tốt trong cấu trúc, và thể hiện mẫu rộng XRPD không được định rõ đặc điểm (còn được gọi là mẫu halo).

Các dạng tinh thể của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có thể được nhận biết bởi các mẫu nhiễu xạ bột tia X và các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng. Các dạng tinh thể của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có thể được phân biệt với các dạng tinh thể khác bởi sự có mặt của các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng.

Các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng được sử dụng trong bản mô tả này là các đỉnh được chọn từ mẫu nhiễu xạ đã quan sát được. Các đỉnh nhiễu xạ đặc trưng tốt hơn là được chọn từ khoảng 10 đỉnh, tốt hơn nữa là khoảng 5 đỉnh, và thậm chí tốt hơn nữa là khoảng 3 đỉnh, trong mẫu nhiễu xạ.

Khi phân biệt nhiều hạt tinh thể, một đỉnh được xác định trong tinh thể thích hợp và không được xác định trong các hạt tinh thể khác trở thành đỉnh đặc trưng được ưu tiên để định rõ đặc điểm tinh thể, chứ không phải là cường độ của đỉnh. Với các đỉnh đặc trưng như vậy, ngay cả một hoặc hai đỉnh có thể định rõ đặc điểm tinh thể. Khi các biểu đồ thu được bằng phép đo được so sánh và các đỉnh đặc trưng này được phát hiện là trùng khớp, có thể nói rằng các mẫu nhiễu xạ bột tia X về cơ bản là trùng khớp.

Nói chung, vì góc nhiễu xạ (2θ) trong nhiễu xạ bột tia X có thể gây ra sai số trong khoảng $\pm 0,2^\circ$, cần hiểu rằng giá trị của góc nhiễu xạ của nhiễu xạ bột tia X còn bao gồm các giá trị số nằm trong khoảng $\pm 0,2^\circ$. Do đó, không chỉ các hạt tinh thể trong đó các góc nhiễu xạ của đỉnh trong nhiễu xạ bột tia X hoàn toàn trùng khớp, mà còn các hạt tinh thể trong đó các góc nhiễu xạ của các đỉnh trùng khớp với sai số khoảng $\pm 0,2^\circ$, được bao gồm trong sáng chế.

Nói chung, biết được rằng cường độ của đỉnh được chỉ ra trong các bảng và các hình vẽ sau đây có thể dao động do nhiều yếu tố, chẳng hạn, ảnh hưởng của sự định hướng có chọn lọc của các hạt tinh thể đối với chùm tia X, ảnh hưởng của các hạt thô, độ tinh khiết của chất cần phân tích, hoặc độ kết tinh của mẫu. Hơn nữa, vị trí đỉnh có thể cũng bị dịch chuyển dựa trên sự dao động của chiều cao mẫu. Ngoài ra, khi vị trí đỉnh được đo bằng cách sử dụng các bước sóng khác nhau, các độ dịch chuyển khác nhau có thể thu được theo phương trình Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$); tuy nhiên, các mẫu XRPD khác có thể thu được bằng cách sử dụng các bước sóng khác như vậy còn được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Phân tích cấu trúc đơn tinh thể

Theo một trong số các phương pháp để xác định đặc điểm tinh thể, các thông số tinh thể học đối với tinh thể có liên quan, cũng như các tọa độ nguyên tử (các giá trị thể hiện mối quan hệ vị trí trong không gian của mỗi nguyên tử) và mô hình cấu trúc ba chiều có thể thu được. Xem “Guidance on X-ray Structural Analysis”, tác giả Toshio Sakurai, xuất bản bởi Shokabo Co., Ltd. (1983); X-Ray Structure Determination: A Practical Guide, tác giả Stout & Jensen, Macmillan Co, New York (1968); và tài liệu tương tự. Khi các cấu trúc tinh thể của phức chất, muối, chất đồng phân quang học, tautome, và chất đồng phân hình học như sáng chế được xác định, việc phân tích cấu trúc đơn tinh thể là có lợi.

Phổ Raman

Phổ Raman thể hiện các đặc tính dao động của hệ phân tử hoặc hỗn hợp. Nguồn gốc của nó nằm ở các va chạm không đàn hồi giữa các phân tử và các photon, là các hạt ánh sáng bao gồm cả các tia sáng. Các va chạm giữa các phân tử và các photon dẫn đến sự thay đổi năng lượng, mà dẫn đến sự thay đổi năng lượng, và do đó bước sóng của các photon thay đổi. Nghĩa là, vì phổ Raman là vạch phổ có các bước sóng rất hẹp, được phát ra khi các photon tới phân tử quan tâm, laze và loại tương tự được sử dụng làm các nguồn sáng. Bước sóng của mỗi vạch Raman được biểu thị bằng sự dịch chuyển bước sóng so với ánh sáng tới, và đây là sự khác biệt giữa vạch Raman và giá trị nghịch đảo của bước sóng của ánh sáng tới. Phổ Raman là để đo trạng thái dao động của các phân tử, và điều này được xác định bởi cấu trúc phân tử của chúng.

Nói chung, vì các đỉnh phổ Raman (cm^{-1}) có thể gây ra các sai số trong khoảng $\pm 2\text{cm}^{-1}$, cần hiểu rằng các giá trị của các đỉnh phổ Raman đã nêu ở trên còn bao gồm các giá trị số trong khoảng $\pm 2\text{cm}^{-1}$. Do đó, không chỉ các tinh thể mà có các đỉnh phổ

Raman trong phổ Raman hoàn toàn trùng khớp, mà còn các tinh thể có các đỉnh phổ Raman trùng khớp với các sai số khoảng $\pm 2\text{cm}^{-1}$, được bao gồm trong sáng chế.

Phép đo nhiệt lượng quét vi sai (Differential scanning calorimetry, DSC)

DSC là một trong số các phương pháp đo quan trọng để phân tích nhiệt và là phương pháp đo các đặc tính nhiệt của một chất dưới dạng một tập hợp của các nguyên tử và các phân tử.

Đường cong đo nhiệt lượng quét vi sai thu được bằng cách đo sự thay đổi nhiệt trị liên quan đến nhiệt độ hoặc liên quan đến thời gian của thành phần có được tính bằng DSC và vẽ số liệu thu được so với nhiệt độ hoặc thời gian. Từ đường cong đo nhiệt lượng quét vi sai, thông tin về nhiệt độ khởi đầu ở thời điểm nóng chảy của thành phần được tính, giá trị lớn nhất của đường cong đỉnh thu nhiệt liên quan đến sự nóng chảy, và entalpy có thể thu được.

Về DSC, biết rằng nhiệt độ cần được quan sát có thể phụ thuộc vào tốc độ thay đổi nhiệt độ cũng như kỹ thuật chuẩn bị mẫu và thiết bị cụ thể được sử dụng. Do đó, “điểm nóng chảy” trong DSC dùng để chỉ nhiệt độ khởi đầu không có khả năng bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật chuẩn bị mẫu. Khoảng sai số đối với nhiệt độ khởi đầu có thể thu được từ đường cong đo nhiệt lượng quét vi sai là khoảng $\pm 2^\circ\text{C}$. Đối với sự nhận biết danh tính của các tinh thể, không chỉ điểm nóng chảy mà còn cả mô hình tổng thể đều quan trọng, và có thể có một số thay đổi phụ thuộc vào các điều kiện đo và thiết bị đo.

Phân tích nhiệt vi sai và phân tích nhiệt trọng đồng thời (differential thermal analysis và thermogravimetric analysis, TG/DTA)

TG/DTA là một trong số các phương pháp đo quan trọng để phân tích nhiệt và là phương pháp đo trọng lượng và các đặc tính nhiệt của một chất dưới dạng một tập hợp của các nguyên tử và các phân tử.

TG/DTA là phương pháp đo sự thay đổi trọng lượng và nhiệt trị liên quan đến nhiệt độ hoặc liên quan đến thời gian của thành phần được tính, và đường cong TG (thermogravimetric) và DTA (differential thermal) thu được bằng cách vẽ dữ liệu thu được so với nhiệt độ hoặc thời gian. Từ đường cong TG/DTA, thông tin về sự thay đổi trọng lượng và nhiệt trị liên quan đến sự suy giảm, khử nước, oxy hóa, khử, thăng hoa, và bay hơi của thành phần được tính có thể thu được.

Về TG/DTA, biết rằng nhiệt độ cần được quan sát và mức thay đổi trọng lượng có thể phụ thuộc vào tốc độ thay đổi nhiệt độ cũng như kỹ thuật chuẩn bị mẫu và thiết bị cụ thể được sử dụng. Do đó, “điểm nóng chảy” trong TG/DTA dùng để chỉ nhiệt độ khởi đầu có khả năng không bị ảnh hưởng bởi kỹ thuật chuẩn bị mẫu. Để nhận biết độ đồng nhất của các hạt tinh thể, không chỉ điểm nóng chảy mà còn cả toàn bộ mẫu đều quan trọng, và có thể có một số thay đổi phụ thuộc vào các điều kiện đo và thiết bị đo.

Vì hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut, hợp chất này có thể được sử dụng làm chất trị liệu và/hoặc dự phòng bệnh liên quan đến các proteaza 3CL coronavirut. Khi thuật ngữ “chất trị liệu và/hoặc dự phòng” được sử dụng trong sáng chế, điều này còn bao gồm chất cải thiện triệu chứng. Bệnh liên quan đến các proteaza 3CL coronavirut có thể là các bệnh nhiễm virut, và tốt hơn là các bệnh nhiễm coronavirut.

Theo một khía cạnh, coronavirut có thể là loại coronavirut lây nhiễm cho con người. Coronavirut lây nhiễm cho con người có thể là HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, và/hoặc SARS-CoV-2.

Theo một khía cạnh, coronavirut có thể là Alphacoronavirus và/hoặc Betacoronavirus, và tốt hơn nữa là Betacoronavirus.

Theo một khía cạnh, Alphacoronavirus có thể là HCoV-229E và HCoV-NL63. Đặc biệt là tốt hơn là, Alphacoronavirus có thể là HCoV-229E.

Theo một khía cạnh, Betacoronavirus có thể là HCoV-HKU1, HCoV-OC43, SARS-CoV, MERS-CoV, và/hoặc SARS-CoV-2. Betacoronavirus có thể là HCoV-OC43 hoặc SARS-CoV-2, và đặc biệt là tốt hơn là SARS-CoV-2.

Theo một khía cạnh, Betacoronavirus có thể là Betacoronavirus dòng A (β -coronavirut dòng A), Betacoronavirus dòng B (β -coronavirut dòng B), và Betacoronavirus dòng C (β -coronavirut dòng C). Betacoronavirus có thể tốt hơn nữa là Betacoronavirus dòng A (β -coronavirut dòng A) và Betacoronavirus dòng B (β -coronavirut dòng B) và đặc biệt là tốt hơn là Betacoronavirus dòng B (β -coronavirut dòng B).

Theo một khía cạnh, Betacoronavirus có thể là Betacoronavirus của giống phụ Sarbecovirut.

Các ví dụ về Betacoronavirus dòng A (β -coronavirut dòng A) bao gồm HCoV-HKU1 và HCoV-OC43, và tốt hơn là HCoV-OC43. Các ví dụ về Betacoronavirus dòng B (β -coronavirut dòng B) bao gồm SARS-CoV và SARS-CoV-2, và tốt hơn là SARS-CoV-2. Betacoronavirus dòng C (β -coronavirut dòng C) có thể là MERS-CoV.

Theo một khía cạnh, coronavirus có thể là HCoV-229E, HCoV-OC43, và/hoặc SARS-CoV-2, và đặc biệt là tốt hơn là SARS-CoV-2.

Các bệnh nhiễm coronavirus có thể là các bệnh nhiễm gây ra bởi HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV, và/hoặc SARS-CoV-2. Tốt hơn là, các bệnh nhiễm coronavirus có thể là các bệnh nhiễm gây ra bởi HCoV-229E, HCoV-OC43, và/hoặc SARS-CoV-2, và đặc biệt là tốt hơn là bệnh nhiễm gây ra bởi SARS-CoV-2.

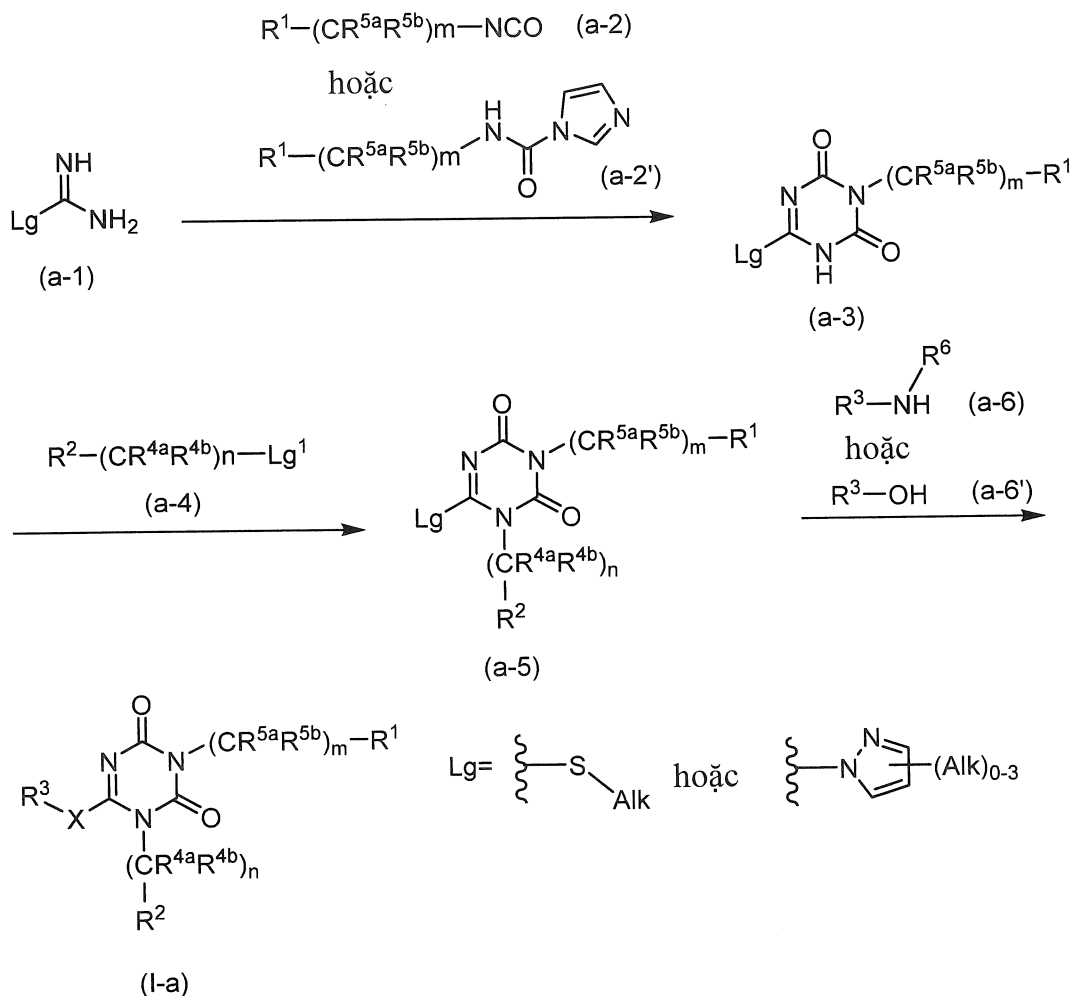
Các bệnh nhiễm coronavirus có thể đặc biệt là tốt hơn là các bệnh nhiễm coronavirus mới (COVID-19).

Phương pháp để tạo ra hợp chất của sáng chế

Các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) theo sáng chế có thể được sản xuất bằng, chẳng hạn, phương pháp tổng hợp chung được mô tả dưới đây. Đối với việc chiết, tinh chế, và tương tự, các biện pháp xử lý được thực hiện trong các thí nghiệm hóa học hữu cơ thông thường có thể được thực hiện.

