



(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)



1-0051492

(51)^{2020.01} C07K 7/06; C12N 9/64; A61K 38/00

(13) B

(21) 1-2021-00241

(22) 20/06/2019

(86) PCT/US2019/038155 20/06/2019

(87) WO2019/246349 26/12/2019

(30) 62/687,913 21/06/2018 US

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/05/2021 398A

(73) Merck Sharp & Dohme LLC (US)

126 East Lincoln Ave., P.O. Box 2000, Rahway, New Jersey 07065, United States of America

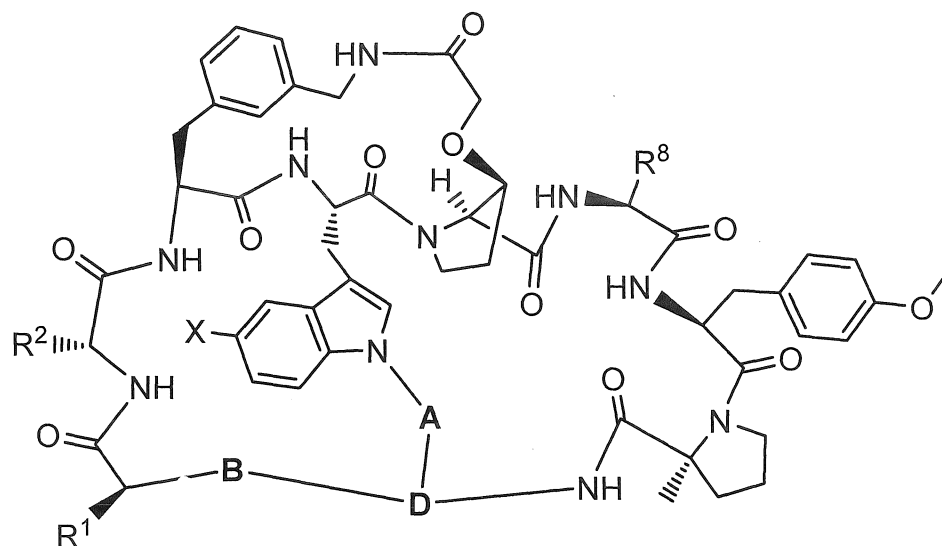
(72) WOOD, Harold, B. (US); JOSIEN, Hubert, B. (US); TUCKER, Thomas, Joseph (US); KEREKES, Angela, Dawn (US); TONG, Ling (US); WALJI, Abbas, M. (US); NAIR, Anilkumar, G. (US); DING, Fa-Xiang (US); BIANCHI, Elisabetta (IT); BRANCA, Danila (IT); WU, Chengwei (US); XIONG, Yusheng (US); HA, Sookhee, Nicole (US); LIU, Jian (US); BOGA, Sobhana, Babu (US).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT LÀM CHẤT ĐỐI KHÁNG PROPROTEIN CONVERTAZA
SUBTILISIN-KEXIN TYP 9 (PCSK9) VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(21) 1-2021-00241

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có Công thức I, hoặc muối của nó:



Công thức I,

trong đó A, B, D, X, R¹, R² và R⁸ như được xác định trong bản mô tả này, là các hợp chất có đặc tính đối kháng PCSK9. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức I hoặc muối của nó, và phương pháp điều trị bệnh và tình trạng bệnh tim mạch liên quan đến hoạt tính PCSK9, ví dụ, bệnh xơ vữa động mạch, chứng tăng cholesterol-huyết, bệnh tim mạch vành, hội chứng chuyển hóa, hội chứng mạch vành cấp tính, hoặc bệnh tim mạch có liên quan và tình trạng bệnh tim mạch chuyển hóa.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất làm chất đối kháng proprotein convertaza subtilisin-kexin typ 9 (PCSK9) và được phẩm chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Việc xác định hợp chất và/hoặc chất có hiệu quả trong việc điều trị cơn đau do bệnh tim mạch đang rất được mong đợi. Trong thử nghiệm lâm sàng, sự giảm nồng độ LDL cholesterol có liên quan trực tiếp đến tỷ lệ biến cố mạch vành; Law *et al.*, 2003 *BMJ* 326:1423-1427. Sự giảm vừa phải nồng độ LDL cholesterol trong huyết tương trong suốt cuộc đời được phát hiện là tương ứng với sự giảm đáng kể tỷ lệ biến cố mạch vành; Cohen *et al.*, 2006 *N. Engl. J. Med.* 354:1264-1272. Điều này xảy ra ngay cả ở những quần thể có tỷ lệ mắc các yếu tố nguy cơ tim mạch không liên quan đến lipit; ở trên. Do đó, rất có lợi khi đạt được sự kiểm soát có quản lý nồng độ LDL cholesterol.

Proprotein convertaza subtilisin-kexin typ 9 (dưới đây được gọi là “PCSK9”), cũng được biết đến là convertaza được điều hòa bởi sự chết tế bào theo chương trình ở thần kinh 1 (“NARC-1”), là subtilaza giống proteinaza K được xác định là thành viên thứ 9 của họ subtilaza tiết; xem tài liệu Seidah *et al.*, 2003 *PNAS* 100:928-933. PCSK9 thuộc họ proprotein convertaza của serin proteaza ở động vật có vú và chứa trình tự tín hiệu đầu tận cùng N, prodomain, miền xúc tác, và miền đầu tận cùng C; xem tài liệu Seidah *et al.*, 2012 *Nat. Rev. Drug Discov.* 11:367–383. Nghiên cứu về sự điều hòa phiên mã PCSK9 chứng minh rằng PCSK9 được điều hòa bởi protein gắn kết yếu tố điều hòa sterol (“SREBP”), như được thấy với các gen khác liên quan đến sự chuyển hóa cholesterol; Maxwell *et al.*, 2003 *J. Lipid Res.* 44:2109-2119, là điển hình của các gen khác liên quan đến chuyển hóa lipoprotein; Dubuc *et al.*, 2004 *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:1454-1459. Statin cho thấy là có khả năng điều hòa tăng sự biểu hiện PCSK9 theo cách được cho là do tác dụng làm giảm cholesterol của thuốc; ở trên. Hơn thế nữa, được thấy rằng chất tăng xúc tác PCSK9 có hai vị trí được bảo toàn liên quan đến điều hòa cholesterol, yếu tố điều hòa sterol và vị trí Sp1; ở trên.

Trong khi ở trong lưới nội chất, PCSK9 thực hiện hoạt động xúc tác duy nhất của nó là tự phân cắt giữa các gốc Gln-152 và Ser-153; xem tài liệu Naureckiene *et al.*, 2003 *Arch. Biochem. Biophys.* 420:55–67; Seidah *et al.*, 2003 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100:928–933. Prodomain vẫn liên kết chặt chẽ với miền xúc tác trong suốt quá trình vận chuyển sau đó thông qua mạng lưới *trans*-Golgi. Sự trưởng thành nhờ sự tự phân cắt được chứng minh là quan trọng cho sự tiết PCSK9 và chức năng ngoại bào sau đó (xem tài liệu Benjannet *et al.*, 2012 *J. Biol. Chem.* 287:33745–33755). Do đó, một số bằng chứng chứng minh rằng PCSK9, cụ thể là, làm giảm lượng LDLR protein trong gan và do đó làm tổn thương đến khả năng của gan để loại bỏ LDL cholesterol khỏi vòng tuần hoàn.

Sự biểu hiện quá mức của PCSK9 được điều tiết bởi adenovirut trong gan của chuột nhất dẫn đến tích tụ tuần hoàn LDL-C do mất nhiều LDLR protein ở gan, không ảnh hưởng đến nồng độ LDLR mRNA; Benjannet *et al.*, 2004 *J. Biol. Chem.* 279:48865–48875; Maxwell & Breslow, 2004 *PNAS* 101:7100–7105; Park *et al.*, 2004 *J. Biol. Chem.* 279:50630–50638; và Lallanne *et al.*, 2005 *J. Lipid Res.* 46:1312–1319. Tác dụng của sự biểu hiện quá mức PCSK9 trong việc làm tăng sự tuần hoàn nồng độ LDL-C ở chuột nhất hoàn toàn phụ thuộc vào sự biểu hiện của LDLR, lần nữa, chỉ ra rằng sự điều hòa của LDL-C bởi PCSK9 được điều tiết nhờ điều hòa giảm LDLR protein. Phù hợp với những phát hiện này, chuột thiếu PCSK9 hoặc trong đó PCSK9 mRNA được làm giảm bởi chất ức chế oligonucleotit đối nghĩa có nồng độ cao hơn của LDLR protein trong gan và khả năng tuần hoàn LDL-C cao hơn rõ rệt; Rashid *et al.*, 2005 *PNAS* 102:5374–5379; và Graham *et al.*, 2007 *J. Lipid Res.* 48(4):763–767. Ngoài ra, việc giảm nồng độ PCSK9 trong tế bào gan của người được nuôi cấy bởi siARN cũng dẫn đến nồng độ LDLR protein cao hơn và khả năng tăng để hấp thụ LDL-C; Benjannet *et al.*, 2004 *J. Biol. Chem.* 279:48865–48875; và Lallanne *et al.*, 2005 *J. Lipid Res.* 46:1312–1319. Các số liệu này cùng nhau chỉ ra rằng hoạt tính PCSK9 dẫn đến LDL-C tăng bằng cách làm giảm nồng độ LDLR protein.

Một số đột biến trong gen PCSK9 cũng được kết luận là có liên quan đến chứng tăng cholesterol-huyết có sự biểu hiện trội của nhiễm sắc thể thường (autosomal dominant hypercholesterolemia - ADH), một rối loạn chuyển hóa di truyền được đặc trưng bởi sự gia tăng rõ rệt của các hạt lipoprotein tỷ trọng thấp (“LDL”) trong huyết tương mà có thể dẫn đến suy tim mạch sớm; xem tài liệu Abifadel *et al.*, 2003 *Nature*

Genetics 34:154-156; Timms *et al.*, 2004 *Hum. Genet.* 114:349-353; Leren, 2004 *Clin. Genet.* 65:419-422. Nghiên cứu được công bố sau đó về đột biến S127R của Abifadel *et al.*, nêu trên, đã báo cáo rằng bệnh nhân mang đột biến này biểu hiện tổng cholesterol và apoB100 cao hơn trong huyết tương là do (1) sự sản xuất quá mức lipoprotein chứa apoB100, chẳng hạn như lipoprotein tỷ trọng thấp (“LDL”), lipoprotein tỷ trọng rất thấp (“VLDL”) và lipoprotein tỷ trọng trung bình (“IDL”), và (2) sự giảm liên quan đến độ thanh thải hoặc chuyển hóa lipoprotein nêu trên; Ouguerram *et al.*, 2004 *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24:1448-1453.

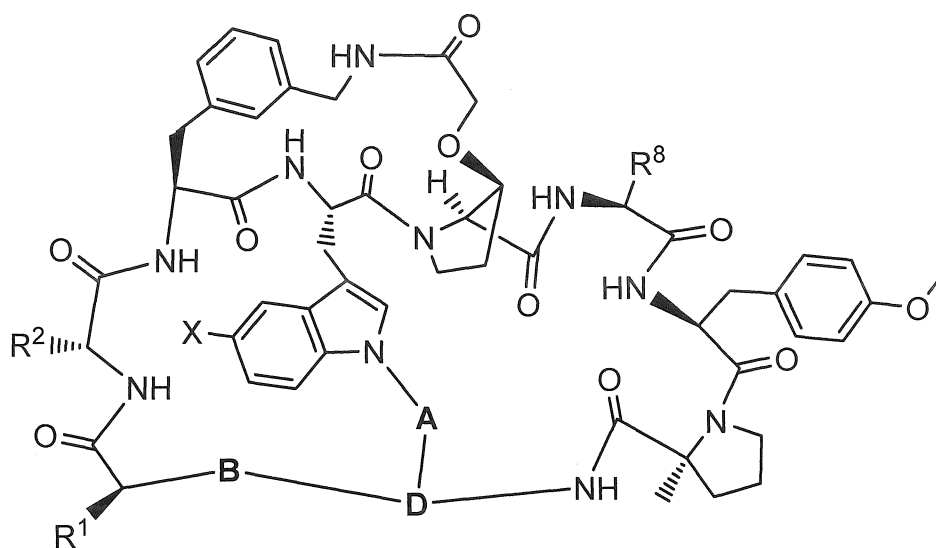
Do đó, không thể nghi ngờ rằng PCSK9 đóng vai trò trong việc điều hòa LDL. Sự biểu hiện hoặc điều hòa tăng PCSK9 có liên quan đến nồng độ LDL cholesterol tăng trong huyết tương, và sự ức chế hoặc thiếu biểu hiện PCSK9 tương ứng có liên quan đến nồng độ LDL cholesterol giảm trong huyết tương. Nồng độ LDL cholesterol giảm liên quan đến các biến đổi trình tự trong PCSK9 đã được phát hiện để mang lại sự bảo vệ chống lại bệnh tim mạch vành; Cohen, 2006 *N. Engl. J. Med.* 354:1264-1272.

Do đó, việc xác định các hợp chất và/hoặc chất có hiệu quả trong điều trị cơn đau do bệnh tim mạch rất được mong đợi, bao gồm cả sự đối kháng với vai trò của PCSK9 trong việc điều hòa LDL, tuy nhiên, nhìn chung, vì PCSK9 tuần hoàn trong máu và có ái lực gắn kết khiêm tốn với thụ thể LDL bề mặt tế bào nên các nỗ lực từ trước đến nay nhằm sử dụng cơ chế này trong điều trị các bệnh liên quan đến nồng độ LDL huyết thanh cao đã tập trung vào việc sử dụng các phân tử sinh học lớn, ví dụ, các kháng thể. Do đó, có rất ít công bố phản ánh hoạt động hướng đến mục tiêu này bằng cách sử dụng peptit nhỏ hoặc phân tử nhỏ để ức chế PCSK9, xem ví dụ, Zhang *et al.*, 2014 *J. Biol. Chemistry*, 289(2): 942-955. Hơn thế nữa, có một số ít các hợp chất có thể được sửa đổi thành dạng bào chế để sử dụng qua đường miệng bằng cách dùng liều chứa các hợp chất này, đường dùng mong muốn để cung cấp liệu pháp điều trị cho các tình trạng bệnh trong đó sự điều hòa hoạt động của PCSK9 có thể đóng một vai trò.

Sáng chế giải quyết các vấn đề này bằng cách đề xuất chất đối kháng PCSK9 được cho là dùng để ức chế hoạt động của PCSK9 và PCSK9 đóng vai trò tương ứng trong các tình trạng bệnh khác nhau mà dùng chất đối kháng PCSK9 cung cấp liệu pháp điều trị.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh của sáng chế, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



Công thức I,

trong đó:

X là H, F, Cl hoặc Br;

R^1 được chọn từ:

(a) -H; hoặc

(b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(i) -H;

(ii) $-NH_2$;

(iii) $-N^+H_3$;

(iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ trong đó R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vi) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ trong đó:

y_{12} và y_{13} không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

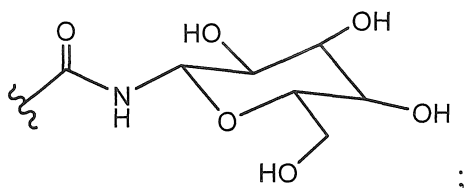
(vii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C} là $-O-(CH_2)_{za}-N^+(CH_3)_3$, trong đó za là 3 hoặc 4; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

(aiii) gốc có công thức:



R^2 được chọn từ:

(a) $-\text{H}$; và

(b) $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và $\text{R}^{14\text{A}}$ được chọn từ:

(i) $-\text{H}$;

(ii) $-\text{NH}_2$;

(iii) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(iv) $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$;

(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$;

hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{zb}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$,

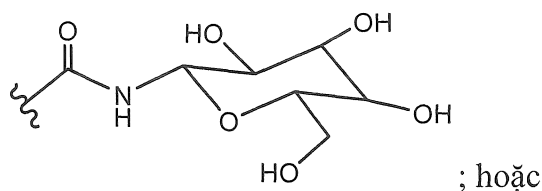
trong đó zb là 3 hoặc 4; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

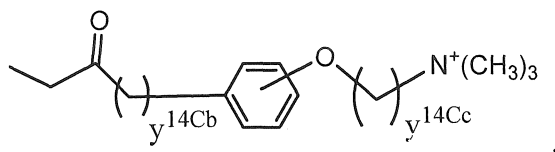
(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$, trong đó $\text{R}^{14\text{ca}}$ là $-\text{CH}_3$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{OCH}_3$;

(aiii) gốc có công thức:

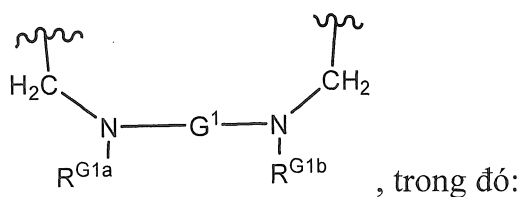


(aiv) gốc có công thức:



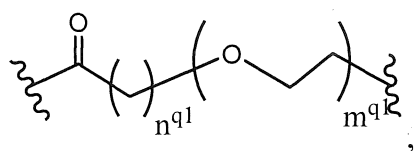
trong đó y^{14Cb} và y^{14Cc} nằm trong khoảng từ 1 đến 4; hoặc

R^1 và R^2 có thể được gắn kết với nhau để tạo ra gốc có công thức:



G^1 , R^{G1a} và R^{G1b} được xác định như dưới đây:

(a) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:

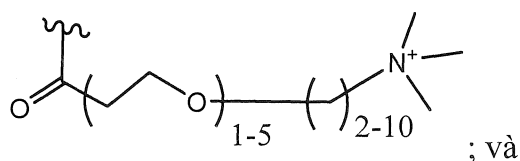


trong đó n^{q1} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, m^{q1} là 0, 1 hoặc 2 và giá trị của n^{q1} và m^{q1} được chọn cùng nhau sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc carbonyl;

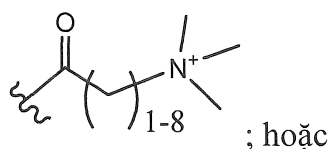
R^{G1a} được chọn từ: (i) $-H$; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon; và

R^{G1b} được chọn từ:

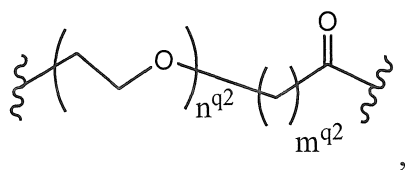
(i) gốc có công thức:



ii) gốc có công thức:



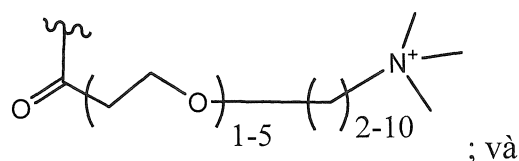
(b) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:



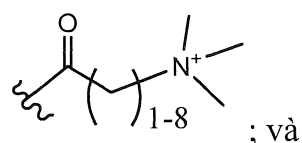
trong đó n^{q2} là 0, 1 hoặc 2, m^{q2} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và giá trị của n^{q2} và m^{q2} được chọn cùng nhau sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc cacbonyl;

R^{G1a} được chọn từ:

(i) gốc có công thức:

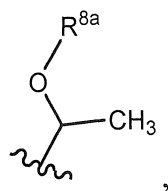


(ii) gốc có công thức:



R^{G1b} được chọn từ: (i) $-H$; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon;

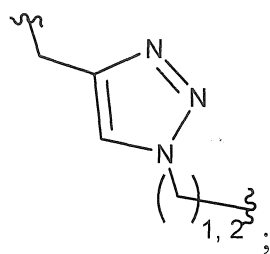
R^8 là $-CH_3$ hoặc gốc có công thức:



trong đó R^{8a} là $-H$, hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon;

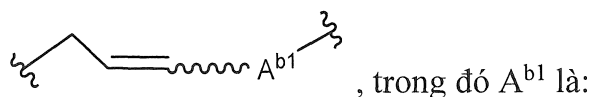
A được chọn từ:

(a) gốc có công thức:

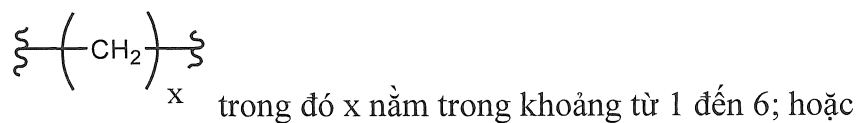


(b) $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

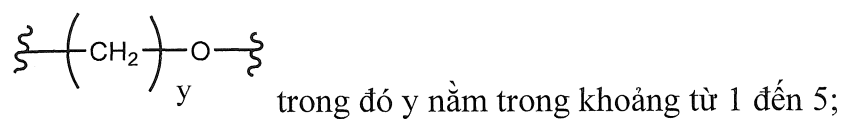
(c) gốc có công thức:



(i) gốc có công thức:



(ii) gốc có công thức:



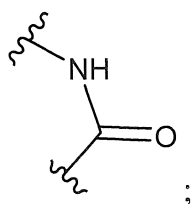
(d) gốc có công thức: $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$, trong đó $m = 1$ đến 5, và $n = 0$ hoặc 1 đến 4;

B là:

(a) liên kết;

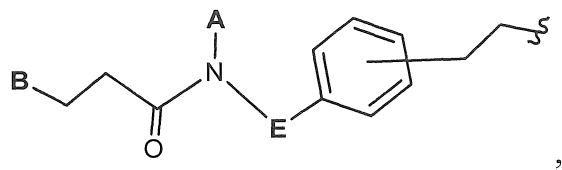
(b) $-(\text{CH}_2)_{1-4}$; hoặc

(c) gốc có công thức:



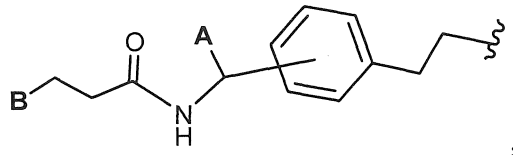
D là:

(a) gốc có công thức:



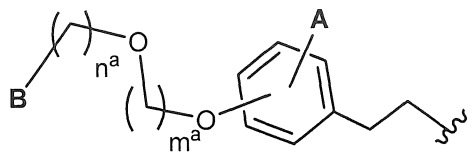
trong đó E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$, và A và B như được xác định ở trên;

(b) gốc có công thức:



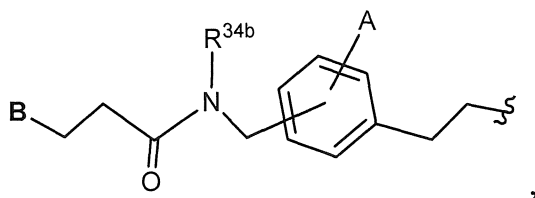
trong đó A và B như được xác định ở trên;

(c) gốc có công thức:



trong đó n^a là 1, 2, hoặc 3, m^a là 2, 3, hoặc 4, và $n^a + m^a \geq 3$, và trong đó A và B như được xác định ở trên;

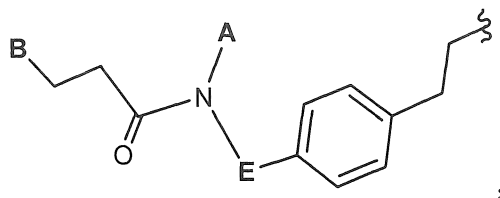
(d) gốc có công thức:



trong đó, R^{34b} là $-\text{H}$ hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon, và A và B như được xác định ở trên,

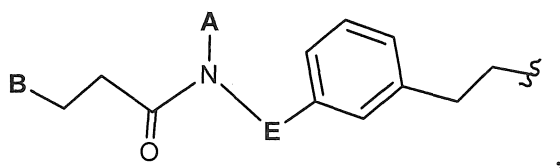
hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó X là F, hoặc muối được dụng của nó. Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



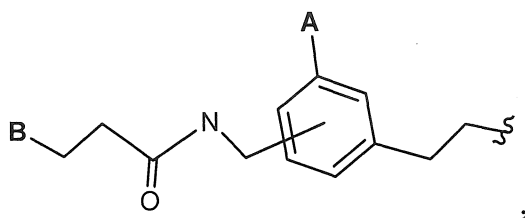
trong đó, E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-$, và A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



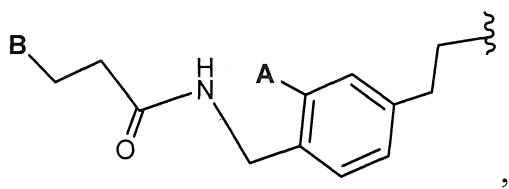
trong đó, E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-$, và A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



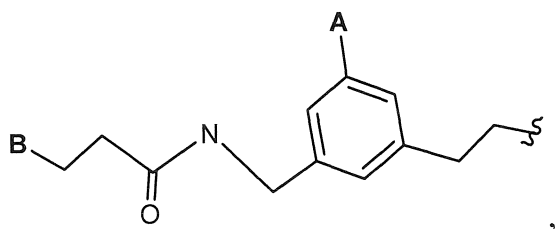
trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



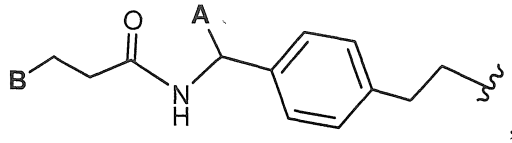
trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



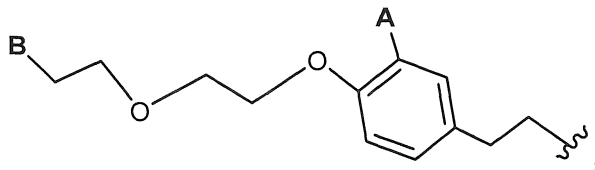
trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



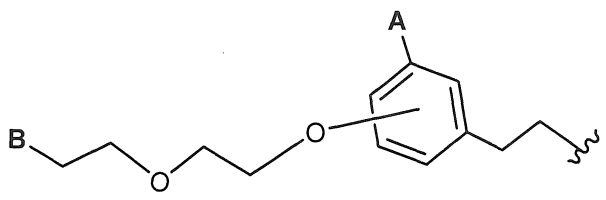
trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



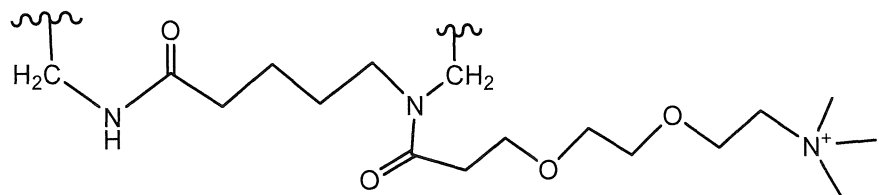
trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với D là gốc có công thức:



trong đó A và B như được xác định trong bản mô tả này.

Theo một số phương án trong đó R¹ và R² liên kết với nhau, cùng với vòng peptit mà chúng gắn vào nhờ đó tạo ra cấu trúc vòng, được ưu tiên đối với R¹ và R² để tạo ra gốc có cấu trúc:



Theo một phương án, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế, ví dụ, hợp chất có công thức I, và ít nhất một tá dược được phẩm, tốt hơn là được phẩm được dùng trực tiếp qua đường miệng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp đối kháng PCSK9 trong việc cung cấp liệu pháp cho tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính PCSK9, ví dụ, bệnh xơ

vừa động mạch, chứng tăng cholesterol-huyết, bệnh tim mạch vành, hội chứng chuyển hóa, hội chứng mạch vành cấp tính, hoặc bệnh tim mạch có liên quan và tình trạng bệnh tim mạch chuyển hóa, bằng cách dùng cho đối tượng cần điều trị lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I, hoặc muối của chúng, tốt hơn là ở dạng dược phẩm.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong phần mô tả cho phép sự biểu diễn cấu trúc thông thường được sử dụng và bao gồm ký hiệu hóa học lập thể thông thường đối với tâm cacbon không đối xứng nhất định.

Do đó, sự biểu diễn cấu trúc của hợp chất theo sáng chế bao gồm ký hiệu hóa học lập thể thông thường đối với một số tâm cacbon không đối xứng được thể hiện trong hợp chất ví dụ. Do đó, trong các trường hợp này, các liên kết "hình nêm" màu đen nét liền thể hiện các liên kết nhô ra từ mặt phẳng của môi trường tái tạo, các liên kết "hình nêm đứt" thể hiện các liên kết giảm dần vào mặt phẳng của môi trường tái tạo, và đường "lượn sóng" nối với cacbon mang liên kết đôi chỉ ra cả hướng cis và trans được bao gồm. Như thông thường, các đường nét liền đơn giản thể hiện tất cả các cấu hình không gian đối với liên kết được mô tả. Do đó, khi không có ký hiệu hóa học cụ thể nào được cung cấp, sự biểu diễn sẽ bao gồm tất cả các hướng hóa học lập thể và không gian của các dấu hiệu cấu trúc.

Như được thể hiện trong ví dụ theo sáng chế, và được nêu ở trên, tâm cacbon không đối xứng cụ thể được thể hiện về mặt cấu trúc bằng cách sử dụng sự biểu diễn liên kết "hình nêm nét liền" và "hình nêm nét đứt". Hầu hết, cấu hình tuyệt đối không được xác định đối với hợp chất ví dụ, nhưng được quy định tương tự hợp chất ví dụ cụ thể về cấu hình hóa học dị lập thể đã biết (được xác định bằng tinh thể học tia X) được điều chế bằng cách sử dụng điều kiện phản ứng và chất phản ứng ban đầu tương tự hoặc giống và được phân tách dưới cùng điều kiện sắc ký. Do đó, quy định cụ thể về cấu hình được thể hiện về mặt cấu trúc ở đây nghĩa là để xác định hợp chất cụ thể được điều chế có nhiều hơn một chất đồng phân lập thể cụ thể và không nhất định phải đưa ra một tuyên bố về sự xác định tuyệt đối của cấu trúc hóa học lập thể của hợp chất này trừ khi được lưu ý trong số liệu được thể hiện.

Được đánh giá rằng ở vị trí hỗn hợp đồng phân thu được, việc điều chế các chất đồng phân lập thể riêng rẽ theo tỷ lệ phần trăm dư chất đồng phân đối ảnh đáng kể có

thể được thực hiện, nếu muốn, bằng cách tách hỗn hợp bằng cách sử dụng phương pháp thông thường, ví dụ bằng sắc ký hoặc kết tinh, hoặc bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu đồng dạng về mặt hóa học lập thể cho quy trình tổng hợp được mô tả, hoặc bằng quy trình tổng hợp chọn lọc lập thể. Tùy ý quy trình tạo dẫn xuất có thể được thực hiện trước khi tách chất đồng phân lập thể. Việc tách hỗn hợp của chất đồng phân lập thể có thể được thực hiện ở bước trung gian trong quá trình tổng hợp hợp chất có công thức I hoặc có thể được thực hiện trên sản phẩm raxemic cuối cùng.

Được chỉ ra trong bản mô tả này, hóa học lập thể tuyệt đối được xác định bằng tinh thể học tia X của sản phẩm tinh thể hoặc hợp chất trung gian tinh thể được dẫn xuất, nếu cần, với chất phản ứng chứa nguyên tử cacbon không đối xứng có cấu hình đã biết. Trừ khi chất đồng phân cụ thể, muối, solvat (bao gồm hydrat) hoặc muối được solvat hóa của raxemat, chất đồng phân đối ảnh, hoặc chất đồng phân không đối quang được chỉ ra, sáng chế bao gồm tất cả các chất đồng phân này, cũng như muối, solvat (bao gồm hydrat) và muối được solvat hóa của raxemat, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và hỗn hợp của chúng.

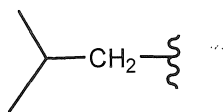
Sáng chế cũng đề xuất hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế tương đồng về mặt cấu trúc với các hợp chất được nêu trong bản mô tả này, nhưng thực tế là tỷ lệ phần trăm có ý nghĩa về mặt thống kê của một hoặc nhiều nguyên tử trong đó dạng của hợp chất được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác khối lượng nguyên tử hoặc số khối của đồng vị đa dạng nhất thường được phát hiện, do đó về bản chất thay đổi độ phong phú tồn tại trong tự nhiên của đồng vị có mặt trong hợp chất theo sáng chế. Sáng chế bao gồm tất cả các biến thể đồng vị thích hợp của hợp chất có công thức I.

Ví dụ về đồng vị mà có thể được ưu tiên kết hợp vào hợp chất theo sáng chế bao gồm đồng vị của hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, iot, flo và clo, ví dụ, nhưng không giới hạn ở: ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , và ^{36}Cl , ^{123}I , và ^{125}I . Được đánh giá rằng các đồng vị khác có thể cũng được kết hợp bằng các phương pháp đã biết.

Cụ thể là, hợp chất được đánh dấu đồng vị nhất định theo sáng chế (ví dụ, các hợp chất được đánh dấu bằng ^3H , ^{11}C , và ^{14}C) được nhận ra là đặc biệt hữu dụng trong thử nghiệm phân phối hợp chất và/hoặc thử nghiệm phân phối mô cơ chất sử dụng nhiều

kỹ thuật đã biết. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế bao gồm sự thay thế đồng vị bao gồm các dạng đồng vị khác nhau của hydro (H), bao gồm proti (^1H) và đơteri (^2H hoặc D). Proti là đồng vị hydro chủ yếu được tìm thấy trong tự nhiên. Việc làm giàu đối với đơteri có thể tạo ra lợi ích điều trị nhất định, chẳng hạn như làm tăng thời gian bán hủy *in vivo* hoặc làm giảm yêu cầu về liều lượng, hoặc có thể tạo ra hợp chất hữu ích làm tiêu chuẩn để xác định đặc điểm của mẫu sinh học. Hợp chất được làm giàu về mặt đồng vị trong công thức I có thể được điều chế mà không thử nghiệm quá mức bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật hoặc bằng quy trình tương tự các quy trình được mô tả trong sơ đồ và ví dụ trong bản mô tả này bằng cách sử dụng chất phản ứng và/hoặc hợp chất trung gian được làm giàu đồng vị thích hợp.

Ở nơi đường lượn sóng kết thúc liên kết thông thường (trái ngược với việc nối hai nguyên tử bên trong cấu trúc) chỉ ra điểm gắn kết với cấu trúc, ví dụ:



chỉ ra gốc butyl thứ hai được gắn kết nhờ nhóm metylen nhờ liên kết được kết thúc bằng đường lượn sóng. Trong đó ký hiệu chữ cái được sử dụng để mô tả gốc phần tử thế, đường vạch được sử dụng để chỉ ra điểm gắn kết với cơ chất được chỉ ra, ví dụ: $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{Cl}$ chỉ ra gốc axetyl clorua được gắn kết nhờ phần metylen của gốc này.

Khi biến thể bất kỳ (ví dụ, n, R^a, R^b, v.v.) xuất hiện nhiều hơn một lần trong phần tử cấu thành bất kỳ hoặc trong công thức I, định nghĩa của nó đối với mỗi lần xuất hiện là độc lập với định nghĩa của nó tại mỗi vị trí xuất hiện khác trừ khi được nêu cụ thể ở điểm định nghĩa. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra rằng việc lựa chọn tổ hợp của các phần tử thế khác nhau được xác định trong cấu trúc, *nghĩa là*, R¹, R^A, v.v., được chọn phù hợp với nguyên tắc đã biết rõ về sự kết nối cấu trúc hóa học và độ ổn định, và sự kết hợp của các phần tử thế và/hoặc các biến đổi chỉ có thể được cho phép nếu các tổ hợp này dẫn đến các hợp chất ổn định.

Hợp chất “bền” là hợp chất có thể được điều chế và được phân tách và cấu trúc của chúng và các đặc tính duy trì hoặc có thể được làm cho về cơ bản không thay đổi trong một khoảng thời gian đủ để cho phép sử dụng hợp chất cho mục đích được mô tả

ở đây (ví dụ, dùng điều trị cho đối tượng). Hợp chất theo sáng chế được giới hạn ở các hợp chất ổn định được bao gồm bởi công thức I.

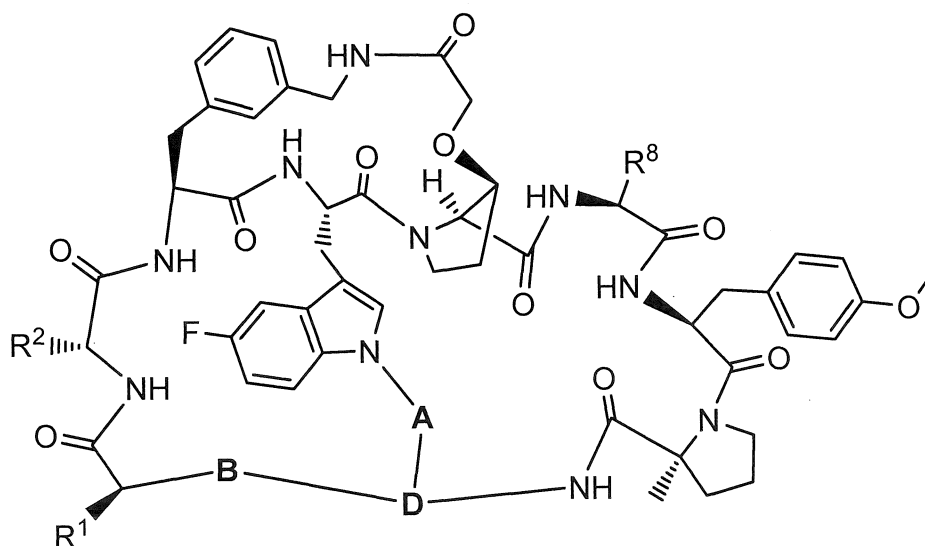
Ở nơi biến số hoặc gốc bất kỳ được biểu hiện ở dạng khoảng, ví dụ, $(-CH_2-)_{1-4}$, cả hai điểm cực trị của khoảng cụ thể này đều được bao gồm (nghĩa là, 1 và 4 trong ví dụ) cũng như tất cả các giá trị số nằm trong khoảng (nghĩa là, 2 và 3 trong ví dụ).

Thuật ngữ "halogen" bao gồm flo, clo, brom và iot trừ khi được nêu cụ thể khi sử dụng.

Thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này, "đối tượng" (theo cách khác là "bệnh nhân") chỉ động vật, tốt hơn là động vật có vú, và cụ thể là người hoặc động vật không phải người bao gồm động vật nuôi và động vật chăn nuôi bao gồm, nhưng không giới hạn ở, gia súc, ngựa, cừu, lợn, dê, thỏ, mèo, chó, và các động vật có vú khác cần điều trị. Theo một số phương án, đối tượng tốt hơn là người. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ "dùng" và các biến thể của nó (ví dụ, "dùng" hợp chất) đề cập đến hợp chất có công thức I nghĩa là cung cấp hợp chất, hoặc muối được dùng của nó, cho đối tượng cần điều trị.

Như được nêu ở trên, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất việc cung cấp các hợp chất có công thức I, hoặc muối được dùng của nó, có đặc tính đối kháng chức năng PCSK9.

Theo một phương án, hợp chất có công thức I có cấu trúc có công thức IA:



Công thức IA,

trong đó:

R^1 được chọn từ:

(a) -H; hoặc

(b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(i) -H;

(ii) $-NH_2$;

(iii) $-N^+H_3$;

(iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ trong đó R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$;
hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vi) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_{1-4}-(CH_2)_{y13}R^{14B}$, tốt hơn là $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ trong đó:

y_{12} và y_{13} không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

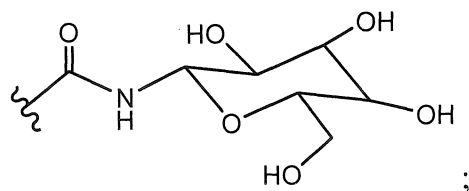
(vii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C} là $-O-(CH_2)_{za}-N^+(CH_3)_3$, trong đó za là 3 hoặc 4; và

(viii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C} là:

(ai) $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$;

(aii) $-N^+(CH_3)_3$; hoặc

(aiii) gốc có công thức:



R^2 được chọn từ:

(a) -H; và

(b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} được chọn từ:

(i) -H;

(ii) -NH₂;

(iii) -N⁺H₃;

(iv) -N⁺(H₃C)₃;

(v) -NH-C(O)-[(CH₂)₂-O-]₁₋₄-(CH₂)₂R^{14B}, tốt hơn là -NH-C(O)-[(CH₂)₂-O-]₂-(CH₂)₂R^{14B} trong đó R^{14B} là: -NH₂; -N⁺H₃; -N(CH₃)₂; hoặc -N⁺(CH₃)₃;

(vi) -NH-C(O)-[(CH₂)_{y12}-O-]₂-(CH₂)_{y13}R^{14B} trong đó:

y₁₂ và y₁₃ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: -NH₂; -N⁺H₃; -N(CH₃)₂; hoặc -N⁺(CH₃)₃;

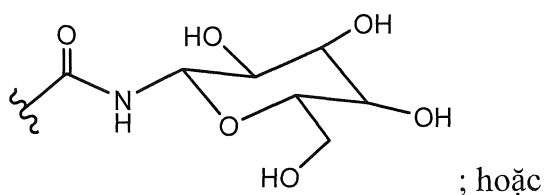
(vii) -NH-C(O)-(CH₂)_yR^{14C}, trong đó, y= 1 đến 6 và R^{14C} là -O-(CH₂)_{zb}-N⁺(CH₃)₃, trong đó zb là 3 hoặc 4; và

(viii) -NH-C(O)-(CH₂)_yR^{14C}, trong đó, y= 1 đến 6 và R^{14C} là:

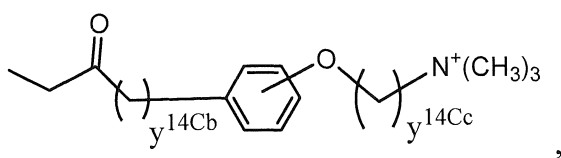
(ai) -O-(CH₂)₂-N⁺(CH₃)₃;

(aii) -N⁺(CH₃)₂R^{14ca}, trong đó R^{14ca} là -CH₃ hoặc -(CH₂)₁₋₄-OCH₃;

(aiii) gốc có công thức:

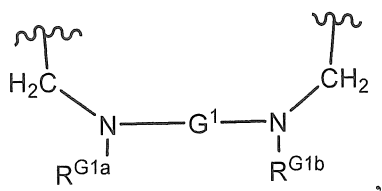


(aiv) gốc có công thức:



trong đó Y^{14Cb} và Y^{14Cc} nằm trong khoảng từ 1 đến 4; hoặc

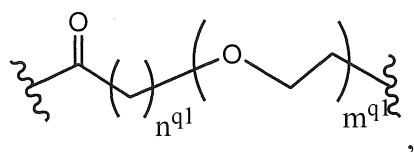
R¹ và R² có thể được gắn kết với nhau để tạo ra gốc có công thức:



trong đó:

G^1 , R^{G1a} và R^{G1b} được xác định như dưới đây:

(a) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:

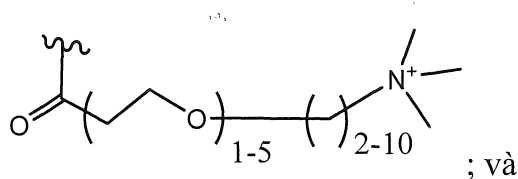


trong đó n^{q1} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, m^{q1} là 0, 1 hoặc 2 và cùng với giá trị của n^{q1} và m^{q1} được chọn sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc carbonyl;

R^{G1a} được chọn từ: (i) $-H$; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon; và

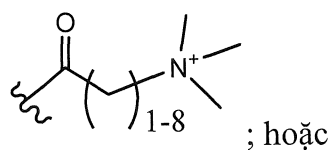
R^{G1b} được chọn từ:

(i) gốc có công thức:



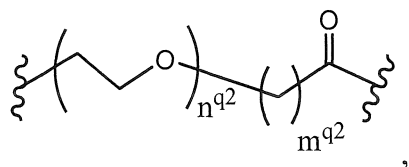
; và

(ii) gốc có công thức:



; hoặc

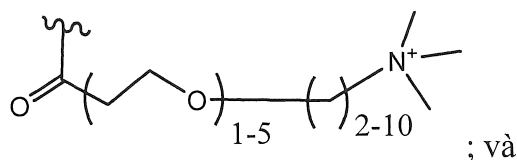
(b) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:



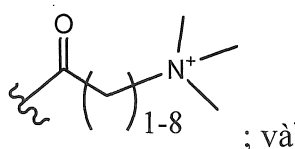
trong đó n^{q2} là 0, 1 hoặc 2, m^{q2} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và cùng với giá trị của n^{q2} và m^{q2} được chọn sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc cacbonyl;

R^{G1a} được chọn từ:

(i) gốc có công thức:

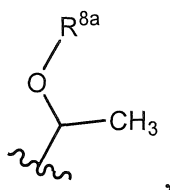


(ii) gốc có công thức:



R^{G1b} được chọn từ: (i) -H; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon;

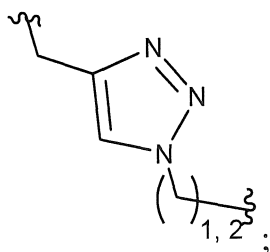
R^8 là -CH₃ hoặc gốc có công thức:



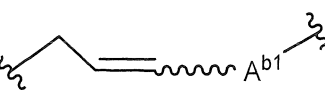
trong đó R^{8a} là -H, hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon;

A được chọn từ:

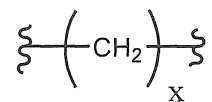
(a) gốc có công thức:



(b) -CH₂-(CH₂)_y-CH₂-, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

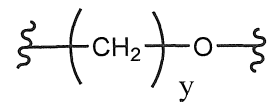
(c) gốc có công thức: , trong đó A^{b1} là:

(i) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 6; hoặc

(ii) gốc có công thức:



trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 5;

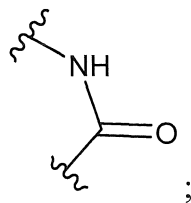
(d) gốc có công thức: $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$, trong đó $m = 1$ đến 5, và $n = 0$ hoặc 1 đến 4;

B là:

(a) liên kết;

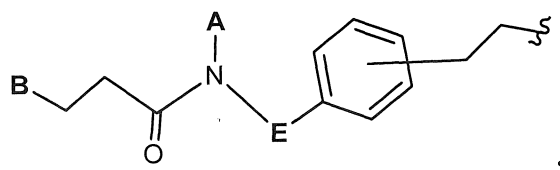
(b) $-(\text{CH}_2)_{1-4}$; hoặc

(c) gốc có công thức:



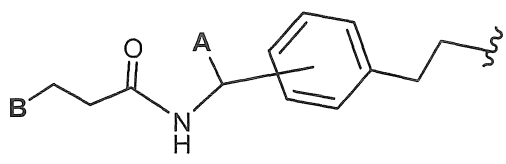
D là:

(a) gốc có công thức:



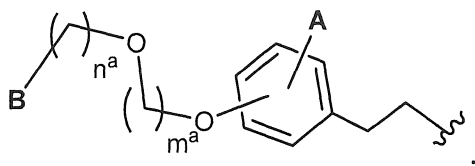
trong đó E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$, và A và B như được xác định ở trên;

(b) gốc có công thức:



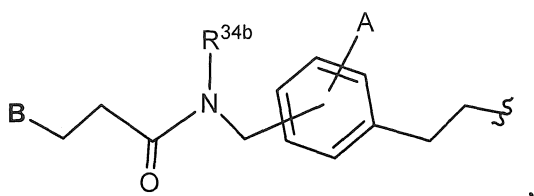
trong đó A và B như được xác định ở trên;

(c) gốc có công thức:



trong đó n^a là 1, 2, hoặc 3, m^a là 2, 3, hoặc 4, và $n^a + m^a$ ít nhất là 3, và trong đó A và B như được xác định ở trên;

(d) gốc có công thức:



trong đó, R^{34b} là -H hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon, và A và B như được xác định ở trên,

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án của hợp chất có công thức IA, R^1 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

- (i) -H;
- (ii) $-NH_2$;
- (iii) $-N^+H_3$; hoặc
- (iv) $-N^+(H_3C)_3$;

R^2 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} được chọn từ:

- (i) -H;
- (ii) $-NH_2$;

(iii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}-]_{1-4}-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$, tốt hơn là $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}-]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(iv) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}-]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

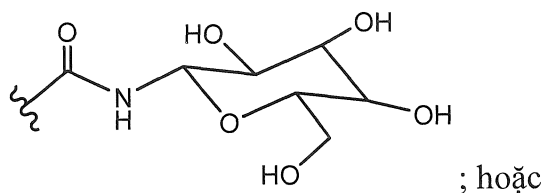
(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{zb}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$, trong đó zb là 3 hoặc 4; và

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

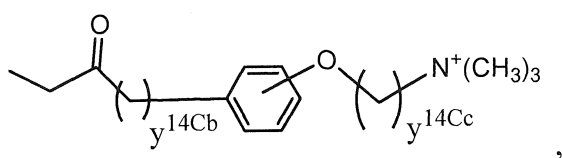
(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$, trong đó $\text{R}^{14\text{ca}}$ là $-\text{CH}_3$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{OCH}_3$;

(aiii) gốc có công thức:

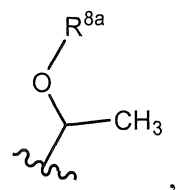


(aiv) gốc có công thức:



trong đó $\text{Y}^{14\text{Cb}}$ và $\text{Y}^{14\text{Cc}}$ nằm trong khoảng từ 1 đến 4; hoặc

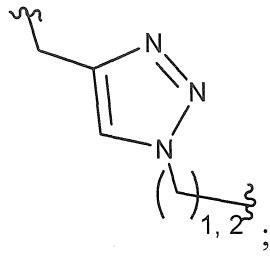
R^8 là $-\text{CH}_3$ hoặc gốc có công thức:



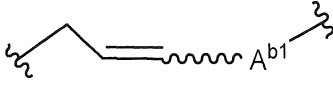
trong đó $\text{R}^{8\text{a}}$ là $-\text{H}$, hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon;

A được chọn từ:

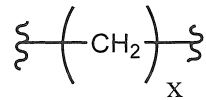
(a) gốc có công thức:



(b) $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

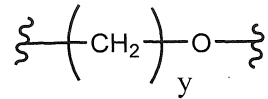
(c) gốc có công thức: , trong đó A^{b1} là:

(i) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 6; hoặc

(ii) gốc có công thức:



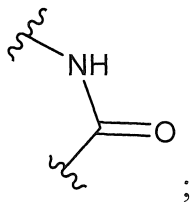
trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 5; và

(d) gốc có công thức: $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$, trong đó $m = 1$ đến 5, và $n = 0$ hoặc 1 đến 4;

B là:

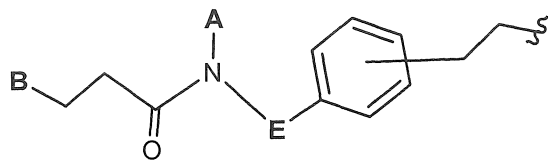
(a) $-(\text{CH}_2)_{1-4}$; hoặc

(b) gốc có công thức:



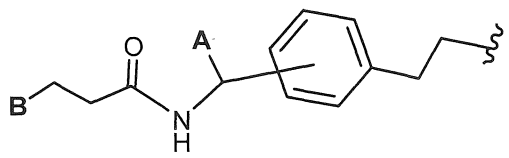
D là:

(a) gốc có công thức:



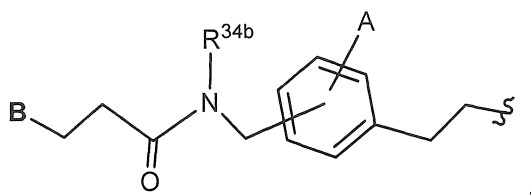
trong đó E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-$, và A và B như được xác định ở trên;

(b) gốc có công thức:



trong đó A và B như được xác định ở trên; hoặc

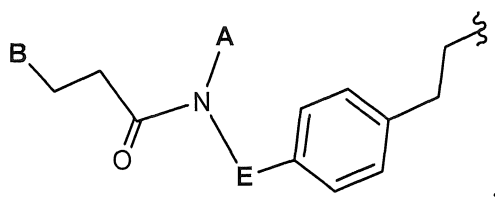
(c) gốc có công thức:



trong đó, R^{34b} là $-\text{H}$ hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon, và A và B như được xác định ở trên,

hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án của hợp chất có công thức IA, D là gốc có công thức:

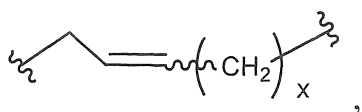


trong đó, E là $-\text{CH}_2-$ hoặc $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-$, và A và B như được xác định ở trên trong công thức IA.

Theo một phương án của hợp chất có công thức IA, A là:

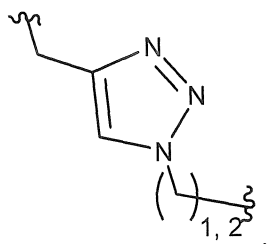
(a) $-(\text{CH}_2)_6$;

(b) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 3; hoặc

(c) gốc có công thức:



Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^2 là:

(a) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(a) -H;

(b) $-CH_3$;

(c) $-NH_2$;

(d) $-N^+H_3$;

(e) $-N^+(H_3C)_3$;

(f) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{2-4}-O-]_{2-4}-(CH_2)_{2-4}R^{14B}$ trong đó R^{14B}

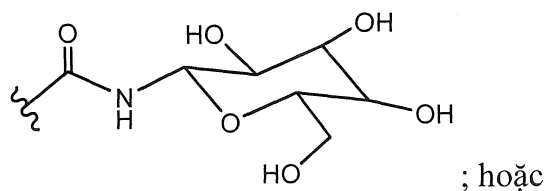
là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(g) $-NH-C(O)-[(CH_2)_yR^{14C}]$, trong đó, y= 1 đến 6 và R^{14C} là:

(ai) $-O-(CH_2)_{2-4}-N^+(CH_3)_3$;

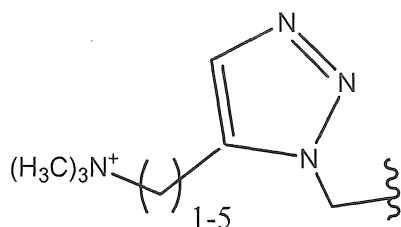
(aii) $-N^+(CH_3)_3$; hoặc

(aiii) gốc có công thức:



; hoặc

(b) gốc có công thức

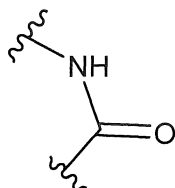


Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^1 được chọn từ:

- (a) $-H$;
- (b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:
 - (i) $-H$;
 - (ii) $-N^+H_3$; hoặc
 - (iii) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O]_2-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$.

Theo một phương án khác nữa của hợp chất có công thức IA, A là $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$, trong đó y là 3-5. Theo một phương án khác, A là $-(CH_2)_6$.

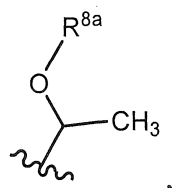
Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, B là gốc có công thức:



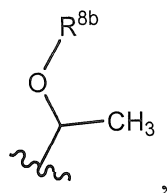
Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^1 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là $-H$. Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^1 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là 1, và R^{14A} là $-H$.

Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^2 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó $y=1$ đến 6 và R^{14C} là $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$, trong đó R^{14ca} là $-CH_3$.

Theo một phương án khác của hợp chất có công thức IA, R^8 là gốc có công thức:

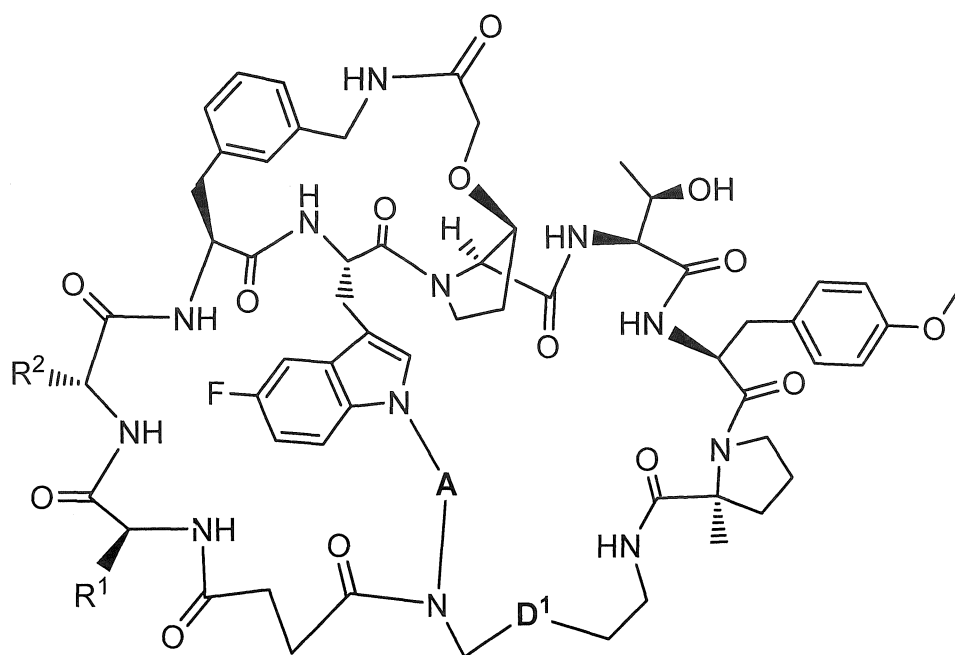


trong đó R^{8a} là $-H$ hoặc alkyl mạch thẳng lên đến bốn nguyên tử cacbon. Theo một phương án khác, R^8 là gốc có công thức:

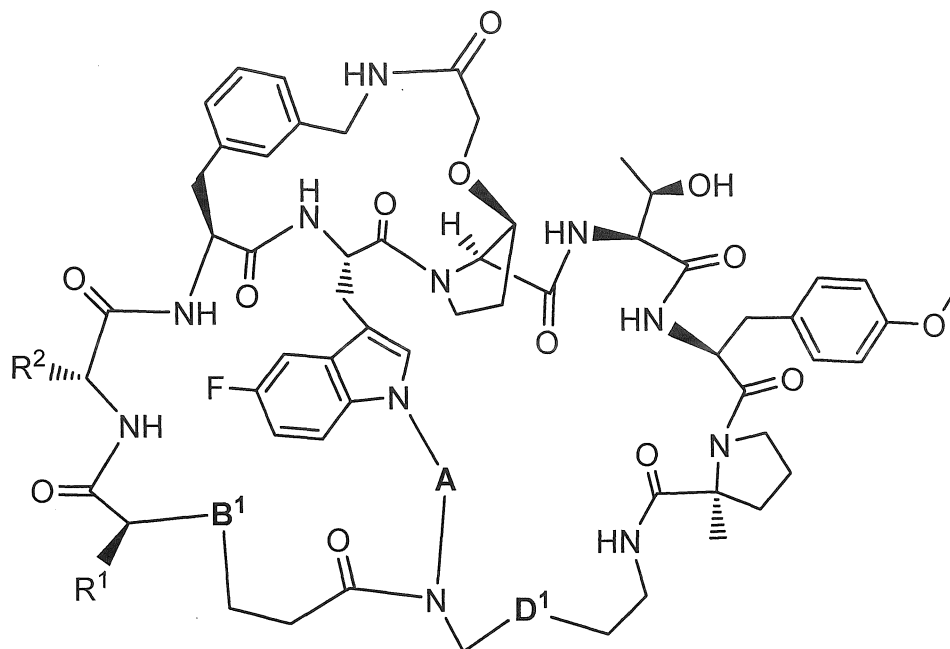


trong đó R^{8b} là $-H$, $-CH_3$, hoặc $-C(CH_3)_3$.

Theo một số phương án, được ưu tiên đối với hợp chất có công thức I để có cấu trúc có công thức II hoặc công thức IIA, hoặc muối được dụng của nó:



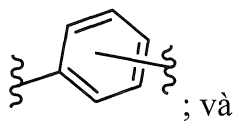
Công thức II,



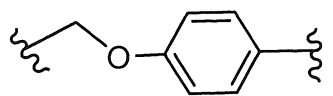
Công thức IIA,

trong đó, A, R¹ và R² như được xác định ở trên trong công thức IA và B¹ là –(CH₂)₀₋₂, và D¹ được chọn từ:

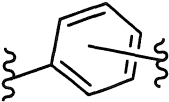
a) gốc có công thức:

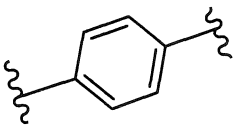


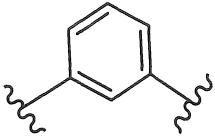
b) gốc có công thức:

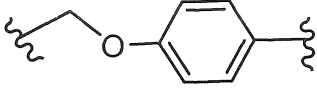


Theo một số phương án của Công thức II hoặc Công thức IIA, được ưu tiên đối

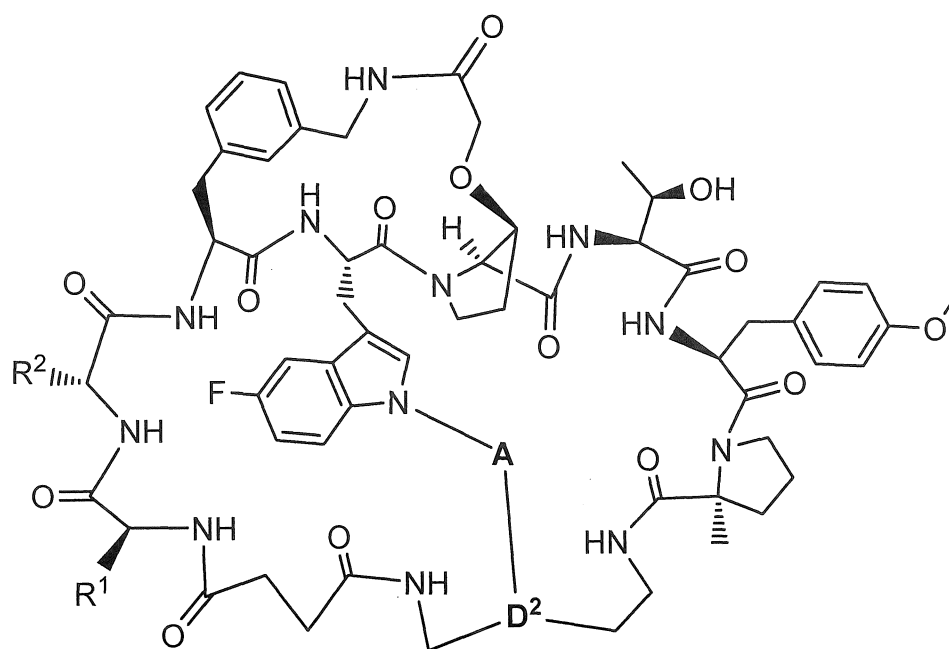
với D¹ là gốc có công thức: . Theo một số phương án Công thức II hoặc

Công thức IIA, được ưu tiên đối với D¹ là gốc có công thức: . Theo một số phương án của Công thức II hoặc Công thức IIA, được ưu tiên đối với D¹ là gốc

có công thức: . Theo một số phương án của Công thức II hoặc Công

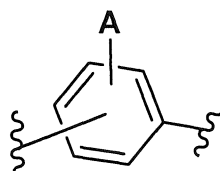
thức IIA, được ưu tiên đối với D¹ là gốc có công thức: .

