



(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) 
1-0019660

(51)⁷ **C07D 235/02, A61K 31/4184, A61P 25/28, C07C 49/323, C07D 403/06, 407/06**

(13) **B**

-
- (21) 1-2014-03306 (22) 04.03.2013
(86) PCT/US2013/028796 04.03.2013 (87) WO2013/134085 12.09.2013
(30) 61/606,786 05.03.2012 US
(45) 27.08.2018 365 (43) 25.03.2015 324
(73) 1. BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)
Binger Strasse 173, 55216 Ingelheim am Rhein, Germany
2. VITAE PHARMACEUTICALS, INC. (US)
502 West Office Center Drive, Fort Washington, Pennsylvania 19034, United States of America
(72) BUKHTIYAROV, Yuri (US), DILLARD, Lawrence, Wayne (US), DORNER-CIOSSEK, Cornelia (DE), FUCHS, Klaus (DE), JIA, Lanqi (US), LALA, Deepak, S. (US), MORALES-RAMOS, Angel (US), RAST, Georg (DE), REEVES, Jonathan (US), SINGH, Suresh, B. (US), VENKATRAMAN, Shankar (US), XU, Zhenrong (US), YUAN, Jing (US), ZHAO, Yi (US), ZHENG, Yajun (US), CACATIAN, Salvacion (US)
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)
-

(54) **HỢP CHẤT ỨC CHẾ BETA-SECRETASA VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY**

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất axylguanidin vòng xoắn, các hợp chất này là hữu dụng làm chất ức chế hoạt tính enzym β -secretaza (BACE1), và dược phẩm chứa các hợp chất này. Các hợp chất và dược phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị các rối loạn thoái hóa thần kinh, các rối loạn được đặc trưng bởi sự suy giảm nhận thức, sự sa sút nhận thức, bệnh sa sút trí tuệ và các bệnh được đặc trưng bởi sự sản sinh thể lắng đọng β -amyloid.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất axylguanidin vòng xoắn, các hợp chất này là hữu dụng làm chất ức chế hoạt tính enzym β -secretaza (β -secretase enzyme - BACE1), và được phẩm chứa các hợp chất này. Các hợp chất và được phẩm theo sáng chế là hữu dụng để điều trị các rối loạn thoái hóa thần kinh, các rối loạn được đặc trưng bởi sự suy giảm nhận thức, sự sa sút nhận thức, bệnh sa sút trí tuệ và các bệnh được đặc trưng bởi sự sản sinh các thể lắng đọng β -amyloid hoặc đám rối sợi thần kinh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các thể lắng đọng β -amyloid (cũng được đề cập đến ở đây là “Abeta” hoặc “A β ”) và đám rối sợi thần kinh là hai đặc điểm bệnh lý chính liên quan đến bệnh Alzheimer (Alzheimer’s disease - AD), bao gồm các dạng bệnh gia đình khởi phát sớm liên quan đến di truyền do sự đột biến trong protein tiền chất amyloid (amyloid precursor protein - APP), presenilin 1 và 2, cũng như AD đơn phát khởi phát muộn. Về mặt lâm sàng, AD được đặc trưng bởi sự mất trí nhớ, nhận thức, lập luận, phán đoán, và định hướng. Cũng bị ảnh hưởng, khi bệnh tiến triển, là khả năng vận động, cảm giác và ngôn ngữ cho tới khi xảy ra sự sa sút tổng thể của rất nhiều các chức năng nhận thức. Sự suy giảm nhận thức diễn ra dần dần, nhưng điển hình là dẫn đến suy giảm nghiêm trọng và cuối cùng là chết trong vòng từ 4 đến 12 năm.

Các thể lắng đọng β -amyloid chủ yếu là khối tích tụ của peptit Abeta, mà rồi tiếp theo nữa là sản phẩm của sự phân hủy protein APP. Cụ thể hơn, các peptit A β thu được từ sự phân hủy APP ở các đầu tận cùng C bởi một hoặc nhiều γ -secretaza, và ở các đầu tận cùng N bởi enzym β -secretaza (BACE1), cũng được biết là aspartyl proteaza và memapsin2, là một phần của quá trình sản sinh β -amyloid.

Hoạt tính BACE liên quan trực tiếp tới sự sản sinh peptit A β từ APP, và các nghiên cứu chỉ ra một cách gia tăng rằng sự ức chế BACE ức chế sự sản sinh peptit A β .

Các mảng sản sinh amyloid và bệnh mạch máu gây ra do amyloid cũng là đặc điểm đặc trưng của não người bệnh bị Trisomy 21 (hội chứng Down), xuất huyết não di truyền có chứng thoái hóa dạng tinh bột dạng Dutch (Hereditary Cerebral

Hemorrhage with Amyloidosis of the Dutch-type-HCHWA-D), và các rối loạn thoái hóa thần kinh khác. Đám rối sợi thần kinh cũng xảy ra trong các rối loạn thoái hóa thần kinh khác bao gồm các rối loạn gây ra do bệnh sa sút trí tuệ.

Gần đây, Abeta đã được thông báo là có liên quan trong sự phát triển quá trình chết tế bào theo chương trình tế bào hạch võng mạc (retinal ganglion cell - RGC) trong chứng glôcôm, với bằng chứng về sự xử lý protein tiền chất amyloid bất thường được trung gian bởi caspaza-3, sự biểu hiện gia tăng Abeta trong RGC trong chứng glôcôm thử nghiệm và mức A β dạng thủy tinh giảm (phù hợp với sự tích tụ A β ở võng mạc) ở những bệnh nhân bị chứng glôcôm. Sự lắng đọng amyloid cũng có liên quan đến sự thoái hóa điểm vàng ở những bệnh nhân bị thoái hóa điểm vàng liên quan tới lão hóa khô (age-related macular degeneration - AMD) và trong các mô hình động vật của chứng AMD.

Tài liệu patent số WO 2010/021680, WO2011/106414 và WO 2010/105179 bộc lộ hợp chất axylguanidin vòng xoắn có khung vòng spiro làm các chất ức chế beta-secretaza.

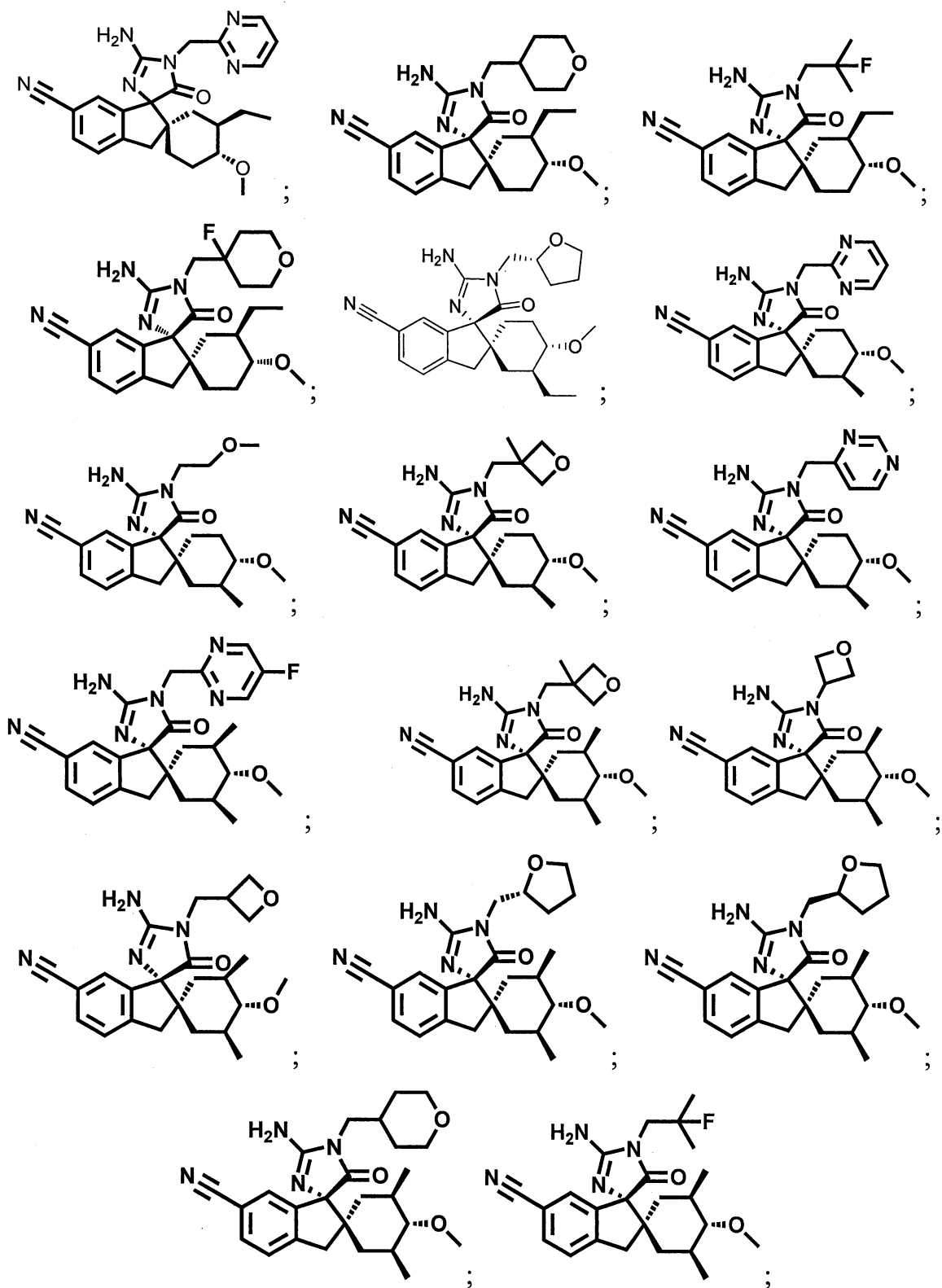
Bản chất kỹ thuật của sáng chế

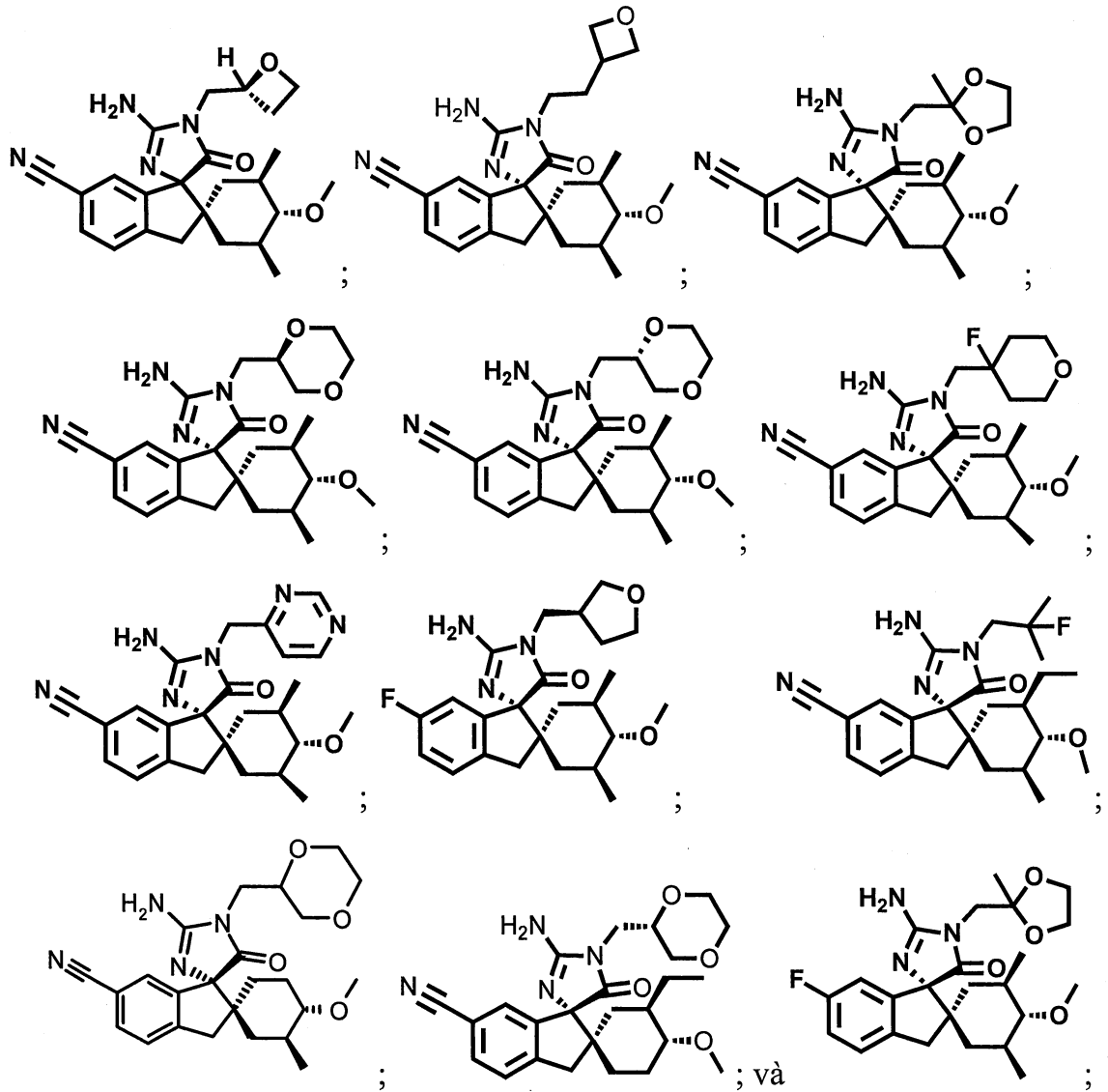
Mục đích của sáng chế là đề xuất các hợp chất là các chất ức chế BACE1 và là hữu ích làm chất điều trị trong điều trị bệnh hoặc các rối loạn được đặc trưng bởi sự lắng đọng β -amyloid gia tăng hoặc mức β -amyloid gia tăng trong bệnh nhân. Các chất ức chế BACE1 được bộc lộ không chỉ là các chất ức chế enzym BACE1 hiệu lực cao (thử nghiệm 1) mà còn thể hiện:

- (1) hoạt tính ức chế hiệu lực cao trong thử nghiệm Abeta tế bào (thử nghiệm 2),
- (2) tính chọn lọc kháng lại kênh gen liên quan đến Ete-à-go-go (cardiac hERG – cardiac human Ether-à-go-go-Related Gene) tìm ở người trong thử nghiệm tế bào (thử nghiệm 3), và
- (3) khuynh hướng thấp gây ra sự tích lũy phospholipit quá mức trong thử nghiệm về sự tích lũy phospholipit quá mức (thử nghiệm 4).

Do đó, sáng chế đề xuất hợp chất thể hiện đặc điểm kết hợp bao gồm hoạt tính hiệu lực cao làm các chất ức chế BACE1, tính chọn lọc cao kháng lại kênh hERG tim, và hoạt tính tích lũy phospholipit quá mức thấp.

Một phương án của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:





hoặc muối dược dụng của hợp chất bất kỳ nêu trên. Các hợp chất nêu trên được đề cập đến ở đây là “các hợp chất theo sáng chế”.

Phương án khác của sáng chế là đề xuất hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng để sử dụng làm dược phẩm.