Các hợp chất của sáng chế có thể được sản xuất dựa vào các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực này. Chẳng hạn, các hợp chất có thể được sản xuất dựa vào WO2010092966, WO2012020749, WO2013089212, WO2014200078, WO2012020742, và WO2013118855.

Phương pháp A: Khi Y là N, và X là NR⁶ hoặc O



trong đó Alk là C1-C3 alkyl; Lg¹ là nhóm rời chuyển; và các ký hiệu tham chiếu khác với các ký hiệu có cùng các ý nghĩa như được mô tả ở trên.

Bước thứ nhất

Hợp chất (a-1), hoặc hydroclorua hoặc bromat của nó được phản ứng với isoxyanat (a-2) hoặc 1-carbamoylimidazol (a-2') trong dung môi như N,N-dimetylformamit, N,N-dimetylaxetamit, N,N'-dimetylimidazolidinon, dimetyl sulfoxit, hoặc THF, với sự có mặt của bazơ như DBU, trietylamin, N,N-diisopropyletylamin, hoặc pyridin (tốt hơn là, DBU), ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 50°C, và tốt hơn là từ -10°C đến điều kiện làm nguội bằng nước đá. Sau đó, hợp chất (a-3) có thể được sản xuất bằng cách cho hỗn hợp phản ứng phản ứng với chất cacbonyl hóa

nư 1,1'-cacbonyldiimidazol, phosgen, hoặc triphosgen, và bazơ như DBU, trietylamin, N,N-diisopropyletylamin, hoặc pyridin (tốt hơn là, DBU), ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 50°C, và tốt hơn là từ -10°C đến điều kiện làm nguội bằng nước đá.

Bước thứ hai

Hợp chất (a-5) có thể được sản xuất bằng cách cho hợp chất (a-3) phản ứng với hợp chất (a-4) trong dung môi như axetonitril, axeton, DMF, hoặc DMSO, với sự có mặt của bazơ như kali cacbonat, natri cacbonat, hoặc N,N-diisopropyletylamin, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến điều kiện gồm gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu, và tốt hơn là trong điều kiện gồm gia nhiệt trong điều kiện hồi lưu.

Các ví dụ về nhóm rời chuyển bao gồm halogen và $-\text{OSO}_2(\text{C}_t\text{F}_{2t+1})$, trong đó t là số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 4. Halogen tốt hơn là clo, iot, và brom, và nhóm $-\text{OSO}_2(\text{C}_t\text{F}_{2t+1})$ tốt hơn là nhóm $-\text{OTf}$ (este của axit triflometansulfonic).

Bước thứ ba

Hợp chất được biểu diễn bởi hợp chất (I-a) có thể được sản xuất bằng cách cho hợp chất (a-5) phản ứng với hợp chất (a-6) hoặc hợp chất (a-6') trong dung môi như NMP, DMF, DMA, DMSO, tert-butanol, hoặc 2-metyl-2-butanol, với sự có mặt hoặc vắng mặt của của axit như axit axetic, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60°C đến 150°C, và tốt hơn là từ 80°C đến 120°C.

Vì hợp chất của sáng chế có hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut, hợp chất này có thể được sử dụng làm chất trị liệu và/hoặc dự phòng các bệnh nhiễm coronavirut.

Hơn nữa, hợp chất của sáng chế có công dụng như một loại thuốc, và tốt hơn là, hợp chất của sáng chế có bất kỳ một hoặc nhiều dấu hiệu vượt trội sau đây.

a) Hoạt tính ức chế chống lại các enzym CYP (chẳng hạn, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, và CYP3A4) là yếu.

b) Thể hiện được động học thỏa đáng như độ sinh khả dụng cao và độ thanh thải thích hợp.

c) Độ ổn định chuyển hóa cao.

d) Không thể hiện hoạt tính ức chế không thuận nghịch đối với các enzym CYP (chẳng hạn, CYP3A4) trong khoảng nồng độ của các điều kiện đo được mô tả trong bản mô tả này.

e) Không thể hiện tính gây đột biến.

f) Nguy cơ tim mạch thấp.

g) Thể hiện độ hòa tan cao.

h) Tỷ lệ không gắn kết với protein (giá trị fu) cao.

i) Thể hiện độ chọn lọc proteaza 3CL coronavirus cao.

j) Thể hiện hoạt tính ức chế sao chép coronavirus cao. Chẳng hạn, thể hiện hoạt tính ức chế sao chép coronavirus cao khi huyết thanh người (human blood serum, HS) hoặc albumin huyết thanh người (human serum albumin, HSA) được bổ sung.

Về chất ức chế sao chép coronavirus, chẳng hạn, một khía cạnh trong đó theo tác động CPE (SARS-CoV-2) sẽ được mô tả dưới đây, chẳng hạn, EC₅₀ nhỏ hơn hoặc bằng 10 μ m, tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 1 μ m, và tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 100nM, có thể được đề cập đến

Hơn nữa, muối, dạng tinh thể, hỗn hợp, và đồng tinh thể của hợp chất theo sáng chế có công dụng dưới dạng thuốc, và tốt hơn là, chúng có một hoặc nhiều dấu hiệu vượt trội sau đây.

bb) Thể hiện được động học thỏa đáng như độ sinh khả dụng cao, độ thanh thải thích hợp, AUC cao, và nồng độ tối đa trong máu cao.

gg) Thể hiện độ hòa tan cao, độ ổn định hóa học cao, và các đặc tính hút ẩm thấp.

Dược phẩm của sáng chế có thể được sử dụng bằng hoặc phương pháp qua đường miệng hoặc phương pháp ngoài đường tiêu hóa. Các ví dụ về phương pháp sử dụng ngoài đường tiêu hóa bao gồm sử dụng qua da, dưới da, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong cơ, trong màng bụng, qua niêm mạc, xông hít, qua đường mũi, nhỏ mắt, nhỏ tai, và trong âm đạo.

Trong trường hợp sử dụng qua đường miệng, dược phẩm có thể được điều chế thành dạng liều dùng bất kỳ thường được sử dụng, như chế phẩm rắn để dùng trong (chẳng hạn, viên nén, chế phẩm bột, chế phẩm hạt, viên nang, viên tròn, hoặc chế phẩm màng), hoặc chế phẩm lỏng để dùng trong (chẳng hạn, hỗn dịch, nhũ tương, cồn ngọt, xi rô, nước chanh, chế phẩm rượu thuốc, chế phẩm nước thơm, phần chiết, thuốc sắc, hoặc cồn thuốc) và được sử dụng. Viên nén có thể là viên bao đường, viên nén bao màng, viên nén bao tan trong ruột, viên nén giải phóng duy trì, viên ngậm dẹt, viên nén ngậm dưới lưỡi, viên nén dùng trong khoang miệng, viên nén nhai được, hoặc viên nén phân rã qua đường miệng; chế phẩm bột và chế phẩm hạt có thể là các loại xi rô khan; và viên nang có thể là viên nang mềm, vi nang, hoặc viên nang giải phóng duy trì.

Trong trường hợp sử dụng ngoài đường tiêu hóa, dược phẩm có thể thích hợp được sử dụng ở dạng liều dùng bất kỳ thường được sử dụng, như chế phẩm tiêm được,

loại dùng để tiêm truyền, hoặc chế phẩm dùng ngoài (chẳng hạn, thuốc nhỏ mắt, thuốc nhỏ mũi, thuốc nhỏ tai, khí dung, thuốc xông hít, thuốc xúc, thuốc tắm, dầu xoa bóp, chất xúc miệng, thuốc thụt, thuốc mỡ thuốc cao, jel, kem, miếng thuốc cao, thuốc đắp, chế phẩm bột để dùng ngoài, hoặc thuốc đạn). Chế phẩm tiêm được có thể là nhũ tương loại dầu trong nước (oil/water, O/W), nước trong dầu (W/O), dầu trong nước trong dầu (O/W/O), hoặc nước trong dầu trong nước (W/O/W), hoặc loại tương tự.

Dược phẩm có thể thu được bằng cách trộn lượng hữu hiệu của hợp chất của sáng chế với các chất phụ gia dùng trong dược phẩm thích hợp đối với dạng liều dùng, như tá dược, chất kết dính, chất làm rắn, và chất làm trơn, nếu cần. Hơn nữa, dược phẩm có thể được bào chế thành dược phẩm để sử dụng cho trẻ em, người già, bệnh nhân mắc bệnh nặng, hoặc phẫu thuật, bằng cách thay đổi một cách thích hợp lượng hữu hiệu của hợp chất của sáng chế, dạng liều dùng, và/hoặc các chất phụ gia dùng trong dược phẩm. Chẳng hạn, dược phẩm để sử dụng cho trẻ em có thể được sử dụng cho trẻ sơ sinh (dưới 4 tuần sau khi sinh), trẻ ẵm ngửa (từ 4 tuần sau khi sinh đến dưới 1 năm tuổi), trẻ em trước khi đến trường (từ 1 tuổi đến dưới 7 tuổi), trẻ em (từ 7 tuổi đến dưới 15 tuổi), hoặc bệnh nhân từ 15 tuổi đến 18 tuổi. Chẳng hạn, dược phẩm cho người già có thể được sử dụng cho bệnh nhân 65 tuổi hoặc già hơn.

Mong muốn đặt lượng sử dụng của dược phẩm của sáng chế (chẳng hạn, dược phẩm bao gồm đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B)), sau khi xem xét tuổi và trọng lượng cơ thể của bệnh nhân, loại và mức độ của bệnh, đường sử dụng, và tương tự; tuy nhiên, trong trường hợp sử dụng qua đường miệng, lượng sử dụng thường nằm trong khoảng từ 0,05 đến 200mg/kg/ngày và tốt hơn là trong khoảng từ 0,1 đến 100mg/kg/ngày. Trong trường hợp sử dụng ngoài đường tiêu

hóa, lượng sử dụng có thể thay đổi nhiều phụ thuộc vào đường sử dụng; tuy nhiên, lượng sử dụng thường nằm trong khoảng từ 0,005 đến 200mg/kg/ngày và tốt hơn là trong khoảng từ 0,01 đến 100mg/kg/ngày. Lượng này có thể được sử dụng một lần một ngày hoặc vài lần một ngày.

Hợp chất của sáng chế có thể được sử dụng phối hợp với, chẳng hạn, một chất trị liệu khác đối với các bệnh nhiễm coronavirut mới (COVID-19) (chất trị liệu bao gồm thuốc đã được chấp thuận và thuốc đang được phát triển hoặc sẽ được phát triển trong tương lai) (sau đây, được gọi là thuốc đồng hành), cho mục đích tăng cường tác dụng của hợp chất, giảm lượng sử dụng của hợp chất, hoặc mục đích tương tự. Ở thời điểm này, việc xác định thời gian sử dụng hợp chất của sáng chế và thuốc đồng hành không bị giới hạn, và chúng có thể được sử dụng đồng thời cho mục tiêu sử dụng hoặc có thể được sử dụng với sự khác biệt về thời gian. Hơn nữa, hợp chất của sáng chế và thuốc đồng hành có thể được sử dụng dưới dạng hai hoặc nhiều loại chế phẩm, mỗi chế phẩm bao gồm các hoạt chất, hoặc có thể được sử dụng dưới dạng một chế phẩm duy nhất bao gồm các hoạt chất này.

Lượng sử dụng của thuốc đồng hành có thể được chọn thích hợp dựa trên liều lượng được sử dụng trong lâm sàng. Hơn nữa, tỷ lệ pha trộn của hợp chất của sáng chế và thuốc đồng hành có thể được chọn thích hợp theo đích sử dụng, đường sử dụng, bệnh đích, các triệu chứng, sự phối hợp, và tương tự. Chẳng hạn, khi đích sử dụng là con người, thì có thể sử dụng thuốc đồng hành với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 phần trọng lượng so với 1 phần trọng lượng của hợp chất của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn nhờ các ví dụ, các ví dụ tham chiếu, và các ví dụ thử nghiệm; tuy nhiên, sáng chế không được dự định bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Hơn nữa, các chữ viết tắt được sử dụng trong bản mô tả này có các ý nghĩa sau đây.

Boc: tert-butoxycarbonyl

DBU: 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-7-undecen

DMA: N,N-dimethylacetamid

DMF: N,N-dimethylformamid

DMSO: dimethyl sulfoxid

DTT: dithiothreitol

EDC: 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid

EDT: 1,2-ethanedithiol

EDTA: axit etylenđiamintetraaxetic

FBS: huyết thanh bào thai bò

HOBT: 1-hydroxybenzotriazol

LHMDS: lithi bis(trimetylsilyl)amid

MEM: Môi trường cơ bản tối thiểu Eagle (Eagle's Minimum Essential Medium)

NMP: N-methylpyrrolidon

TFA: axit trifloaxetic

THF: tetrahydrofuran

mM: mmol/l

μ M: μ mol/l

nM: nmol/l

Phương pháp xác định hợp chất

Phân tích NMR thu được trong mỗi ví dụ được thực hiện ở 400MHz, và phép đo này được thực hiện bằng cách sử dụng DMSO- d_6 và $CDCl_3$. Hơn nữa, khi dữ liệu NMR được thể hiện, có các trường hợp trong đó tất cả các đỉnh đo được không được mô tả.

Thuật ngữ RT (retention time) trong bản mô tả này cho biết thời gian lưu trong phân tích sắc ký lỏng/phổ khối (liquid chromatography mass spectrography), và thời gian lưu được đo trong các điều kiện sau đây.

Các điều kiện đo 1

Cột: ACQUITY UPLC (nhãn hiệu đã đăng ký) BEH C18 (1,7 μ m đường kính trong 2,1 $\times$ 50 mm) (Waters)

Tốc độ dòng: 0,8ml/phút

Bước sóng phát hiện UV: 254nm

Pha động: [A] là dung dịch nước chứa 0,1% axit formic, và [B] là dung dịch axetonitril chứa 0,1% axit formic.

Gradient: Gradient tuyến tính từ 5% đến 100% dung môi [B] được thực hiện trong 3,5 phút, và sau đó 100% dung môi [B] được duy trì trong 0,5 phút.

Ngẫu nhiên là, trong bản mô tả này, phần mô tả MS (m/z) cho biết giá trị được quan sát bằng cách phân tích khối lượng.

Đo mẫu nhiễu xạ bột tia X

Nhiễu xạ bột tia X đo các hạt tinh thể thu được trong mỗi ví dụ được thực hiện theo phương pháp đo nhiễu xạ bột tia X được mô tả trong phần Các phương pháp thử nghiệm chung của Dược điển Nhật Bản (Japanese Pharmacopoeia). Các điều kiện đo được thể hiện dưới đây.

Thiết bị

SmartLab được sản xuất by Rigaku Corporation

Phương pháp hoạt động

Phương pháp đo: phương pháp phản xạ

Bước sóng được sử dụng: bức xạ CuK α

Dòng qua ống: 200mA

Điện áp ống: 45kV

Đĩa đựng mẫu: nhôm

Góc tới của các tia X: 2,5°

Độ rộng lấy mẫu: 0,02°

Bộ phát hiện: HyPix-3000 (phương thức phát hiện hai chiều)

Phương pháp đo và phân tích để phân tích cấu trúc đơn tinh thể

Các điều kiện đo và phương pháp phân tích để phân tích cấu trúc đơn tinh thể sẽ được mô tả dưới đây.

Thiết bị

XtaLAB P200 MM007 được sản xuất by Rigaku Corporation

Các điều kiện đo

Nhiệt độ đo: 25°C

Bước sóng được sử dụng: bức xạ CuK α ($\lambda = 1,5418\text{\AA}$)

Phần mềm: CrysAlisPro 1.171.39.46e (Rigaku Oxford Diffraction, 2018)

Xử lý dữ liệu

Phần mềm: CrysAlisPro 1.171.39.46e (Rigaku Oxford Diffraction, 2018)

Dữ liệu được xử lý Lorentz và hiệu chỉnh phân cực và hiệu chỉnh hấp thụ.