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I tốt hơn là hợp chất có công thức III:

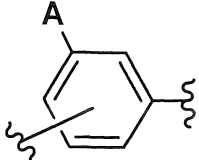


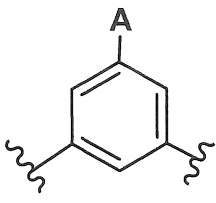
Công thức III,

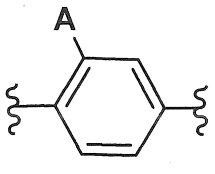
trong đó, A, R¹ và R² như được xác định ở trên trong công thức IA và D² là gốc có công thức:



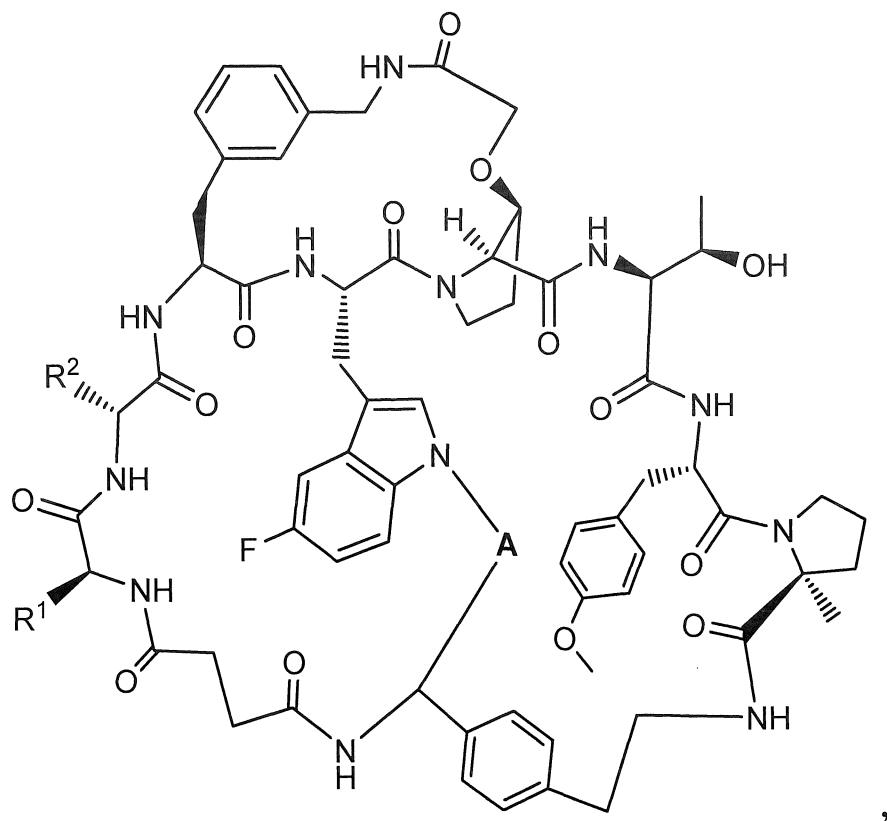
Theo một số phương án của Công thức III, được ưu tiên đối với D² là gốc có công

thức: . Theo một số phương án của Công thức III, được ưu tiên đối với

D² là gốc có công thức: . Theo một số phương án của Công thức III,

được ưu tiên đối với D² là gốc có công thức: .

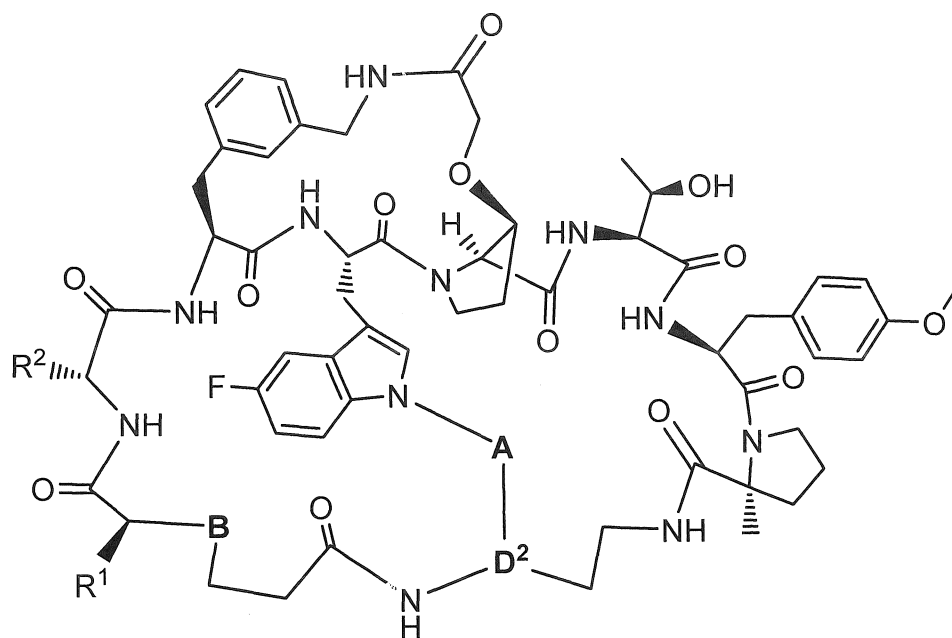
Theo một số phương án, hợp chất có công thức I tốt hơn là hợp chất có công thức IV:



Công thức IV,

trong đó, A, R¹ và R² như được xác định ở trên trong công thức IA.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất có công thức V:



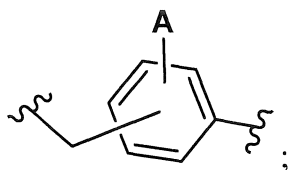
Công thức V,

trong đó

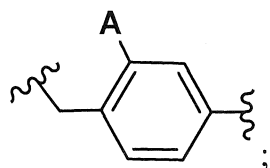
A, B, R^1 và R^2 như được xác định ở trên trong công thức IA; và

D^2 là:

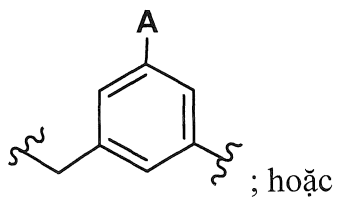
(a) gốc có công thức:



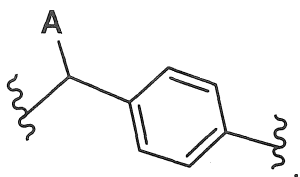
(b) gốc có công thức:



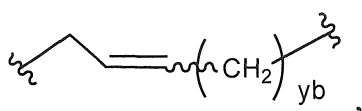
(c) gốc có công thức:



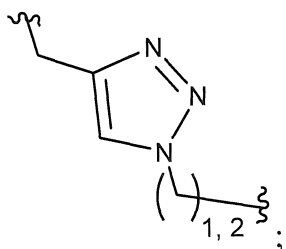
(d) gốc có công thức:



Theo một số phương án của Công thức I, Công thức IA, Công thức II, Công thức IIA, Công thức III, Công thức IV, hoặc Công thức V, được ưu tiên đối với A là gốc có công thức: $-(CH_2)_{ya}$, trong đó ya nằm trong khoảng từ 4 đến 6. Theo một số phương án của Công thức I, Công thức IA, Công thức II, hoặc Công thức IIA, được ưu tiên đối với A là gốc có công thức: $-CH_2-(CH_2)_{ma}-O-(CH_2)_{na}-$, trong đó ma là 2 hoặc 3 và na là 0 hoặc 1. Theo một số phương án của Công thức III, Công thức IV, hoặc Công thức V, được ưu tiên đối với A là gốc có công thức: $-CH_2-(CH_2)_{ma}-O-(CH_2)_{na}-$, trong đó ma là 2 hoặc 4 và na là 0, 1, hoặc 2. Theo một số phương án của Công thức I, Công thức IA, Công thức II, Công thức IIA, Công thức III, Công thức IV, hoặc Công thức V, được ưu tiên đối với A là gốc có công thức:



trong đó yb nằm trong khoảng từ 1 đến 3. Theo một số phương án của Công thức I, Công thức IA, Công thức II, Công thức IIA, Công thức III, Công thức IV, hoặc Công thức V, được ưu tiên đối với A là gốc có công thức:



Cũng được đề xuất trong bản mô tả này là Công thức I là các hợp chất Ex-1, Ex-2, Ex-3, Ex-4, Ex-5, Ex-6, Ex-7, Ex-8, Ex-9, Ex-10, Ex-11, Ex-12, Ex-13, Ex-14, Ex-15, Ex-16, Ex-17, Ex-18, Ex-19, Ex-20, Ex-21, Ex-22, Ex-23, Ex-24, Ex-25, Ex-26, Ex-27, Ex-28, Ex-29, Ex-31, Ex-35, Ex-36, Ex-38, Ex-39, Ex-40, Ex-41, Ex-44, Ex-47, Ex-48, Ex-49, Ex-50, Ex-51, Ex-52, Ex-53, Ex-54, Ex-55, Ex-56, Ex-57, Ex-58, Ex-59, Ex-60, và Ex-61, hoặc muối được dung bất kỳ của chúng. Các hợp chất này, được bộc lộ trong bảng 1, cũng được đề cập đến trong bản mô tả này là “hợp chất theo sáng chế.”

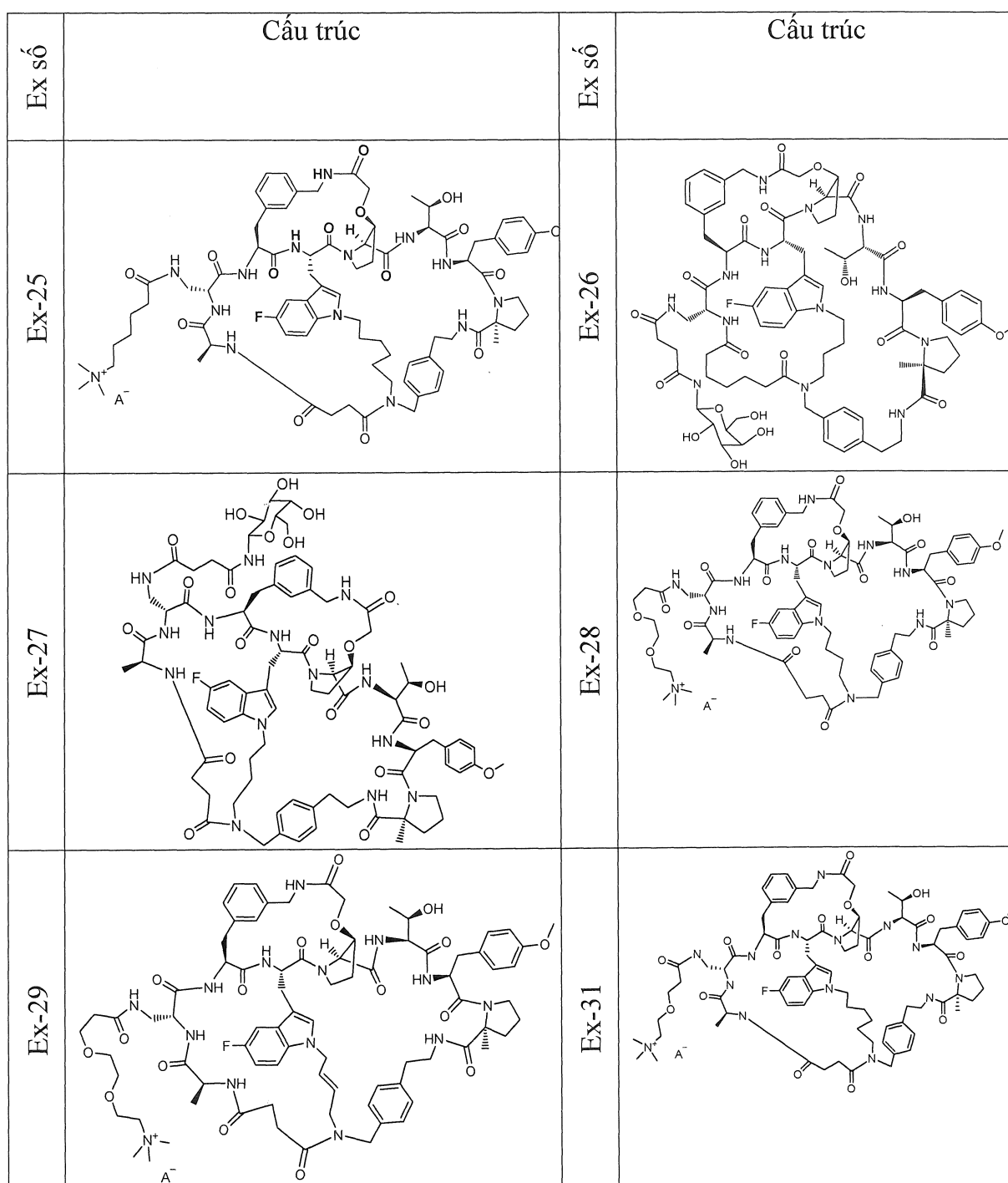
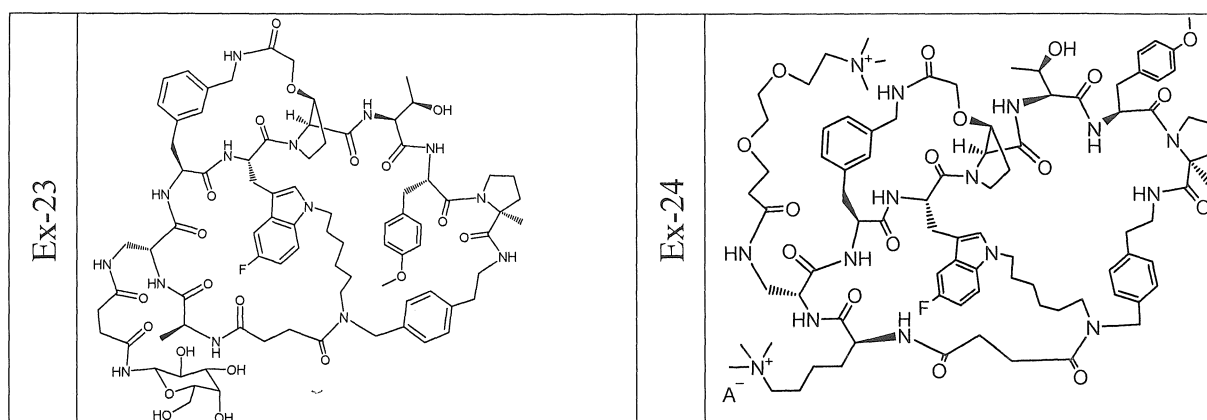
Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-01		Ex-02	
Ex-03		Ex-04	
Ex-05		Ex-06	
Ex-07		Ex-08	

Ex-09		Ex-10	
Ex-11		Ex-12	

Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-13		Ex-14	

Ex-15		Ex-16	
Ex-17		Ex-18	

Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-19		Ex-20	
Ex-21		Ex-22	

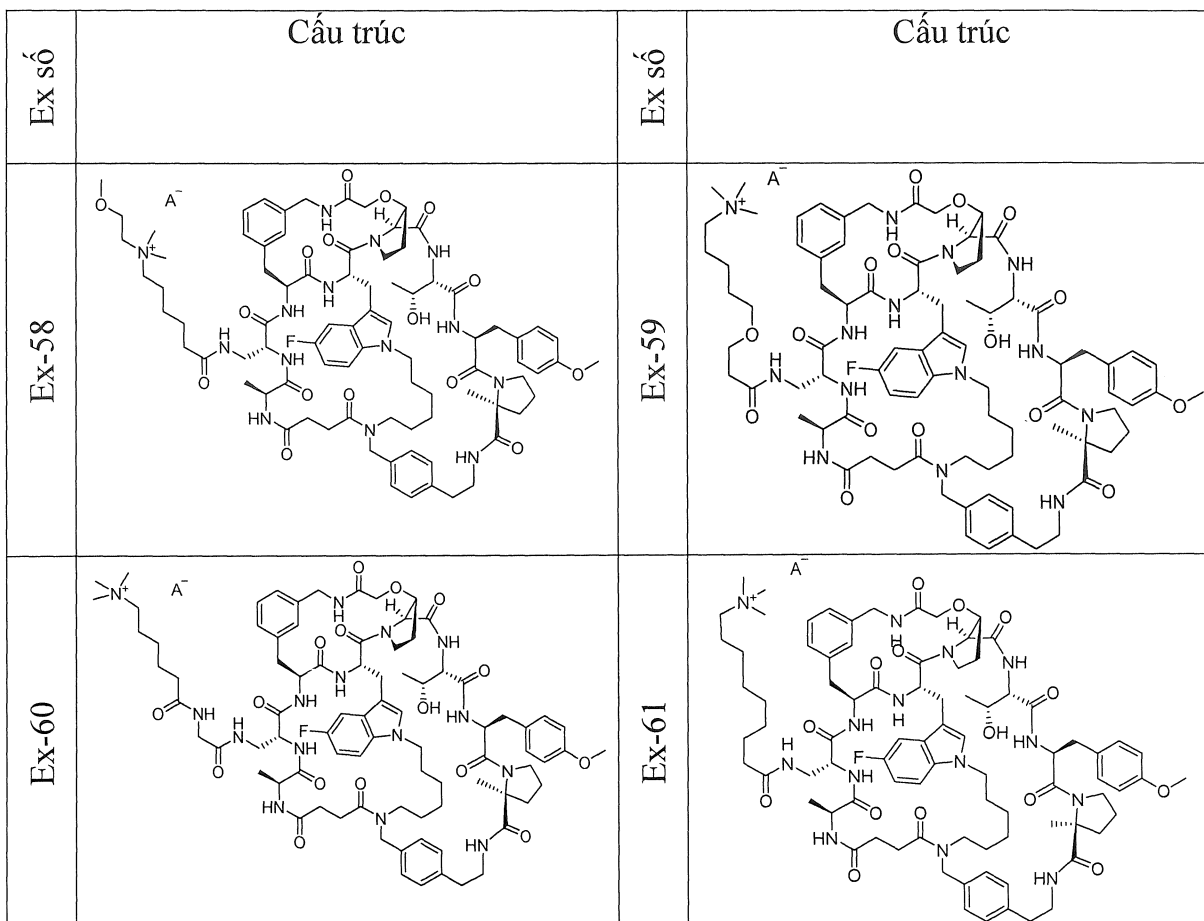
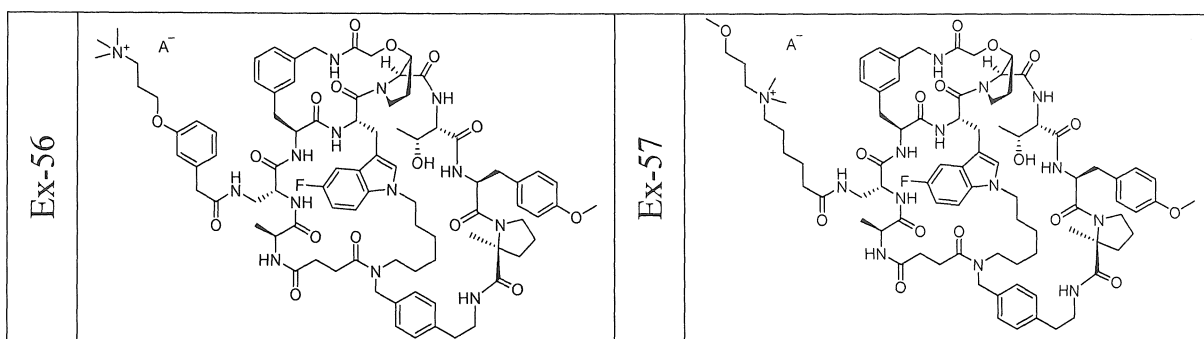


Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-35		Ex-36	
Ex-38		Ex-39	
Ex-40		Ex-41	

Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-44		Ex-47	

Ex-48		Ex-49	
Ex-50		Ex-51	

Ex số	Cấu trúc	Ex số	Cấu trúc
Ex-52		Ex-53	
Ex-54		Ex-55	



trong đó A⁻ là anion được dụng.

Thuật ngữ “(các) muối”, và việc sử dụng chúng trong cụm từ “muối được dụng” được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm bất kỳ dưới đây: muối axit được tạo ra từ axit vô cơ và/hoặc hữu cơ, muối bazơ được tạo ra từ bazơ vô cơ và/hoặc hữu cơ, phức chất amoni lưỡng tính và bậc bốn. Muối của hợp chất theo sáng chế có thể được tạo ra bằng các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, bằng cách cho hợp chất theo sáng chế phản ứng với lượng axit hoặc bazơ, chẳng hạn như lượng tương đương, trong môi trường chẳng hạn như môi trường trong đó muối kết tủa hoặc trong môi trường chứa nước sau đó đông khô.

Hợp chất theo sáng chế chứa nguyên tử cacbon ba phối trí, ví dụ, gốc amino bậc nhất, bậc hai hoặc bậc ba, trong đó, như đã biết, cặp điện tử duy nhất nằm trên nguyên tử nitơ có thể được proton hóa với axit thích hợp hoặc được alkyl hóa bằng chất phản ứng thích hợp, ví dụ, alkyl bromua, dưới điều kiện phản ứng thích hợp để tạo ra nitơ tích điện 4 phối trí được làm ổn định bằng anion được tạo ra trong quy trình này, ví dụ, ion halogen hoặc bazơ liên hợp. Do đó, hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế ở dạng bazơ tự do hoặc được phân tách ở dạng phức chất bậc bốn hoặc phức chất muối. Trong một số trường hợp, khi có một proton axit thích hợp gần một nitơ bazơ thì có thể tạo thành phức chất ion lưỡng tính. Thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này là muối của hợp chất theo sáng chế, muối axit được tạo ra từ axit vô cơ và/hoặc hữu cơ, muối bazơ được tạo ra từ bazơ vô cơ và/hoặc hữu cơ, muối được tạo ra mà bao gồm đặc tính ion lưỡng tính, ví dụ, trong đó hợp chất chứa cả gốc bazơ, ví dụ, nhưng không giới hạn ở, nguyên tử nitơ, ví dụ, amin, pyridin hoặc imidazol, và gốc axit, ví dụ, nhưng không giới hạn ở axit carboxylic, và phức chất amoni bậc bốn được bao gồm trong phạm vi của hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây.

Do đó, sự biểu diễn cấu trúc của hợp chất theo sáng chế, ở dạng bazơ tự do, dạng muối, dạng ion lưỡng tính hoặc dạng amoni bậc bốn, cũng bao gồm tất cả các dạng khác của các hợp chất được bộc lộ ở trên. Do đó, một khía cạnh của sáng chế là đề xuất hợp chất theo sáng chế ở dạng muối được dùng, phức chất ion lưỡng tính hoặc phức chất amoni bậc bốn. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ nhận ra các trường hợp này trong đó hợp chất theo sáng chế có thể tạo ra các phức chất này, bao gồm trong đó nitơ bốn phối trí có thể được thể bậc bốn hoặc được proton hóa và dạng nitơ tích điện được làm ổn định bằng anion liên kết. Thuật ngữ "muối được dùng" đề cập đến muối (bao gồm phức chất amoni bậc bốn và muối nội chẳng hạn như phức chất ion lưỡng tính) có hiệu quả tương tự hoặc cao hơn dạng bazơ tự do của hợp chất và không gây hại về mặt sinh học hoặc nếu không thì không được mong đợi (ví dụ, không độc cũng như không gây hại cho người nhận).

Sự tạo thành muối hữu dụng về mặt dược từ hợp chất được có tính bazơ (hoặc có tính axit) được bộc lộ, ví dụ, trong S. Berge et al., Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, International J. of Pharmaceutics (1986) 33 201-217; Anderson et al, The Practice of Medicinal Chemistry (1996), Academic Press, New York; trong The Orange Book (Food & Drug Administration, Washington, D.C. trên

trang web của họ); và P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (2002) Int'l. Union of Pure and Applied Chemistry, pp. 330-331. Các tài liệu được đưa vào phần mô tả bằng cách viện dẫn.

Sáng chế bao gồm cả dạng bazơ tự do của hợp chất theo sáng chế và tất cả muối có sẵn, bao gồm muối muối thường được công nhận là an toàn để sử dụng trong điều chế dược phẩm và muối có thể được tạo ra trong phạm vi kỹ năng thông thường trong lĩnh vực này và sau đó được phân loại là “thường được công nhận là an toàn” để sử dụng trong quá trình điều chế dược phẩm, được định nghĩa ở đây là “muối được dụng”. Như sẽ được đánh giá, hợp chất bazơ tự do có thể được điều chế bằng cách kiểm soát điều kiện phân lập hợp chất trong suốt quá trình tổng hợp hoặc bằng phản ứng trung hòa và trao đổi ion từ các dạng muối của hợp chất theo sáng chế.

Ví dụ về muối axit được dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, axetat, bao gồm muối trifloroaxetat, adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzoat, benzensulfonat, bisulfat, borat, butyrat, xitrat, camphorat, camphorsulfonat, xyclopentanpropionat, digluconat, dodexylsulfat, etansulfonat, fumarat, glucoheptanoat, glyxerophosphat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, hydroclorua, hydrobromua, hydroiodua, 2-hydroxyetansulfonat, lactat, maleat, metansulfonat, metyl sulfat, 2-naphtalensulfonat, nicotinat, nitrat, oxalat, pamoat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, phosphat, picrat, pivalat, propionat, salixylat, suxinat, sulfat, sulfonat (chẳng hạn như các muối được nêu ở đây), tartrat, thioxyanat, toluensulfonat (cũng được biết đến là tosylat), undecanoat, và các muối tương tự.

Ví dụ về muối bazơ được dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, muối amoni, muối kim loại kiềm chẳng hạn như muối natri, lithi, và kali, muối kim loại kiềm thổ chẳng hạn như muối canxi và magie, muối nhôm, muối kẽm, muối với bazơ hữu cơ (ví dụ, amin hữu cơ) chẳng hạn như benzathin, dietylamin, dixyclohexylamin, hydrabamin (được tạo ra với N,N-bis(dehydroabietyl)etylendiamin), N-metyl-D-glucamin, N-metyl-D-glucamit, t-butyl amin, piperazin, phenylxyclohexyl-amin, cholin, tromethamin, và muối với axit amin chẳng hạn như arginin, lysin và tương tự. Nhóm chứa bazơ nito có thể được chuyển hóa thành ion amoni hoặc được thế bậc bốn bằng chất chẳng hạn như alkyl halogenua mạch ngắn (ví dụ, metyl, etyl, propyl, và butyl clorua, bromua và

iodua), dialkyl sulfat (ví dụ, dimetyl, dietyl, dibutyl, và diamyl sulfat), halogenua mạch dài (ví dụ, dexyl, lauryl, myristyl và stearyl clorua, bromua và iodua), aralkyl halogenua (ví dụ, benzyl và phenetyl bromua), và các chất khác.

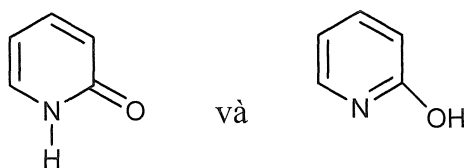
Thuật ngữ “anion được dụng” đề cập đến anion thích hợp để tạo ra muối được dụng.

Ví dụ khác về muối được dụng có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, florua, clorua, bromua và iodua.

Nhìn chung, muối của các hợp chất được dự định là muối được dụng trong phạm vi theo sáng chế.

Thuật ngữ “được tinh chế”, “ở dạng được tinh chế” hoặc “ở dạng được phân tách và được tinh chế” đối với hợp chất đề cập đến trạng thái vật lý của hợp chất này sau khi được phân tách từ quy trình tổng hợp hoặc nguồn tự nhiên hoặc hỗn hợp của chúng. Do đó, thuật ngữ “được tinh chế”, “ở dạng được tinh chế” hoặc “ở dạng được phân tách và được tinh chế” đối với hợp chất đề cập đến trạng thái vật lý của hợp chất này sau khi được thu từ quy trình hoặc các quy trình tinh chế được mô tả ở đây hoặc đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, và ở độ tinh khiết đủ để được xác định đặc điểm bằng kỹ thuật phân tích chuẩn được mô tả ở đây hoặc đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Hợp chất theo sáng chế bao gồm dạng bất kỳ của hợp chất bao gồm cả dạng *tại chỗ* trong hỗn hợp phản ứng cũng như ở dạng được phân tách và được tinh chế được thu bằng kỹ thuật thông thường. Sáng chế cũng bao gồm các dạng đa hình của hợp chất theo sáng chế và solvat và tiền được chất của chúng.

Các hợp chất nhất định theo sáng chế có thể tồn tại ở các dạng tautome khác nhau, ví dụ, nhưng không giới hạn ở, dạng tautome keton/enol, dạng tautome imin-enamin, và ví dụ dạng thơm khác loại chẳng hạn như các gốc dưới đây:



Theo cùng cách, trừ khi được chỉ ra khác, việc thể hiện cấu trúc của dạng tautome bất kỳ của hợp chất mà thể hiện hiện tượng tautome nghĩa là bao gồm tất cả các dạng

tautome này của hợp chất. Do đó, trong đó hợp chất theo sáng chế, muối của chúng, và solvat và tiền dược chất của chúng, có thể tồn tại ở các dạng tautome khác nhau hoặc ở dạng cân bằng trong số các dạng này, tất cả các dạng này của hợp chất được bao gồm bởi, và được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa một hoặc nhiều hợp chất theo sáng chế. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dược phẩm” chứa ít nhất một hợp chất có hoạt tính về mặt dược phẩm và ít nhất một tá dược, và được dự định bao gồm cả hỗn hợp của các thành phần cụ thể với lượng cụ thể, và sản phẩm bất kỳ mà thu được, trực tiếp hoặc gián tiếp, từ tổ hợp của các thành phần cụ thể với lượng cụ thể.

Như sẽ được đánh giá bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, tá dược là phần tử cấu thành bất kỳ mà làm cho chế phẩm phù hợp với đường dùng cụ thể hoặc hỗ trợ quá trình xử lý của chế phẩm thành dạng liều mà bản thân nó không có tác dụng dược có hoạt tính. Nhìn chung chế phẩm chứa nhiều hơn một tá dược tùy thuộc vào đường dùng và đặc điểm của các hoạt chất được dùng. Ví dụ về tá dược mang lại các đặc tính cho chế phẩm khiến chế phẩm dễ xử lý hoặc sản xuất bao gồm, nhưng không giới hạn ở, chất làm trơn hoặc chất hỗ trợ ép trong thuốc dạng bột dùng để tạo viên nén, và chất ổn định nhũ tương trong các chế phẩm mà hoạt chất có ở dạng nhũ tương. Ví dụ về tá dược mà làm cho chế phẩm phù hợp với đường dùng mong muốn, ví dụ, nhưng không giới hạn ở, dùng qua đường miệng, chất tăng cường hấp thụ thúc đẩy sự hấp thụ qua đường dạ dày ruột, dùng qua da hoặc qua niêm mạc, chất tăng cường xâm nhập, ví dụ, các chất được sử dụng trong "miếng dán" dính da hoặc các chế phẩm để dùng bằng miệng.

Tuy tá dược thể hiện chức năng trong chế phẩm, tá dược được gọi chung là ở đây "chất mang". Thông thường, công thức có thể chứa đến khoảng 95% thành phần hoạt tính và còn lại là chất mang, mặc dù công thức với các tỷ lệ khác nhau có thể được chuẩn bị. Nhìn chung, dược phẩm được dụng chứa nồng độ hoạt chất thích hợp mà lượng hữu hiệu của chất đối kháng PCSK9 có thể được cung cấp ở dạng bào chế riêng rẽ với thể tích chấp nhận được dựa trên đường dùng sao cho nó có thể tạo ra nồng độ hoạt chất trong huyết thanh điều trị trong một khoảng thời gian có thể chấp nhận được ở đối tượng mà chế phẩm được dùng và chế phẩm sẽ duy trì hoạt tính sinh học trong quá trình bảo

quản trong khoảng nhiệt độ có thể chấp nhận được trong khoảng thời gian có thể chấp nhận được.

Dược phẩm, như được sử dụng trong bản mô tả này, chỉ cả dược phẩm liều lớn, nghĩa là, nguyên liệu được bào chế chưa được tạo thành đơn vị liều riêng rẽ để dùng, và dược phẩm này được chứa trong các đơn vị liều riêng rẽ.

Trong khi dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng liều lớn, được đánh giá rằng đối với hầu hết dược phẩm ứng dụng sẽ được kết hợp vào dạng liều tạo ra đơn vị riêng rẽ thích hợp để dùng cho bệnh nhân, mỗi dạng liều chứa lượng dược phẩm được chọn mà chứa lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều hợp chất có công thức I. Các ví dụ về dạng liều thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dạng liều phù hợp để: (i) dùng đường miệng, ví dụ, chất lỏng, gel, bột, dược phẩm rắn hoặc bán rắn được nạp vào viên nang hoặc được ép thành viên nén và có thể chứa thêm một hoặc nhiều lớp phủ mà cải biến đặc tính giải phóng của nó, ví dụ, lớp phủ mang lại sự giải phóng hoặc công thức được làm chậm mà có đặc tính giải phóng kéo dài; (ii) dạng liều phù hợp để dùng qua mô của khoang miệng, ví dụ, viên nén hòa tan nhanh, viên thuốc hình thoi, dung dịch, gel, bao hoặc mảng kim thích hợp để tạo ra việc dùng qua niêm mạc; (iii) dạng liều phù hợp để dùng qua niêm mạc của mũi hoặc khoang hô hấp trên, ví dụ dạng bào chế dung dịch, huyền phù hoặc nhũ tương để phân tán trong mũi hoặc đường thở; (iv) dạng liều phù hợp để dùng qua da, ví dụ, miếng dán, kem hoặc gel; (v) dạng liều phù hợp để dùng qua da, ví dụ, mảng vi kim; (vi) dạng liều phù hợp để truyền qua tĩnh mạch (IV), ví dụ, trong thời gian kéo dài bằng cách sử dụng bơm truyền I.V.; (vii) dạng liều phù hợp để dùng trong cơ (IM), ví dụ, dung dịch hoặc huyền phù có thể tiêm được, và có thể phù hợp để tạo ra kho chứa có đặc tính giải phóng kéo dài; (viii) dạng liều phù hợp để dùng nhỏ giọt qua tĩnh mạch (IV), ví dụ, dung dịch hoặc huyền phù, ví dụ, là dung dịch IV hoặc chất cô cần được tiêm vào túi nước muối IV; (ix) dạng liều phù hợp để dùng dưới da, bao gồm dùng trong thời gian kéo dài bằng cách cấy bằng que hoặc thiết bị khác mà khuếch tán hợp chất vào mô xung quanh và nhờ đó cung cấp lượng điều trị huyết thanh liên tục; hoặc (x) dạng liều phù hợp để phân phối qua trực tràng hoặc niêm mạc âm đạo, ví dụ, thuốc đạn.

Dược phẩm có thể là chất rắn, bán rắn hoặc chất lỏng. Chế phẩm dạng rắn, bán rắn và lỏng có thể phù hợp cho nhiều cách dùng, các ví dụ trong số đó bao gồm, nhưng

không giới hạn ở, bột, viên nang có thể phân tán được, viên nén nhỏ, giọt, có thể được sử dụng, ví dụ, để dùng cho viên nén, bao nang, hoặc dùng trực tiếp. Ngoài ra, được phẩm dạng lỏng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dung dịch, huyền phù và nhũ tương ví dụ, nhưng không loại trừ, có thể được sử dụng trong quy trình điều chế được phẩm được dự định dùng để ăn, hít hoặc qua tĩnh mạch (IV), ví dụ, nhưng không giới hạn ở, dùng qua bơm IV nhỏ giọt hoặc truyền, tiêm trong cơ (IM), ví dụ, liều lớn được giải phóng trong thời gian kéo dài, tiêm IV trực tiếp, hoặc phù hợp với đường dùng dưới da.

Các đường dùng khác có thể bao gồm dùng trong mũi, hoặc dùng cho một số màng niêm mạc khác. Được phẩm được điều chế để dùng cho các màng niêm mạc khác nhau cũng có thể có các thành phần khác phù hợp để dùng như vậy, ví dụ, chất cải biến độ nhớt.

Mặc dù theo một số phương án, được phẩm thích hợp để sử dụng ở dạng liều rắn dùng qua miệng, ví dụ, viên nén hoặc dạng bào chế tan trong miệng nóng tan chảy nhanh là đường dùng thích hợp đối với hợp chất theo sáng chế hoặc muối của chúng, được phẩm theo sáng chế có thể được bào chế để dùng qua các đường khác được nêu ở trên. Các ví dụ bao gồm chế phẩm dạng sol khí, ví dụ, thích hợp để dùng bằng cách hít hoặc qua niêm mạc mũi, có thể bao gồm dung dịch và chất rắn ở dạng bột, có thể kết hợp với nhiên liệu đẩy được dùng, ví dụ, khí nén trợ, ví dụ, nitơ. Cũng bao gồm các dạng bào chế rắn được dự định để được chuyển hóa, nhanh trước khi sử dụng, thành huyền phù hoặc dung dịch, ví dụ, để dùng qua miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Các ví dụ về các dạng chất rắn này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, dạng bào chế được làm đông khô và dạng bào chế lỏng được hấp phụ vào môi trường chất hấp phụ rắn.

Ví dụ, hợp chất theo sáng chế cũng có thể phân phối qua da hoặc qua niêm mạc, ví dụ, từ chất lỏng, thuốc đạn, kem, bột, gel, hoặc dạng chất rắn hòa tan nhanh chóng. Được đánh giá rằng được phẩm qua da cũng có thể được dùng ở dạng kem, nước thơm, sol khí và/hoặc nhũ tương và có thể được tạo ra ở dạng liều đơn vị bao gồm miếng dán qua da đã biết bất kỳ trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, miếng dán kết hợp chất nền bao gồm hợp chất có hoạt tính về mặt dược phẩm hoặc vật chứa mà chứa dạng rắn hoặc dạng lỏng của hợp chất có hoạt tính về mặt dược phẩm.

Các ví dụ về chất mang được dùng và phương pháp sản xuất đối với các được phẩm khác nhau được nêu ở trên có thể được tìm thấy trong tài liệu A. Gennaro (ed.),

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, (2000), Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD. Các ví dụ khác về các vấn đề bào chế đang được thảo luận đã công bố có thể được tìm thấy trong tài liệu: Pharmaceutical compositions may be constructed by any number of strategies known in the art, *xem, ví dụ*, McGoff và Scher, 2000 *Solution Formulation of Proteins/Peptides*: In – McNally, E.J., ed. Protein Formulation and Delivery. New York, NY: Marcel Dekker; pp. 139-158; Akers & Defilippis, 2000, *Peptides and Proteins as Parenteral Solutions*. In – Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins. Philadelphia, PA: Taylor and Francis; pp. 145-177; Akers *et al.*, 2002, *Pharm. Biotechnol.* 14:47-127.

Theo một khía cạnh khác sáng chế đề xuất các phương pháp sử dụng hợp chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 được mô tả ở đây để đối kháng chức năng PCSK9; các phương pháp này còn được mô tả dưới đây. Việc sử dụng thuật ngữ “đối kháng” xuyên suốt bản mô tả đề cập đến việc cung cấp cho (các) mô bị ảnh hưởng chất có hoạt động ức chế, làm mất tác dụng, làm trung tính hoặc làm mất một hoặc nhiều chức năng của PCSK9 trong mô bị ảnh hưởng. Sự ức chế hoặc đối kháng của một hoặc nhiều đặc tính chức năng liên quan đến PCSK9 có thể dễ dàng được xác định theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật (*xem, ví dụ*, Barak & Webb, 1981 *J. Cell Biol.* 90:595-604; Stephan & Yurachek, 1993 *J. Lipid Res.* 34:325330; và McNamara *et al.*, 2006 *Clinica Chimica Acta* 369:158-167) cũng như các ví dụ được mô tả ở đây. Sự ức chế hoặc đối kháng sẽ đem lại sự giảm hoạt tính PCSK9 so với hoạt tính có thể thấy trong khi không có mặt chất đối kháng hoặc, ví dụ, được thấy so với hoạt tính được quan sát thấy khi có chất đối kháng đối chứng có tính đặc hiệu không liên quan. Tốt hơn là, chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 theo sáng chế đối kháng hoạt tính PCSK9 đến mức có sự giảm ít nhất 10% thông số đo được bao gồm nhưng không giới hạn ở hoạt tính được bộc lộ ở đây, và tốt hơn nữa là, giảm ít nhất 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% và 95% thông số đo được. Sự ức chế/đối kháng này của hoạt tính PCSK9 đặc biệt hiệu quả trong các trường hợp này trong đó hoạt tính PCSK9 đóng góp ít nhất một phần vào kiểu hình, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh cụ thể mà tác dụng bất lợi cho đối tượng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp đối kháng hoạt tính của PCSK9, mà bao gồm việc cho tế bào, quần thể tế bào hoặc mẫu mô có khả năng bị ảnh hưởng bởi PCSK9 (*nghĩa là*, biểu hiện và/hoặc bao gồm thụ thể LDL) tiếp xúc với chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 được bộc lộ ở đây dưới điều kiện mà cho phép chất đối

kháng này gắn kết với PCSK9 khi có mặt và ức chế sự ức chế PCSK9 hấp thụ LDL tế bào. Theo một số phương án của sáng chế bao gồm các phương pháp trong đó tế bào này là tế bào người. Các phương án khác của sáng chế bao gồm các phương pháp trong đó tế bào này là tế bào chuột.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp đối kháng hoạt tính của PCSK9 ở đối tượng, bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 theo sáng chế. Theo một số phương án, các phương pháp để đối kháng chức năng PCSK9 là để điều trị, như được xác định ở đây, bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến PCSK9 hoặc, theo cách khác, để cung cấp liệu pháp trong bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh mà có thể có lợi từ tác động của chất đối kháng PCSK9.

Do đó, sáng chế bao gồm việc sử dụng chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 được mô tả ở đây trong các phương pháp điều trị khác nhau trong đó đối kháng chức năng PCSK9 được mong đợi. Như được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “phương pháp điều trị” chỉ quá trình hoạt động dẫn đến sự thay đổi ở ít nhất một triệu chứng của trạng thái bệnh mà về bản chất có thể phòng ngừa hoặc điều trị. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị cho tình trạng bệnh liên quan đến và/hoặc được cho là do hoạt tính PCSK9, hoặc tình trạng bệnh trong đó chức năng của PCSK9 cấm dùng cho đối tượng cụ thể, phương pháp này bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng cho hiệu quả điều trị của hợp chất có công thức I chất đối kháng PCSK9, hoặc muối được dùng của nó. Theo một số phương án, tình trạng bệnh có thể là bệnh xơ vữa động mạch, chứng tăng cholesterol-huyết, bệnh tim mạch vành, hội chứng chuyển hóa, hội chứng mạch vành cấp tính hoặc bệnh tim mạch có liên quan và tình trạng bệnh tim mạch chuyển hóa, hoặc có thể là trạng thái bệnh hoặc tình trạng bệnh trong đó hoạt tính PCSK9 bị cấm dùng.

Phương pháp điều trị theo sáng chế bao gồm việc dùng cho đối tượng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu (hoặc có tác dụng phòng ngừa) của chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 theo sáng chế. Việc sử dụng thuật ngữ “có tác dụng trị liệu hiệu quả” hoặc “các tác dụng phòng ngừa hiệu quả” đề cập đến lượng chỉ lượng cần thiết ở liều được dự định để đạt được tác dụng điều trị và/hoặc phòng ngừa mong muốn trong thời gian mong muốn. Tác dụng mong muốn có thể là, ví dụ, làm giảm, cải thiện, giảm hoặc ngừng ít

nhất một triệu chứng liên quan đến tình trạng bệnh cần điều trị. Lượng này sẽ thay đổi, khi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật sẽ đánh giá, theo các yếu tố khác nhau, bao gồm nhưng không giới hạn ở trạng thái bệnh, độ tuổi, giới tính, và cân nặng của đối tượng, và khả năng của chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 để suy ra tác dụng mong muốn ở đối tượng. Đáp ứng này có thể được ghi lại bằng thử nghiệm *in vitro*, nghiên cứu động vật không phải người *in vivo*, và/hoặc còn được hỗ trợ từ các thử nghiệm lâm sàng.

Theo một số phương án được ưu tiên là dùng hợp chất đối kháng PCSK9 theo sáng chế ở dạng dược phẩm như được mô tả ở đây.

Liều điều trị đối kháng cũng nằm trong lĩnh vực của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, xem, ví dụ, Lederman *et al.*, 1991 *Int. J. Cancer* 47:659-664; Bagshawe *et al.*, 1991 *Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals* 4:915-922, và sẽ thay đổi dựa trên một số yếu tố, ví dụ, nhưng không giới hạn ở, các yếu tố được nêu ở trên, bao gồm tình trạng bệnh của bệnh nhân, vùng cần điều trị, đường dùng, và việc điều trị mong muốn, ví dụ, phòng ngừa hoặc điều trị cấp tính và tương tự. Bác sĩ hoặc bác sĩ thú y có hiểu biết trung bình có thể dễ dàng xác định và kê lượng cho hiệu quả điều trị của chất đối kháng.

Đối tượng có thể cần, hoặc muốn, điều trị bệnh đang tồn tại hoặc tình trạng bệnh y tế. Như được sử dụng trong bản mô tả này, đối tượng "cần" điều trị tình trạng bệnh đang tồn tại bao gồm cả xác định là cần bởi chuyên gia y tế cũng như mong muốn của đối tượng đối với việc điều trị này. Khi hợp chất hoặc muối của chúng được tạo ra kết hợp với một hoặc nhiều chất có hoạt tính khác, "việc dùng" và mỗi biến thể của nó được hiểu là bao gồm việc cung cấp hợp chất hoặc muối của nó và chất khác cùng lúc hoặc đồng thời hoặc qua quá trình dùng riêng rẽ qua thời gian. Khi chất trong chế phẩm kết hợp được dùng tại cùng thời điểm, chúng có thể được dùng cùng nhau trong dược phẩm riêng rẽ hoặc chúng có thể được dùng riêng rẽ. Cần hiểu rằng "tổ hợp" các chất có hoạt tính có thể là dược phẩm duy nhất chứa tất cả các chất có hoạt tính hoặc nhiều dược phẩm mỗi dược phẩm chứa một hoặc nhiều chất có hoạt tính. Trong trường hợp có hai chất có hoạt tính tổ hợp có thể là dược phẩm duy nhất chứa cả hai chất hoặc hai dược phẩm riêng rẽ mỗi dược phẩm chứa một trong số các chất; trong trường hợp có ba chất có hoạt tính chế phẩm kết hợp có thể là một dược phẩm chứa cả ba chất, ba dược phẩm

riêng rẽ mỗi được phẩm chứa một trong số các chất, hoặc hai được phẩm một được phẩm trong số đó chứa hai chất và được phẩm còn lại chứa ba chất; và v.v.

Được phẩm và tổ hợp theo sáng chế thích hợp được dùng với lượng hữu hiệu. Thuật ngữ “lượng hữu hiệu” nghĩa là lượng hợp chất có hoạt tính đủ để đối kháng PCSK9 và nhờ đó suy ra đáp ứng đang được tìm kiếm (*nghĩa là*, gây ra đáp ứng trị liệu trong việc điều trị hoặc quản lý tình trạng bệnh liên quan đến hoặc được tác động bởi chức năng PCSK9, bao gồm, nhưng không giới hạn ở bệnh xơ vữa động mạch, chứng tăng cholesterol-huyết, bệnh tim mạch vành, hội chứng chuyển hóa, hội chứng mạch vành cấp tính, và bệnh tim mạch có liên quan và tình trạng bệnh tim mạch chuyển hóa ở động vật hoặc người).

Liều thực tế được sử dụng có thể thay đổi tùy thuộc vào yêu cầu của bệnh nhân và mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh được điều trị. Việc xác định phác đồ dùng liều phù hợp cho trường hợp cụ thể là thuộc hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu chuẩn, ví dụ, như được mô tả trong tài liệu “Physicians’ Desk Reference” (PDR), ví dụ, tái bản lần 1996 (Medical Economics Company, Montvale, NJ 07645-1742, USA), Physicians’ Desk Reference, tái bản lần thứ 56, 2002 (được công bố bởi Medical Economics company, Inc. Montvale, NJ 07645-1742), hoặc Physicians’ Desk Reference, tái bản lần thứ 57, 2003 được công bố bởi Thompson PDR, Montvale, NJ 07645-1742); nội dung của các tài liệu này được kết hợp trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn. Để thuận tiện, tổng liều hàng ngày có thể được chia nhỏ và được dùng từng phần trong cả ngày như yêu cầu hoặc được phân phối liên tục.

Chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 có thể được dùng cho đối tượng bằng đường dùng bất kỳ được đánh giá trong lĩnh vực kỹ thuật, bao gồm nhưng không giới hạn ở dùng đường miệng, dùng bằng cách tiêm (phương án cụ thể bao gồm tiêm qua tĩnh mạch, dưới da, trong màng bụng hoặc qua cơ), hoặc dùng bằng cách hít, qua mũi, hoặc dùng tại chỗ, một mình hoặc kết hợp với chất khác được chỉ định để hỗ trợ việc điều trị của đối tượng. Chất đối kháng đặc hiệu PCSK9 cũng có thể được dùng bằng thiết bị tiêm, bút tiêm, thiết bị không kim; và hệ thống phân phối miếng dán dưới da. Đường dùng cần được xác định dựa trên số lần xem xét được đánh giá bởi người có hiểu biết trung

bình trong lĩnh vực kỹ thuật bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đặc điểm hóa sinh lý mong muốn của việc điều trị.

Một hoặc nhiều chất có hoạt tính dược lý khác có thể được dùng kết hợp với hợp chất có công thức I. Chất (hoặc các chất) có hoạt tính khác được dự định có nghĩa là chất (hoặc các chất) có hoạt tính dược mà hoạt động trong cơ thể, bao gồm tiền dược chất mà chuyển hóa thành dạng có hoạt tính dược sau khi dùng, mà khác với hợp chất có công thức I, và cũng bao gồm muối axit tự do, muối bazơ tự do và muối được dùng của chất có hoạt tính khác. Thông thường, chất hoặc các chất có hoạt tính khác thích hợp bất kỳ, bao gồm nhưng không giới hạn ở chất chống tăng huyết áp, chất chống xơ vữa động mạch chẳng hạn như hợp chất cải biến lipid, chất chống đái tháo đường và/hoặc chất chống béo phì mà có thể được sử dụng kết hợp bất kỳ với hợp chất có công thức I ở dạng bào chế liều duy nhất (tổ hợp dược chất liều cố định), hoặc có thể được dùng cho đối tượng ở một hoặc nhiều dạng bào chế liều riêng rẽ cho phép dùng đồng thời hoặc lần lượt chất có hoạt tính (cùng dùng chất có hoạt tính riêng rẽ).

Ví dụ về chất có hoạt tính khác có thể được sử dụng bao gồm nhưng không giới hạn ở chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin (ví dụ, alacepril, benazepril, captopril, ceronapril, cilazapril, delapril, enalapril, enalaprilat, fosinopril, imidapril, lisinopril, moveltipril, perindopril, quinapril, ramipril, spirapril, temocapril, hoặctrandolapril), chất đối kháng thụ thể angiotensin II (ví dụ, losartan nghĩa là, COZAAR®, valsartan, candesartan, olmesartan, telmesartan và thuốc bất kỳ trong số các thuốc này được sử dụng kết hợp với hydrochlorothiazit chẳng hạn như HYZAAR®); chất ức chế endopeptidaza trung tính (ví dụ, thiorphan và phosphoramidon), chất đối kháng aldosteron, chất ức chế aldosteronsynthaza, chất ức chế renin (ví dụ, dẫn xuất ure của di- và tri-peptit (xem tài liệu Patent Mỹ số 5,116,835), axit amin và dẫn xuất (Patent Mỹ 5,095,119 và 5,104,869), chuỗi axit amin được liên kết bởi liên kết không peptit (Patent Mỹ số 5,114,937), dẫn xuất di- và tri-peptit, peptidyl amino diol và peptidyl beta-aminoacyl aminodiol carbamat, và chất ức chế renin phân tử nhỏ (bao gồm diol sulfonamid và sulfinyl), dẫn xuất N-morpholino, rượu dị vòng chứa N và pyrolimidazon; ngoài ra, dẫn xuất pepstatin và dẫn xuất fluoro- và cloro- của peptit chứa staton, enalkrein, RO 42-5892, A 65317, CP 80794, ES 1005, ES 8891, SQ 34017, aliskiren (2(S),4(S),5(S),7(S)-N-(2-carbamoyl-2-metylpropyl)-5-amino-4-hydroxy-2,7-

diisopropyl-8-[4-metoxy-3-(3-metoxypropoxy)-phenyl]-octanamid hemifumarat) SPP600, SPP630 và SPP635), chất đối kháng thụ thể endothelin, chất ức chế phosphodiesteraza-5 (ví dụ, sildenafil, tadalafil và vardenafil), chất gây giãn mạch, chất phong bế kênh canxi (ví dụ, amlodipin, nifedipin, verapamil, diltiazem, gallopamil, niludipin, nimodipin, nicardipin), chất hoạt hóa kênh kali (ví dụ, nicorandil, pinacidil, cromakalim, minoxidil, aprilkalim, loprazolam), thuốc lợi tiểu (ví dụ, hydrochlorothiazit), chất ức chế giao cảm, thuốc chẹn beta gây tiết adrenalin (ví dụ, propranolol, atenolol, bisoprolol, carvedilol, metoprolol, hoặc metoprolol tartat), thuốc chẹn alpha gây tiết adrenalin (ví dụ, doxazocin, prazosin hoặc alpha metyldopa), chất chủ vận alpha gây tiết adrenalin trung tâm, chất gây giãn mạch ngoại vi (ví dụ, hydralazin); chất hạ lipid, ví dụ, chất ức chế HMG-CoA reductaza chẳng hạn như simvastatin và lovastatin được bán trên thị trường với tên là ZOCOR® và MEVACOR® ở dạng tiền dược chất lacton và chức năng là chất ức chế sau khi dùng, và muối được dùng của chất ức chế HMG-CoA reductaza axit vòng mở dihydroxy chẳng hạn như atorvastatin (cụ thể là muối canxi được bán với tên là LIPITOR®), rosuvastatin (cụ thể là muối canxi được bán dưới tên là CRESTOR®), pravastatin (cụ thể là muối natri được bán dưới tên là PRAVACHOL®), fluvastatin (cụ thể là muối natri được bán dưới tên là LESCOL®), crivastatin, và pitavastatin; chất ức chế hấp thụ cholesterol chẳng hạn như ezetimibe (ZETIA®) và ezetimibe kết hợp với bất kỳ chất hạ lipid khác chẳng hạn như chất ức chế HMG-CoA reductaza được lưu ý ở trên và cụ thể là với simvastatin (VYTORIN®) hoặc với atorvastatin canxi; niacin ở dạng giải phóng tức thì hoặc giải phóng kiểm soát và/hoặc với chất ức chế HMG-CoA reductaza; chất chủ vận thụ thể niacin chẳng hạn như acipimox và acifran, cũng như chất chủ vận một phần thụ thể niacin; chất thay đổi trao đổi chất bao gồm insulin và chất mô phỏng insulin (ví dụ, insulin degludec, insulin glargin, insulin lispro), chất ức chế dipeptidyl peptidaza-IV (DPP-4) (ví dụ, sitagliptin, alogliptin, omarigliptin, linagliptin, vildagliptin); chất nhạy insulin, bao gồm (i) chất chủ vận PPAR γ , chẳng hạn như glitazon (ví dụ, pioglitazon, AMG 131, MBX2044, mitoglitazon, lobeglitazon, IDR-105, rosiglitazon, và balaglitazon), và phối tử PPAR khác, bao gồm (1) chất chủ vận kép PPAR α/γ (ví dụ, ZYH2, ZYH1, GFT505, chiglitazar, muraglitazar, aleglitazar, sodelglitazar, và naveglitazar); (2) chất chủ vận PPAR α chẳng hạn như dẫn xuất axit fenofibric (ví dụ, gemfibrozil, clofibrat, ciprofibrat, fenofibrat, bezafibrat), (3) chất điều biến PPAR γ chọn

lọc (SPPAR γ M), (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu WO 02/060388, WO 02/08188, WO 2004/019869, WO 2004/020409, WO 2004/020408, và WO 2004/066963); và (4) chất chủ vận một phần PPAR γ ; (ii) biguanit, chẳng hạn như metformin và muối được dụng của nó, cụ thể là, metformin hydroclorua, và dạng bào chế giải phóng kéo dài của chúng, chẳng hạn như Glumetza™, Fortamet™, và GlucophageXR™; và (iii) chất ức chế protein tyrosin phosphatase-1B (PTP-1B) (ví dụ, ISIS-113715 và TTP814); insulin hoặc chất tương tự insulin (ví dụ, insulin detemir, insulin glulisin, insulin degludec, insulin glargin, insulin lispro và dạng bào chế có thể hít được của mỗi chất); leptin và dẫn xuất leptin và chất chủ vận; amylin và chất tương tự amylin (ví dụ, pramlintit); sulfonylure và chất kích thích bài tiết insulin không sulfonylure (ví dụ, tolbutamit, glyburide, glipizide, glimepiride, mitiglinide, meglitinide, nateglinide và repaglinide); chất ức chế α -glucosidaza (ví dụ, acarboza, vogliboza và miglitol); chất đối kháng thụ thể glucagon (ví dụ, MK-3577, MK-0893, LY-2409021 và KT6-971); chất mô phỏng incretin, chẳng hạn như GLP-1, chất tương tự GLP-1, dẫn xuất, và chất mô phỏng; và chất chủ vận thụ thể GLP-1 (ví dụ, dulaglutide, semaglutide, albiglutide, exenatide, liraglutide, lixisenatide, taspoglutide, CJC-1131, và BIM-51077, bao gồm trong mũi, qua da, và dạng bào chế dùng một lần mỗi tuần của chúng); chất chelat hóa axit mật (ví dụ, colestilan, colestimide, colesevalam hydroclorua, colestipol, cholestyramin, và dẫn xuất dialkylaminoalkyl của dextran liên kết ngang), axyl CoA: chất ức chế cholesterol acyltransferaza, (ví dụ, avasimibe); chất chống béo phì; chất được dự định để sử dụng cho tình trạng viêm, chẳng hạn như aspirin, thuốc chống viêm không steroid hoặc NSAID, glucocorticoid, và chất ức chế cyclooxygenaza-2 hoặc COX-2 chọn lọc; chất hoạt hóa glucokinaza (GKA) (ví dụ, AZD6370); chất ức chế 11 β -hydroxysteroid dehydrogenaza typ 1, (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu Patent Mỹ số 6,730,690, và LY-2523199); chất ức chế CETP (ví dụ, anacetrapib, torcetrapib, và evacetrapib); chất ức chế của fructoza 1,6-bisphosphatase, (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu Patent Mỹ số 6,054,587; 6,110,903; 6,284,748; 6,399,782; và 6,489,476); chất ức chế của axetyl CoA carboxylaza-1 hoặc 2 (ACC1 hoặc ACC2); chất hoạt hóa protein kinase hoạt hóa AMP (AMPK); chất chủ vận khác của thụ thể liên kết G-protein: (i) GPR-109, (ii) GPR-119 (ví dụ, MBX2982 và PSN821), và (iii) GPR-40 (ví dụ, TAK875); chất đối kháng SSTR3 (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu WO 2009/001836); chất chủ

vận thụ thể neuromedin U (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu WO 2009/042053, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, neuromedin S (NMS)); chất điều biến SCD; chất đối kháng GPR-105 (ví dụ, chẳng hạn như các chất được bộc lộ trong tài liệu WO 2009/000087); chất ức chế SGLT (ví dụ, ASP1941, SGLT-3, empagliflozin, dapagliflozin, canagliflozin, BI-10773, ertugliflozin, remogloflozin, TS-071, tofogliflozin, ipragliflozin, và LX-4211); chất ức chế của axyl coenzym A:diaxylglyxerol axyltransferaza 1 và 2 (DGAT-1 và DGAT-2); chất ức chế của axit béo synthaza; chất ức chế của axyl coenzyme A:monoaxylglyxerol axyltransferaza 1 và 2 (MGAT-1 và MGAT-2); chất chủ vận của thụ thể TGR5 (cũng được biết đến là GPBAR1, BG37, GPCR19, GPR131, và M-BAR); chất ức chế vận chuyển axit mật hồi tràng; PACAP, chất mô phỏng PACAP, và chất chủ vận PACAP thụ thể 3; chất chủ vận PPAR; chất ức chế protein tyrosin phosphataza-1B (PTP-1B); kháng thể IL-1b, (ví dụ, XOMA052 và canakinumab); và bromocriptin mesylat và dạng bào chế giải phóng nhanh của chúng; hoặc với các thuốc khác có lợi để điều trị các tình trạng bệnh hoặc rối loạn được nêu ở trên bao gồm dạng muối axit tự do, dạng muối bazơ tự do, và dạng muối được dụng của chất có hoạt tính ở trên tại vị trí có thể về mặt hóa học.

Hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dễ dàng theo sơ đồ phản ứng và các ví dụ dưới đây, hoặc cải biến của chúng, bằng cách sử dụng nguyên liệu ban đầu có sẵn, chất phản ứng và quy trình tổng hợp thông thường. Trong các phản ứng này, cũng có thể sử dụng các biến thể đã biết. Để tinh chế hợp chất bằng cách sử dụng sắc ký pha đảo (hoặc HPLC hoặc MPLC, như được lưu ý dưới đây), cột C18 được sử dụng. Các phương pháp khác đã biết để điều chế hợp chất theo sáng chế sẽ là rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật khi xét đến sơ đồ phản ứng và các ví dụ dưới đây. Các cụm từ viết tắt được liệt kê dưới đây có thể được sử dụng trong sơ đồ làm ví dụ và/hoặc các ví dụ ở đây.

