



(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)



1-0052295

(51)^{2020.01} A61K 31/4725; C07D 401/06; A61P
25/00

(13) B

(21) 1-2021-08372

(22) 29/06/2020

(86) PCT/EP2020/068183 29/06/2020

(87) WO2021/001288 07/01/2021

(30) 19183643.6 01/07/2019 EP

(45) 27/10/2025 451

(43) 25/04/2022 409A

(73) UCB Biopharma SRL (BE)

Allée de la Recherche 60, 1070 Brussels, Belgium

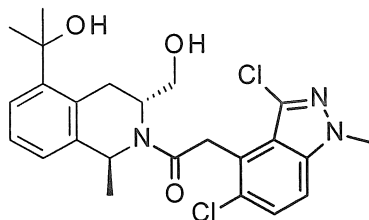
(72) ATES, Ali (BE); SKOLC, David (BE).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) DẪN XUẤT TETRAHYDROISOQUINOLIN ĐƯỢC THỂ VÀ DƯỢC PHẨM
CHỨA DẪN XUẤT NÀY

(21) 1-2021-08372

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I),



(I)

mà là chất điều biến dị lập thể dương D1 và do đó có lợi làm dược chất để điều trị các bệnh có liên quan đến thụ thể D1. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này và chất mang dược dụng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dẫn xuất tetrahydroisoquinolin dùng trong điều trị. Cụ thể là sáng chế đề cập đến dẫn xuất tetrahydroisoquinolin được thể có hoạt tính dược dụng. Hợp chất này hoạt động như một chất điều biến dị lập thể dương D1 và do đó có lợi làm được chất để điều trị bệnh có liên quan đến các thụ thể D1.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Monoamin dopamin hoạt động thông qua hai họ GPCR để điều biến chức năng vận động, cơ chế thưởng, quá trình nhận thức và các chức năng sinh lý khác. Cụ thể là, dopamin tác động lên các noron thông qua phân tử giống D1, bao gồm dopamin D1 và D5, các thụ thể mà chủ yếu liên kết với protein G Gs và nhờ đó kích thích sự tổng hợp cAMP, phân tử giống D2, mà bao gồm D2, D3 và D4, các thụ thể mà gắn kết với các protein Gi/qG và làm giảm sự tổng hợp cAMP. Các thụ thể này được biểu hiện rộng rãi ở các vùng não khác nhau. Cụ thể là, các thụ thể D1 tham gia vào nhiều chức năng sinh lý và các quá trình hành vi. Các thụ thể D1, ví dụ, có liên quan đến độ mềm dẻo của khớp thần kinh, chức năng nhận thức và các chức năng vận động hướng đến mục tiêu, kể cả các quá trình thưởng. Do vai trò của chúng trong một số quá trình sinh lý/thần kinh, các thụ thể D1 có liên quan đến nhiều rối loạn bao gồm các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức có liên quan đến việc điều trị bằng thuốc an thần, suy giảm nhận thức thể nhẹ (Mild Cognitive Impairment-MCI), bốc hỏa, rối loạn tăng động giảm tập trung (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder-ADHD), bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, rối loạn trương lực, chứng sa sút trí tuệ Parkinson, bệnh Huntington, chứng sa sút trí tuệ kèm thể Lewy, bệnh Alzheimer, nghiện ma túy, rối loạn giấc ngủ, bệnh lãnh cảm, chấn thương cột sống hoặc đau do bệnh thần kinh.

Đã được chứng minh là khó phát triển các phân tử nhỏ có sinh khả dụng qua đường miệng nhằm vào các thụ thể D1. Các chất chủ vận D1 được phát triển cho đến nay thường được đặc trưng bởi gốc catechol và do đó việc sử dụng chúng trong lâm sàng bị giới hạn ở các liệu pháp điều trị xâm lấn. Việc đạt được tính chọn lọc đủ cũng là thách

thức do mức tương đồng cao ở vị trí gắn kết phối tử giữa các typ phụ của thụ thể dopamin (ví dụ, dopamin D1 và D5). Ngoài ra, các chất chủ vận D1 có liên quan đến các tác dụng phụ giới hạn tiềm ẩn bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở rối loạn vận động và giảm huyết áp.

Do đó, vẫn còn nhu cầu về việc tạo ra các chất mới mà có thể điều biến các thụ thể D1.

Vẫn còn nhiều sự quan tâm trong việc xác định các chất điều biến dị lập thể của GPCR, vừa làm các công cụ để hiểu được các cơ chế của thụ thể vừa làm các chất điều trị tiềm năng. Các GPCR đại diện cho họ lớn nhất của các thụ thể trên bề mặt tế bào và một số lượng lớn thuốc bán trên thị trường trực tiếp hoạt hóa hoặc phong bế các con đường truyền tín hiệu qua trung gian các thụ thể này. Tuy nhiên, một vài GPCR (ví dụ, các thụ thể peptit), đã được chứng minh là thách thức khi phát triển các phân tử nhỏ hoặc để đạt được đủ độ chọn lọc do mức tương đồng cao ở vị trí gắn kết với phối tử giữa các typ phụ (ví dụ, dopamin D1 và D5 hoặc D2 và D3). Do đó, nhiều nghiên cứu thuốc đã chuyển sang việc xác định các phân tử nhỏ mà nhằm vào các vị trí khác biệt với chất chủ vận tự nhiên đồng lập thể. Các phối tử mà gắn kết với các vị trí này sẽ gây ra sự thay đổi cấu hình ở GPCR nhờ đó điều biến hoạt tính chức năng của thụ thể. Các phối tử dị lập thể có phạm vi hoạt tính đa dạng bao gồm khả năng làm tăng (chất điều biến dị lập thể dương, PAM) hoặc làm giảm (chất điều biến dị lập thể âm, NAM) các tác dụng của phối tử nội sinh, bằng cách tác động đến ái lực và/hoặc hiệu quả. Cũng như tính chọn lọc typ phụ, các chất điều biến dị lập thể có thể có các lợi thế tiềm năng khác từ quan điểm khám phá được chất như không tác dụng trực tiếp hoặc hiệu quả thực sự; chỉ tăng cường tác dụng của chất dẫn truyền nguyên thể tại nơi và khi nó được giải phóng; xu hướng gây khử nhạy giảm khi tiếp xúc ổn định với chất chủ vận cũng như là xu hướng gây ra các tác dụng phụ có liên quan đến đích giảm.

Các hợp chất theo sáng chế làm tăng cường tác dụng của các chất chủ vận D1 hoặc của phối tử nội sinh trên các thụ thể D1 thông qua cơ chế dị lập thể, và do đó là chất điều biến dị lập thể dương D1 (PAM D1).

Hợp chất theo sáng chế, mà là PAM D1, do đó sẽ có lợi khi điều trị và/hoặc phòng ngừa các bệnh hoặc rối loạn có liên quan đến các thụ thể D1. Các bệnh như vậy bao gồm các triệu chứng nhận thức và tiêu cực ở bệnh tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức có liên quan đến liệu pháp dùng thuốc an thần, suy giảm nhận thức thể nhẹ (Mild cognitive

impairmen-MCI), bốc hỏa, rối loạn tăng động giảm tập trung (Attention-Deficit Hyperactivity Disorder-ADHD), bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, rối loạn trương lực, chứng sa sút trí tuệ Parkinson, bệnh Huntington, chứng sa sút trí tuệ kèm thể Lewy, bệnh Alzheimer, nghiện ma túy, rối loạn giấc ngủ, bệnh lãnh cảm, chấn thương tủy sống hoặc đau do bệnh thần kinh.

Công bố đơn quốc tế số WO 2013/051869 A1 mô tả các dẫn xuất 3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl nhất định mà là các chất đối kháng NK2.

Công bố đơn quốc tế số WO2008/109336 A1 mô tả các hợp chất tetrahydroisoquinolin nhất định mà là các chất điều biến của các thụ thể histamin H3.

Công bố đơn quốc tế số WO2014/193781 A1 mô tả các dẫn xuất 3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl nhất định hữu dụng để điều trị chứng suy giảm nhận thức có liên quan đến bệnh Parkinson hoặc bệnh tâm thần phân liệt.

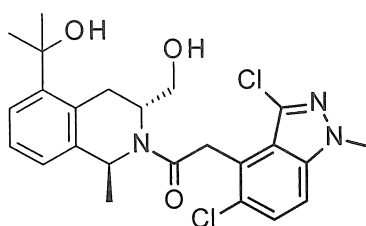
Công bố đơn quốc tế số WO2016/055479 mô tả các dẫn xuất 3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl được thể và các chất tương tự của chúng mà có thể hữu dụng để điều trị các bệnh có liên quan đến các thụ thể D1.

Công bố đơn quốc tế số WO2019/204413 mô tả các dẫn xuất pyrazo-tetrahydroisoquinolin nhất định mà là các chất điều biến dị lập thể dương D1 và có thể hữu dụng để điều trị bệnh Parkinson, bệnh Alzheimer, bệnh tâm thần phân liệt, và rối loạn tăng động giảm tập trung (ADHD).

Tuy nhiên, vẫn còn nhu cầu phát triển các chất điều biến dị lập thể dương D1 có các đặc tính dược động học và dược lực học có lợi kết hợp đồng thời vẫn làm giảm được các tác dụng phụ truyền thống có liên quan đến các phương pháp điều trị sử dụng các chất chủ vận D1 chọn lọc, như ví dụ chúng giảm huyết áp hoặc rối loạn vận động.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon có công thức (I),



(I)

hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) như nêu trên hoặc muối được dụng của nó, dùng để điều trị.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, dùng để điều trị bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến các thụ thể D1.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, dùng để điều trị và/hoặc phòng ngừa các triệu chứng nhận thức và tiêu cực ở bệnh tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức có liên quan đến liệu pháp dùng thuốc an thần, suy giảm nhận thức thể nhẹ (MCI), bốc hỏa, rối loạn tăng động giảm tập trung (ADHD), bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, rối loạn trương lực, chứng sa sút trí tuệ Parkinson, bệnh Huntington, chứng sa sút trí tuệ kèm thể Lewy, bệnh Alzheimer, nghiện ma túy, rối loạn giấc ngủ, bệnh lãnh cảm, chấn thương tủy sống hoặc đau do bệnh thần kinh.

Theo một phương án cụ thể của khía cạnh này, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó để điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, bệnh Alzheimer, hoặc các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt.

Do đó, theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I), như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, dùng để điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, để sản xuất thuốc hữu dụng để điều trị và/hoặc phòng ngừa bệnh và/hoặc rối loạn có liên quan đến các thụ thể D1.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, để sản xuất thuốc hữu dụng để điều

trị và/hoặc phòng ngừa các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức có liên quan đến liệu pháp dùng thuốc an thần, suy giảm nhận thức thể nhẹ (MCI), bốc hỏa, rối loạn tăng động giảm tập trung (ADHD), bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, rối loạn trương lực, chứng sa sút trí tuệ Parkinson, bệnh Huntington, chứng sa sút trí tuệ kèm thể Lewy, bệnh Alzheimer, nghiện ma túy, rối loạn giấc ngủ, bệnh lãnh cảm, chấn thương tủy sống hoặc đau do bệnh thần kinh.

Theo một phương án cụ thể của khía cạnh này, sáng chế đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó để sản xuất thuốc hữu dụng để điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, bệnh Alzheimer, hoặc các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt.

Theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế đề xuất việc sử dụng hợp chất có công thức (I), như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, để sản xuất thuốc hữu dụng để điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa các rối loạn mà được chỉ định sử dụng chất điều biến dị lập thể dương D1, mà bao gồm cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị và/hoặc phòng ngừa các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt, suy giảm nhận thức có liên quan đến liệu pháp dùng thuốc an thần, suy giảm nhận thức thể nhẹ (MCI), bốc hỏa, rối loạn tăng động giảm tập trung (ADHD), bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, rối loạn trương lực, chứng sa sút trí tuệ Parkinson, bệnh Huntington, chứng sa sút trí tuệ kèm thể Lewy, bệnh Alzheimer, nghiện ma túy, rối loạn giấc ngủ, bệnh lãnh cảm, chấn thương tủy sống hoặc đau do bệnh thần kinh, mà bao gồm cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một phương án cụ thể của khía cạnh này, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, bệnh Alzheimer, hoặc các triệu chứng tiêu cực và nhận thức ở bệnh tâm thần phân liệt, mà bao gồm cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó.

Theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế đề cập đến phương pháp điều trị bệnh Parkinson và các rối loạn vận động khác, mà bao gồm cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng một lượng hữu hiệu của hợp chất có công thức (I) như nêu trên, hoặc muối được dụng của nó.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để sử dụng trong dược phẩm, các muối của hợp chất có công thức (I) phải là các muối được dụng. Tuy nhiên, các muối khác, có thể hữu dụng để điều chế hợp chất có công thức (I) hoặc các muối được dụng của nó. Các nguyên tắc chuẩn để chọn lọc và điều chế các muối được dụng này được mô tả, ví dụ, trong tài liệu *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, ed. P.H. Stahl & C.G. Wermuth, Wiley-VCH, 2002. Các muối được dụng thích hợp của hợp chất có công thức (I) bao gồm các muối cộng axit mà có thể được tạo thành bằng cách trộn dung dịch của hợp chất có công thức (I) với dung dịch của một axit được dụng chẳng hạn.

Cần hiểu rằng mỗi nguyên tử riêng lẻ có mặt trong công thức (I), hoặc trong công thức được mô tả sau đây, thực tế có thể có mặt ở dạng đồng vị bất kỳ trong số các đồng vị có nguồn gốc trong tự nhiên của nó, trong đó ưu tiên (các) đồng vị dồi dào nhất. Do đó, bằng cách ví dụ, mỗi nguyên tử hydro riêng lẻ có mặt trong công thức (I), hoặc trong công thức được mô tả sau đây, có thể có mặt ở dạng nguyên tử ^1H , ^2H (đơteri) hoặc ^3H (triti), tốt hơn là ^1H . Tương tự, bằng cách ví dụ, mỗi nguyên tử cacbon riêng lẻ có mặt trong công thức (I), hoặc trong công thức được mô tả sau đây, có thể có mặt dưới dạng nguyên tử ^{12}C , ^{13}C hoặc ^{14}C , tốt hơn là ^{12}C .

Sáng chế còn bao gồm các solvat của các hợp chất có công thức (I) trên đây trong phạm vi của sáng chế. Các solvat như vậy có thể được tạo thành với các dung môi hữu cơ thông thường hoặc nước.

Sáng chế cũng bao gồm trong phạm vi của nó các đồng tinh thể của các hợp chất có công thức (I) trên đây. Thuật ngữ “đồng tinh thể” được sử dụng để mô tả tình trạng trong đó các thành phần phân tử trung tính có mặt trong hợp chất tinh thể với tỷ lệ tỷ lượng xác định. Quy trình điều chế các đồng tinh thể được cho phép tiến hành các cải biến đối với dạng tinh thể của dược chất, mà kết quả là có thể làm thay đổi các đặc tính hóa lý của nó mà không làm ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học được dự tính của nó (xem

tài liệu *Pharmaceutical Salts and Co-crystals*, ed. J. Wouters & L. Quere, RSC Publishing, 2012).

Các hợp chất theo sáng chế có thể tồn tại ở các dạng đa hình khác nhau. Mặc dù không được chỉ ra rõ ràng trong công thức trên đây, song các dạng này được dự định là được bao gồm trong phạm vi của sáng chế.

Theo một khía cạnh cụ thể theo sáng chế, hợp chất có công thức (I) được phân lập ở dạng monohydrat như được mô tả thêm trong các ví dụ.

Sáng chế cũng bao gồm trong phạm vi của nó các dạng tiền dược chất của các hợp chất có công thức (I) và các phạm vi phụ và các nhóm phụ của nó.

Hoạt tính trong chỉ định bất kỳ trong số các chỉ định điều trị nêu trên hoặc các rối loạn có thể được xác định bằng cách tiến hành các thử nghiệm lâm sàng thích hợp theo cách đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đối với chỉ định cụ thể và/hoặc trong thiết kế của các thử nghiệm lâm sàng nói chung.

Để điều trị các bệnh, hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó có thể được sử dụng với liều hằng ngày hữu hiệu và được sử dụng ở dạng dược phẩm.

Do đó, sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) như được mô tả trên đây, hoặc muối dược dụng của nó, kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng.

Để bào chế dược phẩm theo sáng chế, một hoặc nhiều hợp chất có công thức (I) hoặc muối dược dụng của nó được trộn kỹ với chất mang hoặc chất pha loãng dược dụng theo các kỹ thuật bào chế thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Các chất pha loãng và chất mang thích hợp có thể có nhiều dạng khác nhau tùy thuộc vào đường dùng mong muốn, ví dụ dùng qua đường miệng, qua trực tràng, ngoài đường tiêu hóa hoặc trong mũi.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa chẳng hạn, tức là, trong tĩnh mạch, trong cơ hoặc dưới da, nội tủy mạc, bằng cách xông hít hoặc trong mũi.

Dược phẩm thích hợp để sử dụng qua đường miệng có thể là dạng rắn hay dạng lỏng và có thể, ví dụ, ở dạng viên nén, viên tròn, viên bao đường, viên nang gelatin, dung dịch, siro, viên nhai và dạng tương tự.

Cuối cùng hoạt chất có thể được trộn với chất pha loãng trợ hoặc chất mang được dụng không độc như tinh bột hoặc lactoza. Tùy ý, các dược phẩm này cũng có thể chứa chất kết dính như xenluloza vi tinh thể, gồm tragacan hoặc gelatin, chất gây rã như axit alginic, chất làm trơn như magie stearat, chất gây trượt như silic dioxit keo, chất làm ngọt như sucroza hoặc sacarin, hoặc chất tạo màu hoặc chất điều vị như bạc hà hoặc metyl salixylat.

Sáng chế cũng đề cập đến các dược phẩm mà có thể giải phóng hoạt chất theo cách kiểm soát được. Các dược phẩm mà có thể được dùng để sử dụng ngoài đường tiêu hóa là ở dạng thông thường như dung dịch hoặc hỗn dịch chứa nước hoặc chứa dầu thường được đựng trong ống thuốc tiêm, bơm tiêm dùng một lần, lọ nhựa hoặc thủy tinh hoặc đồ chứa để truyền.

Ngoài hoạt chất, các dung dịch hoặc hỗn dịch này cũng có thể tùy ý chứa chất pha loãng vô trùng như nước để tiêm, dung dịch nước muối sinh lý, dầu, polyetylen glycol, glyxerin, propylen glycol hoặc các dung môi tổng hợp khác, chất kháng khuẩn như rượu benzylic, chất chống oxy hóa như axit ascorbic hoặc natri bisulphit, chất tạo chelat như axit etylen diamin-tetra-axetic, các dung dịch đệm như axetat, xitrat hoặc phosphat và các chất để điều chỉnh nồng độ mol như natri clorua hoặc dextroza.

Các dạng dược phẩm này được bào chế bằng cách sử dụng các phương pháp mà thường được sử dụng bởi dược sỹ.

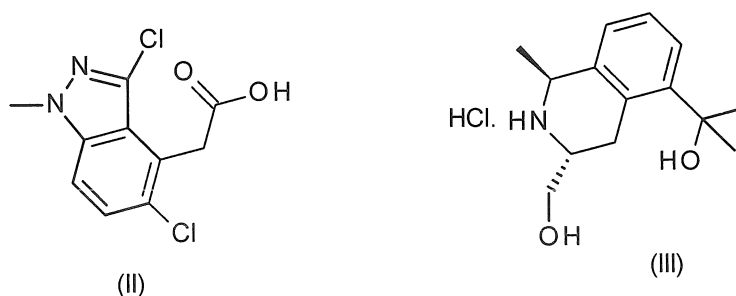
Lượng hợp chất sử dụng trong sáng chế cần để phòng ngừa hoặc điều trị tình trạng bệnh cụ thể sẽ khác nhau tùy thuộc vào hợp chất được chọn và tình trạng bệnh của bệnh nhân được điều trị. Tuy nhiên, nói chung liều hằng ngày có thể nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3000 mg, thông thường từ 0,5 mg đến 1000 mg đối với các dược phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa.

Hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó có thể được sử dụng một mình (liệu pháp đơn) hoặc kết hợp với L-dopa (liệu pháp điều trị). Sử dụng một mình hoặc kết hợp với các phân liều L-dopa là cần thiết để làm thuyên giảm tình trạng khó vận động ở các bệnh nhân, các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó, có thể được sử dụng để điều trị rối loạn vận động có liên quan đến việc sử dụng L-dopa. Ví dụ, nếu hợp chất có công thức (I) theo sáng chế được sử dụng với các phân liều L-dopa cho bệnh nhân hoặc được sử dụng một mình để thay thế L-dopa, được tin là hợp chất có công thức (I) theo sáng chế sẽ có hiệu quả đối với tình trạng khó vận động

mà không gây ra rối loạn vận động khó chịu nào. Do đó, được tin là hợp chất theo sáng chế có thể hữu dụng để điều trị các triệu chứng suy giảm vận động và rối loạn vận động do levodopa gây ra (LID).

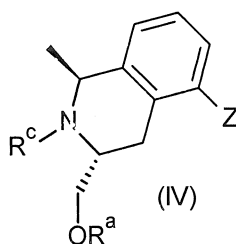
Do đó, theo một khía cạnh cụ thể, sáng chế cũng đề cập đến hợp chất có công thức (I), mà hữu dụng để điều trị rối loạn vận động do levodopa gây ra (LID).

Hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm cho hợp chất trung gian có công thức (II) phản ứng với hợp chất trung gian có công thức (III),



Hợp chất trung gian (III) có thể được cho phản ứng thích hợp với hợp chất trung gian có công thức (II) khi có mặt (2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphat (HBTU) hoặc chất liên kết khác đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, trong dung môi thích hợp, ví dụ dimethylformamid, với lượng bazơ dư, ví dụ N,N-diisopropyletylamin.

Hợp chất trung gian có công thức (III) có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm phản ứng của các hợp chất trung gian có công thức (IV),



trong đó

Z là halogen hoặc 1-hydroxy-1-metyl etyl;

R^a là tert-butyl dimetylsilyl; và

R^c là hydro hoặc tert-butoxycarbonyl.

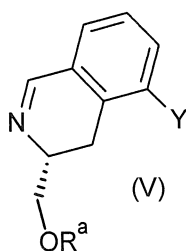
Trong bước thứ nhất, hợp chất trung gian có công thức (IV), trong đó Z là bromo, và R^c là hydro, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (Iva), có thể được bảo vệ bằng

nhóm bảo vệ thích hợp, theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này để thu được hợp chất có công thức (IV), trong đó Z là bromo và R^c là tert-butoxycarbonyl, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (IVb).

Trong bước thứ hai, phản ứng trao đổi kim loại-halogen có thể được tiến hành ví dụ khi có mặt *n*-BuLi, trong dung môi thích hợp, ví dụ tetrahydrofuran, ở nhiệt độ thấp, khi có mặt axeton khô trong điều kiện dòng chảy liên tục, theo một phương pháp được mô tả trong các ví dụ đi kèm, để thu được hợp chất trung gian (IV) tương ứng như được mô tả trên đây, trong đó Z là 1-hydroxy-1-metyl etyl, sau đây gọi là hợp chất trung gian (IVc).

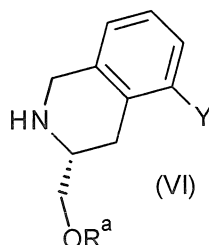
Nhóm tert-butoxycarbonyl (Boc) (R^c) sau đó có thể được khử bảo vệ trước theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc như được mô tả thêm trong các ví dụ đi kèm, sau đó khử bảo vệ nhóm trimetylsilyl được tạo thành trong quá trình khử bảo vệ nhóm Boc và nhóm tert-butyl dimetylsilyl (R^a) để thu được hợp chất trung gian (III).

Hợp chất trung gian có công thức (IVa) có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm phản ứng của hợp chất trung gian có công thức (V), trong đó Y là halogen, ví dụ bromo, và R^a được xác định trên đây đối với hợp chất trung gian có công thức (IV).



Phản ứng này được tiến hành một cách thích hợp khi có mặt methyl magie clorua, trong dung môi thích hợp ví dụ tetrahydrofuran, ở nhiệt độ thấp.

Hợp chất trung gian (V) có thể được điều chế bằng quy trình hai bước liên quan đến phản ứng của hợp chất trung gian có công thức (VI),

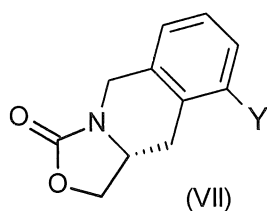


trong đó Y là như nêu trên đối với hợp chất trung gian có công thức (V) và R^a là hydro hoặc tert-butyl-dimetylsilyl.