Phương án khác của sáng chế là đề xuất dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng cùng với tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

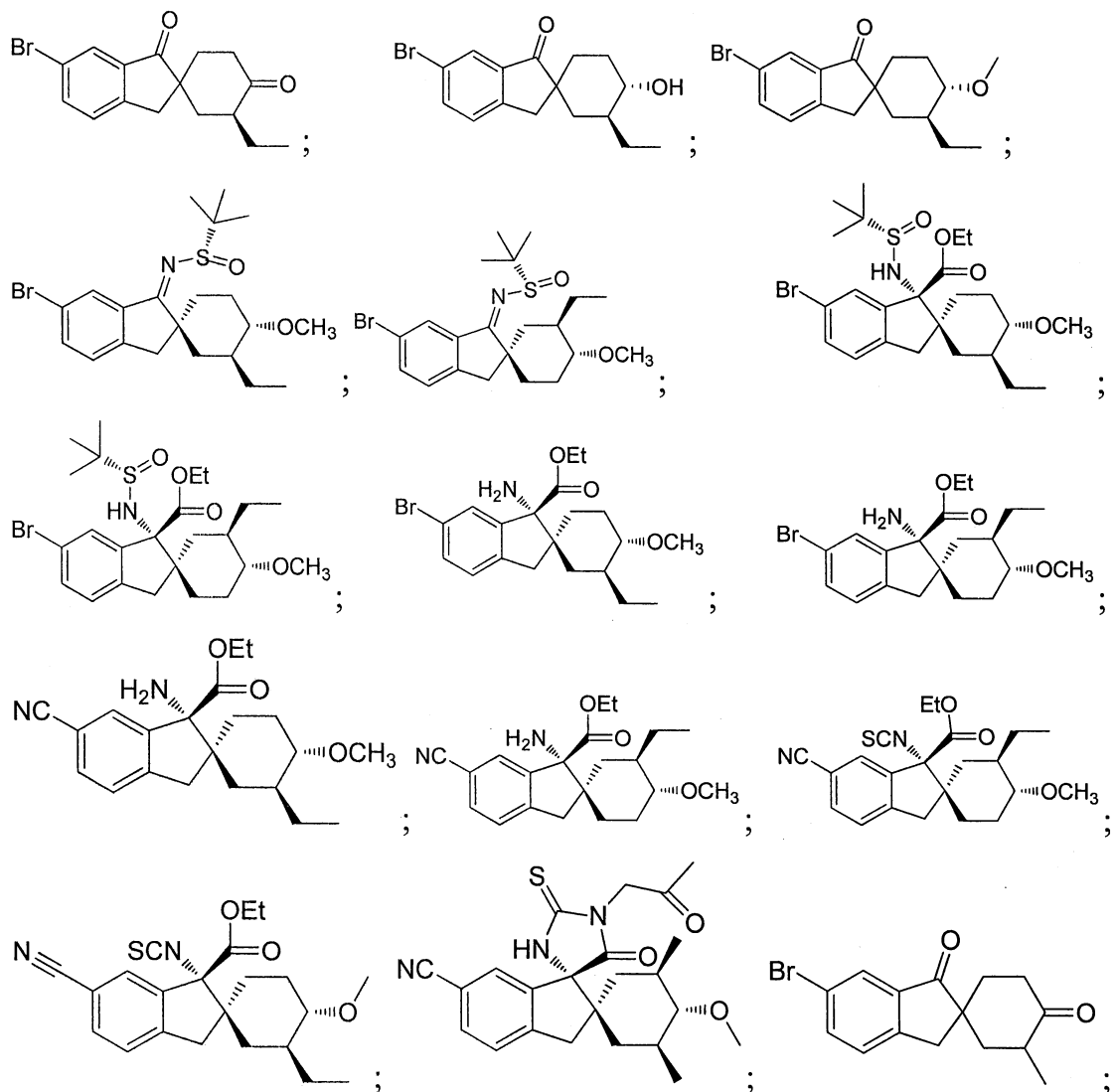
Phương án khác của sáng chế là đề xuất hợp chất theo sáng chế hoặc muối dược dụng của chúng để sử dụng trong điều trị các rối loạn hoặc bệnh gây ra do BACE1 trong đối tượng.

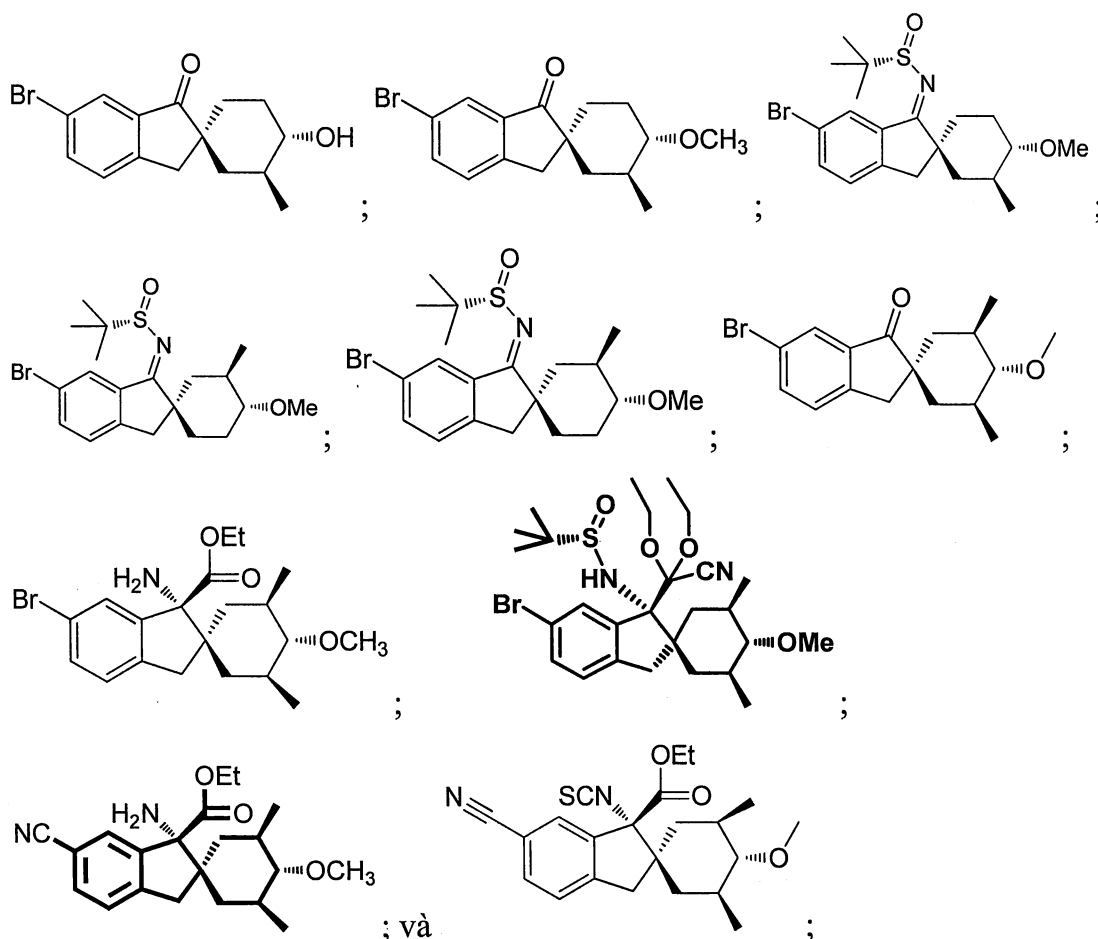
Bản mô tả mô tả việc sử dụng hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó để sản xuất được phẩm để điều trị các rối loạn gây ra do BACE1 trong đối tượng.

Phương án khác của sáng chế là đề xuất được phẩm để điều trị các rối loạn hoặc bệnh gây ra do BACE1 trong đối tượng chứa hợp chất theo sáng chế.

Bản mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị cho đối tượng bị mắc các rối loạn hoặc bệnh gây ra do BACE1, bao gồm dùng cho đối tượng lượng này lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó.

Phương án khác nữa của sáng chế là đề xuất hợp chất trung gian được sử dụng trong phương pháp điều chế hợp chất theo sáng chế. Các hợp chất trung gian này có công thức cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:





hoặc muối của các hợp chất bất kỳ được đề cập trên đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế thể hiện hoạt tính có hiệu lực kháng lại enzym BACE1 và sự tạo thành Abeta cùng với tính chọn lọc kháng lại kênh hERG và xu hướng thấp gây ra sự tích lũy phospholipit quá mức. Ví dụ, các hợp chất theo sáng chế thể hiện sự ức chế BACE1 với $IC_{50} < 15$ nM, sự ức chế sản sinh Abeta tế bào với IC_{50} là < 2 nM, sự ức chế hERG $< 50\%$ ở nồng độ là $10 \mu M$, và sự tích lũy phospholipit quá mức với nồng độ hiệu quả đầu tiên (First Effect Concentration - FEC) là $> 150 \mu M$. Các đặc điểm này kết hợp với nhau làm cho các hợp chất theo sáng chế là hữu ích để điều trị các tình trạng bệnh lý ở người, cụ thể là, để điều trị bệnh Alzheimer cũng như các rối loạn và các bệnh khác gây ra bởi BACE1.

Sự ức chế kênh gen liên quan đến Ete-à-go-go ở người (hERG - human Ether-à-go-go-Related Gene) bằng sinh chất lạ và sự tái phân cực tim chậm sau đó có liên quan đến nguy cơ cao bị chứng loạn nhịp nhanh thất đa hình đặc hiệu, xoắn đỉnh (một dạng của tim nhịp nhanh thất với các phức hợp QRS đa hình thái), như được thiết lập bởi Sanguinetti và các đồng tác giả (1995, Cell, Apr. 21, 81(2):299-307) và phần lớn bằng

chứng sau đó. Để tránh nguy cơ này sớm, sàng lọc dựa trên tương tác hERG trong hệ thống *in vitro* sử dụng sự biểu hiện khác loài kênh hERG là thói quen thông thường và thử nghiệm kiểu này cũng là phần quan trọng của profile lựa chọn các chất tiền lâm sàng sau đó như được giới thiệu bằng hướng dẫn: “ICH S7B (International Conference on Harmonization (2005): ICH Topic S 7 B The nonclinical Evaluation of the Potential for delayed Ventricular Repolarization; (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals (www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html))”. Như vậy, được hiểu là, sự ức chế kênh hERG thấp, như được thể hiện bởi các hợp chất theo sáng chế, là mong muốn cao cho các liệu pháp điều trị.

Sự tích lũy phospholipit quá mức là rối loạn dự trữ lipit trong đó sự tích lũy phospholipit quá mức trong các tế bào. Sự tích lũy phospholipit quá mức gây ra do được chất là phản ứng được chất không mong muốn. Do đó, để tránh các tác dụng phụ có hại, các hợp chất có khả năng tích lũy phospholipit quá mức thấp được ưu tiên để sử dụng trong các liệu pháp điều trị cho người.

Dữ liệu cung cấp trong bảng 1 dưới đây cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có đặc điểm kết hợp này bao gồm hoạt tính tế bào BACE1 mạnh, tính chọn lọc kháng lại hERG tim và xu hướng thấp gây ra sự tích lũy phospholipit quá mức. Được cho rằng các hợp chất này được nêu trong tài liệu sáng chế số WO 2010/021680 và WO 2010/105179 không có sự kết hợp của các đặc điểm mong muốn này. Ngoài ra, bảng 2 cung cấp dữ liệu thể hiện rằng các hợp chất nhất định theo sáng chế có các giá trị ức chế IC₅₀ thấp hơn đáng kể trong thử nghiệm enzym BACE1 và cũng như trong thử nghiệm Abeta tế bào so với các hợp chất so sánh nhất định được mô tả trong tài liệu sáng chế số WO 2010/105179.

Các thuật ngữ không được định nghĩa cụ thể ở đây nên được xác định các nghĩa của chúng sẽ được đưa ra bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế này. Như được sử dụng trong bản mô tả này, trừ khi được chỉ định ngược lại, các thuật ngữ sau có nghĩa được chỉ định và các quy ước sau được đi kèm với.

Khi hợp chất theo sáng chế được chỉ định bằng tên hoặc cấu trúc không chỉ định tất cả các dạng tautome, được hiểu rằng hợp chất này và các muối được dụng của nó sẽ bao hàm tất cả các tautome.

Khi hợp chất theo sáng chế được mô tả bằng tên hoặc cấu trúc không chỉ định hóa học lập thể, nó là được hiểu rằng hợp chất này và các muối được dụng của nó sẽ bao hàm tất cả các chất đồng phân lập thể, quang học và hình học (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, các chất đồng phân E/Z, và các chất tương tự khác) và các raxemat của nó, cũng như các hỗn hợp với các tỷ lệ khác nhau chứa các chất đồng phân đối ảnh tách biệt, các hỗn hợp chứa chất đồng phân không đối quang, hoặc các hỗn hợp chứa các dạng được đề cập trên đây bất kỳ.

Khi chất đồng phân lập thể, quang học và hình học được mô tả bằng tên hoặc cấu trúc, được hiểu rằng độ tinh khiết đồng phân lập thể, quang học và/hoặc hình học của chất đồng phân lập thể, quang học hoặc hình học được nêu tên hoặc được mô tả là độ tinh khiết ít nhất 60%, 70%, 80%, 90%, 99% hoặc 99.9% tính theo trọng lượng. Độ tinh khiết đồng phân lập thể, quang học và hình học được xác định bằng cách chia trọng lượng của chất đồng phân lập thể, quang học hoặc hình học được nêu tên hoặc được mô tả trong hỗn hợp cho tổng trọng lượng tất cả chất đồng phân lập thể, quang học hoặc hình học trong hỗn hợp này.

Khi hợp chất theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó được đặt tên hoặc được mô tả bằng cấu trúc, được hiểu rằng các solvat, các hydrat và dạng khan của các hợp chất này và các solvat, các hydrat và dạng khan của muối được dụng của nó được bao hàm trong sáng chế này. "Các solvat" đề cập đến các dạng tinh thể trong đó các phân tử dung môi được đưa vào trong mạng tinh thể này trong quá trình kết tinh. Dung môi có thể bao gồm nước hoặc dung môi không phải là nước như etanol, isopropanol, DMSO, axit axetic, etanolamin, và EtOAc. Các dung môi, trong đó nước là phân tử dung môi được đưa vào trong mạng tinh thể, thường được đề cập đến là "các hydrat." Các hydrat bao gồm các hydrat tỷ lệ cũng như các chế phẩm chứa các khối lượng nước khác nhau. "Dạng khan" đề cập đến các hợp chất không có dung môi hoặc nước hoặc hầu như không có dung môi hoặc nước được kết hợp ở trong cấu trúc tinh thể này (ví dụ, ít hơn tỷ lệ mol 1:10, 1:20; 1:100; hoặc 1:200 giữa dung môi hoặc nước với hợp chất).

Các muối

Cụm từ "được dụng" được sử dụng ở đây để đề cập đến các hợp chất, các nguyên liệu, các chế phẩm, và/hoặc các dạng phân liều này mà là trong phạm vi lĩnh

vực được, thích hợp để sử dụng tiếp xúc với mô của người và động vật không gây ra độc tính, kích ứng, phản ứng dị ứng quá mức, hoặc các vấn đề hoặc phiền toái khác, và tương xứng với tỷ lệ hữu ích/nguy cơ hợp lý.

Như được sử dụng ở đây, "các muối được dụng" đề cập đến các dẫn xuất của các hợp chất được bộc lộ trong đó hợp chất ban đầu này được cải biến bằng cách tạo ra các muối axit hoặc bazơ của nó. Các ví dụ về các muối được dụng bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, các muối axit vô cơ hoặc hữu cơ của các gốc bazơ như các amin; các muối kiềm hoặc hữu cơ của các gốc axit như axit cacboxylic; và chất tương tự. Ví dụ, các muối này bao gồm các muối từ amoniac, L-arginin, betain, benethamin, benzathin, canxi hydroxit, cholin, deanol, dietanolamin (2,2'-iminobis(etanol)), dietylamin, 2-(dietylamin)-etanol, 2-aminoetanol, etylendiamin, N-etyl-glucamin, hydrabamin, 1H-imidazol, lysin, magiê hydroxit, 4-(2-hydroxyetyl)-morpholin, piperazin, kali hydroxit, 1-(2-hydroxyetyl)-pyrrolidin, natri hydroxit, trietanolanin (2,2',2''-nitrilotris(etanol)), tromethamin, kẽm hydroxit, axit axetic, axit 2,2-diclo-axetic, axit adipic, axit alginic, axit ascorbic, axit L-aspartic, axit benzensulfonic, axit benzoic, axit 2,5-dihydroxybenzoic, axit 4-axetamido-benzoic, axit (+)-camphoric, axit (+)-camphor-10-sulfonic, axit cacbonic, axit xinnamic, axit xitric, axit xyclamic, axit decanoic, axit dodexylsulfuric, axit etan-1,2-disulfonic, axit etansulfonic, axit 2-hydroxy-etansulfonic, axit etylendiamintetraaxetic, axit formic, axit fumaric, axit galactaric, axit gentisic, axit D-glucoheptonic, axit D-gluconic, axit D-glucuronic, axit glutamic, axit glutaric, axit 2-oxo-glutaric, axit glycerophosphoric, glyxin, axit glycolic, axit hexanoic, axit hippuric, axit hydrobromic, axit clohydric, axit isobutyric, axit DL-lactic, axit lactobionic, axit lauric, lysin, axit maleic, axit (-)-L-malic, axit malonic, axit DL-mandelic, axit metansulfonic, axit galactaric, axit naphtalen-1,5-disulfonic, axit naphtalen-2-sulfonic, axit 1-hydroxy-2-naphthoic, axit nicotinic, axit nitric, axit octanoic, axit oleic, axit orotic, axit oxalic, axit palmitic, axit pamoic (axit embonic), axit phosphoric, axit propionic, axit (-)-L-pyroglutamic, axit salicylic, axit 4-amino-salicylic, axit sebacic, axit stearic, axit succinic, axit sulfuric, axit tannic, axit (+)-L-tartaric, axit thioxyanic, axit p-toluensulfonic và axit undexylenic. Các muối được dụng nữa có thể được tạo ra với các cation từ các kim loại như nhôm, canxi, lithi, magiê, kali, natri, kẽm và kim loại tương tự (xem tài liệu: "Pharmaceutical salts, Berge, S.M. *et al.*, J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19").