ACN là axetonitril

AcOH là axit axetic

AcO⁻NH₄⁺ là amoni axetat

Boc₂O là di-*tert*-butyl dicacbonat

Bn là benzyl

BnBr là benzyl bromua

BzCl là benzoyl clorua

CBr₄ là perbromometan

Cbz-Cl là benzyl cloroformat

DBU là 1,8-Diazabixyclo[5.4.0]undec-7-en

DCC là dicyclohexylcarbodiimit

DCE là 1,2-dicloetan

DCM là diclorometan

DEA là N,N-dietylamin

DIAD là (E)-diisopropyl diazen-1,2-dicarboxylat

DIEA hoặc DIPEA là *N,N*-diisopropyletylamin

DMAP là 4-dimetylaminopyridin

DMF là *N,N*-dimetylformamit

DMSO là dimetyl sulfoxit

EA hoặc EtOAc là etyl axetat

EtOH là etanol

Et₂O là dietyl ete

Fmoc là nhóm bảo vệ florenylmetyloxycacbonyl

Fmoc-Cl là (9*H*-florene-9-yl)metyl cacbonocloridat

Fmoc-D-Dap(Boc)-OH là axit N- α -(9-Florenylmetyloxycacbonyl)-N-beta-t-butylloxycacbonyl-D-2,3-diaminopropionic

Fmoc-Osu là Fmoc N-hydroxysuxinimit este

HATU là 1-[bis(dimetylamino)metylen]-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]pyridini 3-oxid hexaflophosphat

HPLC là sắc ký lỏng hiệu năng cao

IPA là rượu isopropyl

LiOH là lithi hydroxit

LC/MS là sắc ký lỏng–khối phổ

Me₃N là trimetyl amin

MeOH là metanol

MPLC là sắc ký lỏng áp suất trung bình

MsCl là metansulfonyl clorua

NaBH(OAc)₃ là natri triaxetoxymetaborohydrua

NMR là cộng hưởng từ hạt nhân

NaCl là 4-nitrobenzen-1-sulfonyl clorua

PE là ete dầu mỏ

Pd₂(dba)₃(HCCl₃) là sản phẩm cộng tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi(0)-cloroform

PPh₃ là triphenylphosphin

PdCl₂(dppf) hoặc Pd(ii)(dppf)Cl₂ là dicloro[1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]paladi(II)

Pd(dppf)Cl₂CH₂Cl₂ là sản phẩm cộng dicloro[1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen]paladi(II) diclorometan

Pd(PPh₃)₄ là tetrakis(triphenylphosphin)paladi

PPT_s là pyridin: p-toluensulfonat

[Rh(OAc)₂]₂ là rodi(II) axetat dime

RT hoặc r.t. hoặc rt là nhiệt độ trong phòng

tBuOAc là tert-butyl axetat

TEA là trietylamin

TFA là axit trifloaxetic

TFE là tetrafloetylen

THF là tetrahydrofuran

Tf₂O là triflometansulfonic anhydrit

Teoc-OSu là 2,5-dioxopyrrolidin-1-yl (2-(trimetylsilyl)etyl) cacbonat

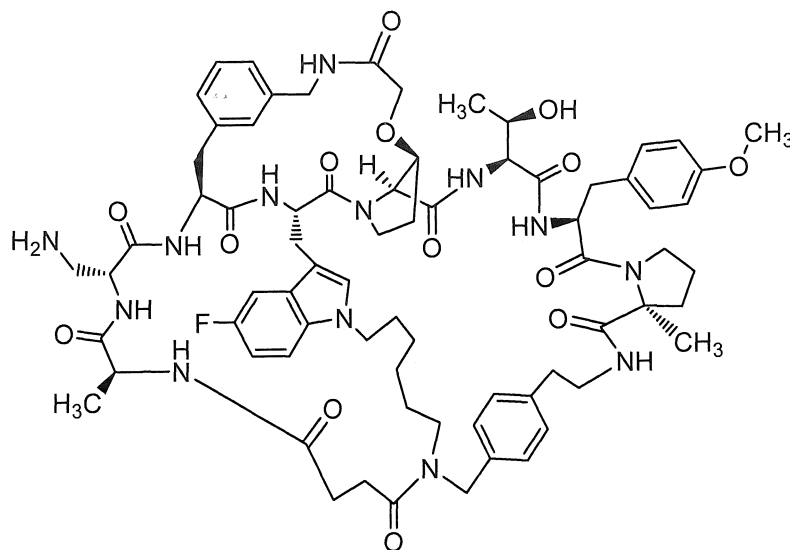
TBAF là tetrabutylamoni florua

TMS là tetrametylsilan

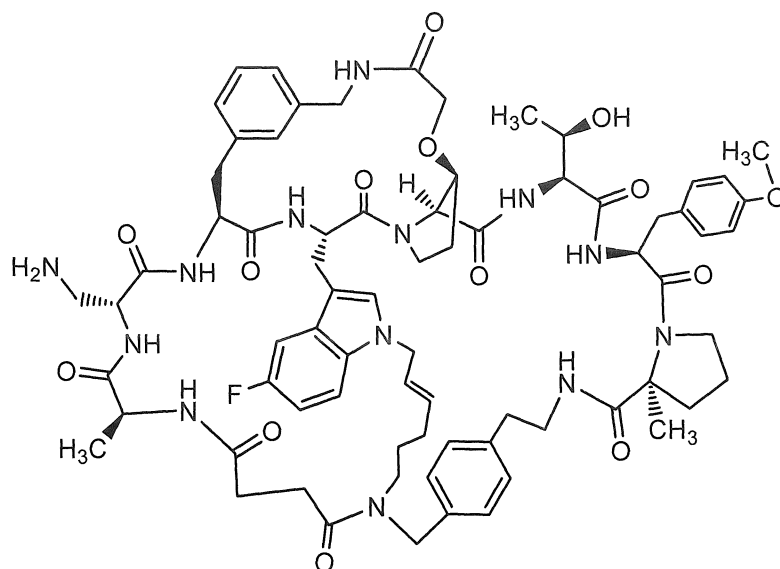
Chất xúc tác Zhan 1B là dicloro(1,3-bis(2,4,6-trimetylphenyl)-2-imidazolidinyliden)((5-((dimetylamino)sulfonyl)-2-(1-metyloxy-O)phenyl)metylen-C)ruteni(II) [cũng được mô tả là 1,3-Bis(2,4,6-trimetylphenyl)-4,5-dihydroimidazol-2-yliden[2-(i-propoxy)-5-(N,N-dimetylaminosulfonyl)phenyl][metylenruteni diclorua] (II)

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1 Điều chế Ex-01 và Ex-51

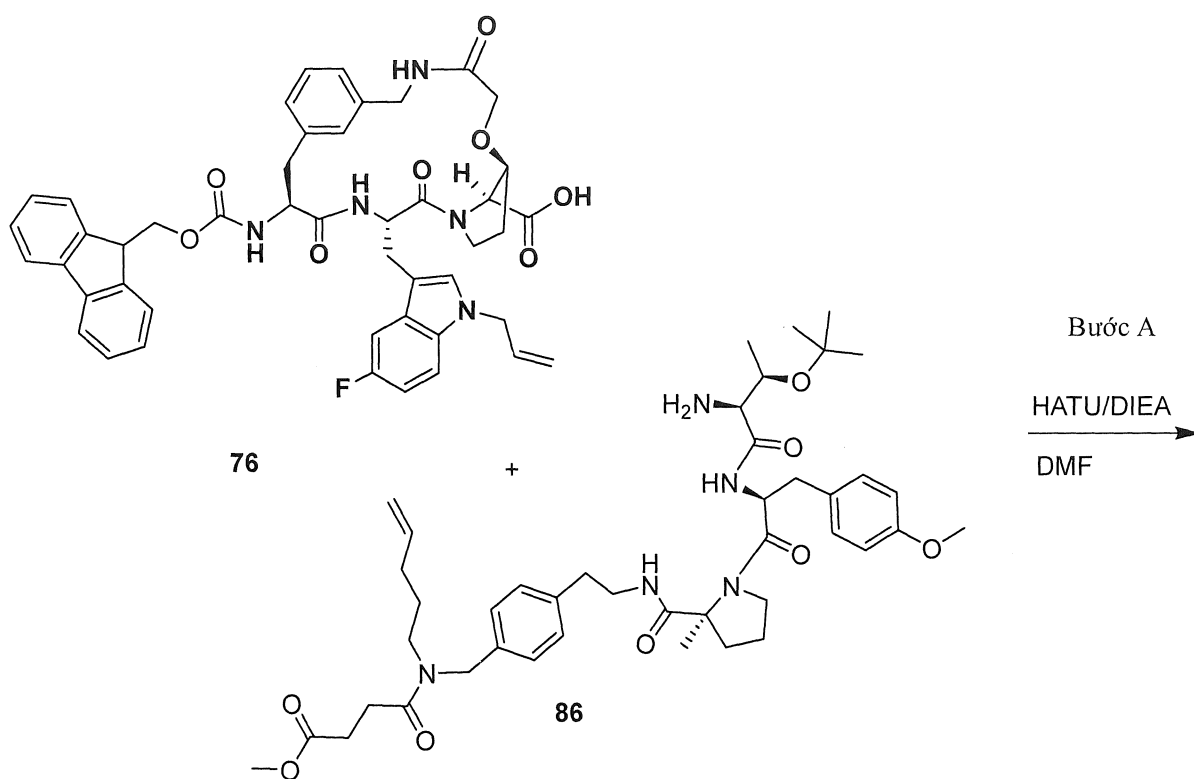


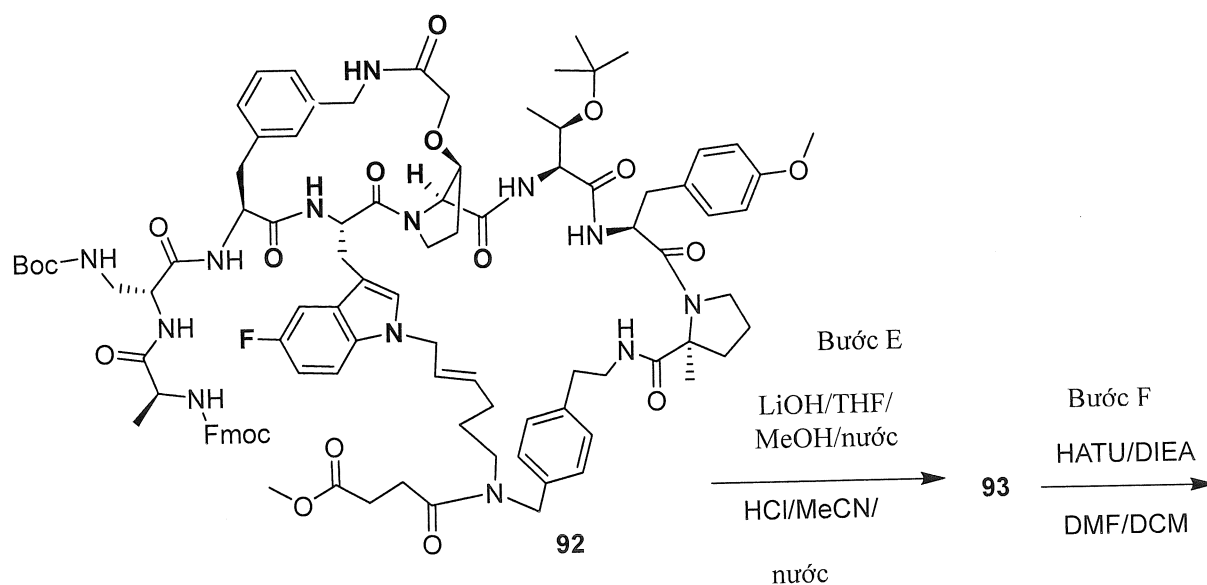
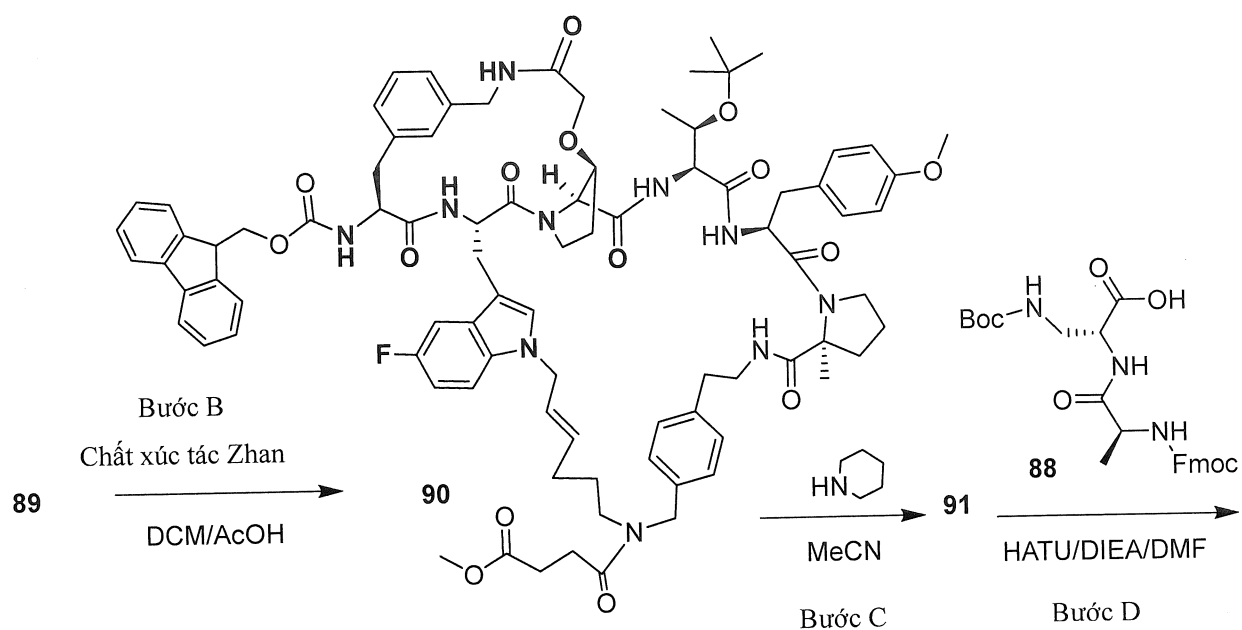
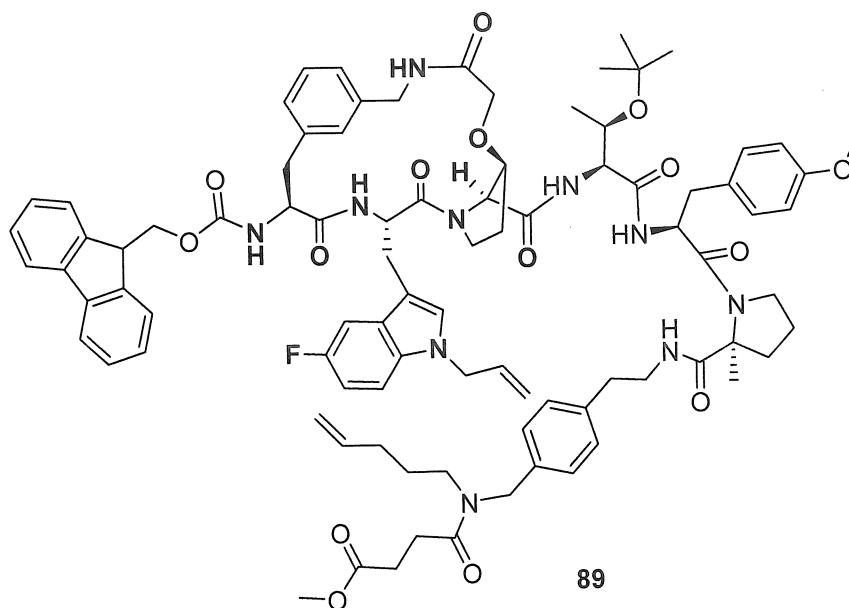
Ex-01, (không chứa bazơ được minh họa)

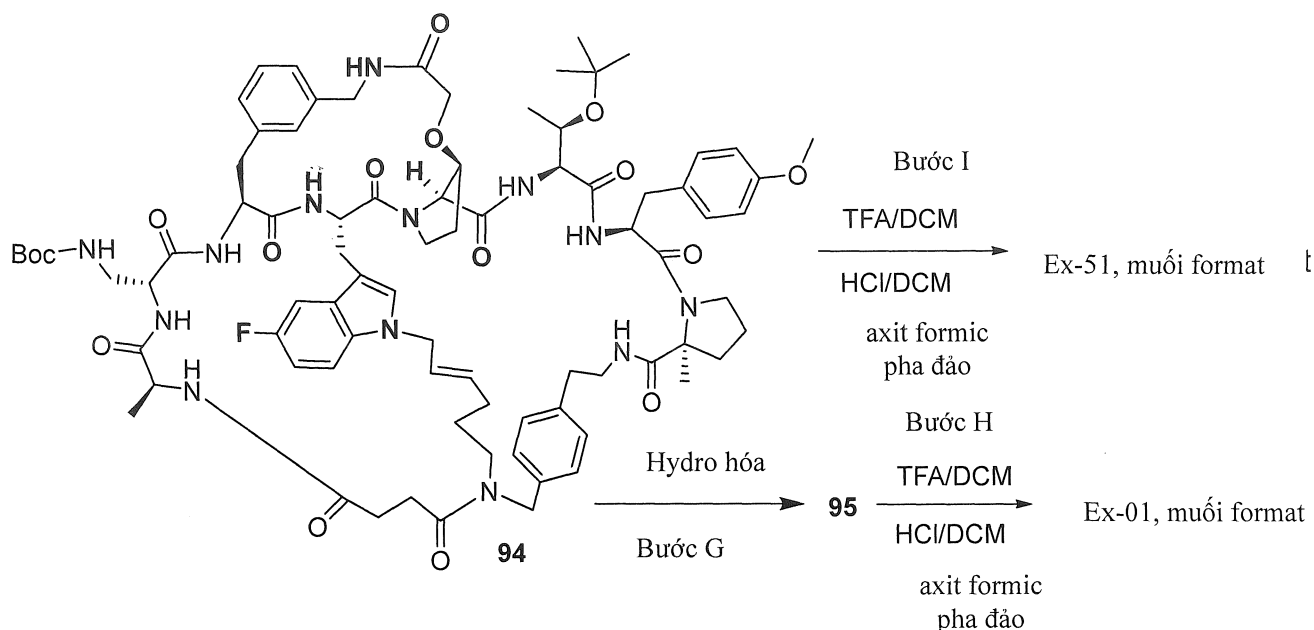


Ex-51, (không chứa bazơ được minh họa)

Dạng muối của hợp chất Ex-01 và Ex-51 được điều chế từ hợp chất trung gian 76 và 86 (quy trình điều chế dưới đây) theo sơ đồ dưới đây:







Bước A: Điều chế hợp chất trung gian 89

Bổ sung HATU (0,802 g, 2,108 mmol) và DIEA (0,670 ml, 3,83 mmol) vào dung dịch của 76 (1,56 g, 1,917 mmol, quy trình điều chế dưới đây) và 86 (1,506 g, 1,936 mmol, quy trình điều chế dưới đây) trong DMF (40 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 50 phút, sau đó được chia phần giữa EtOAc (300 mL) và nước muối (100 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (2x100 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng MeOH/DCM làm dung dịch rửa giải để tạo ra 89. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 1573,8.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian 90

Dung dịch của 89 (0,68 g, 0,432 mmol) trong DCM (500 ml) và axit axetic (40 mL) được sục N_2 trong 20 phút sau đó bổ sung chất xúc tác Zhan-1b (0,222 g, 0,302 mmol). Hỗn hợp tạo thành còn được sục N_2 trong 20 phút, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong 5 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ phòng hỗn hợp được lọc qua xelit, dịch lọc được cô, và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng MeOH/DCM làm dung dịch rửa giải để tạo ra 90 (hỗn hợp cis/trans). LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 1545,7.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian 91

Bổ sung piperidin (0,042 ml, 0,420 mmol) vào dung dịch của 90 (hỗn hợp cis/trans) (65 mg, 0,042 mmol) trong axetonitril (2 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó được cô và phần còn lại được hòa tan trong

axetonitril (4 mL) và được cô lần nữa. Phần còn lại được làm khô tiếp trong điều kiện chân không cao trong 30 phút để tạo ra 91 (hỗn hợp cis và trans). LC/MS: (M+1)⁺: 1324,0.

Bước D: Điều chế hợp chất trung gian 92

Bổ sung HATU (181 mg, 0,476 mmol) và DIEA (0,166 ml, 0,952 mmol) vào dung dịch của 91 (hỗn hợp cis/trans) (548 mg, 0,414 mmol) và 88 (227 mg, 0,455 mmol, quy trình điều chế dưới đây) trong DMF (10 ml) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ, và dung dịch được tinh chế bằng MPLC pha đảo trên cột C18 sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải để tạo ra 92 (hỗn hợp cis/trans). LC/MS: (M+1)⁺: 1803,5.

Bước E: Điều chế hợp chất trung gian 93

Bổ sung 1N LiOH chứa nước (3,11 ml, 3,11 mmol) từng giọt vào dung dịch của 92 (700 mg, 0,388 mmol) trong THF (20 ml), MeOH (6 ml), và nước (6 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 23 giờ. Dung dịch được trung hòa bằng cách bổ sung 1N HCl đến pH 7-8, chất dễ bay hơi được làm bay hơi, pha chứa nước được axit hóa đến pH 5, và hỗn hợp được tinh chế bằng MPLC pha đảo trên cột C18 sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải để tạo ra 93 dưới dạng muối TFA. Bổ sung 0,1 N HCl (13,5 ml, 1,350 mmol) từng giọt vào dung dịch của muối TFA 93 (427 mg, 0,257 mmol) trong nước (70 mL) và axetonitril (70 ml) ở nhiệt độ 0°C, dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút, sau đó được đông khô để tạo ra 93 dưới dạng muối HCl. LC/MS: (M+1)⁺: 1567,1.

Bước F: Điều chế hợp chất trung gian 94

Bổ sung HATU (56,9 mg, 0,150 mmol) vào dung dịch của 93 dưới dạng muối HCl (200 mg, 0,125 mmol) trong DMF (30 mL). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, sau đó được pha loãng với DCM (400 mL) sau đó bổ sung DIEA (0,065 mL, 0,374 mmol). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, chất dễ bay hơi được làm bay hơi trên thiết bị làm bay hơi quay, và dung dịch DMF tạo thành được tinh chế bằng MPLC pha đảo sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải để tạo ra 94. LC/MS: (M+1)⁺: 1549,2.

Bước G: Điều chế hợp chất trung gian 95

Bổ sung 10% Pd/C vào dung dịch của 94 (14 mg, 9,04 μ mol) trong MeOH (20 ml) (1,924 mg, 1,808 μ mol) và hỗn hợp tạo thành được thực hiện phản ứng hydro hóa ở nhiệt độ phòng qua bình cầu H₂ trong 1 giờ. Hỗn hợp được lọc qua xelit và dịch lọc được cô để tạo ra hợp chất trung gian 95. LC/MS: (M+1)⁺: 1550,9.

Bước H: Điều chế Ex-01

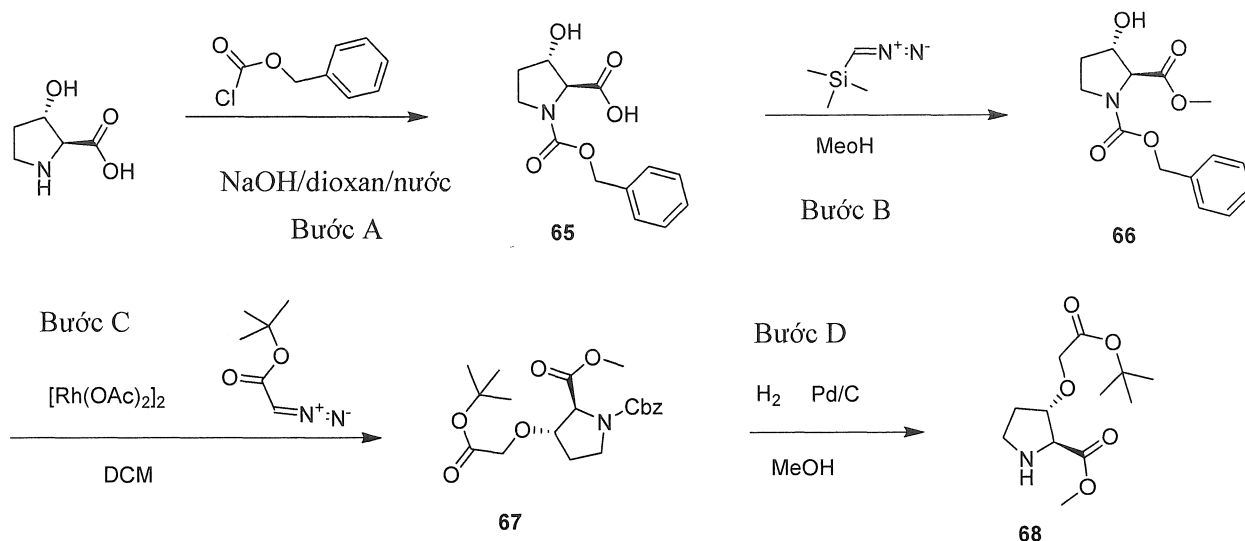
Hợp chất trung gian 95 được điều chế ở bước trên (26 mg, 0,017 mmol) được hòa tan trong DCM (2 ml). Bổ sung TFA (6 mL, 78 mmol) vào dung dịch này và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút, sau đó được cô và phần còn lại được hòa tan trong DCM (3 mL) và được xử lý bằng 4N HCl trong dioxan (0,042 mL, 0,168 mmol), và được cô lần nữa để tạo ra Ex-01 là sản phẩm thô. Sản phẩm thô ở Ex-01 được tinh chế bằng HPLC pha đảo sử dụng axetonitril (axit formic 0,1%)/nước (axit formic 0,1%) làm dung dịch rửa giải để tạo ra dạng muối format của Ex-01. LC/MS: (M+1)⁺: 1394,4.

Bước I: Điều chế Ex-51

Bổ sung TFA (4 ml, 51,9 mmol) vào dung dịch của hợp chất trung gian 94 (30 mg, 0,019 mmol) trong DCM (2 ml), và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 30 phút, sau đó được cô. Phần còn lại được hòa tan trong DCM (2 mL), được xử lý bằng HCl (4N trong dioxan) (0,048 ml, 0,194 mmol), và được cô để tạo ra Ex-51 dưới dạng muối HCl. Hợp chất được tinh chế bằng HPLC pha đảo sử dụng axetonitril (axit formic 0,1%)/nước (axit formic 0,1%) làm pha động để tạo ra dạng muối format của Ex-51. LC/MS: (M+1)⁺: 1392,0.

Sơ đồ và quy trình dưới đây được sử dụng để điều chế hợp chất trung gian 76, 86 và 88 được sử dụng trong quy trình được mô tả ở trên.

Điều chế hợp chất trung gian 68 được sử dụng trong điều chế hợp chất trung gian



Bước A: Điều chế hợp chất trung gian 65

Bổ sung natri hydroxit (122 ml, 122 mmol), sau đó bổ sung benzyl cloroformat (6,50 ml, 44,6 mmol) từng giọt vào huyền phù của axit (2S,3S)-3-hydroxypyrolidin-2-carboxylic (5,32 g, 40,6 mmol) trong dioxan (100 ml) ở nhiệt độ 0°C. Huyền phù tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 giờ. Sau khi loại bỏ chất dễ bay hơi, pha chứa nước được axit hóa đến pH 3, sau đó được chia phần giữa 30% IPA/DCM (200 mL) và nước muối (50 mL), pha chứa nước được chiết tiếp bằng 30% IPA/DCM (2x100mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄ và được cô để tạo ra axit (2S,3S)-1-((benzyloxy)carbonyl)-3-hydroxypyrolidin-2-carboxylic (65). LC/MS: (M+1)⁺: 266,1.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian 66

Bổ sung TMS-Diazometan (70,5 ml, 141 mmol) từng giọt vào dung dịch của 65 (7,48 g, 28,2 mmol) trong MeOH (80 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút sau đó dừng bằng cách bổ sung axit axetic (khoảng 400 uL) từng giọt. Dung dịch được cô, và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 66. LC/MS: (M+1)⁺: 280,1.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian 67

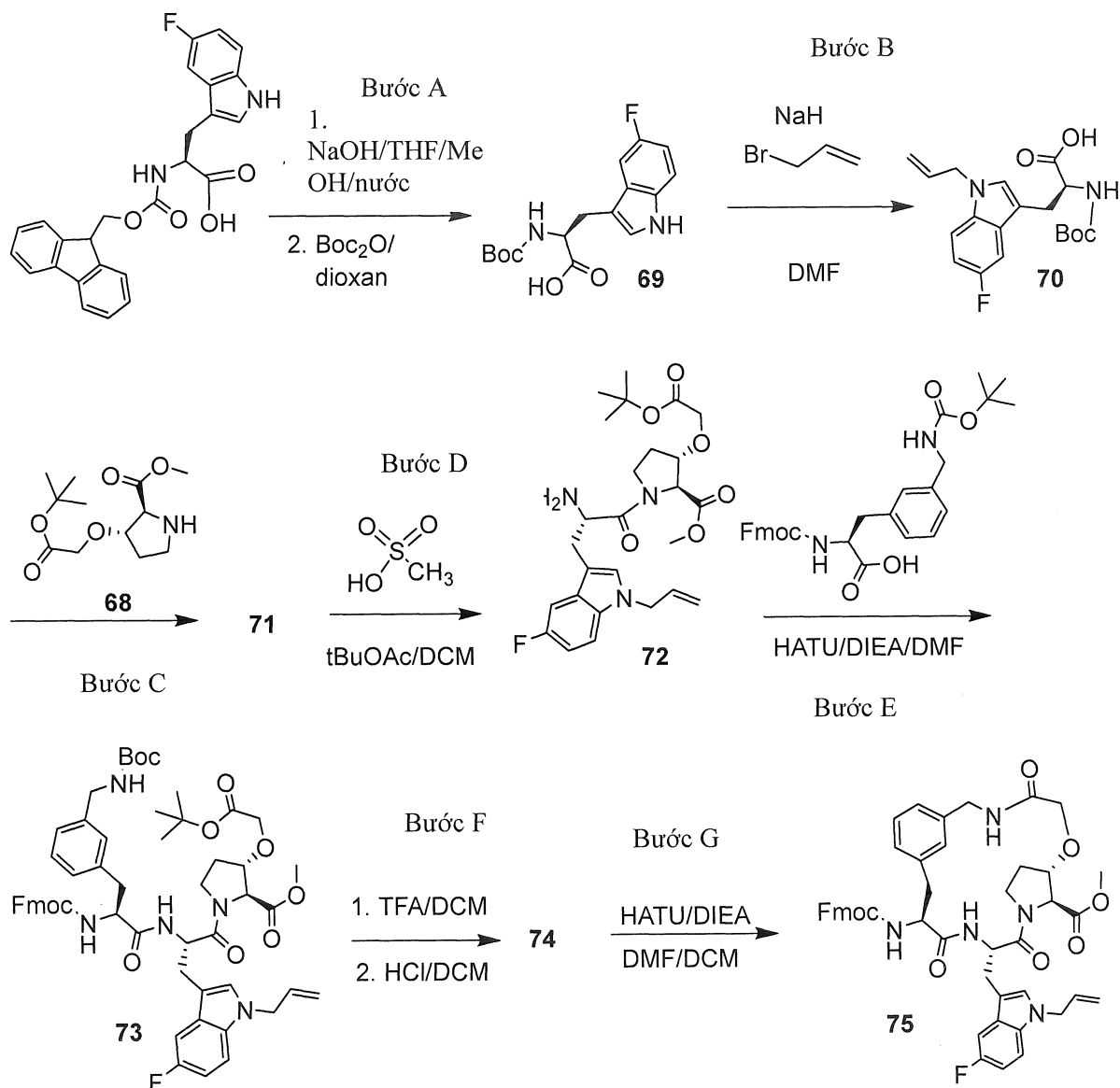
Dung dịch của 66 (4,81 g, 17,22 mmol) trong DCM (200 mL) được sục N₂ trong 30 phút, sau đó bổ sung rodi(ii) axetat dime (0,761 g, 1,722 mmol). Hỗn hợp được làm nguội trong bể nước đá, và tert-butyl diazoacetat (3,58 mL, 25,8 mmol) được bổ sung ở nhiệt độ 0°C từng giọt. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1,5 giờ. Phản ứng được dừng bằng cách bổ sung nước (100 mL), hỗn hợp được chiết bằng DCM

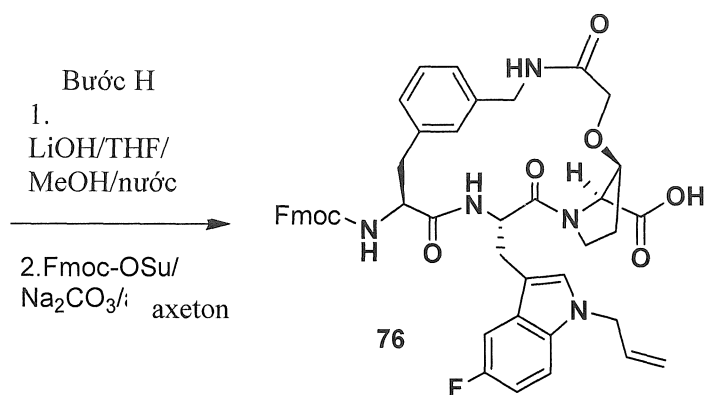
(3x100 mL), pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế bằng MPLC pha đảo sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải. Phần chứa sản phẩm được cô và pha chứa nước được chiết bằng DCM (2x100mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 và được cô để tạo ra 67. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 394,2.

Bước D: Điều chế hợp chất trung gian 68

Bổ sung 10% Pd/C (0,805 g, 0,756 mmol) vào dung dịch của 67 (3,72 g, 9,46 mmol) trong MeOH (80 ml) và hỗn hợp tạo thành được thực hiện phản ứng hydro hóa qua bình cầu H_2 ở nhiệt độ xung quanh trong 2 giờ, sau đó được lọc qua xelit. Dịch lọc được cô để tạo ra 68. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 259,9.

Điều chế hợp chất trung gian 76





Bước A: Điều chế hợp chất trung gian 69

Bổ sung NaOH (20,25 ml, 20,25 mmol) vào dung dịch của axit (S)-2-((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-3-(5-floro-1H-indol-3-yl)propanoic (3 g, 6,75 mmol) trong THF (20 ml), MeOH (10 mL), và nước (20,00 ml) ở nhiệt độ 0°C và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 4 giờ, sau đó chất dễ bay hơi được làm bay hơi. Bổ sung dioxan (50 ml) và nước (20 mL) vào dung dịch chứa nước, dung dịch tạo thành được làm nguội ở nhiệt độ 0°C và Boc₂O (1,881 ml, 8,10 mmol) được bổ sung vào dung dịch ở trên. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C for 3 giờ, chất dễ bay hơi được loại bỏ và pha chứa nước được chiết bằng Et₂O (3x40 mL), được axit hóa đến pH 3, sau đó được chiết bằng DCM (3x100mL), sau đó 30% IPA/DCM (2x80 mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄ và được cô để tạo ra 69. LC/MS: (M+1)⁺: 322,9.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian 70

Bổ sung 60% NaH trong hexan (0,568 g, 14,19 mmol) vào dung dịch của 69 (2,079 g, 6,45 mmol) trong DMF (40 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 50 phút sau đó bổ sung allyl bromua (1,172 mL, 13,54 mmol) từng giọt. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1,5 giờ, sau đó dừng bằng cách bổ sung 1N HCl (khoảng 3,68 mL). Dung dịch sau đó được chia phần giữa EtOAc (200 mL) và nước (100 mL), pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (2x100 mL), được làm khô trên Na₂SO₄, được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng MeOH/DCM làm dung dịch rửa giải để tạo ra 70. LC/MS: (M+1)⁺: 363,0.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian 71

Bổ sung HATU (2,82 g, 7,41 mmol) và DIEA (2,59 ml, 14,83 mmol) vào dung dịch của 70 (2,239 g, 6,18 mmol) và 68 (1,842 g, 7,11 mmol) trong DMF (30 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ. Hỗn hợp được chia phần giữa EtOAc (200 mL) và nước muối (100 mL), pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (3x100 mL), được làm khô trên Na₂SO₄, được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 71. LC/MS: (M+1)⁺: 604,2.

Bước D: Điều chế hợp chất trung gian 72

Bổ sung axit metansulfonic (1,218 ml, 18,75 mmol) vào dung dịch của 71 (2,83 g, 4,69 mmol) trong CH₂Cl₂ (20 ml) và tBuOAc (30 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 16,5 giờ, sau đó ở nhiệt độ xung quanh trong 2,5 giờ. Dung dịch (72) được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo. LC/MS: (M+1)⁺: 504,2.

Bước E: Điều chế hợp chất trung gian 73

Bổ sung HATU (1,961 g, 5,16 mmol) và DIEA (5,32 ml, 30,5 mmol) vào dung dịch của axit (S)-2-((((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-3-(3-(((tert-butoxycarbonyl)amino)methyl)phenyl)propanoic (2,66 g, 5,16 mmol) trong DMF (10 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút sau đó được bổ sung vào bể nước lạnh của dung dịch 72 được điều chế ở trên. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ. Chất dễ bay hơi được làm bay hơi trên thiết bị làm bay hơi quay, và phần còn lại được tinh chế bằng MPLC pha đảo sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải. Phần thu được được cô trên thiết bị làm bay hơi quay để tạo ra 73. LC/MS: (M+1)⁺: 1002,1.

Bước F: Điều chế hợp chất trung gian 74

Bổ sung TFA (7,46 ml, 97 mmol) vào dung dịch của 73 (3,235 g, 3,23 mmol) trong DCM (4 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ, sau đó được cô. Phần còn lại được hòa tan trong DCM (10 mL), được xử lý bằng 4N HCl trong dioxan (3,23 ml, 12,91 mmol), sau đó được cô và phần còn lại được hòa tan trong axetonitril (100 mL)/nước (50 mL) và được đông khô để tạo ra 74. LC/MS: (M+1)⁺: 846,1.

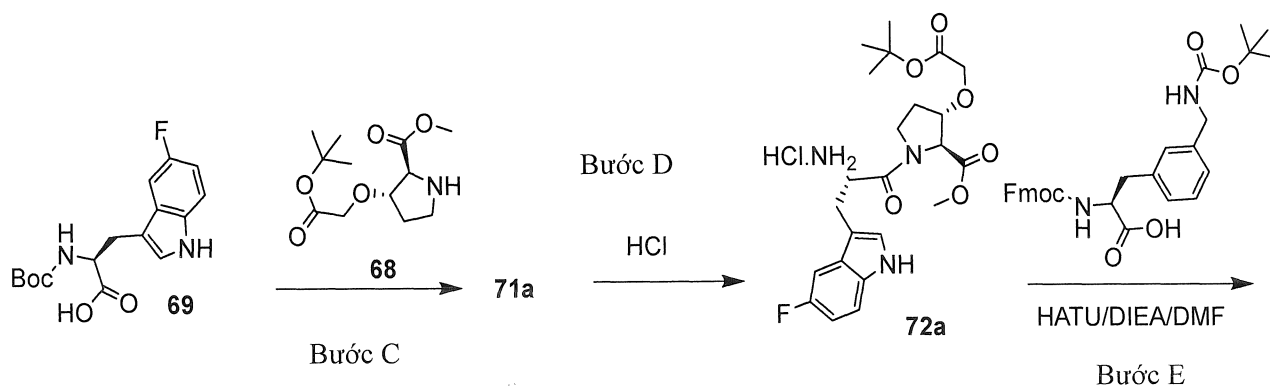
Bước G: Điều chế hợp chất trung gian 75

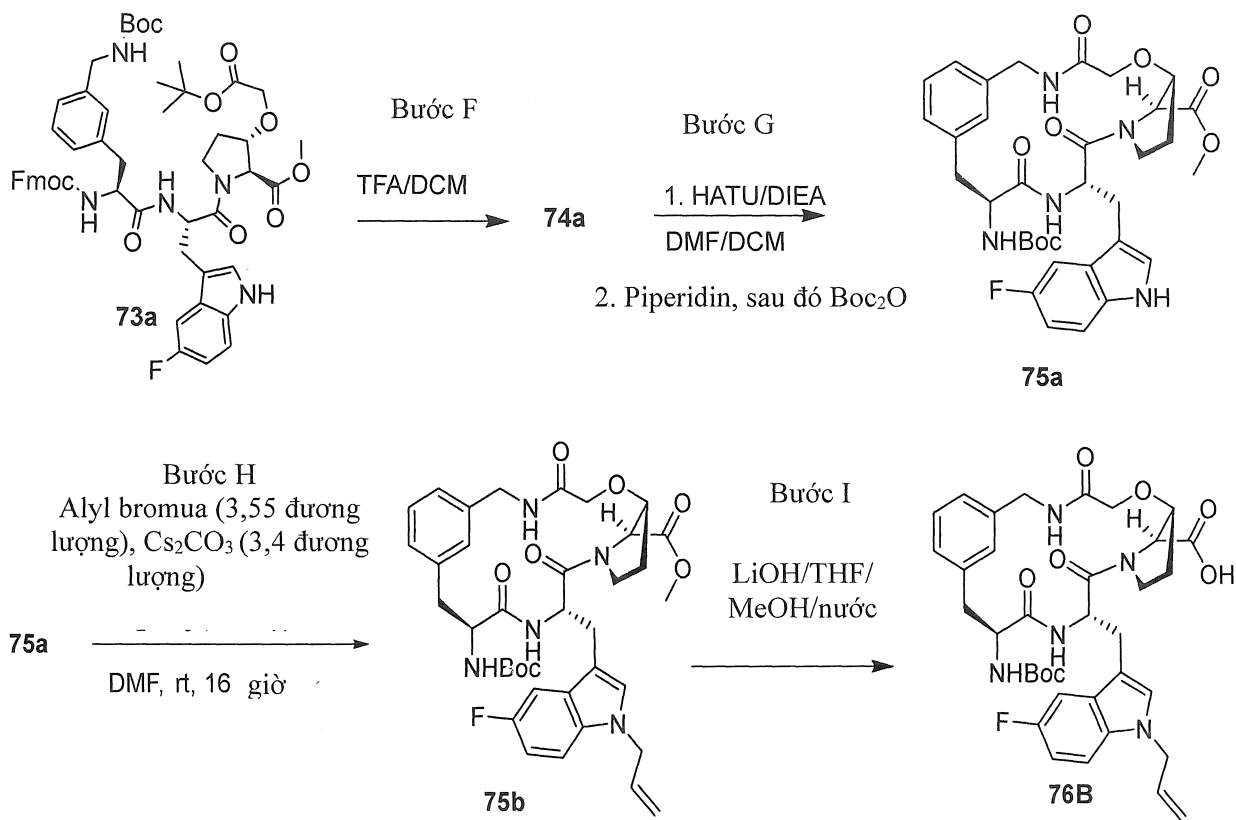
Bổ sung HATU (1,474 g, 3,88 mmol) vào dung dịch của 74 (2,85 g, 3,23 mmol) trong DMF (45 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 30 phút, sau đó được pha loãng với DCM (600 ml) sau đó bổ sung DIEA (1,692 ml, 9,69 mmol) từng giọt. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 1 giờ. Dung dịch được cô, và phần còn lại được tinh chế bằng MPLC pha đảo trên cột C18 sử dụng axetonitril (0,05% TFA) / nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải. Phần chứa sản phẩm được cô và lớp chứa nước được chia phần giữa DCM (200 mL) và NaHCO₃ bão hòa (200 mL). Pha chứa nước được chiết bằng DCM (2x100 mL) và pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄ và được cô để tạo ra 75. LC/MS: (M+1)⁺: 828,1.

Bước H: Điều chế hợp chất trung gian 76

Bổ sung 1N LiOH chứa nước (9,9 ml, 9,90 mmol) từng giọt vào dung dịch của 75 (1,93 g, 2,331 mmol) trong THF (60 ml), MeOH (30 ml), và nước (20 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 16 giờ sau đó dừng bằng cách bổ sung HCl (1N, 9,9 mL). Chất dễ bay hơi được làm bay hơi trên thiết bị làm bay hơi quay và bổ sung axeton (60 ml), natri cacbonat (0,371 g, 3,50 mmol), và Fmoc-Osu (0,802 g, 2,378 mmol) vào dung dịch ở trên ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 6 giờ, chất dễ bay hơi được làm bay hơi trên thiết bị làm bay hơi quay, pha chứa nước được axit hóa đến pH 4, sau đó được chiết bằng 30% IPA/DCM (3x100 mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng MeOH/DCM làm dung dịch rửa giải để tạo ra 76. LC/MS: (M+1)⁺: 814,2.

Điều chế hợp chất trung gian thay thế 75b và hợp chất trung gian 76B từ đó:





Nói chung là theo quy trình chung được mô tả ở trên để điều chế hợp chất trung gian 75, ngoài trừ bước B được bỏ đi và bước G cuối cùng cũng bao gồm bước thay thế nhóm bảo vệ Fmoc bằng nhóm bảo vệ Boc, do đó tạo ra hợp chất trung gian 75a. Quy trình đối với hợp chất 75a và 76B được mô tả dưới đây.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian 71a

Bổ sung 68 vào dung dịch của 69 (5,00 g, 15,5 mmol) trong DMF (40,0 mL) ở nhiệt độ -50°C, HATU (5,90 g, 15,5 mmol) và DIEA (4,01 g, 31,0 mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -50°C trong 3 giờ. Dung dịch cuối cùng được làm dừng bằng nước (5 mL), được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột pha đảo trên C18 (rửa giải bằng gradien của axetonitril/nước + 0,01% amoni bicacbonat) để tạo ra 71a. LCMS (ESI) được tính cho C₂₈H₃₈FN₃O₈ [M + H]⁺: 564,3, phát hiện 564,2.

Bước D: Điều chế hợp chất trung gian 72a

Bổ sung 71a (8,40 g, 14,9 mmol) vào dung dịch của 2 N HCl trong dioxan (100 mL) và THF (100 mL) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 giờ. Dung dịch cuối cùng được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 72a. LCMS (ESI) được tính cho C₂₃H₃₁ClFN₃O₆ [M - HCl + H]⁺: 464,2, phát hiện 464,3.

Bước E: Điều chế hợp chất trung gian 73a

Bổ sung axit (S)-2-((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-3-(3-(((tert-butoxycacbonyl)amino)metyl)phenyl)propanoic (827 mg, 1,60 mmol), HATU (608 mg, 1,60 mmol) và DIEA (620 mg, 4,80 mmol) vào dung dịch của 72a (800 mg, 1,60 mmol) trong DMF (10,0 mL) ở nhiệt độ -50°C và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ -50°C trong 3 giờ. Dung dịch tạo thành được pha loãng với nước (50 mL) và lớp chứa nước được chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄ khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (rửa giải bằng gradien 1%-60% EtOAc trong PE) để tạo ra 73a. LCMS (ESI) được tính cho C₅₃H₆₀FN₅O₁₁ [M + H]⁺: 962,4, phát hiện 962,6.

Bước F: Điều chế hợp chất trung gian 74a

Bổ sung TFA (15,0 mL) vào dung dịch của 73a (3,00 g, 3,12 mmol) trong DCM (15,0 mL) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch tạo thành được cô dưới áp suất giảm, được làm cùng bay hơi với toluen và DCM để tạo ra 74a. LCMS (ESI) được tính cho C₄₆H₄₅F₄N₅O₁₁ [M - TFA + H]⁺: 806,3, phát hiện 806,7.

Bước G: Điều chế hợp chất trung gian 75a

Bổ sung HATU (1,65 g, 4,35 mmol) vào dung dịch của 74a (4,00 g, 4,35 mmol) trong DMF (150 mL) ở nhiệt độ trong phòng và dung dịch phản ứng được khuấy trong 0,5 giờ. Dung dịch được pha loãng với DCM (450 mL) và DIEA (1,69 g, 13,1 mmol) sau đó được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dung dịch tạo thành được làm dừng bằng nước (5 mL), được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột pha đảo trên C18 (rửa giải bằng gradien của axetonitril/nước + 0,05% TFA) để tạo ra hợp chất trung gian được bảo vệ bởi Fmoc. LCMS (ESI) được tính cho C₄₄H₄₂FN₅O₈ [M + H]⁺: 788,3, phát hiện 788,9.

Bổ sung piperidin (1,25 mL) vào dung dịch của hợp chất trung gian được bảo vệ bởi Fmoc nêu trên (200 mg, 0,250 mmol) trong DCM (5,00 mL) ở nhiệt độ trong phòng và dung dịch phản ứng được khuấy trong 1 giờ. Dung dịch cuối cùng được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (rửa giải bằng gradien

0%-5% MeOH trong DCM) để tạo ra hợp chất trung gian amin. LCMS (ESI) được tính cho $C_{29}H_{32}FN_5O_6$ $[M + H]^+$: 566,2, phát hiện 566,3.

Bổ sung Boc_2O (2,21 g, 10,1 mmol) và natri bicacbonat (1,70 g, 20,2 mmol) vào dung dịch của hợp chất trung gian amin nêu trên (2,86 g, 5,06 mmol) trong THF (30,0 mL) và nước (30,0 mL) ở nhiệt độ trong phòng và phản ứng được khuấy trong 3 giờ. Dung dịch cuối cùng được pha loãng với nước (50 mL) và được chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (3 x 100 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (rửa giải bằng gradien 0%-5% MeOH trong DCM) để tạo ra 75a. LCMS (ESI) được tính cho $C_{34}H_{40}FN_5O_8$ $[M + H]^+$: 666,3, phát hiện 666,5; 1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,35-7,08 (m, 6H), 6,95-6,79 (m, 2H), 5,01-4,91 (m, 1H), 4,72-4,56 (m, 2H), 4,45-4,38 (m, 1H), 4,45-4,38 (m, 5H), 3,69 (s, 3H), 3,32-2,92 (m, 5H), 2,14-1,82 (m, 2H), 1,47 (s, 9H).

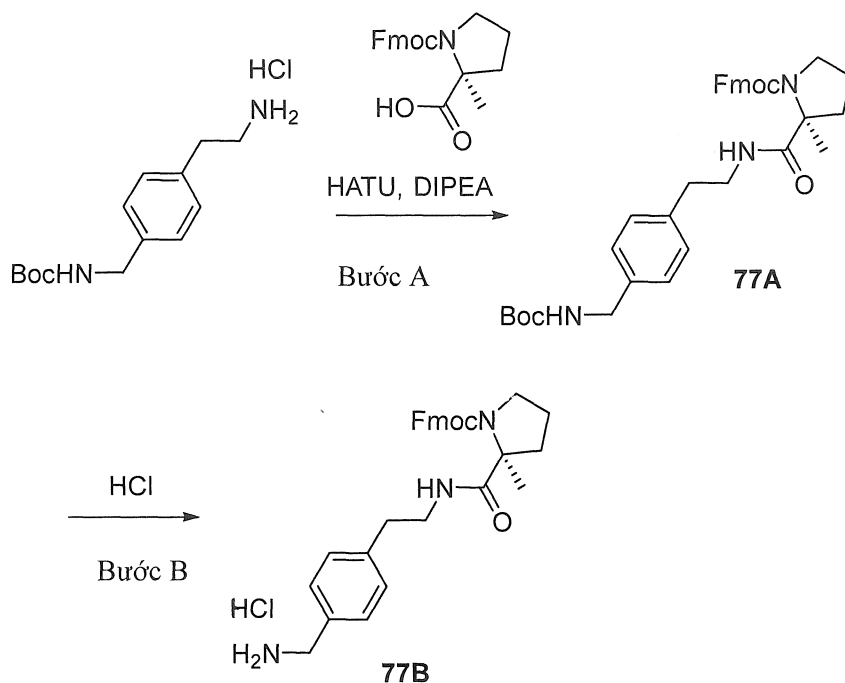
Bước H: Điều chế hợp chất trung gian 75b

Bổ sung Cs_2CO_3 (1,11 g, 3,40 mmol) và 3-bromoprop-1-en (0,43 g, 3,55 mmol) vào dung dịch của 75a (0,665 g, 0,99 mmol) trong DMF (0,5 mL) ở nhiệt độ $0^\circ C$. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ và rót vào 5 mL dung dịch 50% nước muối bão hòa/10% axit xitric, sau đó được chiết bằng etyl axetat (2 x 20 mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (3 x 20 mL), được làm khô trên $MgSO_4$ khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải bằng 1%-5% gradien MeOH trong DCM. Các phần chứa hợp chất trung gian 75b được kết hợp và được cô để tạo ra hợp chất ở tiêu đề. LCMS (ESI) được tính cho $C_{37}H_{44}FN_5O_8$ $[M + H]^+$: 706,3, phát hiện 706,3.

Bước I: Điều chế hợp chất trung gian 76B

Thủy phân 75b bằng LiOH theo các điều kiện dưới đây tương tự các điều kiện được mô tả trong quy trình điều chế hợp chất trung gian 93 để tạo ra 76B.

Điều chế hợp chất trung gian 77B



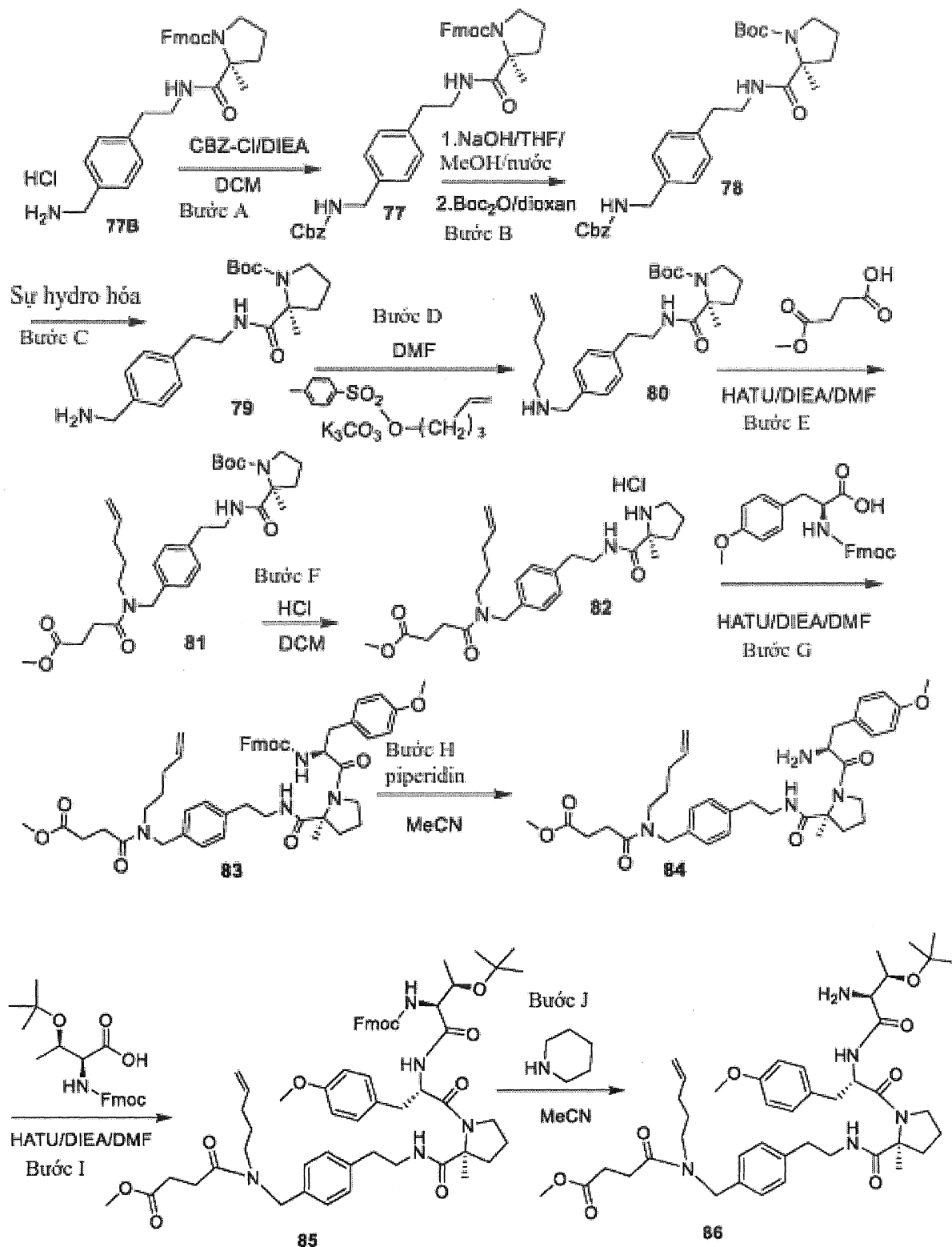
Buớc A: Điều chế hợp chất trung gian 77A

Bổ sung HATU (8,00 g, 21,05 mmol) và DIPEA (9,16 ml, 52,6 mmol) vào dung dịch của axit (S)-1-(((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-2-metylpyrrolidin-2-carboxylic (6,16 g, 17,54 mmol) và *tert*-butyl 4-(2-aminoethyl)benzylcarbamate hydroclorua (5,03 g, 17,54 mmol) trong DMF (140 ml) ở nhiệt độ 0°C sau đó phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp cuối cùng được pha loãng với nước, được chiết bằng EtOAc, được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO₄, và lọc. Dịch lọc được cô và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 0-60% EtOAc trong hexan) để tạo ra 77A. MS (ESI): *m/z* (M+H)⁺ 584,5.

Buớc B: Điều chế hợp chất trung gian 77B

Bổ sung HCl 4N trong dioxan (15,28 ml, 61,1 mmol) vào dung dịch của 77A (8,92 g, 15,28 mmol) trong DCM (40 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp được cô để tạo ra 77B. MS (ESI): *m/z* (M+H)⁺ 484,3.

Điều chế hợp chất trung gian 86



Bước A: Điều chế hợp chất trung gian 77

Bổ sung DIEA (5,91 ml, 33,9 mmol) và CBZ-Cl (1,726 ml, 11,85 mmol) từng giọt vào dung dịch của (S)-(9H-floren-9-yl)methyl 2-((4-(aminomethyl)phenethyl)carbamoyl)-2-methylpyrrolidin-1-carboxylat hydroclorua (77B) (5,87 g, 11,29 mmol) trong DCM (140 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được

khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 4 giờ. Dung dịch phản ứng được chia phần giữa nước (200 mL) và DCM (200 mL), pha nước được chiết bằng DCM (100 mL), pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 77. LC/MS: (M+1)⁺: 618,3.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian 78

Bổ sung 1N NaOH chứa nước (45,0 ml, 45,0 mmol) vào dung dịch của 77 (5,56 g, 9,00 mmol) trong THF (100 ml), nước (50 ml), và MeOH (30 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Chất dễ bay hơi được làm bay hơi, và bổ sung dioxan (200 ml), và Boc₂O (2,508 ml, 10,80 mmol) trong dioxan (20 mL) vào dung dịch chứa nước. Hỗn hợp tạo thành được khuấy từ 0°C đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Chất dễ bay hơi được làm bay hơi trên thiết bị làm bay hơi quay, và pha chứa nước được chiết bằng DCM (3x150 mL). Pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 78. LC/MS: (M+1)⁺: 496,2.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian 79

Bổ sung 10% Pd/C (0,867 g, 0,815 mmol) vào dung dịch của 78 (4,04 g, 8,15 mmol) trong MeOH (100 ml), và hỗn hợp tạo thành được thực hiện phản ứng hydro hóa qua bình cầu H₂ ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ. Hỗn hợp được lọc qua xelit, và dịch lọc được cô để tạo ra 79. LC/MS: (M+1)⁺: 362,2.

Bước D: Điều chế hợp chất trung gian 80

Bổ sung pent-4-en-1-yl 4-methylbenzensulfonat (0,858 g, 3,57 mmol) và K₂CO₃ (1,973 g, 14,27 mmol) vào dung dịch của 79 (2,58 g, 7,14 mmol) trong DMF (15 ml), và hỗn hợp tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C trong 6 giờ. Sau khi làm lạnh xuống đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp được lọc và dịch lọc được tinh chế bằng MPLC pha đảo sử dụng axetonitril (0,05% TFA)/ nước (0,05% TFA) làm dung dịch rửa giải để tạo ra sản phẩm dưới dạng muối TFA, được chia phần giữa DCM (100 mL) và 1N NaOH chứa nước (50 mL). Pha chứa nước được chiết tiếp bằng DCM (2x50mL), pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, và được cô để tạo ra 80. LC/MS: (M+1)⁺: 430,3.

Bước E: Điều chế hợp chất trung gian 81

Bổ sung axit 4-metoxi-4-oxobutanoic (0,321 g, 2,433 mmol), HATU (1,009 g, 2,65 mmol), và DIEA (0,927 ml, 5,31 mmol) vào dung dịch của 80 (0,95 g, 2,211 mmol) trong DMF (15 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dung dịch được chia phần giữa EtOAc (200 mL) và nước muối (100 mL), pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (2x100mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 81. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 544,2.

Bước F: Điều chế hợp chất trung gian 82

Bổ sung HCl (4N trong dioxan) (5,36 ml, 21,43 mmol) vào dung dịch của 81 (1,165 g, 2,143 mmol) trong DCM (12 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ, và hỗn hợp được cô để tạo ra 82. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 444,2.

Bước G: Điều chế hợp chất trung gian 83

Bổ sung Fmoc-L-Tyr(Me)-OH (0,959 g, 2,298 mmol), HATU (0,914 g, 2,403 mmol), và DIEA (1,095 ml, 6,27 mmol) vào dung dịch của 82 (1,003 g, 2,089 mmol) trong DMF (20 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 50 phút. Dung dịch được chia phần giữa EtOAc (200 mL) và nước muối (100 mL), pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (2x100 mL), pha hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 83. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 843,4.

Bước H: Điều chế hợp chất trung gian 84

Bổ sung piperidin (0,574 ml, 5,80 mmol) vào dung dịch của 83 (1,63 g, 1,934 mmol) trong axetonitril (10 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, sau đó được cô. Phần còn lại được tái huyền phù trong axetonitril (20 mL) và được cô lần nữa, chu trình được lặp lại một lần, và phần còn lại được làm khô tiếp trong điều kiện chân không cao để tạo ra 84. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 621,3.

Bước I: Điều chế hợp chất trung gian 85

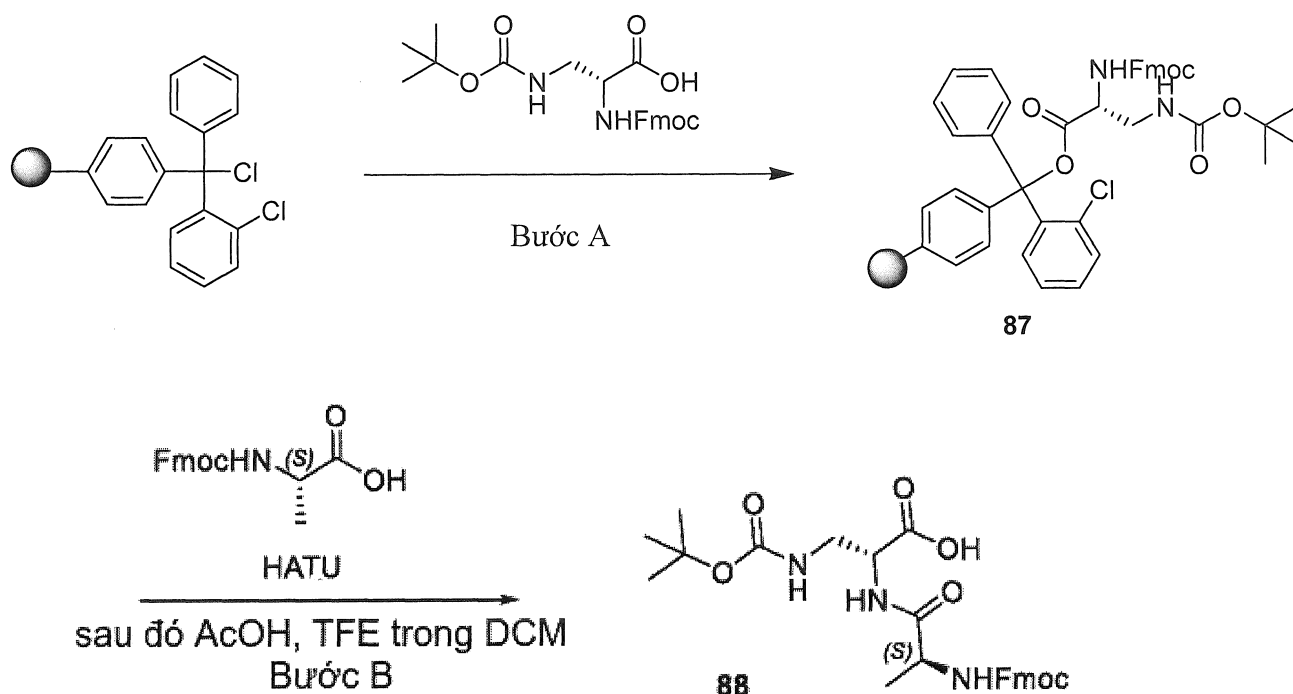
Bổ sung Fmoc-L-Thr(tBu)-OH (0,922 g, 2,320 mmol), HATU (0,919 g, 2,416 mmol), và DIEA (0,844 ml, 4,83 mmol) vào dung dịch của 84 (1,2 g, 1,933 mmol) trong DMF (15 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dung dịch được chia phần giữa EtOAc (200 mL) và nước muối (100 mL), pha hữu cơ

được rửa bằng nước muối (2x100 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel sử dụng EtOAc/hexan làm dung dịch rửa giải để tạo ra 85. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 1000,2.