Phân tích cấu trúc tinh thể

Việc xác định pha được thực hiện bằng cách sử dụng chương trình phương pháp trực tiếp, ShelXT (Sheldrick, G.M., 2015), và liên quan đến việc sàng lọc, phương pháp bình phương tối thiểu toàn ma trận được thực hiện bằng cách sử dụng ShelXL (Sheldrick, G.M., 2015). Các yếu tố nhiệt độ của các nguyên tử không phải là hydro đều được sàng lọc bằng tính dị hướng. Các nguyên tử hydro được đưa vào theo cách tính toán bằng cách sử dụng các tham số mặc định của ShelXL và được coi là các nguyên tử bị hạn chế. Tất cả các nguyên tử hydro được sàng lọc bằng các tham số đẳng hướng.

Để xây dựng Fig.2 và Fig.4, PLUTON (Spek, 1991)/ORTEP (Johnson, 1976) được sử dụng.

Đo Raman phổ

Việc đo phổ Raman của các hạt tinh thể thu được trong mỗi ví dụ được thực hiện.

Các điều kiện đo được thể hiện dưới đây.

Thiết bị đo: RAMANTouch Vis2-NIR-SNU (được sản xuất by Nanophoton Corporation)

Phương pháp đo: phổ kế Raman laze hiển vi

Bước sóng laze: 671nm

Lưới nhiễu xạ: 600 khe/mm

Bộ phát hiện: bộ phát hiện CCD

Vật kính: $50 \times$ (NA 0,80)

Số lượng tích lũy: 3 đến 10 lần

Thời gian phơi sáng: 1 đến 10 giây

Đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC)

Khoảng 3mg mẫu thu được trong mỗi ví dụ được cân trong đĩa nhôm uốn mép, và việc đo DSC được thực hiện. Các điều kiện đo được thể hiện dưới đây. Ngẫu nhiên là, trong phép đo này được thực hiện bằng phép đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC), sai số có thể xuất hiện trong khoảng $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

Thiết bị: TA Instrument Q1000/TA Instrument

Khoảng nhiệt độ đo: 0°C đến 295°C

Tốc độ tăng nhiệt độ: 10°C/phút

Môi trường khí: N_2 50ml/phút

Đo dữ liệu TG/DTA

Khoảng 3mg hạt tinh thể thu được trong mỗi ví dụ được cân và cho vào trong đĩa nhôm, và phép đo được thực hiện trong hệ thống hở. Các điều kiện đo là như sau.

Các điều kiện đo 1

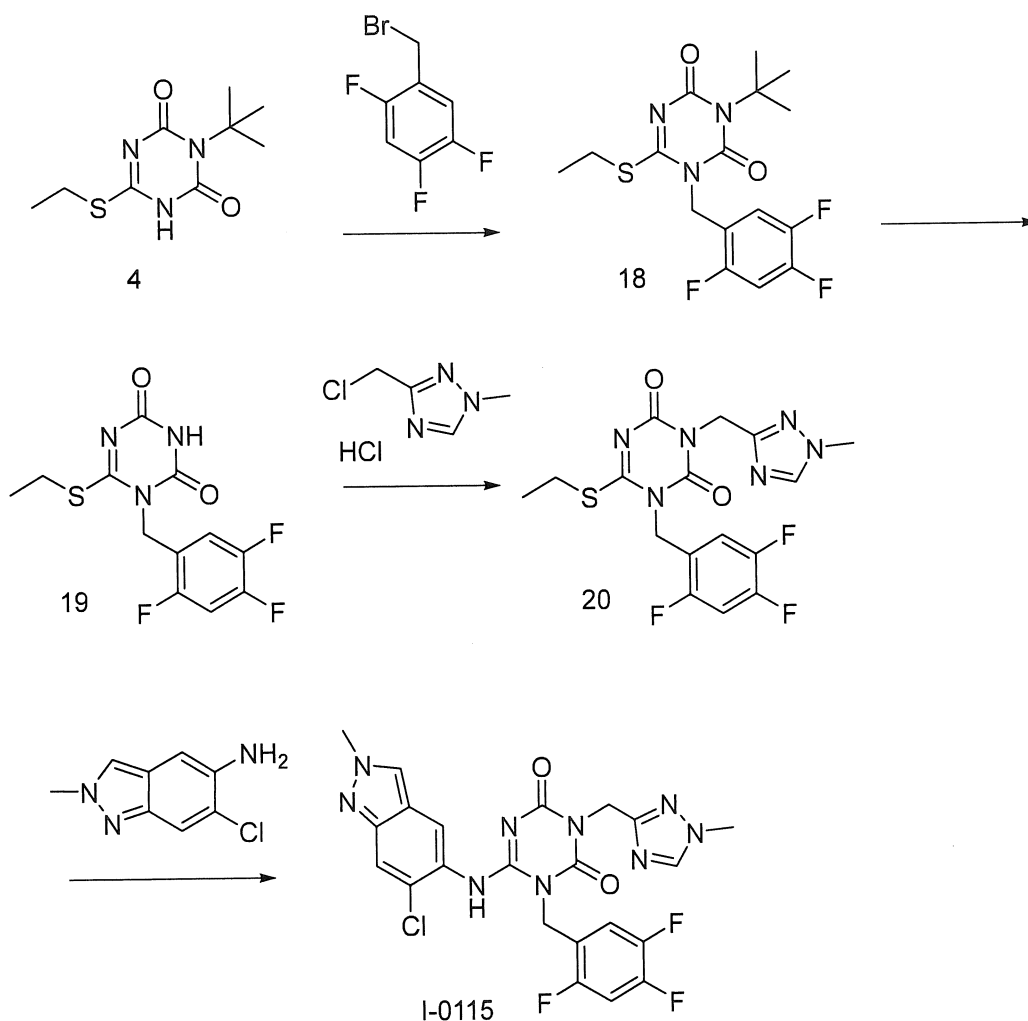
Thiết bị: Hitachi High-Technologies TG/DTA STA7200RV

Khoảng nhiệt độ đo: Nhiệt độ trong phòng đến 400°C

Tốc độ tăng nhiệt độ: 10°C/phút

Ví dụ 1

Tổng hợp hợp chất (I-0115)



Bước 1: Tổng hợp hợp chất 18

Hợp chất 4 (926mg, 4,04mmol), axetonitril (7,41ml), kali cacbonat (726mg, 5,25mmol) và 2,4,5-triflobenzyl bromua (1000mg, 4,44mmol) được trộn. Dung dịch phản ứng được khuấy ở 80°C trong 40 phút, để nguội, và sau đó làm loãng bằng ethyl axetat. Sau khi lọc chất không tan, phần lọc được cô để tạo ra sản phẩm thô của hợp chất 18 (1,51g, 4,04mmol, hiệu suất: định lượng)

LC/MS (ESI): $m/z=374$, $RT=2,54$ phút, điều kiện đo LC/MS 1

Bước 2: Tổng hợp hợp chất 19

Hợp chất 18 (1,51g, 4,04mmol) và TFA (3,02ml) được trộn. Dung dịch phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ và để yên qua đêm. TFA được chưng cất dưới áp suất giảm, và sau đó toluen được bổ sung vào phần bã và được tạo hỗn hợp đồng sôi. Isopropyl ete được bổ sung vào phần bã, huyền phù hóa, và thu hồi bằng cách lọc để tạo ra hợp chất 19 (1,22g, 3,84mmol, hiệu suất: 95%)

LC/MS (ESI): $m/z=318$, $RT=1,68$ phút, điều kiện đo LC/MS 1

Bước 3: tổng hợp hợp chất 20

Hợp chất 19 (200mg, 0,63mmol), DMF (1,8ml), kali cacbonat (261mg, 1,89mmol) và 3-(clometyl)-1-metyl-1H-1,2,4-triazol hydroclorua (159mg, 0,946mmol) được trộn. Dung dịch phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở 60°C, và dung dịch amoni clorua bão hòa trong nước được bổ sung. Lớp nước được chiết bằng ethyl axetat và lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat, lọc và cô. Phần bã được huyền phù hóa trong dung môi hỗn hợp gồm isopropyl ete, hexan, ethyl axetat và cloroform và thu hồi bằng cách lọc. Phần bã, DMF (1,8ml), kali cacbonat (261mg, 1,89mmol) và 3-(clometyl)-1-metyl-1H-1,2,4-triazol hydroclorua (159mg, 0,946mmol) được trộn. Dung dịch phản ứng được khuấy ở 60°C

trong 6 giờ, và dung dịch amoni clorua bão hòa trong nước được bổ sung. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat và lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat, lọc và cô. Phần bã được huyền phù hóa trong dung môi hỗn hợp gồm isopropyl ete, hexan, etyl axetat và cloroform và thu hồi bằng cách lọc để tạo ra hợp chất 20 (116mg, 0,281mmol, hiệu suất 45%)

LC/MS (ESI): $m/z=413$, $RT=1,84$ phút, điều kiện đo LC/MS: 1

Bước 4: Tổng hợp hợp chất (I-0115)

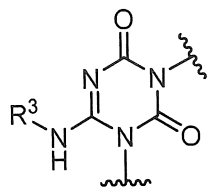
Hợp chất 20 (115mg, 0,279mmol), THF (2,30ml) và 6-clo-2-metyl-2H-indazol-5-amin (60,8mg, 0,335mmol) được trộn. Hỗn hợp phản ứng này được bổ sung nhỏ giọt LHMDs (558 μ M, 0,558mmol) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở 0°C trong 2,5 giờ và khuấy ở nhiệt độ phòng trong 40 phút, sau đó dung dịch amoni clorua bão hòa được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng này. Hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng cloroform và lớp hữu cơ được cô. Phần bã được tinh chế bằng phép sắc ký cột trên silicagel (cloroform/metanol) để tạo ra hợp chất (I-0115) (61,8mg, 0,116mmol, hiệu suất 42%).

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)\delta$: 7,96 (s, 1H), 7,82 (d, $J = 2,5\text{Hz}$, 2H), 7,48 (br s, 1H), 7,45-7,37 (m, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,97-6,88 (m, 1H), 5,35 (s, 2H), 5,17 (s, 2H), 4,21 (s, 3H), 3,89 (s, 3H).

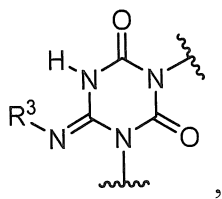
LC/MS(ESI): $m/z=532$, $RT=1,70$ phút, Phương pháp đo LC/MS 1

Các hợp chất sau đây được tổng hợp theo phương pháp tổng hợp chung nêu trên và phương pháp được mô tả trong các ví dụ. Cấu trúc và các đặc tính vật lý (dữ liệu LC/MS) được thể hiện trong bảng dưới đây.

Hợp chất được mô tả bởi cấu trúc amino:



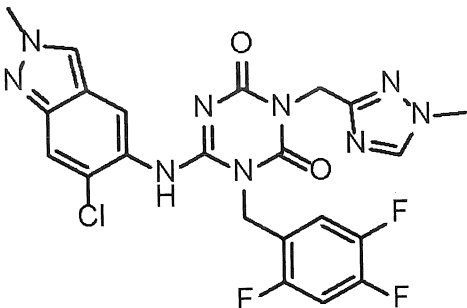
trong bảng, trong đó Y là N và X là NH trong công thức (I), có thể có cấu trúc imino:



và hợp chất được biểu diễn bởi cấu trúc imino cũng có thể có cấu trúc amino.

Nghĩa là, ngay cả với cùng một hợp chất, có các trường hợp trong đó nó có cấu trúc imino hoặc cấu trúc amino, phụ thuộc vào các điều kiện kết tinh và tương tự. Ngay cả khi tạo ra muối hoặc phức chất của nó, muối hoặc phức chất này có thể có cấu trúc amino hoặc cấu trúc imino. Ngay cả với cùng một phân tử đối của muối hoặc phức chất, chúng có thể có cấu trúc amino hoặc cấu trúc imino phụ thuộc vào các điều kiện kết tinh và tương tự. Nó cũng có thể là hỗn hợp của hợp chất có cấu trúc imino, muối của nó hoặc phức chất của nó, và hợp chất có cấu trúc amino, muối hoặc phức chất của nó.

Bảng 1

Hợp chất số	Cấu trúc	Điều kiện đo LC/MS	Thời gian lưu (phút)	m/z	Cấu hình
I-0115		1	1,70	532	

Ví dụ 2

Hợp chất (I-0115, 1170mg) được bổ sung axit fumaric (278mg, 1,1 đương lượng) và etyl axetat (5,85ml). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 45 phút. Chất rắn tạo ra được thu hồi bằng cách lọc và làm khô để tạo ra đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) (1369,4mg, 94,6%).

Các kết quả của phân tích cấu trúc đơn tinh thể của đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện dưới đây.

R1 ($I > 2,00s$ (I)) bằng 0,0470, và từ Fourier chênh lệch cuối cùng xác nhận được rằng không có sự thiếu hụt mật độ điện tử hoặc vị trí bất thường của điện tử.

Dữ liệu tinh thể học được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2

Nhóm không gian	P-1
a (Å)	8,4374(2)
b (Å)	11,6780(3)
c (Å)	15,1612(4)
α (°)	83,827(2)
β (°)	78,868(2)
γ (°)	77,147(2)
Thể tích (Å ³)	1425,77(6)
Z	2
Khối lượng riêng (giá trị tính được) (g/cm ³)	1,509
Nhiệt độ đo (K)	298

Trong đó thể tích cho biết thể tích mạng tinh thể, Z cho biết số lượng đơn vị hóa học trên mỗi ô đơn vị.

Ngoài ra, các tọa độ nguyên tử của các nguyên tử không phải được thể hiện trong các bảng từ 3 đến 4. Ở đây, U(eq) có nghĩa là hệ số nhiệt độ đẳng hướng tương đương.

Bảng 3

Nguyên tử	x	y	z	U(eq)
Cl36	8115,3(9)	8341,6(8)	5010,7(5)	79,9(3)
F32	8958,5(19)	7981,3(17)	307,5(9)	78,5(5)
O35	7267(2)	5961,4(16)	1399,9(10)	56,3(5)
O34	5322(3)	4254,8(16)	4098,2(11)	63,3(5)
O38	3536(2)	9367,5(19)	8936,3(12)	64,2(5)
N12	6506(2)	7056,8(18)	2611,0(12)	44,2(5)
F33	13870(2)	7642(2)	1402,1(13)	100,3(7)
N16	5475(2)	6174,4(18)	3988,1(12)	48,2(5)
N14	6120(3)	5115,3(18)	2713,0(12)	47,3(5)
N9	2815(3)	8924(2)	7397,8(13)	55,4(6)
N10	5772(3)	8146(2)	3856,1(13)	55,1(6)
N1	1276(3)	8864(2)	7324,6(14)	60,2(6)
F31	12197(3)	7751(3)	3084,6(13)	124,9(9)
N23	3644(3)	4434(2)	1818,7(15)	64,5(6)
N20	3122(3)	4249(2)	1061,4(15)	64,9(6)
C11	6673(3)	6043(2)	2193,8(15)	44,7(6)
C9	5879(3)	7178(2)	3527,6(15)	44,2(6)
C10	5619(3)	5119(2)	3639,3(15)	48,4(6)
N22	5784(3)	3621(2)	814,1(15)	67,8(7)
O39	6151(3)	8893(3)	8285,8(15)	109,2(10)
C12	6985(3)	8068(2)	2049,4(15)	47,2(6)
C20	5248(3)	4044(2)	1633,9(16)	50,7(6)
C7	5022(3)	8298(2)	4770,9(15)	50,8(6)
C4	3693(3)	8762(2)	6554,3(16)	49,4(6)
C13	8823(3)	7976(2)	1872,6(16)	48,8(6)
C5	5385(3)	8700(2)	6267,8(17)	56,4(7)
C19	6380(3)	4009(2)	2279,5(17)	54,5(7)
C14	9741(3)	7934(2)	1013,2(16)	54,7(7)
C3	2685(3)	8593(2)	5965,2(17)	54,4(7)
C6	6015(3)	8469(2)	5392,0(16)	54,3(7)
C23	5121(4)	9287(3)	8898,3(18)	62,1(7)
O41	1842(3)	4874(3)	3529,1(18)	119,8(10)
C8	3370(3)	8376(2)	5054,8(17)	57,4(7)
C24	5542(3)	9730(3)	9679,7(17)	61,9(7)
C18	9684(4)	7917(3)	2570,7(18)	67,1(8)
C15	11431(3)	7827(3)	831,3(19)	67,8(8)
C16	12217(3)	7760(3)	1541(2)	67,9(8)
C2	1134(4)	8667(3)	6497,1(18)	67,4(8)

Bảng 4

Nguyên tử	x	y	z	U(eq)
C17	11360(4)	7806(3)	2405(2)	75,0(9)
C21	4400(4)	3767(3)	485,7(19)	70,6(8)
O43	-464(4)	4618(4)	3203,2(19)	154,2(15)
C1	9(4)	8943(3)	8139(2)	81,7(10)
C26	307(4)	4766(4)	3745(2)	93,6(12)
C25	-384(4)	4909(4)	4700(2)	92,1(11)
C22	1397(4)	4562(4)	963(3)	102,7(13)

Tiếp theo, các tọa độ nguyên tử của nguyên tử hydro được thể hiện trong bảng 5.