Các muối được dụng này theo sáng chế có thể được điều chế từ các hợp chất ban đầu mà chứa gốc bazơ hoặc axit bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nhìn chung, các muối này có thể được điều chế bằng cách cho phản ứng với các dạng axit hoặc bazơ tự do của các hợp chất này với khối lượng thích hợp bazơ hoặc muối thích hợp trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril, hoặc hỗn hợp của nó.

Các muối của các axit không phải là các muối được đề cập trên đây mà ví dụ là hữu ích để tinh chế hoặc phân tách các hợp chất theo sáng chế (ví dụ, các muối triflo axetat) cũng là một phần của sáng chế này.

Dữ liệu sinh học

BACE1 (Thử nghiệm 1)

Hoạt tính ức chế của các hợp chất được đánh giá bằng thử nghiệm hoạt tính BACE1 dùng huỳnh quang sử dụng chất nền sẵn có trên thị trường HiLyte Flo™488-Glu-Val-Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-Lys-(QXL™ 520)-OH (SEQ ID NO:1) AnaSpec, San Jose, CA) và beta-secretaza người được cắt cụt, BACE1 (các axit amin từ 1-454) được dung hợp với đuôi myc-his và được tiết từ các tế bào HEK293/BACE_{ect.} vào trong OptiMEM™ (Invitrogen). Chất nền này được hòa tan với tốc độ 1 mg/ml trong DMSO.

Thử nghiệm này được thực hiện trong khi có mặt OptiMEM (phần nổi được thu thập trong vòng 24 giờ và được làm trong ra khỏi các mảnh vỡ tế bào bằng cách ly tâm) chứa khu vực ngoài (ectodomain) của BACE1, 25 µl nước chứa nồng độ gấp 2-lần mong muốn hợp chất thử nghiệm và 2% DMSO, 1 µM peptit chất nền, 20 mM NaOAc, pH 4,4, và 0,04% Triton-X100 trong tổng số thể tích thử nghiệm chứa 50 µl trong đĩa 384 lỗ. Nhìn chung, 25 µl hợp chất pha loãng được đưa vào đĩa này sau đó bổ sung 10 µl BACE1 chứa OptiMEM™ được pha loãng 1:10 trong nước có 0,2% Triton X-100. Phản ứng này được bắt đầu bằng sự bổ sung 15 µl chất nền trong đệm NaOAc. Ủ phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng (tối) trong máy đọc đa nhãn Envision® (Perkin Elmer) và sự phân giải chất nền này được ghi lại là động học trong 60 phút ở kích thích: 485 nm, phát ra: 538 nm. Các lỗ trống không chứa enzym được đưa vào trên mỗi đĩa.

Cường độ huỳnh quang được thoái lui theo thời gian để thu được tốc độ phản ứng trong tất cả 384 lỗ. Các tốc độ này được sử dụng để tính toán phần trăm đối chứng sử dụng sự đối chứng không ức chế chứa 1% DMSO là 100% và đối chứng trống được thực hiện khi không có enzym là 0%. Các giá trị IC_{50} được tính toán bằng cách điều chỉnh phần trăm đối chứng so với nồng độ hợp chất thử nghiệm sử dụng Assay Explorer.

Thử nghiệm dựa trên tế bào H4-APPwt (Thử nghiệm 2)

Tiềm năng tế bào của các hợp chất theo sáng chế được đánh giá trong thử nghiệm theo dõi sản sinh các peptit Abeta1-x trong dòng tế bào u thần kinh đệm H4 (ATCC, Cat. #HTB-148) biểu hiện ổn định APP người, sử dụng thử nghiệm miễn dịch như AlphaLISA (PerkinElmer, Cat.# AL288). Hoà tan các hợp chất thử nghiệm trong DMSO và được pha loãng trước trong môi trường nuôi cấy (DMEM chứa 10% FBS và 1% penixilin/streptomycin) để thu được hai lần nồng độ cuối cùng của hợp chất này trong thử nghiệm này. Các thể tích tương đương của các dung dịch có nồng độ thử nghiệm gấp hai lần chứa các hợp chất thử nghiệm này và huyền phù tế bào được bổ sung vào đĩa nuôi cấy 96 lỗ, sao cho mỗi lỗ chứa ~10.000 tế bào trong thể tích cuối cùng là 200 μ l. Nồng độ cuối cùng DMSO trong thử nghiệm này là 0,2%. Ủ các đĩa này trong 5 giờ ở 37°C, 5% CO₂ để các tế bào gắn với đáy của các lỗ này trong sự có mặt của các hợp chất thử nghiệm này. Sau đó loại bỏ môi trường này và thay bằng môi trường sạch chứa các hợp chất thử nghiệm ở cùng nồng độ cuối cùng. Ủ các đĩa này trong 18 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Các nồng độ Ab1-x được xác định sử dụng thử nghiệm miễn dịch AlphaLISA (PerkinElmer, Cat.# AL288) theo quy trình của nhà sản xuất. Nồng độ Abeta1-x trong các lỗ chứa DMSO hoặc 10 μ M chất ức chế beta-secretaza (chất ức chế BACE IV, EMD Bioscience, Cat. #565788) được sử dụng làm đối chứng không bị ức chế và đối chứng nền một cách tương ứng, để tính toán các giá trị phần trăm ức chế cho mỗi lỗ với các hợp chất thử nghiệm này. Các giá trị phần trăm ức chế này được hồi quy dựa trên các nồng độ hợp chất sử dụng sự điều chỉnh đường cong bốn thông số, và các giá trị IC_{50} (nồng độ hợp chất mà gây ra hiệu quả ức chế 50% được quan sát) được tính toán là nồng độ hợp chất tương ứng với điểm uốn trên đường cong này.

Thử nghiệm kênh-hERG (Thử nghiệm 3)

Các tế bào:

293 tế bào HEK (thận phôi người - human embryonic kidney) được chuyển nhiễm ổn định cADN hERG.

Các máy bơm pipet và các dung dịch:

Tách các tế bào bằng bể dung dịch chứa (mM): NaCl (137), KCl (4.0), MgCl₂ (1.0), CaCl₂ (1.8), Glucoza (10), HEPES (10), pH 7,4 bằng NaOH. Các pipet nối tạm thời được tạo từ hệ thống ống thủy tinh borosilicat sử dụng dụng cụ kéo nằm ngang và được nạp dung dịch cho pipet chứa (mM): K-aspartat (130), MgCl₂ (5.0), EGTA (5.0), K₂ATP (4.0), HEPES (10.0), pH 7,2 bằng KOH. Điện trở của các vi điện cực nằm trong khoảng từ 2 đến 5 MΩ.

Kích thích và ghi lại:

Các dòng điện màng được ghi lại sử dụng máy khuếch đại kẹp đốm EPC-10 và phần mềm PatchMaster. Các dòng điện màng qua trung gian hERG được ghi lại ở 35°C, sử dụng cấu hình toàn bộ tế bào của kỹ thuật kẹp-tạm thời. Các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm được kẹp ở điện thế duy trì là -60 mV và các dòng điện phía sau bất hoạt qua trung gian hERG được tạo ra sử dụng mô hình xung có các biên độ cố định (sự hoạt hóa/sự bất hoạt: 40 mV trong 2000 ms; sự phục hồi : -120 mV trong 2 ms; độ biến đổi đến 40 mV trong 2 ms; dòng điện phía sau bất hoạt: 40 mV trong 50 ms) được lặp lại với các khoảng cách 15s. Trong mỗi khoảng cách giữa các xung, 4 xung được thu nhỏ dần bằng yếu tố 0,2 được ghi lại trong quá trình trừ khe hở P/n. Độ bù Rs được sử dụng lên đến mức cho phép an toàn mà ghi lại không rõ ràng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Điều chế hợp chất và ứng dụng:

Các nồng độ khác nhau hợp chất thử nghiệm được áp dụng lần lượt trên mỗi tế bào khác nhau được kiểm tra. Mức ổn định vững chắc của dòng điện đường cơ sở được đo trong ít nhất 6 lần quét trước khi áp dụng nồng độ hợp chất thử nghiệm thứ nhất.

Hợp chất thử nghiệm được hòa tan trong DMSO thu được dung dịch gốc mẫu mà được hòa tan tiếp trong DMSO thành các dung dịch gốc cần cho các nồng độ thấp hơn. Các độ pha loãng cuối cùng trong đệm ngoại bào được chuẩn bị ngay từ các dung dịch gốc này bằng bước pha loãng 1:1000 trước khi bắt đầu các thử nghiệm này.

Phân tích dữ liệu:

Các biên độ dòng điện cao nhất được đo 3 ms sau độ biến đổi đến +40 mV. Cho đường cơ sở và mỗi nồng độ các dòng điện biên độ của ba lần quét cuối cùng trước khi áp dụng nồng độ tiếp theo được tính trung bình. Các dòng điện dư (I/I_0) được tính toán cho mỗi tế bào là phân số của dòng điện cao nhất trung bình thực tế và dòng điện cao nhất đường cơ sở trung bình. Các kết quả được trình bày là phần trăm (%) ức chế $(1 - I/I_0) \times 100\%$ ở $10 \mu\text{M}$.

Thử nghiệm về sự tích lũy phospholipit quá mức In vitro (Thử nghiệm 4)

Tiềm năng tạo ra phospholipit của các hợp chất thử nghiệm được thử nghiệm sử dụng dòng tế bào U937 sinh huyết người. Nguyên tắc thử nghiệm là để phân tích hàm lượng phospholipit bằng cách nhuộm tế bào này bằng thuốc nhuộm huỳnh quang đo Nile.

Các tế bào U937 được nhân lên trong các đĩa nuôi cấy tế bào với mật độ là $0,5 \times 10^6$ tế bào/mL trong môi trường RPMI chứa 10% FBS, 1 % DMSO, và 0,005 % gentamixin. Các tế bào này sau đó được nuôi có hoặc không có các nồng độ khác nhau hợp chất thử nghiệm trong 48 giờ dưới các điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn.

Để thu hồi các tế bào này được ly tâm với tốc độ $130 \times g$ trong 4 phút và rửa một lần bằng PBS. Sau đó $2 \times 0,5 \text{ mL}$ huyền phù tế bào được chuẩn bị để cho phép đo tế bào không cố định ($0,5 \text{ mL}$ cho phép đo khả năng sống sót propidi iodua (propidium iodide-PI) và $0,5 \text{ mL}$ cho phép đo đo Nile).

Các tế bào còn lại được cố định bằng formaldehyt 3,7% trong 30 phút. Sau bước ly tâm tiếp theo, tái tạo huyền phù các tế bào bằng $1,3 \text{ mL}$ dung dịch hoạt động đo Nile ($1 \mu\text{g/mL}$) và ủ trong 5 phút ở nhiệt độ trong phòng. Huyền phù tế bào này sau đó được rửa hai lần bằng 3 mL PBS và ly tâm bằng 130 vòng/phút trong 4 phút. Gạn bỏ phần nổi và tái tạo huyền phù các tế bào này bằng $0,5 \text{ mL}$ PBS và được giữ cho phép đo đo dòng tế bào.

Để nhuộm đo Nile $0,5 \text{ mL}$ mẫu tế bào không cố định, $50 \mu\text{L}$ dung dịch đo Nile sử dụng được ngay ($10 \mu\text{g/mL}$) được thêm vào mỗi mẫu. Giữ các mẫu trên đá lạnh trong 5 phút. Sau đó, chúng được rửa một lần bằng 4 mL PBS (4°C , $250 \times g$ trong 8

phút) và cuối cùng tái tạo huyền phù trong 400 μ L PBS và được giữ cho phép đo đo dòng tế bào.

Cho phép đo khả năng sống sót, 12,5 μ L dung dịch PI sử dụng ngay (10 μ g/mL) được cho vào 0,5 mL dung dịch huyền phù tế bào không cố định. Sau khi ủ 15 phút trên đá lạnh, các mẫu này được đo bằng phép đo dòng tế bào sử dụng thiết bị đo dòng tế bào Coulter Epics XL/MCL.

Khả năng sống sót của các tế bào này của mỗi mẫu được xác định bằng phép đo đo dòng tế bào đo hàm lượng PI ở kênh 2 (568-590 nm). Các cổng ngưỡng cho sự khác biệt phụ thuộc huỳnh quang giữa các tế bào sống và chết được xác định dựa trên phân tích các mẫu đối chứng môi trường nuôi cấy tế bào.

Chỉ các mẫu có khả năng sống tế bào là $\geq 90\%$ so với các mẫu đối chứng được phân tích sự tích lũy phospholipit quá mức. Để phân tích mẫu này, mỗi mẫu đỏ Nile (các mẫu cố định và không cố định) được đo bằng phép đo dòng tế bào ở kênh 1 (504-541 nm) và kênh 4 (660-680 nm).

Cho mỗi kênh, cường độ huỳnh quang đỏ Nile tương đối của mẫu thử nghiệm được tính toán so với các mẫu đối chứng và được thể hiện là phần trăm cường độ huỳnh quang đối chứng. Đánh giá tiềm năng tạo ra phospholipit và nồng độ hữu hiệu thứ nhất (first effect concentration-FEC) của hợp chất thử nghiệm được thực hiện thủ công dựa trên cường độ huỳnh quang ở cả hai bước sóng cho các tế bào cố định cũng như các tế bào không cố định.

Thử nghiệm làm giảm A β trong não chuột kiểu đại (Thử nghiệm 5)

Hiệu quả *in vivo* của các hợp chất theo sáng chế được chứng minh trong thử nghiệm làm giảm (sự giảm bớt) A β trong não chuột kiểu đại, và dữ liệu này được trình bày trong bảng 3. Các con chuột kiểu đại đực Sprague-Dawley, từ 5 đến 6 tuần tuổi, được sử dụng để chứng minh khả năng của các hợp chất theo sáng chế để làm giảm peptit amyloid trong não A β 1-x. Các hợp chất được dùng thông qua ống qua đường miệng trong 1% Polysorbate-80 và 0,5% Natrosol[®], với các liều dùng đơn được chỉ định trong bảng 3. Các con vật bị giết 3 giờ sau khi dùng liều này, và cắt lấy phần não, cắt riêng phần tiểu não và phần não phải và trái và được làm lạnh nhanh trong nitơ lỏng.

Não này được làm đồng nhất (5 thể tích cho mỗi trọng lượng) trong 20 mM Tris-HCL, pH 8,5, 0,2% Triton-X100 được bổ sung chất ức chế proteaza (cOmplete, Roche Applied Science) ở 4°C sử dụng thiết bị đồng nhất Dounce thủy tinh. Ly tâm dịch đồng nhất này ở tốc độ 120.000 vòng/phút trong 60 phút ở 4°C, và thu phần nổi và phân tích Ab1-x sử dụng thử nghiệm miễn dịch có sự phát hiện phát quang hóa học (Meso-Scale Discovery, Rockville, MD (MSD)).

Các đĩa 96-lỗ streptavidin (MSD) được phong bế trước bằng dung dịch chất chặn A 5% (MSD) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng trên máy lắc tròn và rửa 4 lần bằng nước muối đệm phosphat (phosphate buffered saline-PBS). Các lỗ này được phủ trước bằng 20 ng/lỗ kháng thể được biotinylat hóa SIG-39155 (Dòng đơn tính M3.2, đặc hiệu cho axit amin từ 10-15 của A β chuột) trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng và rửa 4 lần bằng PBS. Để phân tích A β 1-x, 25 μ l dịch dung giải não trong hoặc A β 1-40 tiêu chuẩn (8-500 pg/ml, có số gia 2x) được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng kèm lắc liên tục. Các lỗ này được rửa 4 lần bằng PBS, và 25 μ l kháng thể phát hiện (kháng thể kháng A β 40 được đánh dấu Sulfo-TAG được cung cấp bởi MSD) được bổ sung và được ủ trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Sau 4 lần rửa bằng PBS, 150 μ l chất phản ứng phát hiện phát quang hóa học (Read Buffer T, MSD) được bổ sung vào, và đĩa này được đọc trên thiết bị MSD Sector Imager 6000. Đường cong định cỡ được hiệu chỉnh thành mô hình hồi quy bốn thông số không tuyến tính, và các nồng độ A β 1-x được tính toán cho mỗi lỗ chứa dịch dung giải não trong. Phần trăm A β bị làm giảm được tính toán dựa trên sự khác biệt với nồng độ A β trung bình thu được cho não từ các con vật được xử lý với chỉ mình tá được.

Bảng 1 thể hiện các đặc điểm sau của các hợp chất theo sáng chế: tiềm năng ức chế BACE1 như được đo trong thử nghiệm 1, tiềm năng ức chế tế bào như được đo trong thử nghiệm 2, sự ức chế hERG như được đo trong thử nghiệm 3, và nồng độ cho hiệu quả thứ nhất (FEC) về sự tích lũy phospholipit quá mức như được đo trong thử nghiệm 4.