Bước J: Điều chế hợp chất trung gian 86

Bổ sung piperidin (0,960 ml, 9,70 mmol) vào dung dịch của 85 được điều chế ở bước trên (1,94 g, 1,940 mmol) trong axetonitril (20 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó được cô. Phần còn lại được hòa tan lại trong DCM/axetonitril (1:1, 20 mL), sau đó được cô lần nữa, chu trình được lặp lại một lần, và phần còn lại được làm khô trong điều kiện chân không cao để tạo ra 86. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 778,3.

Điều chế hợp chất trung gian 88



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 87

Bổ sung DCM khô (45 ml) vào nhựa 2-cloro-2-clorotrityl 1-1,5 mmol/g (7,0 g, 1-1,5 mmol/g). Nhựa này được lắc 20 phút sau đó bổ sung một nửa DIPEA 0,17 N trong DCM (3,67 ml, 21,00 mmol), Fmoc-D-Dap(Boc)-OH (3,28 g, 7,70 mmol) sau đó phần còn lại của DIPEA 0,17 N trong DCM (3,67 ml, 21,00 mmol). Nhựa này được lắc ở nhiệt độ phòng qua đêm, rửa bằng DCM và được làm khô. Nhựa này sau đó được làm dừng bằng 5% DIPEA và 10% MeOH trong DCM (80 mL), lắc trong 2 giờ sau đó

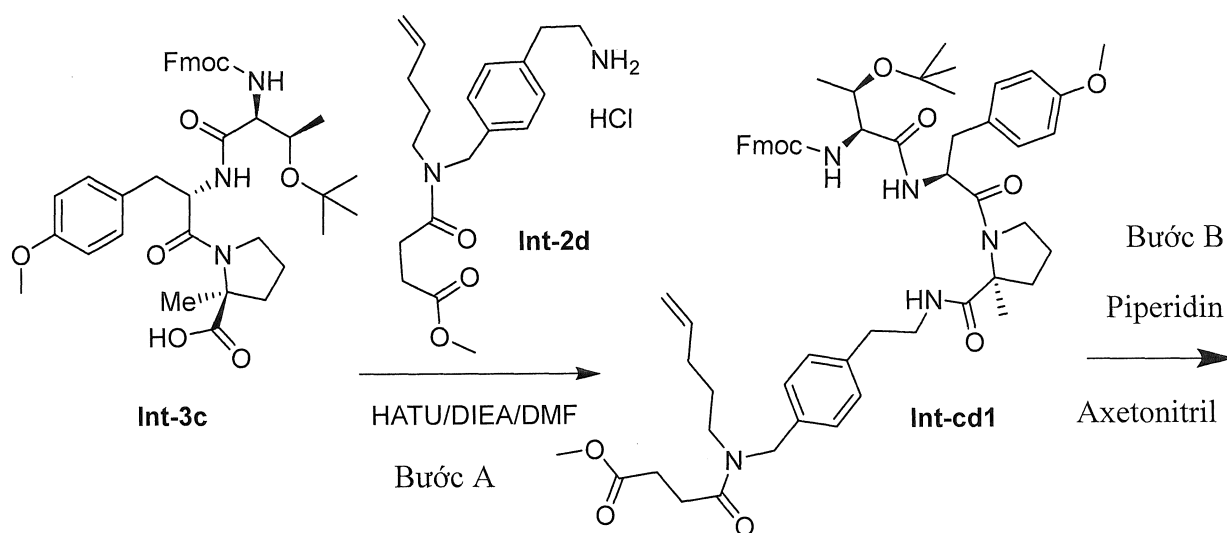
lọc, rửa bằng DCM (3x), DMF (3x) và DCM (3x) sau đó được làm khô trong chân không để tạo ra nhựa 87 được sử dụng ở bước tiếp theo.

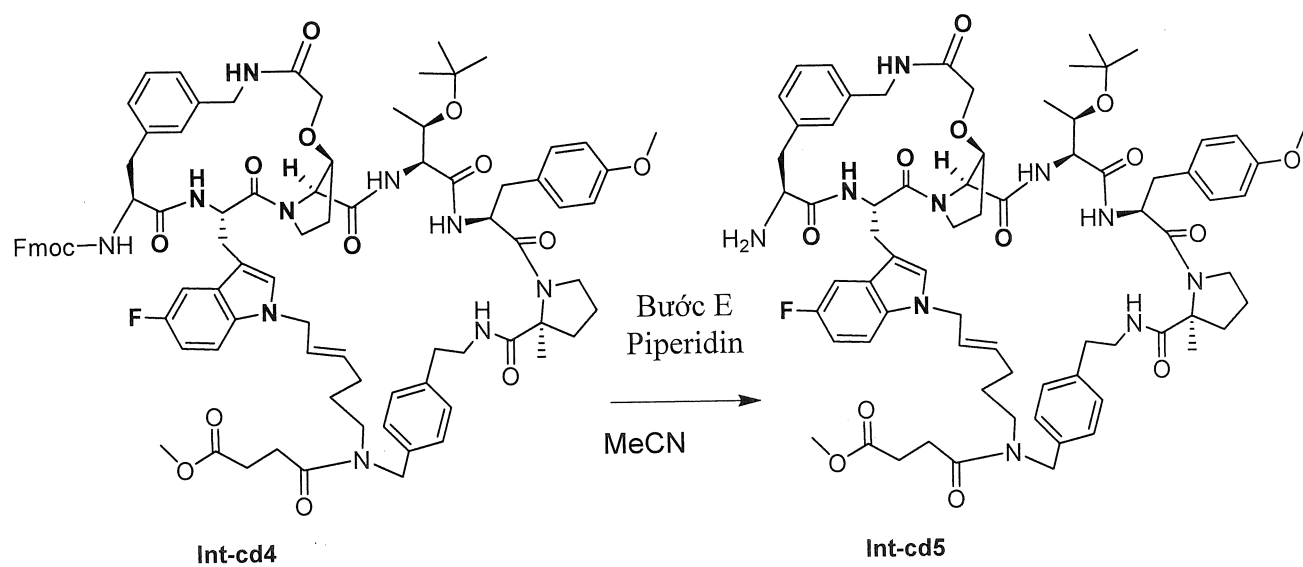
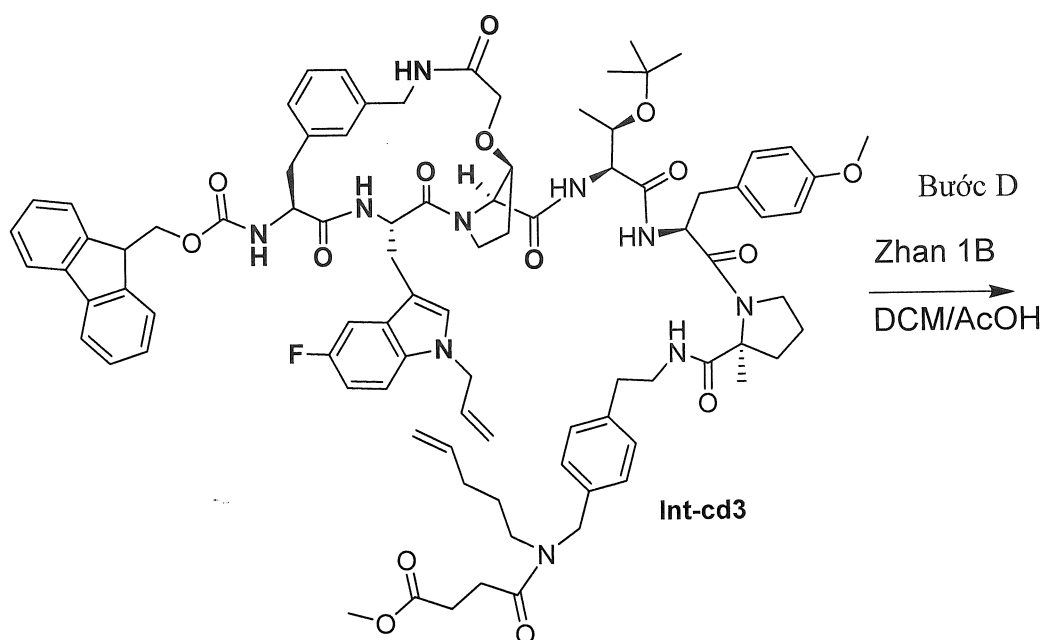
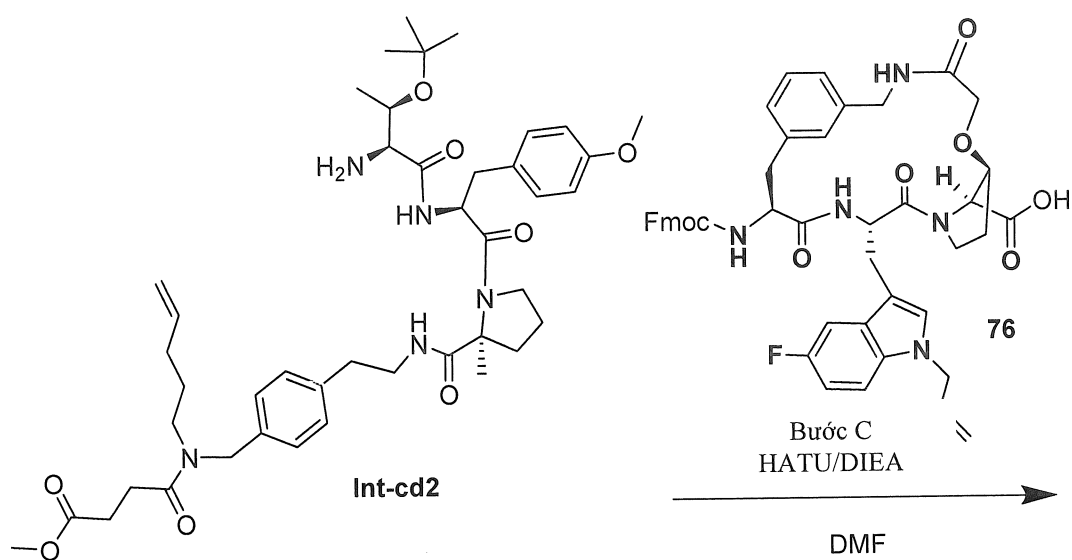
Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian 88

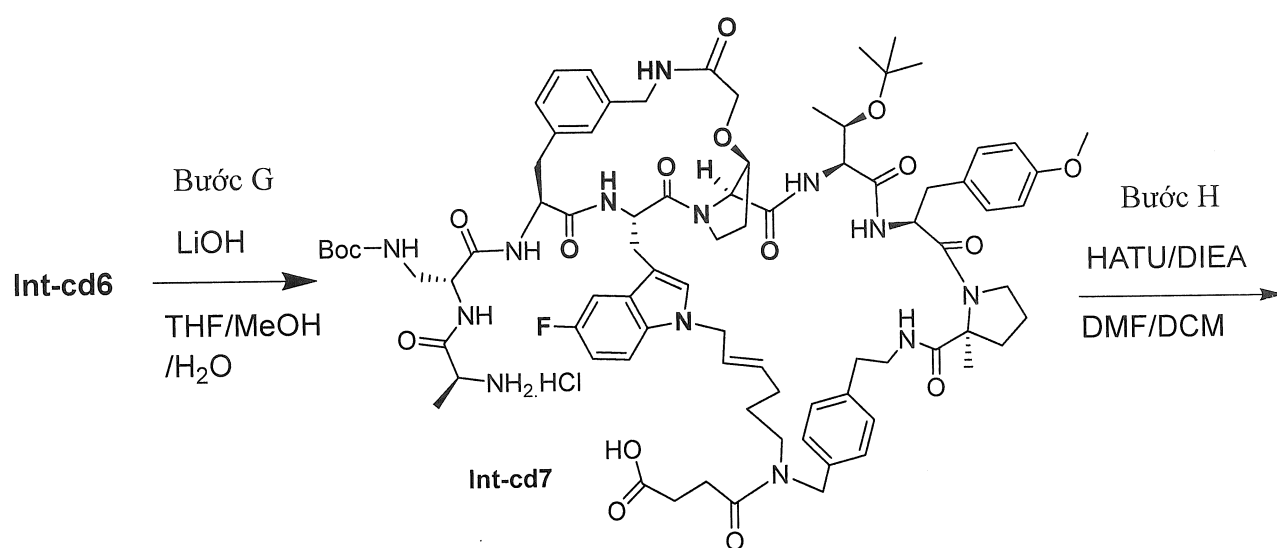
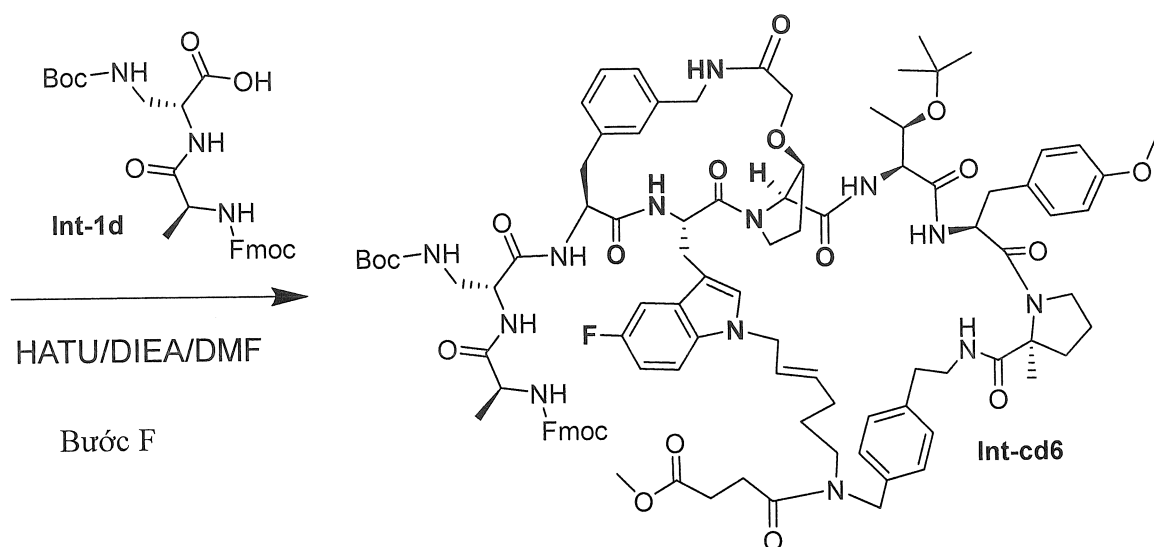
Nhựa 87 (4,5 g, 2,475 mmol) được loại bảo vệ thủ công bằng 5% piperidin trong DMF (30 ml) trong 30 phút, lọc, được xử lý lại bằng 5% piperidin trong DMF (30 ml) trong thêm 30 phút, lọc, sau đó rửa bằng DMF và DCM và được làm khô. Nhựa này sau đó liên kết thủ công với Fmoc-Ala-OH (1,541 g, 4,95 mmol), HATU (1,694 g, 4,46 mmol) và DIPEA (1,729 ml, 9,90 mmol) trong DMF (30 ml) trong 2 giờ sau đó lọc, rửa bằng DMF và DCM, sau đó được làm khô. Nhựa này sau đó được xử lý bằng 10% AcOH và TFE trong DCM (60 ml) trong 90 phút, lọc và dịch lọc được cô để tạo ra 88. LC/MS: $[2M+H]^+ = 995,01$.

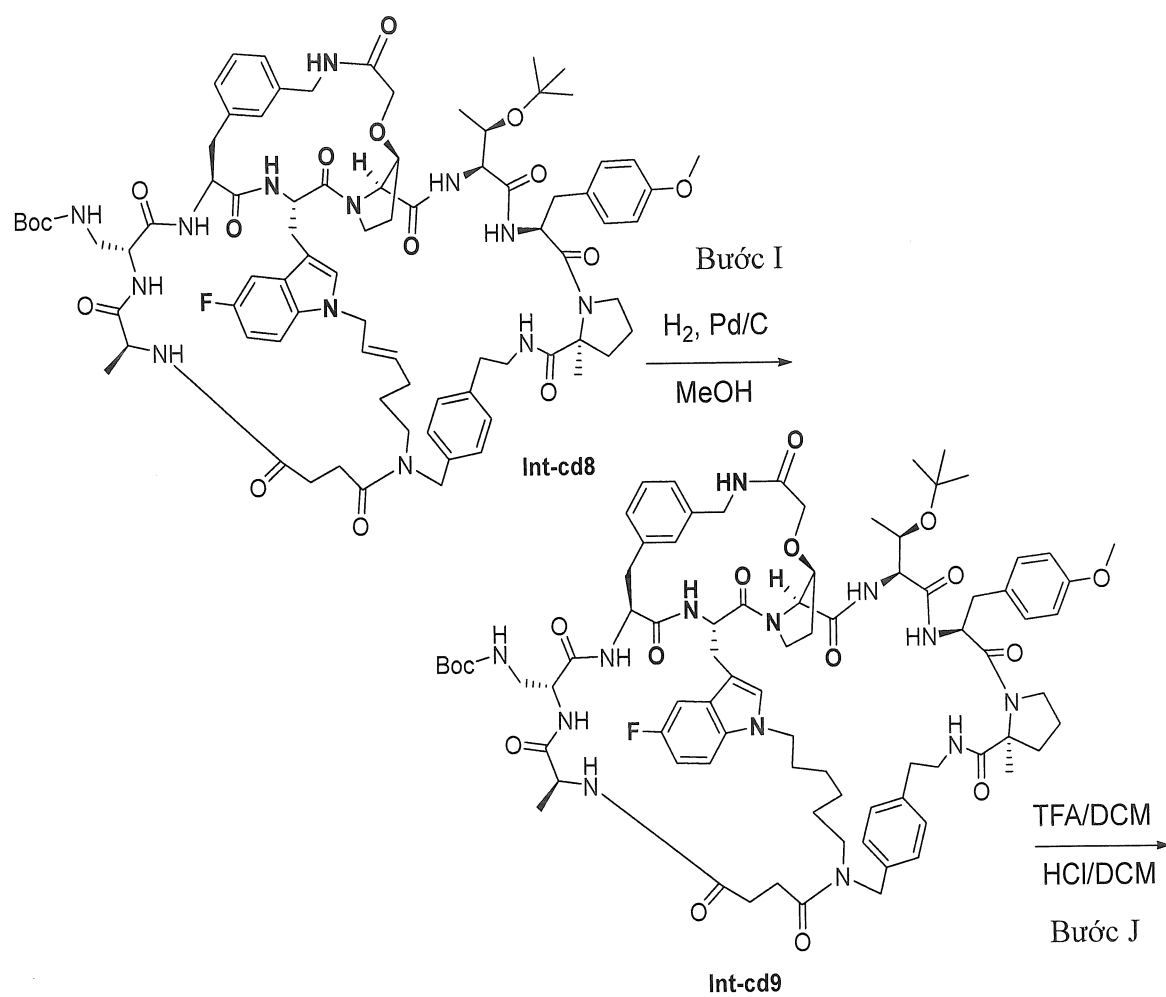
Ví dụ 1A – Quy trình tổng hợp thay thế của Ex-01 và điều chế Ex-25 từ đó:

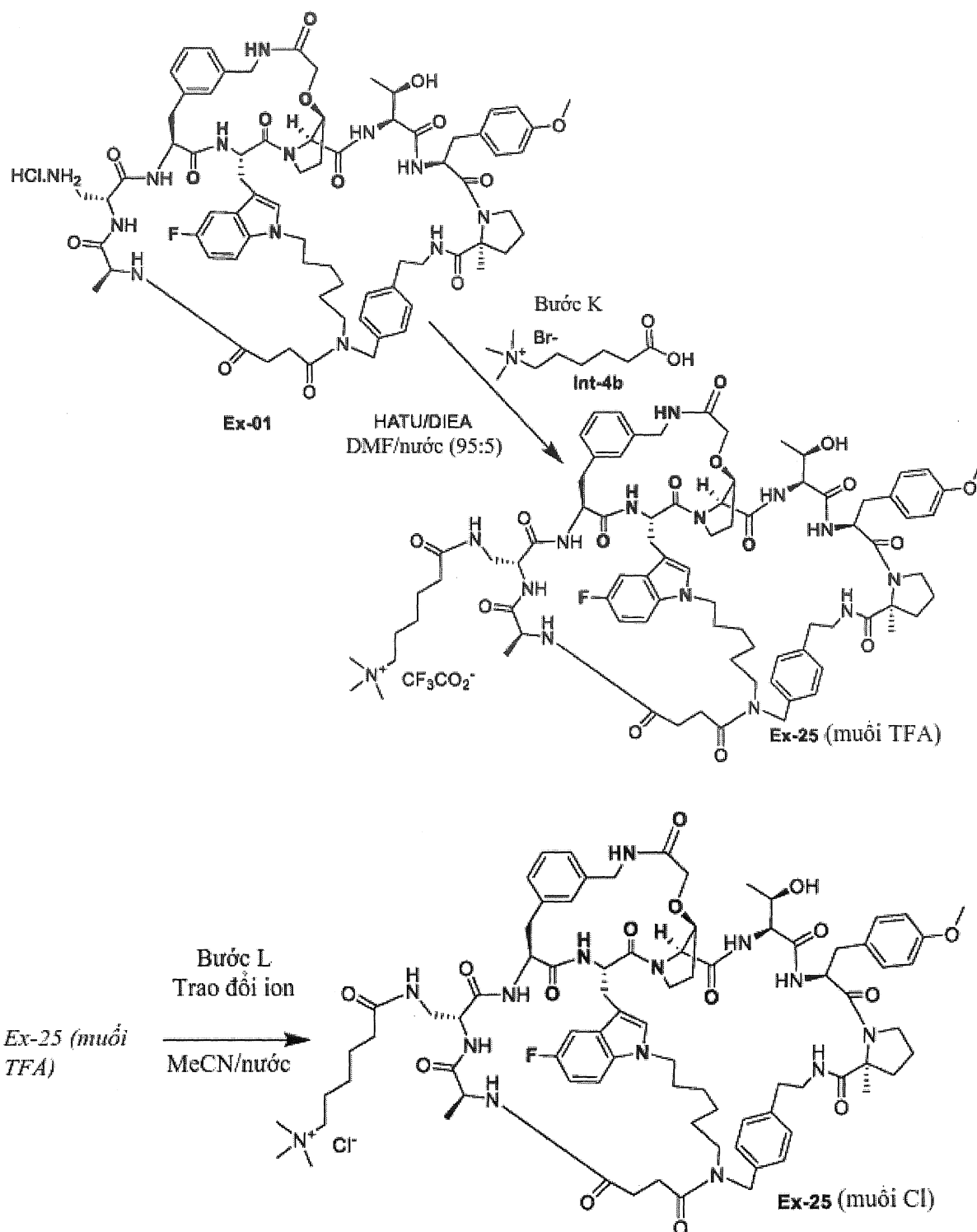
Hợp chất Ex-01, được thể hiện ở trên, có thể được điều chế theo cách khác, và hợp chất Ex-25 có thể được điều chế từ Ex-01, theo sơ đồ dưới đây:











Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd1

Bổ sung **Int-2d** (3,63 g, 9,84 mmol, quy trình điều chế được mô tả dưới đây) và **HATU** (3,74 g, 9,84 mmol) vào dung dịch của **Int-3c** (tổng hợp từ hợp chất trung gian 107 được mô tả dưới đây) (7,09 g, 10,33 mmol) trong **DMF** (45 ml) ở nhiệt độ 0°C sau đó **DIPEA** trong **DMF** (6,87 ml, 39,4 mmol) và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ 0°C với nước muối và

được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên MgSO_4 , lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% đến 80% etyl axetat trong ete dầu mỏ) để tạo ra Int-cd1. LC/MS: $[\text{M}+1]^+ = 1000,5$.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd2

Bổ sung piperidin (1,72 ml, 17,40 mmol) vào dung dịch của Int-cd1 (3,48 g, 3,48 mmol) trong axetonitril (50 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp được cô, phần còn lại được hòa tan lại trong DCM/axetonitril (1:1, 20 mL), được cô lần nữa và phần còn lại được làm khô trong chân không để tạo ra Int-cd2 là sản phẩm thô. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 778,5$.

Bước C – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd3

Bổ sung HATU (1,37 g, 3,61 mmol) sau đó DIEA (1,05 ml, 6,02 mmol) vào dung dịch của 76 (quy trình điều chế được thể hiện trong Ví dụ 1, ở trên) (2,45 g, 3,01 mmol) và Int-cd2 (2,69 g, 3,46 mmol) trong DMF (70 ml) ở nhiệt độ 0°C . Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 50 phút, sau đó được chia phần giữa EtOAc (500 mL) và nước muối (200 mL). Pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (2x200 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% – 5% MeOH trong DCM) để tạo ra Int-cd3. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 1574,7$.

Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd4

Dung dịch ở nhiệt độ trong phòng của Int-cd3 (1,91 g, 1,21 mmol) trong DCM (1500 ml) và axit axetic (30 mL) được sục N_2 trong 30 phút sau đó bổ sung chất xúc tác Zhan-1B (0,445 g, 0,607 mmol). Hỗn hợp tạo thành được sục tiếp ở nhiệt độ trong phòng bằng N_2 trong 30 phút, sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 55°C trong 5 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng hỗn hợp được lọc qua xelit, dịch lọc được cô, và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% – 5% MeOH trong DCM) để tạo ra Int-cd4 (là hỗn hợp của cis và trans olefin). LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 1546,8$.

Bước E – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd5

Bổ sung piperidin (1,76 ml, 17,8 mmol) vào dung dịch của Int-cd4 (hỗn hợp của cis và trans olefin) (5,49 g, 3,55 mmol) trong DCM (20 ml) và axetonitril (50 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, sau đó được cô và phần còn lại được tạo huyền phù trong axetonitril (20 ml) và được cô lần nữa. Phần còn lại sau đó được làm khô trong chân không để tạo ra Int-cd5 (là hỗn hợp của cis và trans olefin) là hỗn hợp thô. LC/MS: $(M+1)^+ = 1323,8$.

Bước F – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd6

Bổ sung HATU (1,76 g, 4,62 mmol) và DIEA (1,55 ml, 8,88 mmol) vào dung dịch của Int-cd5 (hỗn hợp của cis và trans olefin) (4,70 g, 3,55 mmol) và Int-1d (2,21 g, 4,44 mmol, quy trình điều chế được mô tả dưới đây) trong DMF (70 ml) ở nhiệt độ 0°C. Dung dịch tạo thành được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 1 giờ, sau đó được chia phần giữa EtOAc (300 mL) và nước muối (200 mL). Pha chứa nước được chiết bằng EtOAc (200 mL), pha EtOAc được kết hợp và được rửa bằng nước muối (3x200 mL), được làm khô trên Na₂SO₄, được cô và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% – 5% MeOH trong DCM) để tạo ra Int-cd6 (là hỗn hợp của cis và trans olefin). LC/MS: $(M+1)^+ = 1802,8$

Bước G – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd7

Bổ sung 1N LiOH chứa nước (24,0 ml, 24,0 mmol) từng giọt vào dung dịch của Int-cd6 (là hỗn hợp của cis và trans olefin) (5,41 g, 3,00 mmol) trong THF (100 ml), MeOH (30 ml), và nước (30 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 3 giờ. Hỗn hợp được trung hòa ở nhiệt độ 0°C bằng cách bổ sung 1N HCl, chất dễ bay hơi được làm bay hơi, và lớp chứa nước được trung hòa đến pH 5 bằng 1N HCl. Hỗn hợp sau đó được làm đông lạnh và đông khô, và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên C18 (rửa giải bằng gradien của axetonitril (0,05% TFA)/nước (0,05% TFA)) để tạo ra Int-cd7 (là hỗn hợp của cis và trans olefin) dưới dạng muối TFA. Do đó, bổ sung 0,1N HCl chứa nước (150 ml, 15,00 mmol) từng giọt ở nhiệt độ 0°C vào Int-cd7 muối TFA thu được, (là hỗn hợp của cis và trans olefin) trong axetonitril (750 mL) và nước (450 mL), sau đó dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 5 phút, được đông lạnh và được đông khô để tạo ra Int-cd7 dưới dạng muối HCl (là hỗn hợp của cis và trans olefin). LC/MS: $(M+1)^+ = 1566,6$.

Bước H – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd8

Bổ sung DIEA (0,330 ml, 1,890 mmol) và HATU (0,287 g, 0,756 mmol) vào dung dịch của Int-cd7 muối HCl được thu từ bước trước đó (1,01 g, 0,630 mmol) trong DMF (50 ml) và DCM (1300 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, chất dễ bay hơi được làm bay hơi, và phần còn lại được chia phần giữa EtOAc (400 mL) và nước muối (200 mL). Pha chứa nước được chiết bằng EtOAc (300 mL), lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (3x100 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% – 10% MeOH trong DCM) để tạo ra Int-cd8 (là hỗn hợp của cis và trans olefin). LC/MS: $(\text{M}+1)^+=1548,8$.

Bước I – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-cd9

Bổ sung 10% Pd/C (0,645 g, 0,607 mmol) vào dung dịch của Int-cd8 được thu ở bước trước đó (1,22 g, 0,788 mmol) trong MeOH (100 ml), và hỗn hợp tạo thành được hydro hóa ở nhiệt độ xung quanh qua bình cầu H_2 trong 7 giờ. Sau 7 giờ phản ứng được lọc qua xelit, dịch lọc được cô, và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của 1% – 10% MeOH trong DCM) để tạo ra Int-cd9. LC/MS: $(\text{M}+1)^+=1550,9$.

Bước J – Tổng hợp hợp chất Ex-01 là muối HCl

Bổ sung TFA (12 ml, 156 mmol) vào dung dịch của Int-cd9 (1,14 g, 0,735 mmol) trong DCM (6 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ xung quanh trong 30 phút. Hỗn hợp sau đó được cô, và phần còn lại được hòa tan trong DCM (20 mL) và toluen (20 mL). Hỗn hợp tạo thành được cô, và phần còn lại được hòa tan lại trong DCM (20 mL) và được xử lý bằng HCl (4N trong dioxan) (0,919 ml, 3,68 mmol). Hỗn hợp tạo thành được cô để tạo ra sản phẩm là chất rắn. Sản phẩm rắn được hòa tan lại trong axetonitril (200 mL) và nước (100 mL), và vào dung dịch ở trên ở nhiệt độ 0°C được bổ sung 1N HCl chứa nước (3,68 ml, 3,68 mmol) từng giọt. Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 phút, sau đó được đông lạnh và được đông khô để tạo ra Ex-01 là muối HCl. LC/MS: $(\text{M}+1)^+=1394,7$.

Bước K – Tổng hợp Ex-25 là muối TFA

Bổ sung HATU (254 mg, 0,669 mmol) và DIEA (425 μl , 2,433 mmol) vào dung dịch của Ex-01 muối HCl (870 mg, 0,608 mmol) và Int-4b (170 mg, 0,669 mmol, quy

Bước L – Điều chế Ex-25 là muối Cl

Dưới đây là phân mô tả về một số hợp chất trung gian được sử dụng hữu ích trong tổng hợp Ex-01 và Ex-25 được mô tả ngay trước đó.

Điều chế hợp chất trung gian Int-1d

The reaction scheme shows the conversion of Int-1da to Int-1d. Int-1da, which contains a tert-butyl ester and a carboxylic acid, reacts with HATU/DIEA in DMF to form a cyclic intermediate. This intermediate is then treated with CaCl₂ and NaOH to yield Int-1d, where the tert-butyl ester has been removed and the carboxylic acid is now a free acid.

Bổ sung DIPEA (7,03 ml, 40,2 mmol) vào dung dịch của muối D-Dap(Boc)-OMe HCl (4,10 g, 16,10 mmol), Fmoc-Ala-OH (5,01 g, 16,10 mmol) và HATU (6,43 g, 16,90

mmol) trong DMF (40 ml) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ sau đó giữ trong tủ lạnh qua đêm. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ trong phòng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nửa nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của Hexan/EtOAc) để tạo ra Int-1da. LC/MS: [M+H]⁺ = 512,3.

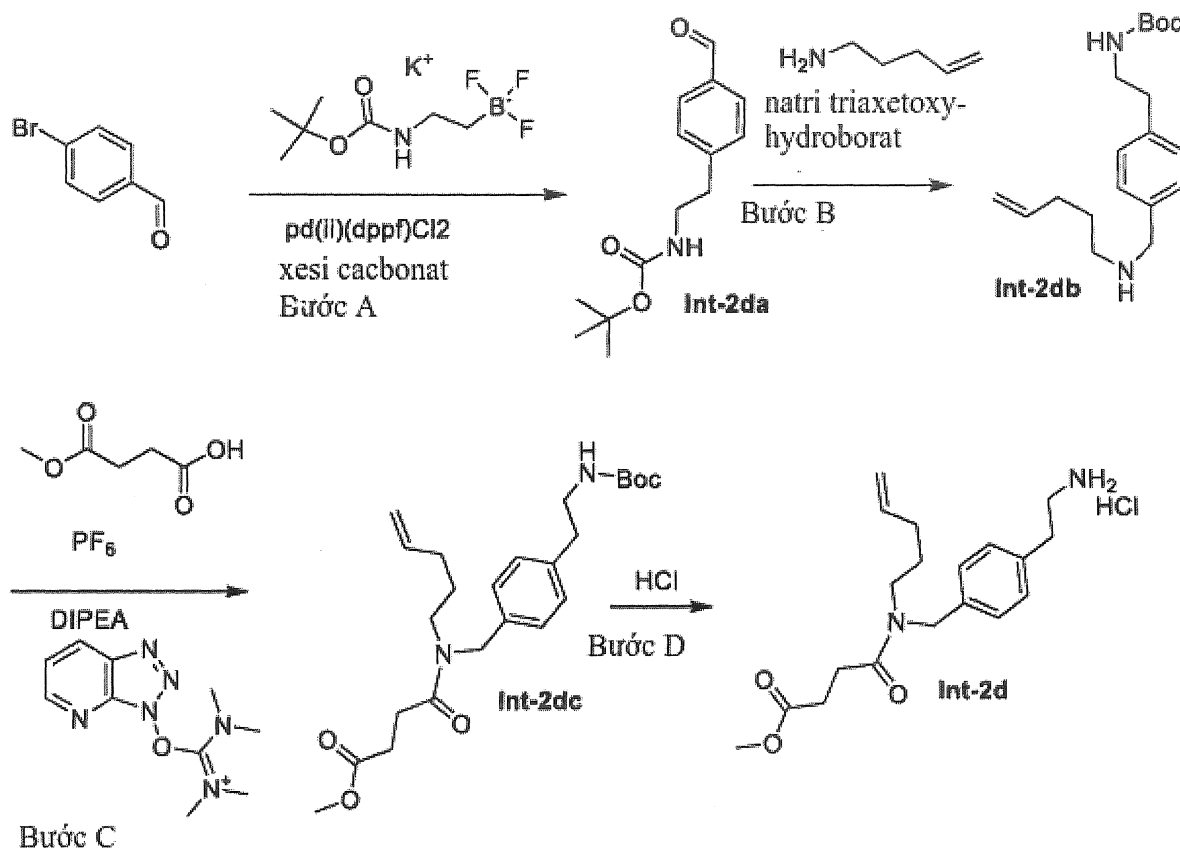
Bước B – Tổng hợp Int-1d

Bổ sung natri hydroxit rắn (0,691 g, 17,27 mmol) vào dung dịch của Int-1da (8,03 g, 15,70 mmol) và 0,8 N canxi clorua (19,62 ml, 15,70 mmol) trong nước (40 ml) và 2-propanol (120 ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp được cô, được axit hóa bằng 0,5 N đến pH ~2 (~40 mL), được chiết một chút bằng EtOAc, được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄ và được cô. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên C18 (rửa giải bằng gradien của axetonitril/nước + 0,1% TFA) để tạo ra Int-1d. LC/MS: [M+H]⁺ = 498,25.

Quy trình điều chế hợp chất trung gian Int-1d được mô tả ở trên để sử dụng trong điều chế Ex-01 và Ex-25. Phần này của phân tử có thể được mô tả là “nhóm liên kết” tạo vòng vòng peptit mạch ngắn đến vòng peptit mạch dài. Các “nhóm liên kết” tương tự khác có thể được sử dụng ở vị trí của Int-1d bằng cách thay đổi đệm được sử dụng trong quá trình tổng hợp, bao gồm nhưng không giới hạn ở, sử dụng Dap và D-Ala.

Điều chế hợp chất trung gian Int-2d

Hợp chất trung gian Int-2d, hữu ích làm “nhóm liên kết” trong quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế, được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



Bước A – Tổng hợp Int-2da

Dung dịch của 4-bromobenzaldehyt (15,00 g, 81 mmol), kali tert-butyl N-[2-(trifloroborauydy)etyl]carbamat (20,97 g, 84 mmol), xesi cacbonat (52,8 g, 162 mmol) và phức chất 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen-paladi(ii)diclorua diclorometan (Pd(II)(dppf)Cl_2 , 1,99 g, 2,43 mmol) trong toluen được khử khí (250 ml) và nước (85 ml) được làm ấm đến nhiệt độ 76°C và được khuấy qua đêm. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ trong phòng bằng amoni clorua chứa nước được bão hòa một nửa và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của DCM/EtOAc) để tạo ra Int-2da. LC/MS: $(\text{M}-56+1)^+ = 193,0$.

Bước B – Tổng hợp Int-2db

Bổ sung natri triacetoxymethylborat (32,9 g, 155 mmol) từng phần vào dung dịch của Int-2da (12,9 g, 51,7 mmol) và pent-4-en-1-amin (6,61 g, 78 mmol) trong DCM (120 ml) và AcOH (3 ml) ở nhiệt độ trong phòng trong bể nước và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Phản ứng được làm dừng từ từ ở nhiệt độ 0°C bằng 3 ml nước, rót vào 1

N NaOH (500 ml), được khuấy trong 15 phút sau đó được chiết bằng DCM, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được cô. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng gradien của DCM/MeOH) để tạo ra Int-2db. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 319,2$.

Bước C – Tổng hợp Int-2dc

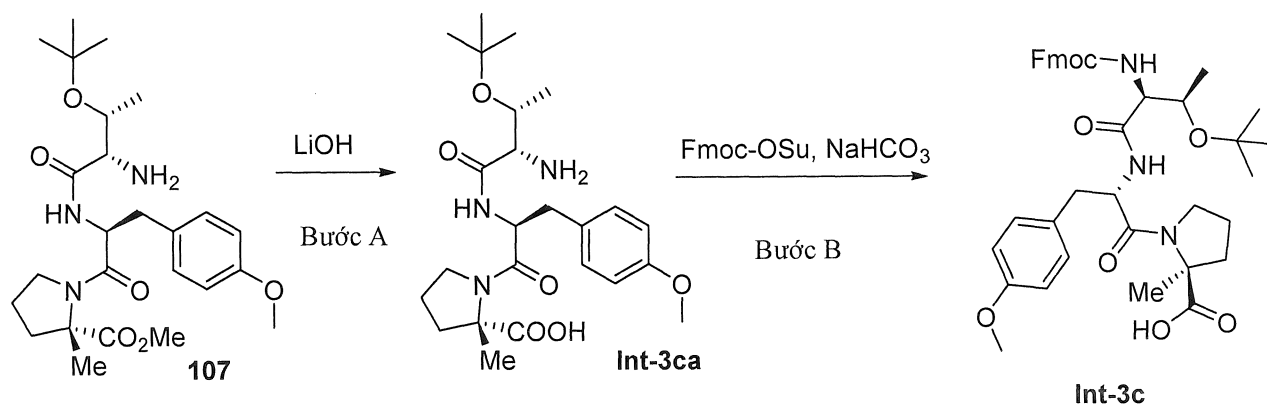
Bổ sung HATU (9,48 g, 24,92 mmol) và DIPEA (8,71 ml, 49,8 mmol) vào dung dịch của Int-2db (8,48 g, 20,77 mmol) và axit 4-metox-4-oxobutanoic (3,02 g, 22,85 mmol) trong DMF (40 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, sau đó được làm dừng bằng NaHCO_3 bão hòa chứa nước (10 mL). Hỗn hợp được chia phần giữa EtOAc (500 mL) và NaHCO_3 bão hòa chứa nước (200 mL), pha hữu cơ được rửa bằng nước muối (3x200 mL), được làm khô trên Na_2SO_4 , được cô và phần còn lại được tinh chế trên cột silicagel (rửa giải bằng gradien của Hexan/EtOAc) để tạo ra Int-2dc. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 433,4$.

Bước D – Tổng hợp Int-2d

Bổ sung 4 M HCl trong dioxan (10 mL) vào dung dịch của Int-2dc (2,9 g, 6,70 mmol) trong DCM (15 mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 4-((4-(2-aminoethyl)benzyl)(pent-4-en-1-yl)amino)-4-oxobutanoat hydroclorua (Int-2d). LC/MS $[\text{M}-\text{HCl} + \text{H}]^+ = 333,3$.

Điều chế Int-3c từ 107 được sử dụng trong quá trình tổng hợp Ex-01 và Ex-25 được mô tả ở trên

Hợp chất trung gian Int-3c được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



Bước A – Tổng hợp Int-3ca

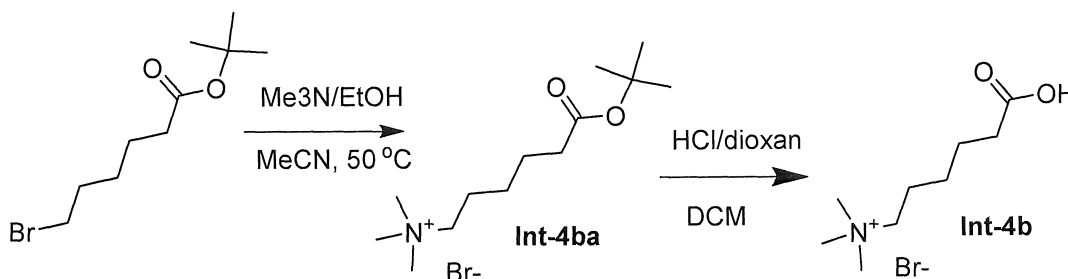
Bổ sung 2 N lithi hydroxit monohydrat (43,3 ml, 87 mmol) vào dung dịch của 107 (quy trình điều chế được thể hiện trong quy trình tổng hợp 109 và được sử dụng sau đó cho 116, mà hợp chất trung gian được sử dụng trong quá trình tổng hợp của Ex-53, Ex-54 và Ex-55 trong Ví dụ 3 dưới đây) (10,34 g, 21,65 mmol) trong THF (100 ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ 45°C và được khuấy qua đêm để tạo ra Int-3ca là dung dịch thô. LC/MS: $(M+1)^+ = 464,3$. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội ở nhiệt độ 0°C và được xử lý bằng 1 M HCl (40 mL). Hỗn hợp này được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Bước B – Tổng hợp Int-3c

Bổ sung NaHCO_3 (1,725 g, 20,54 mmol) và Fmoc-OSu (3,81 g, 11,30 mmol) vào Int-3ca thô được điều chế ở bước trên ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 2 giờ, được xử lý bằng 1 M HCl (20,5 mL), và được chiết bằng ethyl axetat (2 x 200 mL). Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối (2 x 100 mL) và được làm khô trên natri sulfat khan, lọc và được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải bằng gradient của 2% đến 5% MeOH trong DCM, để tạo ra Int-3c. LC/MS: $(M+1)^+ = 686,4$.

Điều chế hợp chất trung gian Int-4b

Hợp chất trung gian Int-4b được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



Bước A- Tổng hợp Int-4ba từ tert-butyl-3-(2-hydroxyetoxy)propanoat

Bổ sung CBr_4 (1395 mg, 4,21 mmol) và PPh_3 (965 mg, 3,68 mmol) vào dung dịch của tert-butyl 3-(2-hydroxyetoxy)propanoat (500,0 mg, 2,63 mmol) trong DCM (2 mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải bằng gradient 1% - 15% ethyl axetat trong ete dầu mỏ. Các phần chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô để tạo ra tert-butyl 6-bromohexanoat.

Do đó được điều chế, dung dịch của tert-butyl 6-bromohexanoat (5 g, 19,91 mmol) trong axetonitril (10 ml) được xử lý bằng trimetylamin (13,56 ml, 59,7 mmol) và dung dịch tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Dung dịch được cô để tạo ra Int-4ba. LC/MS: $M^+ = 230,3$.

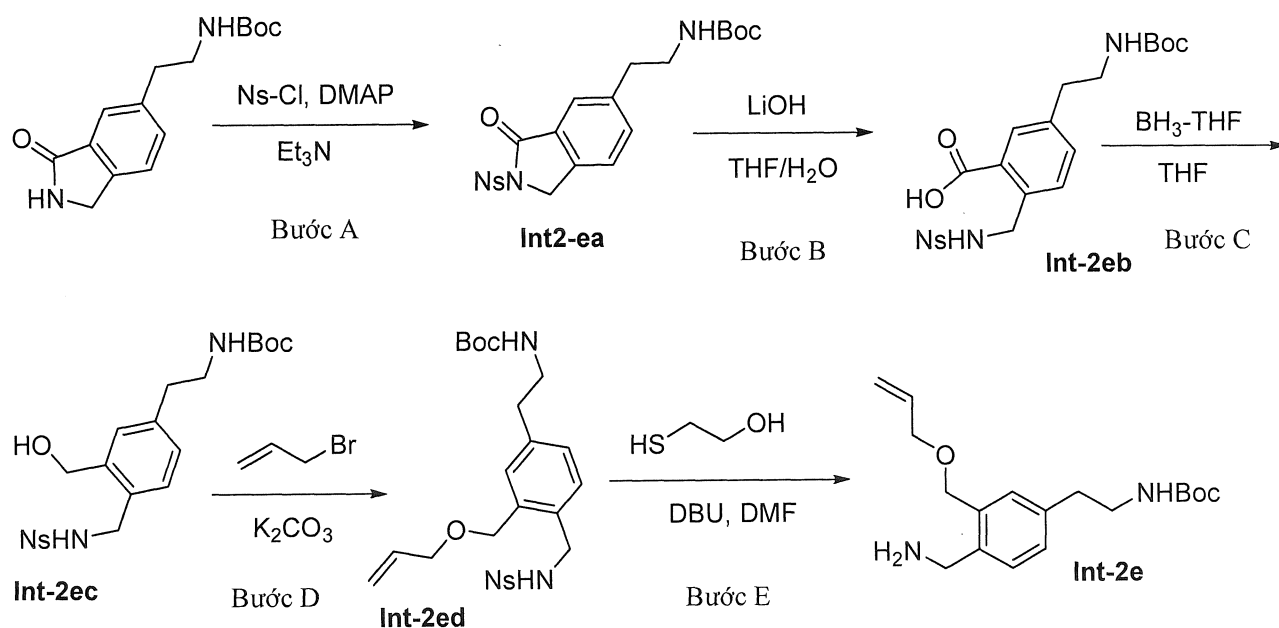
Bước B – Tổng hợp Int-4b

Bổ sung 4N HCl trong dioxan (27,4 ml, 110 mmol) vào dung dịch của Int-4ba (6,8 g, 21,92 mmol) trong DCM (6 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Hỗn hợp sau đó được cô để tạo ra Int-4b. LC/MS: $M^+ = 174,3$.

Quy trình điều chế hợp chất trung gian Int-2d được mô tả ở trên để sử dụng trong điều chế Ex-01 và Ex-25. Phần này của phân tử có thể được mô tả là “nhóm liên kết” tạo vòng vòng peptit mạch ngắn mang các phần tử thế R^1 , R^2 và R^8 . Các “nhóm liên kết” tương tự khác có thể được sử dụng ở vị trí của Int-2d. Dưới đây là phần mô tả của các “nhóm liên kết” khác có thể được sử dụng để điều chế các ví dụ của sáng chế được mô tả trong bản mô tả này.

Điều chế hợp chất trung gian Int-2e

Hợp chất trung gian Int-2e, hữu ích làm “nhóm liên kết” trong quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế, được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2ea

Bổ sung NsCl (1,93 g, 8,69 mmol), triethylamin (1,76 g, 17,4 mmol) và DMAP (0,141 g, 1,16 mmol) vào dung dịch của tert-butyl (2-(3-oxoisindolin-5-yl)ethyl)carbamate (1,60 g, 5,79 mmol) trong DCE (20 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 14 giờ ở nhiệt độ 40°C . Phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-40% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2ea. LC/MS: $(\text{M}+\text{Na})^+ = 484,4$.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2eb

Bổ sung LiOH (1,76 g, 73,5 mmol) vào dung dịch của Int-2ea (11,3 g, 24,5 mmol) trong THF (100 mL) và nước (100 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 giờ ở nhiệt độ 25°C sau đó dung dịch tạo thành được điều chỉnh đến pH 4~5 bằng HCl (1M). Dung dịch được chiết bằng EtOAc và lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-6% gradien MeOH trong DCM) để tạo ra Int-2eb. LC/MS: $(\text{M}+\text{Na})^+ = 502,2$.

Bước C – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2ec

Bổ sung boran (0,147 g, 10,6 mmol) vào dung dịch của Int-2eb (1,70 g, 3,55 mmol) trong THF (8 mL) ở nhiệt độ 0°C . Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 14 giờ ở nhiệt độ 25°C sau đó dung dịch tạo thành được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-50% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2ec. LC/MS: $(\text{M}+\text{NH}_4)^+ = 483,2$.

Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2ed

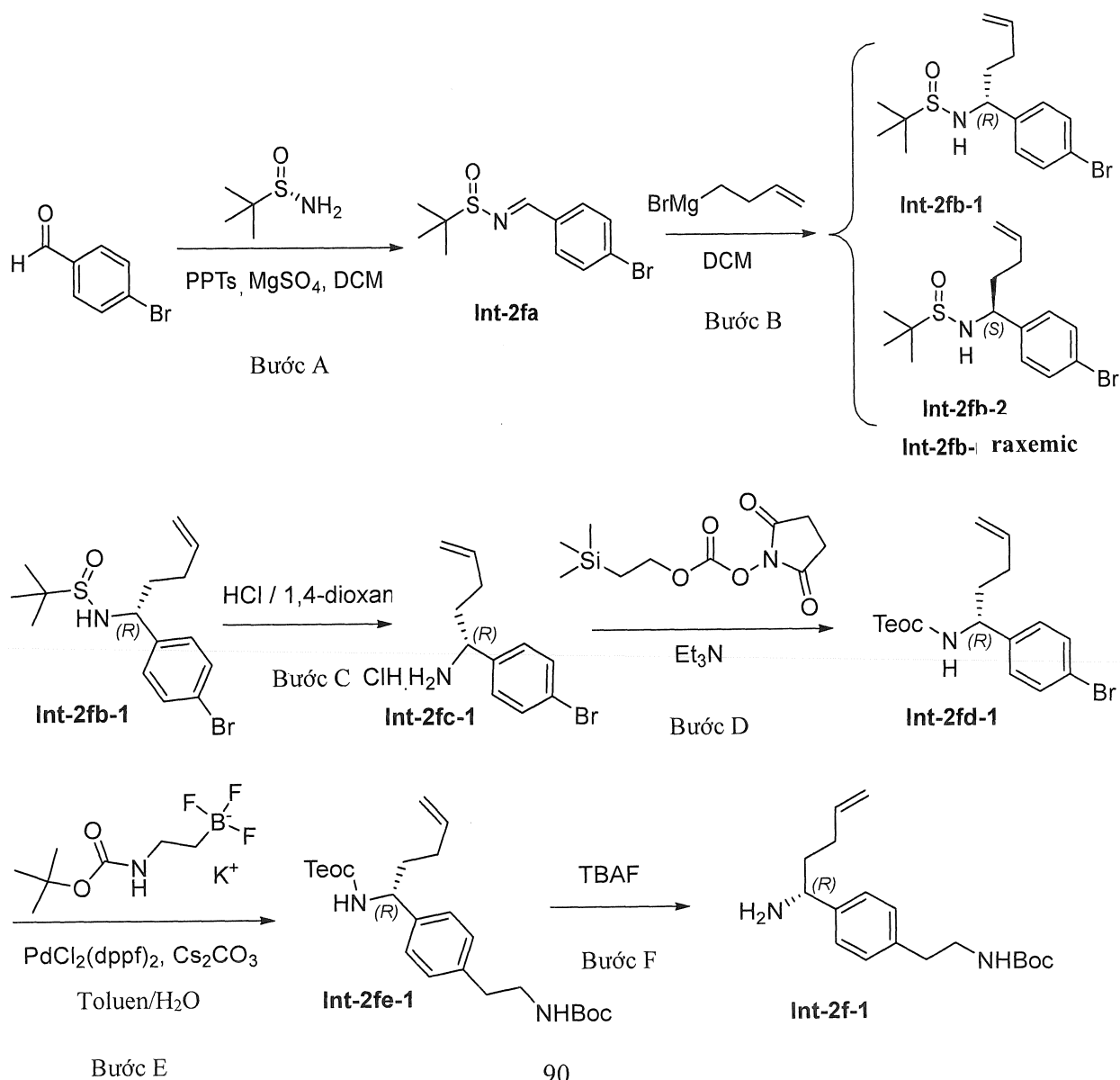
Bổ sung K_2CO_3 (2,01 g, 14,5 mmol) và 3-bromoprop-1-en (1,41 g, 11,6 mmol) vào dung dịch của Int-2ec (4,50 g, 9,67 mmol) trong DMF (150 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 giờ ở nhiệt độ trong phòng sau đó được pha loãng với nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-50% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2ed. LC/MS: $(\text{M}+\text{H})^+ = 506,2$.

Bước E – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2e

Bổ sung DBU (1,35 g, 8,90 mmol) và 2-mercaptoetanol (2,08 g, 26,7 mmol) vào dung dịch của Int-2ed (4,50 g, 8,90 mmol) trong DMF (35 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 14 giờ ở nhiệt độ trong phòng sau đó được tinh chế bằng sắc ký cột trên C18 (Cột: 330 g; Pha động A: nước/0,05% TFA, Pha động B: ACN; Tốc độ dòng: 85 mL/phút; Gradien: 10% B đến 20% B trong 15 phút, 20% B đến 45% B trong 15 phút; Bộ phát hiện: UV 210 nm; Rt=20 phút) để tạo ra Int-2e. LC/MS: (M+H)⁺= 321,2. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21-7,13 (m, 2H), 7,10-7,01 (m, 1H), 5,96-5,79 (m, 1H), 5,30-5,09 (m, 2H), 4,58 (s, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,43-3,19 (m, 4H), 2,76 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 1,41 (s, 9H).

Điều chế hợp chất trung gian Int-2f-1

Hợp chất trung gian Int-2f-1, hữu ích làm “nhóm liên kết” trong quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế, được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2fa

Bổ sung pyridin 4-methylbenzensulfonat (1,35 g, 5,40 mmol) vào dung dịch của 4-bromobenzaldehyt (20,0 g, 108 mmol), (S)-2-methylpropan-2-sulfinamit (12,5 g, 103 mmol), MgSO_4 (130 g, 1081 mmol) trong DCM (225 mL) trong sự bảo vệ của nitơ. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong 72 giờ sau đó dung dịch tạo thành được lọc, và dịch lọc được cô dưới áp suất giảm. Cặn tạo thành được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-15% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2fa. LC/MS: $(\text{M}+\text{H})^+ = 287,9, 289,9$.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2fb (raxemat) và tách thành chất đồng phân đối quang Int-2fb-1 và Int-2fb-2

Bổ sung but-3-en-1-ylmagie bromua (15,7 g, 99 mmol) từ từ vào dung dịch của Int-2fa (20,0 g, 65,9 mmol) trong DCM khô (200 mL) ở nhiệt độ -48°C trong sự bảo vệ của nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ -48°C trong 2 giờ sau đó được làm dừng bằng dung dịch chứa nước NH_4Cl bão hòa (400 mL) và được chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và cặn tạo thành (chứa hỗn hợp raxemic Int-2fb) được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-35% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2fb-1 và Int-2fb-2. LC/MS: $(\text{M}+\text{H})^+ = 344,0, 346,0$.

Bước C – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2fc-1

Bổ sung Int-2fb-1 (17,0 g, 46,9 mmol) vào dung dịch của HCl (100 mL, 4 N trong 1,4-dioxan) ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch phản ứng được khuấy trong 1 giờ sau đó được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Int-2fc-1. LC/MS: $(\text{M}+\text{H}-\text{HCl})^+ = 240,0, 242,0$.

Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2fd-1

Bổ sung TEA (8,55 g, 84 mmol) vào dung dịch của Int-2fc-1 (8,20 g, 28,2 mmol) và Teoc-OSu (8,03 g, 31,0 mmol) trong 1,4-dioxan (200 mL) ở nhiệt độ 25°C. Hỗn hợp này được khuấy trong 2 giờ sau đó được làm dừng bằng nước và được chiết bằng ete dầu mỏ (PE). Lớp hữu cơ kết hợp được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-10% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2fd-1. LC/MS: $(\text{M}+\text{Na}+\text{CH}_3\text{CN})^+ = 447,3, 449,3$.

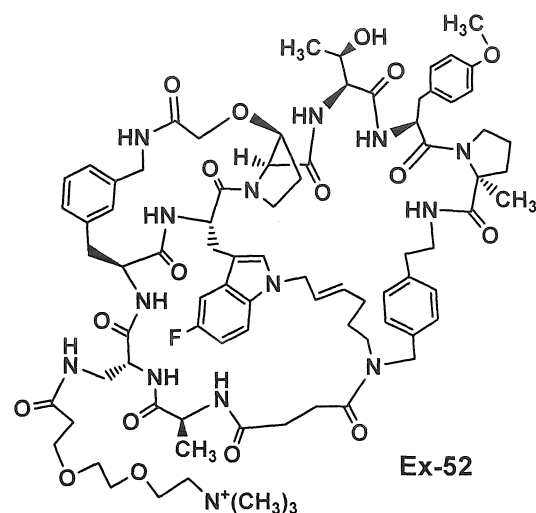
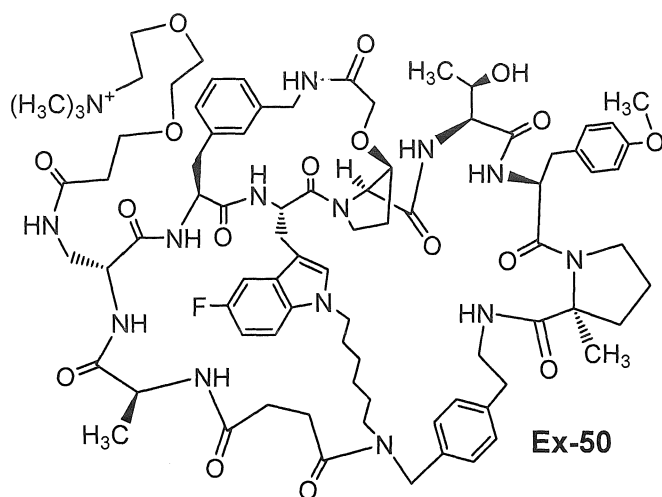
Bước E – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2fe-1

Bổ sung $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (1,37 g, 1,87 mmol) vào dung dịch của Int-2fd-1 (15,1 g, 37,3 mmol), kali (2-((tert-butoxycarbonyl)amino)ethyl) trifloroborat (18,7 g, 74,6 mmol), Cs_2CO_3 (36,5 g, 112 mmol) trong toluen (285 mL) và nước (95 mL) trong sự bảo vệ của nitơ. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong 40 giờ. Dung dịch tạo thành được làm dừng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-40% gradien EtOAc trong PE) để tạo ra Int-2fe-1. LC/MS: $(\text{M}+\text{Na})^+ = 471,4$.

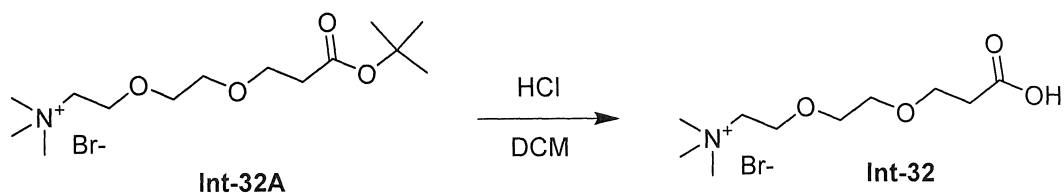
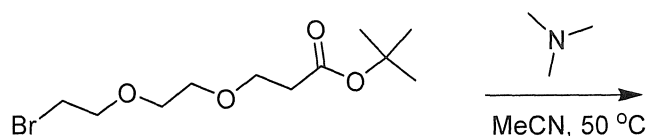
Bước F – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-2f-1

Bổ sung 1N TBAF trong THF (44,9 mL, 44,9 mmol) vào dung dịch của Int-2fe-1 (10,6 g, 22,4 mmol) trong THF (100 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ sau đó được làm dừng bằng nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 khan và lọc. Dịch lọc được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng 1%-70% gradien EtOAc trong PE) sau đó bằng sắc ký cột trên C18 (Cột: 330 g; Pha động A: nước (10 mM NH_4HCO_3), Pha động B: ACN; Tốc độ dòng: 80 mL/phút; Gradien: 10% B đến 10% B trong 10 phút, 20% B đến 45% B trong 10 phút, 45% B đến 70% B trong 20 phút; Bộ phát hiện: UV 210 nm; Rt= 25 phút) để tạo ra Int-2f-1. LC/MS: $(\text{M}+\text{H})^+ = 305,1$. ^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,27-7,16 (m, 4H), 5,85-5,75 (m, 1H), 5,00-4,85 (m, 2H), 3,79 (t, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,32-3,21 (m, 2H), 2,75 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 2,98-1,72 (m, 4H), 1,42 (s, 9H).

Ví dụ 2 Điều chế Ex-50 và Ex-52



Hợp chất Ex-50 được điều chế theo quy trình dưới đây từ hợp chất Ex-01, quy trình điều chế được mô tả trong bản mô tả này trong Ví dụ 1, bằng cách cho nó phản ứng trong điều kiện thích hợp với hợp chất trung gian Int 32, được điều chế theo sơ đồ dưới đây:



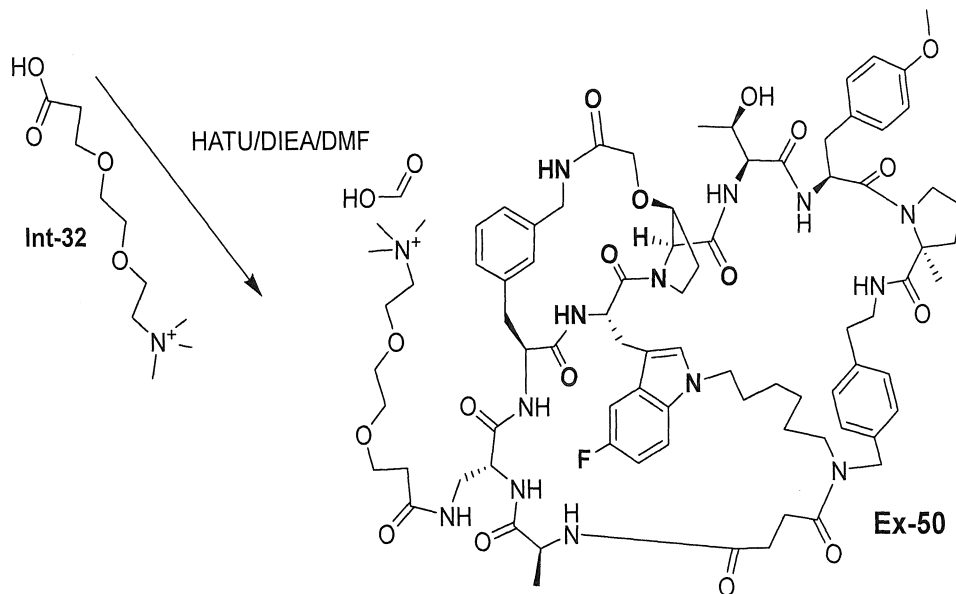
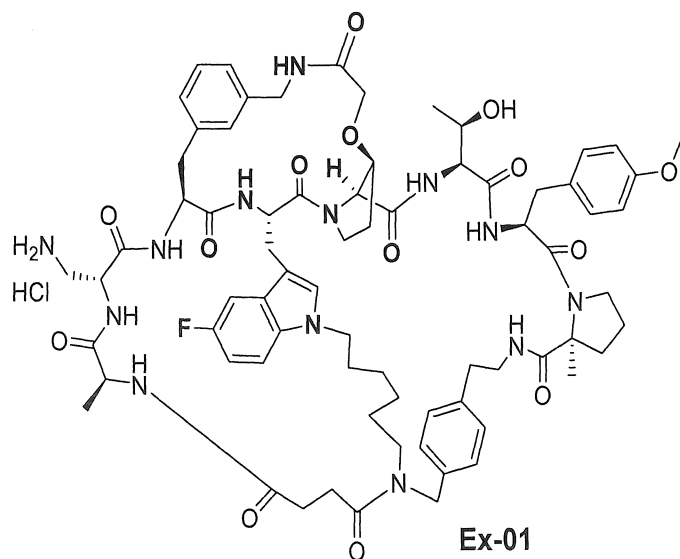
Bước A: Điều chế hợp chất trung gian Int-32A

Bổ sung trimetylamin (33% trong etanol, 11,46 ml, 50,5 mmol) vào dung dịch của tert-butyl 3-(2-(2-bromoethoxy)ethoxy)propanoat (5 g, 16,82 mmol) trong axetonitril (10 ml), và dung dịch tạo thành được gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C qua đêm. Dung dịch được cô để tạo ra 2-(2-(3-(tert-butoxy)-3-oxopropoxy)ethoxy)-N,N,N-trimetyletanamini bromua (Int 32A). LC/MS: (M)⁺: 276,5.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian Int-32

Bổ sung HCl (4N trong dioxan) (21,01 ml, 84 mmol) vào dung dịch của 2-(2-(3-(tert-butoxy)-3-oxopropoxy)etoxy)-N,N,N-trimetyletanamini bromua (Int-32A) (5,99 g, 16,81 mmol) trong DCM (20 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Dung dịch được cô để tạo ra 2-(2-(2-carboxyetoxy)etoxy)-N,N,N-trimetyletanamini bromua (Int-32). LC/MS: (M)⁺: 220,1.