Ở đây, U(iso) có nghĩa là hệ số nhiệt độ đẳng hướng. Ngoài ra, số lượng của các nguyên tử hydro trong bảng 5 được quy định liên quan đến số lượng của các nguyên tử không phải là hydro được liên kết.

Bảng 5

Nguyên tử	x	y	z	U(iso)
H38	3370,9	9206,88	8452,86	96
H16	5092,25	6215,55	4554,71	58
H12A	6452,59	8783,45	2347,49	57
H12B	6603,63	8119,01	1479,7	57
H5	6053,99	8811,71	6658,45	68
H19A	6229,72	3381,57	2741,61	65
H19B	7509,94	3824,57	1962,58	65
H41	2202,36	4700,41	3007,94	180
H8	2702,01	8287,11	4656,27	69
H24	6652,83	9619,42	9719,44	74
H18	9115,24	7953,15	3160,4	81
H15	12010,7	7800,84	243,55	81
H2	176,44	8593,16	6310,6	81
H21	4344,44	3553,57	-79,51	85
H1A	260,69	8258,79	8539,89	122
H1B	-1049,48	8985,26	7978,29	122
H1C	-14,15	9635,57	8433,78	122
H25	-1486,76	4863,66	4886,06	110
H22A	719,4	4375,73	1521,91	154
H22B	1225,91	4127,33	499	154
H22C	1105,77	5390,24	801,98	154

Hơn nữa, chiều dài liên nguyên tử (đơn vị: angstrom) được thể hiện trong bảng

Bảng 6

Nguyên tử	Nguyên tử	Chiều dài/Å	Nguyên tử	Nguyên tử	Chiều dài/Å
Cl36	C6	1,733(3)	N22	C20	1,345(3)
F32	C14	1,352(3)	N22	C21	1,326(4)
O35	C11	1,216(3)	O39	C23	1,196(3)
O34	C10	1,208(3)	C12	C13	1,503(3)
O38	C23	1,310(3)	C20	C19	1,485(4)
N12	C11	1,369(3)	C7	C6	1,431(4)
N12	C9	1,398(3)	C7	C8	1,362(4)
N12	C12	1,465(3)	C4	C5	1,398(4)
F33	C16	1,347(3)	C4	C3	1,402(3)
N16	C9	1,373(3)	C13	C14	1,381(3)
N16	C10	1,365(3)	C13	C18	1,383(4)
N14	C11	1,382(3)	C5	C6	1,364(3)
N14	C10	1,386(3)	C14	C15	1,379(4)
N14	C19	1,466(3)	C3	C8	1,416(3)
N9	N1	1,342(3)	C3	C2	1,388(4)
N9	C4	1,358(3)	C23	C24	1,475(4)
N10	C9	1,262(3)	O41	C26	1,304(4)
N10	C7	1,421(3)	C24	C24 ¹	1,307(5)
N1	C2	1,332(3)	C18	C17	1,367(4)
N1	C1	1,466(3)	C15	C16	1,355(4)
F31	C17	1,345(3)	C16	C17	1,370(4)
N23	N20	1,360(3)	O43	C26	1,189(4)
N23	C20	1,313(3)	C26	C25	1,466(5)
N20	C21	1,309(4)	C25	C25 ²	1,273(7)
N20	C22	1,453(4)			

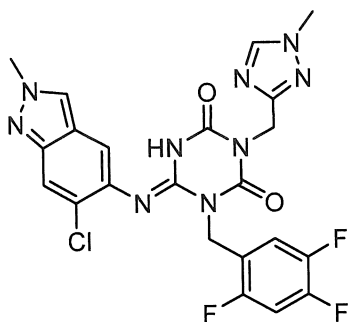
Trong đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B), một phân tử của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trong đơn vị không đối xứng. Cấu trúc của đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp

chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) trong đơn vị không đối xứng được thể hiện trên Fig.2.

Số lượng của các nguyên tử không phải là hydro trong các bảng 3 đến 4 và 6 tương ứng với các số lượng được thể hiện trên Fig.2, tương ứng.

Như được thể hiện trong bảng 6, chiều dài liên kết N10-C9 bằng khoảng 1,26Å, và chiều dài liên kết N16-C9 bằng khoảng 1,37Å.

Vì chiều dài liên kết N10-C9 (khoảng 1,26Å) ngắn hơn chiều dài liên kết N16-C9 (khoảng 1,37Å), đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được xác định là cấu trúc imino:



Ngoài ra, kết quả của nhiễu xạ bột tia X của đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh được quan sát ở góc nhiễu xạ (2θ): $7,8 \pm 0,2^\circ$, $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,1 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $13,8 \pm 0,2^\circ$, $14,7 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $22,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$ và $24,6 \pm 0,2^\circ$.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh của góc nhiễu xạ (2θ): $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$ và $24,6 \pm 0,2^\circ$ có đặc điểm đặc biệt như là đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Kết quả của phổ Raman của đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig 3.

Các đỉnh phổ Raman chính được quan sát ở $637,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $676,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $688,8\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $748,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $758,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1029,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1114,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1281,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1332,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1374,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1456,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1515,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1636,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1665,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1715,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1739,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $2951,2\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $3068,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$ và $3126,2\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có các đỉnh phổ Raman ở $676,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $748,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1029,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1374,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1515,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1665,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1715,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$ và $1739,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $676,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $748,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1029,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1374,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1515,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1665,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1715,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có đỉnh phổ Raman ở $1739,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có một hoặc nhiều đỉnh phổ Raman được chọn từ nhóm gồm có: đỉnh phổ Raman ở $676,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $748,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $1029,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $1374,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $1515,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $1665,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, đỉnh phổ Raman ở $1715,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$ và đỉnh phổ Raman ở $1739,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Kết quả phân tích DSC của đồng tinh thể axit fumaric dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig 4. Nhiệt độ khởi đầu (đỉnh thu nhiệt) bằng khoảng 272°C .

Ví dụ 3

200mg hợp chất (I-0115), 395 μl (1,05 đương lượng) dung dịch kali hydroxit trong nước 1mol/l và 2ml axetonitril được bổ sung, và dung môi được làm bay hơi đến khô. 1ml etyl axetat được bổ sung vào đó, và hỗn hợp này được khuấy ở 60°C trong 10 phút và sau đó khuấy qua đêm ở 25°C . Các chất rắn được thu hồi bằng cách lọc và làm khô để thu được dạng tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Về dạng tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B), cấu trúc phân tử (dạng amino/dạng imino) không được xác định.

Các kết quả của nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.5.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh được quan sát ở các góc nhiễu xạ (2θ): $7,7\pm0,2^\circ$, $8,1\pm0,2^\circ$, $12,6\pm0,2^\circ$, $16,7\pm0,2^\circ$, $18,5\pm0,2^\circ$, $19,4\pm0,2^\circ$, $20,7\pm0,2^\circ$, $22,0\pm0,2^\circ$, $23,7\pm0,2^\circ$, và $25,3\pm0,2^\circ$.

Về các đỉnh nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $8,1\pm0,2^\circ$, $16,7\pm0,2^\circ$, $20,7\pm0,2^\circ$, $22,0\pm0,2^\circ$, $25,3\pm0,2^\circ$ có đặc điểm đặc biệt như là dạng tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Các kết quả của Phổ Raman của tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.6.

Các đỉnh phổ Raman chính được quan sát ở $638,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $676,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $724,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $749,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $876,9\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1008,7\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1105,9\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1294,8\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1363,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1409,2\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1457,0\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1506,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1526,5\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1577,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1624,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1688,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $2952,0\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $2980,5\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $3073,7\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, và $3121,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án, dạng tinh thể của muối kali dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có các đỉnh phổ Raman ở $749,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1008,7\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1363,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1506,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1577,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, và $1624,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$.

Ví dụ 4

190mg hợp chất (I-0115) được bổ sung 46,4mg (1,1 đương lượng) axit succinic và 3,8ml axetonitril, và hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ.

Các chất rắn được thu hồi bằng cách lọc và làm khô để thu được đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Về đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B), cấu trúc phân tử (dạng amino/dạng imino) không được xác định.

Các kết quả của nhiễu xạ bột tia X của đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.7.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh được quan sát ở các góc nhiễu xạ (2θ): $9,5\pm0,2^\circ$, $10,9\pm0,2^\circ$, $11,3\pm0,2^\circ$, $13,4\pm0,2^\circ$, $14,4\pm0,2^\circ$, $18,7\pm0,2^\circ$, $19,4\pm0,2^\circ$, $22,6\pm0,2^\circ$, $23,4\pm0,2^\circ$, và $24,4\pm0,2^\circ$.

Về các đỉnh nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $10,9\pm0,2^\circ$, $18,7\pm0,2^\circ$, $22,6\pm0,2^\circ$, $23,4\pm0,2^\circ$, và $24,4\pm0,2^\circ$ có đặc điểm đặc biệt như là đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Các kết quả của Phổ Raman của đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.8.

Các đỉnh phổ Raman chính được quan sát ở $631,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $676,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $748,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $812,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1025,2\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1114,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1229,2\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1331,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1374,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1515,7\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1636,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1665,0\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1712,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1737,5\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $2953,3\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $2982,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $3069,5\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, và $3127,5\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án lấy làm ví dụ, đồng tinh thể axit succinic dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có các đỉnh phổ Raman ở $676,4\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $748,1\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1025,2\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1374,6\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, $1515,7\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$, và $1665,0\text{cm}^{-1}\pm2\text{cm}^{-1}$.

Ví dụ 5

750 μ l etyl axetat được bổ sung vào 150mg hợp chất (I-0115), và hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở 60°C. Các chất rắn được thu hồi bằng cách lọc và làm khô để thu được dạng tinh thể của anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Về dạng tinh thể của anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B), cấu trúc phân tử (dạng amino/dạng imino) không được xác định.

Các kết quả của nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể của anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.9.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh được quan sát ở các góc nhiễu xạ (2θ): 6,6 $\pm$ 0,2°, 9,6 $\pm$ 0,2°, 12,2 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 16,2 $\pm$ 0,2°, 17,5 $\pm$ 0,2°, 19,8 $\pm$ 0,2°, 23,3 $\pm$ 0,2°, 24,5 $\pm$ 0,2°, và 26,1 $\pm$ 0,2°.

Về các đỉnh nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): 6,6 $\pm$ 0,2°, 9,6 $\pm$ 0,2°, 13,2 $\pm$ 0,2°, 17,5 $\pm$ 0,2°, và 19,8 $\pm$ 0,2° có đặc điểm đặc biệt như là anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Các kết quả của Phổ Raman của tinh thể của anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.10.

Các đỉnh phổ Raman chính được quan sát ở 630,4 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 672,8 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 744,6 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 805,4 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 997,8 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1020,7 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1297,9 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1335,2 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1362,0 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1461,0 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1505,4 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1527,5 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1629,1 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1645,9 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 1755,7 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 2943,3 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 2982,1 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 3060,5 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, 3104,7 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, và 3123,2 $\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án lấy làm ví dụ, tinh thể của anhydrit dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có các đỉnh phổ Raman ở $630,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $744,6\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $997,8\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1362,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1461,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1505,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, và $1755,7\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Ví dụ 6

95mg hợp chất (I-0115) được bổ sung 187 μl (1,05 đương lượng) dung dịch natri hydroxit trong nước 1mol/l và 1ml axetonitril, và dung môi được làm bay hơi đến khô. 100 μl axetonitril được bổ sung vào 5mg chất rắn thu được, và hỗn hợp này được khuấy qua đêm ở 25°C. Các chất rắn được thu hồi bằng cách lọc và làm khô để thu được tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B). Về tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B), cấu trúc phân tử (dạng amino/dạng imino) không được xác định.

Các kết quả của nhiễu xạ bột tia X của tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.11.

Trong mẫu nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh được quan sát ở các góc nhiễu xạ (2θ): $6,6\pm 0,2^\circ$, $8,1\pm 0,2^\circ$, $10,9\pm 0,2^\circ$, $11,6\pm 0,2^\circ$, $13,2\pm 0,2^\circ$, $16,0\pm 0,2^\circ$, $22,1\pm 0,2^\circ$, $23,4\pm 0,2^\circ$, $26,6\pm 0,2^\circ$, và $28,9\pm 0,2^\circ$.

Về các đỉnh nhiễu xạ bột tia X, các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $8,1\pm 0,2^\circ$, $10,9\pm 0,2^\circ$, $13,2\pm 0,2^\circ$, $23,4\pm 0,2^\circ$, và $26,6\pm 0,2^\circ$ có đặc điểm đặc biệt như là tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B).

Các kết quả của Phổ Raman của tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.12.

Các đỉnh phổ Raman chính được quan sát ở $638,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $675,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $746,8\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1013,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1106,9\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1126,2\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1299,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1367,2\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1407,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1457,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1504,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1526,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1581,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1629,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1711,8\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $2959,1\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $3062,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, và $3125,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Theo một phương án lấy làm ví dụ, tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) có các đỉnh phổ Raman ở $746,8\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1013,0\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1367,2\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1504,4\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, $1526,5\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$, và $1581,3\text{cm}^{-1}\pm 2\text{cm}^{-1}$.

Các kết quả của phép phân tích nhiệt vi sai và phân tích nhiệt trọng (TG/DTA) đồng thời của tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) được thể hiện trên Fig.13. Kết quả là, mức hao hụt trọng lượng 8,1% đi kèm với đỉnh thu nhiệt được xác nhận ở nhiệt độ khoảng 72°C đến khoảng 105°C .

Từ các kết quả đo đã nêu ở trên, mong đợi rằng tinh thể của muối natri dạng I của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B) là tinh thể bao gồm nước với lượng từ 2,5 đến 3 đương lượng nước.

Các ví dụ thử nghiệm sinh học đối với các hợp chất của sáng chế sẽ được mô tả dưới đây.

Mong muốn rằng các hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I) theo sáng chế là các hợp chất có hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirus và ức chế các proteaza 3CL coronavirus.

Cụ thể là, theo phương pháp đánh giá được mô tả dưới đây, IC₅₀ tốt hơn là nhỏ hơn hoặc bằng 50µm, tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 1µm, và thậm chí tốt hơn nữa là nhỏ hơn hoặc bằng 100nM.

Ví dụ thử nghiệm 1

Hoạt tính ức chế tác động gây bệnh tế bào (cytopathic effect, CPE) ở các tế bào VeroE6 biểu hiện TMPRSS2 người (các tế bào VeroE6/TMPRSS2)

Quy trình hoạt động

- Làm loãng và phân phát mẫu cần được thử nghiệm

Mẫu cần được thử nghiệm được làm loãng trước đến nồng độ thích hợp bằng DMSO, và các loạt mẫu pha loãng hàng hoạt từ 2 đến 5 lần được chuẩn bị và sau đó được phân phát vào trong các đĩa 384 lỗ.