Bảng 1. Các đặc điểm sinh học của các hợp chất theo sáng chế

Ví dụ	BACE1 IC ₅₀ nM (thử nghiệm 1)	Tế bào H4- APPwt IC ₅₀ nM (thử nghiệm 2)	hERG % ức chế @ 10 μ M (thử nghiệm 3)	Sự tích lũy phospholipit quá mức FEC IC ₅₀ μ M (thử nghiệm 4)
-------	--	---	---	---

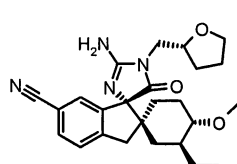
Ví dụ	BACE1 IC ₅₀ nM (thử nghiệm 1)	Tế bào H4- APPwt IC ₅₀ nM (thử nghiệm 2)	hERG % ức chế @ 10 µM (thử nghiệm 3)	Sự tích lũy phospholipit quá mức FEC IC ₅₀ µM (thử nghiệm 4)	
1	11	0,76	8		200
2	8	0,29	22		200
3	10	0,57	9	>	200
4	5	0,28	0	>	400
5	8	0,90	7		200
6	11	1,24	35		200
7	2	1,42	8		400
8	5	0,49	16	>	200
9	9	1,90	16		400
10	9	1,12	38		200
11	4	0,35	6	>	400
12	3	1,10	11		400
13	9	0,92	18		200
14	5	0,12	20	>	200
15	11	0,11	11		200
16	11	0,20	6		200
17	14	0,89	12	>	200
18	9	1,02	17	>	400
19	6	0,40	8		400
20	-	0,28	8	>	400
21	5	0,48	24		400
22	8	0,26	9	>	400
23	12	0,18	16	>	200
24	5	0,65	23		200
25		0,99	10		200
26	9	0,20	8	>	200
27	6	0,95	19	>	200
28		0,5	9		400

Ví dụ	BACE1 IC ₅₀ nM (thử nghiệm 1)	Tế bào H4- APPwt IC ₅₀ nM (thử nghiệm 2)	hERG % ức chế @ 10 µM (thử nghiệm 3)	Sự tích lũy phospholipit quá mức FEC IC ₅₀ µM (thử nghiệm 4)	
29		0,3	7		200

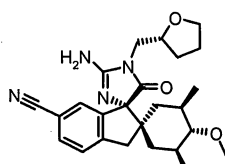
Bảng 2 cung cấp dữ liệu thể hiện rằng các hợp chất nhất định theo sáng chế có các giá trị ức chế IC₅₀ thấp hơn đáng kể trong thử nghiệm enzym BACE1 (thử nghiệm 1) và trong thử nghiệm Abeta tế bào (Thử nghiệm 2) so với các hợp chất so sánh nhất định được mô tả trong tài liệu sáng chế số WO 2010/105179.

Bảng 2.

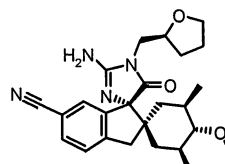
Các hợp chất theo sáng chế



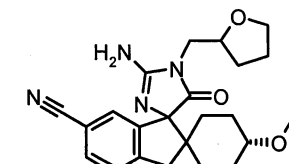
Ví dụ 5



Ví dụ 14

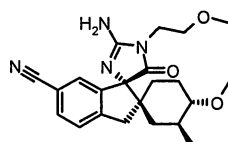


Ví dụ 15

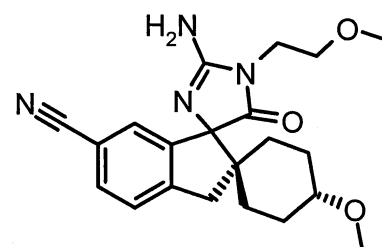


Các ví dụ so sánh:

ví dụ 281 trong tài liệu sáng chế số WO 2010/105179
BACE IC₅₀ (thử nghiệm 1)
35 nM
Thử nghiệm tế bào H4 (thử nghiệm 2) 7.0 nM
hERG (thử nghiệm 3) 16% ở nồng độ 10 µM

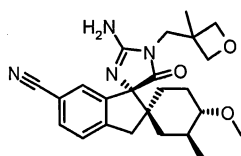


Ví dụ 7

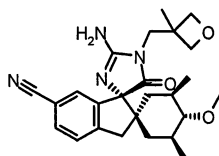


ví dụ 259 trong tài liệu sáng chế số WO 2010/105179
BACE IC₅₀ (thử nghiệm 1)
49 nM
Thử nghiệm tế bào-H4 (thử

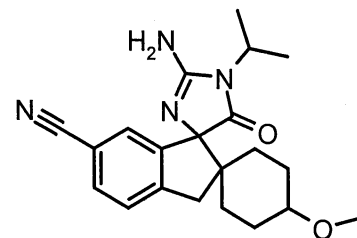
thử nghiệm 2) 16 nM



Ví dụ 8



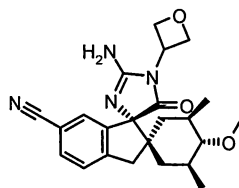
Ví dụ 11



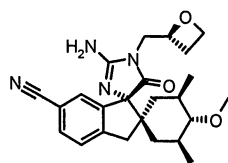
ví dụ 121 trong tài liệu sáng
chế số WO 2010/105179

BACE IC₅₀ (thử nghiệm 1)
107 nM

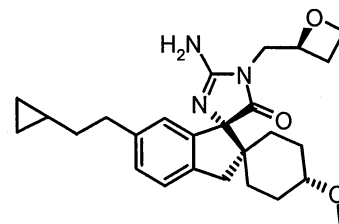
Thử nghiệm tế bào-H4 (thử
nghiệm 2) 16 nM



Ví dụ 12



Ví dụ 18



ví dụ 320 trong tài liệu sáng
chế số WO 2010/105179

BACE IC₅₀ (thử nghiệm 1)
415 nM

Thử nghiệm tế bào-H4 (thử
nghiệm 2) 16 nM

Khả năng của các hợp chất theo sáng chế để làm giảm A β trong não được chứng minh trong chuột kiểu đại, như được mô tả trong thử nghiệm 5, và dữ liệu hữu hiệu *in vivo* được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3.

Ví dụ	Liều dùng (mg/kg)	% Giảm A β
2	30	42
4	25	75
6	50	60

Ví dụ	Liều dùng (mg/kg)	% Giảm A β
8	25	37
9	25	37
12	25	39
13	30	47
14	25	67
15	25	62
17	25	70
18	25	56
20	25	73
21	50	59
22	12,5	45
23	25	68
26	25	71
28	12,5	30
29	25	78

Phương pháp điều trị

Sáng chế đề cập đến các hợp chất mà là hữu ích trong điều trị các rối loạn hoặc các bệnh được đặc trưng bởi các sự lắng đọng β -amyloid cao hoặc các mức β -amyloid cao trong đối tượng trong đó sự ức chế hoạt tính enzym β -secretaza (BACE1) là có lợi, bao gồm nhưng không bị giới hạn đến điều trị, làm thuyên giảm hoặc ngăn ngừa các rối loạn thoái hóa thần kinh, các rối loạn được đặc trưng bởi sự suy giảm nhận thức sự sa sút nhận thức, bệnh sa sút trí tuệ, và các bệnh được đặc trưng bởi sự tạo ra các khối lắng đọng β -amyloid hoặc đám rối sợi thần kinh.

Các hợp chất theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh Alzheimer, Trisomy 21 (Hội chứng Down), xuất huyết não di truyền có chứng thoái hóa dạng tinh bột dạng Dutch (HCHWA-D), bệnh sa sút trí tuệ lão suy, bệnh thoái hóa mạch máu não dạng tinh bột, bệnh sa sút trí tuệ thoái hóa, bệnh sa sút trí tuệ do tái biến mạch máu não và có nguồn gốc thoái hóa, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh Parkinson, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh bại liệt trên nhân tiến triển, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến thoái hóa vỏ não và hạch nền, thể Lewy lan tỏa kiểu bệnh Alzheimer, thoái hóa điểm vàng lão suy ướt (AMD), và chứng glaucôm. Dạng AMD “khô”, cũng được biết là “chứng teo vùng trung tâm”, do chứng teo lớp biểu mô sắc tố võng mạc dưới võng mạc

thần kinh giác quan, mà gây ra làm giảm tầm nhìn do giảm bộ phận nhận sáng (tế bào hình que và hình nón) trong phần trung tâm của mắt. Không có được phẩm hoặc điều trị bằng phẫu thuật nào hiện nay sẵn có để điều trị tình trạng bệnh này. Các giải pháp điều trị sẵn có chỉ đến mức (ví dụ, được gợi ý bởi Viện mắt quốc gia (National Eye Institute)) bao gồm sử dụng bổ sung vitamin có liều lượng cao chất chống ôxy hóa, lutein và zeaxanthin, mà có thể làm chậm tiến trình thoái hóa giác mạc khô. Chứng glocôm là bệnh trong đó áp suất dịch bên trong mắt gia tăng, gây ra sự hư hại không thể phục hồi với thần kinh mắt và làm giảm tầm nhìn. Abeta cùng khoanh vùng các tế bào hạch võng mạc chết theo chương trình trong chứng glocôm thí nghiệm và gây ra sự chết tế bào theo chương trình tế bào hạch võng mạc đáng kể theo phương thức phụ thuộc liều và thời gian.

Do đó, sáng chế đề cập đến hợp chất hoặc muối được dụng của nó để sử dụng làm được phẩm.

Bản mô tả mô tả việc sử dụng hợp chất trong điều trị bệnh và/hoặc tình trạng bệnh trong đó sự ức chế hoạt tính enzym β -secretaza (BACE1) là có lợi trong điều trị.

Bản mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất trong điều trị các rối loạn thoái hóa thần kinh, các rối loạn được đặc trưng bởi sự suy giảm nhận thức sự sa sút nhận thức, bệnh sa sút trí tuệ, và các bệnh được đặc trưng bởi sự sản sinh các khối tích tụ β -amyloid hoặc đám rối sợi thần kinh.

Bản mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất theo sáng chế trong điều trị bệnh Alzheimer, Trisomy 21 (hội chứng Down), xuất huyết não di truyền có chứng thoái hóa dạng tinh bột dạng Dutch (HCHWA-D), bệnh sa sút trí tuệ lão suy, bệnh thoái hóa mạch máu não dạng tinh bột, bệnh sa sút trí tuệ thoái hóa, bệnh sa sút trí tuệ do tái biến mạch máu não và có nguồn gốc thoái hóa, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh Parkinson, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến bệnh bại liệt trên nhân tiến triển, bệnh sa sút trí tuệ liên quan đến thoái hóa vỏ não và hạch nền, thể Lewy lan tỏa kiểu bệnh Alzheimer, AMD khô, và chứng glocôm.

Bản mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến hoặc có liên hệ với hoạt tính BACE1 quá mức ở người bệnh cần điều trị bao gồm dùng cho người bệnh này lượng hợp chất được bộc lộ hoặc muối được dụng của nó. Bản mô tả cũng mô tả phương pháp để ức chế hoạt tính BACE1 trong đối tượng cần ức chế, bao gồm

dùng cho đối tượng và/hoặc tiếp xúc thụ thể của nó với lượng hữu hiệu ít nhất một hợp chất được bọc lộ hoặc muối được dụng của nó. Bản mô tả cũng mô tả phương pháp làm thuyên giảm sự tích tụ β -amyloid trong đối tượng cần điều trị, bao gồm dùng cho đối tượng này lượng hữu hiệu ít nhất một hợp chất được bọc lộ hoặc muối được dụng của nó.

Bản mô tả cũng mô tả phương pháp điều trị để điều trị hoặc làm thuyên giảm các rối loạn gây ra do BACE1 trong đối tượng cần điều trị bao gồm dùng cho đối tượng này lượng hữu hiệu hợp chất theo sáng chế được mô tả ở đây, hoặc các muối được dụng của nó hoặc chế phẩm chứa nó.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” và “người bệnh” có thể được sử dụng thay đổi cho nhau, và nghĩa là động vật có vú cần điều trị, *ví dụ*, vật nuôi trong nhà (*ví dụ*, chó, mèo, và con vật tương tự), động vật trang trại (*ví dụ*, bò, lợn, ngựa, cừu, dê và con vật tương tự) và các con vật thí nghiệm (*ví dụ*, chuột kiểu đại, chuột, chuột lang và con vật tương tự). Thông thường, đối tượng là người cần điều trị.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” đề cập đến việc thu được hiệu quả dược lý và/hoặc sinh lý mong muốn. Hiệu quả có thể là phòng bệnh (*nghĩa là*, làm giảm khả năng có thể xảy ra sự phát triển bệnh hoặc rối loạn) hoặc điều trị, bao gồm đạt được một phần hoặc đáng kể, một hoặc nhiều kết quả sau: làm giảm một phần hoặc toàn bộ mức độ bệnh, rối loạn hoặc hội chứng; làm thuyên giảm hoặc cải thiện hội chứng lâm sàng hoặc chỉ định liên quan đến rối loạn; hoặc làm chậm, ức chế hoặc làm giảm khả năng có thể xảy ra tiến triển bệnh, rối loạn hoặc hội chứng này.

Giới hạn liều dùng hợp chất theo sáng chế này có thể áp dụng mỗi ngày thường nằm trong khoảng từ 0,1 đến 3000 mg, ưu tiên là nằm trong khoảng từ 1 đến 2000 mg, ưu tiên hơn là nằm trong khoảng từ 10 đến 1000 mg, ưu tiên nhất là, 50 hoặc 500 mg. Mỗi đơn vị liều dùng thường chứa từ 0,1 đến 1000 mg, ưu tiên là nằm trong khoảng từ 25 đến 250 mg.

Khối lượng hữu hiệu trong điều trị thực tế hoặc liều dùng chữa trị sẽ tất nhiên phụ thuộc vào các yếu tố được biết bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực như độ tuổi và trọng lượng của người bệnh, đường dùng và mức độ nghiêm trọng của bệnh. Trong trường hợp bất kỳ, các sự kết hợp sẽ được dùng với các liều dùng và theo

phương thức mà cho phép lượng hữu hiệu để điều trị được phân phối dựa trên tình trạng bệnh duy nhất của người bệnh này.

Các dược phẩm

Các chế phẩm thích hợp để dùng các hợp chất theo sáng chế sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và bao gồm ví dụ viên nén, viên tròn, viên nang, thuốc đạn, thuốc liều lượng lớn,片片 thuốc hình thoi, dung dịch, xirô, cồn ngọt, túi lọc, thuốc tiêm, thuốc xông và bột, và các chế phẩm tương tự khác. Hàm lượng (các) thành phần hoạt chất nên nằm trong khoảng từ 0,1 đến 95% trọng lượng, ưu tiên là nằm trong khoảng từ 5 đến 90% trọng lượng tổng số hợp chất này.

Các viên nén thích hợp có thể thu được, ví dụ, bằng cách trộn một hoặc nhiều các hợp chất theo sáng chế với các tá dược đã biết, ví dụ các chất pha loãng trợ, các chất mang, chất làm rã, tá dược, chất hoạt động bề mặt, chất gắn kết và/hoặc chất làm trơn. Các viên nén này có thể cũng bao gồm một vài lớp.