Điều chế theo hợp chất ví dụ Ex-50



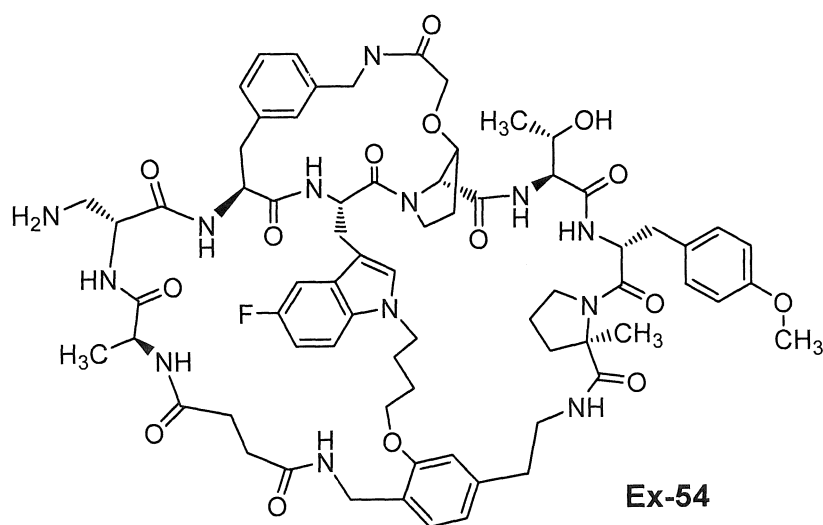
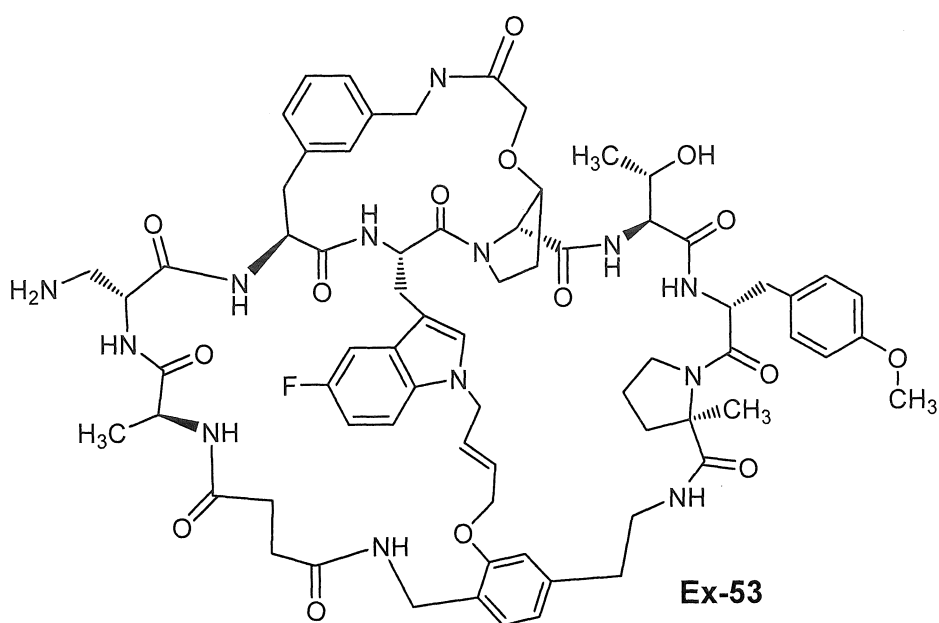
Bổ sung HATU (5,69 mg, 0,015 mmol) và DIEA (6,54 μ l, 0,037 mmol) vào dung dịch của Ex-01 (thô) (17,4 mg, 0,012 mmol) và 2-(2-(2-carboxyetoxy)etoxy)-N,N,N-trimetyletanamini bromua (Int-32) (4,49 mg, 0,015 mmol) trong DMF (2 ml), và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 50 phút, sau đó được tinh chế

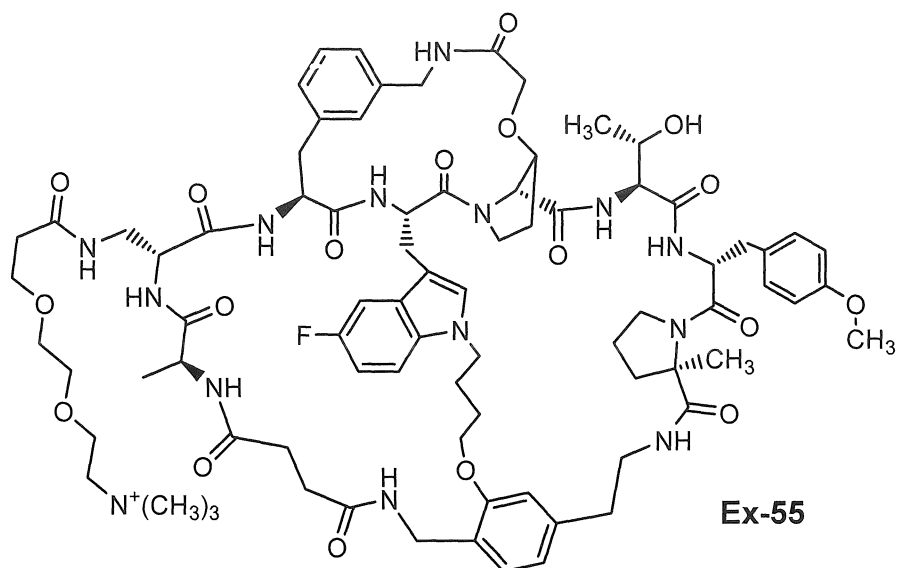
bằng HPLC pha đảo sử dụng axetonitril(axit formic 0,1%)/nước(axit formic 0,1%) làm pha động để tạo ra Ex-50. LC/MS: $M^+ = 1596,3$.

Điều chế theo hợp chất ví dụ Ex-52

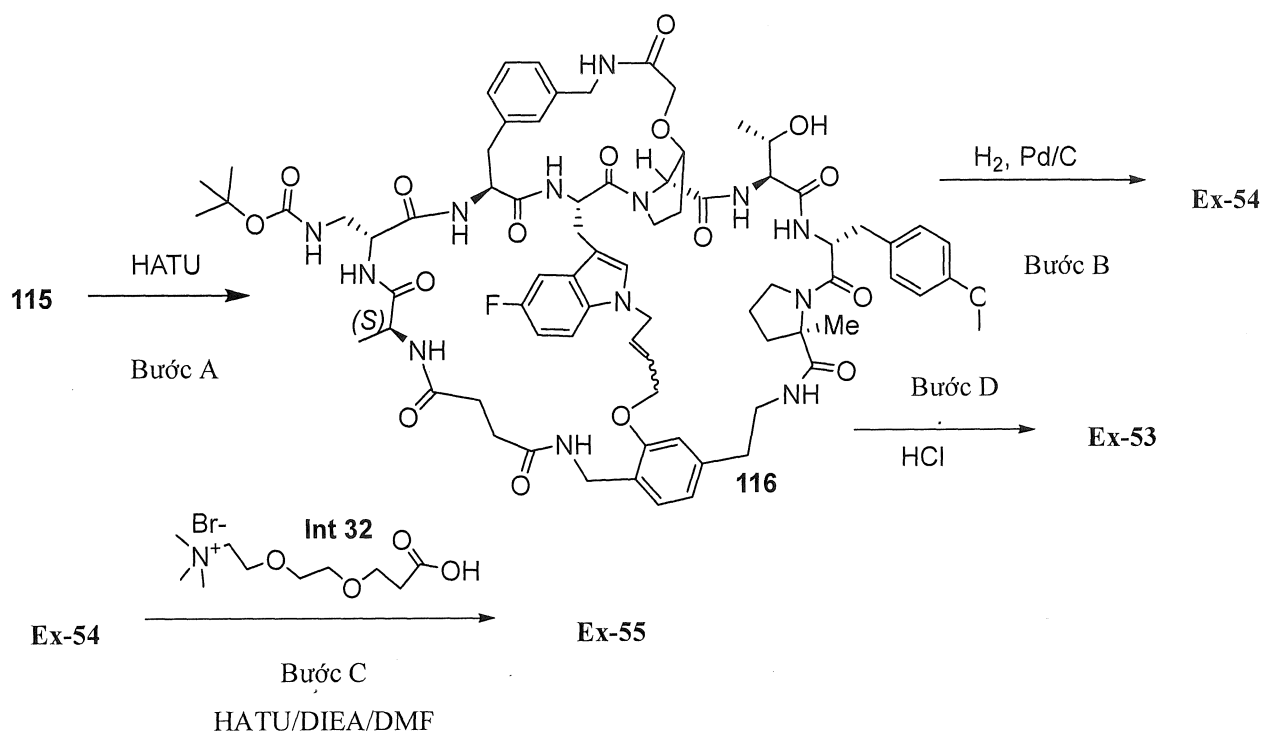
Hợp chất Ex-52 được điều chế theo cách tương tự quy trình điều chế của hợp chất Ex-50 nhưng sử dụng Ex-51 thay vì Ex-01. Ex-52 được tinh chế bằng cách sử dụng HPLC pha đảo, theo phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. LC/MS: $M^+ = 1593,8$.

Ví dụ 3 Điều chế Ex-53, Ex-54 và Ex-55





Hợp chất Ex-53, Ex-54 và Ex-55 được điều chế theo cách tương tự hợp chất được mô tả ở trên từ hợp chất trung gian 115 (quy trình điều chế được mô tả dưới đây), theo quy trình và phân mô tả quy trình tổng hợp dưới đây:



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 116

Bổ sung DIPEA (0,030 ml, 0,173 mmol) sau đó HATU (18,50 mg, 0,049 mmol) vào dung dịch của 115 (66,3 mg, 0,044 mmol) trong DMF (1,5 ml), DCM (10 ml) và nước (0,5 ml) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp được cô trong chân không và được tinh chế trực tiếp bằng sắc ký cột trên C18 (30 g, rửa giải

bằng axetonitril+0,05% TFA/nước+0,05% TFA 90:10 đến 40:60) để tạo ra 116 là hỗn hợp của các chất đồng phân E và Z cũng như 116 là các phân tinh khiết của chất đồng phân E hoặc Z. LC/MS (chất đồng phân chính) LC/MS: $M^+ = 1481,19$; LC/MS (chất đồng phân phụ): LC/MS: $M^+ = 1480$.

Bước B – Tổng hợp hợp chất Ex-54

Dung dịch của 116 (25,1 mg, 0,017 mmol) và Pd-C 10% (3,61 mg, 3,39 μ mol) trong MeOH (10 ml) được hydro hóa ở 1 atm trong 1 giờ. Phản ứng được lọc qua xelit và được cô. Phần còn lại được xử lý bằng DCM/TFA 1:1 trong 30 phút sau đó được cô, được xử lý bằng 4N HCl trong dioxan (100 μ L) sau đó được cô để tạo ra Ex-54 ở dạng muối HCl. LC/MS: $M^+ = 1383,44$.

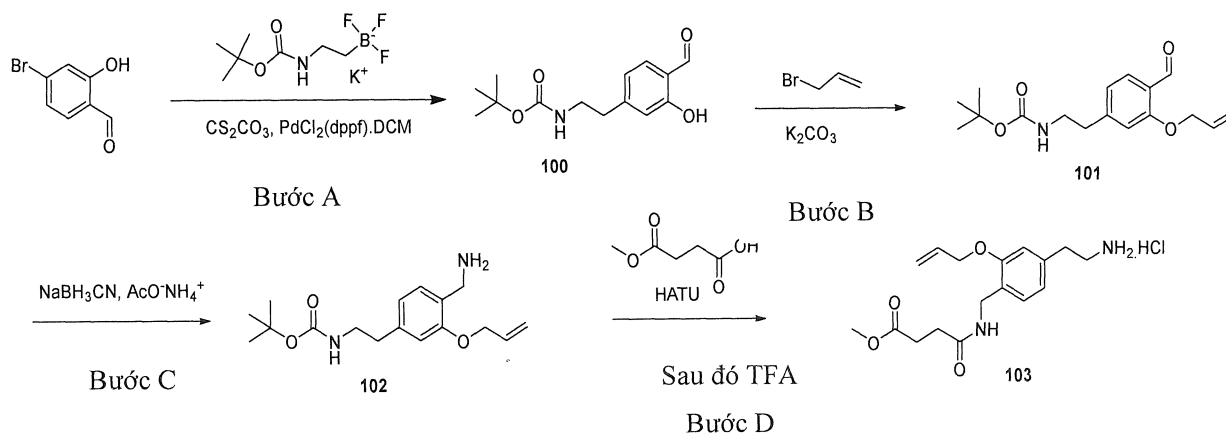
Bước C – Tổng hợp hợp chất Ex-55

Hợp chất ví dụ Ex-55 được điều chế ở dạng muối format từ Ex-54 theo cách giống với cách được mô tả trong Ví dụ 2 để tổng hợp hợp chất Ex-50. LC/MS: $M^+ = 1583,69$.

Bước D – Tổng hợp hợp chất Ex-53

Hợp chất ví dụ Ex-53 được điều chế ở dạng muối HCl từ hợp chất trung gian 116 theo cách giống với cách được mô tả trong Ví dụ 1 để tổng hợp hợp chất Ex-51. LC/MS: $M^+ = 1381,33$.

Điều chế hợp chất trung gian cần để tạo ra hợp chất trung gian 115 từ đó các hợp chất Ex-53, Ex-54 và Ex-55 cuối cùng được điều chế được mô tả trong sơ đồ và quá trình tổng hợp dưới đây bắt đầu bằng việc điều chế hợp chất trung gian 103.



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 100

Dung dịch của 4-bromo-2-hydroxybenzaldehyt (3,00 g, 14,92 mmol), kali tert-butyl N-[2-trifloroboraniudyl)etyl] carbamat (3,82 g, 15,22 mmol), xesi cacbonat (17,02 g, 52,2 mmol) và phức chất 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen-paladi(ii)diclorua diclorometan (0,611 g, 0,746 mmol) trong toluen được khử khí (45 ml) và nước (15 ml) được làm ấm đến 75°C và được khuấy qua đêm. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ trong phòng với natri bicacbonat chứa nước bão hòa một nửa và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 99:1 đến 60:40) để tạo ra 100. LC/MS: (M-55)⁺ = 210,25.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian 101

Bổ sung kali cacbonat (1,328 g, 9,61 mmol) vào dung dịch của 100 (1,70 g, 6,41 mmol) và alyl bromua (0,832 ml, 9,61 mmol) trong DMF (10 ml) ở nhiệt độ trong phòng được và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ 50°C và được khuấy trong 1 giờ. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ trong phòng với natri bicacbonat chứa nước bão hòa một nửa và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 99:1 đến 70:30) để tạo ra 101. LC/MS: (M-55)⁺ = 250,29.

Bước C – Tổng hợp hợp chất trung gian 102

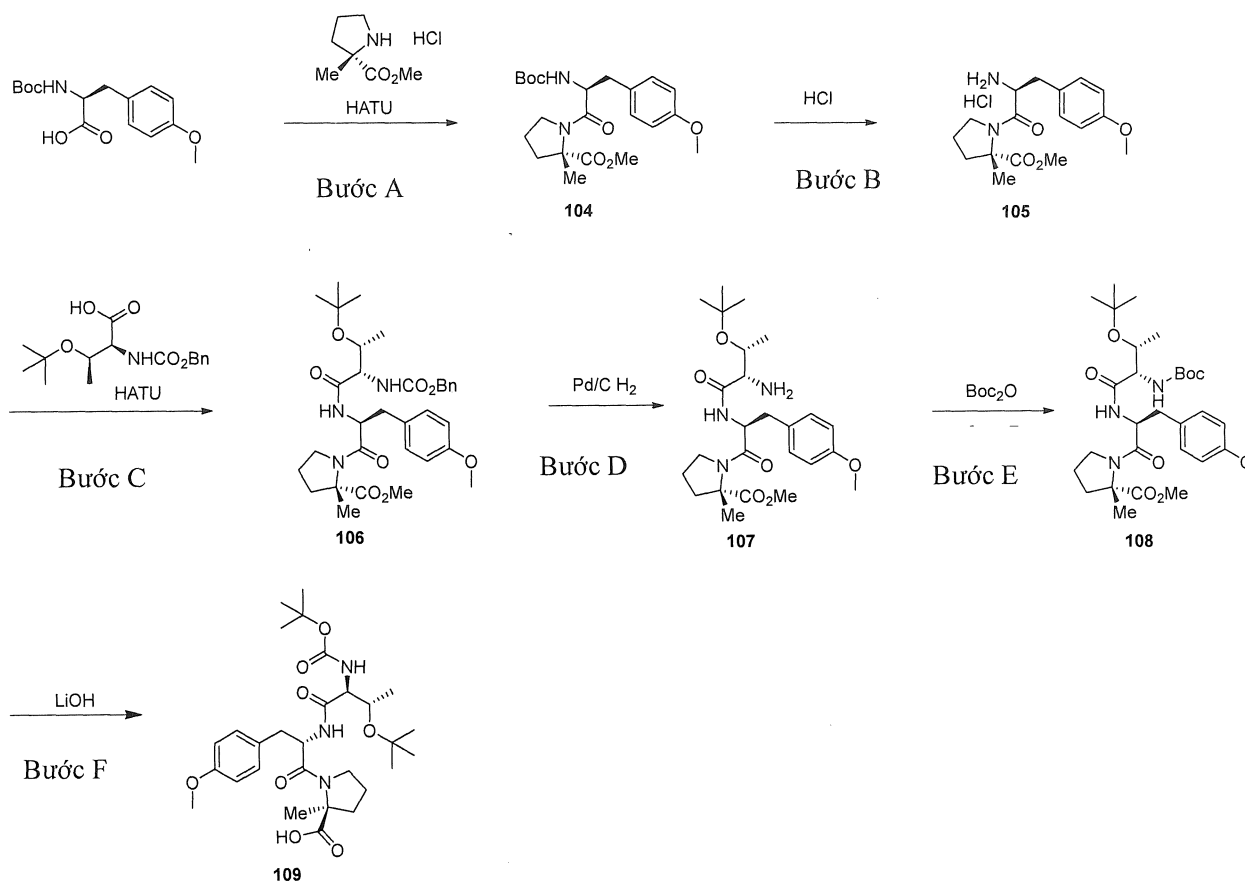
Bổ sung natri xyanoborohydrua (0,380 g, 6,05 mmol) vào dung dịch của 101 được điều chế ở bước trên (1,76 g, 5,76 mmol), sàng phân tử 4 A (2 g) và amoni axetat (4,44 g, 57,6 mmol) trong MeOH (100 ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được lắc qua đêm. Hỗn hợp được cô, được làm dừng ở nhiệt độ trong phòng bằng nước và được chiết bằng DCM. Phần hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng DCM/MeOH 99:1 đến 30:70) để tạo ra 102. LC/MS: (2M+H)⁺ = 613,56.

Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian 103

Bổ sung HATU (300 mg, 0,790 mmol) và DIPEA (0,314 ml, 1,795 mmol) vào dung dịch của 102 (220 mg, 0,718 mmol) và mono-metyl este của axit suxinic (114 mg,

0,862 mmol) trong DMF (4 ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ trong phòng bằng natri bicacbonat chứa nước bão hòa và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 99:1 đến 30:70) để tạo ra hợp chất trung gian được xử lý bằng 20% TFA trong DCM trong 1 giờ. Phản ứng được cô sau đó được xử lý bằng 4N HCl (1,5 mL) và được cô để tạo ra 103. LC/MS: $(\text{M}+\text{H})^+ = 321,29$.

Điều chế hợp chất trung gian 109



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 104

Bổ sung DIPEA (17,01 ml, 97,0 mmol) vào dung dịch được khuấy của methyl (S)-2-methylpyrrolidin-2-carboxylat hydroclorua (7,00 g, 39 mmol) và axit (S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-(4-methoxyphenyl)propanoic (12,08 g, 40,9 mmol) trong DMF (100 ml) ở nhiệt độ 0°C được sau đó HATU (19,26 g, 50,7 mmol). Hỗn hợp tạo thành được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Phản ứng được làm dừng bằng dung dịch chứa nước LiCl 10% và được chiết bằng EtOAc. Dịch chiết

hữu cơ được rửa bằng 10% LiCl chứa nước và được làm khô trên MgSO₄. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 80:20 đến 40:60) để tạo ra 104.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian 105

Bổ sung 4 N HCl trong dioxan (48,8 ml, 195 mmol) vào dung dịch của 104 (16,4 g, 39,0 mmol) trong EtOAc (100 ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra 105 mà được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước C – Tổng hợp hợp chất trung gian 106

Bổ sung DIPEA (16,15 ml, 92 mmol) vào dung dịch của 105 (13,2 g, 37,0 mmol) và N-((benzyloxy)carbonyl)-O-(tert-butyl)-L-threonin (18,15 g, 37,0 mmol) trong DMF ở nhiệt độ 0°C sau đó HATU (18,28 g, 48,1 mmol). Hỗn hợp tạo thành được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy qua đêm. Phản ứng được làm dừng bằng dung dịch 10% LiCl chứa nước và được chiết bằng EtOAc. Dịch chiết hữu cơ được rửa bằng 10% LiCl chứa nước và được làm khô trên MgSO₄. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 80:20 đến 40:60) để tạo ra 106.

Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian 107

Bổ sung huyền phù đặc của 10% Pd/C vào dung dịch của 106 (16,5 g, 27,0 mmol) trong MeOH được và hỗn hợp được hydro hóa ở 20 psi trong 4 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô sau đó được hòa tan lại trong DCM và dung dịch được lọc qua thiết bị lọc 2 µm và được cô để tạo ra 107.

Bước E – Tổng hợp hợp chất trung gian 108

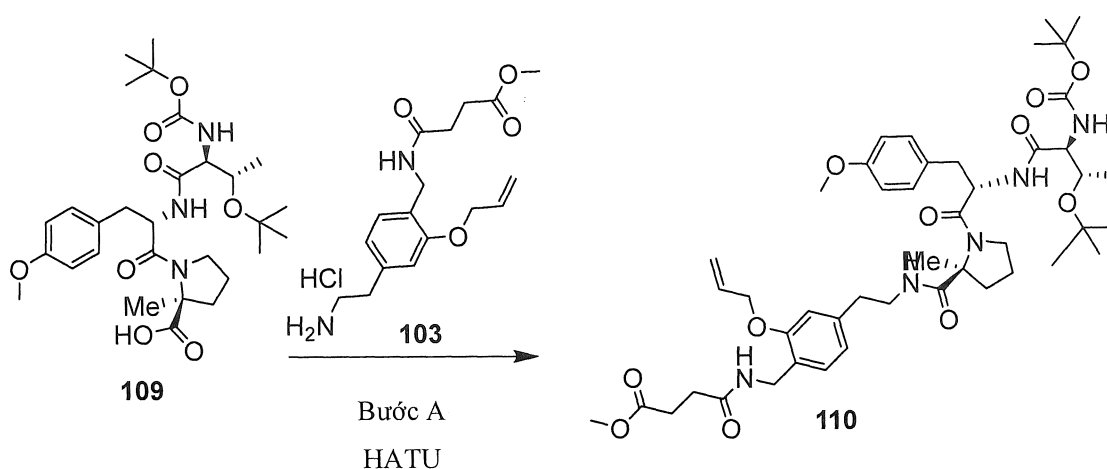
Bổ sung DIPEA (1,52 ml, 8,71 mmol) vào dung dịch của 107 (3,2 g, 6,70 mmol) trong DCM sau đó di-tert-butyl dicarbonat (1,90 g, 8,71 mmol). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ sau đó được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc 100:0 đến 40:60) để tạo ra 108.

Bước F – Tổng hợp hợp chất trung gian 109

Dung dịch của 108 (1,43 g, 2,475 mmol) và 1 N LiOH chứa nước (9,90 ml, 9,90 mmol) trong THF (15 ml) và MeOH (15 ml) được làm ấm đến nhiệt độ 45°C và được khuấy trong 4 giờ sau đó ở nhiệt độ 32°C trong 48 giờ. Phản ứng được cô, được làm dừng ở nhiệt độ 0°C bằng 0,5 M axit clohydric chứa nước cho đến khi pH ~2-3 và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc-EtOH 99:1 đến EtOAc-EtOH 3:1) để tạo ra 109. LC/MS: (M+H)⁺ = 564,49.

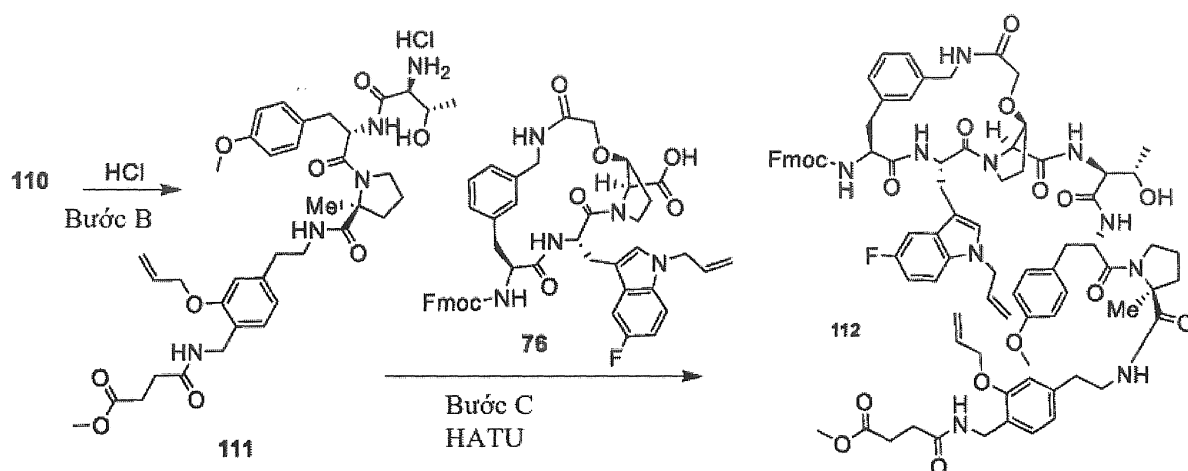
Điều chế hợp chất trung gian từ 110 đến 115

Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 110



Dung dịch của 109 (217 mg, 0,385 mmol), HATU (133 mg, 0,350 mmol) và DIPEA (0,245 ml, 1,400 mmol) trong DMF (2,5 ml) được xử lý bằng 103 (217 mg, 0,385 mmol) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ 0°C bằng natri bicarbonat chứa nước bão hòa và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc-EtOH 3:1 99:1 đến EtOAc-EtOH 3:1) để tạo ra 110. LC/MS: (M+H)⁺ = 866,21.

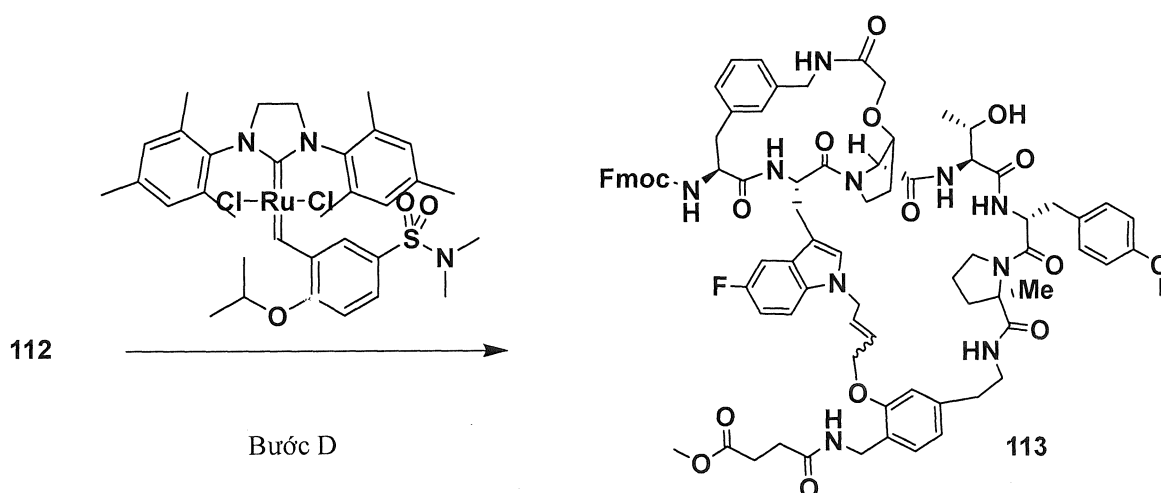
Bước B và C – Tổng hợp hợp chất trung gian 111 và 112



Bổ sung HCl 4 N trong dioxan (0,359 ml, 1,438 mmol) vào dung dịch của 110 (249 mg, 0,288 mmol) trong DCM (1 ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy trong 6 giờ sau đó được cô để tạo ra 111. LC/MS: $(M+H)^+ = 710,19$.

Bổ sung DIPEA (0,128 ml, 0,734 mmol) và HATU (123 mg, 0,323 mmol) vào dung dịch của 111 (219 mg, 0,293 mmol) và 76 (232 mg, 0,285 mmol) trong DMF (3 ml) và nước (0,15 ml) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp được dừng ở nhiệt độ 0°C bằng nước muối và được chiết bằng EtOAc. Phần hữu cơ kết hợp được làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng Hexan/EtOAc-EtOH 3-1 99:1 đến 30:70 sau đó DCM/MeOH 99:1 đến 70:30) để tạo ra 112. LC/MS: $(M+H)^+ = 1506,11$.

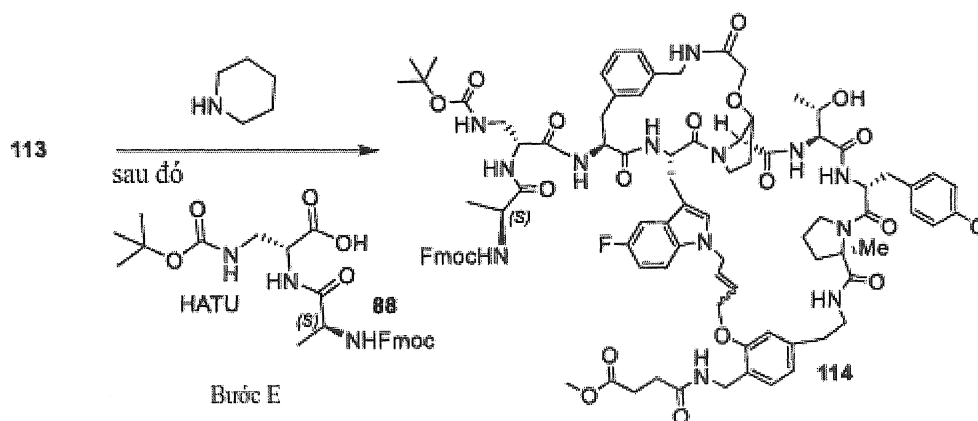
Bước D – Tổng hợp hợp chất trung gian 113



Bổ sung chất xúc tác Zhan (59,0 mg, 0,080 mmol) vào dung dịch của 112 (173 mg, 0,115 mmol) trong DCM (180 ml) và AcOH (15 ml) được khử khí bằng nitơ trong 30 phút và hỗn hợp được làm ấm đến nhiệt độ 50°C và được khuấy trong 3 giờ. Hỗn

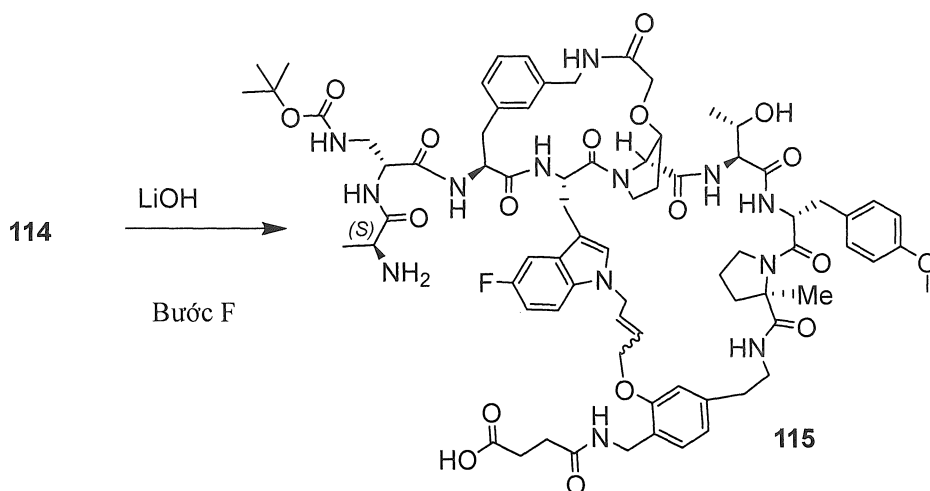
hợp được lọc qua xelit, rửa bằng DCM sau đó được cô trong chân không. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (rửa giải bằng DCM/MeOH 99:1 đến 80:20) để tạo ra 113 là hỗn hợp của các chất đồng phân E và Z. LC/MS (chất đồng phân chính): $(M)^+ = 1477,80$; LC/MS (chất đồng phân phụ): $(M)^+ = 1478,28$.

Bước E – Tổng hợp hợp chất trung gian 114



Bổ sung piperidin (0,066 ml, 0,668 mmol) vào dung dịch của 113 (141 mg, 0,095 mmol) trong axetonitril (2 ml) và hỗn hợp được khuấy trong 45 phút. Hỗn hợp được cô trong chân không, được làm cùng bay hơi với một chút axetonitril để tạo ra chất thô. Bổ sung HATU (39,7 mg, 0,105 mmol) và DIPEA (0,037 ml, 0,209 mmol) vào huyền phù đặc của chất thô này (119 mg, 0,095 mmol) và hợp chất trung gian 88 (52,0 mg, 0,105 mmol) trong DMF (2 ml) và nước (0,1 ml) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy trong 30 phút. Hỗn hợp được tinh chế bằng sắc ký cột trên C18 (rửa giải bằng axetonitril+0,05% TFA/nước+0,05% TFA 90:10 đến 30:70) để tạo ra 114 là hỗn hợp của các chất đồng phân E và Z. LC/MS chất đồng phân chính: $(M)^+ = 1735,28$; LC/MS (chất đồng phân phụ): $(M)^+ = 1735,25$.

Bước F – Tổng hợp hợp chất trung gian 115



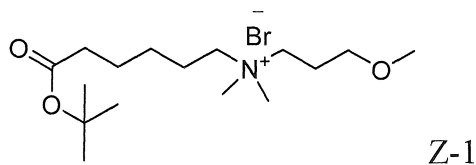
Bổ sung 1 N LiOH chứa nước (0,386 ml, 0,386 mmol) từng giọt vào dung dịch của 114 (134 mg, 0,077 mmol) trong THF (1,5 ml) và MeOH (1,5 ml) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ. Phản ứng được xử lý ở nhiệt độ 0°C từng giọt với 0,5 N HCl cho đến khi pH~7, được cô từ dung môi hữu cơ, sau đó huyền phù đặc được hòa tan với ~1 mL DMF và được tinh chế trực tiếp bằng sắc ký cột trên C18 (rửa giải bằng axetonitril+0,05% TFA/nước+0,05% TFA 90:10 đến 50:50) để tạo ra 115 là hỗn hợp của các chất đồng phân E và Z. LC/MS chất đồng phân chính: (M)⁺ = 1498,71; LC/MS (chất đồng phân phụ): (M)⁺ = 1499,48.

Như được mô tả ở trên trong quy trình điều chế Ex-50 từ Ex-01, và Ex-55 từ Ex-54 bằng phản ứng của R² amit của nó trong hợp chất ban đầu tương ứng với tiền chất của phân tử thể có tính axit, các hợp chất trung gian dưới đây có thể được sử dụng trong các phản ứng tương tự để tạo ra hợp chất theo sáng chế hữu dụng.

Tổng hợp tiền chất của phân tử thể R¹/R²:

Điều chế 5-carboxy-N-(3-metoxypentyl)-N,N-dimethylpentan-1-aminium clorua (hợp chất trung gian Z-1a)

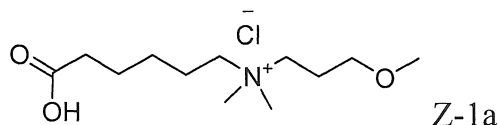
Bước A: Điều chế hợp chất trung gian Z-1



Bổ sung 1-bromo-3-metoxypentan (853 mg, 5,57 mmol) vào dung dịch được khuấy của *tert*-butyl 6-(dimethylamino)hexanoat (300 mg, 1,393 mmol) trong axetonitril

(1 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 16 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Z-1. LC/MS: (M-Br)⁺ = 288,4. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 3,76-3,47 (m, 6H), 3,38 (d, *J* = 28,9 Hz, 9H), 2,25 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,12-1,95 (m, 2H), 1,87-1,55 (m, 4H), 1,45 (s, 11H).

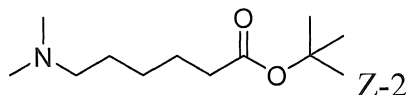
Bước B: Tổng hợp hợp chất trung gian Z-1a



Bổ sung 4 M HCl trong dioxan (2 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy của Z-1 (460 mg, 1,249 mmol) trong DCM (0,5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ và được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được hòa tan lại trong DCM (5 mL) và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra hợp chất trung gian Z-1a. LC/MS: (M-Cl)⁺ = 232,3.

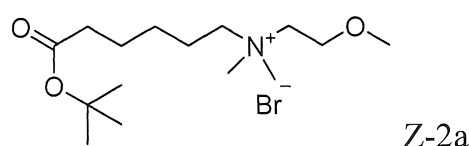
Điều chế hợp chất trung gian Z-2b

Bước A: Điều chế hợp chất trung gian Z-2



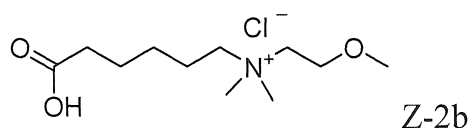
Bổ sung dimethylamin (2 M trong THF) (7,96 mL, 15,93 mmol) vào dung dịch được khuấy của *tert*-butyl 6-bromohexanoat (1,0 g, 3,98 mmol) trong THF (10 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 16 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải bằng gradien 1% - 15% MeOH trong DCM. Các phần chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô để tạo ra Z-2. LC/MS: (M+H)⁺ = 216,2. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2,35-2,17 (m, *J* = 8,5, 6,5 Hz, 10H), 1,67-1,47 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,42 - 1,23 (m, 2H).

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian Z-2a



Bổ sung 1-bromo-2-metoxyetan (645 mg, 4,64 mmol) vào dung dịch được khuấy của Z-2 (250 mg, 1,161 mmol) trong ACN (1 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 16 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Z-2a. LC/MS: (M-Br)⁺ = 274,3. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4,02-3,80 (m, 4H), 3,70-3,54 (m, 2H), 3,42 (d, *J* = 13,0 Hz, 9H), 2,24 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,85-1,75 (m, 2H), 1,72-1,55 (m, 2H), 1,44 (s, 11H).

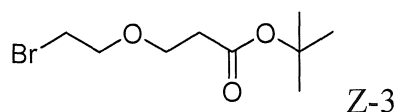
Bước C: Điều chế hợp chất trung gian Z-2b



Bổ sung 4 M HCl trong dioxan (2 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch được khuấy của Z-2a (450 mg, 1,270 mmol) trong DCM (0,5 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ và được cô dưới áp suất giảm. Phần còn lại được hòa tan lại trong DCM (5 mL) và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Z-2b. LC/MS: (M-Cl)⁺ = 218,3.

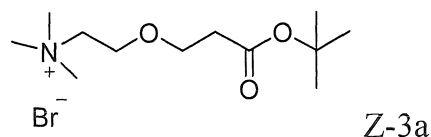
Điều chế hợp chất trung gian Z-3b

Bước A: Điều chế hợp chất trung gian Z-3



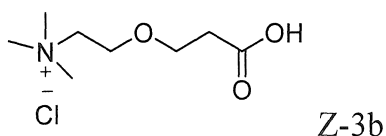
Bổ sung CBr₄ (1395 mg, 4,21 mmol) và PPh₃ (965 mg, 3,68 mmol) ở nhiệt độ 0°C vào dung dịch của *tert*-butyl 3-(2-hydroxyetoxy)propanoat (500,0 mg, 2,63 mmol) trong DCM (2 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, được rửa giải bằng gradien 1% - 15% EA trong PE. Các phần chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô để tạo ra Z-3. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3,78 (dt, *J* = 11,1, 6,3 Hz, 4H), 3,47 (t, *J* = 6,3 Hz, 2H), 2,53 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,48 (s, 9H).

Bước B: Tổng hợp hợp chất trung gian Z-3a



Bổ sung trimethylamin (955 mg, 5,33 mmol) (33%Wt, trong EtOH) vào dung dịch được khuấy của tert-butyl 3-(2-bromoethoxy)propanoat Z-3 (450 mg, 1,778 mmol) trong ACN (2 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 16 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Z-3a. LC/MS: (M-Br)⁺ = 232,3. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 5,32 (s, 1H), 4,04-3,94 (m, 4H), 3,73 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,50 (s, 10H), 2,50 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 1,44 (s, 9H).

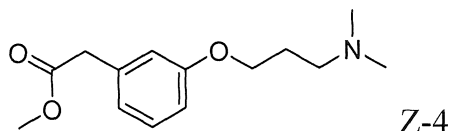
Bước C: Tổng hợp hợp chất trung gian Z-3b



Bổ sung 4 M HCl trong dioxan (2,5 mL) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch của Z-3a (550 mg, 1,761 mmol) trong DCM (0,6 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Hỗn hợp tạo thành được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được hòa tan lại trong DCM (3 mL) và toluen (3 mL). Hỗn hợp sau đó được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Z-3b. LC/MS: (M-Cl)⁺ = 176,2.

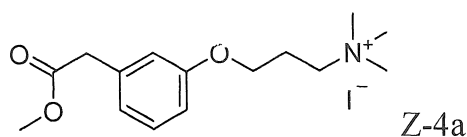
Điều chế hợp chất trung gian Z-4b

Bước A: Điều chế hợp chất trung gian Z-4



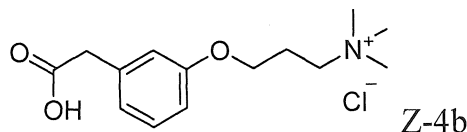
Bổ sung Ph₃P (2,368 g, 9,03 mmol) vào dung dịch của DIAD (1,755 mL, 9,03 mmol) trong THF (30 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, sau đó methyl 2-(3-hydroxyphenyl)acetat (1,0 g, 6,02 mmol) và 3-(dimethylamino)propan-1-ol (0,931 g, 9,03 mmol) được bổ sung vào dung dịch. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 50°C trong 1 giờ. Dung dịch tạo thành được cô dưới áp suất giảm và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel, rửa giải bằng gradien 1% - 10% MeOH trong DCM. Các phần chứa sản phẩm mong muốn được kết hợp và được cô để tạo ra Z-4. LC/MS: (M+H)⁺ = 252,2. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,23-7,18 (m, 1H), 6,82 (td, *J* = 8,7, 4,1 Hz, 3H), 4,01 (t, *J* = 6,4 Hz, 2H), 3,69 (s, 3H), 3,59 (s, 2H), 2,46 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 2,27 (s, 6H), 1,97 (dt, *J* = 7,9, 6,5 Hz, 2H).

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian Z-4a



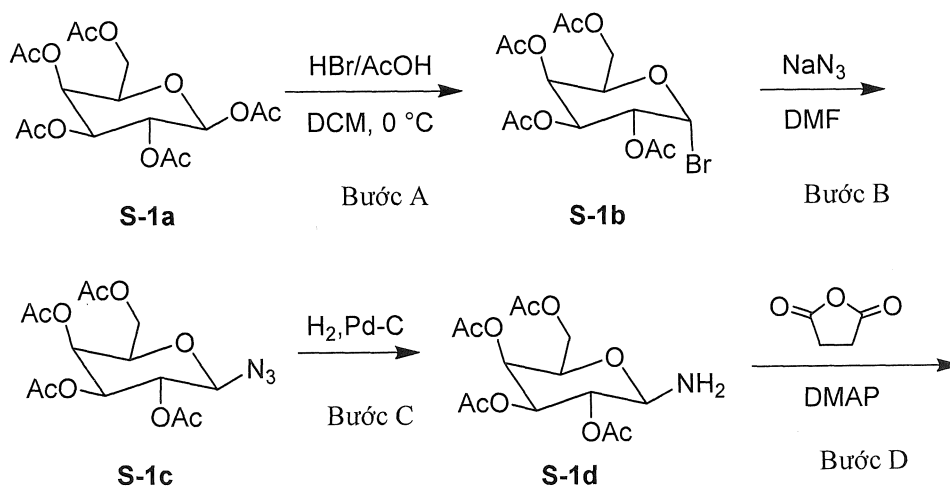
Bổ sung MeI (1,288 g, 9,07 mmol) vào dung dịch của Z-4 (600 mg, 2,268 mmol) trong ACN (12 mL). Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Dung dịch tạo thành được cô dưới áp suất giảm để tạo ra -Z-4a. LC/MS: (M-I)⁺ = 266,2.

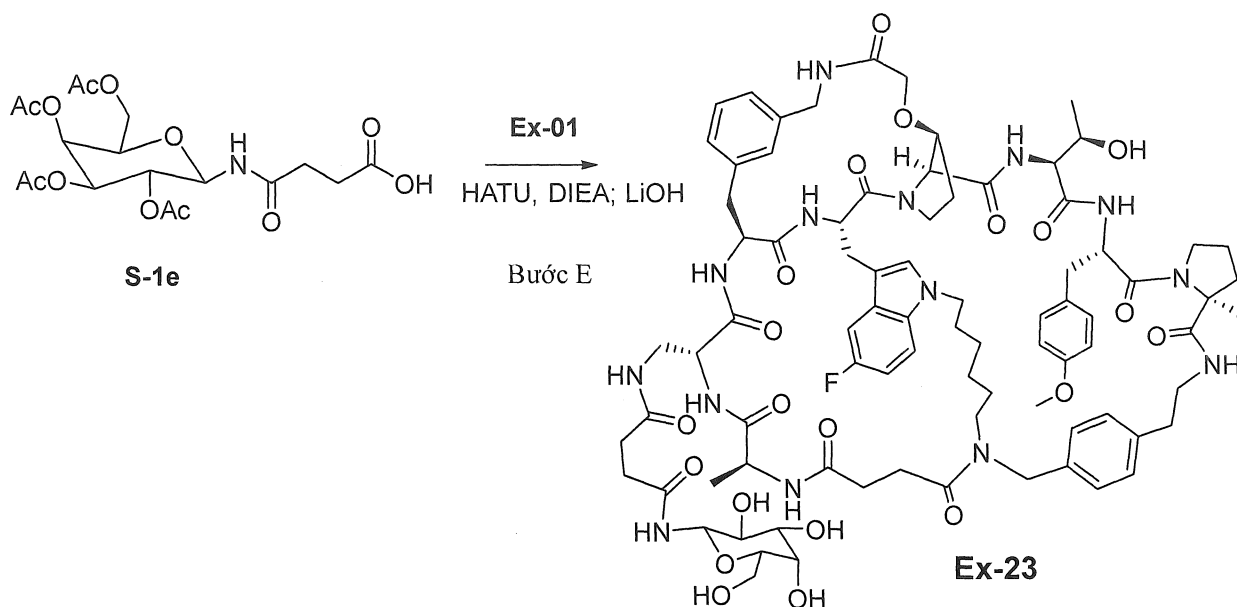
Bước C: Điều chế hợp chất trung gian Z-4b



Bổ sung 2 M LiOH (1,729 mL, 3,46 mmol) vào dung dịch của Z-4a (800 mg, 1,729 mmol) trong THF (12 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Giá trị pH của dung dịch được điều chỉnh đến 4 bằng HCl (1 M) và dung dịch được cô dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký pha đảo trên C18 (Pha động A: nước, Pha động B: ACN; Tốc độ dòng: 60 mL/phút; Gradient: 1% B đến 25% B trong 25 phút; 25% B đến 95% B trong 15 phút; 95% B đến 95% B trong 10 phút) để tạo ra Z-4b. LC/MS: (M-Cl)⁺ = 252,2. ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,21 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,95-6,75 (m, 3H), 4,12 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 3,63-3,50 (m, 4H), 3,18 (s, 9H), 2,35-2,20 (m, 2H).

Ví dụ 4 Điều chế Ex-23





Bước A: Điều chế hợp chất trung gian S-1b

(2S,3R,4S,5S,6R)-6-(axetoxymetyl)tetrahydro-2H-pyran-2,3,4,5-tetrayltetraaxetat S-1a (5 g, 12,81 mmol) được bổ sung vào dung môi của 48% HBr (7,25 mL, 64,0 mmol) trong AcOH và DCM (40 mL) ở nhiệt độ 0°C và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được rót vào natri hydro cacbonat bão hòa chứa nước được làm mát trên đá và hỗn hợp được chiết bằng DCM (3 x 60mL). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc và được cô sau đó sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (rửa giải bằng 0~30% EtOAc/PE) thành S-1b.

Bước B: Điều chế hợp chất trung gian S-1c

Bổ sung natri nitrua (0,854 g, 13,13 mmol) vào dung dịch của S-1b (4,5 g, 10,94 mmol) trong DMF khô (45 mL) và phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 18°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng với nước (30 mL) và được chiết bằng EtOAc (3 x 80 mL). Lớp hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄ và được làm bay hơi đến khi khô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (rửa giải bằng 0~30% EtOAc/PE) để tạo ra S-1c.

Bước C: Điều chế hợp chất trung gian S-1d

Bổ sung 10% Pd-C (0,898 g, 0,844 mmol) vào dung dịch của S-1c (3,15 g, 8,44 mmol) trong EtOH (60 mL). Ống phản ứng được thổi khí và được nạp H₂ dưới áp suất 50 psi. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ 18°C trong 5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha

loãng với EtOAc, được lọc qua xelit, và được cô, để tạo ra S-1d được sử dụng cho bước tiếp theo.

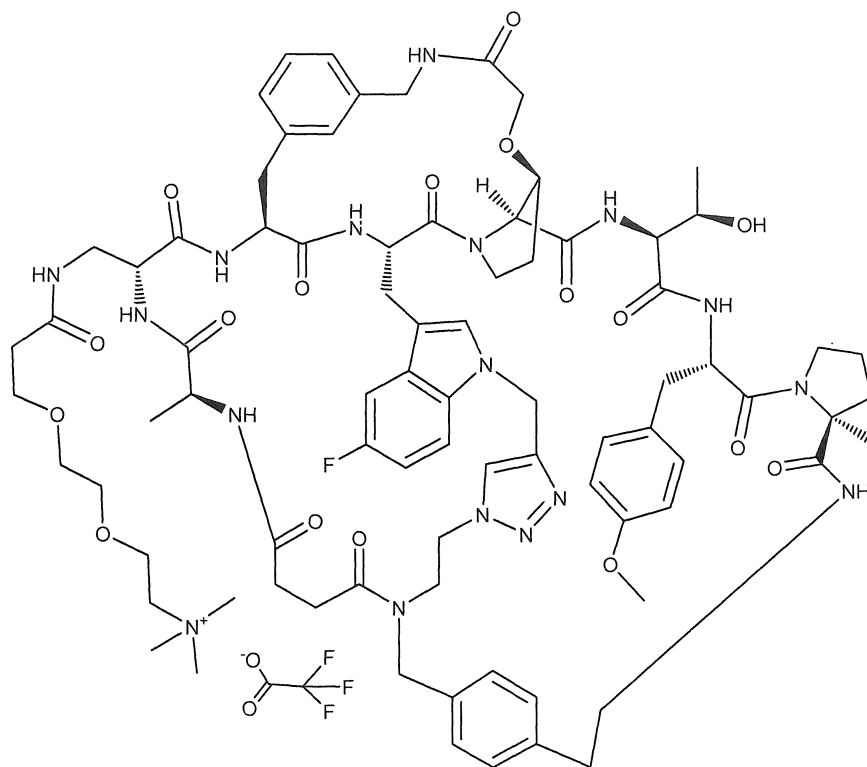
Bước D: Điều chế hợp chất trung gian S-1e

Bổ sung dihydrofuran-2,5-dion (0,742 g, 7,41 mmol) và Et₃N (0,939 mL, 6,74 mmol) vào dung dịch của S-1d (2,34 g, 6,74 mmol) trong THF khan (20 mL). Phản ứng được khuấy trong 3 giờ cho đến khi tiêu thụ hoàn toàn nguyên liệu ban đầu sau đó được bay hơi. Sản phẩm thô tạo thành được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên silicagel (rửa giải bằng 0~10% DCM/MeOH) để tạo ra S-1e. MS (ESI): m/z (M+H)⁺ 448,1. ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6,48 (d, J = 9,04 Hz, 1H), 5,43 (s, 1H), 5,24 (t, J = 8,93 Hz, 1H), 5,07-5,17 (m, 2H), 4,08-4,18 (m, 2H), 4,04 (q, J = 6,69 Hz, 1H), 2,72-2,84 (m, 1H), 2,58-2,69 (m, 2H), 2,43-2,53 (m, 2H), 2,15 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,04 (s, 4H), 2,00 (s, 3H).

Bước E: Điều chế Ex-23

Bổ sung DIEA (0,150 ml, 0,860 mmol) và HATU (98 mg, 0,258 mmol) vào dung dịch của Ex-01 (300 mg, 0,215 mmol) và S-1e (115 mg, 0,258 mmol) trong DMF (8 ml) và nước (0,4 ml) và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Phản ứng được làm dừng bằng từng giọt 1N LiOH (2,58 ml, 2,58 mmol), dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ sau đó lọc và dịch lọc được tinh chế trên HPLC pha đảo cột C18 bằng cách sử dụng 29-34% gradien của axetonitril (0,05% TFA) trong nước (0,05% TFA) để tạo ra Ex-23. LC/MS: [M+1]⁺ = 1657,1.

Ví dụ 5 Điều chế Ex-14

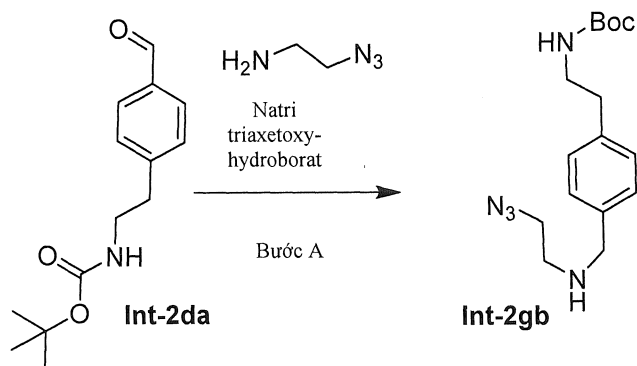


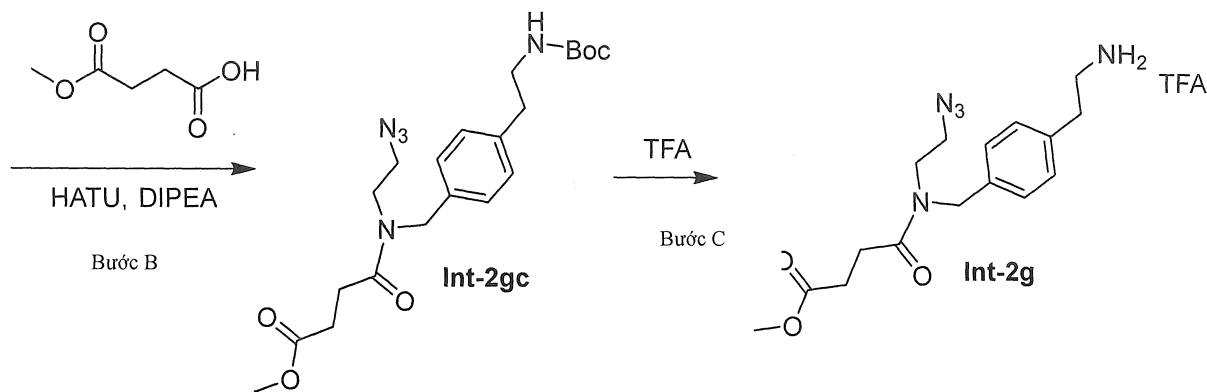
Ex-14

Hợp chất Ex-14 được điều chế theo cách tương tự quy trình được mô tả trong Ví dụ 1 nhưng sử dụng “các nhóm liên kết” khác nhau và các bước tổng hợp thay thế. Quy trình tổng hợp “các nhóm liên kết” này, các bước thay thế và thứ tự chính được mô tả dưới đây.

Điều chế hợp chất trung gian Int-2g

Hợp chất trung gian Int-2g, hữu ích làm “nhóm liên kết” trong quy trình điều chế hợp chất theo sáng chế, được điều chế theo sơ đồ dưới đây:





Bước A – Tổng hợp Int-2gb

Bổ sung từng phần natri triaxetoxyhydroborat (1,06 g, 5 mmol) vào dung dịch của Int-2da (0,5 g, 2 mmol) và 2-azidoethanamin, HCl (0,246 g, 2mmol) trong THF (16 ml) ở nhiệt độ trong phòng trong bể nước và hỗn hợp được khuấy trong 2 giờ. Phản ứng được làm dừng từ từ bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa chứa nước, sau đó được chiết bằng DCM và được rửa bằng nước muối. Lóp hữu cơ kết hợp được làm khô trên MgSO_4 và được cô để tạo ra Int-2gb. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 320,3$.

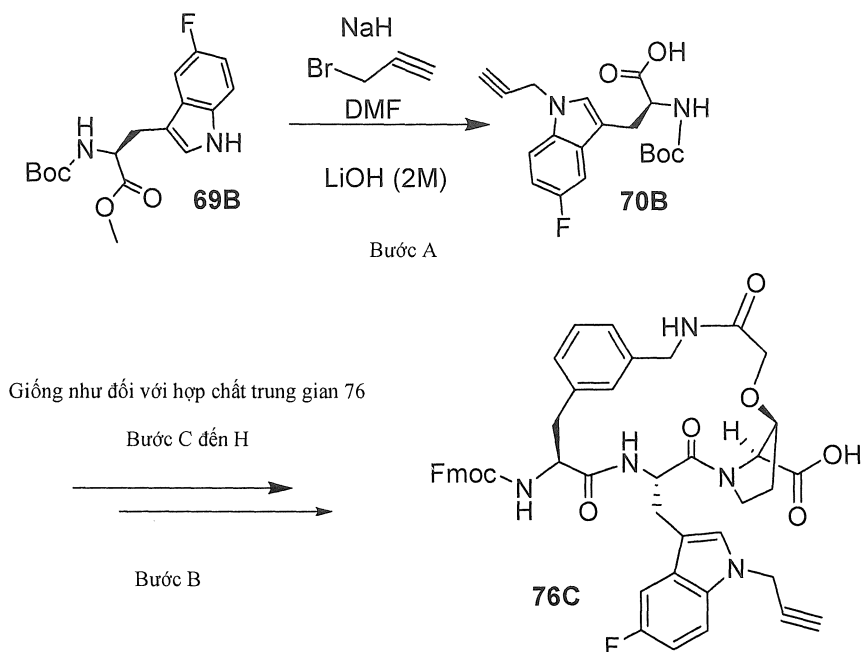
Bước B – Tổng hợp Int-2gc

Bổ sung HATU (0,914 g, 2,4 mmol) và DIPEA (0,7 ml, 4,01 mmol) ở nhiệt độ -15°C vào dung dịch của Int-2gb (0,64 g, 2 mmol) và mono-metyl suxinat (0,3 g, 2,3 mmol) trong DMF (4ml) và DCM (8 ml). Dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ -15°C trong 2 giờ, sau đó được làm dừng bằng nước và được cô. Phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký pha đảo trên C18 (rửa giải bằng axetonitril/nước + 0,1% TFA) để tạo ra Int-2gc. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 434,3$.

Bước C – Tổng hợp Int-2g

Bổ sung TFA (3 mL, 38,9 mmol) ở nhiệt độ trong phòng vào dung dịch của Int-2gc (0,52 g, 1,2 mmol) trong DCM (9 mL). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp được cô dưới áp suất giảm để tạo ra Int-2g. LC/MS: $(\text{M}+1)^+ = 334,3$.