Trong bước thứ nhất hợp chất trung gian (VI) trong đó R^a là hydro được cho phản ứng với tert-butyl-dimetylsilyl clorua khi có mặt bazơ thích hợp ví dụ 4-dimethylamino-pyridin ở nhiệt độ trong phòng, để thu được hợp chất trung gian (VI) trong đó R^a là tert-butyl-dimetylsilyl.

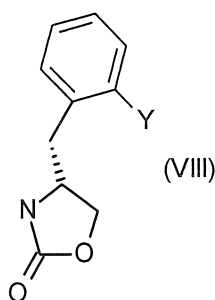
Trong bước thứ hai, hợp chất trung gian (VI) trong đó R^a là tert-butyl-dimetylsilyl được cho phản ứng N-closuccinimide (NCS), trong dung môi thích hợp, ví dụ THF để thu được hợp chất trung gian (V).

Hợp chất trung gian (VI) trong đó R^a là hydro có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm hợp chất trung gian có công thức (VII), trong đó Y là như nêu trên đối với hợp chất trung gian (V).



Phản ứng được thực hiện một cách thích hợp khi có mặt bazơ mạnh, ví dụ natri hydroxit, trong dung môi thích hợp, ví dụ hỗn hợp của etanol và nước, nhiệt độ cao.

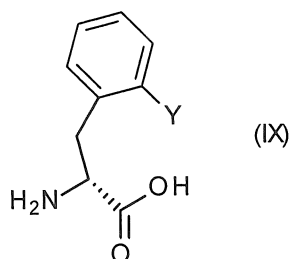
Hợp chất trung gian có công thức (VII) có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm phản ứng của hợp chất trung gian (VIII),



trong đó Y là như được nêu trên đây đối với hợp chất trung gian có công thức (V).

Phản ứng được thực hiện thích hợp khi có mặt trimetylsilyltriflat và paraformaldehyt, trong dung môi thích hợp ví dụ diclometan.

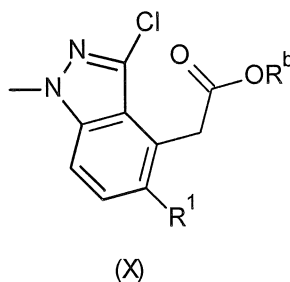
Hợp chất trung gian (VIII) có thể được điều chế bằng quy trình hai bước bao gồm hợp chất trung gian (IX) sẵn có trên thị trường,



trong đó Y là như nêu trên đối với hợp chất trung gian (V).

Phản ứng được thực hiện thích hợp theo các phương pháp được mô tả trong các ví dụ đi kèm hoặc theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất trung gian có công thức (II) có thể được điều chế bằng quy trình đa bước bao gồm phản ứng của các hợp chất trung gian có công thức (X),



trong đó:

R^1 là clo, amino hoặc nitro; và

R^b là hydro hoặc tert-butyl.

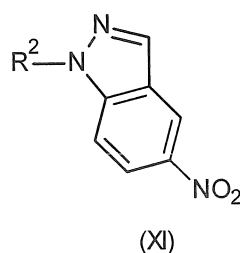
Trong bước thứ nhất, hợp chất trung gian có công thức (X) trong đó R^1 là nitro và R^b là tert-butyl, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (Xa), được khử thành hợp chất trung gian tương ứng (X) trong đó R^1 là amino và R^b là tert-butyl, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (Xb). Phản ứng được thực hiện thích hợp bằng cách hydro hóa có xúc tác Pd/C dưới áp suất cao, trong dung môi thích hợp ví dụ metanol.

Hợp chất trung gian (Xb) được chuyển hóa thành hợp chất trung gian (X) tương ứng trong đó R^1 là clo và R^b là hydro, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (Xc), bằng

cách bổ sung axit clohydric đậm đặc và natri nitrit, sau đó bổ sung thêm axit clohydric và đồng clorua (II). Phản ứng được thực hiện thích hợp ở nhiệt độ thấp.

Sau đó, hợp chất trung gian (II) có thể được tạo ra trực tiếp từ hợp chất trung gian (Xc) bằng phản ứng với N-closucxinimit theo các phương pháp được mô tả trong các ví dụ đi kèm hoặc theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất trung gian có công thức (Xa) có thể được điều chế bằng quy trình bao gồm hợp chất trung gian có công thức (XI),



trong đó R^2 là hydro hoặc metyl.

Trong bước thứ nhất hợp chất trung gian có công thức (XI) sẵn có trên thị trường trong đó R^2 là hydro, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (XIa), được cho phản ứng với metyl iodua khi có mặt bazơ mạnh, ví dụ kali hydroxit, trong dung môi thích hợp, ví dụ dimetylformamit. Sau đó, hợp chất trung gian (Xi) thu được trong đó R^2 là metyl, sau đây được gọi là hợp chất trung gian (XIb) được cho phản ứng với tert-butyl 2-cloaxetat khi có mặt kali tert-butoxit, trong dung môi thích hợp, ví dụ tetrahydrofuran, ở nhiệt độ thấp, để thu được hợp chất trung gian (Xa).

Nếu hỗn hợp của các sản phẩm được tạo ra từ quy trình bất kỳ trong số các quy trình được mô tả trên đây để điều chế các hợp chất theo sáng chế, thì sản phẩm mong muốn có thể được tách ra từ đó ở giai đoạn thích hợp bằng các phương pháp thông thường như HPLC điều chế; hoặc sắc ký cột sử dụng, ví dụ, silica và/hoặc alumin kết hợp với hệ dung môi thích hợp.

Nếu các quy trình được mô tả trên đây để điều chế các hợp chất theo sáng chế làm tăng hỗn hợp các chất đồng phân lập thể, thì các chất đồng phân này có thể được tách ra bằng các kỹ thuật thông thường. Cụ thể là, nếu mong muốn thu được chất đồng phân đối ảnh cụ thể của hợp chất có công thức (I) thì chất đồng phân đối ảnh này có thể được tạo ra từ hỗn hợp tương ứng của các chất đồng phân đối ảnh bằng cách sử dụng quy trình

thích hợp thông thường để phân giải các chất đồng phân đối ảnh. Do đó, ví dụ, các dẫn xuất của chất đồng phân không đối quang, ví dụ các muối, có thể được tạo ra bằng phản ứng của hỗn hợp các chất đồng phân đối ảnh có công thức (I), ví dụ raxemat, và hợp chất không đối xứng thích hợp, ví dụ bazơ không đối xứng. Các chất đồng phân không đối quang sau đó được tách ra bằng các phương pháp thích hợp bất kỳ, ví dụ bằng phương pháp kết tinh, và chất đồng phân đối ảnh mong muốn được thu hồi, ví dụ bằng cách xử lý bằng axit trong trường hợp chất đồng phân không đối quang là muối. Theo một quy trình phân giải khác, raxemat có công thức (I) có thể được tách ra bằng cách sử dụng HPLC không đối xứng. Hơn nữa, nếu muốn, chất đồng phân đối ảnh cụ thể có thể được tạo ra bằng cách sử dụng hợp chất trung gian không đối xứng thích hợp trong một quy trình trong số các quy trình được mô tả trên đây. Theo cách khác, chất đồng phân đối ảnh cụ thể có thể được tạo ra bằng cách tiến hành phản ứng chuyển hóa sinh học nhờ enzym đặc hiệu với chất đồng phân đối ảnh, ví dụ phản ứng thủy phân este nhờ esteraza, và sau đó chỉ tinh chế axit đã thủy phân tinh khiết về mặt chất đồng phân đối ảnh từ thể đối quang este không phản ứng. Sắc ký, tái kết tinh và các quy trình phân tách thông thường khác cũng có thể được sử dụng với các hợp chất trung gian hoặc các sản phẩm cuối trong đó mong muốn thu được chất đồng phân dị hình cụ thể theo sáng chế. Theo cách khác, chất đồng phân đối ảnh không mong muốn có thể được racemic hóa thành chất đồng phân đối ảnh mong muốn, khi có mặt axit hoặc bazơ, theo các phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, hoặc theo các phương pháp được mô tả trong các ví dụ đi kèm.

Trong suốt trình tự bất kỳ trong số các trình tự tổng hợp nêu trên có thể cần và/hoặc mong muốn bảo vệ các nhóm phản ứng hoặc các nhóm dễ phản ứng trên phân tử bất kỳ trong số các phân tử quan tâm. Điều này có thể đạt được bằng cách sử dụng các nhóm bảo vệ thông thường, như các nhóm được mô tả trong tài liệu *Protective Groups in Organic Chemistry*, ed. J.F.W. McOmie, Plenum Press, 1973; and T.W. Greene & P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, 3rd edition, 1999. Các nhóm bảo vệ có thể được loại bỏ ở giai đoạn thích hợp bất kỳ tiếp theo bằng cách sử dụng các phương pháp đã biết trong giải pháp kỹ thuật đã biết.

Các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế không hoạt hóa trực tiếp thụ thể dopamin D1, nhưng lại làm tăng tác dụng của các chất chủ vận D1 hoặc phối tử nội sinh

trên các thụ thể D1, dopamin, thông qua cơ chế dị lập thể, và do đó là chất điều biến dị lập thể dương D1 (PAM D1).

Dopamin và các chất chủ vận D1 khác trực tiếp hoạt hóa thụ thể dopamin D1 bởi chính chúng.

Các thử nghiệm đã được thiết kế để đánh giá tác dụng của các hợp chất theo sáng chế khi không có mặt dopamin (“thử nghiệm hoạt hóa”) và khi có mặt dopamin (“thử nghiệm điện thế”).

Thử nghiệm hoạt hóa đánh giá khả năng kích thích sự tổng hợp của adenosinmonophosphat vòng (cAMP) trong thử nghiệm huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất (Homogeneous Time Resolved Fluorescent-HTRF), với mức tăng đối đa cAMP nhờ tăng nồng độ của chất chủ vận nội sinh, dopamin, được xác định là hoạt hóa 100%.

Khi được thử nghiệm, các hợp chất có công thức (I) theo sáng chế thiếu đáng kể các tác dụng trực tiếp giống chất chủ vận trong đó nó có hoạt tính dưới 20% (so với mức đáp ứng tối đa của dopamin) khi có mặt ở nồng độ bằng 10 μ M.

Thử nghiệm điện thế đánh giá khả năng của các hợp chất trong việc làm tăng lượng cAMP được sinh ra khi dopamin có nồng độ ở ngưỡng thấp. Nồng độ của dopamin được sử dụng ([EC20]) được thiết kế để tạo ra mức kích thích bằng 20% so với đáp ứng tối đa (100%) được nhận thấy khi tăng nồng độ của dopamin. Để đo điện thế này hợp chất có nồng độ cao và dopamin có nồng độ [EC20] được ủ và điện thế được đo khi tăng tổng hợp cAMP và nồng độ của hợp chất mà tạo ra 50% của mức điện thế của lượng cAMP được đo.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm cAMP HTRF, hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có giá trị pEC50 lớn hơn khoảng 6,5 chứng tỏ nó là chất điều biến dị lập thể dương D1.

Việc ức chế thụ thể GABA_A được biết đến là có liên quan mật thiết đến chứng co giật và động kinh. Do đó, mong muốn phát triển các hợp chất mà là các chất điều biến dị lập thể dương D1 và đồng thời làm giảm tối thiểu các tác dụng này.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm ức chế thụ thể GABA-A như được mô tả ở đây, mong muốn là hợp chất có công thức (I) có tỷ lệ ức chế thụ thể GABA_A nhỏ hơn

hoặc bằng 20%, lý tưởng là nhỏ hơn khoảng 10%, thích hợp là nhỏ hơn khoảng 5%, khi được đo ở nồng độ của hợp chất có công thức (I) bằng 10 μ M.

Vấn đề có thể phải đối mặt khi phát triển các hợp chất dùng để điều trị là một số hợp chất nhất định có khả năng cảm ứng các enzym CYP450. Việc cảm ứng các enzym này có thể tác động đến sự tiếp xúc của các hợp chất này hoặc của các hợp chất khác mà có thể được đồng sử dụng cho bệnh nhân, do đó có thể làm thay đổi độ an toàn hoặc hiệu quả tương ứng của chúng. Do đó mong muốn phát triển các hợp chất mà làm giảm tối thiểu khả năng cảm ứng này.