Các liệu pháp kết hợp

Bản mô tả cũng mô tả liệu pháp kết hợp để điều trị hoặc làm thuyên giảm bệnh hoặc rối loạn được mô tả ở đây. Liệu pháp kết hợp bao gồm dùng hỗn hợp chứa ít nhất một hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm, ví dụ, các chất ức chế hoặc các chất điều biến gamma-secretaza; các chất ức chế sự kết tụ amyloid ngăn chặn sự hình thành oligome Abeta hoặc các xơ Abeta (ví dụ, ELND-005); các chất điều biến bệnh và/hoặc bảo vệ thần kinh hoạt động trực tiếp hoặc gián tiếp; các chất chống oxy hóa (ví dụ, vitamin E hoặc ginkgolit); các chất chống viêm (ví dụ, các chất ức chế Cox, NSAID có bổ sung thêm hoặc loại trừ các đặc điểm làm giảm Abeta); các chất ức chế HMG-CoA reductaza (statin); các chất ức chế axetylcholinesteraza (ví dụ, donepezil, rivastigmin, tacrine, galantamin,; tacrin); các chất đối kháng thụ thể NMDA (ví dụ, memantin); các chất chủ vận thụ thể AMPA; các chất điều biến tăng thụ thể AMPA, AMPAkin, các chất ức chế tái hấp thu thụ thể monoamin, các chất điều biến nồng độ hoặc giải phóng các chất dẫn truyền thần kinh; các chất cảm ứng tiết hormon sinh trưởng (ví dụ, ibutamoren mesylat và capromorelin); các chất đối kháng thụ thể CB-1 hoặc các chất chủ vận đảo ngược; các chất kháng sinh (ví dụ, minoxycyclin hoặc rifampixin); các chất ức chế PDE2, PDE4, PDE5, PDE9, PDE10, các chất chủ vận ngược thụ thể GABAA, các chất chủ vận thụ thể GABAA,

các chất chủ vận thụ thể nicotin hoặc các chất chủ vận một phần hoặc các chất điều biến tăng, chất chủ vận thụ thể $\alpha 4\beta 2$ nicotin hoặc chất chủ vận một phần hoặc chất điều biến tăng, chất chủ vận thụ thể $\alpha 7$ nicotin hoặc chất chủ vận một phần hoặc chất điều biến tăng; các chất đối kháng histamin H3, chất chủ vận 5 HT-4 hoặc chất chủ vận một phần, chất đối kháng 5HT-6, các chất đối kháng thụ thể giải phóng adrenalin $\alpha 2$, các chất đối kháng canxi, các chất chủ vận thụ thể M1 muscarin hoặc chất chủ vận một phần hoặc chất điều biến tăng, các chất đối kháng thụ thể M2 muscarin, các chất đối kháng thụ thể M4 muscarin, các chất điều biến tăng thụ thể 5 glutamat metabotropic, các chất chống trầm cảm, như xitalopram, fluoxetin, paroxetin, sertralin và trazodon; các chất chống lo âu, như lorazepam và oxazepam; thuốc chống loạn thần, như aripiprazol, clozapin, haloperidol, olanzapin, quetiapin, risperidon và ziprasidon, và các chất khác mà điều biến các thụ thể hoặc các enzym theo phương thức sao cho hiệu quả và/hoặc độ an toàn của các hợp chất theo sáng chế được gia tăng và/hoặc giảm thiểu các tác dụng phụ không mong muốn. Các hợp chất theo sáng chế có thể cũng được sử dụng kết hợp với các liệu pháp miễn dịch (ví dụ, gây miễn dịch chủ động Abeta hoặc các phần của nó hoặc gây miễn dịch bị động các kháng thể kháng Abeta được làm giống người hoặc các thể nano) để điều trị các bệnh và các tình trạng bệnh được đề cập trên đây.

Liệu pháp kết hợp bao gồm cùng dùng các hợp chất theo sáng chế với một hoặc nhiều chất khác, dùng lần lượt hợp chất này và một hoặc nhiều chất khác, dùng chế phẩm chứa hợp chất và một hoặc nhiều chất khác, hoặc dùng đồng thời các chế phẩm tách biệt chứa hợp chất này và một hoặc nhiều chất khác.

Phần thí nghiệm

Các phương pháp điều chế hợp chất

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế sử dụng các phương pháp thông thường sử dụng các chất phản ứng sẵn có và các nguyên liệu ban đầu. Các chất phản ứng được sử dụng trong điều chế các hợp chất theo sáng chế có thể thu được trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng các quy trình chuẩn được mô tả trong tài liệu này.

Các phản ứng vi sóng được thực hiện trong lò phản ứng CEM sử dụng hệ thống SP phát hiện.

Trong đó dữ liệu NMR được trình bày, thu được phổ trong Varian -400 (400 MHz) và được thông báo là phạm vi nhỏ hơn ppm từ tetrametylsilan có một số proton, các số bội và các hằng số ghép được chỉ định trong ngoặc đơn cùng với tham chiếu đến dung môi được đơtori hóa.

Các hợp chất được tinh chế bằng phương pháp HPLC điều chế cơ sở được mô tả dưới đây.

Phương pháp 1:

Pha di động A: nước có chứa dung dịch amoniac 0,05%; Pha di động B: ACN; Tốc độ dòng: 25 mL/phút; Phát hiện: UV 220 nm / 254 nm; Cột: Phenomenex Gemini C18 250*30mm*5um

Nhiệt độ cột: 30°C

Thời gian theo phút	%A	%B
0,0	68	32
12,00	38	62
12,20	0	100
13,5	0	100
13,7	90	10

Phương pháp 2:

Pha di động A: nước có chứa dung dịch amoniac 0,05%; Pha di động B: ACN; Tốc độ dòng: 25 mL/phút; Phát hiện: UV 220 nm / 254 nm; Cột: Durashell C18 250*30mm*5um; Nhiệt độ cột: 30°C

Thời gian theo phút	%A	%B
0.0	67	33
12,00	47	53
12,20	0	100
13,5	0	100
13,7	90	10

Dữ liệu LC-MS thu được bằng cách sử dụng điều kiện sắc ký như sau:

Hệ thống HPLC: Waters ACQUITY; Cột: Waters ACQUITY CSHTM C18 1,7 µM
Cột bảo vệ: Waters Assy. Frit, 0,2µM, 2,1 mm; Nhiệt độ cột: 40°C

Pha di động: A: TFA: Nước (1 : 1000, v:v) Pha di động B: TFA: ACN (1: 1000, thể tích:thể tích); Tốc độ dòng: 0,65 mL/phút; Thể tích tiêm: 2 μ L; Thời gian thu được: khoảng 1,5 phút.

Chương trình gradien:

Thời gian (phút)	B%
0	10
0,8	90
1,20	90
1,21	10

Các thông số đo phổ khối

Thiết bị đo phổ khối: Waters SQD; Ion hóa: Ion hóa phun điện tử dương (Positive Electrospray Ionization-ESI); Chế độ quét (100-1400 m/z trong mỗi 0,2 giây); Điện áp mao dẫn ES: 3,5 kv; Điện áp hình nón ES: 25 v Nhiệt độ nguồn : 120 °C; Nhiệt độ hai lần solvat hóa: 500 °C; Dòng khí hòa tan: Thiết lập Nitơ 650 (L/h); Dòng khí hình nón: Thiết lập Nitơ 50 (L/h)

Ví dụ 10, bước 2, và phương pháp điều chế thay thế hợp chất trung gian có công thức 38, bước 1 và 2, điều kiện sắc ký như sau và thiết bị đo đặc được sử dụng:

Dữ liệu LC-MS thu được bằng cách sử dụng điều kiện sắc ký như sau:

Hệ thống HPLC:	Seri Agilent 1100
Cột:	Zorax Eclipse XDB-C8, 2,1x50mm
Nhiệt độ cột:	35°C
Pha di động:	A: Axit formic : Nước (1 : 1000, v:v) B: Axit formic : ACN (1: 1000, v:v)

Chương trình gradien:

Thời gian (phút)	B%
0	5
3	95
4,5	95
5.0	5

Tốc độ dòng: 0,60 mL/phút

Thể tích tiêm: 2 μ L
 Thời gian giữ: Khoảng từ 1-4 phút
 Thời gian thu được: Khoảng 5 phút

Các thông số đo phổ khối

Thiết bị đo phổ khối: Agilent 77
 Ion hóa: Ion hóa phun điện tử dương (ESI)
 Chế độ: Quét (100-800 m/z trong mỗi 0,2 giây)
 Điện áp mao dẫn ES: 3,5 kv
 Điện áp hình nón ES: 25 v
 Nhiệt độ nguồn: 120 °C
 Nhiệt độ hòa tan: 500°C
 Dòng khí hòa tan: Nitơ Thiết lập 650 (L/h)
 Dòng khí hình nón: Nitơ Thiết lập 50 (L/h)

Ví dụ 27 điều kiện sắc ký như sau và thiết bị đo đặc được sử dụng:

Hệ thống HPLC: Waters Alliance / Thiết bị phát hiện-DA- và MS

Cột: Waters XBridge C18, 4,6 x 30 mm, 3,5 μ m

Chương trình gradien:	% Sol	% Sol	Dòng	Nhiệt độ
Thời gian [phút]	[H ₂ O, 0,1%TFA]	[Metanol]	[ml/phút]	[°C]
0.0	95	5	4	60
1,6	0	100	4	60
1,85	0	100	4	60
1,9	95	5	4	60

Tách SFC và mô tả đặc điểm đặc trưng của các hợp chất được thực hiện bằng phương pháp sau.

Phương pháp A:

Thiết bị: Thar SFC 80; Cột: AD 250mm*30mm, 5 μ m; Pha di động: A: CO₂ tới hạn, B: IPA (0.05% DEA), A: B =80:20 với tốc độ 60ml/phút; Nhiệt độ cột: 38°C; Áp suất vòi: 100 Bar; Nhiệt độ vòi: 60 °C; Nhiệt độ máy cô: 20 °C; Nhiệt độ tinh chỉnh: 25°C; Bước sóng: 220nm.

Phương pháp B:

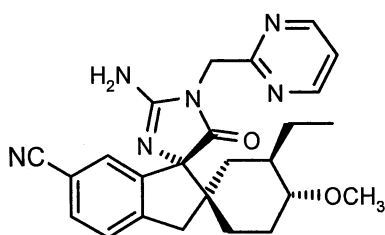
Thiết bị: SFC MG2; Cột: OJ 250mm*30mm, 5µm; Pha di động: A: CO₂ tới hạn, B: MeOH (0,05% DEA), A:B =90:10 với tốc độ 70ml/phút; Nhiệt độ cột: 38 °C; Áp suất vào: 100 Bar; Nhiệt độ vào: 60 °C; Nhiệt độ máy cô: 20 °C; Nhiệt độ tinh chỉnh: 25 °C; Bước sóng: 220nm

Các kỹ thuật sau, các dung môi và các chất phản ứng mà có thể được đề cập bằng các chữ viết tắt sau chúng:

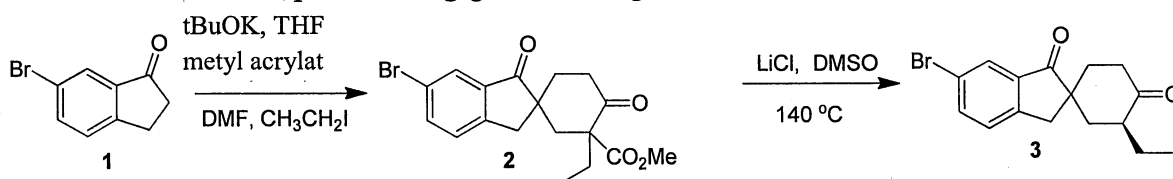
Viết tắt	Nghĩa
ACN	axetonitril
Boc	<i>tert</i> -butoxy carbonyl hoặc <i>t</i> -butoxy carbonyl
nước muối	saturated aqueous NaCl
DCM	metylen clorua
DIEA	diisopropyl etyl amin
DMF	dimetyl formamit
DMSO	dimetyl sulfoxit
dppf	1,1-bis(diphenylphosphino)ferrocen
EDCI	1-(3-dimetylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimitt hydroclorua
EtI	etyl iotua
Et	etyl
Et ₂ O	etyl ete
EtOAc	etyl axetat
EtOH	etanol
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu suất cao
LDA	lithi diisopropylamit
MeOH	metanol
MeI	metyl iotua
Me	metyl
Me ₂ S	dimetyl sulfua
MsCl	metan sulfonyl clorua
NaOMe	natri metoxit
PdCl ₂ dppf	[1,1-bis(diphenylphosphino)feroxen] diclopalladi(II)

Viết tắt	Nghĩa
$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	tris(dibenzylideneaxeton)dipalladi(0)
PE	ete dầu mỏ
rt	Nhiệt độ trong phòng
SFC	Sắc ký lỏng siêu tới hạn
<i>t</i> -BuOK	kali tert butoxit
<i>t</i> -BuLi	tert butyl lithi
<i>t</i> -BuNH ₂ -BH ₃	Phức hệ tert butylamin-boran
<i>t</i> -BuOOH	tert butyl peroxit
TFA	axit trifloaxetic
TFAA	trifloaxit axetic anhydrua
THF	tetrahydrofuran
TLC	Sắc ký lớp mỏng
$\text{Ti}(\text{OEt})_4$	titan tetraetoxit

Ví dụ 1



Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 3



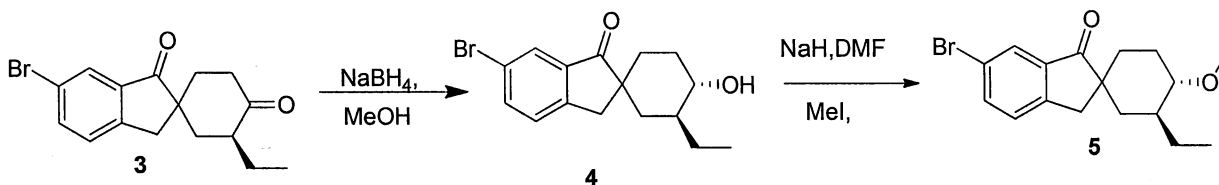
Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 1 (50.0 g, 236 mmol) và metyl acrylat (42.0 g, 472 mmol) trong THF khan (900 mL) được làm lạnh trước ở 0°C và bổ sung *t*-BuOK (31.8 g, 284 mmol, 1,1 đương lượng) trong phản ứng đương trong 30 phút, sau đó làm ấm hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và khuấy trong 40 phút ở nhiệt độ trong phòng. DMF (200mL) và EtI (74 g, 472 mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng này, và khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Loại bỏ THF dưới áp suất thấp. Pha loãng phần dư bằng H₂O (300 mL) và chiết bằng EtOAc, cô

đặc để thu được hợp chất thô có công thức 2 (120.0 g). Sản phẩm này được sử dụng cho bước tiếp theo.

Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 2 (120.0 g, 310 mmol) và LiCl (130.0 g, 3100 mmol) trong DMSO (900 mL) được hồi lưu qua đêm. Dừng phản ứng này bằng nước (3L) và chiết bằng EtOAc (3 × 400 mL). Làm khô pha hữu cơ tách biệt này và cô đặc dưới áp suất thấp. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc = 20:1) thu được hợp chất trung gian có công thức 3 (15 g, 20%).

^1H NMR: (CDCl_3): δ 7,91 (s, 1H), 7,74 (dd, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,41 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,48-2,53 (m, 2H), 2,33-2,49 (m, 1H), 2,15-2,23 (m, 1H), 1,75-1,95 (m, 4H), 1,21-1,40 (m, 1H), 0,88 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H).

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 5



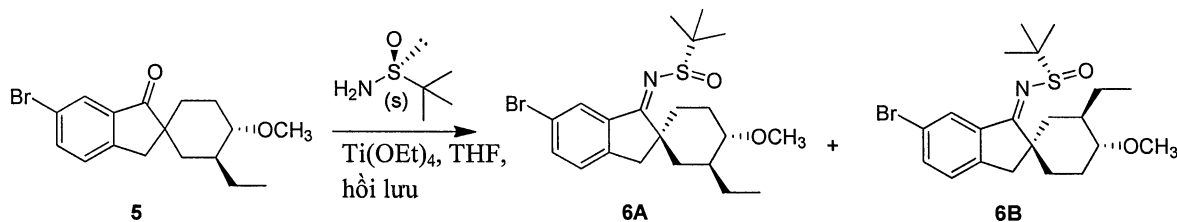
Cho vào hỗn hợp chứa THF (20 mL) và MeOH (5 mL) ở -78°C hợp chất trung gian có công thức 3 (6,0 g, 18,7 mmol), NaBH_4 (355 mg, 9,3 mmol) và $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (70 mg, 0,19 mmol). Khuấy hỗn hợp này ở -78°C trong 20 phút, dừng bằng dung dịch NH_4Cl bão hòa (30 mL), và chiết bằng EtOAc (400 mL X 4). Gom các pha EtOAc này và cô đặc để thu được hợp chất thô có công thức 4 (6,5 g, chất thô).

Cho MeI (11.4 g, 80.0 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 4 (6,5 g, 20,0 mmol) và NaH (3,2 g, 80,0 mmol) trong DMF (100 mL) ở 0°C . Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng qua đêm. Dừng hỗn hợp này bằng H_2O , chiết bằng EtOAc, cô đặc để thu được sản phẩm thô, được tinh chế bằng cột trên silicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ: etyl axetat từ 20: 1 đến 15: 1) thu được hợp chất trung gian có công thức 5 (3,5 g, 56%).

LC-MS: $t_R = 1,315$ phút, MS (ESI) m/z 339,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

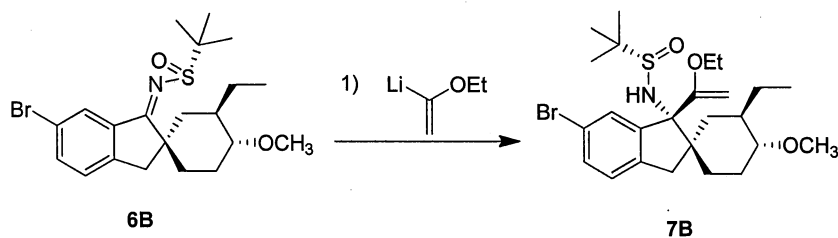
^1H NMR: (CDCl_3): δ 7,88 (s, 1H), 7,69 (dd, $J = 8,4, 2,0$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 3,39 (s, 3H), 2,97 (s, 2H), 2,88-2,94 (m, 1H), 2,21-2,26 (m, 1H), 1,81-1,87 (m, 1H), 1,70-1,78 (m, 1H), 1,40-1,59 (m, 4H), 1,12-1,39 (m, 2H), 0,88 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H).