Điều chế hợp chất trung gian 70B và 76C



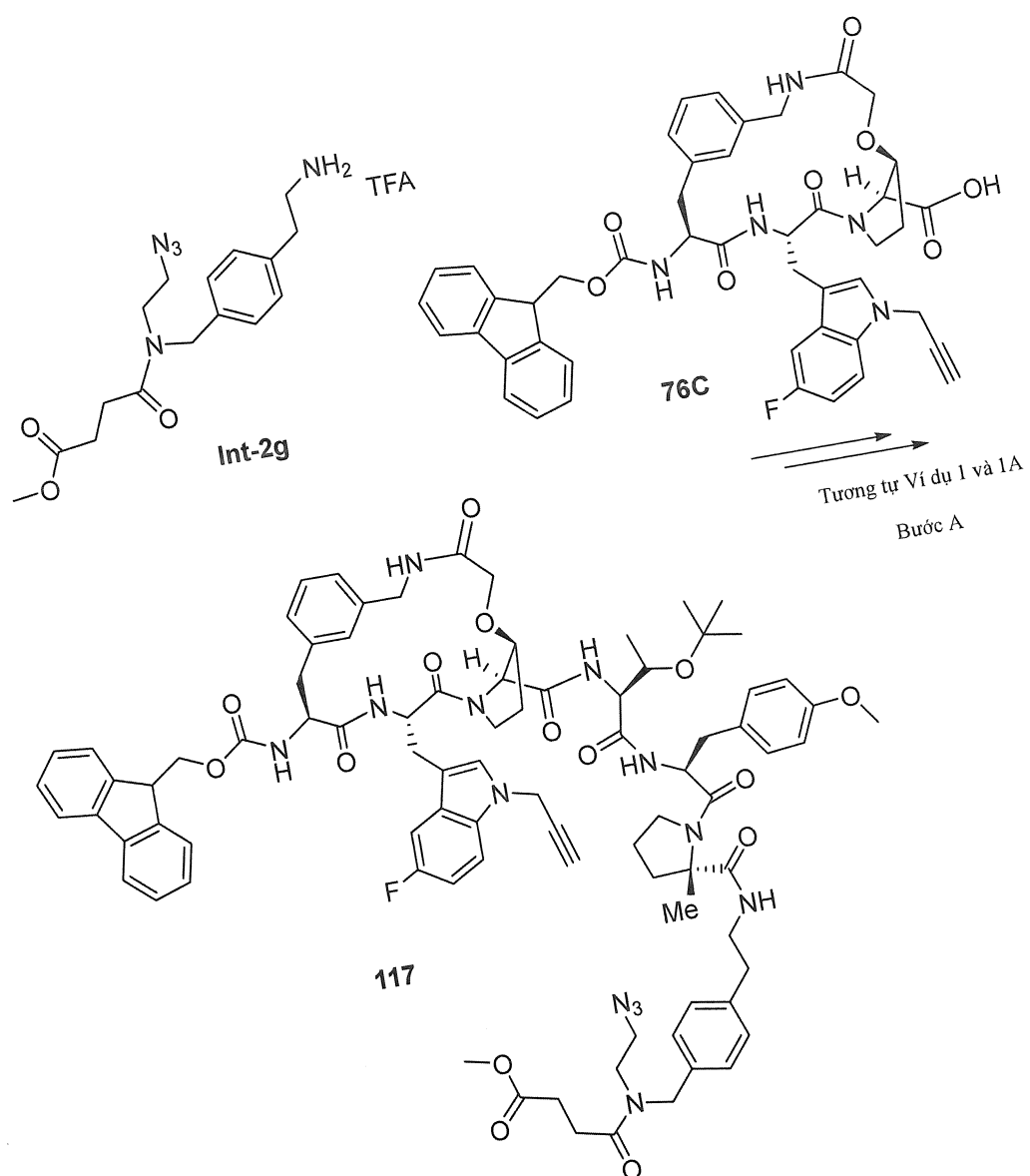
Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 70B

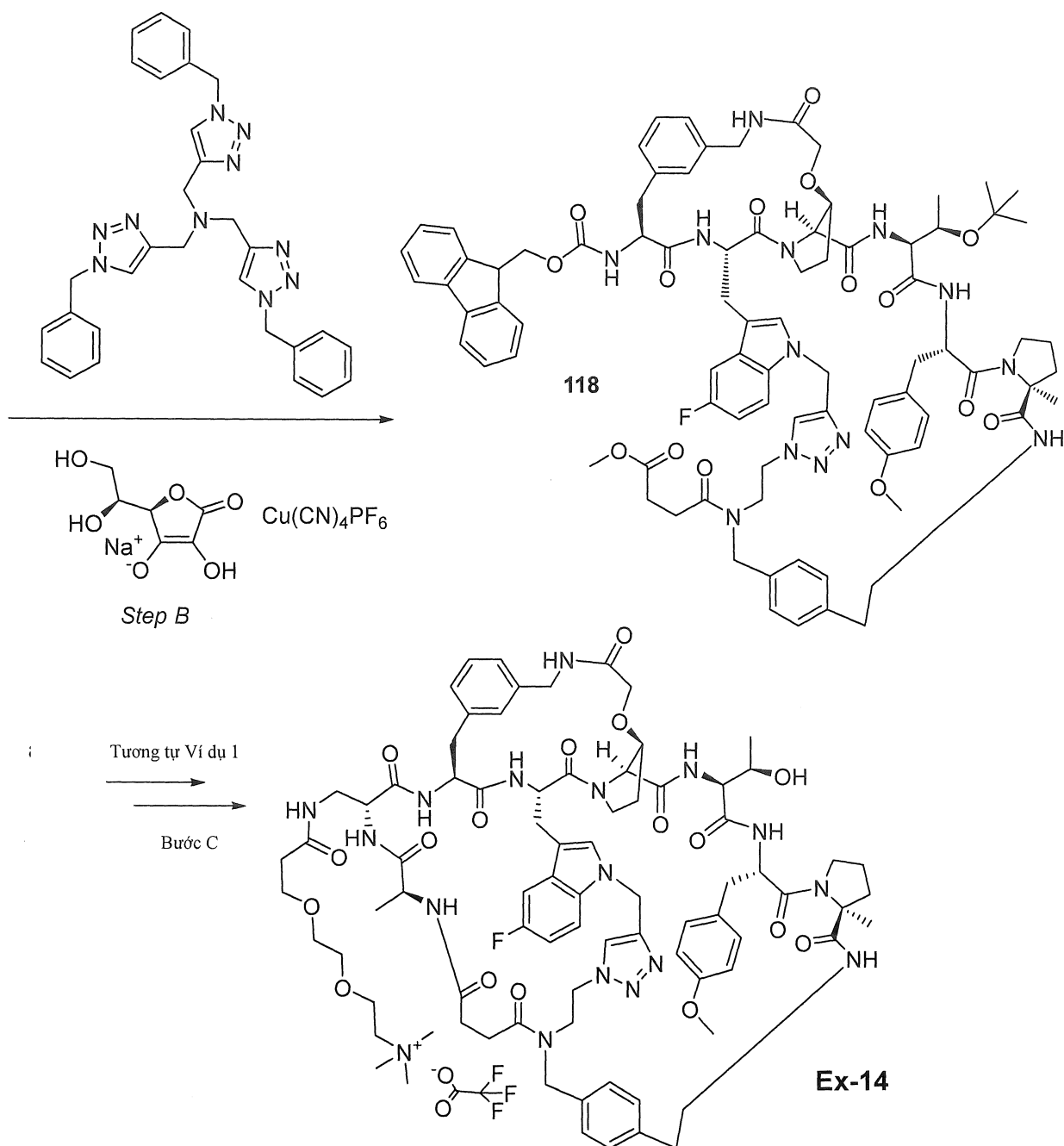
Bổ sung 95% NaH (0,141 g, 5,56 mmol) vào dung dịch của 69B (1,5 g, 4,46 mmol) trong DMF (17,8 ml) ở nhiệt độ 0°C, và dung dịch tạo thành được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 20 phút sau đó bổ sung từng giọt 3-bromoprop-1-yn (80% trong toluen) (0,596 ml, 5,35 mmol). Bổ sung từng giọt lithi hydroxit chứa nước (2M) (3345 μ l, 6,69 mmol) vào dung dịch tạo thành. Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, lọc và được tinh chế bằng HPLC pha đảo (rửa giải bằng axetonitril/nước + 0,1% TFA) để tạo ra 70B. LC/MS: (M+1)⁺: 361,0, (M+Na)⁺: 383,0.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian 76C

Quy trình chuyển hóa 70B thành hợp chất trung gian 76C được tiến hành theo quy trình tương tự quy trình được mô tả trong quá trình điều chế hợp chất trung gian 76 bước C đến H. LC/MS: [M+1]⁺ = 812,16.

Lắp ghép vào ví dụ Ex-14:





Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian 117

Hợp chất trung gian 117 được điều chế từ hợp chất trung gian Int-2g và 76C theo quy trình tương tự quy trình được mô tả trong ví dụ 1 và 1A. Cụ thể hơn Int-2g được tạo chức năng theo chất phản ứng và quy trình để điều chế hợp chất trung gian 77B bước A đến B, được xây dựng thêm quy trình dưới đây để điều chế hợp chất trung gian 86 bước G đến J, sau đó cuối cùng được kết hợp với hợp chất trung gian 76C quy trình dưới đây để điều chế Ví dụ 1A bước B đến C, để tạo ra 117. LC/MS: $(\text{M}+1)^+$: 1573,36.

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian 118

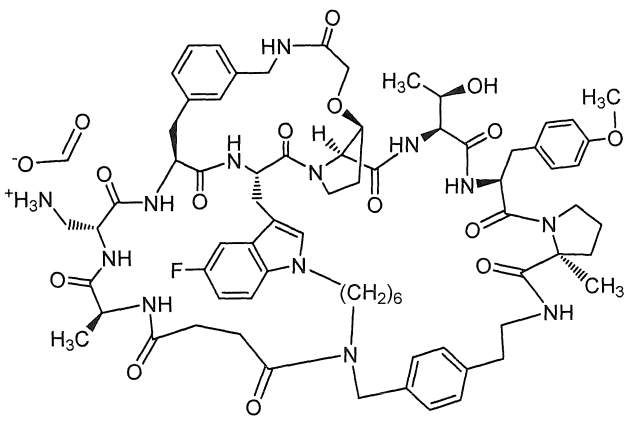
Tetrakis(axetonitril)đồng(I) hexaflorophosphat (51,6 mg, 0,138 mmol), tris[(1-benzyl-1h-1,2,3-triazol-4-yl)metyl]amin (73,4 mg, 0,138 mmol) và natri ascorbat (137 mg, 0,692 mmol) trong BuOH (185,00 mL)/nước (93 mL) được sục nitơ và sau đó gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C. Hợp chất trung gian 117 (435,3 mg, 0,277 mmol) được bổ sung vào phản ứng dưới dạng chất rắn. Sau 1 giờ, phản ứng được xử lý bằng đệm có độ pH 4 chứa nước và được chiết bằng EtOAc. Lớp hữu cơ kết hợp được bay hơi, và phần còn lại được tinh chế bằng sắc ký pha đảo (rửa giải bằng gradien của axetonitril/nước +0,1% axit formic) để tạo ra hợp chất trung gian 118. LC/MS: (M+1)⁺: 1573,2.

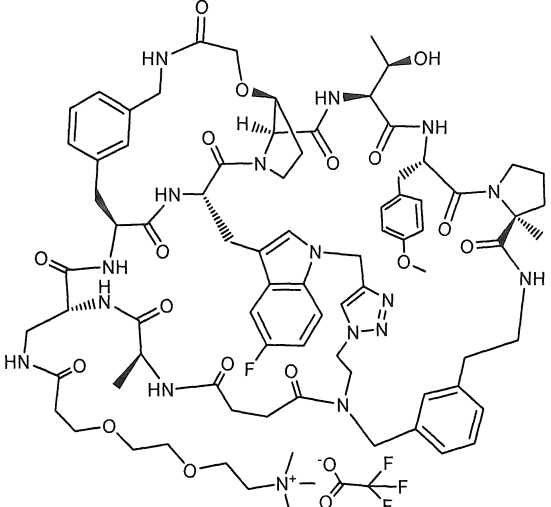
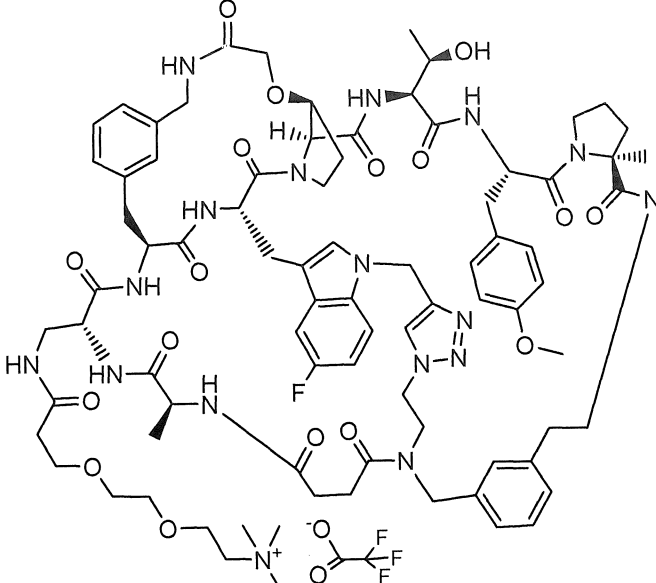
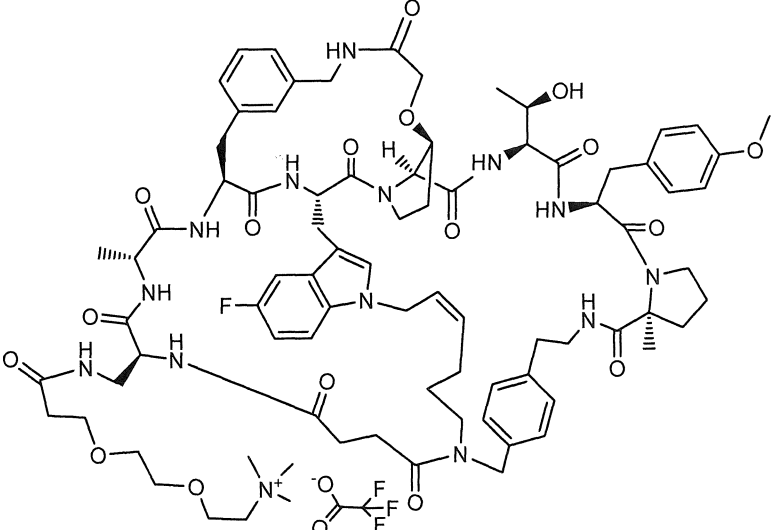
Bước C – Tổng hợp Ex-14

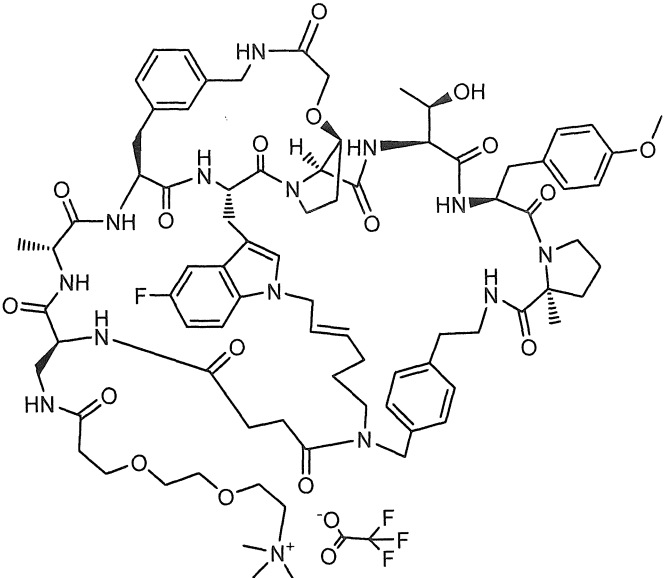
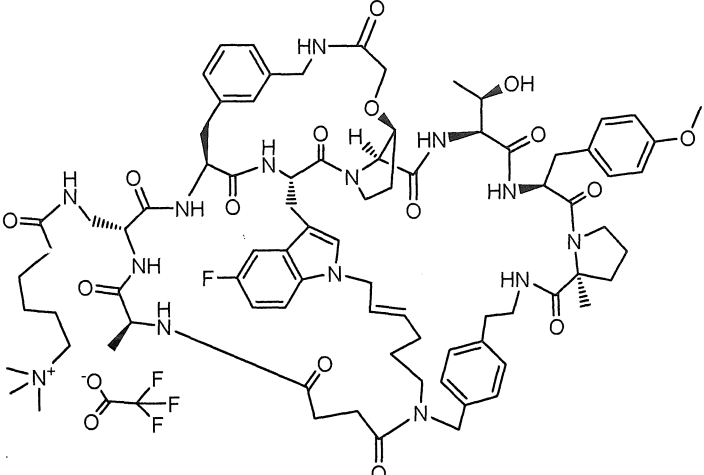
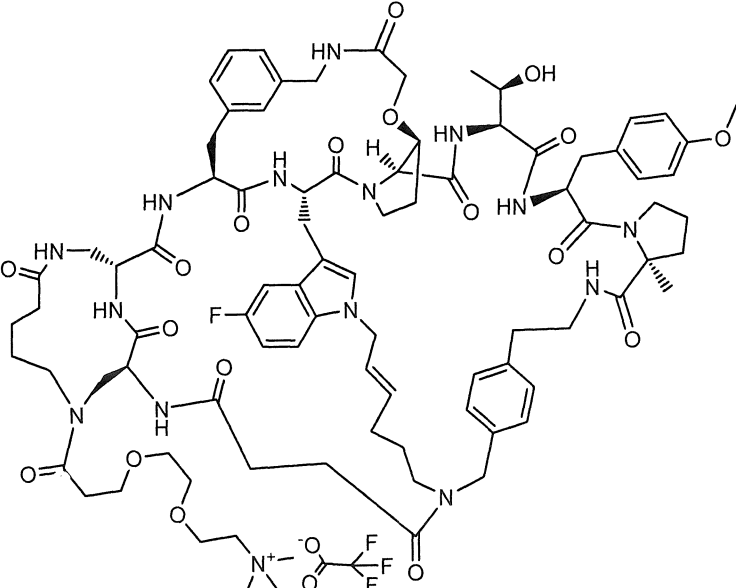
Tổng hợp ví dụ Ex-14 được tiến hành từ hợp chất trung gian 118 theo quy trình tương tự quy trình được mô tả trong ví dụ 1, bao gồm việc sử dụng các đệm thay thế để lắp ghép. LC/MS: [M+1]⁺ = 1621,01.

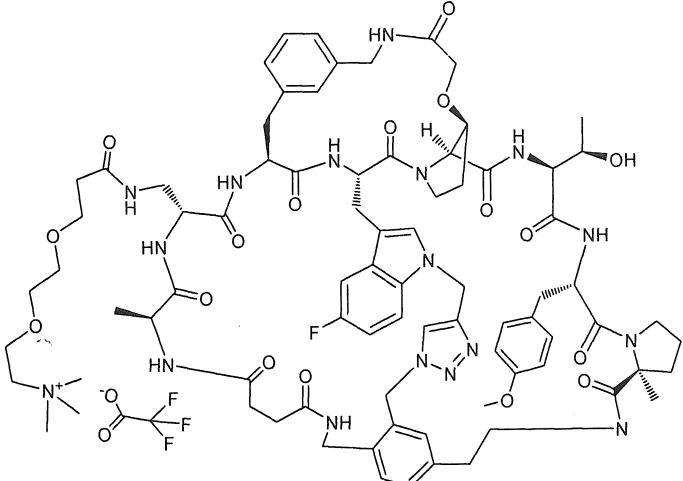
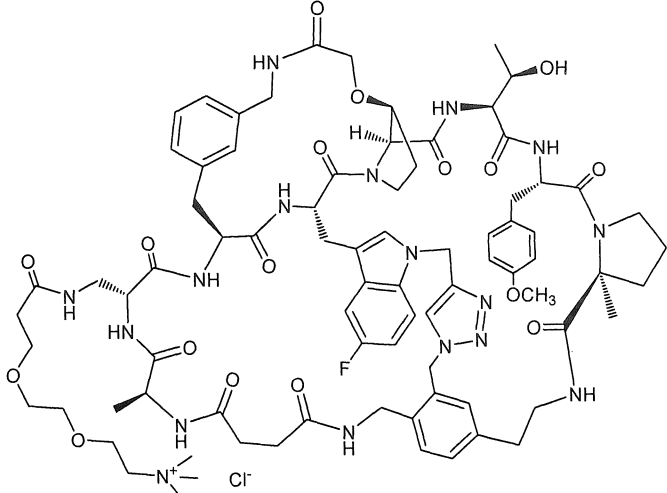
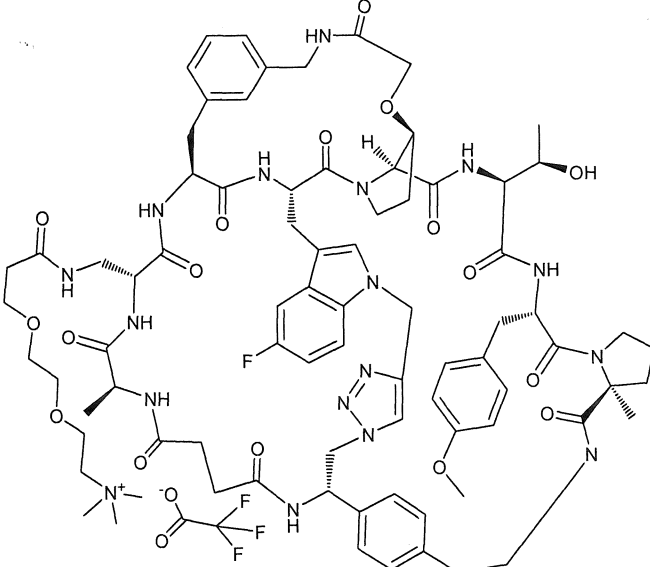
Bằng cách sử dụng quy trình tổng hợp được mô tả ở trên, và như sẽ được đánh giá, trong một số trường hợp với sự thể thích hợp của các hợp chất trung gian nhất định bao gồm việc sử dụng các đệm thay thế rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, quy trình điều chế hợp chất có thể được mô tả ở trên, các hợp chất dưới đây theo sáng chế, được liệt kê trong bảng 2 dưới đây, được điều chế. Ngoài ra, dạng muối thay thế của hợp chất theo sáng chế cũng có thể được mô tả trong đơn này:

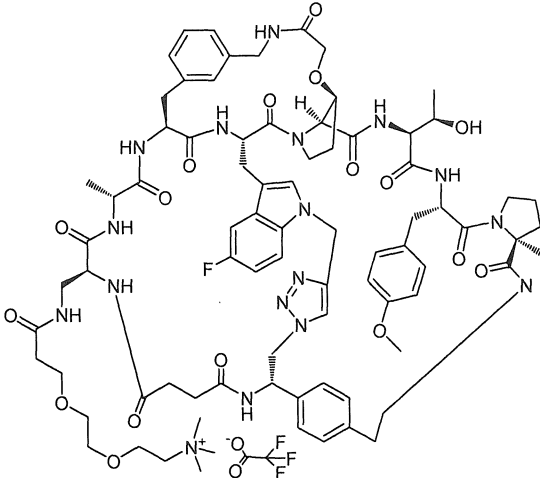
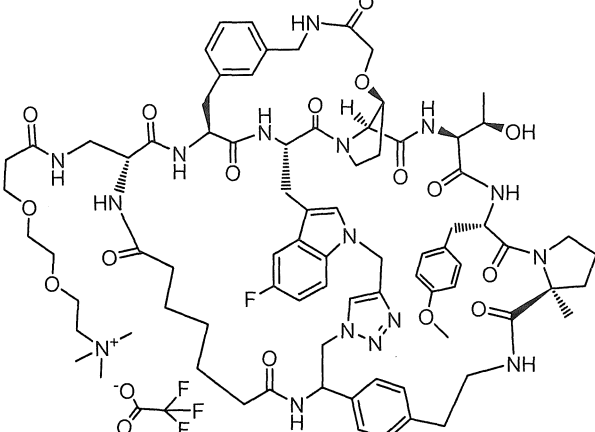
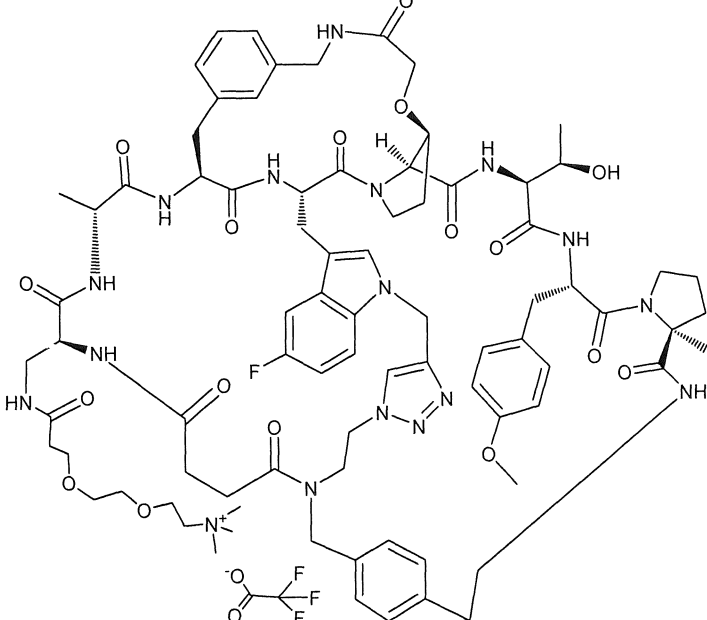
Bảng 2

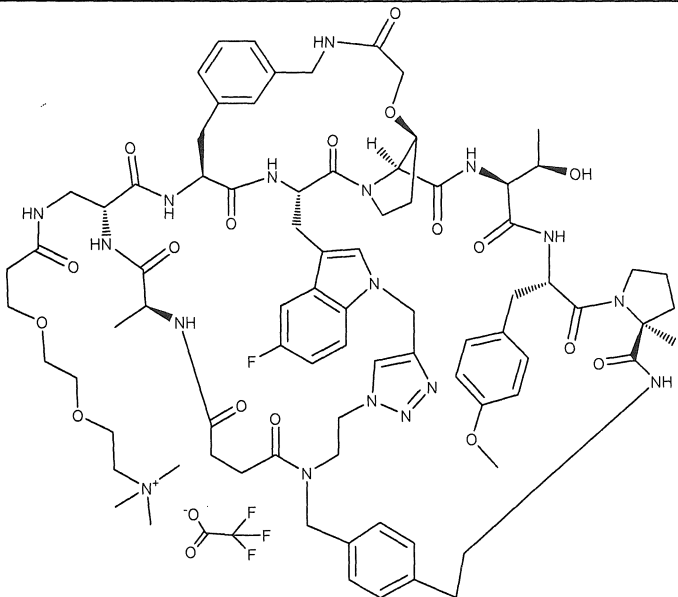
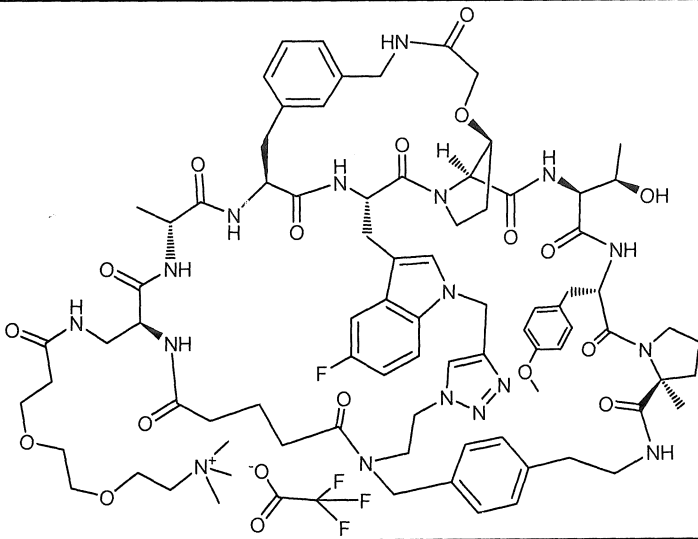
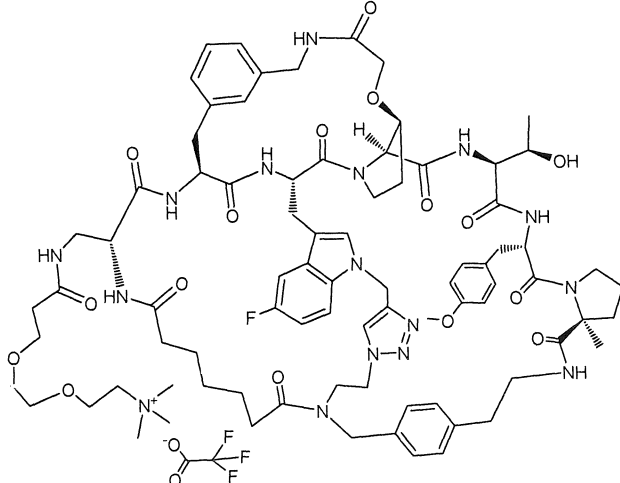
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-01 muối ACOH		1394,4

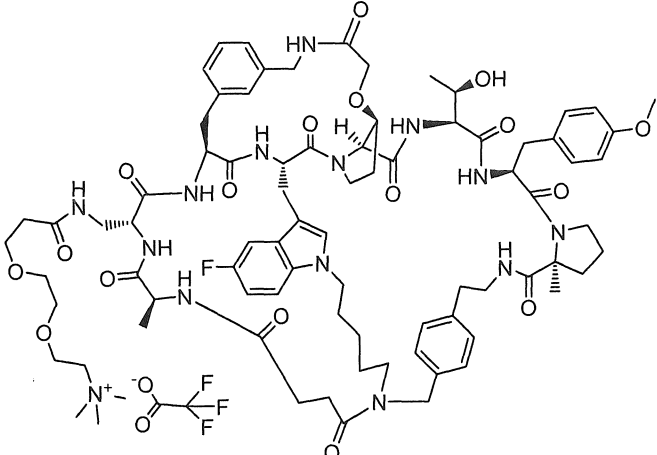
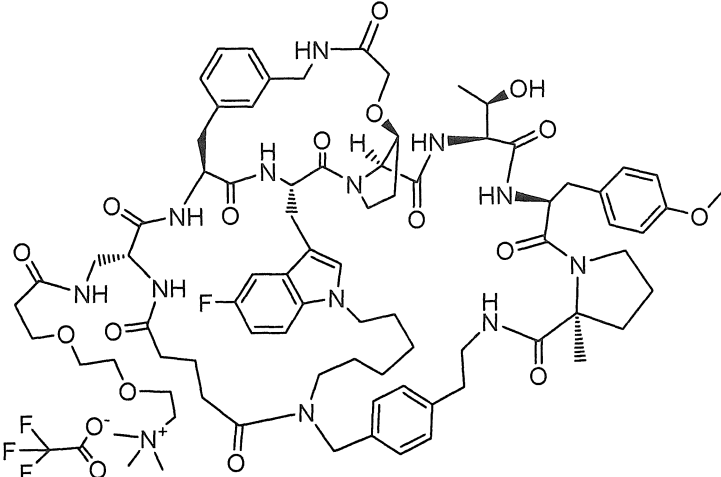
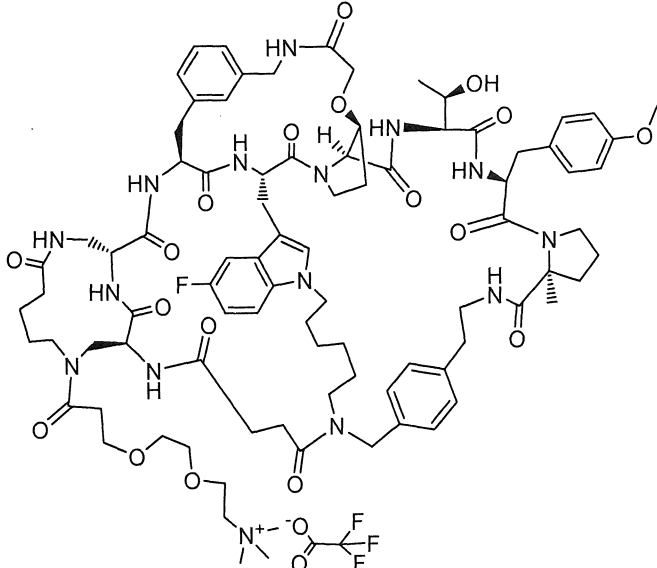
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-02 muối TFA		1622,12
Ex-03 muối TFA		1622,06
Ex-04 muối TFA		1595,04

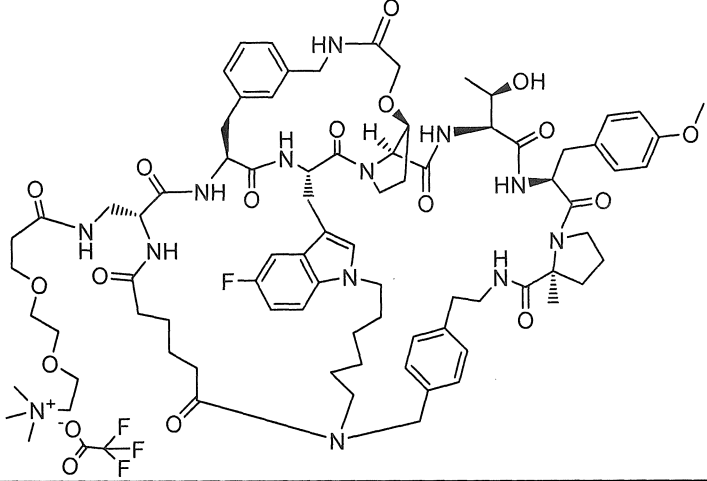
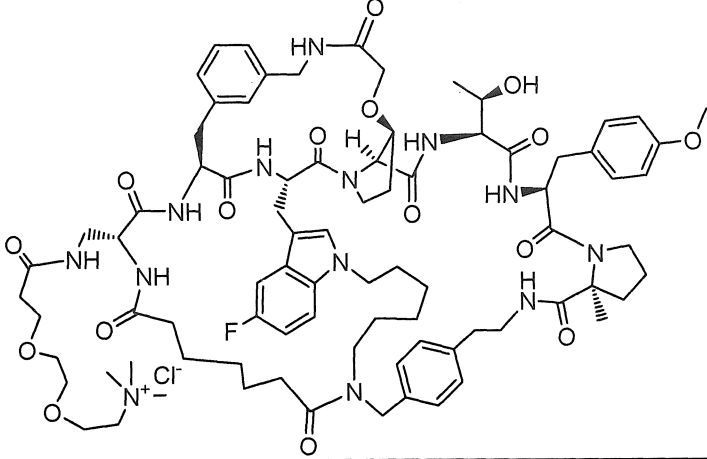
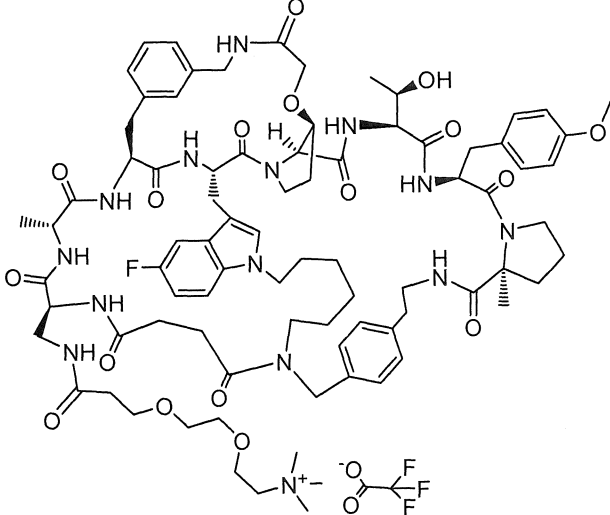
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-05 muối TFA		1594,54
Ex-06 muối TFA		1549,44
Ex-07 muối TFA		1692,66

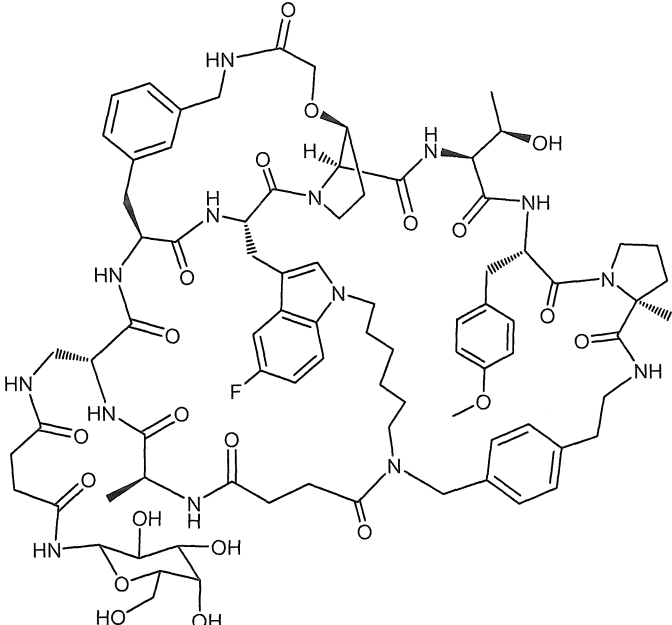
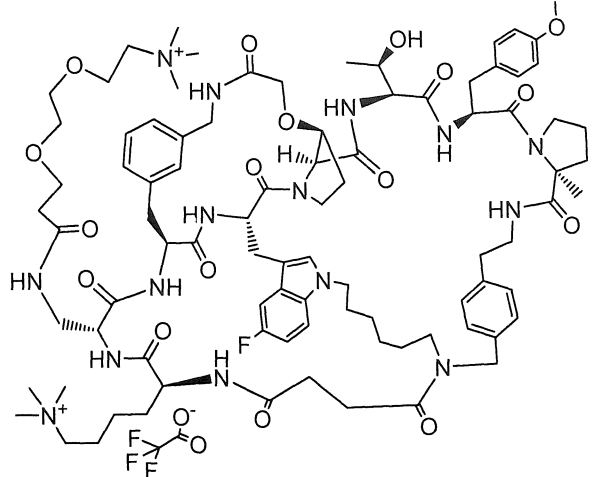
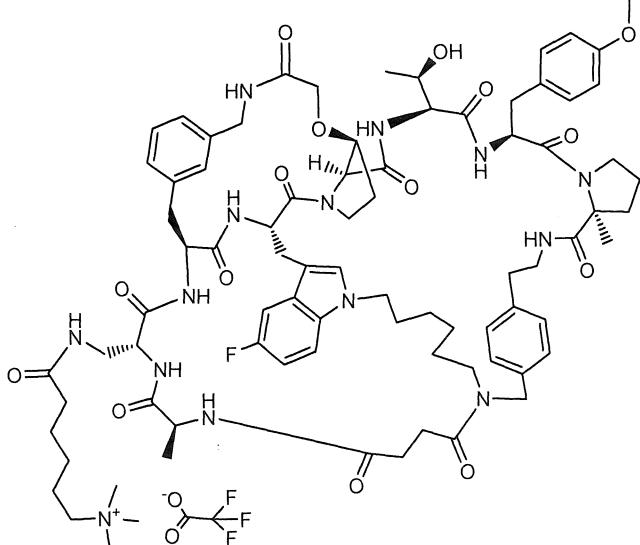
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-08 muối TFA		1608,46
Ex-09 Muối Cl		1608,30
Ex-10 muối TFA		1608,40

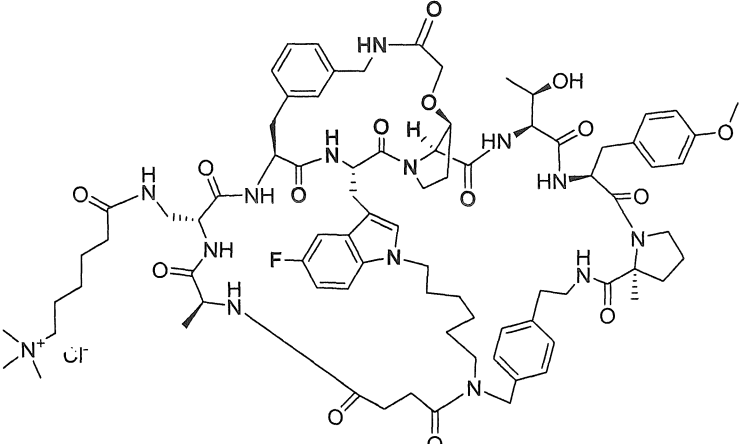
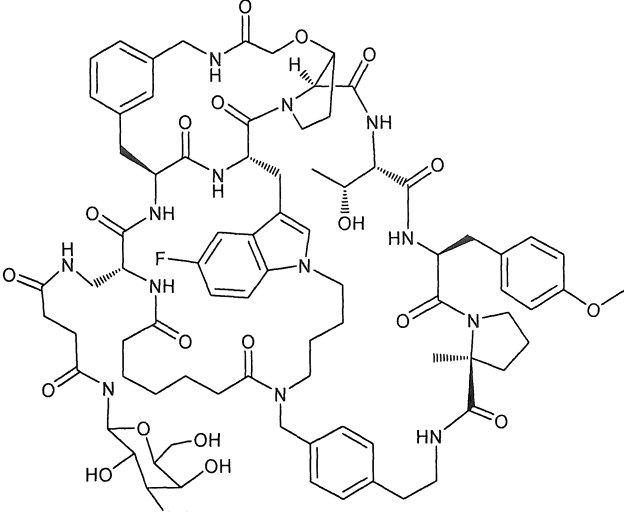
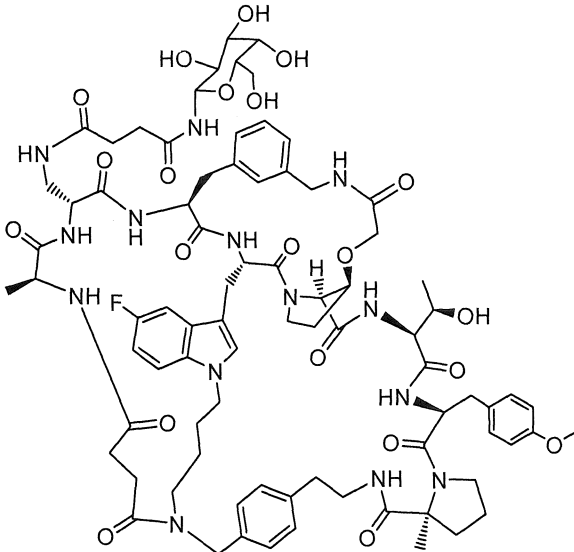
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-11 muối TFA		1608,84
Ex-12 muối TFA		1579,54
Ex-13 muối TFA		1621,74

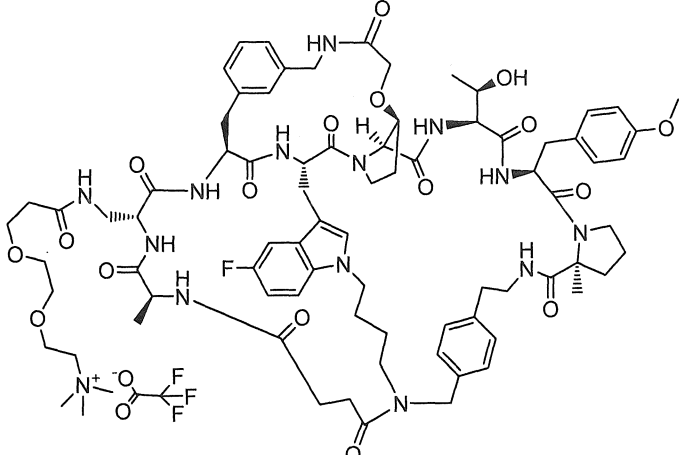
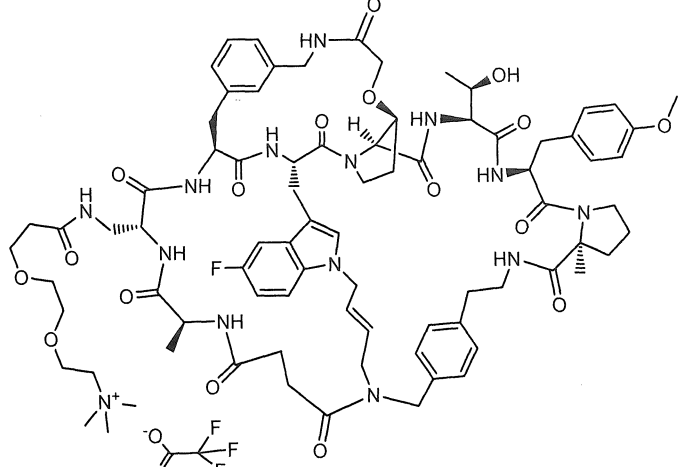
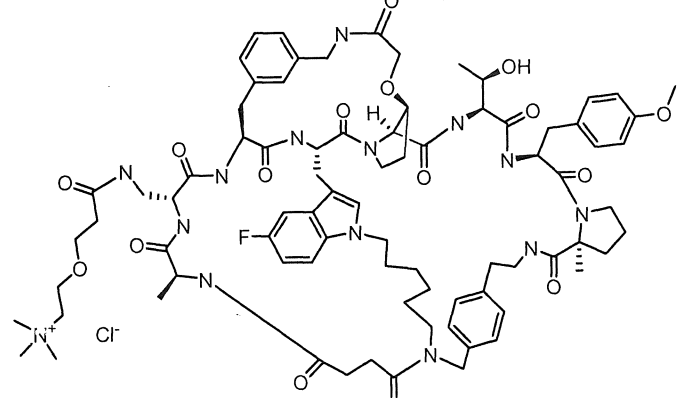
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-14 muối TFA		1622,28
Ex-15 muối TFA		1636,54
Ex-16 muối TFA		1592,52

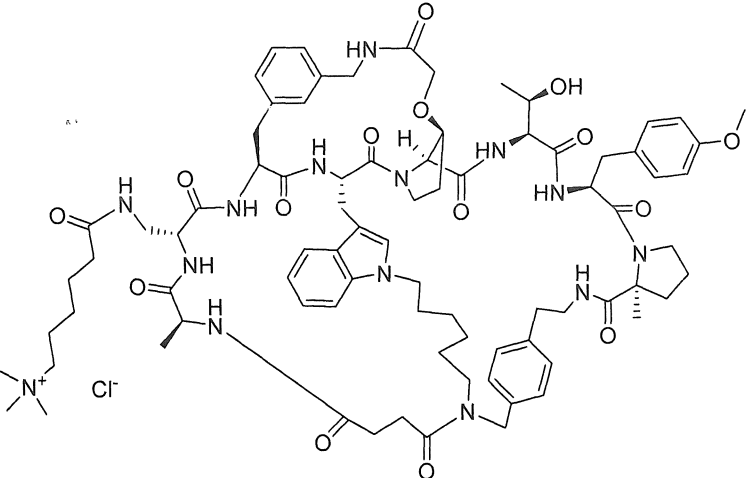
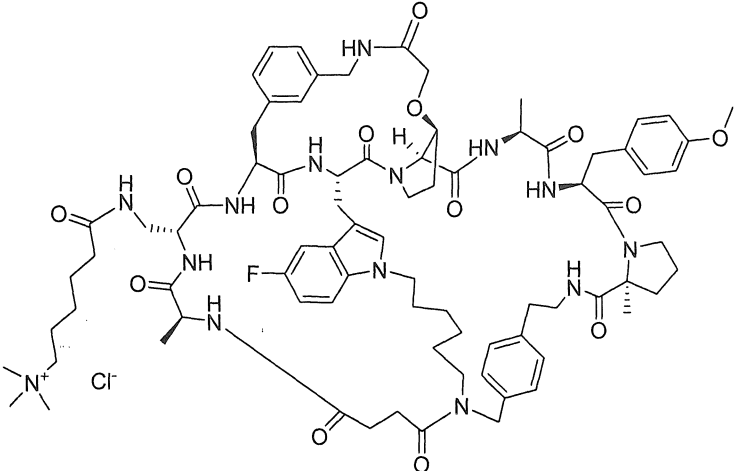
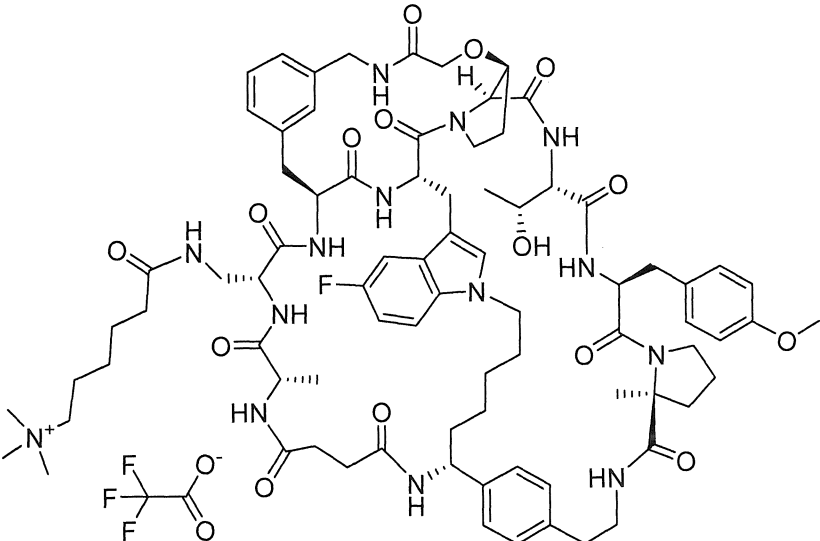
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-17 muối TFA		1582,68
Ex-18 muối TFA		1539,75
Ex-19 muối TFA		1692,91

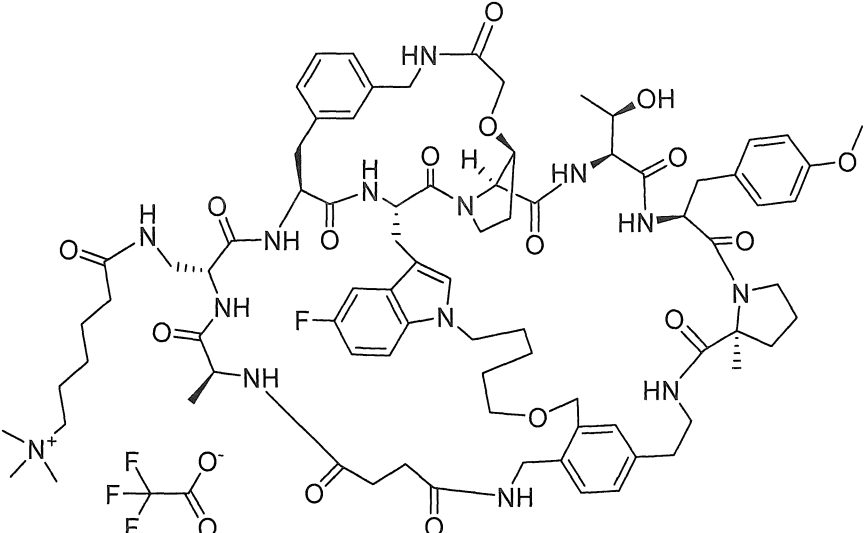
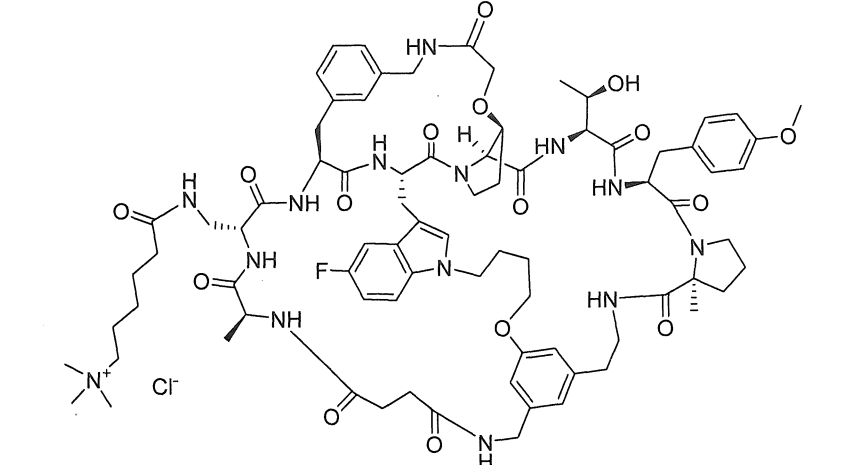
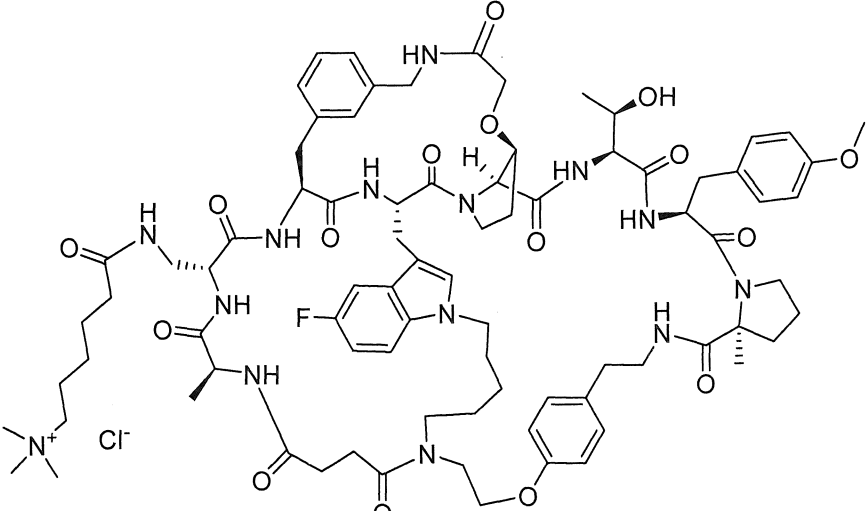
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-20 muối TFA		1553,62
Ex-21 muối Cl		1566,91
Ex-22 muối TFA		1596,66

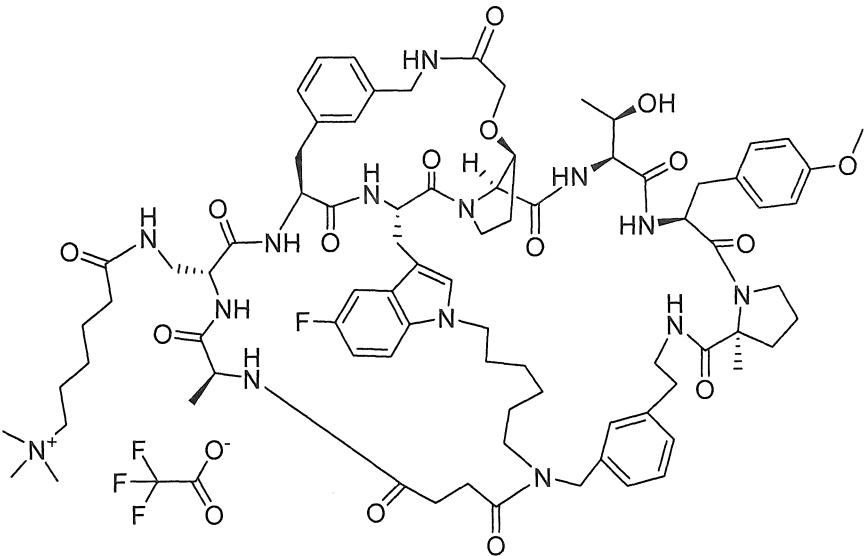
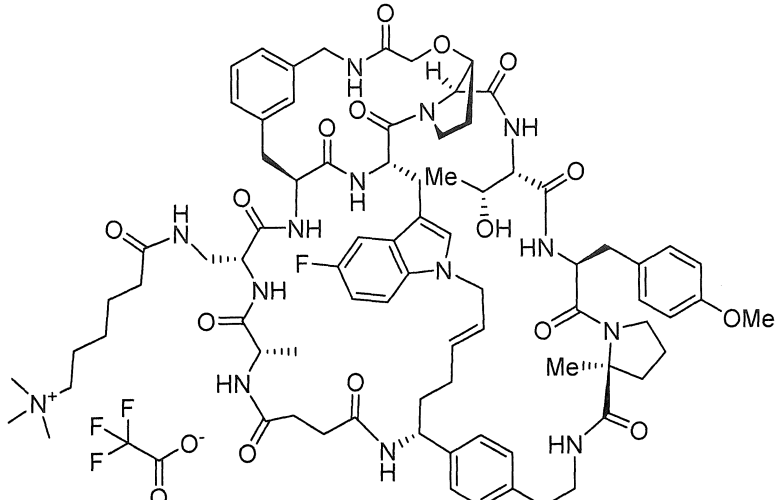
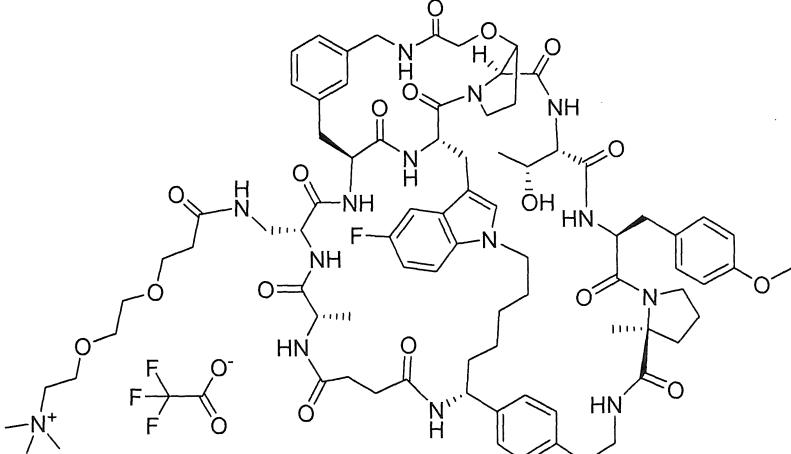
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-23		1656,57
Ex-24 muối TFA		1810,06 (nửa khối lượng 848,64)
Ex-25 muối TFA		1550,6

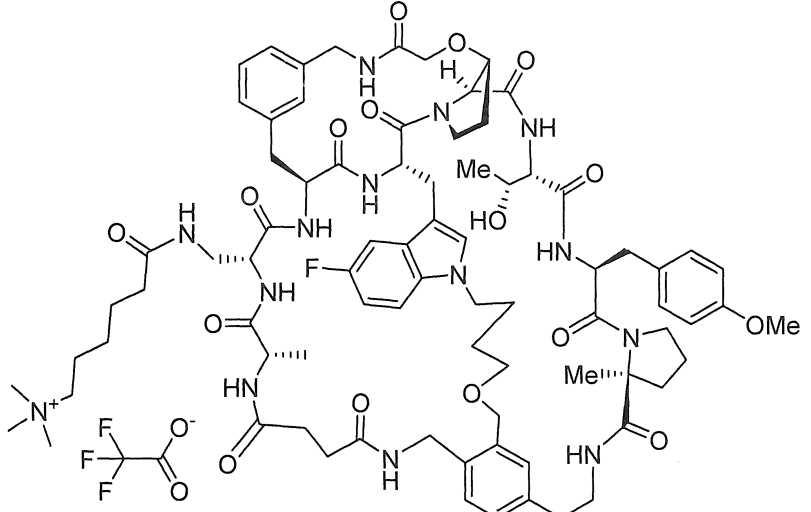
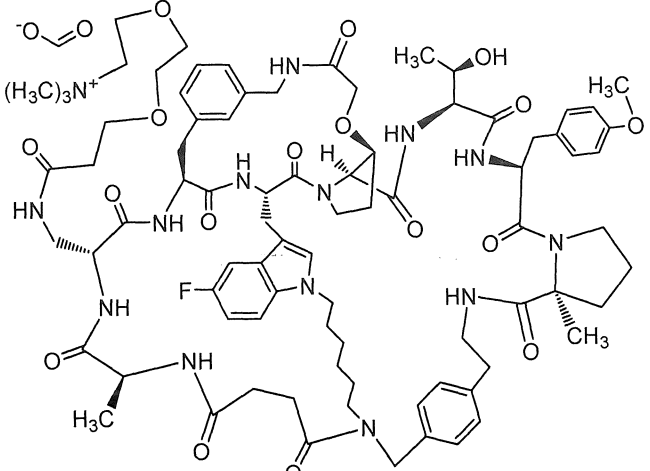
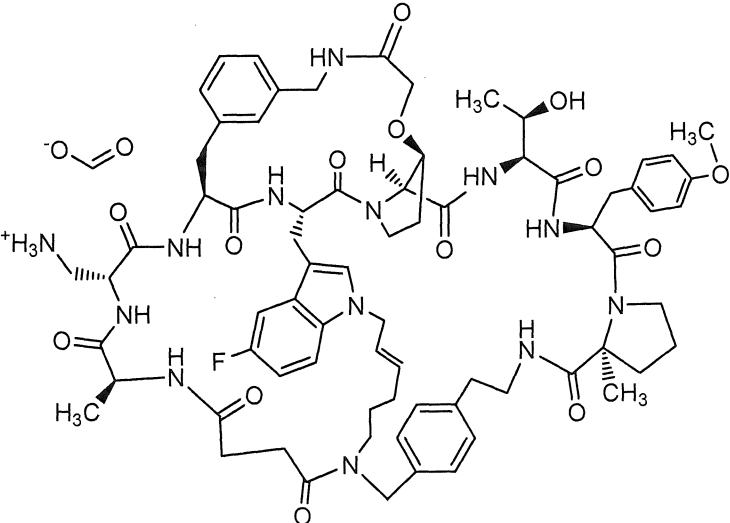
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-25 muối Cl		1550,6
Ex-26		1599,19
Ex-27		1628,74

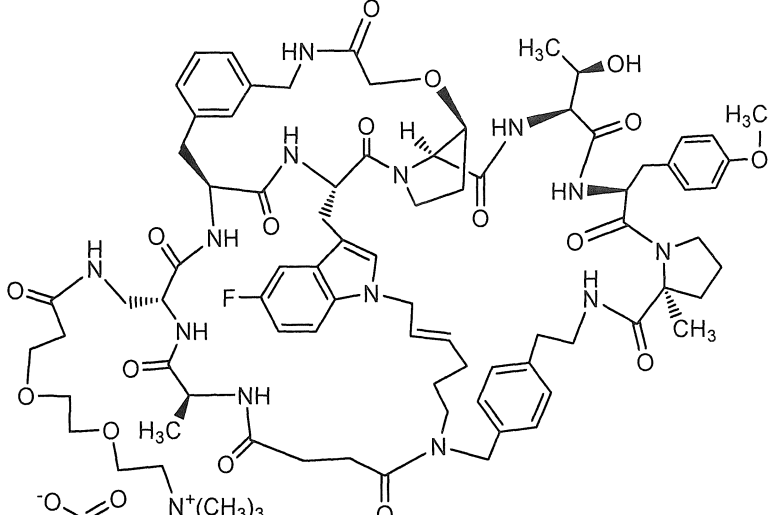
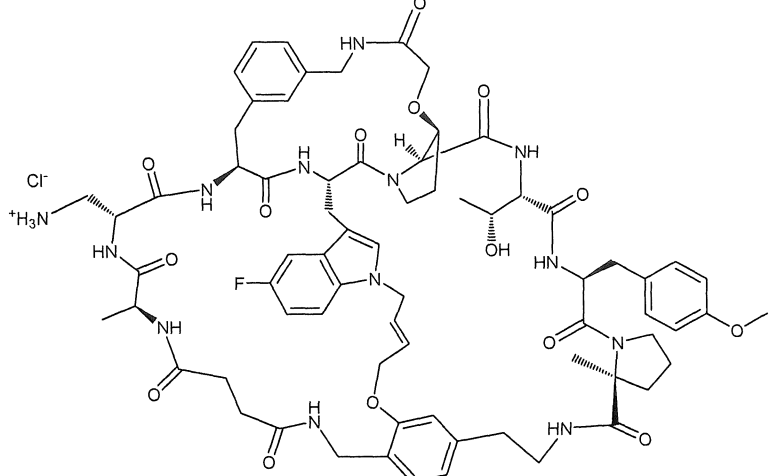
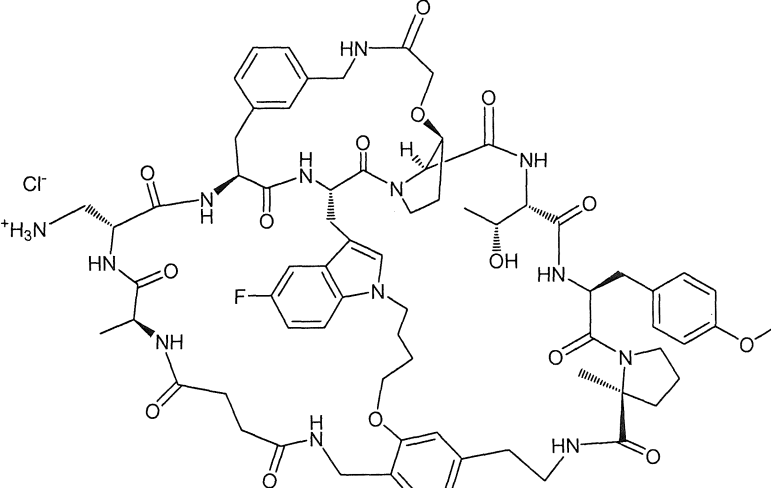
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-28 muối TFA		1568,63
Ex-29 muối TFA		1566,60
Ex-31 muối Cl		1552,85