Khả năng cảm ứng CYP450 của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế đã được thử nghiệm bằng cách đánh giá mức tăng hoạt tính CYP450 tiềm ẩn ở các tế bào gan của người được điều trị bằng các hợp chất theo sáng chế có nồng độ cao.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm cảm ứng CYP3A4 theo các quy trình được mô tả trong sáng chế, mong muốn là hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có mức cảm ứng thấp hơn ít nhất khoảng 2 lần, lý tưởng là thấp hơn ít nhất khoảng 3 lần, thích hợp là thấp hơn ít nhất khoảng 4 lần so với hợp chất đối chứng dương (Rifampicin).

Khi phát triển hợp chất dùng để điều trị, quan trọng là phải quan tâm đến sự bài tiết của nó một khi nó được sử dụng vào cơ thể.

Mức thanh thải là một thông số cung cấp thông tin đó vì nó đại diện cho thể tích của huyết tương (hoặc máu) được làm sạch hoàn toàn hợp chất quan tâm theo đơn vị thời gian. Mức thanh thải này thường được biểu diễn dưới dạng ml/phút/kg hoặc L/giờ. Sau đó nó có thể được so sánh với lưu lượng máu sinh lý bất kỳ (ví dụ, lưu lượng máu ở gan) để đánh giá liệu mức thanh thải là thấp, vừa phải hay cao.

Nếu mức thanh thải là thấp, tùy thuộc vào thể tích phân bố, có thể cần liều thấp và để có được thời gian tác dụng tương đối dài. Khi mức thanh thải là cao, một lần nữa tùy thuộc vào thể tích phân bố, có thể cần liều cao và thời gian tác dụng tương đối ngắn.

Nói chung, mức thanh thải thường được đánh giá bằng cách sử dụng các phương pháp ở tế bào gan và tính toán tỷ lệ, giả sử con đường bài tiết chính là chuyển hóa, theo các quy trình được mô tả ở đây. Mức thanh thải thực chất được đánh giá từ các tế bào gan được biểu diễn dưới dạng μ l/phút/10⁶ tế bào.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm thanh thải như được mô tả ở đây, hợp chất có công thức (I) theo sáng chế cần có mức thanh thải nhỏ hơn khoảng 10 $\mu\text{l/phút}/10^6$ tế bào.

Thử nghiệm cAMP HTRF

Các điều kiện cụ thể mà các hợp chất được thử nghiệm là được mô tả dưới đây.

a. Phương pháp nuôi cấy tế bào D1

Các tế bào được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong môi trường ẩm chứa 5% CO₂. Các tế bào được nuôi cấy trong môi trường DMEM-F12+GlutaMAX™-I (GIBCO®, Invitrogen, Merelbeke, Belgium) chứa 10% huyết thanh bào thai bò (BioWhittaker®, Lonza, Verviers, Belgium), 400 $\mu\text{g/mL}$ Genetixin (GIBCO®), 100 IU/mL Penicillin và 100 IU/mL Streptomycin (dung dịch Pen-Strep, BioWhittaker®). Các tế bào nguyên bào sợi chuột LMtk (Ltk-) biểu hiện thụ thể dopamin D1 (BioSignal Inc, Montreal, Canada, now Perkin Elmer) được sử dụng vì chúng đã được thể hiện là liên kết hiệu quả và tạo ra các đáp ứng chức năng mạnh mẽ (Watts *et al*, 1995).

b. Thử nghiệm cAMP

Việc đánh giá các thay đổi về adenosinmonophosphat vòng nội bào (cAMP) được tiến hành bằng kit thử nghiệm động học HTRF cAMP do CisBio (Codolet, France) sản xuất. Sử dụng công nghệ huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất, thử nghiệm này được dựa trên sự cạnh tranh giữa cAMP nguyên thể được sản sinh bởi các tế bào và cAMP được đánh dấu thuốc nhuộm d2. Việc gắn kết với nguyên tử đánh dấu được xác định bằng kháng thể kháng cAMP được đánh dấu cryptat. Các tác dụng của một mình hợp chất (tác dụng chủ vận) được xác định bằng cách tiến hành thử nghiệm khi không có mặt dopamin, trong khi đó tác dụng của hợp chất ở dạng chất điều biến dị lập thể dương (PAM) được xác định khi có mặt dopamin ở nồng độ EC₂₀. Các tế bào (20.000 tế bào mỗi lỗ) được ủ trong 384 đĩa trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trong thể tích cuối của 20 μL HBSS (Lonza, với canxi, magie và dung dịch đệm HEPES 20 mM, pH 7,4) chứa: isobutyl metylxanthin (Sigma, nồng độ cuối 0,1 mM), hợp chất thử nghiệm với các nồng độ khác nhau (thường 10^{-9,5}M đến 10^{-4,5}M) khi có mặt và không có mặt dopamin (nồng độ cuối 1,1 nM). Sau đó, phản ứng được kết thúc và các tế bào được phân giải bằng cách bổ sung tác nhân phát hiện d2 trong dung dịch đệm phân giải (10 microL) và tác nhân cryptat trong dung dịch đệm phân giải (10 microL) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó phản ứng được ủ thêm 60 phút ở nhiệt độ trong phòng và thay đổi tỷ lệ phát huỳnh

quang HTRF được xác định theo hướng dẫn của nhà sản xuất bằng cách sử dụng thiết bị đọc đĩa Envision (Perkin Elmer, Zaventem, Belgium) với sự kích thích laze. Toàn bộ các lần ủ được tiến hành hai lần và các kết quả thu được được so sánh với đường cong nồng độ-tác dụng đối với dopamin. (10^{-11}M đến 10^{-6}M).

c. Phân tích số liệu

Số liệu được phân tích bằng Excel và PRISM (phần mềm GraphPad) để thu được pEC_{50} và Erel nhờ phương trình logistic 4 thông số (DeLean et al, 1978) trong đó Erel là đáp ứng tối đa phù hợp của hợp chất thử nghiệm trừ đi mức cơ sở được biểu thị dưới dạng phần trăm so với đáp ứng thu được với dopamin mà được xác định là bằng 100%.

pEC_{50} của hợp chất là $-\log_{10}$ của nồng độ của hợp chất mà tạo ra 50% của điện thế của các mức cAMP.

Erel là hiệu quả tương đối, được xác định là % điện thế tối đa được tạo ra bởi hợp chất so với mức đáp ứng tối đa đạt được khi tăng nồng độ của dopamin (Erel bằng 1 = đáp ứng tối đa của dopamin), được đánh giá.

Nếu được thử nghiệm trong thử nghiệm trên, hợp chất có công thức (I) có giá trị pEC_{50} bằng khoảng 8,1 và giá trị Erel bằng khoảng 68%.

Các nghiên cứu kẹp ráp nối tự động trên các tế bào có thụ thể GABA_A

Các tế bào CHO-K1 biểu hiện ổn định các tiểu đơn vị $\alpha 1$, $\beta 2$ và $\gamma 2$ của thụ thể GABA_A của người được sử dụng. Các tế bào được thu hoạch bằng cách sử dụng trypsin và được giữ trong môi trường không chứa huyết thanh ở nhiệt độ trong phòng. Các tế bào được rửa và tái huyền phù trong dung dịch ngoại bào trước khi thử nghiệm.

Các nghiên cứu kẹp ráp nối

Các thử nghiệm trên các kênh GABA_A ($\alpha 1\beta 2\gamma 2$) của người được tiến hành bằng cách sử dụng thử nghiệm kẹp ráp nối tự động (IonFlux™ HT). Các hợp chất được thử nghiệm ở ba nồng độ (0,1, 1, và $10\mu\text{M}$) trong 3 đến 4 tế bào. Ngoại dung dịch để ghi dòng điện GABA_A bao gồm natri clorua 137mM, kali clorua 4 mM, canxi clorua 1,8mM, magie clorua 1mM, HEPES 10mM, và glucoza 10 mM. Cả ngoại dung dịch và nội dung dịch được chuẩn độ bằng NaOH hoặc KOH để thu được độ pH bằng 7,35 hoặc 7,3, tương ứng. Nội dung dịch pipet chứa kali florua 70mM, kali clorua 60mM, natri clorua 70mM, HEPES 5mM, EGTA 5mM, và magie ATP 4mM. Nồng độ cuối của chất dẫn được dùng để pha loãng hợp chất là 0,33% DMSO trong mỗi lỗ. Bicucullin (0,032 đến $100\mu\text{M}$) được

sử dụng làm chất ức chế đối chứng dương. GABA ($15\mu\text{M}$) được sử dụng làm chất chủ vận. Toàn bộ các kết quả ghi đều được thu từ điện thế giữ bằng -60mV .

Trình tự bổ sung hợp chất là như sau: bổ sung một lần GABA có nồng độ EC_{80} để thiết lập đáp ứng cơ bản. Mỗi nồng độ của hợp chất được sử dụng trong 30 giây sau đó bổ sung $15\mu\text{M}$ GABA khi có mặt hợp chất này trong 2 giây. Quy trình này được lặp lại với nồng độ hợp chất tăng dần. Các dòng vào cực đại để đáp ứng với việc bổ sung GABA khi có mặt hợp chất ở một nồng độ được đo. Toàn bộ số liệu về hợp chất đã được chuẩn hóa đến dòng cực đại cơ sở bằng cách bổ sung $15\mu\text{M}$ GABA trong 2 giây.

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm nêu trên, ở nồng độ $10\mu\text{M}$, hợp chất có công thức (I) có tỷ lệ ức chế thụ thể GABA_A dưới 0,1% được đo ở nồng độ của hợp chất có công thức (I) bằng $10\mu\text{M}$.

Các thử nghiệm cảm ứng

Các thử nghiệm sau là nhằm xác định điện thế của hợp chất theo sáng chế để cảm ứng enzym CYP3A4.

A. Đánh giá in vitro điện thế cảm ứng CYP3A4 bằng cách sử dụng các tế bào gan của người đã bảo quản lạnh

Mục đích của thử nghiệm tế bào gan người là nhằm xác định điện thế cảm ứng của hợp chất có công thức (I) bằng cách đo hoạt tính CYP3A4 sau 3 ngày xử lý tế bào gan chỉ bằng môi trường nuôi cấy hoặc môi trường nuôi cấy chứa NCE với nồng độ cao.

Theo mục đích này, các tế bào gan người đã bảo quản lạnh từ một người cho được cấy vào đĩa đã phủ collagen có 48 lỗ sao cho mật độ nuôi cấy cuối cùng là $0,2 \times 10^6$ tế bào/lỗ (thể tích cuối mỗi lỗ là $0,25\text{ mL}$). Sau đó, các tế bào được ủ trong môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C , độ ẩm 95%, 5% CO_2 để các tế bào bám dính vào. Sau 4 giờ, môi trường nuôi cấy được thay thế bằng $0,25\text{ mL}$ môi trường Williams E không chứa huyết thanh đã làm ấm sơ bộ chứa 100 IU/mL penixilin, 100 $\mu\text{g/mL}$ streptomycin, 10 $\mu\text{g/mL}$ insulin, 2 mM L glutamin và $0,1\text{ }\mu\text{M}$ hydrocortison.

Ngày tiếp theo, các tế bào được cho dùng hợp chất thử nghiệm trong môi trường thử nghiệm ở nồng độ $1\text{ }\mu\text{M}$ (nồng độ DMSO cuối bằng 0,1%). Chất cảm ứng đối chứng dương, rifampixin ($10\text{ }\mu\text{M}$) được ủ cùng với hợp chất thử nghiệm. Các lỗ đối chứng âm được bao gồm trong đó hợp chất thử nghiệm được thay thế bằng chất dẫn dung môi (0,1% DMSO trong môi trường thử nghiệm). Mỗi hợp chất thử nghiệm được sử dụng ba

lần. Các tế bào được cho tiếp xúc với môi trường nuôi cấy trong 72 giờ trong đó cứ 24 giờ lại thay môi trường một lần.

Để xác định hoạt tính xúc tác, dung dịch chứa cơ chất dò CYP3A4, midazolam (nồng độ cuối 2,5 μM) được điều chế trong môi trường thử nghiệm đã làm ấm sơ bộ. Kết thúc giai đoạn tiếp xúc 72 giờ, môi trường được thay thế bằng cơ chất dò CYP3A4. Các tế bào gan được ủ trong 30 phút. Một phần nhỏ được loại bỏ khi kết thúc giai đoạn ủ và được đưa vào trong metanol chứa chất chuẩn nội với thể tích tương đương. Các mẫu được ly tâm ở tốc độ 2500 vòng/phút ở 4°C trong 20 phút. Một phần nhỏ dịch nổi được pha loãng bằng nước đã khử ion và lượng 1-hydroxymidazolam được định lượng bằng cách sử dụng các phương pháp chung LC MS/MS.