Bước 3: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 6A & 6B



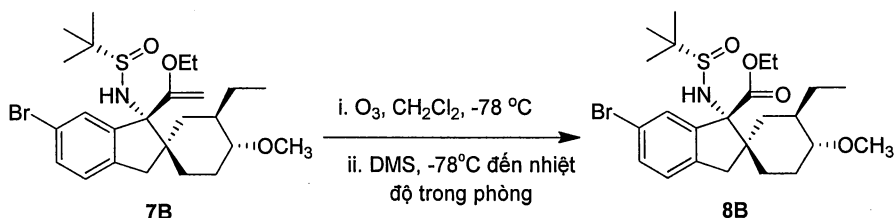
Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 5 (3,5 g, 10,4 mmol) và titan (IV) etoxit (23,7 g, 104 mmol) trong THF khô (40 mL) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Bổ sung (*S*)-*N*-*tert*-butylsulfinamit (1,6 g, 11,6 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng này ở 80°C dưới khí N₂ qua đêm. Sau đó hỗn hợp phản ứng này được làm mát và bổ sung nước (400 mL) và lọc. Chiết lớp nước này bằng EtOAc (3 × 400 mL). Gôm các pha hữu cơ tách ra và làm khô và cô đặc dưới áp suất thấp. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc = 20:1) và các hợp chất được rửa giải theo trật tự sau thu được hợp chất trung gian có công thức 6A (1,5 g, 33%) và 6B (1,5 g, 33%).

Bước 4: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 7B



Cho vào hỗn hợp chứa etoxy-eten (1,3 g, 17,0 mmol) trong THF khan (20 mL) ở -78°C dưới khí N₂, bổ sung cẩn thận *t*-BuLi (13,0 mL, 17,0 mmol, 1,3 M trong hexan) và khuấy trong 20 phút. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở 0°C trong 45 phút nữa. Cho vào hỗn hợp này ở -78°C, bổ sung nhỏ giọt hợp chất trung gian có công thức 6B (1,5 g, 3,4 mmol) trong THF khan (20 mL) và khuấy trong 2,5 giờ. Dừng phản ứng này bằng NH₄Cl bão hòa (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 300 mL). Gôm các pha hữu cơ này và cô đặc thu được phần dư và được tinh chế bằng cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc = 20: 1) thu được hợp chất trung gian có công thức 7B (1,2 g, 69%).

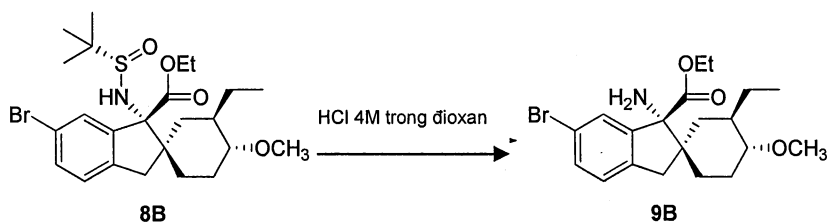
Bước 5: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 8B



Hợp chất trung gian có công thức 7B (1,2 g, 2,4 mmol) được bổ sung vào DCM: MeOH (5:1, 20 mL), làm lạnh hỗn hợp này đến -78°C và thổi khí ozon qua hỗn hợp này trong 20 phút. Sau đó thổi N_2 vào hỗn hợp này và xử lý bằng Me_2S ở -78°C . Sau đó để ấm phản ứng này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ. Loại bỏ dung môi dưới điều kiện chân không, tinh chế phần dư bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: EtOAc = 3: 1) thu được hợp chất có công thức 8B (860 mg, 70%).

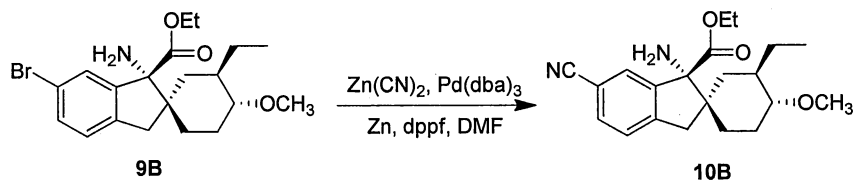
LC-MS: $t_R = 1,351$ phút, MS (ESI) m/z 516.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 6: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 9B



Cho vào hợp chất có công thức 8B (860 mg, 1,7 mmol) trong MeOH (10 mL) dung dịch HCl 4M trong dioxan (2 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút. Loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được hợp chất thô có công thức 9B (800 mg). Phần còn lại được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

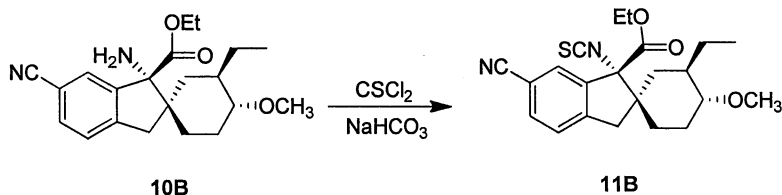
Bước 7: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 10B



Huyền phù chứa hợp chất có công thức 9B (500 mg, 1,9 mmol), Zn(CN)_2 (300 mg, 2,6 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (150 mg, 0,16 mmol), dppf (160 mg, 0,32 mmol) và bột Zn (60 mg, 0,9 mmol) trong DMF (15 mL) được gia nhiệt dưới 120°C trong 3 giờ trong lò phản ứng vi sóng CEM. Cô đặc hỗn hợp này dưới điều kiện chân không và tinh chế

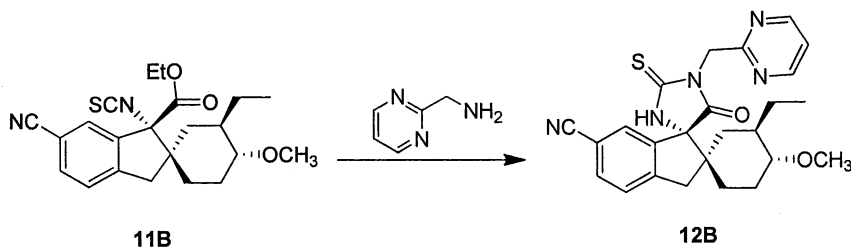
phần dư bằng cột trên silicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ: EtOAc từ 20: 1 đến 8: 1) thu được hợp chất có công thức 10B (150 mg, 40%).

Bước 8: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 11B



Bổ sung hợp chất trung gian có công thức 10B (150 mg, 0,42 mmol) vào DCM (10 mL), H₂O (10 mL) và NaCHO₃ (350 mg, 4,2 mmol). Cho vào hỗn hợp này thiophosgen (100 mg, 0,84 mmol) kèm khuấy mạnh, và khuấy trong 50 phút ở nhiệt độ trong phòng và chiết bằng DCM (3 × 40 mL). Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối (2 × 40 mL), làm khô và loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được hợp chất thô có công thức 11B (150 g, 93%), mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

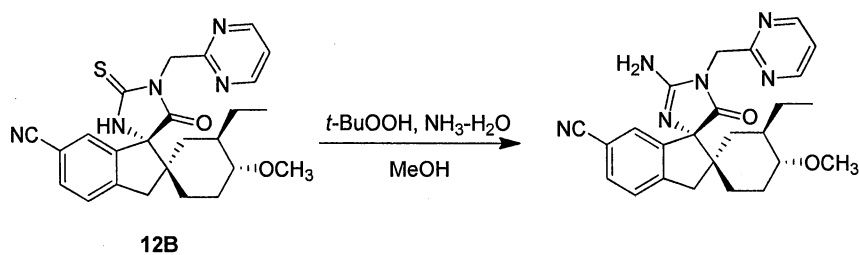
Bước 9: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 12B



Cho vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 11B (150 mg, 0,39 mmol) trong THF (5 mL) 2-aminometylpyrimidin (67 mg, 0,78 mmol) và TEA (395 mg, 3,90 mmol). Khuấy hỗn hợp này qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Pha loãng phản ứng này bằng nước và chiết bằng EtOAc (30 mL). Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột (ete dầu mỏ: etyl axetat = 10: 1) để thu được hợp chất có công thức 12B (100 mg, 70%).

LC-MS: $t_R = 1,204$ phút MS (ESI) m/z 462,2 $[M+H]^+$.

Bước 1: Điều chế hợp chất nêu ở Ví dụ 1

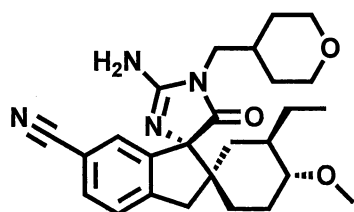


Hợp chất có công thức 12B (100 mg, 0,22 mmol) trong MeOH (10 mL) và NH_4OH (3 mL) được bổ sung sau đó đến $t\text{-BuO}_2\text{H}$ (1 mL). Sau khi bổ sung, khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Để dừng hỗn hợp này bằng dung dịch $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,5 mL) bão hòa. Phần dư này được tách phân đoạn giữa EtOAc (20 mL) và H_2O (10 mL). Tách lớp hữu cơ này và rửa bằng nước muối (10 mL), làm khô, lọc và cô đặc dưới điều kiện chân không. Tinh chế phần dư bằng HPLC (phương pháp 1) thu được hợp chất theo Ví dụ 1 (14.60 mg, 15%).

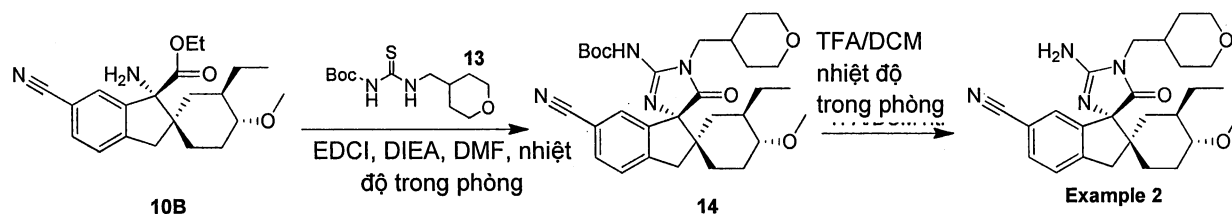
LC-MS: $t_R = 0,933$ phút, MS (ESI) m/z 445,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 8,74 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 7,61 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,45 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,35 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,17 (s, 2H), 2,80-2,87 (m, 1H), 2,08-2,13 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 1,38-1,85 (m, 2H), 1,22-1,39 (m, 3H), 1,12-1,18 (m, 2H), 0,76 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H).

Ví dụ 2



Hợp chất này được điều chế từ hợp chất trung gian có công thức 10B từ Ví dụ 1 như được thể hiện trong sơ đồ dưới đây:



Ví dụ 2

Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 13

Cho vào dung dịch khuấy chứa thiourea (23 g, 302 mmol) trong THF (5.0 L) dưới khí argon ở 0°C natri hydrua (29,9 g, 755 mmol, 60% trong dầu vô cơ). Sau 5

phút, bỏ bề đá, và khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút. Làm lạnh lại hỗn hợp này đến 0°C, bổ sung di-tert-butyl dicarbonat (138 g, 635 mmol), và bỏ bề đá sau 30 phút khuấy ở nhiệt độ này. Khuấy hồ nhảo thu được trong 2 giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó dừng phản ứng này bằng dung dịch nước bão hòa NaCHO₃ (500 mL). Rót hỗn hợp phản ứng này vào trong nước (5.0 L) và chiết bằng EtOAc (3 × 2.0 L). Làm khô lớp hữu cơ gom được, lọc, và cô đặc trong điều kiện chân không thu được hợp chất trung gian có công thức 13 (80 g, 96%) là chất rắn màu trắng, mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

Cho NaH (60% trong dầu vô cơ, 720 mg, 18.0 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 13 (4,14 g, 15.0 mmol) và THF khan (300 mL) ở 0°C. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở 0°C trong 1 giờ, sau đó bổ sung TFAA (3,47g/2,33mL, 16,5 mmol) và tiếp tục khuấy trong 1 giờ nữa. Sau đó, bổ sung 4-(aminometyl)tetrahydropyran (2,5 g, 16,5 mmol) và Et₃N (3,03 g/4,16 mL, 30.0 mmol) trong THF khan (130 mL) và khuấy phản ứng thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Bổ sung H₂O (150 mL) để dừng phản ứng này và chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (3 × 200 mL). Làm khô các lớp hữu cơ gom được, và loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột nhanh thu được hợp chất có công thức 13 (3,54 g, 86%) là chất rắn màu trắng.

LCMS: $t_R = 0,973$ phút; MS (ESI) m/z 219 [M-t-Bu]⁺.

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 14

Cho hợp chất có công thức 13 (2,3 g, 8,4 mmol), EDCI (2,5 g, 14,0 mmol) và DIEA (1,7 g, 14,0 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 10B (2,5 g, 7,0 mmol) trong 30 mL DMF. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Chiết bằng EtOAc (3 × 80 mL), rửa bằng nước muối (3 × 50 mL), làm khô và loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột (ete dầu mỏ: etyl axetat = 5: 1) thu được hợp chất có công thức 14 (2,7 g, 75%).

LC-MS: $t_R = 0,972$ phút, MS (ESI) m/z 495,3 [M-t-Bu]⁺.

Bước 3: Điều chế hợp chất nêu trong Ví dụ 2

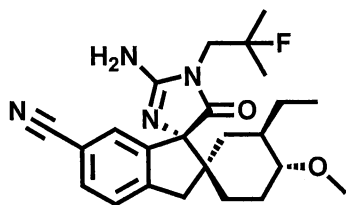
Cho TFA (6 mL) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 14 (2,7 g, 4,9 mmol) trong DCM (30 mL). Sau khi bổ sung, khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong

phòng trong 1 giờ. Điều chỉnh hỗn hợp phản ứng này bằng dung dịch NaCHO_3 đến pH 8.0-9.0. Cô đặc lớp hữu cơ này dưới áp suất thấp. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột (ete dầu mỏ: etyl axetat = 1: 1) thu được hợp chất theo Ví dụ 2 (1,83 g, 83%) là chất rắn màu trắng.

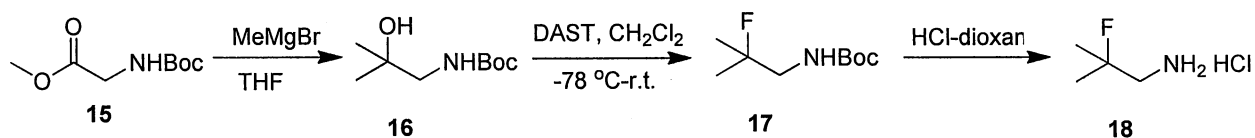
LC-MS: $t_R = 0,897$ phút, MS (ESI) m/z 451,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

$^1\text{H-NMR}$: (CD_3OD): δ 7,66 (dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,33 (s, 1H), 3,92-3,98 (m, 2H), 3,37-3,43 (m, 7H), 3,20 (m, 2H), 2,78-2,83 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 1,87-2,03 (m, 1H), 1,71-1,77 (m, 1H), 1,58-1,62 (m, 1H), 1,51-1,54 (m, 2H), 1,28-1,37 (m, 7H), 1,09-1,10 (m, 1H), 0,76 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Ví dụ 3



Điều chế hợp chất trung gian có công thức 18



Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 16

Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 15 (2,0 g, 10,6 mmol) trong THF khan (20 mL) được bổ sung vào dung dịch chứa metyl magiê bromua (14 mL, 42 mmol, 3,0 M trong Et_2O) ở -30°C dưới khí nitơ. Khuấy hỗn hợp này ở -30°C trong 4 giờ, và sau đó dừng bằng cách bổ sung nước (40 mL) và dung dịch nước HCl (50 mL, 1 M) kèm khuấy ở 0°C . Tách hỗn hợp này, và chiết lớp nước này bằng EtOAc (2×50 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng nước muối (2×50 mL), làm khô, lọc và cô đặc dưới điều kiện chân không thu được hợp chất trung gian thô có công thức 16 (2,1 g, 100% thô) là dầu không màu, mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế.

^1H NMR: (CDCl_3): δ 4,97 (br, 1H), 3,10 (s, 2H), 2,17 (br, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,20 (s, 6H).

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 17

Cho DAST (2,3 mL, 17,4 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 16 (3,0 g, 15,9 mmol, thô) trong DCM khan (50 mL) ở -78°C dưới khí nitơ. Khuấy hỗn hợp này ở -78°C trong 1 giờ, và làm ấm đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Làm lạnh hỗn hợp này đến 0°C , và dừng bằng cách bổ sung lớp nước bão hòa NaCHO_3 (30 mL) kèm khuấy chậm ở 0°C . Tách hỗn hợp này, và chiết lớp nước này bằng DCM (2×20 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng nước muối (2×30 mL), làm khô, lọc và cô đặc dưới điều kiện chân không thu được hợp chất trung gian thô có công thức 17 (2,5 g, 76% thô), mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế.