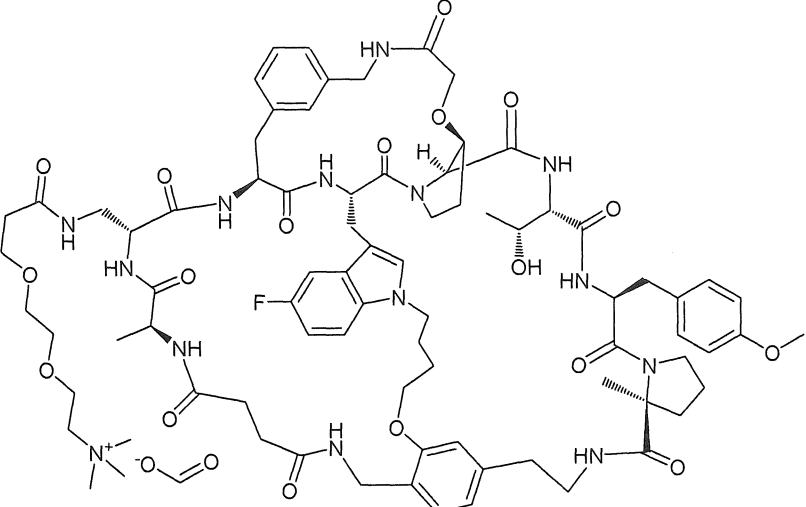
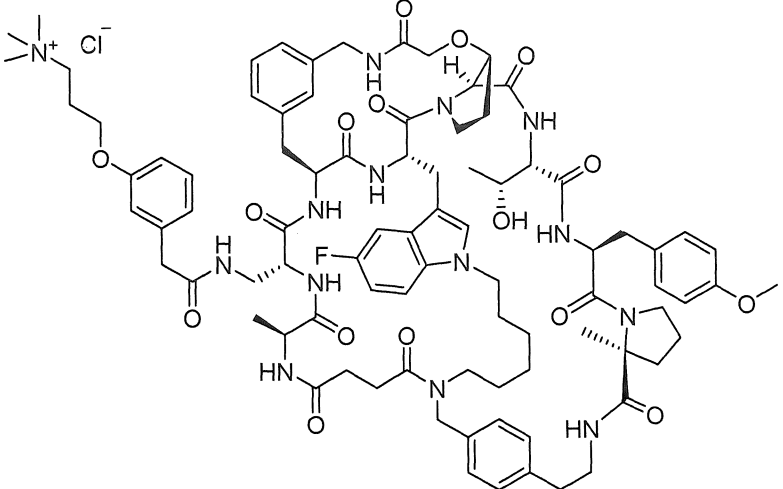
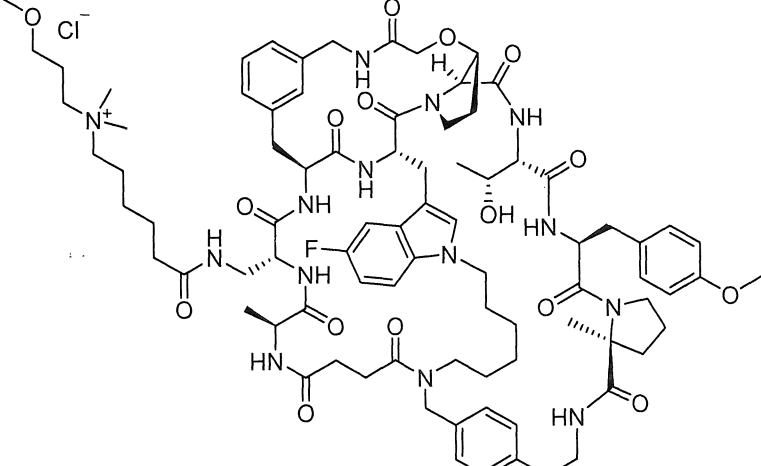
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-35 muối Cl		1533,40
Ex-36 Muối Cl		1520,60
Ex-38 muối TFA		1536,21

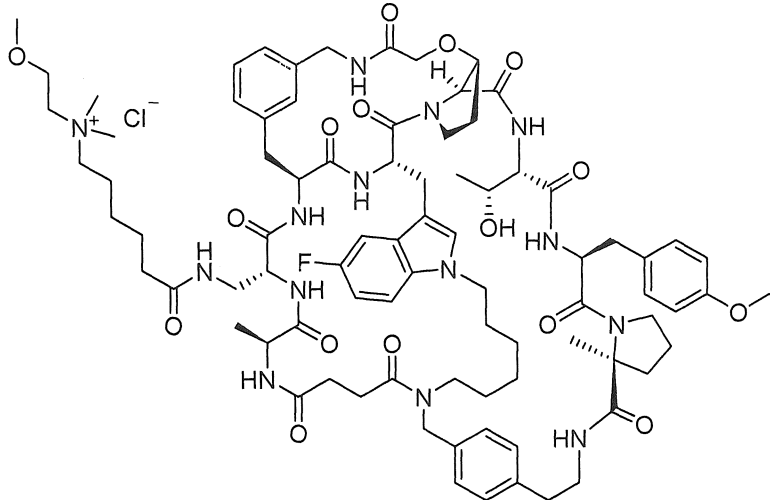
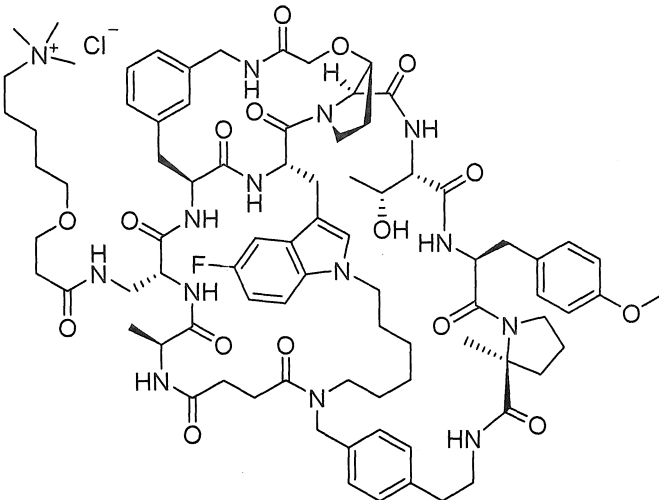
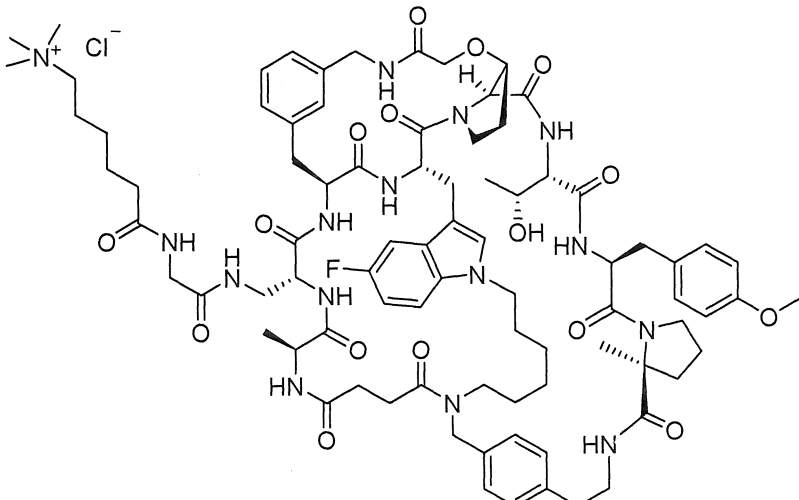
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-39 muối TFA		1551,21
Ex-40 Muối Cl		1538,60
Ex-41 Muối Cl		1566,40

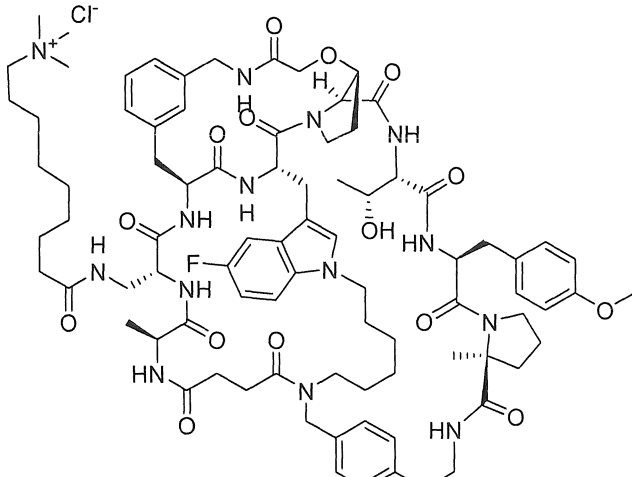
Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-44 muối TFA		1549,49
Ex-47 muối TFA		1534,27
Ex-48 muối TFA		1582,20

Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-49 muối TFA		1551,21
Ex-50 Muối ACOH		1596,3
Ex-51 Muối ACOH		1392,0

Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-52 Muối ACOH		1593,8
Ex-53 Muối Cl		1381,33
Ex-54 Muối Cl		1383,44

Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-55 Muối ACOH		1583,69
Ex-56 Muối Cl		1628,95
Ex-57 Muối Cl		1608,95

Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-58 Muối Cl		1594,93
Ex-59 Muối Cl		1593,7
Ex-60 Muối Cl		1607,4

Ex- số	Cấu trúc	LC/MS: (M) ⁺
Ex-61 Muối Cl		1592,4

Xác định hoạt tính

Hợp chất được chọn theo sáng chế được đưa vào một hoặc nhiều quy trình dưới đây để thử nghiệm hoạt tính của chúng để đối kháng hoạt tính PCSK9.

Dưới đây là phần mô tả các thử nghiệm được sử dụng để xác định hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế, và các hợp chất so sánh bất kỳ được báo cáo, hướng đến đối kháng PCSK9. PCSK9 được biotinyl hóa được thu về mặt thương mại.

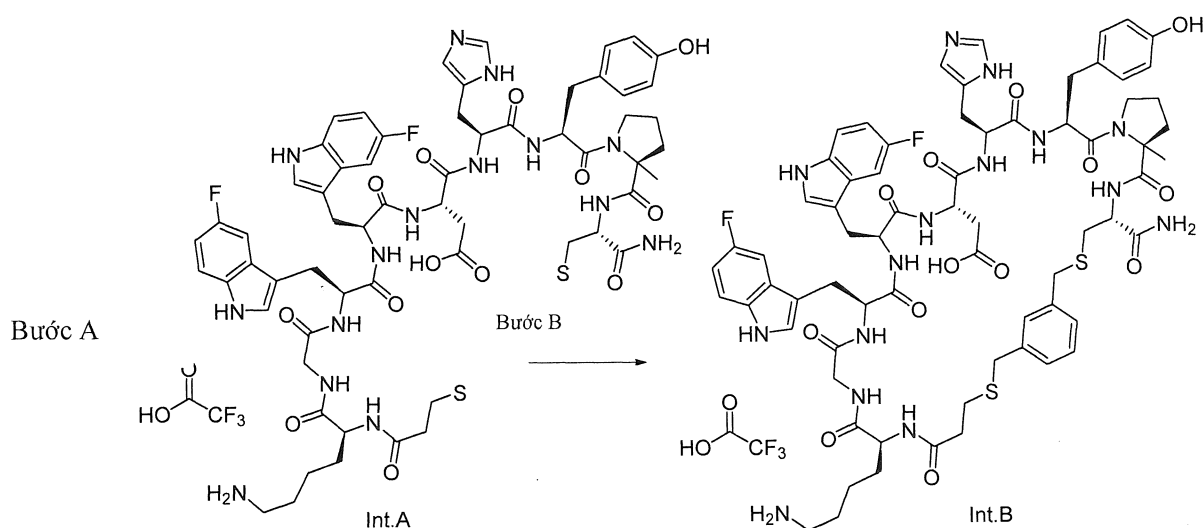
LDLR TR-FRET

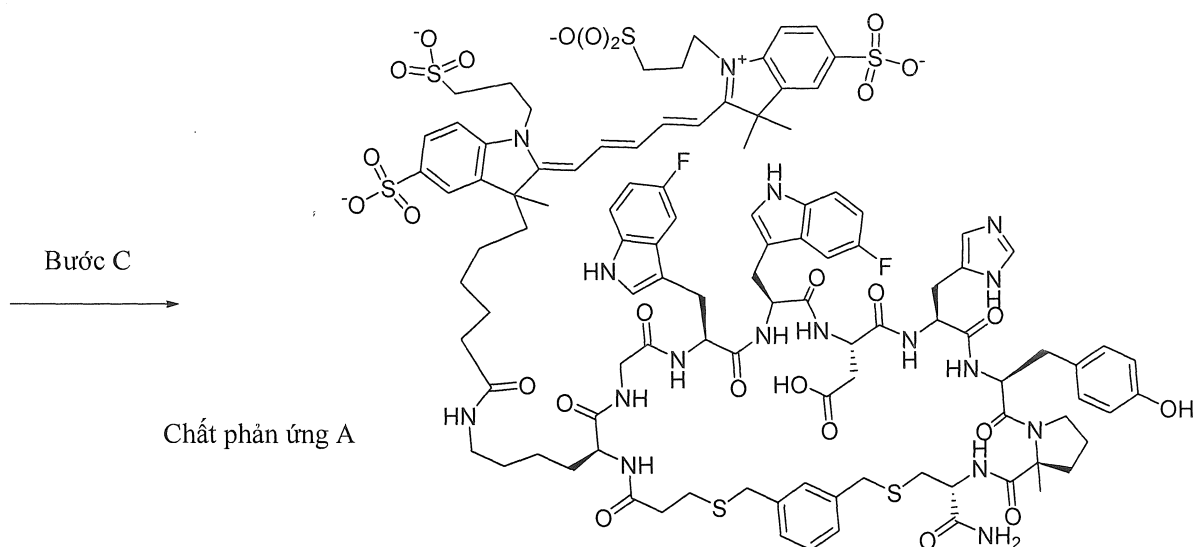
Thử nghiệm PCSK9 TR-FRET xác định sự tương tác giữa PCSK9 và LDLR. Dung dịch chứa 40 nM PCSK9 được biotinyl hóa + 10 nM Lance ULight Streptavidin được tạo ra trong 50 mM HEPES pH 7,4, 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl₂, 0,01% BSA, và 0,01% Chất hoạt động bề mặt P20. Dung dịch riêng rẽ chứa 40 nM rhLDLR-6xHis + 10 nM Eu-W1024 kháng 6xHis được tạo ra trong cùng hệ đệm. Echo được sử dụng để chuyển 0,750ul hợp chất vào đĩa thử nghiệm sau đó bổ sung 15ul PCSK9+ULight và 15ul LDLR+Eu. Thể tích thử nghiệm cuối cùng là 30,750ul chứa 20nM PCSK9, 5nM Ulight, 20nM LDLR, và 5nM Eu. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất hai giờ trước khi đo huỳnh quang bằng cách sử dụng Bộ đọc Envision Multilabel Reader. Giá trị IC₅₀ được xác định bằng cách lắp số liệu vào đường cong đáp ứng-liều sigmoidal bằng cách sử dụng hồi quy không tuyến tính. Hệ đếm (hệ đếm B) của LDLR gắn nhãn europi sau đó để quan sát nếu hợp chất tác dụng trở lại LDLR. Sự đi xuống của hệ đếm B có khả năng chỉ ra dương tính giả của sự ức chế.

Alexa FRET tiêu chuẩn TR-FRET

Thử nghiệm PCSK9 Alexa FRET tiêu chuẩn xác định sự tương tác giữa PCSK9 và peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor647 (AF), chất phản ứng A ($K_D = 83\text{nM}$). Dung dịch chứa 1 nM PCSK9 được biotinyl hóa + 2,5 nM Lance Streptavidin Europi (Strep-Eu) được tạo ra trong 50 mM HEPES pH 7,4, 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl_2 , 0,01% BSA, và 0,01% Chất hoạt động bề mặt P20. Dung dịch riêng rẽ chứa 40 nM peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor được tạo ra trong cùng hệ đệm. Echo được sử dụng để chuyển 0,750ul hợp chất vào đĩa thử nghiệm sau đó bổ sung 15ul PCSK9+Strep-Eu và 15ul peptit AF. Thể tích thử nghiệm cuối cùng là 30,750ul chứa 0,5nM PCSK9, 1,25nM Strep-Eu, và 20nM peptit vòng AF. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ phòng trong ít nhất hai giờ trước khi đo huỳnh quang bằng cách sử dụng Bộ đọc Envision Multilabel Reader. Giá trị IC_{50} được xác định bằng cách lắp số liệu vào đường cong đáp ứng-liều sigmoidal bằng cách sử dụng hồi quy không tuyến tính. Kì sau đó được tính từ IC_{50} và K_D của peptit vòng AF. Hệ đếm (hệ đếm B) của PCSK9 được gắn nhãn europi sau đó để quan sát nếu hợp chất tác dụng trở lại PCSK9. Sự đi xuống của hệ đếm B có khả năng chỉ ra dương tính giả của sự ức chế. Số liệu từ quy trình này được báo cáo là “A = ‘giá trị bằng số’ (nanomol)”

Chất phản ứng A được điều chế theo phương pháp dưới đây:





Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-A

Peptit được tổng hợp trên quy mô 0,250 mmol trên CEM Liberty Blue, Thiết bị tổng hợp vi sóng sử dụng hóa chất Fmoc/*t*Bu trên nhựa PS Rink-Amit MBHA, 0,32 mmol g⁻¹. Việc lắp ghép được thực hiện bằng cách sử dụng sự kết hợp đơn sử dụng 4 đương lượng axit amin được bảo vệ bởi Fmoc 0,2M trong DMF, 4 đương lượng 0,5M HATU trong DMF, 4 đương lượng 2M DIPEA (kết hợp kép đối với Tyr). Chu trình khử bảo vệ Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng 20% (thể tích/thể tích) piperidin trong DMF.

Trình tự của axit amin được bảo vệ bởi Fmoc và khối cấu trúc được sử dụng là:

1. N-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)-S-trityl-L-xystein
2. Axit (S)-1-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-2-metylpyrolidin-2-carboxylic
3. (((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)-L-tyrosin
4. N-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)-N-trityl-L-histidin
5. Axit (S)-2-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-4-(tert-butoxy)-4-oxobutanoic
6. Axit (S)-2-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-3-(5-floro-1H-indol-3-yl)propanoic
7. Axit (S)-2-(((9H-floren-9-yl)methoxy)carbonyl)amino)-3-(5-floro-1H-indol-3-yl)propanoic

8. (((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)glyxin
9. N²-(((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-N⁶-(tert-butoxycacbonyl)-L-lysine
10. Axit 3-(tritylthio)propanoic

Khi kết thúc việc lắp ghép, nhựa được rửa bằng DMF, MeOH, DCM, Et₂O. Peptit được phân cắt khỏi nền đỡ rắn bằng cách sử dụng 50 ml dung dịch TFA (thể tích/thể tích) (91% TFA, 5% H₂O, 4% TIPS) trong khoảng 1,5 giờ, ở nhiệt độ trong phòng. Nhựa được lọc, được rửa bằng TFA và dung dịch được cô đến khi khô và được làm đông khô. Quy trình đông khô tạo ra *hợp chất trung gian Int. A* (399mg), được sử dụng làm chất thô trong bước tiếp theo. LCMS được phân tích tính toán C₆₁H₇₅F₂N₁₅O₁₃S₂: 1328,48, phát hiện: 1328,2 (M+1)⁺

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-B: như được mô tả đối với chất phản ứng B

Được tinh chế bằng RP-HPLC (Waters Deltapak C4, bút tiêm kép, 40x100 mm, 15μm, 300A; 15% đến 35% ACN/nước + 0,1% chất cải biến TFA trong 20 phút). Các phần thu được được đông khô để tạo ra 35mg *hợp chất trung gian Int-B*. LCMS được phân tích tính toán đối với C₆₉H₈₁F₂N₁₅O₁₃S₂: 1430,62; phát hiện: 1430,9 (M+1)⁺

Bước C – Tổng hợp hợp chất Chất phản ứng A: như được mô tả đối với chất phản ứng B

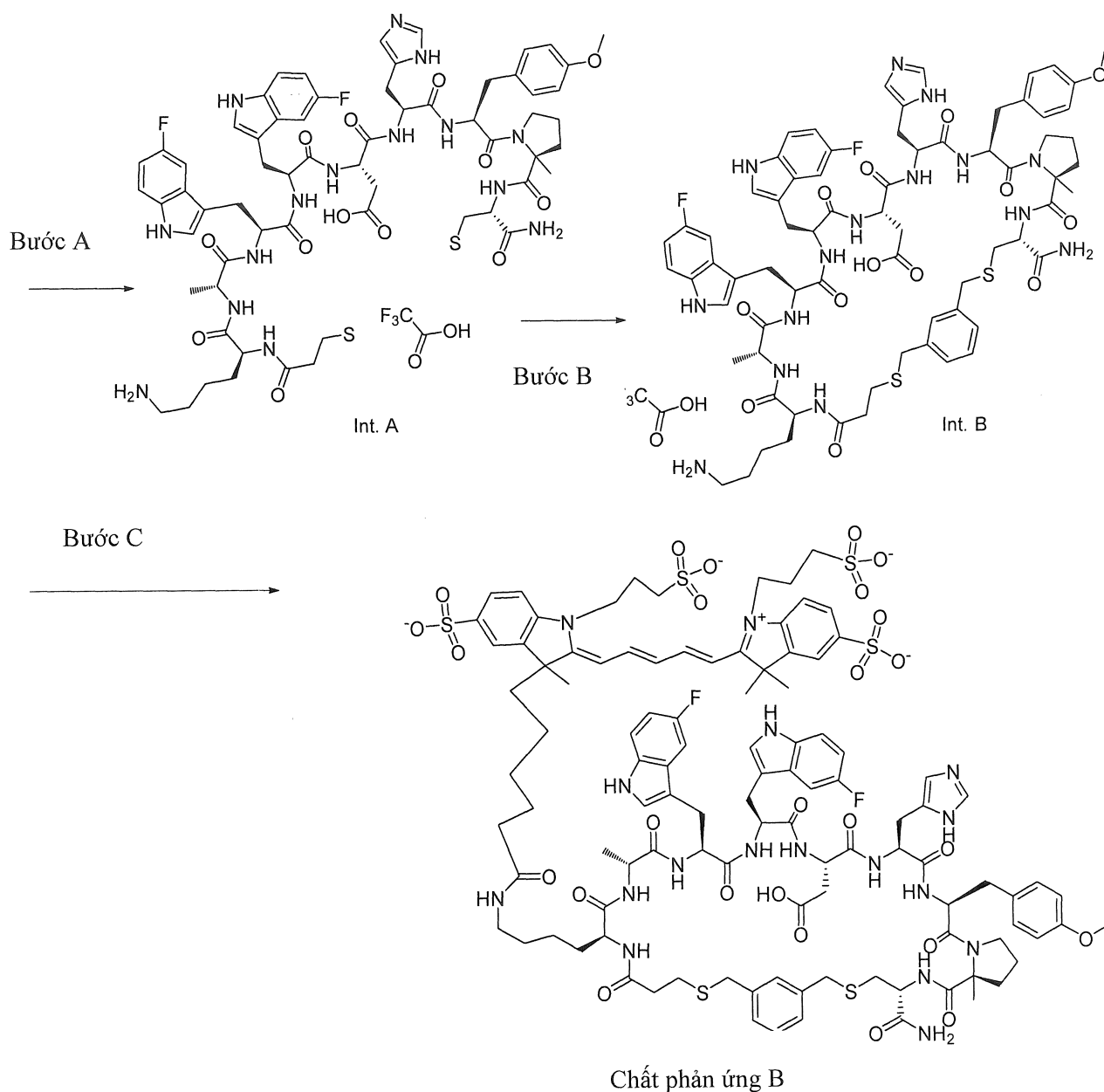
LCMS được phân tích tính toán đối với C₁₀₅H₁₂₂F₂N₁₇O₂₆S₆³⁻: 2268,58; 1135,8 (M+2)²⁺

Alexa FRET Cộng TR-FRET

Thử nghiệm PCSK9 Alexa FRET Cộng xác định sự tương tác giữa PCSK9 và peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor647 (AF), chất phản ứng B (K_D = 35nM). Dung dịch chứa 1 nM PCSK9 được biotinyl hóa + 2,5 nM Lance Streptavidin Europi (Strep-Eu) được tạo ra trong 50 mM HEPES pH 7,4, 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl₂, 0,01% BSA, và 0,01% Chất hoạt động bề mặt P20. Dung dịch riêng rẽ chứa 1920 nM peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor được tạo ra trong cùng hệ đệm. Echo được sử dụng để chuyển 0,075ul hợp chất cộng 0,675ul DMSO vào mỗi giếng của đĩa thử nghiệm sau đó bổ sung 15ul PCSK9+Strep-Eu và 15ul peptit AF. Thể tích thử nghiệm cuối cùng là 30,750ul

chứa 0,5nM PCSK9, 1,25nM Strep-Eu, và 960nM peptit vòng AF. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất hai giờ trước khi đo huỳnh quang bằng cách sử dụng Bộ đọc Envision Multilabel Reader. Giá trị IC₅₀ được xác định bằng cách lắp số liệu vào đường cong đáp ứng-liều sigmoidal bằng cách sử dụng hồi quy không tuyến tính. Kì sau đó được tính từ IC₅₀ và K_D của peptit vòng AF. Hệ đếm (hệ đếm B) của PCSK9 được gắn nhãn europi sau đó để quan sát nếu hợp chất tác dụng trở lại PCSK9. Sự đi xuống của hệ đếm B có khả năng chỉ ra dương tính giả của sự ức chế. Số liệu từ quy trình này được báo cáo là “P= ‘giá trị bằng số’ (nanomol)”

Chất phản ứng B được điều chế bằng quy trình dưới đây.



Bước A – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-A

Peptit được tổng hợp trên quy mô 0,250 mmol trên CEM Liberty Blue, Thiết bị tổng hợp vi sóng bằng cách sử dụng hóa chất Fmoc/*t*Bu trên nhựa PS Rink-Amit MBHA, 0,32 mmol g⁻¹. Việc lắp ghép được thực hiện bằng cách sử dụng sự kết hợp đơn bằng cách sử dụng 4 đương lượng axit amin được bảo vệ bởi Fmoc 0,2M trong DMF, 4 đương lượng 1M Oxym trong DMF, 4 đương lượng 0,5M *N,N*-diisopropylcarbodiimide (DIC) (kết hợp kép đối với Y01). Chu trình khử bảo vệ Fmoc được thực hiện bằng cách sử dụng 20% (thể tích/thể tích) piperidin trong DMF.

Trình tự của axit amin được bảo vệ bởi Fmoc và khối cấu trúc được sử dụng là:

1. N-(((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-S-trityl-L-xystein
2. Axit (S)-1((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-2-metylpyrolidin-2-axit carboxylic
3. Axit (S)-2((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-3-(4-metoxypheyl)propanoic
4. N-(((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-N-trityl-L-histidin
5. Axit (S)-2((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-4-(tert-butoxy)-4-oxobutanoic
6. Axit (S)-2((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-3-(5-floro-1H-indol-3-yl)propanoic
7. Axit (S)-2((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)amino)-3-(5-floro-1H-indol-3-yl)propanoic
8. (((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-D-alanin
9. N²-((((9H-floren-9-yl)metoxy)cacbonyl)-N⁶-(tert-butoxycacbonyl)-L-lysin
10. Axit 3-(tritylthio)propanoic

Khi kết thúc việc lắp ghép, nhựa được rửa bằng DMF, MeOH, DCM, Et₂O. Peptit được phân cắt khỏi nền đỡ rắn bằng cách sử dụng 50 ml dung dịch TFA (thể tích/thể tích) (91% TFA, 5% H₂O, 4% TIPS) trong khoảng 1,5 giờ, ở nhiệt độ trong phòng. Nhựa được lọc, được rửa bằng TFA và dung dịch được cô đến khi khô và được làm đông khô. Quy trình đông khô tạo ra *hợp chất trung gian* Int. A (300mg), được sử dụng làm chất

thô trong bước tiếp theo. LCMS được phân tích tính toán $C_{63}H_{79}F_2N_{15}O_{13}S_2$: 1356,53, phát hiện: 1356,9 (M+1)⁺

Bước B – Tổng hợp hợp chất trung gian Int-B

Int-A thô (0,22 mmol) được hòa tan lại trong 24ml DMF. 6ml 1M dung dịch chứa nước của natri bicacbonat được bổ sung để tăng độ pH lên 7. Sau đó 0,26 mmol 1,3-bis(bromometyl)benzen (0,1M trong DMF) được bổ sung từng giọt. Phản ứng được để khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 20 phút, được làm dừng bằng TFA (pH đến 3-4) và sau đó được cô trong chân không để tạo ra *Int-B* thô, được tinh chế bằng RP-HPLC (Waters XBridge, C18, 50x150 mm, 5 μ m, 130A; 25% đến 40% ACN/nước + 0,1% chất cải biến TFA trong 20 phút). Phần thu được được đông khô để tạo ra 35mg *hợp chất trung gian Int-B*. LCMS được phân tích tính toán đối với $C_{71}H_{85}F_2N_{15}O_{13}S_2$: 1458,67; phát hiện: 1458,8 (M+1)⁺

Bước C – Tổng hợp hợp chất Chất phản ứng B

Hợp chất trung gian Int-B (15mg) được hòa tan trong 0,2ml DMSO khô. Sau đó 15mg ALEXAFLUOR 647NHS Este (A37566, Life technology) được hòa tan trong 1,5ml DMSO khô được bổ sung. 20 μ L DIPEA khô được bổ sung. Phản ứng được để khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 12 giờ dưới khí nitơ trong bóng tối. Được làm dừng bằng TFA (pH đến 3-4) và được tinh chế bằng RP-HPLC (Dr Maish, Reprosil Gold C18, 250x20 mm, 120 Å, 10 μ m; 20% đến 35% 0,1% TFA trong ACN/0,1% TFA trong H₂O, trên 20 phút, sau đó 35% đến 40% trên 5 phút ở tốc độ dòng 20 mL/phút). Phần thu được được đông khô để tạo ra 16,1 mg *hợp chất Chất phản ứng B*. LCMS phân tích đối với $C_{107}H_{126}F_2N_{17}O_{26}S_6^{3-}$: 2296,64; phát hiện: 1150,6 (M+2)²⁺

Số liệu hoạt tính được thu bằng một hoặc cả hai quy trình được mô tả ở trên được báo cáo đối với các hợp chất ví dụ được chọn theo sáng chế ở dạng dưới đây:

Ví dụ số: A (TR Fret chuẩn) = ‘giá trị bằng số’; P (Alexa Fret cộng TR Fret chuẩn) = ‘giá trị bằng số’ /, lưu ý rằng tất cả các giá trị có đơn vị là nanomol.

Alexa FRET Ultra TR-FRET

Thử nghiệm PCSK9 Alexa FRET Ultra xác định sự tương tác giữa PCSK9 và peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor647 (AF), chất phản ứng B ($K_D = 0,99$ nM). Dung dịch chứa 1 nM PCSK9 được biotinyl hóa + 2,5 nM Lance Streptavidin Europi (Strep-

Eu) được tạo ra trong 50 mM HEPES pH 7,4, 0,15 M NaCl, 5 mM CaCl₂, 0,01% BSA, và 0,01% chất hoạt động bề mặt P20. Dung dịch riêng rẽ chứa 1920 nM peptit vòng được gắn đuôi AlexaFluor được tạo ra trong cùng hệ đệm. Echo được sử dụng để chuyển 0,015 ul hợp chất cộng 0,735 ul DMSO vào mỗi giếng của đĩa thử nghiệm sau đó bổ sung 15 ul PCSK9+Strep-Eu và 15 ul peptit AF. Thể tích thử nghiệm cuối cùng là 30,750 ul chứa 0,5 nM PCSK9, 1,25 nM Strep-Eu, và 960 nM peptit vòng AF. Phản ứng được ủ ở nhiệt độ trong phòng trong ít nhất hai giờ trước khi đo huỳnh quang bằng cách sử dụng Bộ đọc Envision Multilabel Reader. Giá trị IC₅₀ được xác định bằng cách lắp số liệu vào đường cong đáp ứng-liều sigmoidal bằng cách sử dụng hồi quy không tuyến tính. Ki sau đó được tính từ IC₅₀ và K_D của peptit vòng AF. Hệ đếm (hệ đếm B) của PCSK9 được gắn nhãn europi sau đó để quan sát nếu hợp chất tác động trở lại PCSK9. Sự đi xuống của hệ đếm B có khả năng chỉ ra dương tính giả của sự ức chế. Số liệu từ quy trình này được báo cáo là “Ki Ultra = ‘giá trị bằng số’ (số liệu được báo cáo là nanomol)”

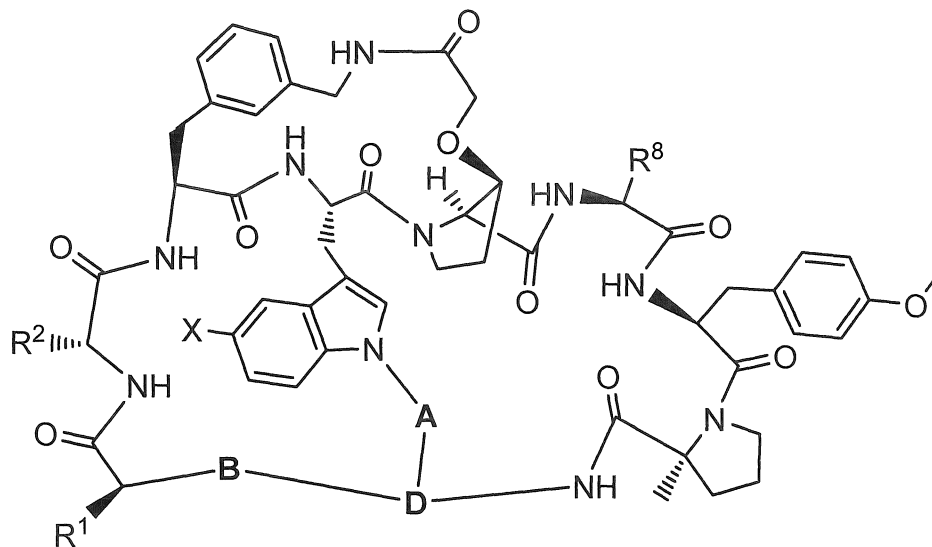
Các hợp chất dưới đây được đánh giá, như được thể hiện trong bảng 2, sử dụng quy trình được mô tả ở trên với các kết quả được thể hiện:

Ex-01 Ki Plus = < 0,00558, Ki Ultra = 0,0046 / Ex-02 Ki Plus = 0,00558, Ki Ultra = 0,005933/ Ex-03 Ki Plus = 0,02535, Ki Ultra = 0,06803/ Ex-04 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra = 0,004711/ Ex-05 Ki Plus = 0,009621, Ki Ultra = 0,03296/ Ex-06 Ki Plus = 0,00568, Ki Ultra = 0,003424/ Ex-07 Ki Plus = 0,05914, Ki Ultra = 0,06753/ Ex-08 Ki Plus = 0,01574, Ki Ultra = 0,06832/ Ex-09 Ki Plus = 0,09189, Ki Ultra = 0,247/ Ex-10 Ki Plus = 0,005743, Ki Ultra = 0,02489/ Ex-11 Ki Plus = 0,04334, Ki Ultra = 0,2067/ Ex-12 Ki Plus = 0,01448, Ki Ultra = 0,02247/ Ex-13 Ki Plus = 0,1454, Ki Ultra = 0,4772/ Ex-14 Ki Plus = 0,01605, Ki Ultra = 0,02099/ Ex-15 Ki Plus = 0,1027, Ki Ultra = 0,2601/ Ex-16 Ki Plus = 0,01423, Ki Ultra = 0,05141/ Ex-17 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra = 0,0028/ Ex-18 Ki Plus = 0,03356, Ki Ultra = 0,1183/ Ex-19 Ki Plus = 0,01662, Ki Ultra = 0,01204/ Ex-20 Ki Plus = 0,01303, Ki Ultra = 0,01711/ Ex-21 Ki Plus = 0,005692, Ki Ultra = 0,001264/ Ex-22 Ki Plus = 0,00926, Ki Ultra = 0,01519/ Ex-23 Ki Plus = 0,00938, Ki Ultra = 0,00239/ Ex-24 Ki Plus = 0,00812, Ki Ultra = 0,00767/ Ex-25 Ki Plus = 0,01127, Ki Ultra = 0,00463/ Ex-26 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra = 0,002754/ Ex-27 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra = 0,00301/ Ex-28 Ki Plus ≤ 0,00558, Ki Ultra = 0,00078/ Ex-29 Ki Plus = 0,00981, Ki Ultra = 0,00614/ Ex-31 Ki

Plus < 0,00558, Ki Ultra = 0,00074/ Ex-35 Ki Plus = 0,04652, Ki Ultra = 0,08434/ Ex-
 36 Ki Plus = 0,00762, Ki Ultra = 0,00507/ Ex-38 Ki Plus = 0,00904, Ki Ultra = 0,01416/
 Ex-39 Ki Plus = 0,00716, Ki Ultra = 0,00414/ Ex-40 Ki Plus = 0,30800, Ki Ultra =
 0,86010/ Ex-41 Ki Plus = 0,00697, Ki Ultra = 0,00628/ Ex-44 Ki Plus = 0,01445, Ki
 Ultra = 0,02194/ Ex-47 Ki Plus = 0,01474, Ki Ultra = 0,01193/ Ex-48 Ki Plus = 0,01169,
 Ki Ultra = 0,01545/ Ex-49 Ki Plus = 0,00716, Ki Ultra = 0,00414/ Ex-50 Ki Standard
 <1,26, Ki Plus = 0,01052, Ki Ultra = 0,00443/ Ex-51 Ki Standard <1,26, Ki Plus <
 0,00558, Ki Ultra = 0,00597/ Ex-52 Ki Standard <1,26, Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra =
 0,00359/ Ex-53 Ki Standard <1,26, Ki Plus = 0,09629, Ki Ultra = 0,21500/ Ex-54 Ki
 Standard <1,26, Ki Plus = 0,36720, Ki Ultra = 0,48390/ Ex-55 Ki Standard <1,26, Ki
 Plus = 0,07240, Ki Ultra = 0,23800/ Ex-56 Ki Standard <1,257, Ki Plus = 0,02237, Ki
 Ultra = 0,00481/ Ex-57 Ki Standard <1,257, Ki Plus < 0,00558, Ki Ultra = 0,00162/ Ex-
 58 Ki Standard <1,257, Ki Plus = 0,00773, Ki Ultra = 0,00196/ Ex-59 Ki Plus = 0,00788,
 Ki Ultra = 0,004959/ Ex-60 Ki Plus = 0,006515, Ki Ultra = 0,005312 / Ex-61 Ki Plus =
 0,00747, Ki Ultra = 0,006543.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



Công thức I,

trong đó:

X là H, F, Cl hoặc Br;

R¹ được chọn từ:

(a) -H; hoặc

(b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(i) -H;

(ii) $-NH_2$;

(iii) $-N^+H_3$;

(iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ trong đó R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$;

hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vi) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ trong đó:

y₁₂ và y₁₃ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

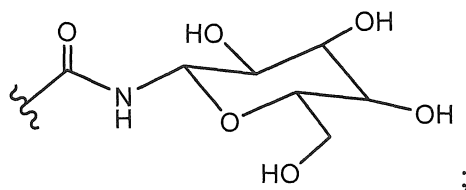
(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

(aiii) gốc có công thức:



R^2 được chọn từ:

(a) $-\text{H}$; và

(b) $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6 , và $\text{R}^{14\text{A}}$ được chọn từ:

(i) $-\text{H}$;

(ii) $-\text{NH}_2$;

(iii) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(iv) $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$;

(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4 ; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

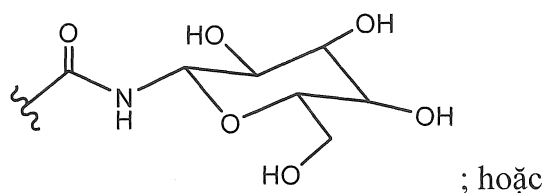
(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y=1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

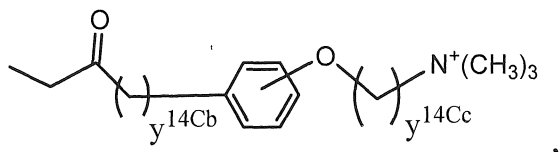
(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$, trong đó $\text{R}^{14\text{ca}}$ là $-\text{CH}_3$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{OCH}_3$;

(aiii) gốc có công thức:

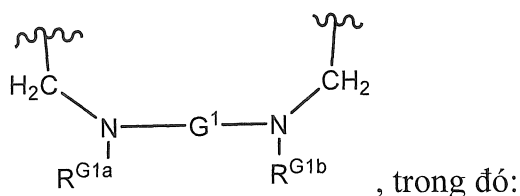


(aiv) gốc có công thức:



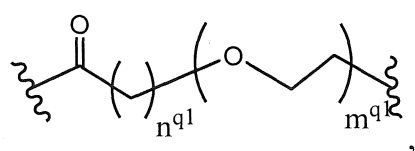
trong đó y^{14Cb} và y^{14Cc} nằm trong khoảng từ 1 đến 4; hoặc

R^1 và R^2 có thể được gắn kết với nhau để tạo ra gốc có công thức:



G^1 , R^{G1a} và R^{G1b} được xác định như dưới đây:

(a) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:

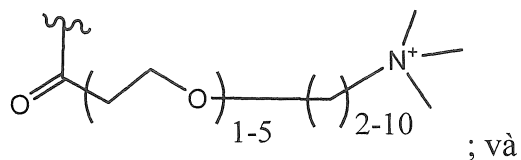


trong đó n^{q1} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, m^{q1} là 0, 1 hoặc 2 và giá trị của n^{q1} và m^{q1} được chọn cùng nhau sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc cacbonyl;

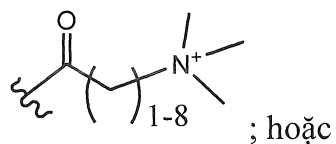
R^{G1a} được chọn từ: (i) $-H$; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon; và

R^{G1b} được chọn từ:

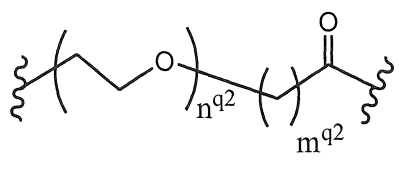
(i) gốc có công thức:



(ii) gốc có công thức:



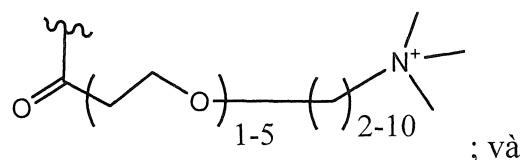
(b) G^1 là gốc nhóm liên kết có công thức:



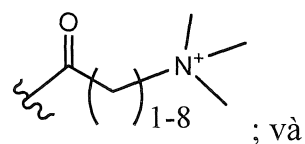
trong đó n^{q2} là 0, 1 hoặc 2, m^{q2} nằm trong khoảng từ 1 đến 6, và giá trị của n^{q2} và m^{q2} được chọn cùng nhau sao cho độ dài của gốc nhóm liên kết mà chúng xác định không vượt quá tổng 8 nguyên tử cacbon và/hoặc oxy bao gồm chuỗi chứa nguyên tử cacbon trong chuỗi mà tạo ra gốc cacbonyl;

R^{G1a} được chọn từ:

(i) gốc có công thức:

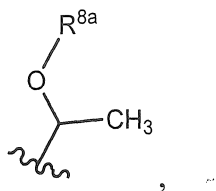


(ii) gốc có công thức:



R^{G1b} được chọn từ: (i) $-H$; và (ii) alkyl lên đến 4 nguyên tử cacbon;

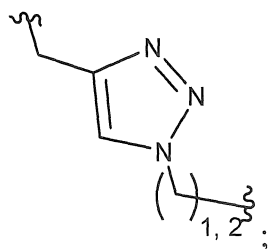
R^8 là $-CH_3$ hoặc gốc có công thức:



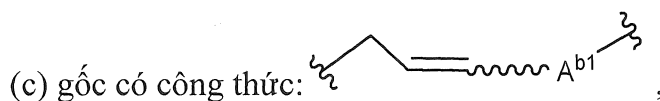
trong đó R^{8a} là $-H$, hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon;

A được chọn từ:

(a) gốc có công thức:

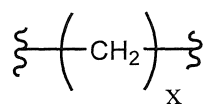


(b) $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6;



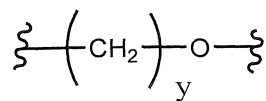
trong đó A^{b1} là:

(i) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 6; hoặc

(ii) gốc có công thức:



trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 5;

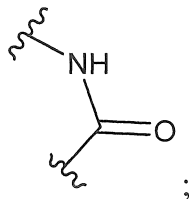
(d) gốc có công thức: $-CH_2-(CH_2)_m-O-(CH_2)_n-$, trong đó $m = 1$ đến 5, và $n = 0$ hoặc 1 đến 4;

B là:

(a) liên kết;

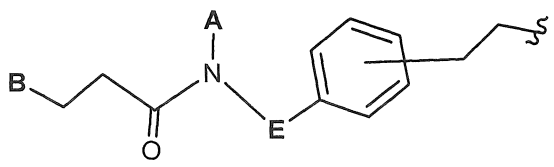
(b) $-(CH_2)_{1-2}-$; hoặc

(c) gốc có công thức:



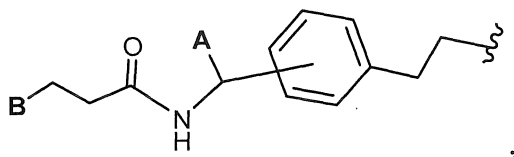
D là:

(a) gốc có công thức:



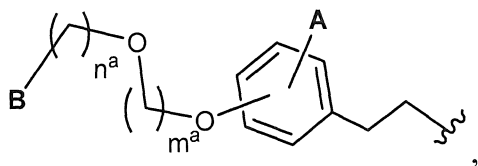
trong đó E là $-CH_2-$ hoặc $-(CH_2)_{2-4}-O-$, và A và B như được xác định ở trên;

(b) gốc có công thức:



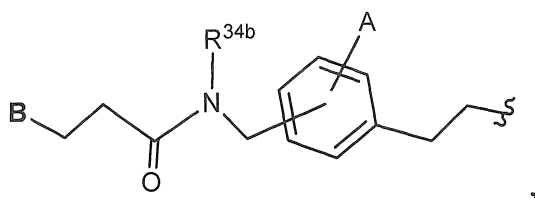
trong đó A và B như được xác định ở trên;

(c) gốc có công thức:



trong đó n^a là 1, 2, hoặc 3, m^a là 2, 3, hoặc 4, và $n^a + m^a \geq 3$, và trong đó A và B như được xác định ở trên;

(d) gốc có công thức:

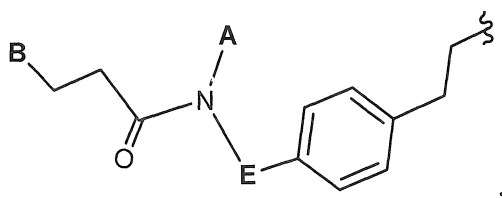


trong đó, R^{34b} là -H hoặc alkyl mạch thẳng, mạch nhánh hoặc vòng lên đến bốn nguyên tử cacbon, và A và B như được xác định ở trên,

hoặc muối được dụng của nó.

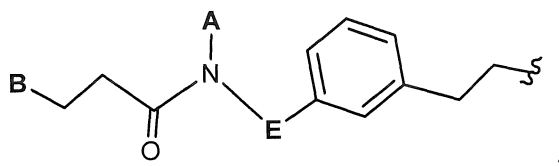
2. Hợp chất theo điểm 1 có Công thức I, trong đó X là F, hoặc muối được dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



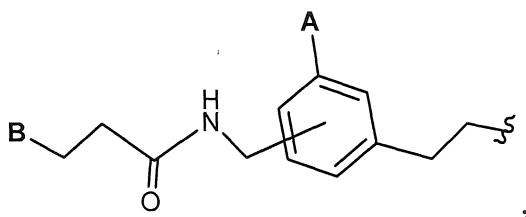
trong đó, E là -CH₂- hoặc -(CH₂)₂-O-, hoặc muối được dụng của nó.

4. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



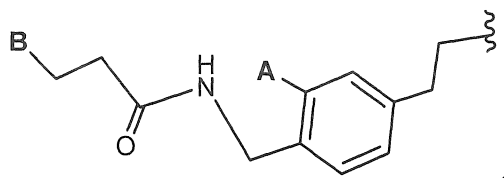
trong đó, E là -CH₂- hoặc -(CH₂)₂-O-, hoặc muối được dụng của nó.

5. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



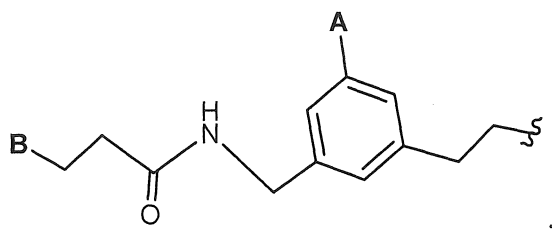
hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



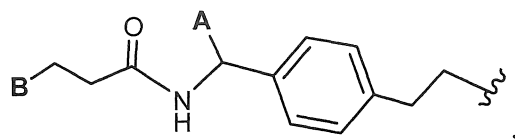
hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



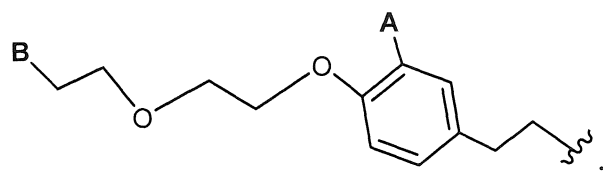
hoặc muối được dụng của nó.

8. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



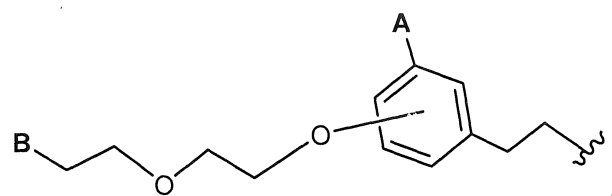
hoặc muối được dụng của nó.

9. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



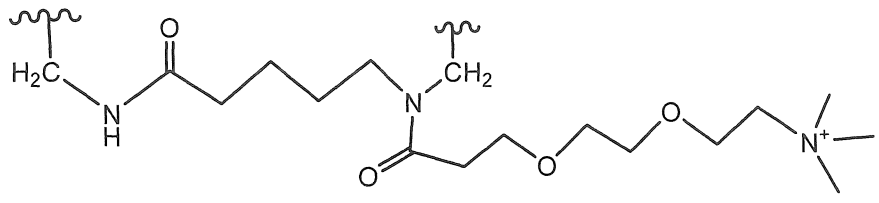
hoặc muối được dụng của nó.

10. Hợp chất theo điểm 2, trong đó D là gốc có công thức:



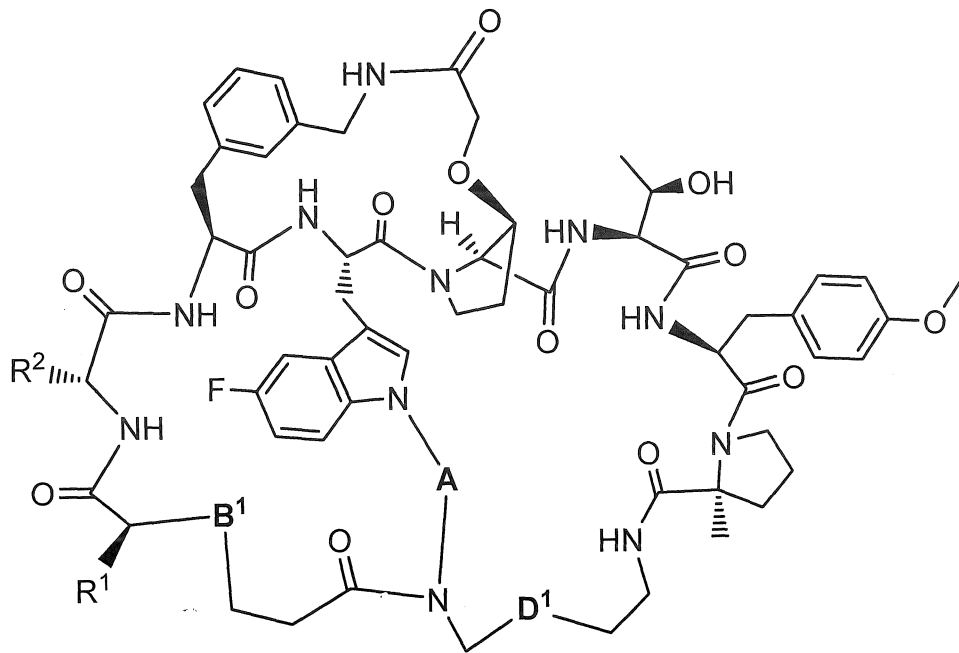
hoặc muối được dụng của nó.

11. Hợp chất theo điểm 2, trong đó R^1 và R^2 liên kết với nhau bằng gốc có công thức:



sao cho cùng với xyclopeptit mà R^1 và R^2 gắn vào chúng tạo ra cấu trúc vòng, hoặc muối được dụng của nó.

12. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này có cấu trúc có công thức IIB, hoặc muối được dụng của nó:

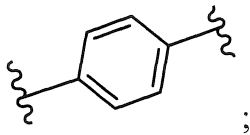


Công thức IIB,

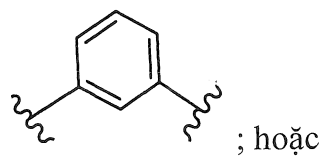
B^1 là $-((CH_2)_{0-2})-$; và

D^1 là:

(a) gốc có công thức:

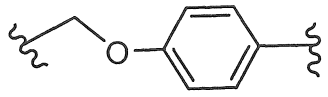


(b) gốc có công thức:

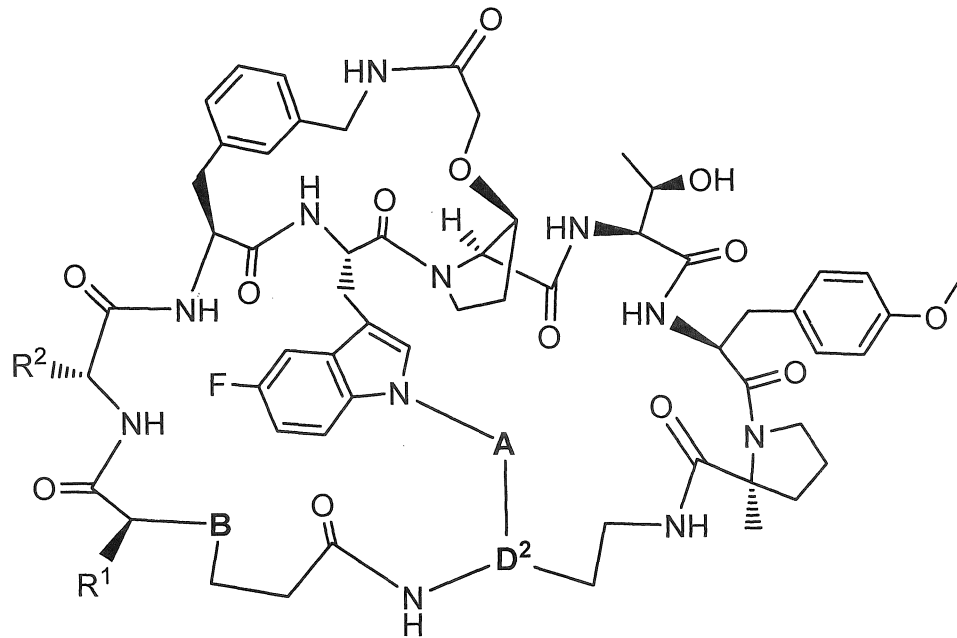


; hoặc

(c) gốc có công thức:



13. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này có cấu trúc có công thức IIC, hoặc muối được dụng của nó:

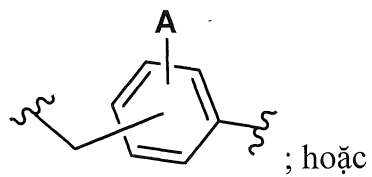


Công thức IIC,

trong đó

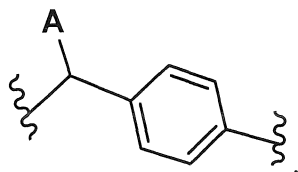
D² là:

(a) gốc có công thức:

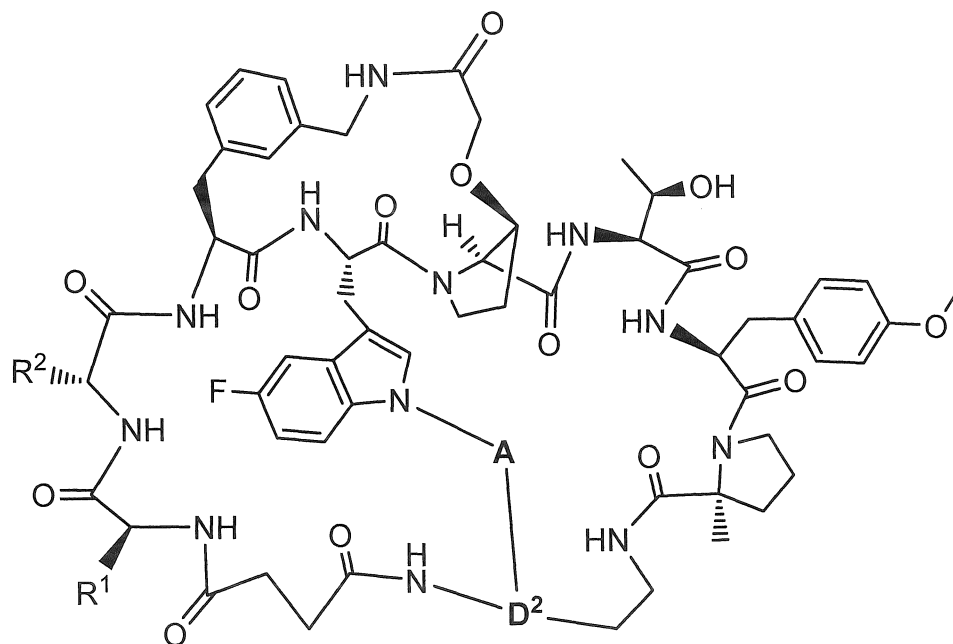


; hoặc

(b) gốc có công thức:



14. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này có cấu trúc có công thức IID, hoặc muối được dụng của nó:

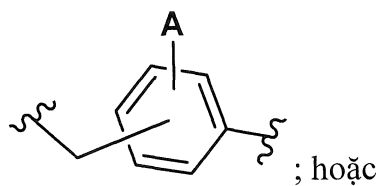


Công thức IID

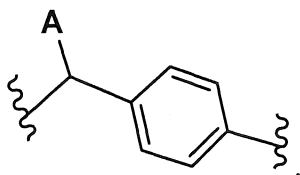
trong đó

D² là:

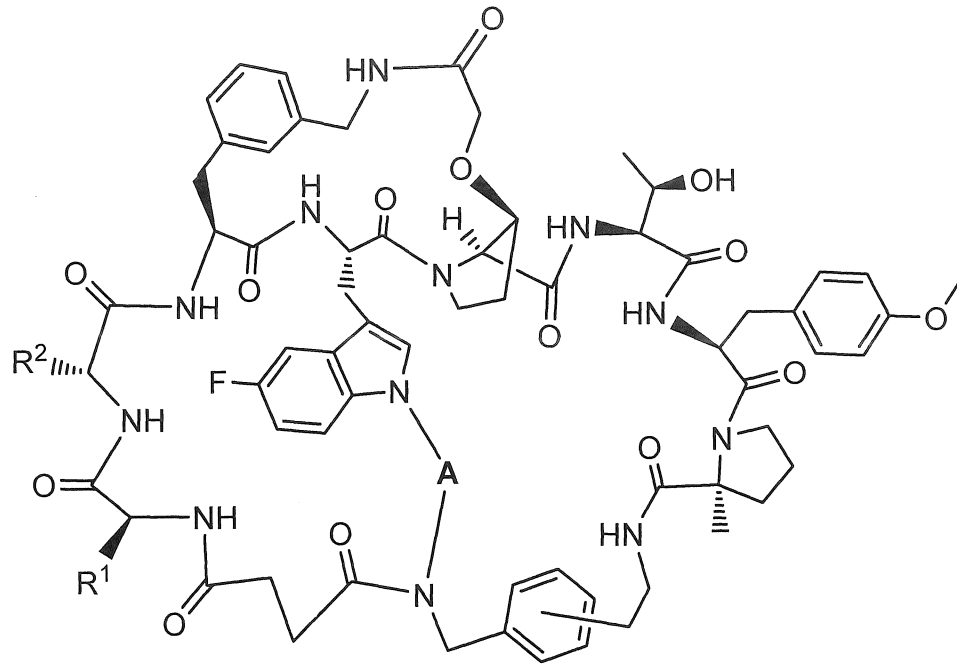
(a) gốc có công thức:



(b) gốc có công thức:

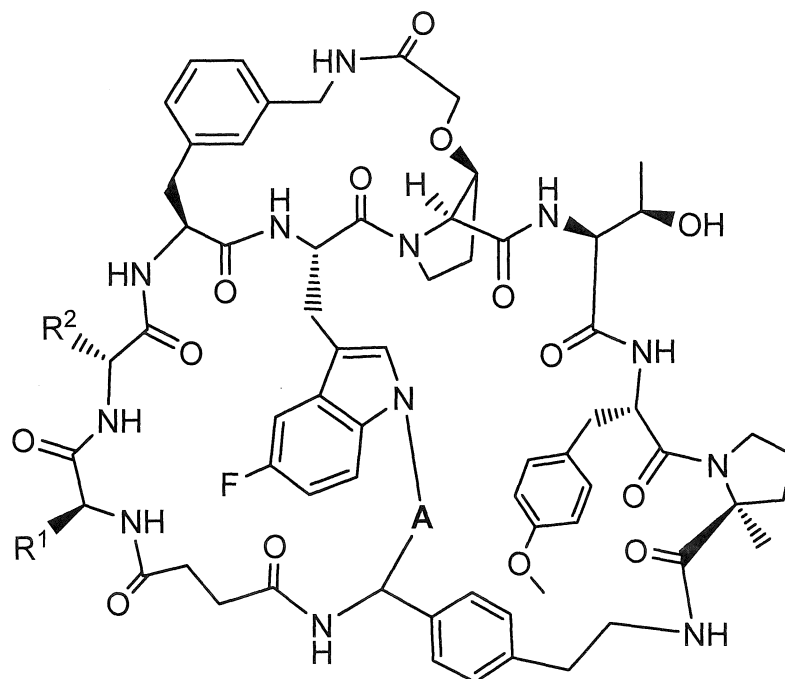


15. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này có cấu trúc có công thức IIE, hoặc muối được dụng của nó:



Công thức IIE.