Các tế bào gan được hòa tan trong 0,1M natri hydroxit ở nhiệt độ trong phòng và hàm lượng protein trong mỗi lỗ được xác định bằng kit thử nghiệm protein Pierce™ BCA (Thermo Scientific) sử dụng albumin huyết thanh bò làm chất chuẩn.

Phân tích số liệu

Mức tăng cảm ứng (mức tăng hoạt tính CYP) được tính toán bằng cách lấy tỷ lệ của hoạt tính enzym đo được ở các tế bào đã xử lý bằng hợp chất có công thức (I), so với tỷ lệ thu được ở các tế bào gan đối chứng được xử lý bằng chất dẫn. Mức tăng cảm ứng được tính toán theo cách giống như đối chứng dương (Rifampixin). Sau đó, khả năng cảm ứng của hợp chất có công thức (I) được so sánh với khả năng cảm ứng của rifampixin bằng cách tính toán tỷ lệ của mức tăng cảm ứng thu được ở rifampixin so với mức tăng cảm ứng thu được ở hợp chất có công thức (I).

Khi được thử nghiệm trong thử nghiệm cảm ứng CYP3A4 ở nồng độ 1 μM theo các quy trình nêu trên, hợp chất có công thức (I) theo sáng chế có mức tăng cảm ứng ít nhất là thấp hơn so với hợp chất đối chứng dương (Rifampixin) 7 lần ở nồng độ bằng 10 μM .

Bằng cách sử dụng quy trình nêu trên, các tế bào được cho sử dụng hợp chất thử nghiệm trong môi trường thử nghiệm ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,03 đến 10 μM (nồng độ DMSO cuối cùng bằng 0,1%). Chất cảm ứng đối chứng dương, rifampixin được ủ cùng với hợp chất thử nghiệm ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30 μM .

Nếu so sánh mức tăng cảm ứng cao nhất thu được từ quy trình nêu trên, tức là mức tăng cảm ứng thu được ở nồng độ hòa tan cao nhất (3 μM) của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế và ở nồng độ 10 μM của hợp chất đối chứng dương (Rifampixin), hợp chất

có công thức (I) có khả năng cảm ứng thấp hơn so với hợp chất đối chứng dương (Rifampixin) 4 lần.

Thử nghiệm Azamulin

Các tế bào gan người đã bảo quản lạnh (nhóm gồm 20 người cho, mẹ BSU từ Celsis/IVT/Bioreclamation) được rã đông theo thông tin của nhà cung cấp. Khả năng sống (ngoại trừ xanh trypan) là cao hơn 75%. Các lần ủ sơ bộ (250 μ L huyền phù tế bào gan ở mật độ 2×10^6 tế bào gan/mL) được tiến hành với môi trường William, chứa 2 mM glutamin và 15 mM Hepes, trong đĩa có 48 lỗ ở nhiệt độ $+37^\circ\text{C}$, trong tủ ủ (5% CO_2), trong điều kiện khuấy nhẹ (thiết bị khuấy rung, Titramax 100, khoảng 300 vòng/phút) trong 30 phút. Sau khi ủ sơ bộ, bắt đầu ủ bằng cách bổ sung vào các tế bào gan, 250 μ L môi trường nuôi cấy (xem thành phần nêu trên) chứa hợp chất UCB (1 μ M) hoặc midazolam (đối chứng dương) có hoặc không có azamulin (6 μ M – chất ức chế CYP3A4/5 đặc hiệu). Nồng độ cuối của hợp chất UCB và azamulin trong hỗn hợp ủ là 0,5 μ M và 3 μ M, tương ứng. Huyền phù tế bào được làm đồng nhất lại bằng cách hút pipet ra-vào hai lần. Sau 0, 30, 60, 120, 180 và 240 phút ủ, phản ứng được dừng bằng cách chuyển 50 μ L hỗn hợp ủ vào lỗ thích hợp từ đĩa có 96 lỗ chứa 50 μ L axetonitril đã làm lạnh trên đá với ketoconazol 1 μ M làm chất chuẩn nội. Trước mỗi lần lấy mẫu, hỗn hợp ủ tế bào được làm đồng nhất lại bằng cách hút bằng pipet ra-vào hai lần.

Khi được ủ với huyền phù tế bào gan của người ở các nồng độ khác nhau, độ thanh thải nội (Clint) của hợp chất có công thức (I) theo sáng chế là bằng $2,1 \pm 0,6$ $\mu\text{L/phút}/10^6$ tế bào.

Các ví dụ sau minh họa quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) theo sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các thuật ngữ viết tắt/các tác nhân phản ứng lặp lại

ACN: axetonitril

Dung dịch nước muối: Dung dịch natri clorua chứa nước bão hòa

*n*Bu: *n*-butyl

*t*Bu: *tert*-butyl

DCM: Diclometan

DMAP: 4-Dimethylaminopyridin

DMF: *N,N*-Dimetylformamit

DMSO: Dimethylsulfoxit

EC_{20/50}: nồng độ mà tại đó tạo ra 20%/50% của đáp ứng tối đa

Erel: hiệu quả tương đối

ES⁺: ion hóa phun điện ở chế độ ion dương

Et: etyl

EtOH : etanol

Et₂O: Dietyl ete

EtOAc: etyl axetat

h: giờ

HPLC: Sắc ký lỏng hiệu năng cao

HTRF: huỳnh quang phân giải theo thời gian đồng nhất

LCMS: Phương pháp khối phổ sắc ký lỏng

MeOH: Metanol

min.: phút

NCS: *N*-closucinimit

NMR: Cộng hưởng từ hạt nhân

*i*PrOH: isopropanol

rt: nhiệt độ phòng

SFC: Sắc ký lỏng siêu tới hạn

TEA: Trietylamin

THF: Tetrahydrofuran

TLC: Sắc ký lớp mỏng

cAMP: adenosinmonophosphat vòng

Các tên IUPAC được xác định bằng Biovia Draw 16.1.

Các phương pháp phân tích

Toàn bộ các phản ứng sử dụng các tác nhân phản ứng nhạy với không khí hoặc độ ẩm được tiến hành trong môi trường khí nitơ hoặc argon sử dụng các dung môi khô và đồ thủy tinh. Các dung môi và các tác nhân phản ứng trên thị trường thường được sử dụng mà không cần tinh chế thêm, kể cả các dung môi khan nếu thích hợp (nói chung là các sản phẩm Sure-Seal™ do công ty hóa chất Aldrich sản xuất hoặc AcroSeal™ do ACROS Organics sản xuất). Nói chung các phản ứng được tiến hành các phân tích sắc ký lớp mỏng hoặc phân tích khối phổ.

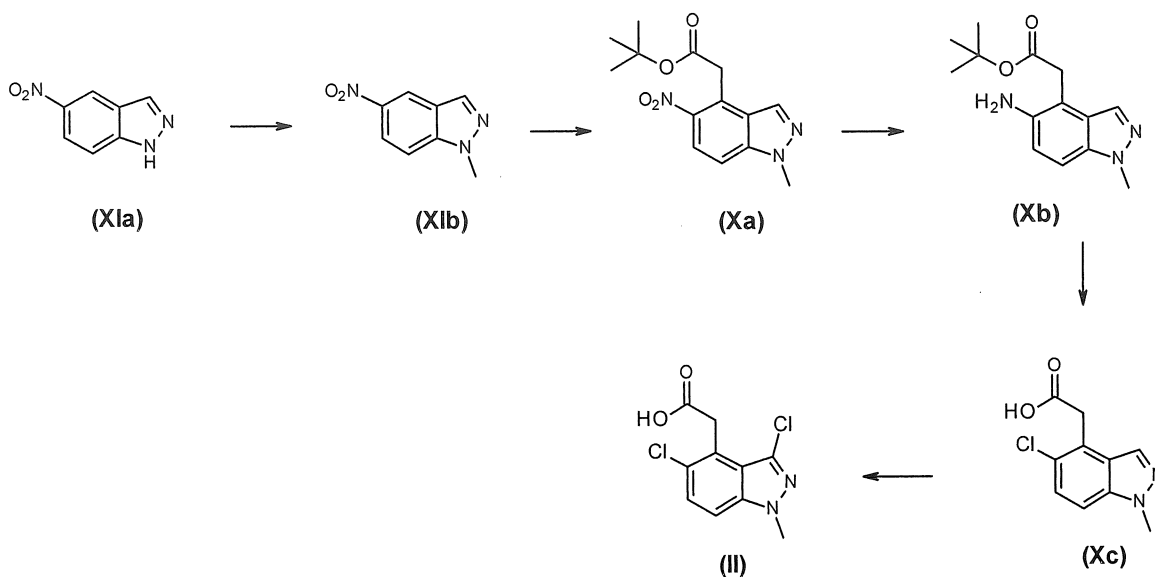
Các nguyên liệu thô có thể được tinh chế bằng sắc ký pha thường, sắc ký pha đảo (axit hoặc bazơ), phân tách không đối xứng hoặc tái kết tinh.

Các sản phẩm thường được làm khô trong chân không trước khi tiến hành phân tích lần cuối và tiến hành thử nghiệm sinh học.

Toàn bộ phổ NMR thu được ở 250 MHz, 300 MHz, 400 MHz hoặc 500 MHz.

Các hợp chất được nghiên cứu trong dung dịch DMSO-*d*₆, CDCl₃ hoặc MeOH-*d*₄ ở nhiệt độ thăm dò bằng 300 K và ở nồng độ bằng 10 mg/mL. Thiết bị được khóa tín hiệu đơteri của DMSO-*d*₆, CDCl₃ hoặc CD₃OD. Độ chuyển dịch hóa học được tính bằng ppm vùng trường thấp từ việc coi TMS (tetrametylsilan) là chất chuẩn nội.

1. Quy trình điều chế hợp chất trung gian có công thức (II)-axit 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic



1.1. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (XIb) - 1-metyl-5-nitro-indazol

5-Nitro-1H-indazol (XIa) (3,00 kg, 18,4 mol) và DMF (30,0 L) được nạp vào bình đáy tròn ba cổ có dung tích 50L ở 15-30°C. KOH (2,06 Kg, 36,7 mol) được bổ sung một phần vào bình phản ứng ở 0-5°C. Hỗn hợp được khuấy ở 0-50°C trong 1h. Sau đó, methyl iodua (2,87 kg, 20,2 mol) được bổ sung ở 0-5°C và hỗn hợp được khuấy trong 3h ở 15-30°C. Hỗn hợp phản ứng được bổ sung vào nước (30 L) ở 0-10°C và hỗn hợp được khuấy trong 10 min sau đó được lọc. Bánh lọc được rửa bằng nước (5 L) và được làm khô. Toàn bộ quy trình này được tiến hành bốn mẻ song song với cùng kích cỡ. Các chất rắn thu được từ bốn mẻ được kết hợp lại với nhau để thu được 1-metyl-5-nitro-indazol

(XIb) ở dạng chất rắn màu nâu (10,0 kg, 42,3 mol, độ tinh khiết 75% (LC/MS), hiệu suất 57,5%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,65 (s, 1H), 8,21 (d, $J = 9,17$ Hz, 1 H), 8,13 (s, 1 H), 7,39 (d, $J = 9,17$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 3 H).

1.2. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (Xa) - tert-butyl 2-(1-metyl-5-nitro-indazol-4-yl)axetat

t-BuOK (4,43 kg, 39,5 mol) và THF (30 L) được nạp vào bình đáy tròn ba cổ có dung tích 50L và hỗn hợp được làm lạnh đến $-45/-35^\circ\text{C}$ trong môi trường khí nitơ và khuấy. Sau đó 1-Metyl-5-nitro-indazol (XIb) (3,50 kg, 19,7 mol) được bổ sung thành các phần ở nhiệt độ $-45/-35^\circ\text{C}$. Tert-butyl 2-cloaxetat (3,57 kg, 23,7 mol) được bổ sung nhỏ giọt ở cùng nhiệt độ và hỗn hợp được khuấy ở 1h. Hỗn hợp được làm ấm đến $15-30^\circ\text{C}$ và khuấy trong 5h. Phản ứng được dập tắt bằng cách bổ sung dung dịch amoni clorua bão hòa (9 L) và nước (2 L) được bổ sung. Lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (2 x 5 L). Các pha hữu cơ được kết hợp lại, rửa bằng dung dịch nước muối (2 L), làm khô trên Na_2SO_4 , lọc và cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách tái kết tinh với etyl axetat (5 L). Toàn bộ quy trình được tiến hành trên 2 mẻ song song với cùng kích thước. Các chất rắn thu được từ hai mẻ này được kết hợp lại và được làm khô cùng nhau để thu được tert-butyl 2-(1-metyl-5-nitro-indazol-4-yl)axetat dưới dạng chất rắn màu vàng (Xa) (5,30 kg, 17,7 mol, độ tinh khiết 97,6% (LC/MS), hiệu suất 44,9%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,18-8,20 (m, 2H), 7,37 (d, $J = 9,21$ Hz, 1 H), 4,27 (s, 2 H), 4,14 (s, 3 H), 1,44 (s, 9 H).