^1H NMR: (CDCl_3): δ 4,82 (br, 1H), 3,30-3,35 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,24-3,26 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

^{19}F NMR: (CDCl_3 400 MHz): δ -144,93.

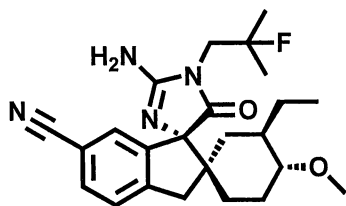
Bước 3: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 18

Cho hỗn hợp chứa HCl-dioxan (10 mL, 40 mmol, 4 M trong dioxan) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 17 (2,0 g, 10,5 mmol, thô) trong DCM khan (10 mL) kèm khuấy. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ sau đó cô đặc dung môi này dưới điều kiện chân không. Rửa phần dư này bằng hỗn hợp chứa DCM: ete dầu mỏ (1:1) (3×10 mL), và thu kết tủa và làm khô dưới điều kiện chân không để thu được hợp chất thô có công thức 18 (1,1 g), mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 3,15-3,25 (d, $J = 20,0$ Hz, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,48 (s, 3H),

^{19}F NMR: (CDCl_3 400 MHz): δ -147,59.

Ví dụ 3

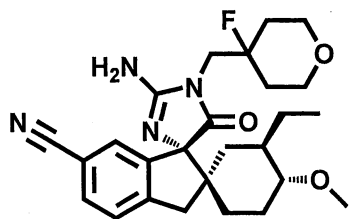


Hợp chất theo Ví dụ 3 được điều chế từ hợp chất trung gian có công thức 11B từ ví dụ 1 theo quy trình tương tự như trong Ví dụ 1 và sử dụng hợp chất trung gian có công thức 18 trong bước 9 của ví dụ 1.

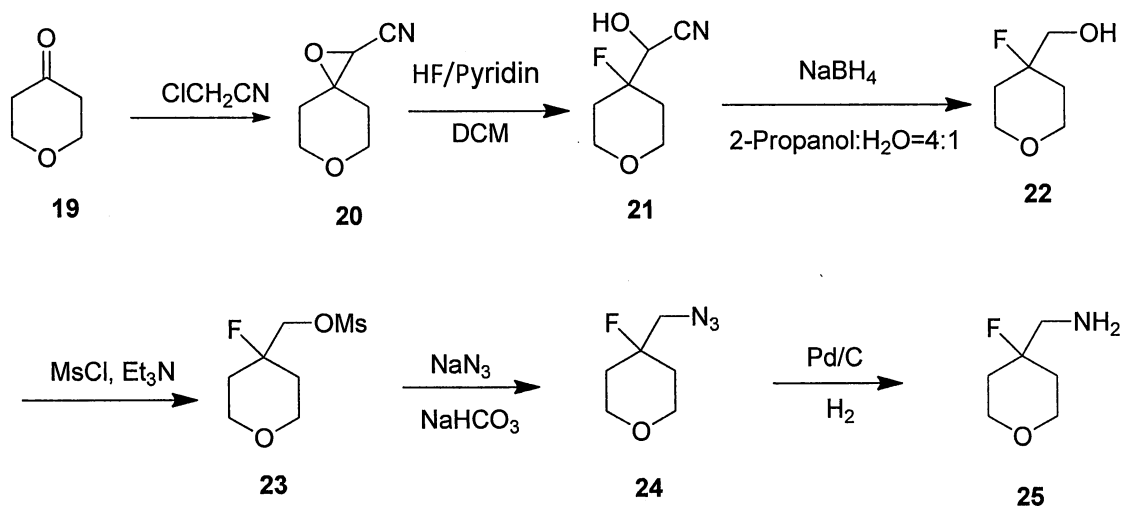
LC-MS: $t_R = 1,12$ phút, MS (ESI) m/z 427 $[M+H]^+$.

$^1\text{H-NMR}$: (CD_3OD) δ 7,65 (dd, 1H, $J = 8, 2$ Hz), 7,51 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,31 (s, 1H), 3,72 (dd, 2H, $J = 22, 4$ Hz), 3,37 (s, 3H), 3,20 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,82 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,79-1,70 (m, 1H), 1,52-1,22 (m, 10H), 1,21-1,09 (m, 1H), 0,77 (t, 3H, $J = 7$ Hz).

Ví dụ 4



Điều chế hợp chất trung gian có công thức 25



Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 20

Khuấy hỗn hợp chứa dihydro-2H-pyran-4(3H)-on (19, 50.0 g, 500 mmol) và 2-cloaxetonitril (35.0 g, 350 mmol) trong tert-butanol (50 mL) trong 30 phút. Cho vào hỗn hợp này dung dịch chứa *t*-BuOK (60 g, 550 mmol) trong tert-butanol (500 mL) trong 40 phút. Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 16 giờ. Pha

loãng bằng nước và dừng bằng 10% HCl. Cô đặc hỗn hợp phản ứng này đến một phần ba thể tích ban đầu của nó, và chiết bằng diethyl ete bốn lần. Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng nước muối, làm khô qua MgSO_4 , lọc, và cô đặc thu được hợp chất trung gian có công thức 20 (57 g), mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế.

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 21

Hợp chất trung gian có công thức 20 (57 g) được trộn với diclometan (200 mL) trong chai polypropylen. Làm lạnh chai này đến 0°C và bổ sung từ từ hydro florua-pyridin 70% (50 mL). Làm ấm hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng này bằng etyl axetat (500 mL) và rót vào trong dung dịch nước bão hòa NaCHO_3 . NaCHO_3 rắn bổ sung được sử dụng để trung hòa hỗn hợp này cẩn thận cho tới ngừng nổi bọt. Tách lớp hữu cơ, và chiết lớp nước này bằng etyl axetat (3×500 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng dung dịch nước HCl 1%, nước muối, làm khô (MgSO_4), lọc và cô đặc thu được hợp chất trung gian thô có công thức 21 (54 g), mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

^1H NMR: (CDCl_3): δ 4,37 (m, 2H), 3,96-2,70 (m, 4H), 1,97 – 1,81 (m, 4H).

Bước 3: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 22

Cho natri borohydrua (20 g, 509 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 21 (54 g; 340 mmol) trong 2-propanol (1000 mL) và nước (250 mL) ở 0°C . Khuấy hỗn hợp này và làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dừng phản ứng này bằng axeton, và khuấy trong 1 giờ nữa. Tách dịch lỏng trong ra khỏi chất rắn bằng cách gạn. EtOAc bổ được sử dụng để rửa chất rắn này, và được gạn. Cô đặc dung dịch hữu cơ gom lại này. Tinh chế phần còn lại bằng sắc ký cột nhanh trên silicagel rửa giải bằng 5-20% EtOAc trong hexan thu được hợp chất trung gian có công thức 22 (22 g, 40% cho 3 bước) là chất lỏng.

^1H NMR: (CDCl_3): δ : 3,82–3,77 (m, 4H), 3,72-3,52 (dd, $J = 20,8, 6,4$ Hz, 2H), 2,69(s, 1H), 1,82-1,60 (m, 4H).

Bước 4: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 23

Cho MsCl (25,8 g, 225 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 22 (20 g, 150 mmol) và triethylamin (22,7 g, 225 mmol) trong DCM (200 mL) ở 0 °C. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ, và sau đó bổ sung nước. Chiết lớp nước này bằng DCM (2×200 mL). Làm khô và loại bỏ dung môi thu được hợp chất trung gian thô có công thức 23 (30 g, 100%), mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

^1H NMR: (CDCl_3): δ : 4,22 (d, $J = 20,0$ Hz, 2H), 3,87-3,82 (m, 4H), 3,06(s, 3H), 1,88-1,68 (m, 4H).

Bước 5: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 24

Cho NaN_3 (16 g, 250 mmol) và NaCHO_3 (9.3 mg, 100 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 23 (10 g, 47 mmol) với DMF (150 mL) ở 120 °C. Khuấy hỗn hợp này ở 120°C trong 20 giờ, dừng phản ứng này bằng nước, chiết bằng EtOAc (2×300 mL). Làm khô và loại bỏ dung môi dưới điều kiện chân không thu được hợp chất trung gian thô có công thức 24 (8 g), mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

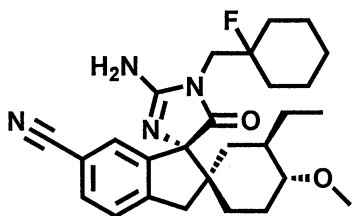
Bước 6: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 25

Cho Pd/C (0.8 g, hàm lượng 10%) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 24 (8 g, 50 mmol) trong ethyl axetat (100 mL) dưới khí nitơ, loại bỏ khí hỗn hợp này và được trao đổi với hydro trong 3 lần. Khuấy hỗn hợp cuối cùng này ở nhiệt độ trong phòng dưới môi trường khí hydro 1 atm trong 24 giờ. Lọc bỏ chất xúc tác thông qua miếng lọc Celite® và rửa bằng EtOAc (2×50 mL). Cô đặc dịch lọc gom lại dưới áp suất thấp thu được hợp chất trung gian có công thức 25 (5,3 g, 80%). ^1H

NMR: (CD_3OD): δ 3,83-3,79 (m, 4H), 2,76-2,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 1,83-1,65 (m, 4H),

^{19}F NMR: (CD_3OD , 400 MHz) δ : -169,66.

Ví dụ 4

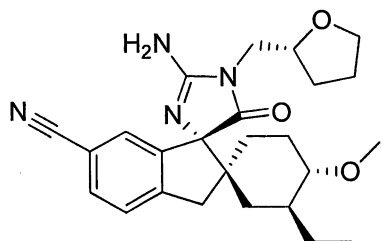


Hợp chất theo Ví dụ 4 được điều chế từ hợp chất trung gian có công thức 11B theo quy trình tương tự như được mô tả trong ví dụ 1 sử dụng hợp chất trung gian có công thức 25 thay vì 2-pyrimidylmetanamin trong bước 9.

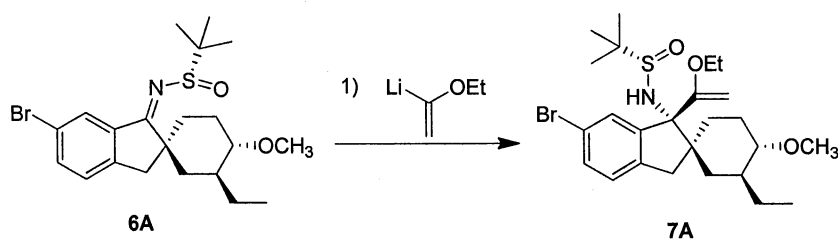
LC-MS: $t_R = 0,98$ phút, MS (ESI) m/z 469 $[M+H]^+$.

1H -NMR: (CD_3OD) δ 7,64 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,50 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,31 (s, 1H), 3,84-3,65 (m, 6H), 3,36 (s, 3H), 3,19 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,81 (m, 1H), 2,17 (m, 1H), 1,89-1,66 (m, 6H), 1,50-1,37 (m, 3H), 1,34 (m, 2H), 1,20-1,11 (m, 1H), 0,76 (t, 3H, $J = 8$ Hz).

Ví dụ 5



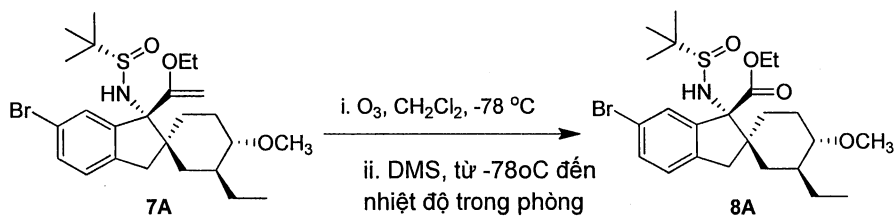
Bước 4: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 7A



Cho nhỏ giọt t -BuLi (13.0 mL, 17.0 mmol, 1,3 M trong hexan) vào hỗn hợp chứa etoxyeten (1,3 g, 17.0 mmol) trong THF khan (20 mL) ở -78 °C dưới khí N_2 và khuấy hỗn hợp này trong 20 phút. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở 0 °C trong 45 phút nữa và bổ sung hợp chất có công thức 6A (1,5 g, 3,4 mmol) trong THF khan (20 mL) và khuấy trong 2,5 giờ. Dừng phản ứng này bằng NH_4Cl bão hòa (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3×300 mL). Gom các pha hữu cơ này và cô đặc thu được sản

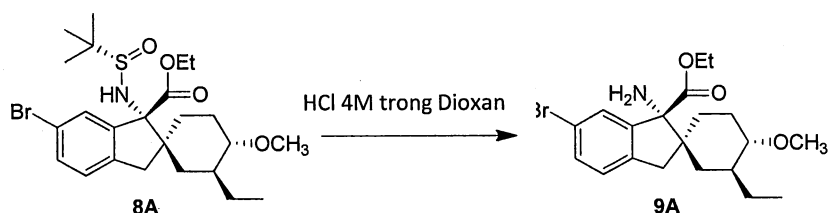
phẩm thô. Tinh chế bằng cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc= 20: 1) thu được hợp chất có công thức 7A (1,2 g, 69%) mà được sử dụng cho bước tiếp theo.

Bước 5: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 8A



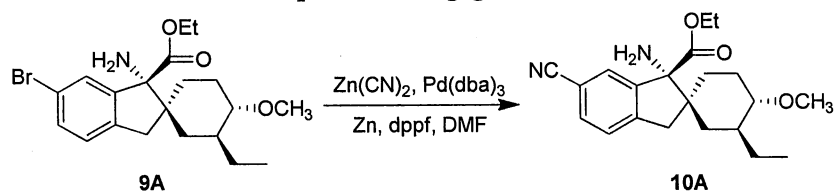
Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 7A (1,2 g, 2,4 mmol) trong DCM: MeOH = 5:1 (20 mL), được làm lạnh đến -78°C và thổi khí ozon qua hỗn hợp này trong 20 phút. Thổi vào hỗn hợp này khí N_2 và xử lý bằng Me_2S (5 mL) ở -78°C , sau đó làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ. Loại bỏ dung môi dưới điều kiện chân không, tinh chế phần dư bằng TLC điều chế (ete dầu mỏ: EtOAc= 3: 1) thu được hợp chất có công thức 8A (860 mg, 70%). LC-MS: $t_R = 1,333$ phút; MS (ESI) m/z 516,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 6: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 9A



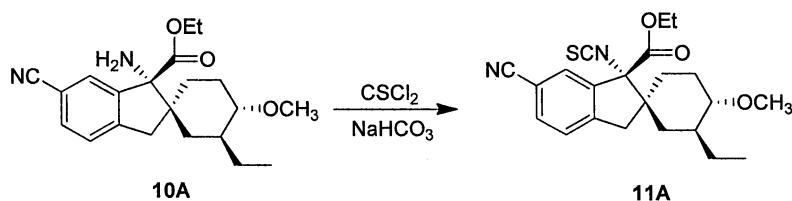
Cho dung dịch HCl 4M trong dioxan (2 mL) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 8A (860 mg, 1,7 mmol) trong MeOH (10 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. Loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được hợp chất thô có công thức 9A (800 mg) mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp. LC-MS: $t_R = 0.976$ min; MS (ESI) m/z 361,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 7: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 10A



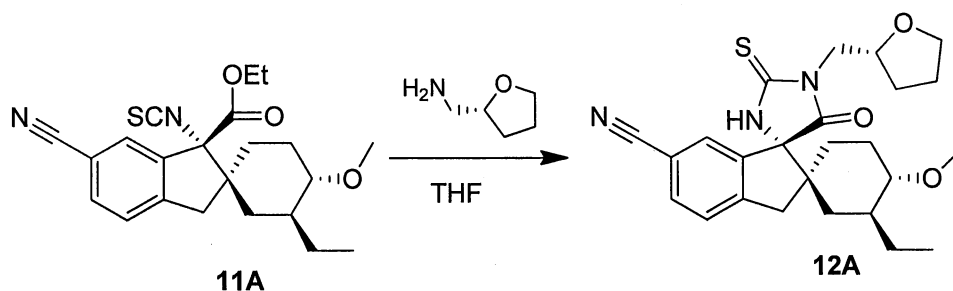
Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 9A (500 mg, 1,9 mmol), $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (300 mg, 2,6 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (150 mg, 0,16 mmol), dppf (160 mg, 0,32 mmol) và bột Zn (60 mg, 0,9 mmol) trong DMF (15 mL) được gia nhiệt đến 120°C trong 3 giờ trong lò phản ứng vi sóng CEM. Cô đặc hỗn hợp này dưới điều kiện chân không và tinh chế phân dư bằng cột trên silicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ: EtOAc từ 20: 1 đến 8: 1) thu được hợp chất có công thức 10A (300 mg, 40%). LC-MS: $t_R = 0,880$; MS (ESI) m/z 308,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Bước 8: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 11A



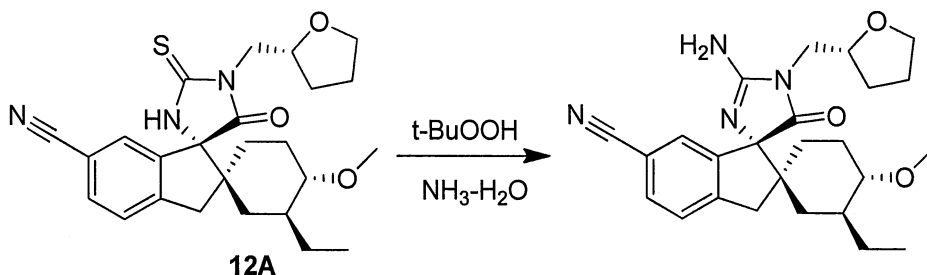
Cho thiophosgen (180 mg, 1,68 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 10A (300 mg, 0,84 mmol) trong DCM (10 mL), H_2O (10 mL) và NaCHO_3 (655 mg, 8,4 mmol). Khuấy hỗn hợp này trong 50 phút, sau đó chiết bằng DCM (3×40 mL), rửa bằng nước muối (2×40 mL), làm khô và loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được hợp chất thô có công thức 11A (300 g,), mà được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

Bước 9: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 12A



Hợp chất có công thức 11A (200 mg, 0,50 mmol) trong THF (10 mL) được bổ sung vào *R*-(2-aminomethyl)tetrahydrofuran (61mg, 0,6 mmol) và triethylamin (2 mL, 5,0 mmol). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng phản ứng này bằng nước và chiết bằng EtOAc (30 mL). Tinh chế phân dư bằng sắc ký cột (ete dầu mỏ: EtOAc= 10: 1) thu được hợp chất có công thức 12A (180 mg, 79%).