- Làm loãng và phân phát các tế bào và SARS-CoV-2

Các tế bào VeroE6/TMPRSS2 (JCRB1819, 5×10^3 tế bào/lỗ) và SARS-CoV-2 (100-300 TCID₅₀/lỗ) được trộn trong môi trường (MEM, 2% FBS, penicillin-streptomycin), hỗn hợp này được phân phát vào trong các lỗ trong đó mẫu cần được thử nghiệm đã được đưa vào, và sau đó các tế bào được nuôi cấy trong 3 ngày trong tủ áp CO₂.

- Phân phát CellTiter-Glo (nhãn hiệu đã đăng ký) 2.0 và đo các tín hiệu phát quang

Đĩa đã được nuôi cấy trong 3 ngày được đưa trở lại nhiệt độ trong phòng, sau đó CellTiter-Glo (nhãn hiệu đã đăng ký) 2.0 được phân phát vào trong mỗi lỗ, và đĩa được

trộn bằng cách sử dụng máy trộn đĩa. Đĩa được để yên trong một khoảng thời gian nhất định, và sau đó các tín hiệu phát quang (Lum) được đo bằng máy đọc đĩa.

Tính mỗi giá trị mục đo lường

- Tính nồng độ ức chế làm chết 50% tế bào bị nhiễm SARS-CoV-2 (EC₅₀)

Khi x là giá trị logarit của nồng độ hợp chất và y là % hiệu lực, đường cong ức chế được tính gần đúng bằng phương trình hồi quy Logistic sau đây, và giá trị của x khi y = 50 (%) được nhập vào được tính là EC₅₀.

$$y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X_{50}/x)^{\text{Hill}}\}$$

$$\% \text{ hiệu lực} = \{(\text{Mẫu} - \text{đối chứng virus}) / (\text{đối chứng tế bào} - \text{đối chứng virus})\} * 100\%$$

đối chứng tế bào: giá trị trung bình của Lum các lỗ đối chứng tế bào

đối chứng virus: giá trị trung bình của Lum các lỗ đối chứng virus

min: giá trị giới hạn dưới của trục y, max: giá trị giới hạn trên của trục y, X₅₀:

tọa độ x của điểm uốn, Hill: độ nghiêng của đường cong ở điểm giữa min và max

Về cơ bản, các hợp chất của sáng chế đã được thử nghiệm như được mô tả ở trên.

Các kết quả được thể hiện trong phần sau đây.

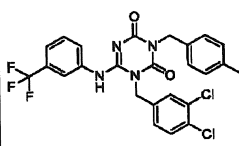
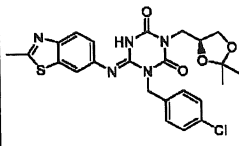
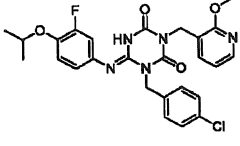
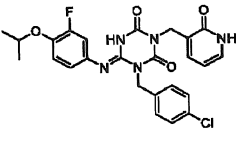
Hợp chất I-0115: 0,328μm

Ví dụ tham khảo 1

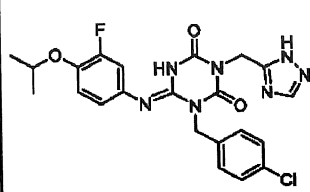
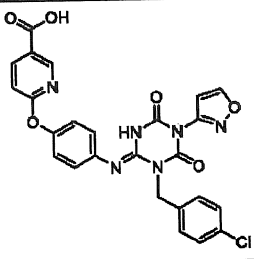
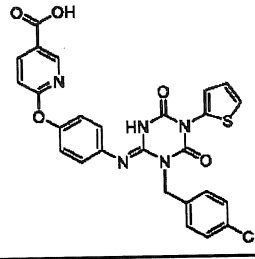
Về cơ bản, các hợp chất I-0679, I-0683, I-0685 và I-1603 của WO2012/020749A (tài liệu sáng chế 1), và các hợp chất I-575 và I-580 của WO2013/089212A (tài liệu sáng chế 2), và hợp chất I-066 của WO2010/099266A (tài liệu sáng chế 3) được thử nghiệm

như được mô tả trong ví dụ thử nghiệm 1. Các kết quả được thể hiện trong các bảng dưới đây.

Bảng 7

	Tài liệu sáng chế 3 Hợp chất I-066	Tài liệu sáng chế 1 Hợp chất I-1603	Tài liệu sáng chế 1 Hợp chất I-0683	Tài liệu sáng chế 1 Hợp chất I-0685
Cấu trúc				
EC50 [μM]	>50,0	>50,0	>50,0	>50,0

Bảng 8

	Tài liệu sáng chế 1 Hợp chất I-0679	Tài liệu sáng chế 2 Hợp chất I-580	Tài liệu sáng chế 2 Hợp chất I-575
Cấu trúc			
EC50 [μM]	>50,0	>50,0	>50,0

Các hợp chất I-0679, I-0683, I-0685 và I-1603 của WO2012/020749A (tài liệu sáng chế 1), và các hợp chất I-575 và I-580 của WO2013/089212A (tài liệu sáng chế 2), và hợp chất I-066 của WO2010/099266A (tài liệu sáng chế 3) không thể hiện hoạt tính ức chế sao chép coronavirus ở các nồng độ lên đến 50μm.

Ví dụ thử nghiệm 2

Thử nghiệm hoạt tính ức chế chống lại các proteaza 3CL của SARS-CoV-2

Nguyên liệu

- proteaza 3CL SARS-CoV-2 tái tổ hợp hiện có trên thị trường

- peptit cơ chất hiện có trên thị trường

Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu-Gln-Ser-Gly-Phe-Arg-Lys-Met-Glu(Edans)-NH₂ (SEQ ID NO: 1)

- chuẩn nội peptit

Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C₆,15N)-Gln (SEQ ID NO: 2)

Dabcyl-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C₆,15N)-Gln có thể được tổng hợp dựa vào các tài liệu (Atherton, E.; Sheppard, R. C., “In Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach”, IRL Press at Oxford University Press, 1989.; Bioorg. Med. Chem., Vol. 5, No. 9, 1997, pp. 1883-1891; và tương tự). Một ví dụ sẽ được thể hiện dưới đây.

H-Lys-Thr-Ser-Ala-Val-Leu(13C₆,15N)-Glu(nhựa)-O α OtBu (mạch bên Lys được bảo vệ bằng Boc, mạch bên Thr được bảo vệ bằng nhóm tert-butyl, mạch bên Ser được bảo vệ bằng nhóm tert-butyl, OH ở đầu tận cùng C của Glu được bảo vệ bằng nhóm tert-butyl, và axit carboxylic của mạch bên Glu được ngưng tụ vào trong nhựa) được tổng hợp bằng phương pháp tổng hợp ra rắn Fmoc bằng cách sử dụng nhựa amit Rink. Về việc cải biến nhóm Dabcyl đầu tận cùng N, axit 4-dimethylaminoazobenzen-4'-carboxylic (Dabcyl-OH) được ngưng tụ trên nhựa bằng cách sử dụng EDC/HOBT. Việc khử nhóm bảo vệ cuối cùng và tách ra khỏi nhựa được thực hiện bằng cách xử lý bằng TFA/EDT = 95: 5. Sau đó, việc tinh chế được thực hiện bằng HPLC pha đảo.

- RapidFire Cartridge C4 loại A

Quy trình hoạt động

- Điều chế dung dịch đệm thử nghiệm

Trong thử nghiệm này, dung dịch đệm thử nghiệm được tạo nên bởi Tris-HCl 20mM, natri clorua 100mM, EDTA 1mM, DTT 10mM, và BSA 0,01% được sử dụng. Đối với hợp chất có IC_{50} nhỏ hơn hoặc bằng 10nM, dung dịch đệm thử nghiệm được tạo nên bởi Tris-HCl 20mM, EDTA 1mM, DTT 10mM, và BSA 0,01% được sử dụng.

- Làm loãng và phân phát mẫu cần được thử nghiệm

Mẫu cần được thử nghiệm được làm loãng trước đến nồng độ thích hợp bằng DMSO, và các loạt mẫu pha loãng hàng hoạt từ 2 đến 5 lần được chuẩn bị và sau đó được phân phát vào trong các đĩa 384 lỗ..

- Bổ sung enzym và cơ chất, và phản ứng enzym

Để chuẩn bị đĩa hợp chất, 8µm cơ chất, và dung dịch enzym 6 hoặc 0,6nM được bổ sung, và việc ủ được thực hiện trong từ 3 đến 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, dung dịch làm dừng phản ứng (0,067µm chuẩn nội, axit formic 0,1%, và axetonitril 10% hoặc 25%) được bổ sung để dừng phản ứng enzym.

- Đo sản phẩm phản ứng

Đĩa trong đó phản ứng đã được hoàn thành được đo bằng cách sử dụng hệ RapidFire System 360 và thiết bị phân tích khối lượng (Agilent, 6550 iFunnel Q-TOF), hoặc hệ RapidFire System 365 và thiết bị phân tích khối lượng (Agilent, 6495C Triple Quadrupole). Dung dịch A (isopropanol 75%, axetonitril 15%, amoni format 5mM) và dung dịch B (axit trifloaxetic 0,01%, axit formic 0,09%) được sử dụng làm pha động khi đo.

Sản phẩm phản ứng được phát hiện bởi thiết bị phân tích khối lượng được tính bằng cách sử dụng chương trình RapidFire Integrator hoặc chương trình tương đương

có khả năng phân tích và được lấy là giá trị diện tích sản phẩm. Hơn nữa, chuẩn nội mà đã được phát hiện ở cùng một thời điểm cũng được tính và gọi là giá trị diện tích chuẩn nội.

Tính mỗi giá trị mục đo

· Tính P/IS

Các giá trị diện tích thu được trong các mục nêu trên được tính bằng công thức sau đây, và P/IS được tính.

$P/IS = \text{giá trị diện tích sản phẩm} / \text{giá trị diện tích chuẩn nội}$

· Tính nồng độ ức chế 50% proteaza 3CL SARS-CoV-2 (IC₅₀)

Khi x là giá trị logarit của nồng độ hợp chất và y là % ức chế, đường cong ức chế được tính gần đúng bằng phương trình hồi quy Logistic sau đây, và giá trị của x khi y = 50 (%) được nhập vào được tính là IC₅₀.

$$y = \min + (\max - \min) / \{1 + (X_{50}/x)^{\text{Hill}}\}$$

$$\% \text{ ức chế} = \{(\text{Mẫu} - \text{đối chứng virus}) / (\text{đối chứng tế bào} - \text{đối chứng virus})\} * 100\%$$

đối chứng (-): giá trị trung bình của P/IS của các lỗ điều kiện được ức chế bởi enzym

đối chứng (+): giá trị trung bình của P/IS của các lỗ đối chứng DMSO

min: giá trị giới hạn dưới của trục y, max: giá trị giới hạn trên của trục y, X₅₀: tọa độ x của điểm uốn, Hill: độ nghiêng của đường cong ở điểm giữa min và max

Về cơ bản, các hợp chất của sáng chế đã được thử nghiệm như được mô tả ở trên.

Các kết quả được thể hiện trong phần sau đây.

Hợp chất I-0115: 0,010 μ m

Các ví dụ điều chế được thể hiện dưới đây chỉ nhằm mục đích minh họa và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

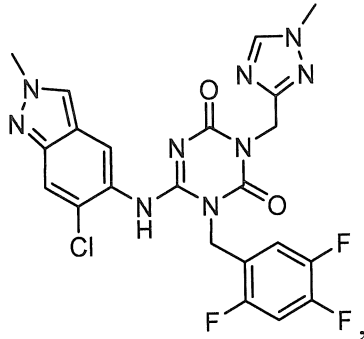
Hợp chất của sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng dược phẩm bằng đường thông thường bất kỳ, đặc biệt là trong ruột, chẳng hạn, qua đường miệng, chẳng hạn, ở dạng viên nén hoặc viên nang; ngoài đường tiêu hóa, chẳng hạn, ở dạng chế phẩm tiêm được hoặc hỗn dịch; và khu trú, chẳng hạn, ở dạng thuốc xức, gel, thuốc mỡ hoặc kem hoặc dưới dạng dược phẩm dùng qua đường mũi hoặc dạng thuốc đạn. Dược phẩm bao gồm hợp chất của sáng chế ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng cùng với ít nhất một chất mang hoặc chất làm loãng được dùng có thể được sản xuất bằng phương pháp trộn, tạo hạt hoặc bao theo cách thông thường. Chẳng hạn, chế phẩm dùng qua đường miệng có thể là viên nén, chế phẩm hạt, hoặc viên nang, mỗi loại chứa tá dược, chất làm rã, chất kết dính, chất làm trơn, và tương tự, cũng như hoạt chất và tương tự. Hơn nữa, chế phẩm tiêm truyền có thể được điều chế dưới dạng dung dịch hoặc hỗn dịch, có thể được diệt khuẩn, và có thể chứa chất bảo quản, chất làm ổn định, chất đệm, và tương tự.

Khả năng áp dụng công nghiệp

Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính ức chế proteaza 3CL coronavirut, và được cho là hợp chất có thể được sử dụng làm chất trị liệu và/hoặc chất điều trị dự phòng đối với bệnh hoặc tình trạng bệnh đi kèm với các proteaza 3CL coronavirut.

YÊU CẦU BẢO HỘ

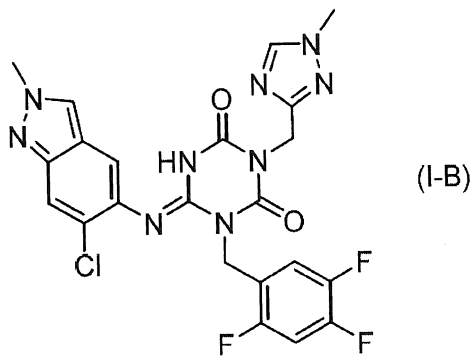
1. Hợp chất được biểu diễn bởi công thức:



hoặc muối được dụng của nó.

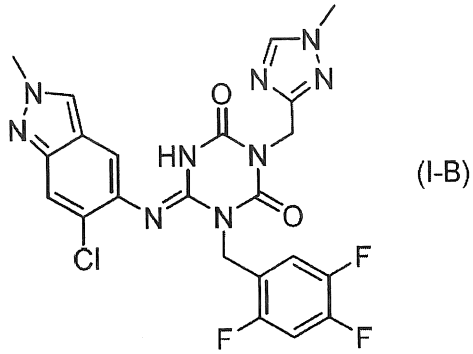
2. Dược phẩm để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh liên quan đến các proteaza 3CL coronavirus chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của nó.

3. Phức chất bao gồm hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



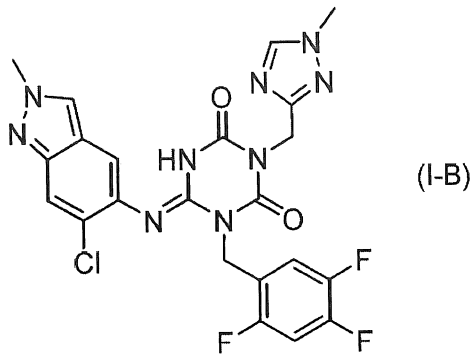
và axit fumaric.

4. Phức chất theo điểm 3, trong đó hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



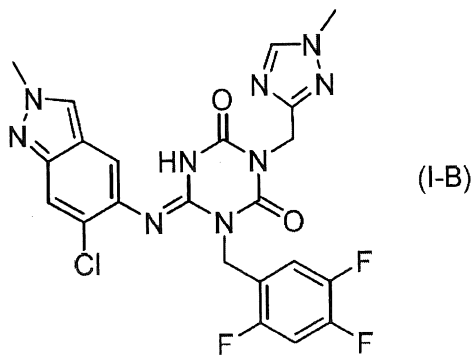
và axit fumaric có mặt theo tỷ lệ mol 1:1.