1.3. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (Xb) - tert-butyl 2-(5-amino-1-metyl-indazol-4-yl)axetat

Tert-butyl 2-(1-metyl-5-nitro-indazol-4-yl)axetat (Xa) (7,30 kg, 25,0 mol) và MeOH (76 L) được nạp vào bình phản ứng. Argon được thổi vào và Pd/C (50%, 760 g) được bổ sung. Hydro được bổ sung ba lần và hỗn hợp được khuấy ở 50°C trong môi trường khí hydro (50 psi) trong 3h. Hỗn hợp phản ứng được lọc và chất rắn được rửa bằng MeOH (5 L). Hỗn hợp được cô để thu được tert-butyl 2-(5-amino-1-metyl-indazol-4-yl)axetat (Xb) ở dạng dầu màu nâu (6,50 kg, 23,9 mol, độ tinh khiết 96,2% (LC/MS), hiệu suất 95,4%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,72 (s, 1H), 7,27 (d, $J = 8,80$ Hz, 1 H), 6,91 (d, $J = 8,80$ Hz, 1 H), 4,60 (s, 2 H), 3,93 (s, 3 H), 3,68 (s, 2H), 1,38 (s, 9 H).

1.4. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (Xc) - axit 2-(5-clo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic

Tert-butyl 2-(5-amino-1-metyl-indazol-4-yl)axetat (Xb) (2,00 kg, 7,65 mol) và HCl đậm đặc (10,0 L, 12M) được nạp vào bình đáy tròn ba cổ có dung tích 50 L và hỗn hợp được làm lạnh đến $-10/-5^\circ\text{C}$ và được khuấy. Dung dịch nước (5 L) chứa natri nitrit (686 g, 9,95 mol) được bổ sung nhỏ giọt vào $-10/-5^\circ\text{C}$ và khuấy trong 30 min. CuCl (833 g, 8,42 mol) và HCl cô (10,0 L, 12M) được nạp vào bình đáy tròn ba cổ có dung tích 20 L và hỗn hợp được khuấy trong 30 min ở $-10/-5^\circ\text{C}$, sau đó được bổ sung vào bình phản ứng khác. Hỗn hợp được khuấy ở $-10/-5^\circ\text{C}$ trong 1h, sau đó ở $10-30^\circ\text{C}$ trong 16h. Hỗn hợp phản ứng được lọc và chất rắn được rửa bằng nước. Toàn bộ quy trình được tiến hành trên 3 mẻ song song với cùng kích thước. Các chất rắn thu được từ ba mẻ được kết hợp lại và được làm khô cùng nhau để thu được axit 2-(5-clo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic (Xc) dưới dạng chất rắn màu vàng (4,00 kg, 16,3 mol, độ tinh khiết 92% (LC/MS), hiệu suất 71,3%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

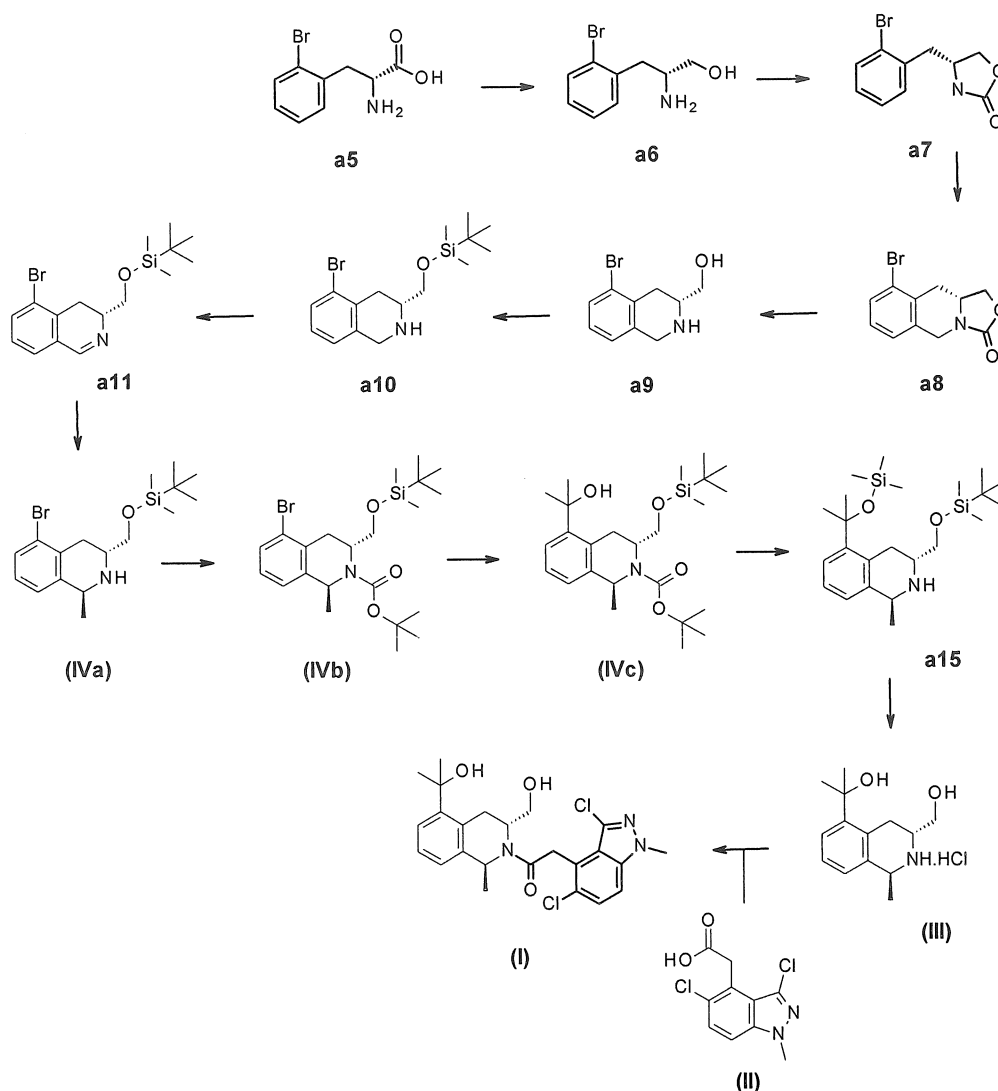
1.5. Quy trình điều chế axit 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic (II)

Axit 2-(5-clo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic (Xc) (1,30 kg, 5,79 mol) và DMF (6,5 L) được nạp vào bình đáy tròn ba cổ có dung tích 50 L ở 20°C . N-closucinimit (772 g, 5,79 mol) được bổ sung từng phần ở 20°C và hỗn hợp được khuấy ở 20°C trong 2h. Hỗn hợp phản ứng được rót vào nước (25 L) và lọc. Sản phẩm thô được nghiền nhỏ với isopropyl ete:etyl axetat (3:1) (7,0 L) ở nhiệt độ 20°C trong 2h sau đó được lọc và được làm khô. Toàn bộ quy trình được tiến hành trên 3 mẻ song song với cùng kích thước. Các chất rắn thu được từ ba mẻ được kết hợp lại để thu được axit 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic (II) (2,1 kg, 7,9 mol, độ tinh khiết 97,5% (LC/MS), hiệu suất 46%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 12,67 (s, 1 H), 7,68 (d, $J = 9,05$ Hz, 1 H), 7,53 (d, $J = 9,05$ Hz, 1 H), 4,20 (s, 2 H), 4,02 (s, 3 H).

2. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I)

2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon



2.1. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (IX).

(2R)-2-amino-3-(2-bromophenyl)propan-1-ol - a6

Axit (2R)-2-amino-3-(2-bromophenyl)propanoic **a5** (34,0 kg, 139 mol) và THF (238 L) được nạp vào bình phản ứng. Natri borohydrua (15,6 kg, 413 mol) được bổ sung từ từ ở 20-30°C. Dung dịch iot (35,3 kg, 139 mol) trong THF khô (20,0 L) được bổ sung từ từ ở 0-10°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 70°C trong 12h. Phản ứng được dập tắt bằng metanol (70,0 L) ở 0°C và gia nhiệt đến 80°C trong 30 phút. Hỗn hợp được làm lạnh, cô trong chân không và cặn được tái huyền phù trong NaOH (30,0 L, 2N), sau đó được lọc. Bánh lọc được làm khô trong chân không để thu được (2R)-2-amino-3-(2-bromophenyl)propan-1-ol **a6** ở dạng chất rắn màu trắng (31,0 kg, 135 mol, hiệu suất 96,7%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,57 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 7,21 - 7,29 (m, 2H), 7,07 - 7,15 (m, 1H), 3,66 (dd, $J = 10,5, 3,6$ Hz, 1H), 3,41 (dd, $J = 10,5, 7,2$ Hz, 1H), 3,18 - 3,29 (m, 1H), 2,95 (dd, $J = 13,5, 5,5$ Hz, 1H), 2,70 (dd, $J = 13,5, 8,2$ Hz, 1H), 1,51 - 1,91 (m, 3H).

2.2. Quy trình điều chế hợp chất trung gian có công thức (VIII).

(4R)-4-[(2-bromophenyl)metyl]oxazolidin-2-on - a7

(2R)-2-amino-3-(2-bromophenyl)propan-1-ol a6 (31,0 kg, 135 mol) và diclometan (220 L) được nạp vào bình phản ứng. Triphosgen (13,9 kg, 47,1 mol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng sau đó N,N-diisopropyletylamin (39,1 kg, 303 mol) được bổ sung từ từ ở 0-10°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 0-10°C trong 1h sau đó rửa bằng nước (50,0 L) hai lần, làm khô bằng natri sulfat khan và lọc để thu được (4R)-4-[(2-bromophenyl)metyl]oxazolidin-2-on a7 ở dạng dung dịch trong diclometan mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

2.3. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (VII).

(10aR)-9-bromo-1,5,10,10a-tetrahydrooxazolo[3,4-b]isoquinolin-3-on a8

Dung dịch chứa (4R)-4-[(2-bromophenyl)metyl]oxazolidin-2-on a7 (135 mol) trong diclometan (220 L) được nạp vào bình phản ứng và được làm lạnh xuống 0-5°C. Trimethylsilyl triflat (35,9 kg, 162 mol) và paraformaldehyt (13,3 kg, 148 mol) được bổ sung ở 0-5°C, sau đó khuấy trong 2h ở 15-20°C. Nước (170 L) được bổ sung vào hỗn hợp mà sau đó được chiết hai lần bằng diclometan (50,0 L). Lớp hữu cơ làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô trong chân không. Hỗn hợp chứa ete dầu mỏ:etyl axetat (1:1, 45,0 L) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6h và lọc. Chất rắn được làm khô để thu được (10aR)-9-bromo-1,5,10,10a-tetrahydrooxazolo[3,4-b]isoquinolin-3-on a8 ở dạng chất rắn màu trắng ngà (29,0 kg, hiệu suất 80,2%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,45 - 7,52 (m, 1H), 7,08 - 7,14 (m, 2H), 4,83 (d, $J = 17,0$ Hz, 1H), 4,62 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,36 (d, $J = 17,0$ Hz, 1H), 4,21 (dd, $J = 8,6, 4,9$ Hz, 1H), 3,91 - 3,99 (m, 1H), 3,25 (dd, $J = 16,3, 4,2$ Hz, 1H), 2,67 (dd, $J = 16,1, 11,0$ Hz, 1H).