16. Hợp chất theo điểm 2, trong đó hợp chất này có cấu trúc có công thức IIF, hoặc muối được dụng của nó:

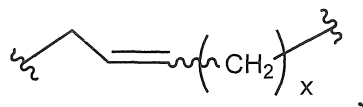


Công thức IIF.

17. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 16, hoặc muối được dụng của nó, trong đó A là:

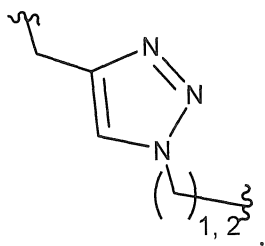
(a) $-(\text{CH}_2)_6$;

(b) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 3; hoặc

(c) gốc có công thức:



18. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 và từ 12 đến 17, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^2 là:

$-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và $\text{R}^{14\text{A}}$ là:

(a) $-\text{H}$;

(b) $-\text{NH}_2$;

(c) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(d) $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$;

(e) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}]_{2-4}-(\text{CH}_2)_{2-4}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$

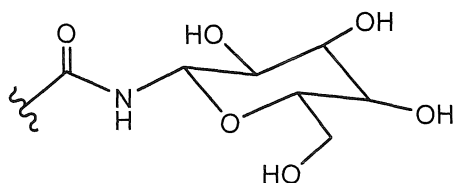
là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

(f) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}]$, trong đó, y= 1 đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

(aiii) gốc có công thức:



19. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 và từ 12 đến 18, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 được chọn từ:

(a) -H;

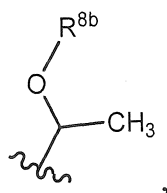
(b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(i) -H;

(ii) $-N^+H_3$; hoặc

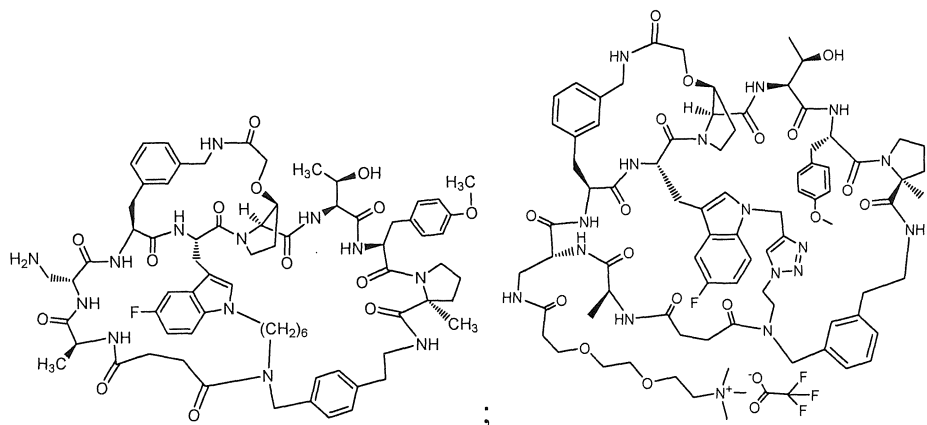
(iii) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$.

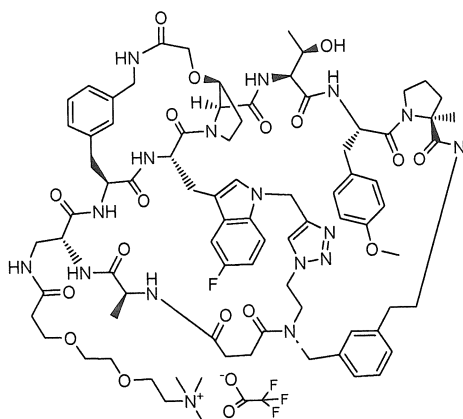
20. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11 và từ 17 đến 19, hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^8 là gốc có công thức:



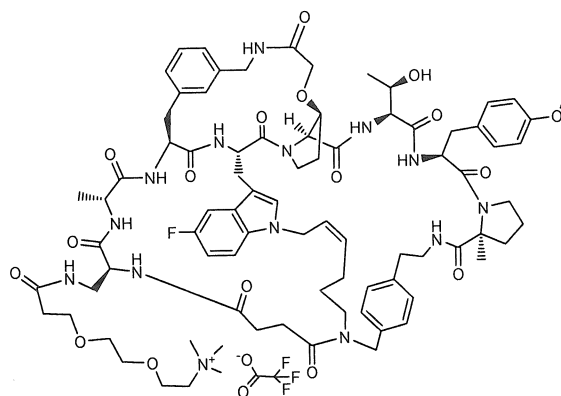
trong đó R^{8b} là -H, $-CH_3$, hoặc $-C(CH_3)_3$.

21. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

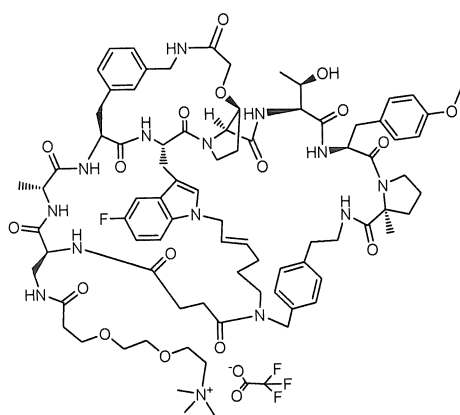




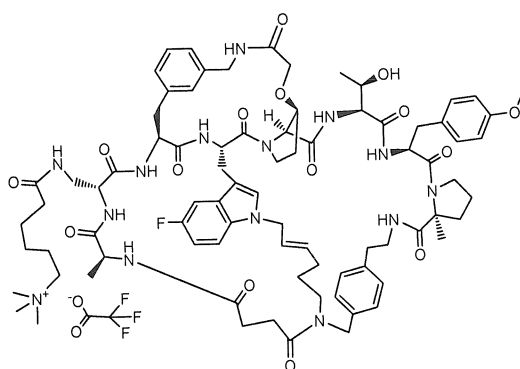
;



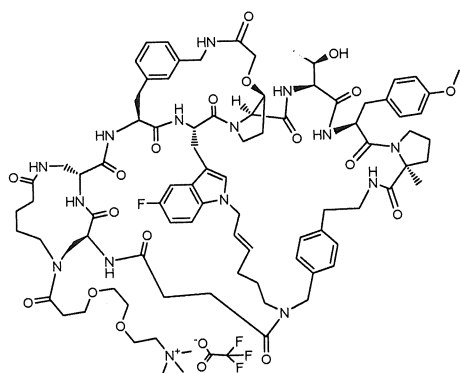
;



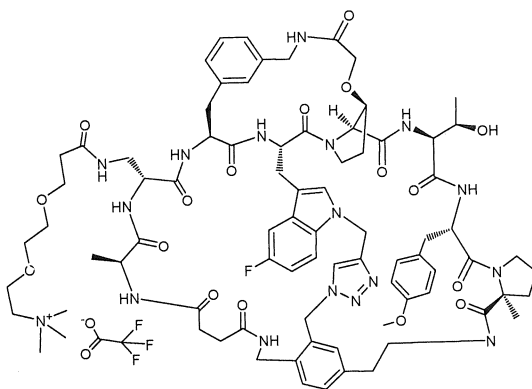
;



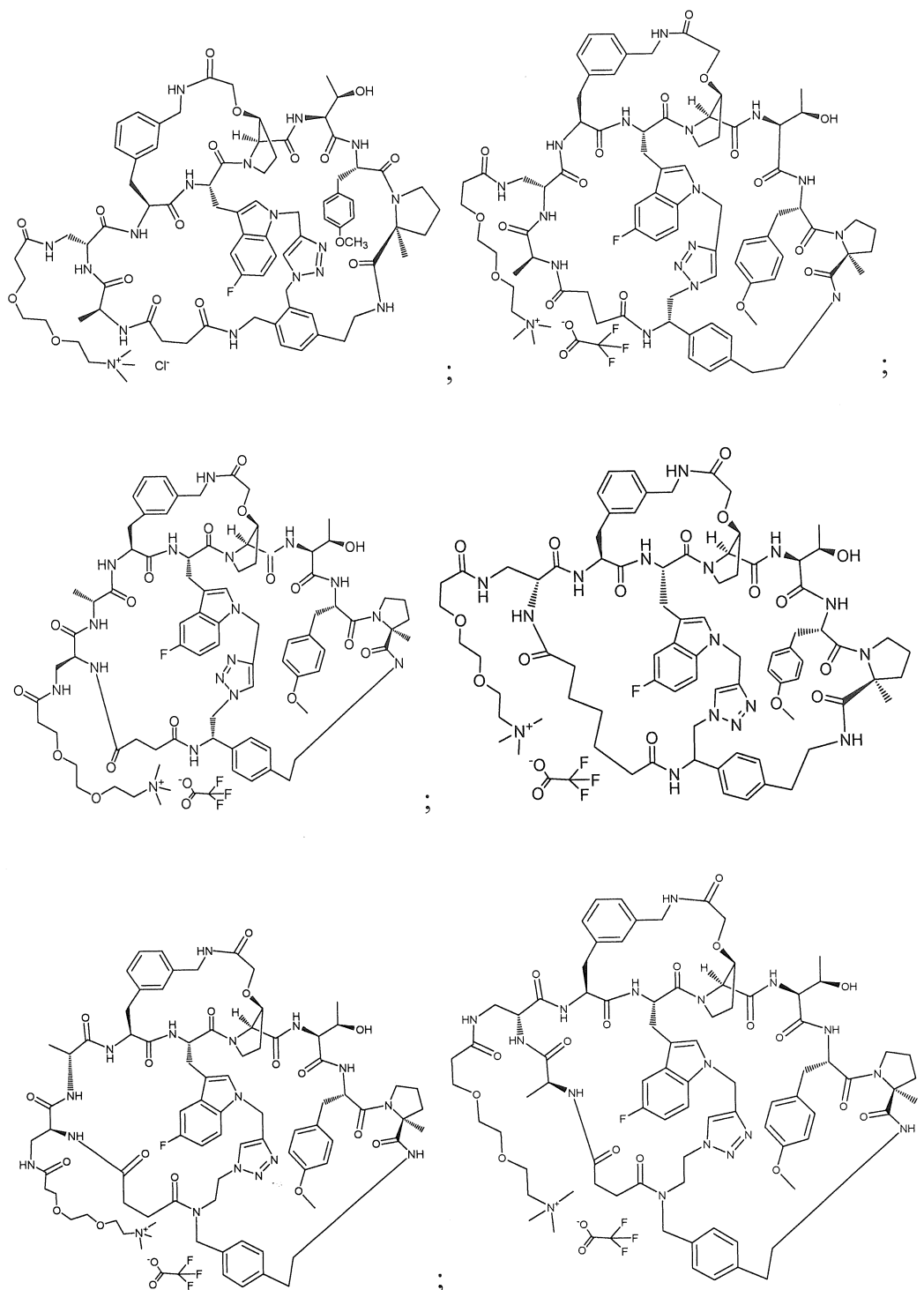
;

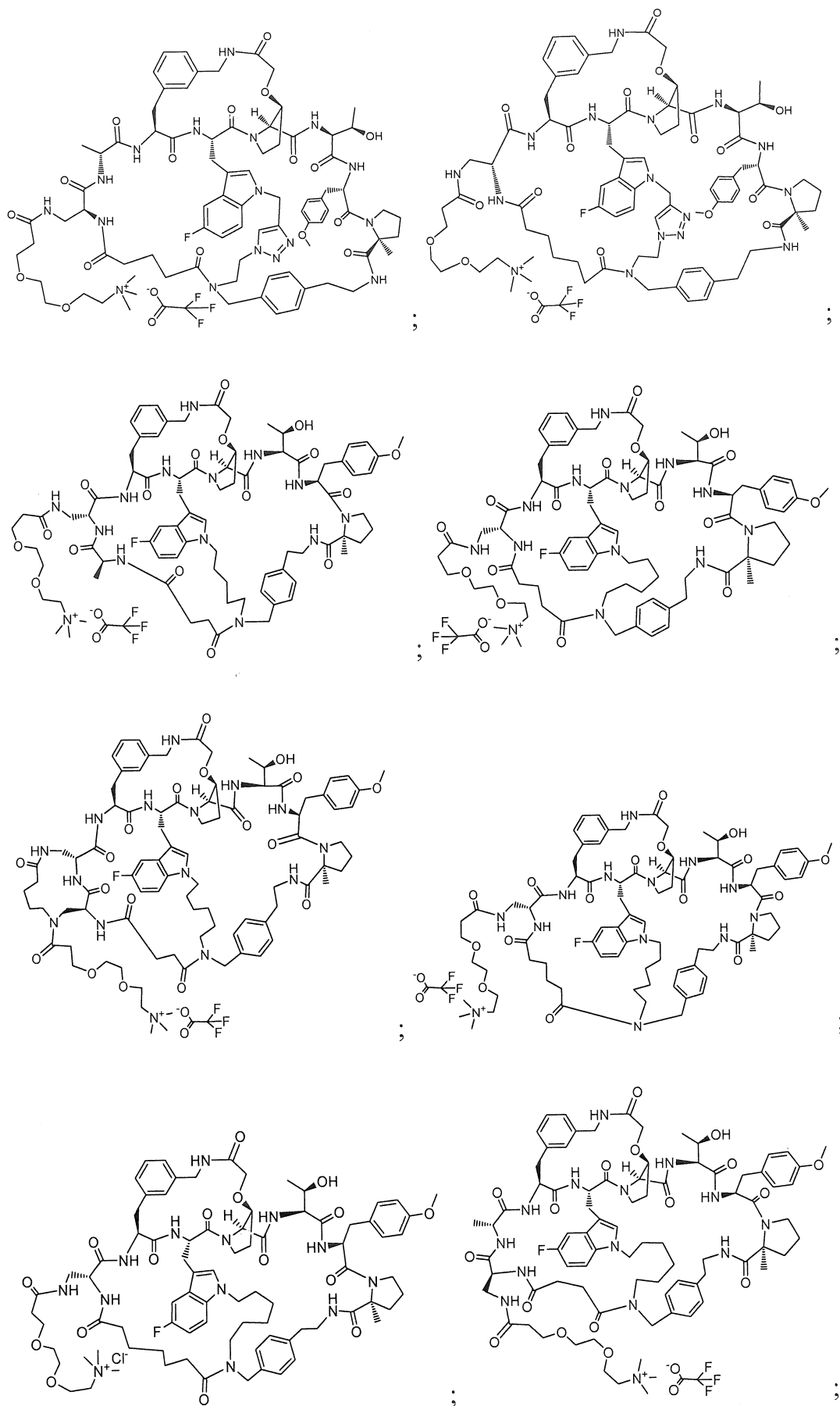


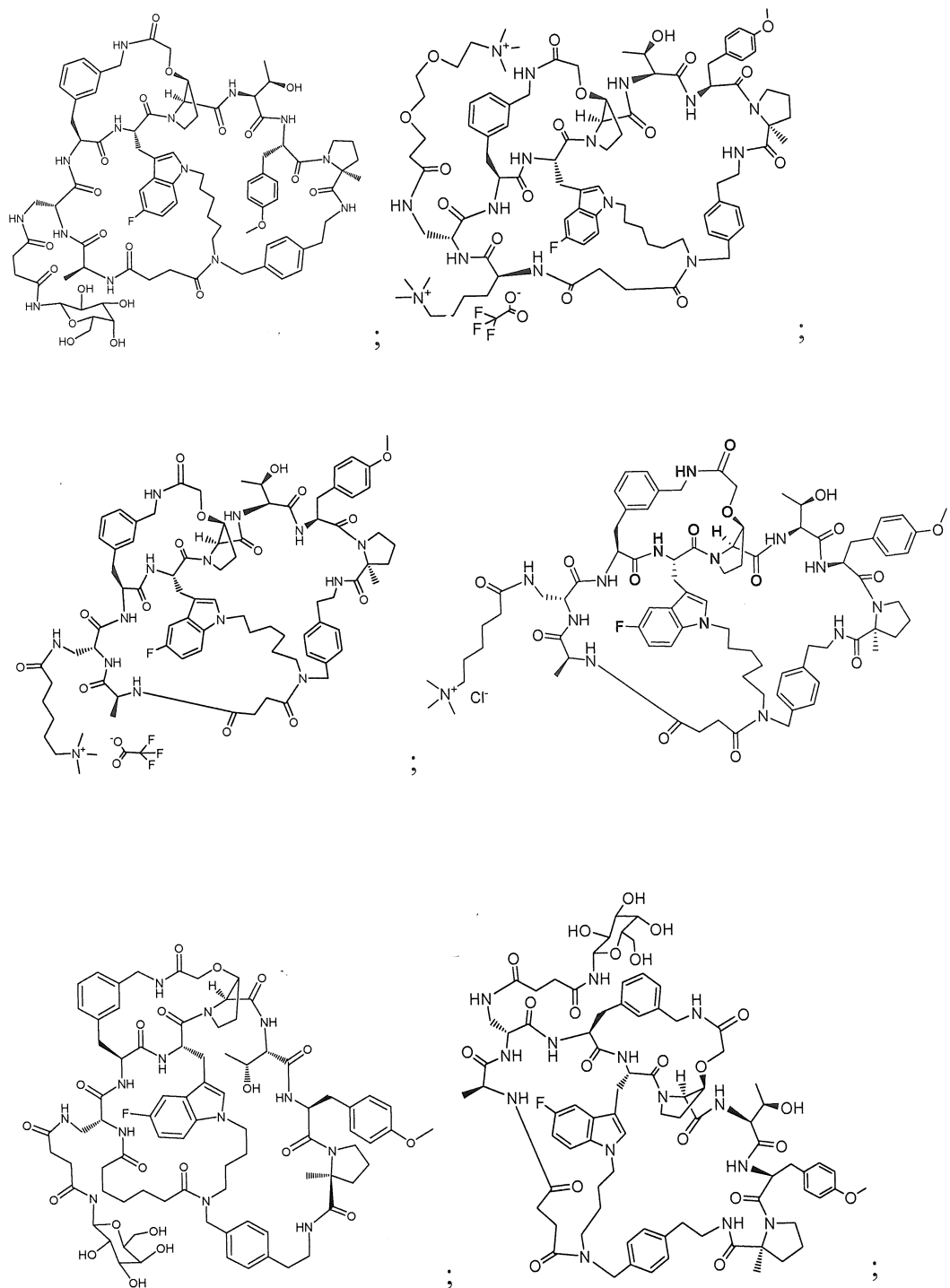
;

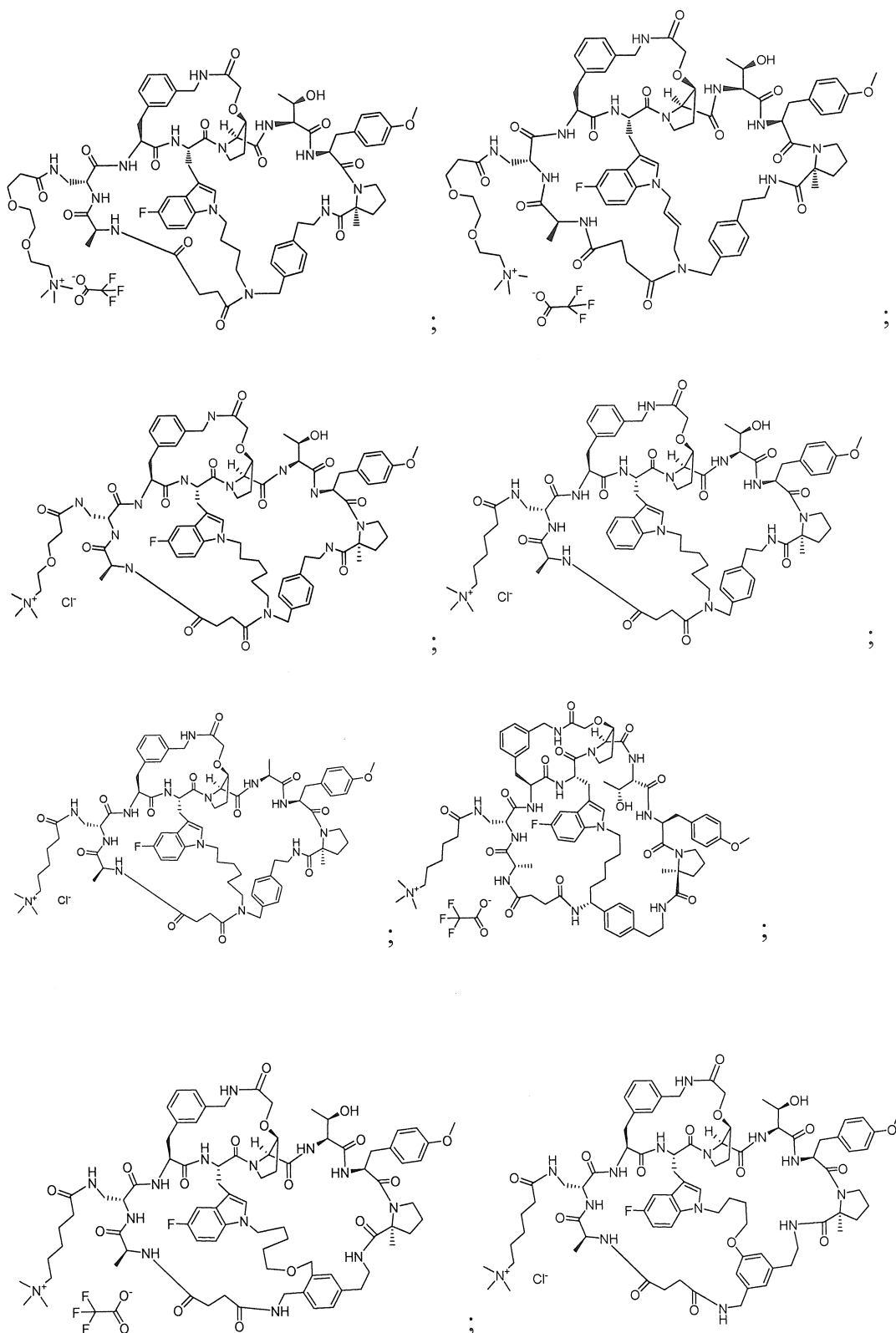


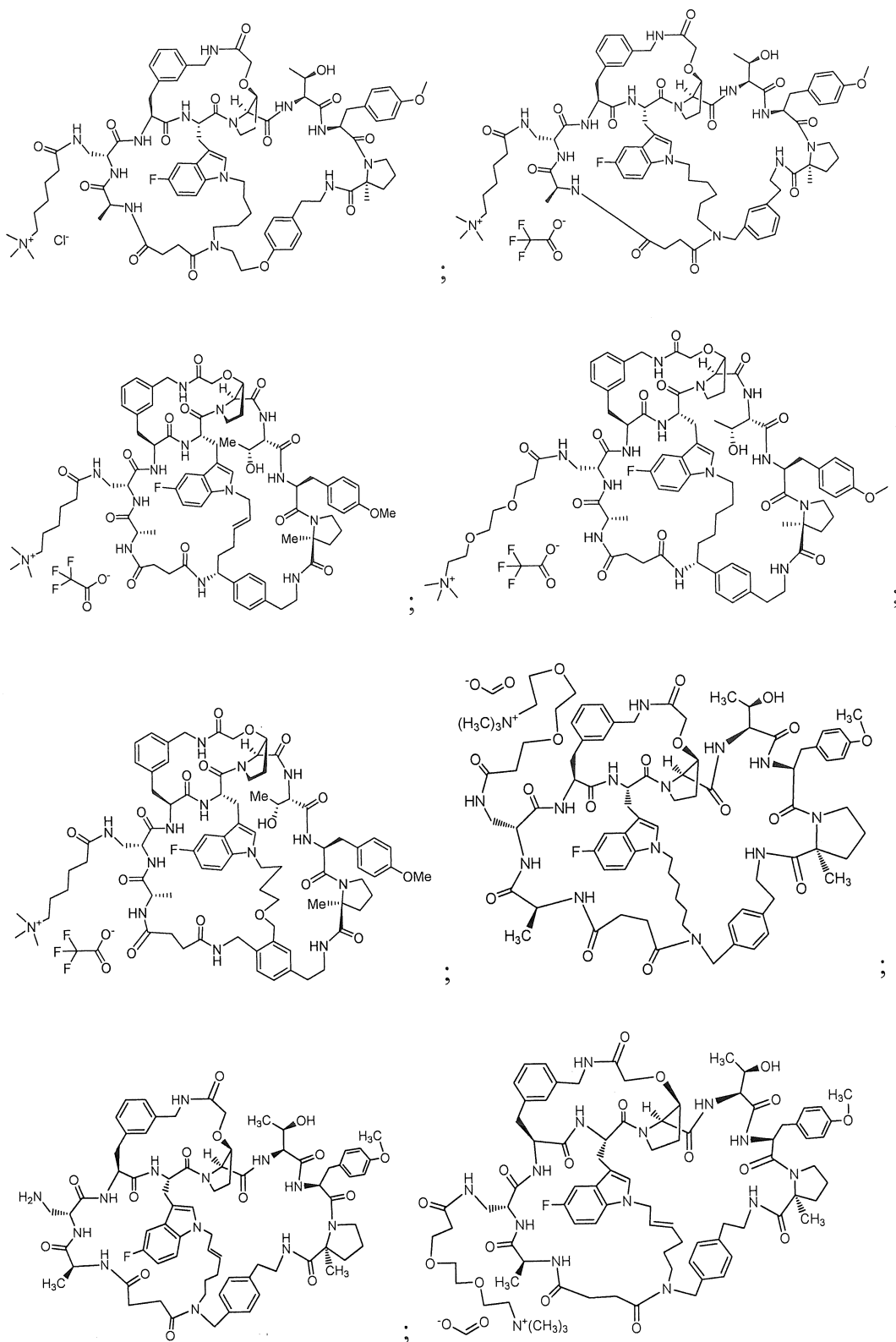
;

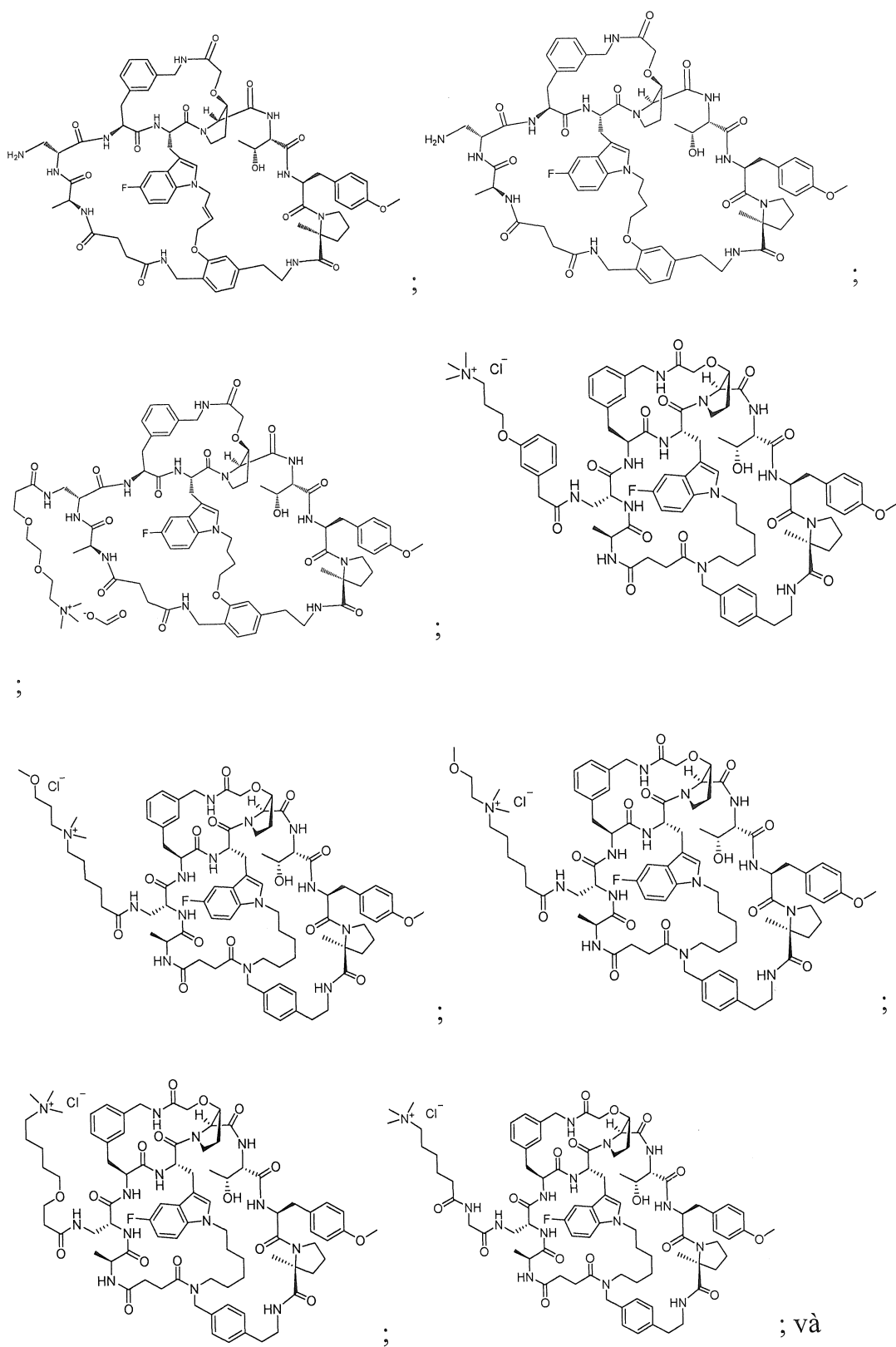


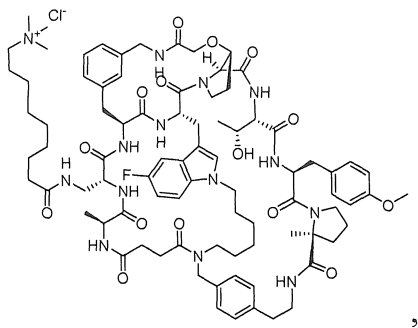








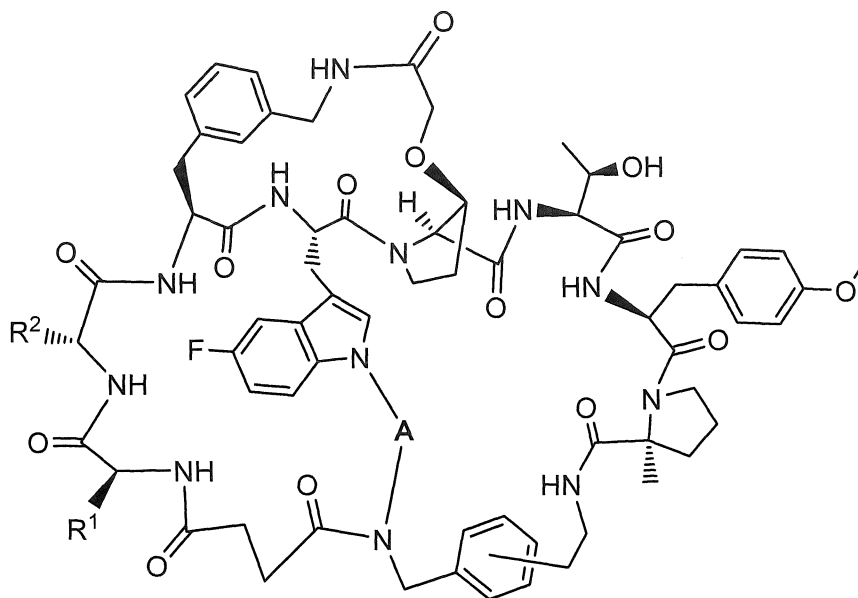




hoặc dạng muối được dụng khác bất kỳ của chúng.

22. Dược phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 21, hoặc muối được dụng của nó hoặc dạng bazơ tự do của nó và ít nhất một tá được dụng.

23. Hợp chất theo điểm 15, có cấu trúc có công thức IIE, hoặc muối được dụng của nó,



Công thức IIE

trong đó

R^1 được chọn từ:

- (a) $-H$; hoặc
- (b) $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:
 - (i) $-H$;
 - (ii) $-NH_2$;
 - (iii) $-N^+H_3$;
 - (iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$

là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$

là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aia) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

R^2 được chọn từ:

(a) $-\text{H}$; và

(b) $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và $\text{R}^{14\text{A}}$ được chọn từ:

(i) $-\text{H}$;

(ii) $-\text{NH}_2$;

(iii) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(iv) $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$;

(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$

là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$

là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; và

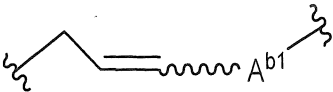
(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aia) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2\text{R}^{14\text{ca}}$, trong đó $\text{R}^{14\text{ca}}$ là $-\text{CH}_3$ hoặc $-(\text{CH}_2)_{1-4}-\text{OCH}_3$;

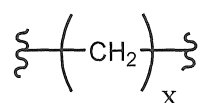
A được chọn từ:

(a) $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_y-\text{CH}_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6;

(b) gốc có công thức: ,

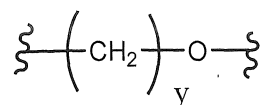
trong đó A^{b1} là:

(i) gốc có công thức:



trong đó x nằm trong khoảng từ 1 đến 6; hoặc

(ii) gốc có công thức:



trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 5; và

(c) gốc có công thức: $-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-$, trong đó $m = 1$ đến 5, và $n = 0$ hoặc 1 đến 4.

24. Hợp chất theo điểm 23, hoặc muối được dụng của nó,

trong đó

R^1 là $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và $\text{R}^{14\text{A}}$ là:

(i) $-\text{H}$;

(ii) $-\text{NH}_2$;

(iii) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(iv) $-\text{N}^+(\text{H}_3\text{C})_3$;

(v) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_2-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_2\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó $\text{R}^{14\text{B}}$

là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vi) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-[(\text{CH}_2)_{y12}-\text{O}]_2-(\text{CH}_2)_{y13}\text{R}^{14\text{B}}$ trong đó:

$y12$ và $y13$ không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

$\text{R}^{14\text{B}}$ là: $-\text{NH}_2$; $-\text{N}^+\text{H}_3$; $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$; hoặc $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(vii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$

là $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{3-4}-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; và

(viii) $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_y\text{R}^{14\text{C}}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và $\text{R}^{14\text{C}}$ là:

(ai) $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$;

(aii) $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$; hoặc

R^2 là $-(\text{CH}_2)_z-\text{R}^{14\text{A}}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và $\text{R}^{14\text{A}}$ được chọn từ:

(i) $-\text{H}$;

(ii) $-\text{NH}_2$;

(iii) $-\text{N}^+\text{H}_3$;

(iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ trong đó R^{14B}

là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vi) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ trong đó:

y_{12} và y_{13} không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C}

là $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$; và

(viii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C} là:

(ai) $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$;

(aii) $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$, trong đó R^{14ca} là $-CH_3$ hoặc $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$;

A là $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6.

25. Hợp chất theo điểm 24, hoặc muối được dụng của nó,

trong đó

R^1 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} là:

(i) $-H$;

R^2 là $-(CH_2)_z-R^{14A}$, trong đó: z là từ 1 đến 6, và R^{14A} được chọn từ:

(i) $-H$;

(ii) $-NH_2$;

(iii) $-N^+H_3$;

(iv) $-N^+(H_3C)_3$;

(v) $-NH-C(O)-[(CH_2)_2-O-]_2-(CH_2)_2R^{14B}$ trong đó R^{14B}

là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vi) $-NH-C(O)-[(CH_2)_{y12}-O-]_2-(CH_2)_{y13}R^{14B}$ trong đó:

y_{12} và y_{13} không phải cả hai là 2 và độc lập nằm trong khoảng từ 2 đến 4; và

R^{14B} là: $-NH_2$; $-N^+H_3$; $-N(CH_3)_2$; hoặc $-N^+(CH_3)_3$;

(vii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C}

là $-O-(CH_2)_{3-4}-N^+(CH_3)_3$; và

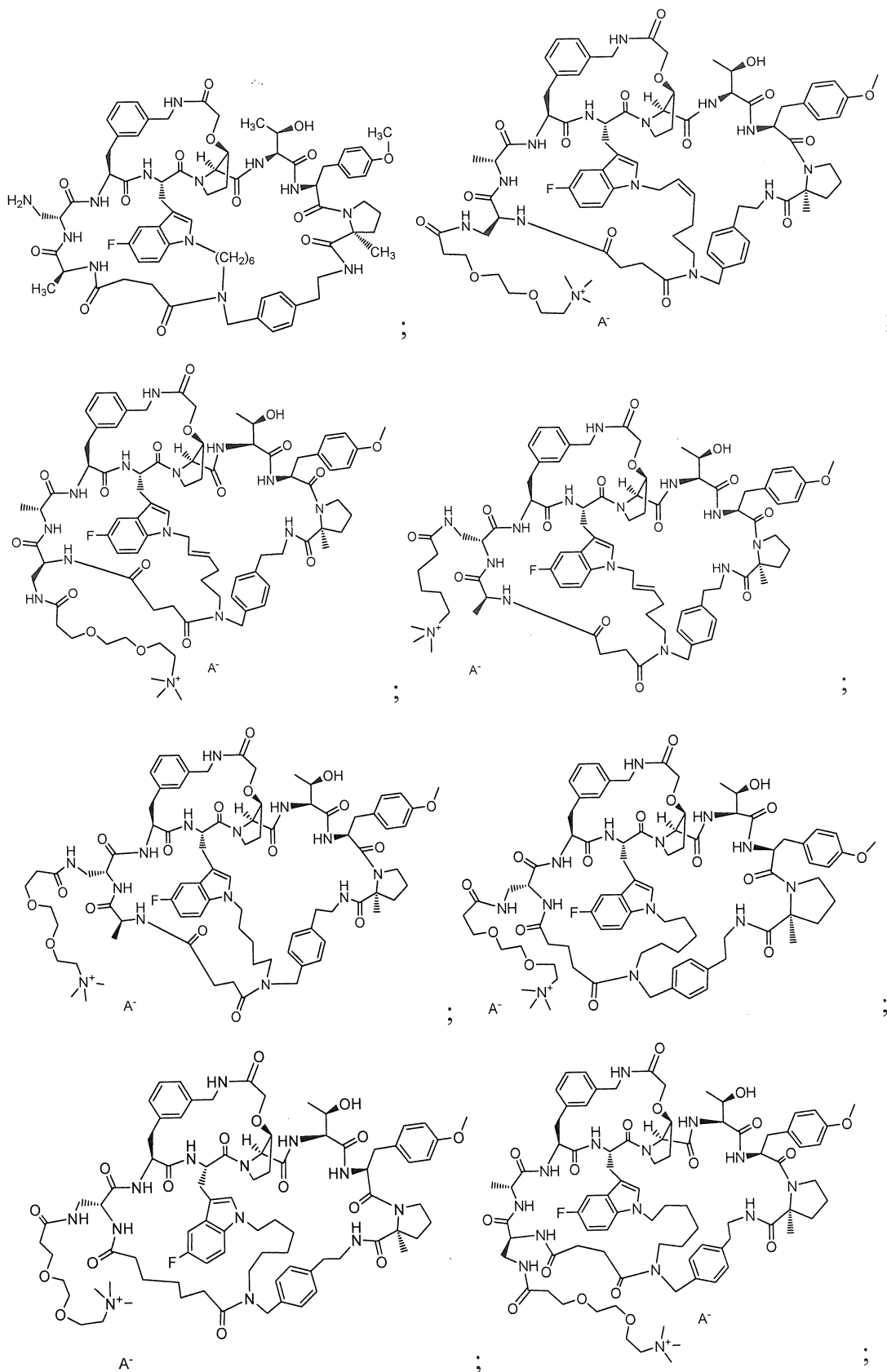
(viii) $-NH-C(O)-(CH_2)_yR^{14C}$, trong đó, $y = 1$ đến 6 và R^{14C} là:

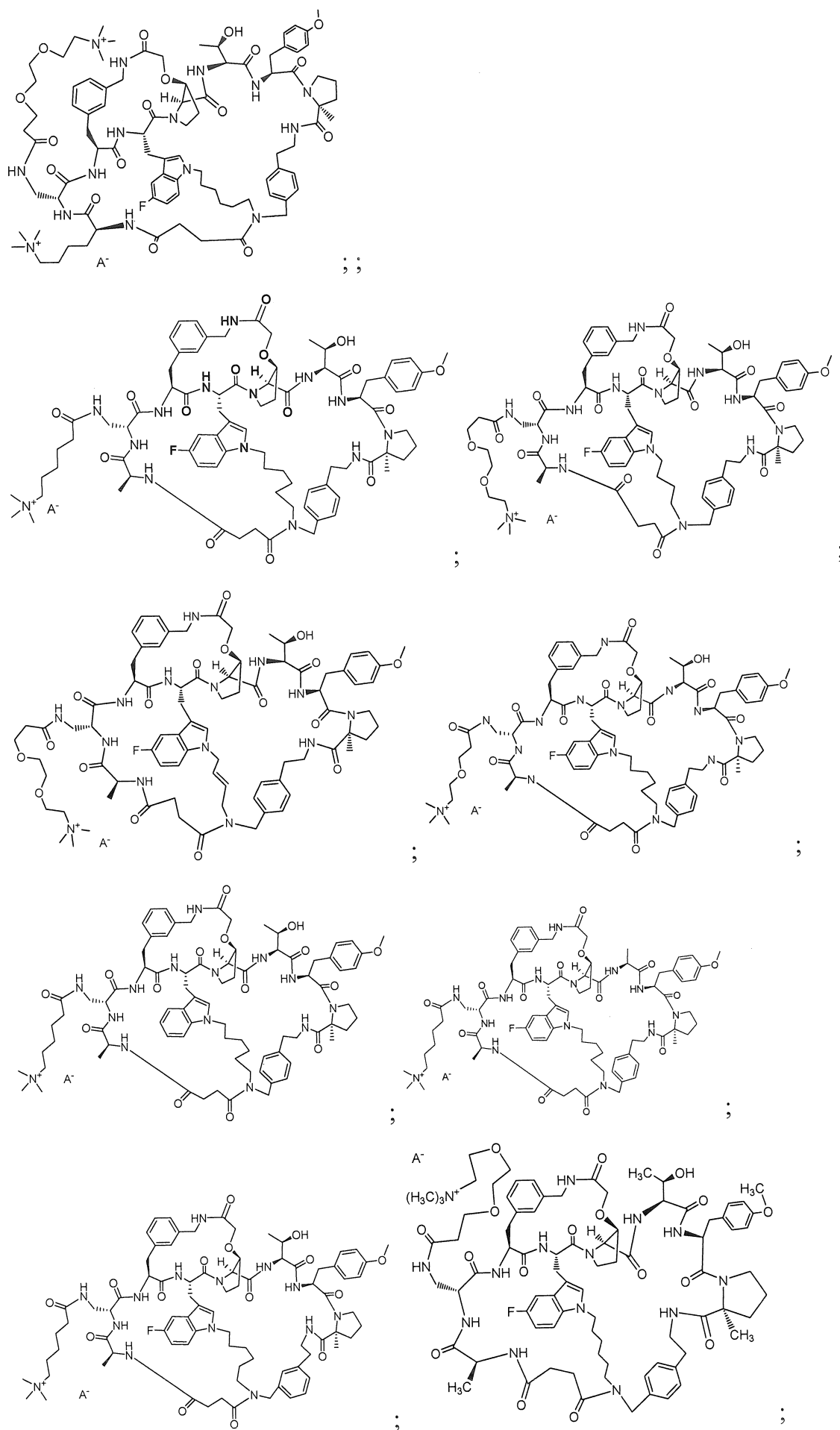
(ai) $-O-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_3$;

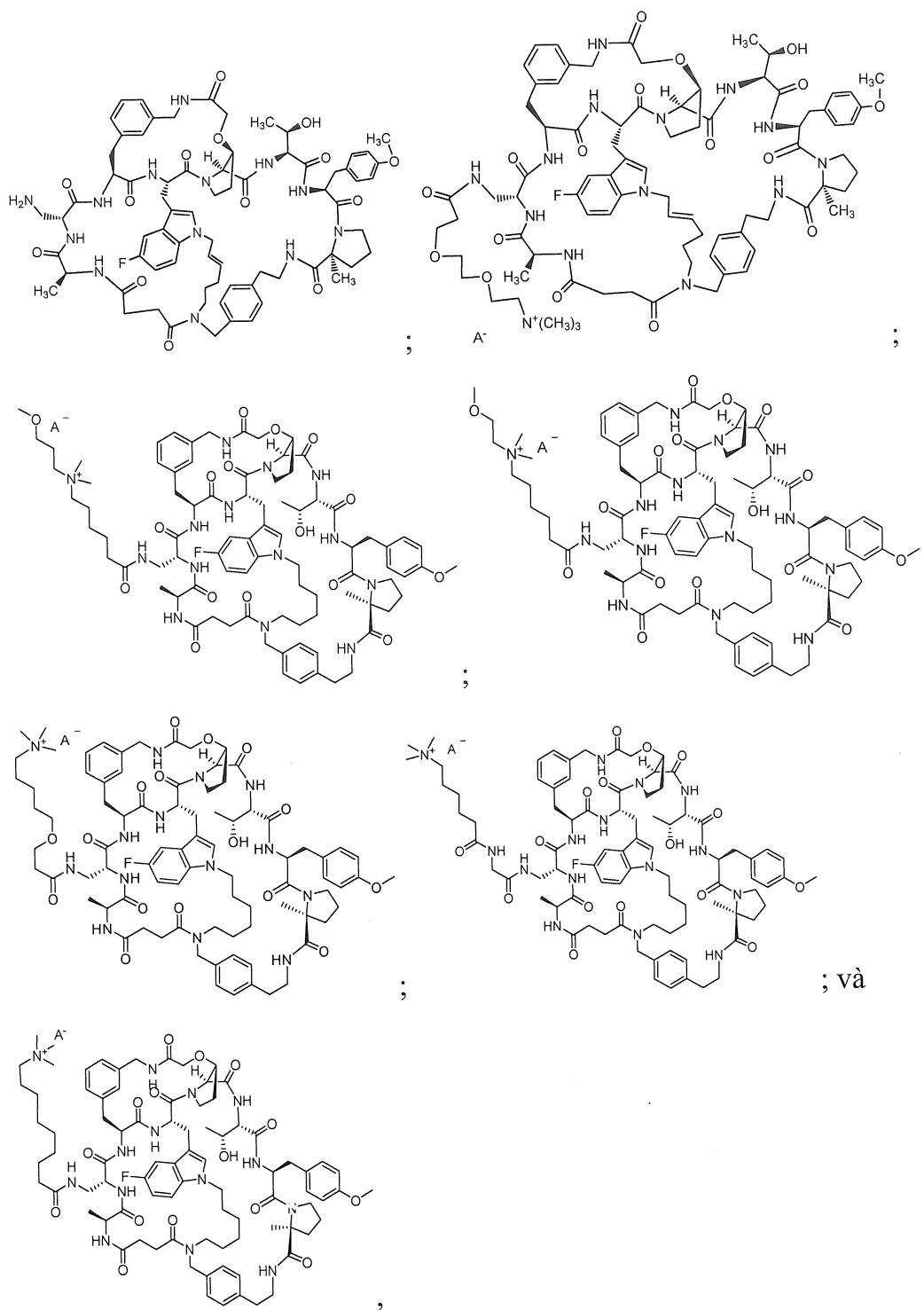
(aii) $-N^+(CH_3)_2R^{14ca}$, trong đó R^{14ca} là $-CH_3$ hoặc $-(CH_2)_{1-4}-OCH_3$;

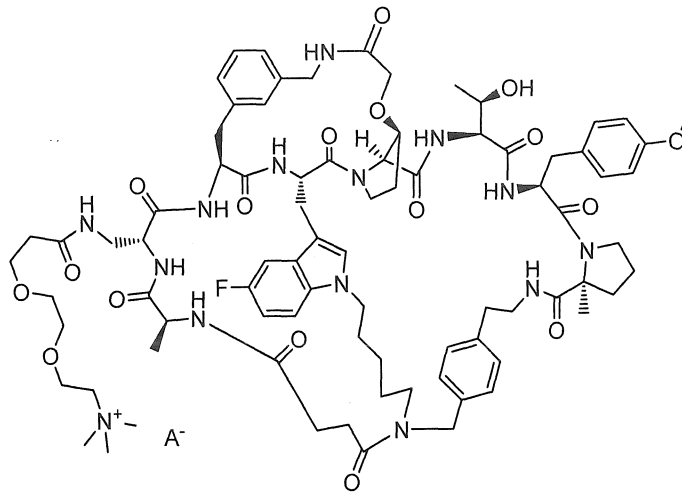
A là $-CH_2-(CH_2)_y-CH_2-$, trong đó y nằm trong khoảng từ 1 đến 6.

26. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:





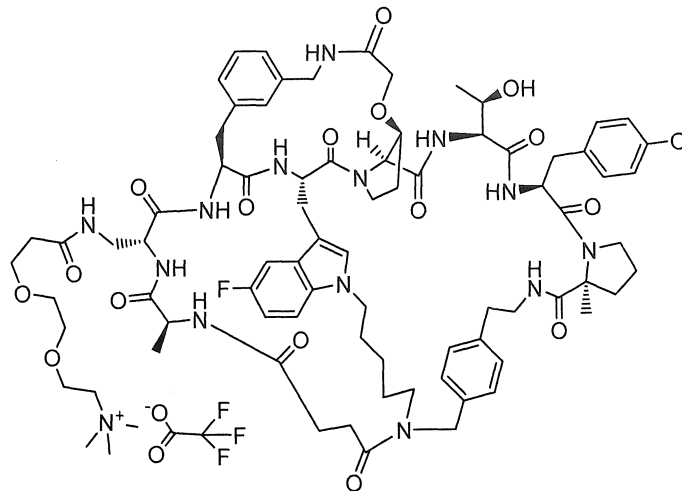




trong đó A^- là anion được dùng.

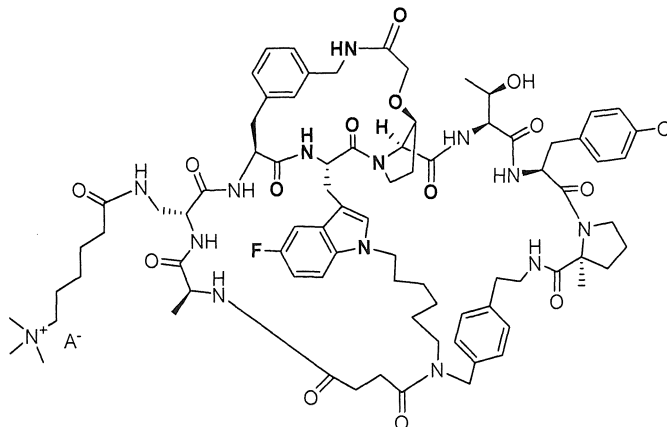
28. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 27, và ít nhất một tá dược được dùng.

29. Hợp chất theo điểm 27, trong đó hợp chất này là:



30. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 29, và ít nhất một tá dược được dùng.

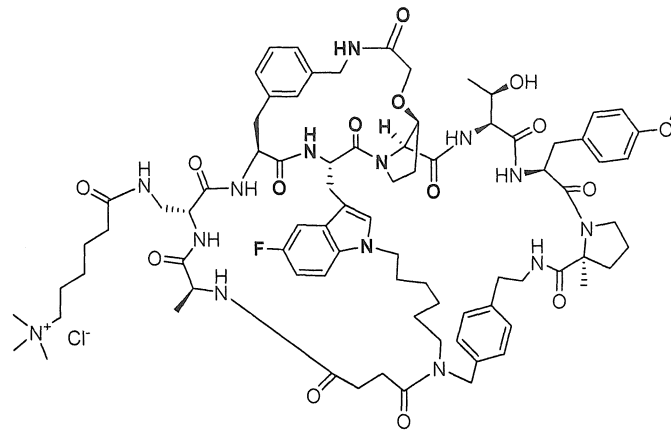
31. Hợp chất có cấu trúc:



trong đó A^- là anion được dùng.

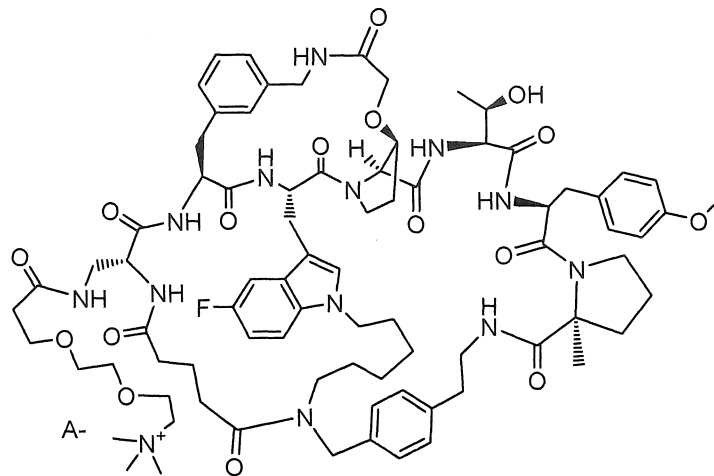
32. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 31, và ít nhất một tá dược được dùng.

33. Hợp chất theo điểm 31, trong đó hợp chất này là:



34. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 33, và ít nhất một tá dược được dụng.

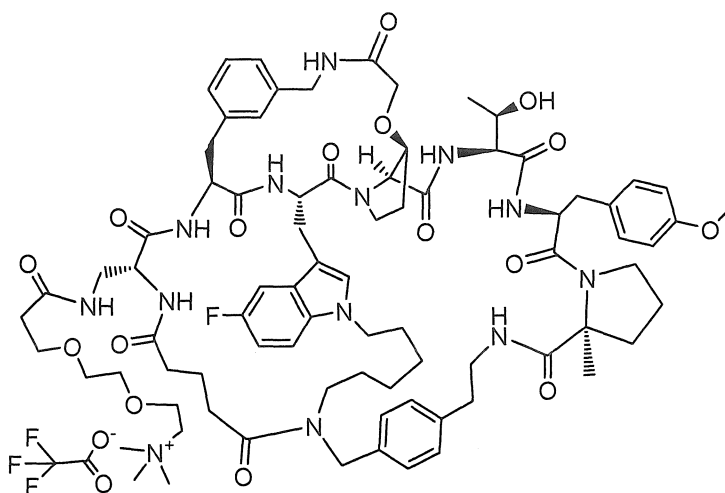
35. Hợp chất có cấu trúc:



trong đó A⁻ là anion được dụng.

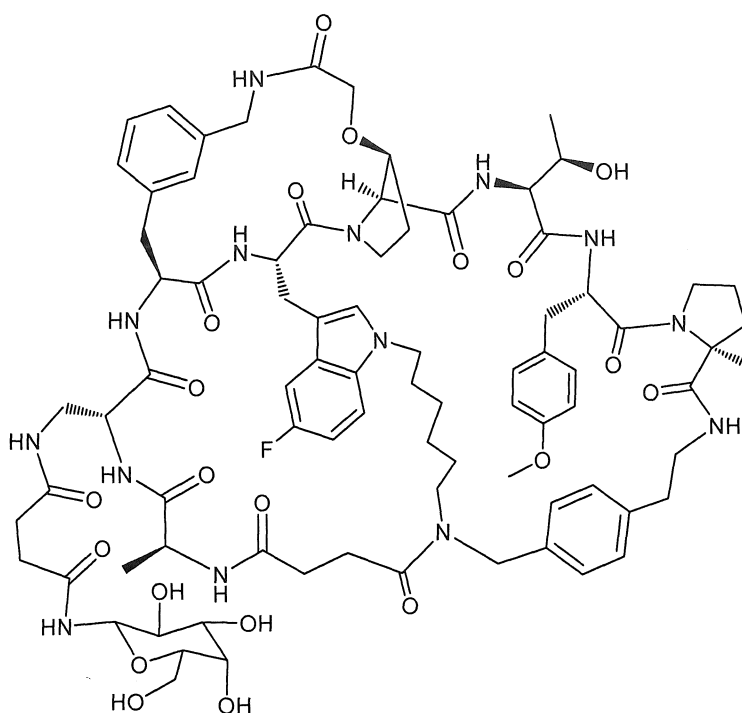
36. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 35, và ít nhất một tá dược được dụng.

37. Hợp chất theo điểm 35, trong đó hợp chất này là:



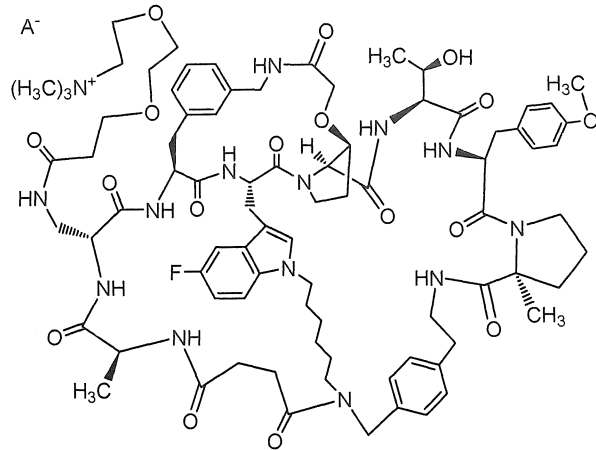
38. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 37, và ít nhất một tá dược dược dụng.

39. Hợp chất có cấu trúc:



40. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 39, và ít nhất một tá dược dược dụng.

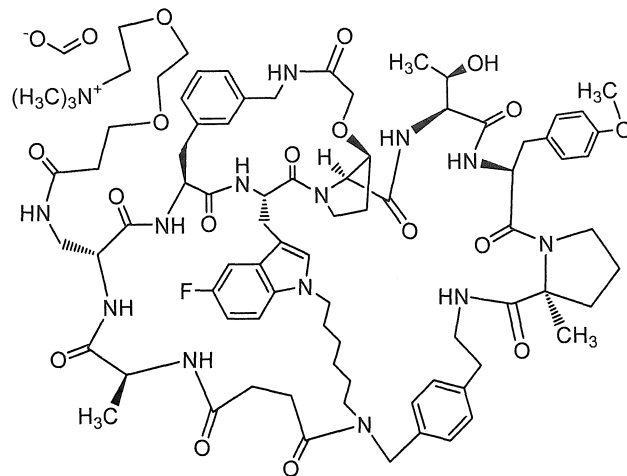
41. Hợp chất có cấu trúc:



trong đó A^- là anion được dùng.

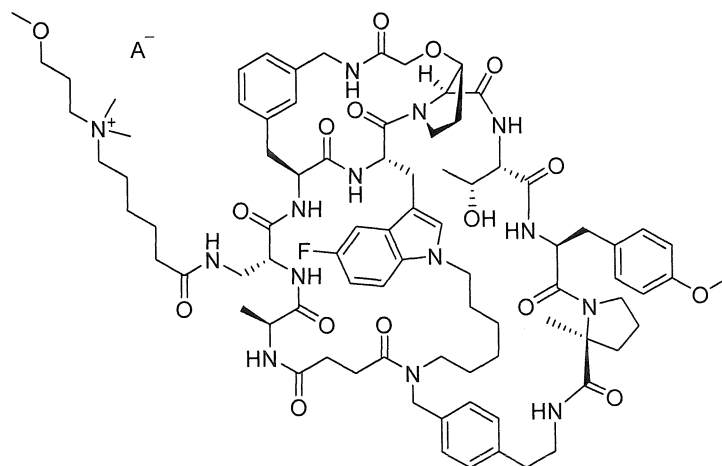
42. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 41, và ít nhất một tá dược được dùng.

43. Hợp chất theo điểm 41, trong đó hợp chất này là:



44. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 43, và ít nhất một tá dược được dùng.

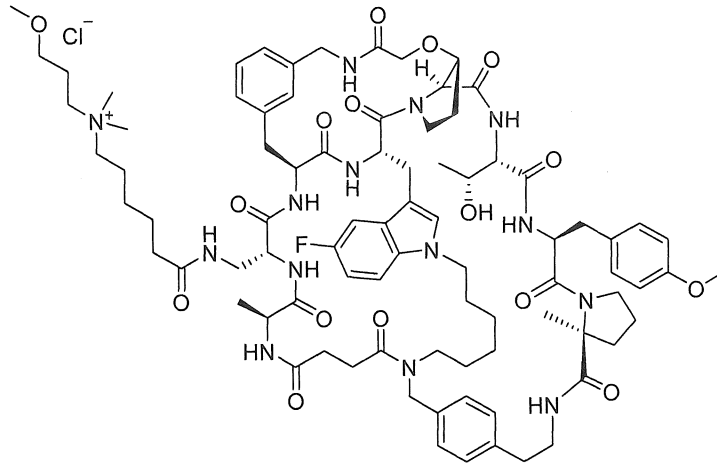
45. Hợp chất có cấu trúc:



trong đó A^- là anion được dụng.

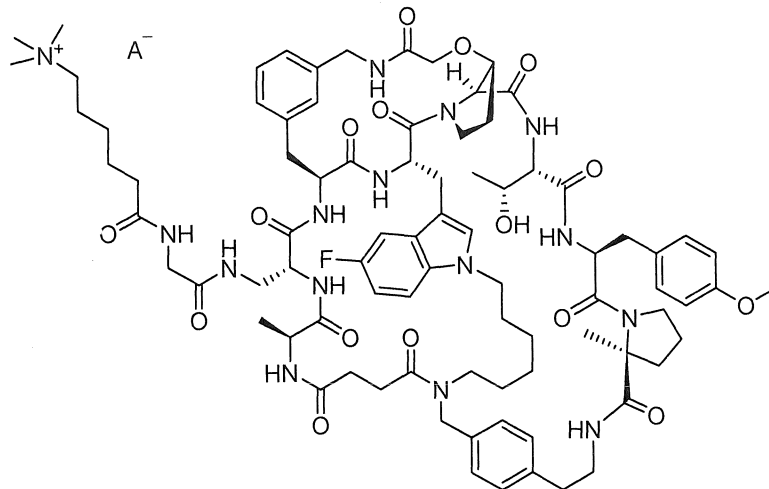
46. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 45, và ít nhất một tá dược được dụng.

47. Hợp chất theo điểm 45, trong đó hợp chất này là:



48. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 47, và ít nhất một tá dược được dụng.

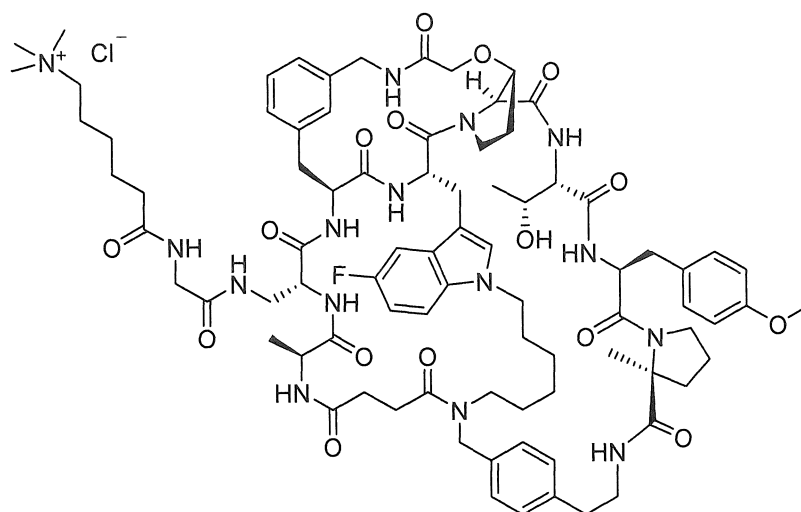
49. Hợp chất có cấu trúc:



trong đó A^- là anion được dụng.

50. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 49, và ít nhất một tá dược được dụng.

51. Hợp chất theo điểm 49, trong đó hợp chất này là:



52. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 51, và ít nhất một tá dược được dùng.