5. Đồng tinh thể của hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



với axit fumaric.

6. Đồng tinh thể theo điểm 5 trong đó hợp chất được biểu diễn bởi công thức (I-B):



và axit fumaric có mặt theo tỷ lệ mol 1:1.

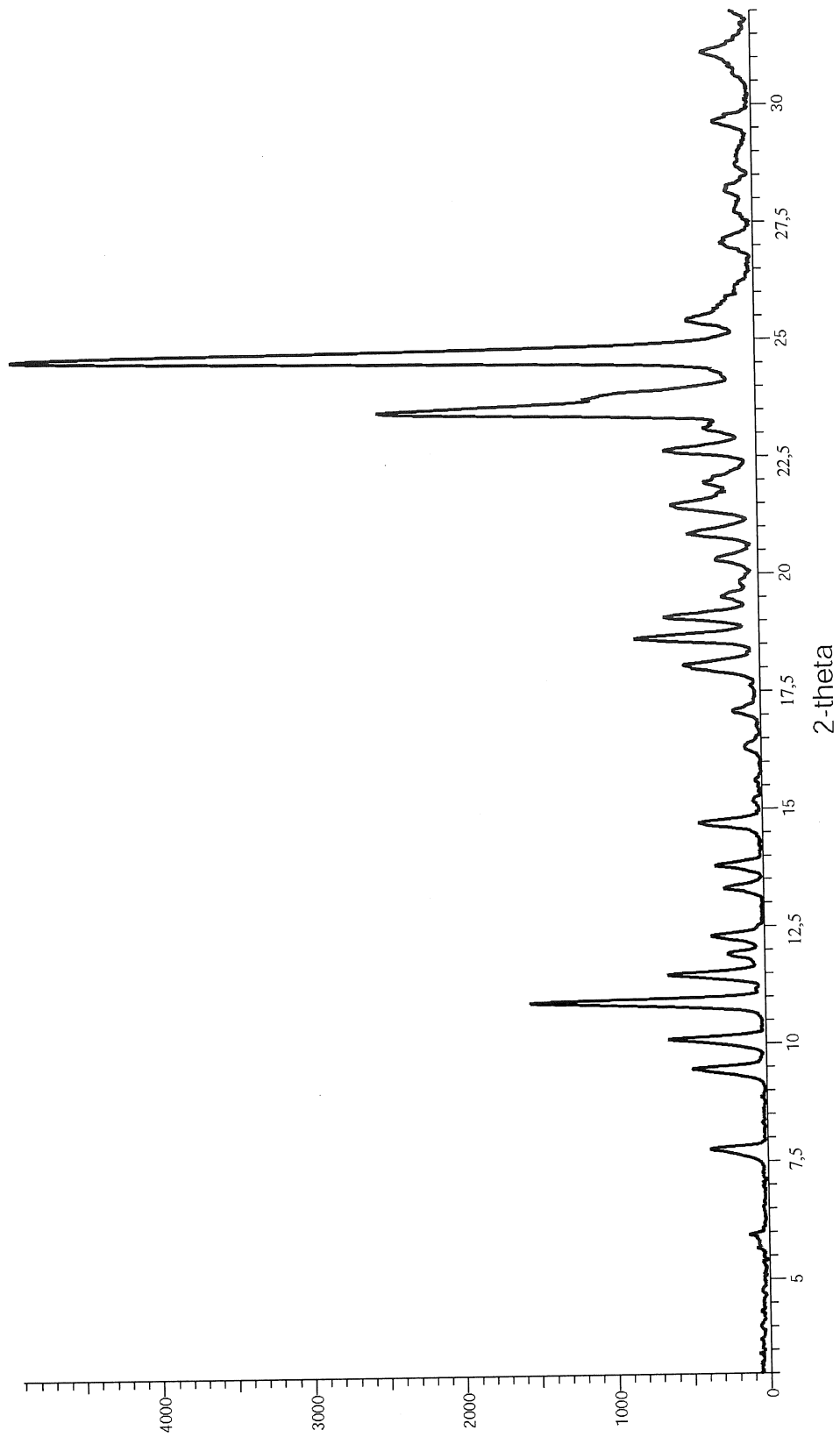
7. Đồng tinh thể theo điểm 6, trong đó đồng tinh thể này là đồng tinh thể axit fumaric dạng I thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$ và $24,6 \pm 0,2^\circ$.

8. Đồng tinh thể theo điểm 6, trong đó đồng tinh thể này là đồng tinh thể axit fumaric dạng I thể hiện mẫu nhiễu xạ bột tia X có các đỉnh ở các góc nhiễu xạ (2θ): $7,8 \pm 0,2^\circ$, $9,5 \pm 0,2^\circ$, $10,1 \pm 0,2^\circ$, $10,9 \pm 0,2^\circ$, $13,8 \pm 0,2^\circ$, $14,7 \pm 0,2^\circ$, $18,6 \pm 0,2^\circ$, $22,6 \pm 0,2^\circ$, $23,5 \pm 0,2^\circ$ và $24,6 \pm 0,2^\circ$.

9. Đồng tinh thể theo điểm 6, trong đó đồng tinh thể này là đồng tinh thể axit fumaric dạng I thể hiện phổ Raman có các đỉnh phổ Raman: $676,3\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $748,0\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1029,3\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1374,4\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1515,5\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1665,7\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$, $1715,7\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$ và $1739,1\text{cm}^{-1} \pm 2\text{cm}^{-1}$.