2.4. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (VI)

2.4.1. [(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metanol a9

Etanol (120 L) và nước (60,0 L) được trộn trong bình phản ứng. (10aR)-9-bromo-1,5,10,10a-tetrahydrooxazolo[3,4-b]isoquinolin-3-on a8 (29,7 kg, 111 mol) được bổ sung

sau đó natri hydroxit (13,3 kg, 332 mol) được bổ sung từ từ ở 15-20°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 90°C trong 2h sau đó được làm nguội xuống nhiệt độ phòng. Nước (300 L) được bổ sung vào hỗn hợp mà được ly tâm. Bánh ly tâm được làm khô trong lò tuần hoàn để thu được [(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metanol a9 ở dạng chất rắn màu trắng (23,7 kg, hiệu suất 88,3%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,37 - 7,47 (m, 1H), 6,95 - 7,08 (m, 2H), 4,00 - 4,10 (m, 2H), 3,85 (dd, $J = 10,9, 3,7$ Hz, 1H), 3,57 (dd, $J = 10,9, 7,9$ Hz, 1H), 3,06 (ddt, $J = 11,3, 7,6, 4,1, 4,1$ Hz, 1H), 2,79 (dd, $J = 17,1, 4,4$ Hz, 1H), 2,40 (dd, $J = 17,1, 10,9$ Hz, 1H), 1,93 (br s, 2H).

2.4.2 [(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimethyl-silan a10

[(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metanol a9 (23,7 kg, 97,8 mol) và diclometan (240 L) được nạp vào bình phản ứng. DMAP (120 g, 0,98 mol) và imidazol (13,3 kg, 196 mol) được bổ sung. Tert-butyldimethylsilyl clorua (TBSCl) (17,7 kg, 117 mol) được bổ sung từ từ ở 15-20°C và hỗn hợp được khuấy trong 12h. Ammonium clorua (100 L) được bổ sung vào hỗn hợp. Pha hữu cơ được tách ra, rửa bằng nước (50,0 L), làm khô bằng natri sulfat khan, lọc và cô trong chân không để thu được [(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimethyl-silan a10 ở dạng dầu màu vàng (37,6 kg, độ tinh khiết 86%, hiệu suất 93%) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,36 - 7,45 (m, 1H), 7,01 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H), 4,01 - 4,13 (m, 2H), 3,84 (dd, $J = 9,9, 3,7$ Hz, 1H), 3,64 (dd, $J = 9,8, 7,2$ Hz, 1H), 2,96 - 3,08 (m, 1H), 2,75 (dd, $J = 17,0, 4,2$ Hz, 1H), 2,44 (dd, $J = 17,0, 10,8$ Hz, 1H), 1,76 - 2,20 (m, 2H), 0,89 - 0,97 (m, 9H), 0,08 - 0,14 (m, 6H).

2.5. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (V).

[(3R)-5-bromo-3,4-dihydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimethyl-silan a11

[(3R)-5-bromo-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimethyl-silan a10 (3,42 kg, 8,31 mol) và THF (30,0 L) được nạp vào bình phản ứng. N-closucinimit (NCS) (1,17 kg, 8,73 mol) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy ở 25°C trong 30 min. Dung dịch chứa KOH (1,52 kg, 27,1 mol) trong metanol khan (7,00 L) được bổ sung từ từ ở nhiệt độ trong phòng và phản ứng được khuấy ở 25°C

trong 1h. Phản ứng được dập tắt bằng nước (10,0 L) và chiết bằng ete dầu mỏ:etyl axetat (1:2, 5,00 L). Lớp hữu cơ được tách ra, rửa bằng dung dịch nước muối (10,0 L), làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Toàn bộ quy trình này được tiến hành 10 mẻ song song với cùng kích cỡ và 10 dịch lọc phản ứng được kết hợp lại và cô trong chân không để thu được [(3R)-5-bromo-3,4-dihydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan a11 ở dạng dầu màu nâu (28,0 kg, thô) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,24 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 7,58 (dd, $J = 7,8, 1,2$ Hz, 1H), 7,12 - 7,25 (m, 2H), 4,03 (dd, $J = 9,5, 4,0$ Hz, 1H), 3,67 - 3,77 (m, 2H), 3,07 (dd, $J = 17,0, 6,2$ Hz, 1H), 2,68 (dd, $J = 17,1, 10,9$ Hz, 1H), 0,88 - 0,91 (m, 9H), 0,07 (d, $J = 1,5$ Hz, 6H).

2.6. Quy trình điều chế các hợp chất trung gian có công thức (IV)

2.6.1. [(1S,3R)-5-bromo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan (IVa)

[(3R)-5-bromo-3,4-dihydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan a11 (3,10 kg, 8,75 mol) và THF (20,0 L) được nạp vào bình phản ứng. Hỗn hợp được làm lạnh xuống 0°C và metylmagie clorua (3M, 11,6 L) được bổ sung. Hỗn hợp được khuấy ở 20°C trong 12h. Phản ứng được dập tắt bằng dung dịch amoni clorua bão hòa. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết hai lần bằng ete dầu mỏ:etyl axetat (3:1, 5,00 L). Các pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước muối (10,0 L), làm khô trên natri sulfat khan và lọc. Toàn bộ quy trình được tiến hành trên 9 mẻ song song với cùng kích thước và chín dịch lọc phản ứng được kết hợp và cô trong chân không. Hỗn hợp thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel với ete dầu mỏ:etyl axetat (10:1) để thu được [(1S,3R)-5-bromo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan (IVa) ở dạng dầu màu nâu (4,60 kg, độ tinh khiết 99,7%, hiệu suất 15,7%).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,41 (dd, $J = 7,7, 0,9$ Hz, 1H), 7,12 - 7,18 (m, 1H), 7,03 - 7,11 (m, 1H), 4,12 (q, $J = 6,8$ Hz, 1H), 3,62 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H), 3,07 - 3,17 (m, 1H), 2,67 - 2,76 (m, 1H), 2,26 (dd, $J = 16,9, 10,0$ Hz, 1H), 2,12 (br s, 1H), 1,32 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,84 - 0,93 (m, 9H), 0,07 (d, $J = 0,9$ Hz, 6H).

2.6.2. tert-butyl (1S,3R)-5-bromo-3-[[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (IVb)

[(1S,3R)-5-bromo-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy-tert-butyl-dimetyl-silan (IVa) (1,85 kg, 4,99 mol) và diclometan (13,0 L) được nạp vào bình phản ứng. N,N-diisopropyletylamin (1,94 kg, 14,9 mol) và di-tert-butyl dicarbonat (1,14 kg, 5,24 mol) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp được khuấy trong 12h. Hỗn hợp phản ứng được rửa hai lần bằng dung dịch amoni clorua bão hòa (10,0 L), lớp hữu cơ được làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Quy trình được tiến hành trên 2 mẻ song song với cùng kích thước và hai dịch lọc phản ứng được kết hợp và cô trong chân không. Hỗn hợp thô được tinh chế bằng sắc ký silicagel với ete dầu mỏ : etyl axetat (30:1) để thu được tert-butyl (1S,3R)-5-bromo-3-[[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (IVb) ở dạng dầu màu vàng (4,00 kg, độ tinh khiết 99,5%, hiệu suất 85,2%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,50 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,22 (br d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 7,06 - 7,18 (m, 1H), 4,84 (br s, 1H), 4,12 (br s, 1H), 3,46 (br d, $J = 15,4$ Hz, 2H), 2,94 (br dd, $J = 15,8, 5,2$ Hz, 1H), 2,71 (br t, $J = 9,5$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9 H), 1,28 (br s, 3H), 0,81 (s, 9H), -0,08 (s, 6H).

2.6.3. tert-butyl (1S,3R)-3-[[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (IVc)

Dung dịch chứa tert-butyl (1S,3R)-5-bromo-3-[[tert-butyl(dimetyl)silyl]oxymetyl]-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (IVb) (42,5 g, 90,3 mmol) trong THF khô (dung dịch 0,5 M) và dung dịch n-Butyllithi trong Hexan trên thị trường (dung dịch 1,6 M) được bơm lần lượt ở 6,0 ml/phút (1,0 đương lượng) và 2,46 mL/phút (1,3 đương lượng) và được trộn trong microchip bằng thủy tinh được làm lạnh ở nhiệt độ -40°C . Dòng chảy hỗn hợp được bơm qua vùng phản ứng 1 của microchip (0,3 mL) và sau đó được kết hợp với dung dịch chứa axeton khô (13,5 M) được bơm ở tốc độ 6,0 mL/phút (27 đương lượng). Dòng thu được sau đó được cho đi qua vùng phản ứng 2 của microchip (0,7 mL) ở -40°C . Cuối cùng, toàn bộ dòng chảy thoát ra khỏi bình phản ứng được thu gom và dập tắt ở nhiệt độ trong phòng trong dung dịch bão hòa chứa amoni clorua chứa nước. Khi toàn bộ dung dịch cấp được sử dụng hết, sẽ thu được hỗn hợp phản ứng hai lớp. Lớp nước được tách ra khỏi lớp hữu cơ, và sau đó được chiết hai lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước muối, làm khô trên natri sulfat khan và cô trong chân không. Dầu màu vàng được tạo ra (46,5 g) và được tinh chế bằng sắc ký SFC trên cột GreenSep Nitro (10 μ , 5x22,3

sử dụng CO₂ 98 %/chất giải hấp EtOH 2%). Dung môi được loại bỏ trong chân không để thu được chất rắn màu trắng, tert-butyl (1S,3R)-3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-5-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-1-methyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (IVc) (25 g, 56 mmol, hiệu suất 62%).

Pic cơ bản UPLC_MS 1 ở 3,83 min (ES⁺): 350 (M-Boc+H)⁺, 332 (M-Boc-H₂O+H)⁺, độ tinh khiết 100%.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,44 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,19 (dt, J = 8,1, 5,2 Hz, 1H), 7,09 (t, J = 9,0 Hz, 1H), 4,99 (s, 1H), 4,87 (dq, J = 13,4, 6,4 Hz, 1H), 4,11 (s, 1H), 3,96 (t, J = 14,9 Hz, 1H), 3,48 (dd, J = 9,4, 4,1 Hz, 1H), 2,98 (dd, J = 16,5, 5,0 Hz, 1H), 2,89 (t, J = 9,6 Hz, 1H), 1,65 (s, 3H), 1,58 (s, 3H), 1,55 (d, J = 2,5 Hz, 9H), 1,34 (dd, J = 20,5, 6,6 Hz, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,08 (d, J = 7,2 Hz, 3H), -0,00 (s, 3H).

2.7. Quy trình điều chế hợp chất trung gian (III) 2-[(1S,3R)-3-(hydroxymethyl)-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-ium-5-yl]propan-2-ol clorua

2.7.1. tert-butyl-dimethyl-[[[(1S,3R)-1-methyl-5-(1-methyl-1-trimethylsilyloxy-ethyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy]silyl]-a15

Tert-butyl (1S,3R)-3-[[tert-butyl(dimethyl)silyl]oxymethyl]-5-(1-hydroxy-1-methyl-ethyl)-1-methyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-carboxylat (Ivc) (148 g, độ tinh khiết 87%, 287 mmol) được hòa tan trong 1000 mL diclometan và được chuyển vào bình phản ứng thành kép có dung tích 2 lit. 2,6-Lutidin (100 mL, 860 mmol) được bổ sung và nhiệt độ lớp áo được để ở nhiệt độ -2°C. Trimethylsilyl triflometansulfonat (154 g, 129 mL, 692 mmol) được bổ sung trong 40 phút thông qua phễu bổ sung. Hai giờ sau khi bắt đầu bổ sung, phản ứng được dập tắt bằng cách bổ sung 650 mL dung dịch nước axit xitric (1M) và nhiệt độ của hỗn hợp được đưa trở lại 20°C. Một giờ sau khi bắt đầu dập tắt phản ứng, các lớp được tách ra. Lớp hữu cơ được rửa hai lần bằng 350 mL dung dịch nước axit xitric (1M). Lớp hữu cơ được khuấy với 750 mL dung dịch nước natri carbonat (10% khối lượng/khối lượng) trong 10 phút trước khi phân tách các lớp. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat khan. Lớp hữu cơ sau đó được lọc và dịch lọc được cô trong chân không ở 40°C thu được dầu màu vàng (128 g) của tert-butyl-dimethyl-[[[(1S,3R)-1-methyl-5-(1-methyl-1-trimethylsilyloxy-ethyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy]silyl]-a15 được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,19 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,07 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,00 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,24 (q, J = 6,8 Hz, 1H), 3,75 (dd, J = 9,7, 4,4 Hz, 1H), 3,60 (dd,

$J = 9,7, 7,0$ Hz, 1H), 3,54 (dd, $J = 16,3, 3,5$ Hz, 1H), 3,15 (ddt, $J = 10,9, 7,4, 4,0$ Hz, 1H), 2,52 (dd, $J = 16,3, 10,9$ Hz, 1H), 1,66 (d, $J = 14,6$ Hz, 6H), 1,52 – 1,43 (m, 3H), 0,92 (q, $J = 1,2$ Hz, 9H), 0,14 (q, $J = 1,2$ Hz, 2H), 0,09 (d, $J = 1,1$ Hz, 6H), 0,00 (q, $J = 1,2, 0,8$ Hz, 9H).