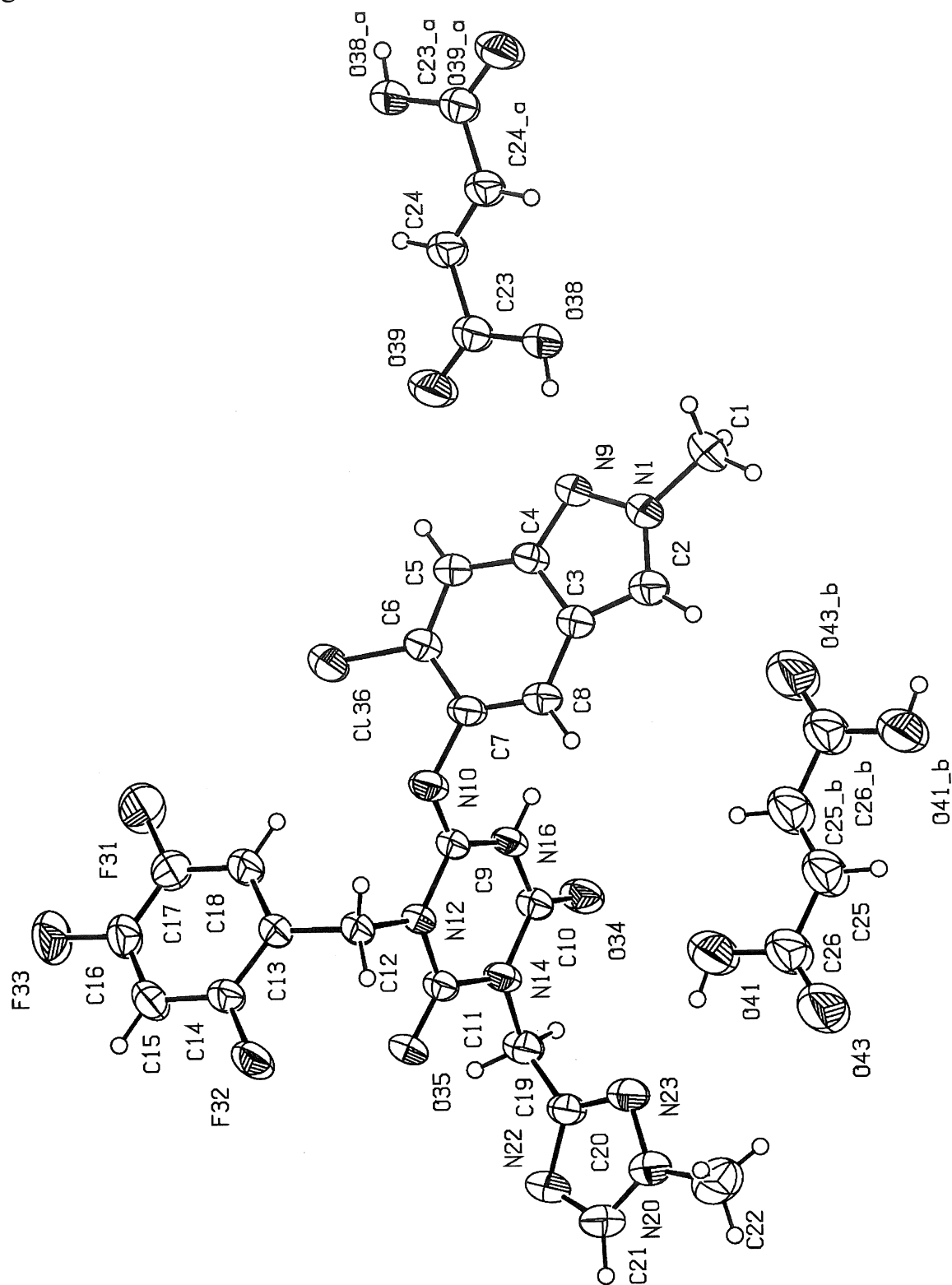
1/13

Fig.1



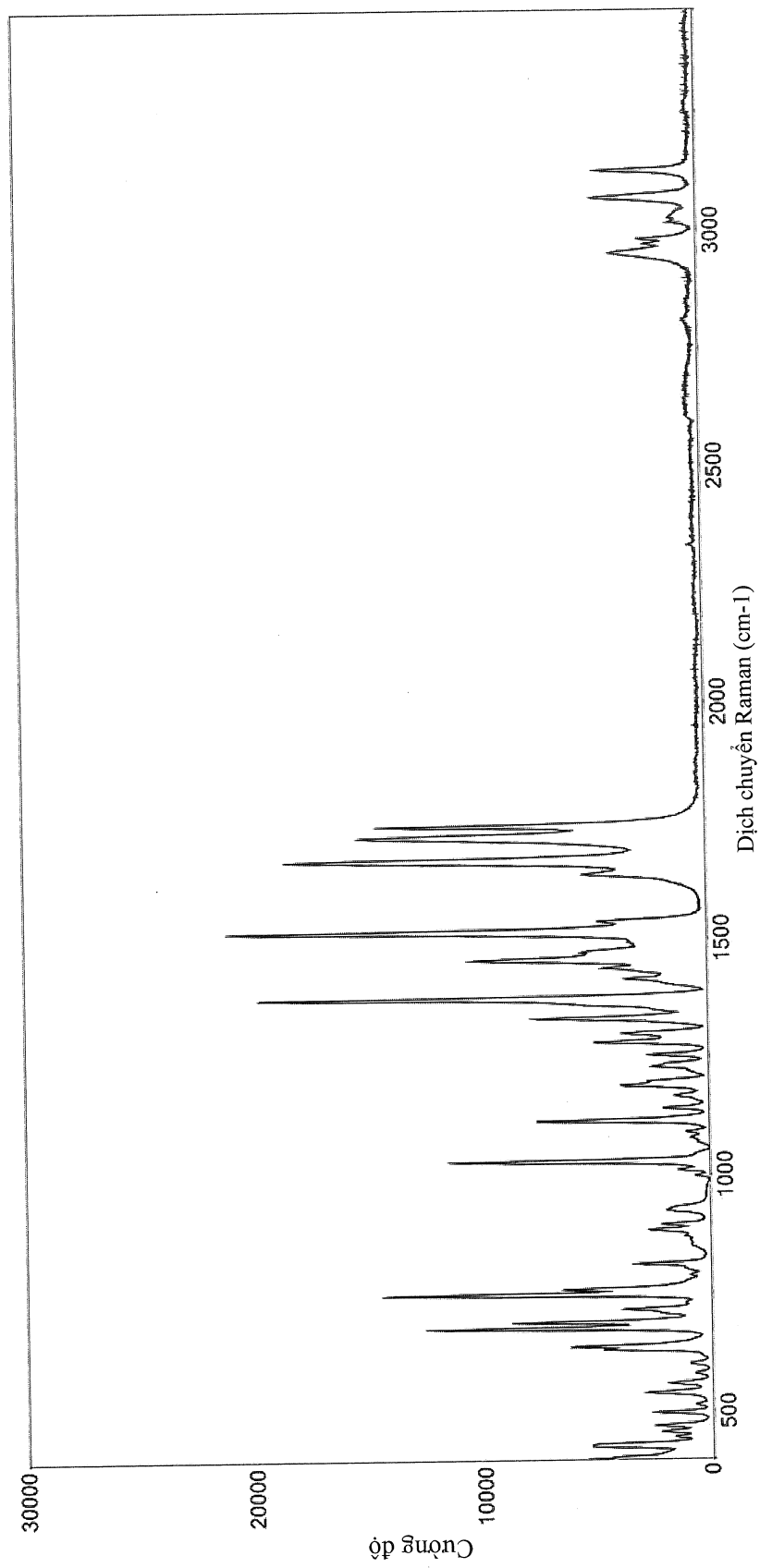
2/13

Fig.2



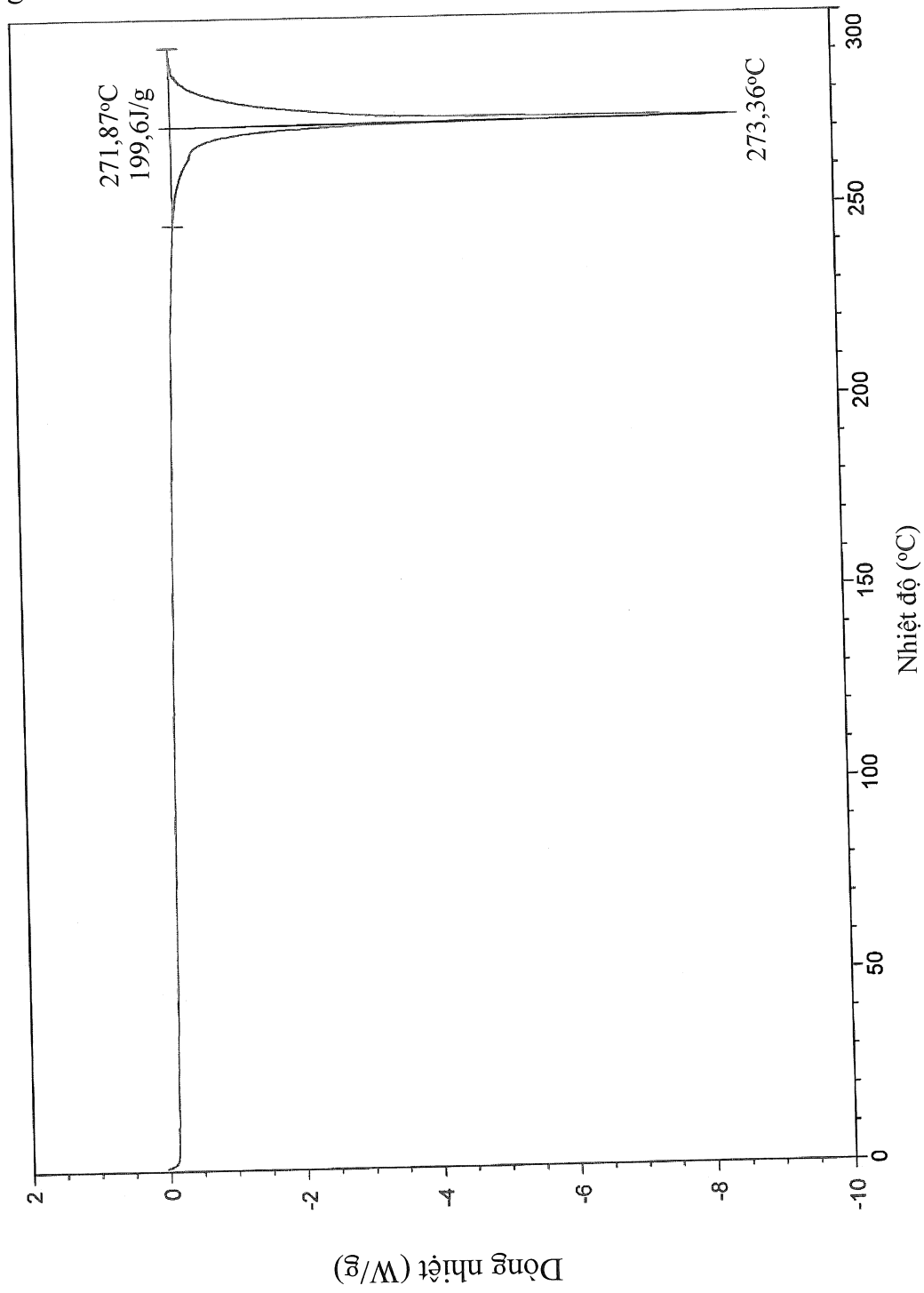
3/13

Fig.3



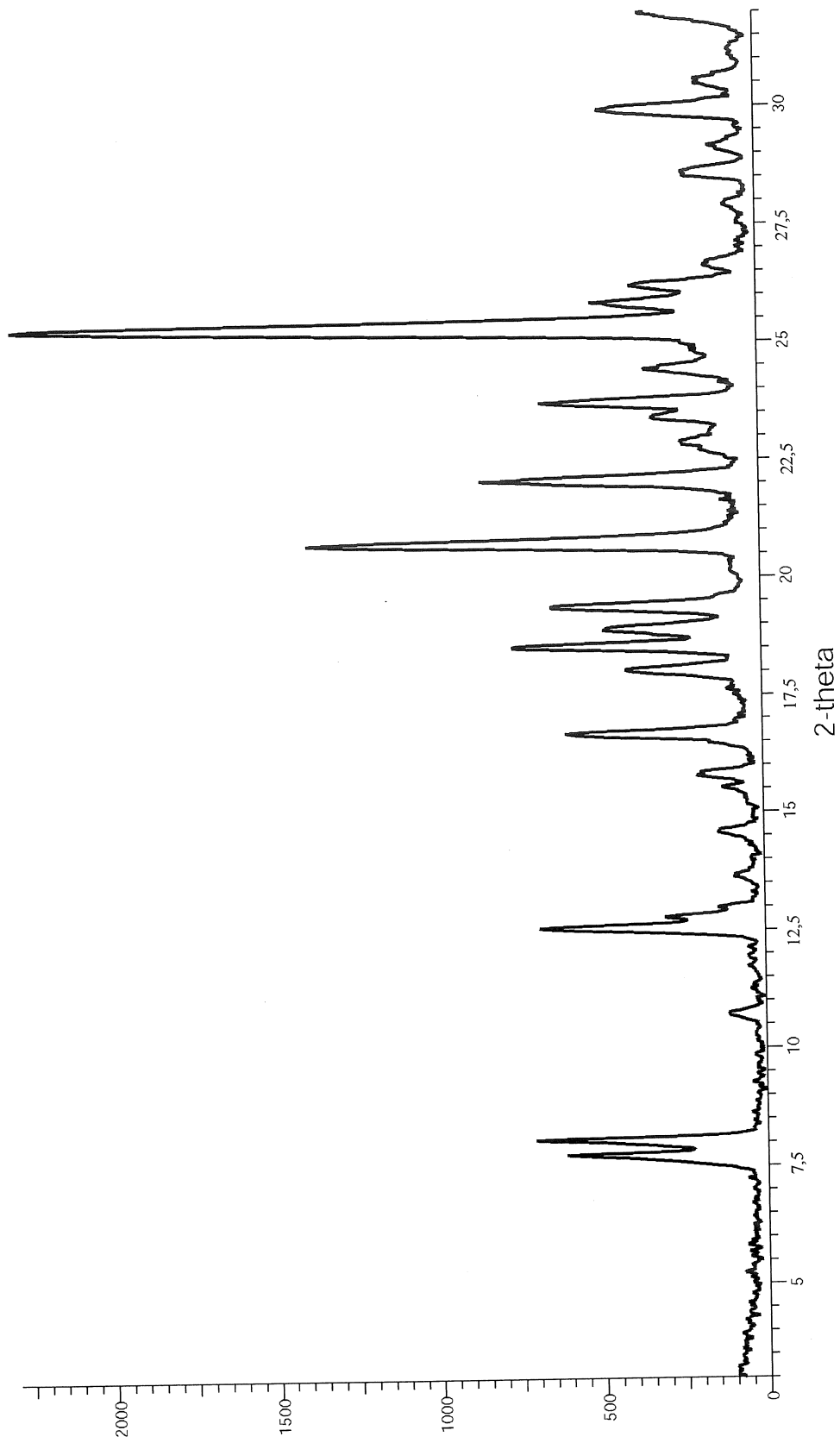
4/13

Fig.4



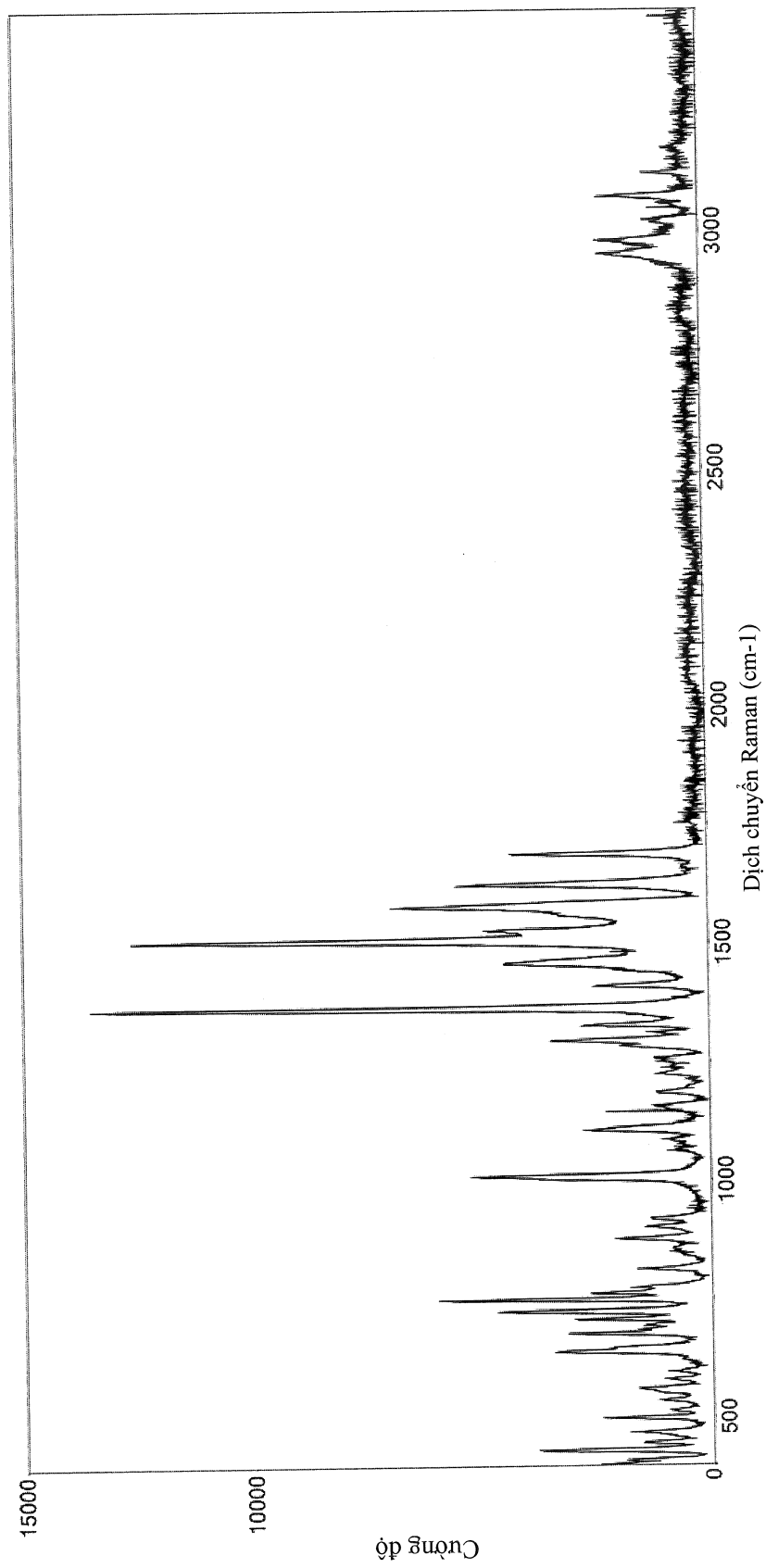
5/13

Fig.5



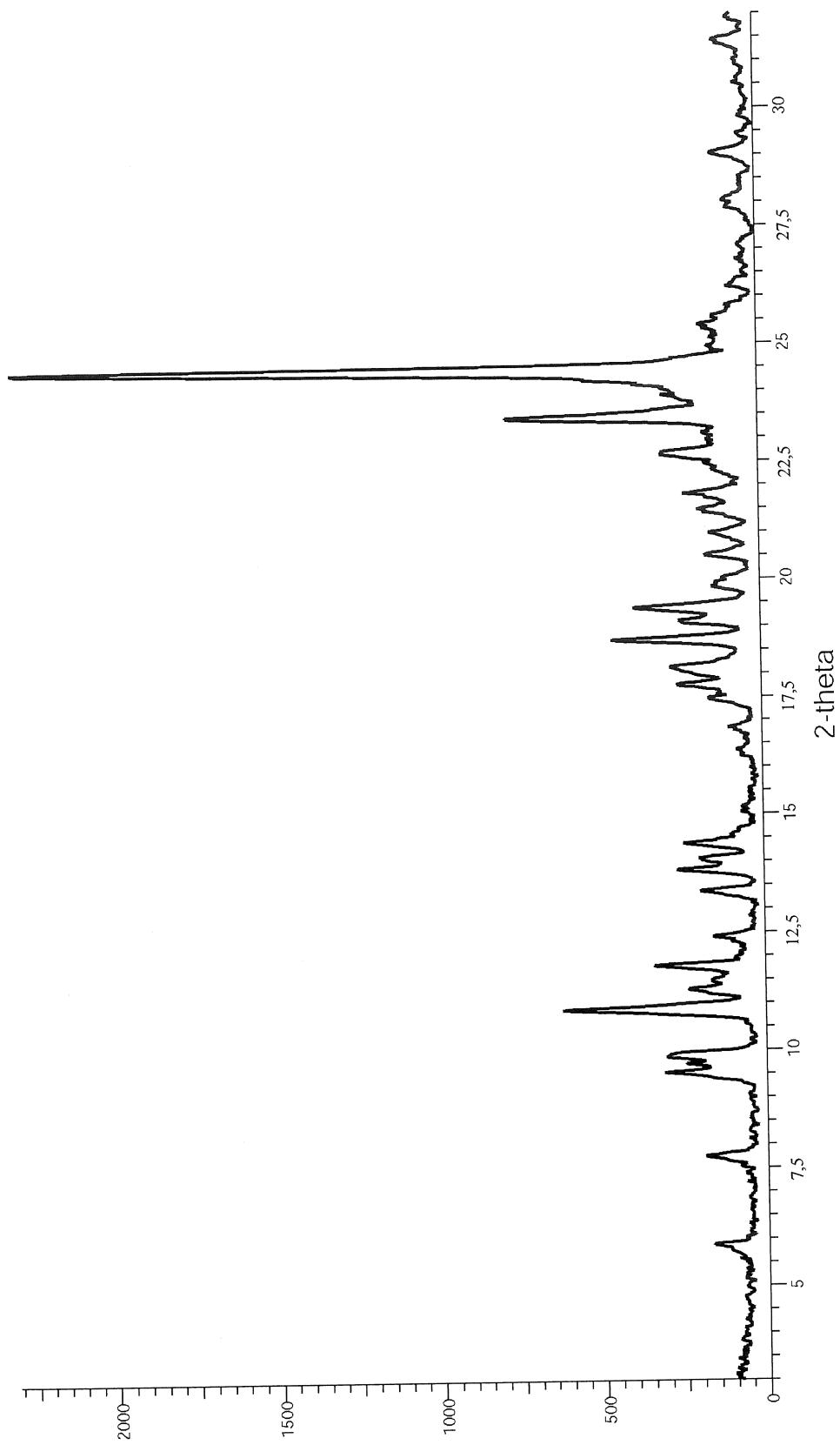
6/13

Fig.6



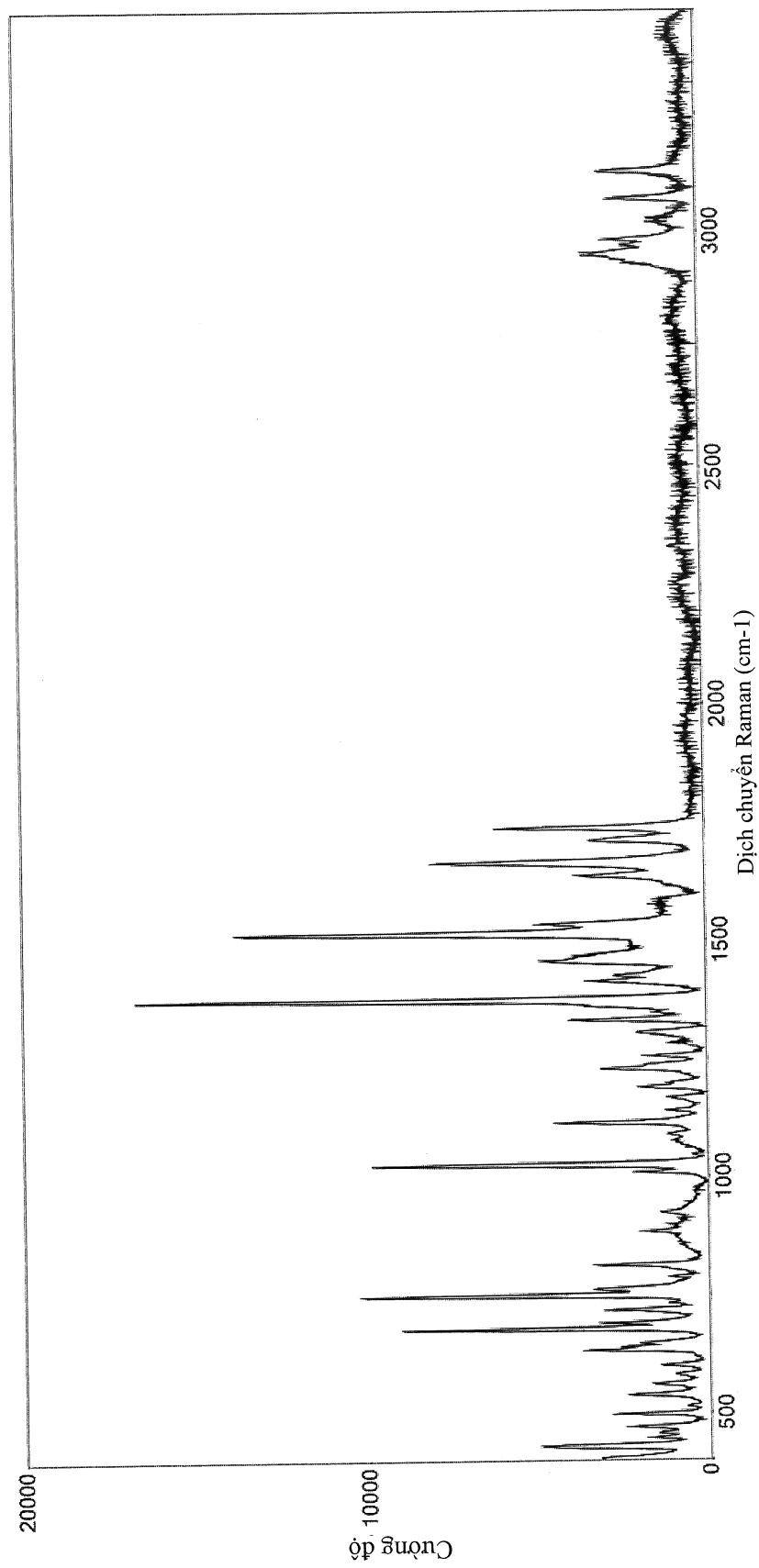
7/13

Fig.7



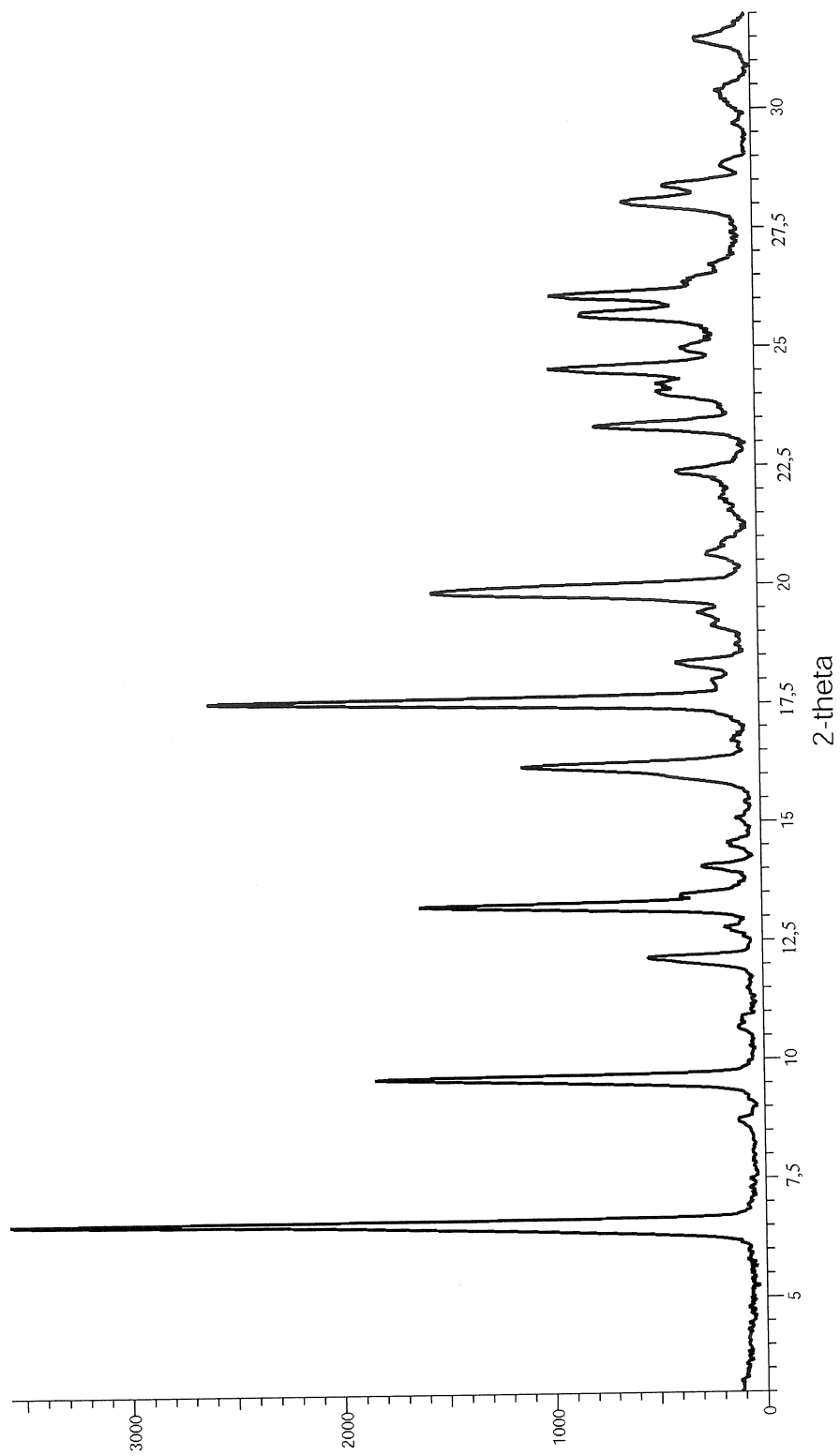
8/13

Fig.8



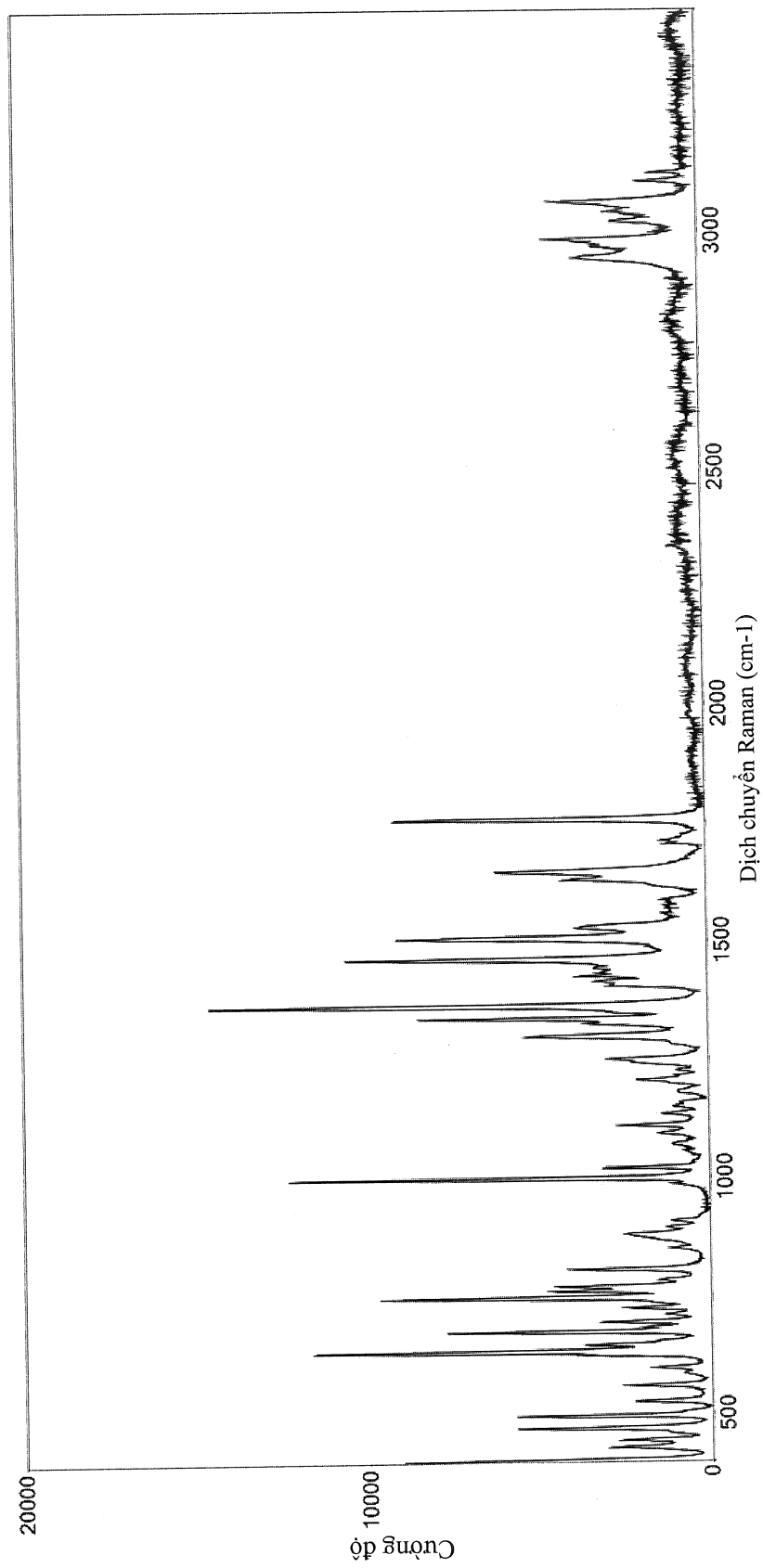
9/13

Fig.9



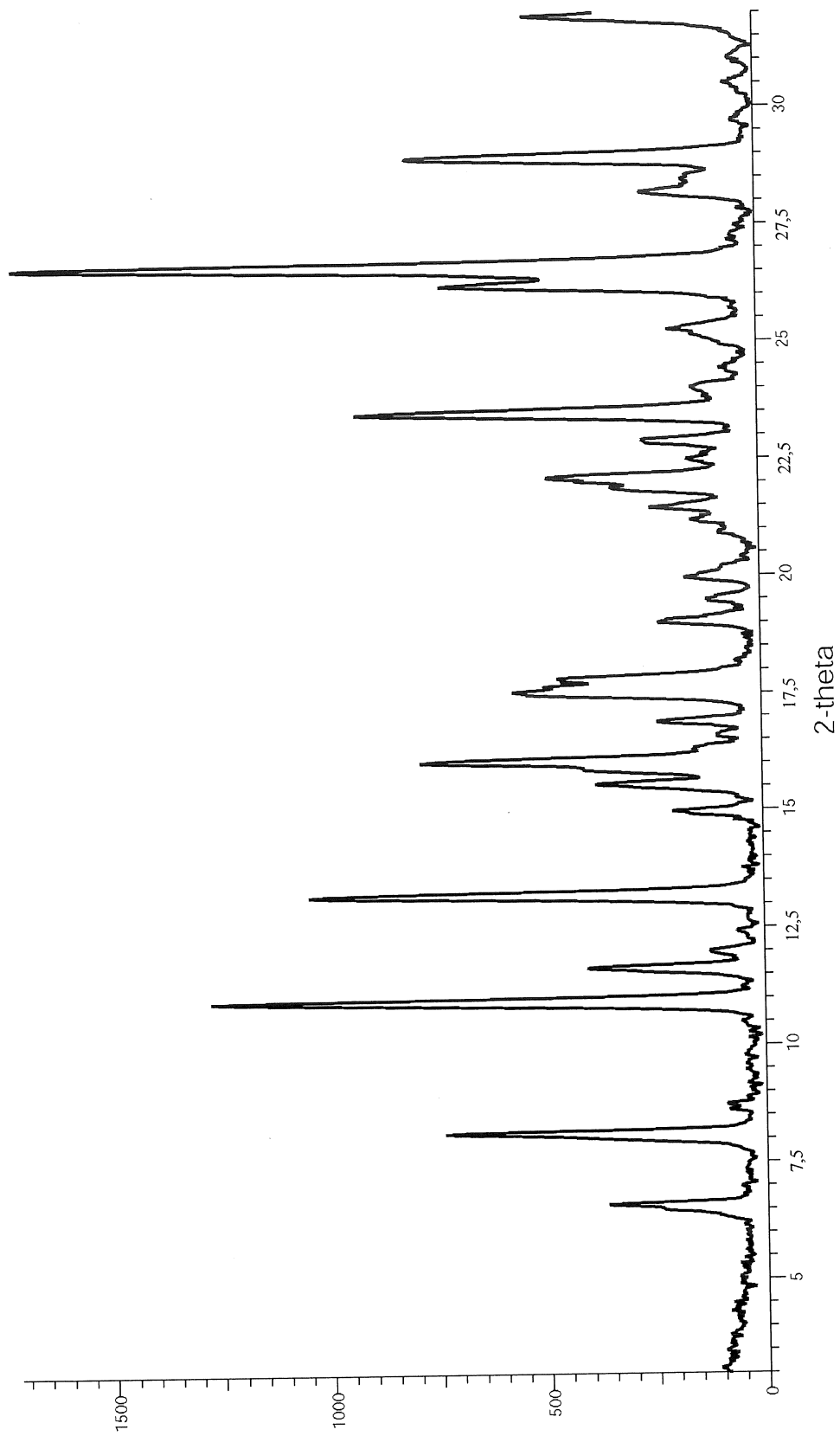
10/13

Fig.10



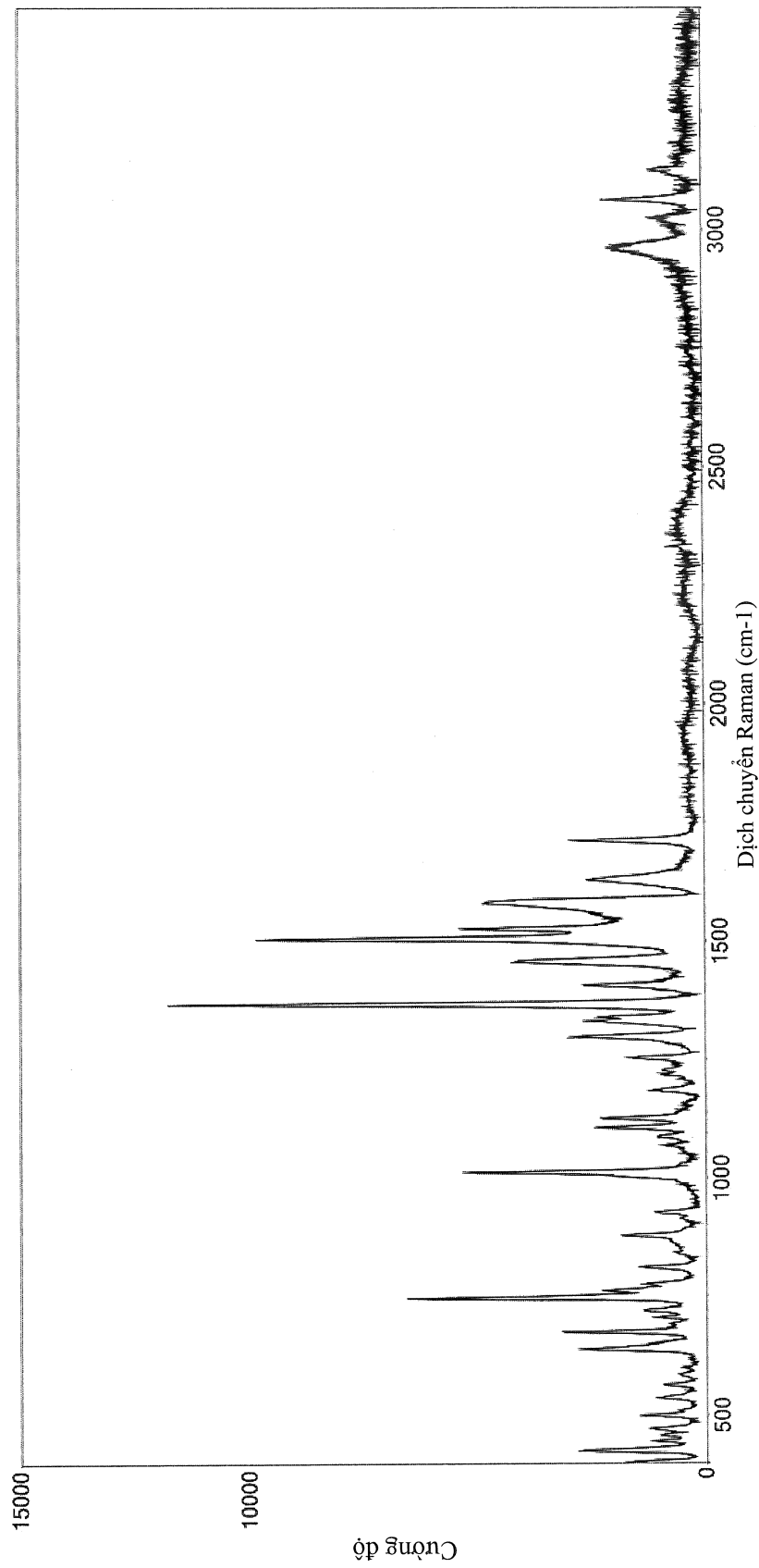
11/13

Fig.11



12/13

Fig.12



13/13

Fig.13