2.7.2. Hợp chất trung gian 2-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-ium-5-yl]propan-2-ol clorua (III)

Trong bình đáy tròn ba cổ được lắp thanh khuấy từ, tert-butyl-dimetyl-[[[(1S,3R)-1-metyl-5-(1-metyl-1-trimetylsilyloxy-etyl)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-yl]metoxy]silan a15 (20,0 g, 47,4 mmol) được hòa tan trong 220 mL isopropanol. Bổ sung 42,3 mL axit clohydric trong iso-propanol (5-6 M, gần 5 đương lượng) được bổ sung vào dung dịch này. 45 phút sau khi bổ sung axit clohydric, 100 mg mầm của sản phẩm mong muốn được đưa vào. Sau 7 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được lọc qua bộ lọc thô kết bằng thủy tinh. Bánh lọc được rửa bằng 40 mL isopropanol và được làm khô trong chân không ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. 11,1 g 2-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-ium-5-yl]propan-2-ol clorua (III) được tạo ra ở dạng chất rắn màu hơi hồng. Hiệu suất sau hai bước khử bảo vệ là 91%.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,46 (dd, $J = 7,8, 1,3$ Hz, 1H), 7,28 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,21 (dd, $J = 7,8, 1,3$ Hz, 1H), 4,63 (q, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,97 (dd, $J = 11,7, 3,8$ Hz, 1H), 3,88 (dd, $J = 17,2, 4,3$ Hz, 1H), 3,78 (dd, $J = 11,8, 6,1$ Hz, 1H), 3,66 – 3,56 (m, 1H), 3,14 (dd, $J = 17,2, 11,4$ Hz, 1H), 1,73 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 1,64 (d, $J = 4,8$ Hz, 6H). Các proton OH và NH không được theo dõi.

2.8. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I).

2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon

Trong bình phản ứng Easymax 100 mL được trang bị thanh khuấy từ, axit 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)axetic (II) (4,00 g, 15,4 mmol), 2-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-1-metyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-2-ium-5-yl]propan-2-ol clorua (III) (4,46 g, 16,4 mmol) và 48 mL DMF được nạp vào. Huyền phù được khuấy ở nhiệt độ 20°C và sau đó được làm lạnh bằng cách để nhiệt độ vỏ bình đến -2°C . Một khi nhiệt độ của hỗn hợp ở dưới 3°C , N,N-diisopropyletylamin (9,5 mL, 54 mmol) được bổ sung. 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluronium hexaflophosphat (6,4 g, 17 mmol) được bổ

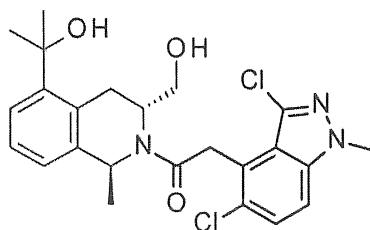
sung làm bốn phần trong 1 giờ. Hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ 45 trước khi đặt nhiệt độ vỏ bình ở 15°C. 16 mL nước sau đó được bổ sung trong khoảng một vài phút. 15 phút sau đó, 30 mg sản phẩm rắn được bổ sung ở dạng các hạt mầm để bắt đầu kết tinh. Nhiệt độ vỏ bình được để ở 20°C. Ba mươi phút sau, 16 mL nước được bổ sung trong 17 phút. Tiến hành khuấy huyền phù trong 2 h 15 ở 20°C trước khi được lọc trên bộ lọc thủy tinh thô kết. Bánh lọc được rửa bằng hai phần của 20 mL nước và sau đó được làm khô ở 50°C qua đêm trong chân không thu được 6,03 g 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon (I) (nguyên liệu thô).

Tiến hành tái kết tinh trên 5,00 g nguyên liệu thô thu được bằng cách trước hết tạo huyền phù trong 50 mL axetonitril. Nhiệt độ vỏ bình được để đến 70°C. Một khi chất rắn đã hòa tan và nhiệt độ khối đạt đến 66°C, 720 μ L nước được bổ sung. Nhiệt độ khối sau đó được làm nguội xuống 59°C và 125 mg sản phẩm rắn được bổ sung dưới dạng nguyên liệu tạo mầm. Sau đó nhiệt độ khối được giảm xuống 55°C trong 25 phút ở giai đoạn này quá trình kết tinh sẽ xảy ra. Nhiệt độ vỏ bình sau đó được giảm trong hai giờ từ 58°C xuống còn 20°C. Sau 50 phút, huyền phù được lọc và bánh lọc được rửa bằng 7,5 mL axetonitril. Sau đó, bánh lọc được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 45°C qua đêm và 2 giờ ở 50°C thu được 4,04 g 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon (I) dưới dạng bột màu trắng ngà (dạng hydrat) hiệu suất = 64%.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,65 (dd, J = 9,0, 2,2 Hz, 1H), 7,52 (dd, J = 9,0, 2,1 Hz, 1H), 7,37 (ddd, J = 19,6, 7,6, 1,7 Hz, 1H), 7,25 – 7,03 (m, 2H), 5,30 (q, J = 6,5 Hz, 0,3H), 5,16 – 4,99 (m, 1,7H), 4,99 – 4,84 (m, 0,7H), 4,63 – 4,30 (m, 3,3H), 4,17 – 3,93 (m, 4H), 3,28 (dt, J = 10,5, 5,1 Hz, 1,3H), 3,10 – 2,85 (m, 1,7H), 1,56 (dd, J = 13,2, 6,9 Hz, 6,7H), 1,24 (d, J = 6,5 Hz, 2,3H).

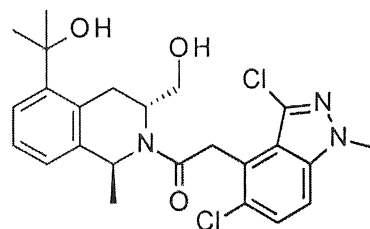
YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất 2-(3,5-diclo-1-metyl-indazol-4-yl)-1-[(1S,3R)-3-(hydroxymetyl)-5-(1-hydroxy-1-metyl-etyl)-1-metyl-3,4-dihydro-1H-isoquinolin-2-yl]etanon có công thức (I), hoặc muối được dụng của nó,



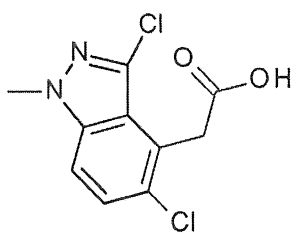
(I)

2. Hợp chất có công thức (I) theo điểm 1, trong đó hợp chất này là ở dạng monohydrat.
3. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) như được nêu trong điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, kết hợp với chất mang được dụng.
4. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I),

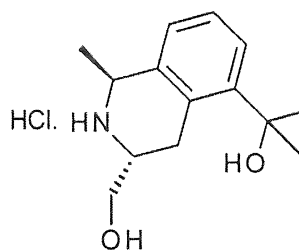


(I)

trong đó quy trình này bao gồm bước cho hợp chất trung gian có công thức (II) phản ứng với hợp chất trung gian có công thức (III)



(II)

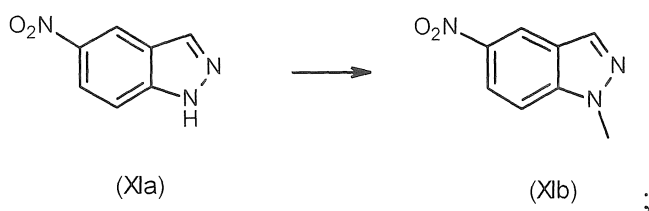


(III)

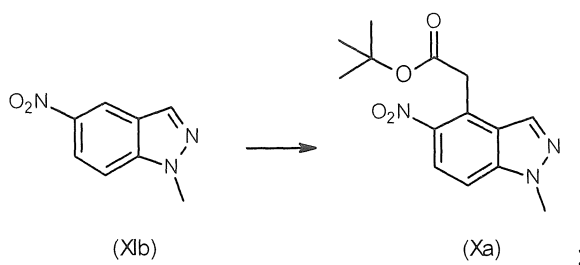
với sự hiện diện của chất liên kết, khi có mặt bazơ.

5. Quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) theo điểm 4, trong đó hợp chất có công thức (II) được điều chế bằng quy trình bao gồm các bước sau:

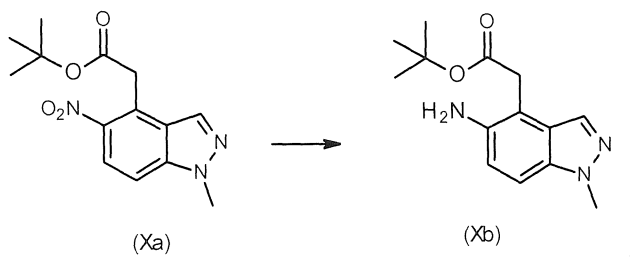
(i) cho hợp chất trung gian có công thức (XIa) phản ứng với methyl iodua, khi có mặt bazơ, để thu được hợp chất trung gian có công thức (XIb)



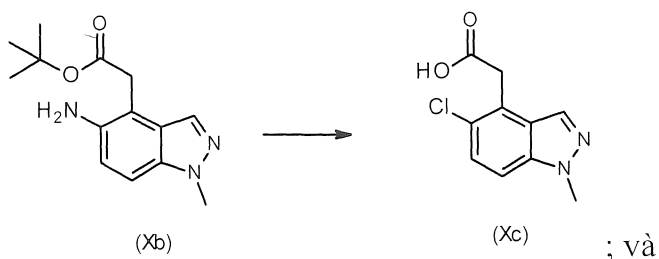
(ii) cho hợp chất trung gian có công thức (XIb) thu được ở bước (i) phản ứng với tert-butyl 2-cloaxetat, khi có mặt bazơ, để thu được hợp chất trung gian có công thức (Xa)



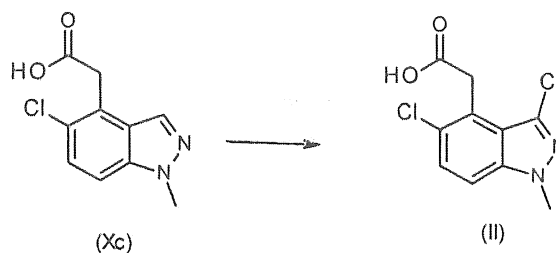
(iii) khử hợp chất trung gian có công thức (Xa) bằng cách hydro hóa có xúc tác Pd/C để thu được hợp chất trung gian có công thức chung (Xb)



(iv) tiến hành xà phòng hóa và phản ứng Sandmeyer của hợp chất trung gian có công thức (Xb) khi có mặt natri nitrit, axit mạnh và đồng clorua (II) để thu được hợp chất trung gian có công thức (Xc)



(v) clo hóa hợp chất trung gian có công thức (Xc) bằng N-clo-succinimit để thu được hợp chất trung gian có công thức (II)



6. Quy trình theo điểm 4, trong đó chất liên kết là 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexaflorophosphat và bazơ là N,N-diisopropyletylamin.

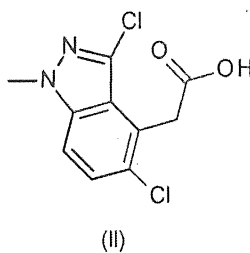
7. Quy trình theo điểm 4, trong đó quy trình này còn bao gồm bước tái kết tinh bổ sung để thu được dạng hydrat của hợp chất có công thức (I).

8. Quy trình theo điểm 5, trong đó bazơ trong bước (i) là kali hydroxit.

9. Quy trình theo điểm 5, trong đó bazơ trong bước (ii) là kali tert-butyl oxit.

10. Quy trình theo điểm 5, trong đó axit mạnh trong bước (iv) là hydro clorua.

11. Hợp chất có công thức (II),



12. Hợp chất có công thức (III),