Bước 10: Điều chế hợp chất của ví dụ 5

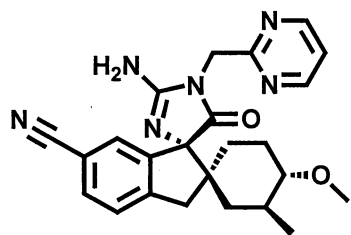


Cho dung dịch chứa $t\text{-BuO}_2\text{H}$ (1 mL, 9M trong hexan) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 12A (250 mg, 0,54 mmol) trong MeOH (10 mL) và NH_4OH (3 mL) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ. Dừng phản ứng này bằng $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bão hòa (0,5 mL). Phân đoạn phần dư này giữa EtOAc (20 mL) và H_2O (10 mL). Tách lớp hữu cơ này và rửa bằng nước muối (10 mL), làm khô, lọc và cô đặc dưới điều kiện chân không. Tinh chế phần dư bằng HPLC (phương pháp 1) thu được Ví dụ 5 (89.10 mg, 52%).

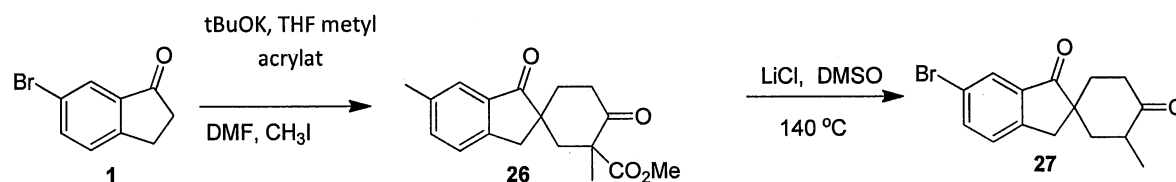
LC-MS: $t_R = 0,971$ phút, MS (ESI) m/z 437,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,60 (dd, $J = 8,0, 1,6$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 4,08-4,01 (m, 1H), 3,63-3,90 (m, 4H), 3,33 (s, 3H), 3,09-3,20 (m, 2H), 2,74-2,79 (m, 1H), 1,80-2,06 (m, 5H), 1,65-1,78 (m, 1H), 1,55-1,64 (m, 2H), 1,29-1,35 (m, 3H), 1,07-1,29 (m, 1H), 0,89-0,96 (m, 1H), 0,85 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Ví dụ 6

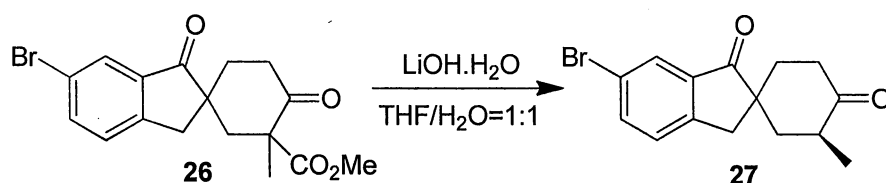


Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 27



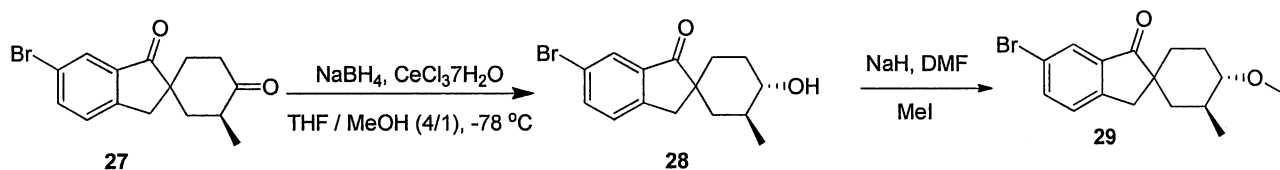
Bình 3 L được làm khô bằng lò được nạp 6-brom-1-indanon (100 g, 473,8 mmol), methyl acrylat (86,4 g, 90 mL, 995 mmol, 2,1 đương lượng) và THF khan (800 mL), ngâm bình này trong bể nước đá lạnh và khuấy. Ban đầu, bổ sung cẩn thận

tBuOK (0,5g), sau 2 phút, bổ sung phần tBuOK (0,5g) thứ hai. Loại bỏ bể lạnh và bổ sung phần còn lại tBuOK (63 g) theo các phần bằng nhau trong 20 phút (tổng số 64 g, 568,6 mmol, 1,2 đương lượng). Khuấy hỗn hợp này trong 2 giờ nữa ở nhiệt độ trong phòng. DMF (240 mL) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng này, sau đó đến MeI (134,6 g, 60 mL, 947,6 mmol, 2.0 đương lượng) và khuấy hỗn hợp này trong 2 giờ nữa. Dừng phản ứng này bằng dung dịch axit xitric 10%. Sau đó, cô đặc hỗn hợp phản ứng này dưới áp suất thấp để loại bỏ hầu hết dung môi trước khi được lọc. Rửa bánh này bằng nước, sau đó đến MeOH thu được hợp chất trung gian thô có công thức 26 (200 g) được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.



Cho LiOH.H₂O (92 g, 2190 mmol, 4.0 đương lượng) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 26 (200 g, 547,6 mmol, thô) trong THF/H₂O (1,8 L/1,8 L). Khuấy hỗn hợp này trong 16 giờ ở nhiệt độ trong phòng và sau đó trong 12 giờ ở 70°C. Cô đặc hỗn hợp phản ứng này dưới quy trình khử để loại bỏ THF và lọc. Rửa bánh này bằng H₂O, và sau đó khuấy bằng MeOH (50 mL) trong ít phút và lọc lại, và rửa bằng khối lượng bổ sung MeOH (50 mL). Thu thập chất rắn này thu được hợp chất trung gian có công thức 27 (75 g, 51,7%).

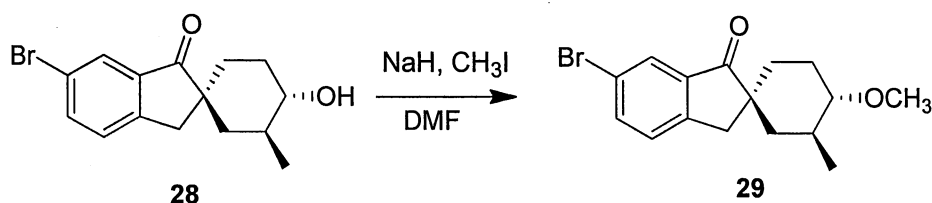
Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 29



Nạp vào bình ba cổ CeCl₃.7H₂O (1,2 g, 3,3 mmol) và MeOH khan (60 mL) dưới khí nitơ và khuấy thu được dung dịch trong. Bổ sung hợp chất có công thức 27 (10.0 g, 32,6 mmol) và THF khan (240 mL) dưới khí nitơ, làm lạnh hỗn hợp này xuống đến -78 °C. Bổ sung NaBH₄ (0,4 g, 13.0 mmol) ở -78 °C dưới khí nitơ kèm khuấy mạnh. Khuấy hỗn hợp này ở -78 °C trong 20 phút. Hỗn hợp phản ứng này được dừng bằng cách bổ sung nước NH₄Cl bão hòa (100 mL) và H₂O (200 mL) ở -78 °C kèm khuấy. Để hỗn hợp này ấm từ từ đến nhiệt độ môi trường. Chiết hỗn hợp này

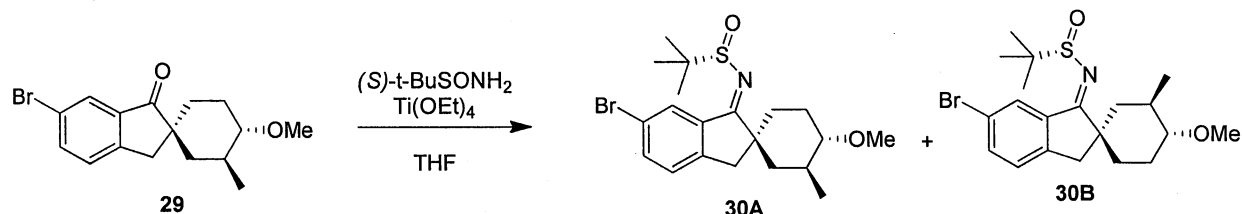
bằng EtOAc (3×150 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng H_2O (2×200 mL), nước muối (2×200 mL), làm khô, lọc và cô đặc dưới điều kiện chân không, tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel rửa giải bằng ete dầu mỏ: EtOAc (từ 20: 1 đến 3: 1) thu được hợp chất trung gian có công thức 28 (7,5 g, 75%). LC-MS: $t_R = 3,195$ phút: MS (ESI) m/z 311.0 $[M+H]^+$.

1H NMR: ($CDCl_3$): δ 7,59 (s, 1H), 7,22-7,25 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,88-6,91 (dd, $J = 2,4, 8,4$ Hz, 1H), 6,80-6,81 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 5,84 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,31-4,36 (m, 2H), 3,50-3,55 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H), 3,15-3,25 (m, 1H), 3,09-3,14 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,00-3,06 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 1,90-2,10 (m, 3H), 1,25-1,50 (m, 5H), 1,15-1,25 (t, $J = 6,4$ Hz, 3H).



Cho NaH (60% trong dầu vô cơ, 0,96 g, 40 mmol) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 28 (6,18 g, 20 mmol) trong DMF (20 mL) ở $0^\circ C$. Sau đó khuấy hỗn hợp này ở $0^\circ C$ trong 2 giờ, sau đó MeI (3,5 mL) được bổ sung vào hỗn hợp này và khuấy qua đêm. Pha loãng hỗn hợp này bằng EtOAc (40 mL) và H_2O (40 mL), chiết bằng EtOAc (2×60 mL). Làm khô các pha hữu cơ gom được và loại bỏ dung môi thu được hợp chất trung gian có công thức 29 (5.0 g).

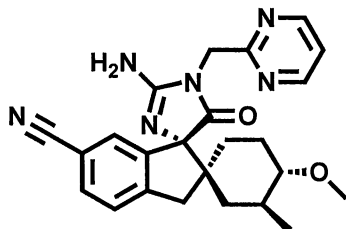
Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 30A & 30B



Cho $Ti(OEt)_4$ (35.0 g, 153 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian có công thức 29 (5.0 g, 15,3 mmol) trong THF (100 mL). Sau khi được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ, bổ sung (*S*)-*N*-tert-butylsulfinamit (7,4 g, 61,2 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ hồi lưu qua đêm và phân đoạn hỗn hợp này giữa H_2O (80 mL) và EtOAc (80 mL). Lọc hỗn hợp này và chiết dịch lọc này bằng EtOAc ($3 \times$

80 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom được bằng nước muối (50 mL), làm khô và cô đặc đến phần dư này. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc = 20:1) được rửa giải theo trật tự sau thu được hợp chất trung gian có công thức 30A (1,6 g, 35%) và 30B (1,4 g, 33%).

Điều chế hợp chất nêu trong ví dụ 6

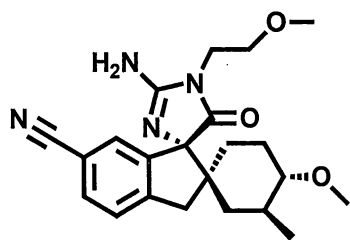


Hợp chất trung gian có công thức 30A được điều chế tiếp như được mô tả trong các bước từ 4 đến 10 trong Ví dụ 5. Trong bước 9, 2-aminomethylpyrimidin được sử dụng thay vì *R*-(2-aminomethyl)tetrahydrofuran.

LC-MS: tR = 1,05 MS (ESI) m/z 431,4 [M+H]⁺.

¹H NMR: (CD₃OD): δ 8,78 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,76 (s, 1H), 7,75 (dd, *J* = 6,0, 1,6 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H) 7,44 (t, *J* = 5,2 Hz 1H), 5,16 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,24 (m, 2H), 2,79 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 1,74 (m, 1H), 1,65 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,39-1,57 (m, 4H), 0,99 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

Ví dụ 7

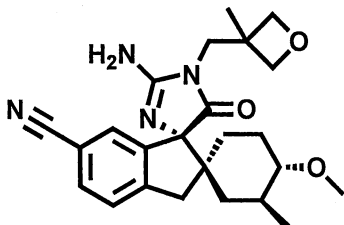


Hợp chất này được điều chế bằng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 6. Hợp chất trung gian có công thức 30A được điều chế tiếp như được mô tả trong Ví dụ 1 thông qua các bước từ 4 đến 10. (2-metoxi) etylamin được sử dụng trong bước 9 sau đó đến quá trình oxy hóa như được mô tả trong bước 10 thu được hợp chất theo Ví dụ 7.

LC-MS: tR = 1,08 phút, MS (ESI) m/z 397 [M+H]⁺.

^1H NMR: (CD_3OD) δ 7,74 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,63 (d, 1H, $J = 1$ Hz), 7,57 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 4,02-3,95 (m, 1H), 3,89-3,83 (m, 1H), 3,54 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,24 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,75 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,79 (dt, 1H, $J = 13, 2$ Hz), 1,56 (m, 1H), 1,41 (m, 3H), 1,14 (t, 1H, $J = 13$ Hz), 1,01 (d, 3H, $J = 6$ Hz).

Ví dụ 8

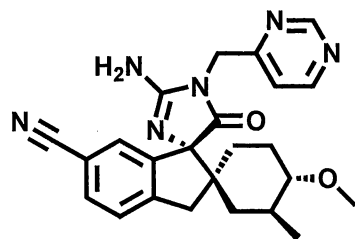


Hợp chất này được điều chế bằng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 6. (3-metyloxetan-3-yl)metanamin được sử dụng như được mô tả trong Ví dụ 1 trong bước 9 sau đó đến quá trình ôxy hóa như được mô tả trong bước 10 thu được hợp chất theo Ví dụ 8.

LC-MS: $t_R = 0,930$ phút, MS (ESI) m/z 423.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,66-7,64 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,51-7,49 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 4,72-4,67 (m, 2H), 4,29-4,25 (m, 2H), 3,74-3,59 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,25-3,14 (m, 2H), 2,74-2,67 (m, 1H), 2,08-2,03 (m, 1H), 1,80-1,53 (m, 3H), 1,30 (m, 5H), 1,08 (m, 1H), 0,90 (m, 3H).

Ví dụ 9



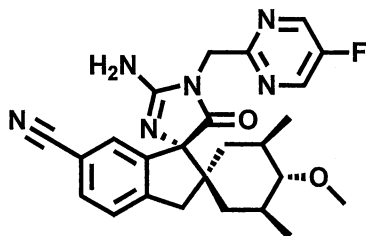
Hợp chất này được điều chế bằng quy trình tương tự như được mô tả trong Ví dụ 6. 4-(aminometyl)pyrimidin được sử dụng như được mô tả trong Ví dụ 1 trong bước 9, sau đó đến quá trình ôxy hóa như được mô tả trong bước 10 in Ví dụ 6 thu được hợp chất theo Ví dụ 9.

LCMS: $t_R = 0,88$ phút, MS (ESI) m/z 431,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

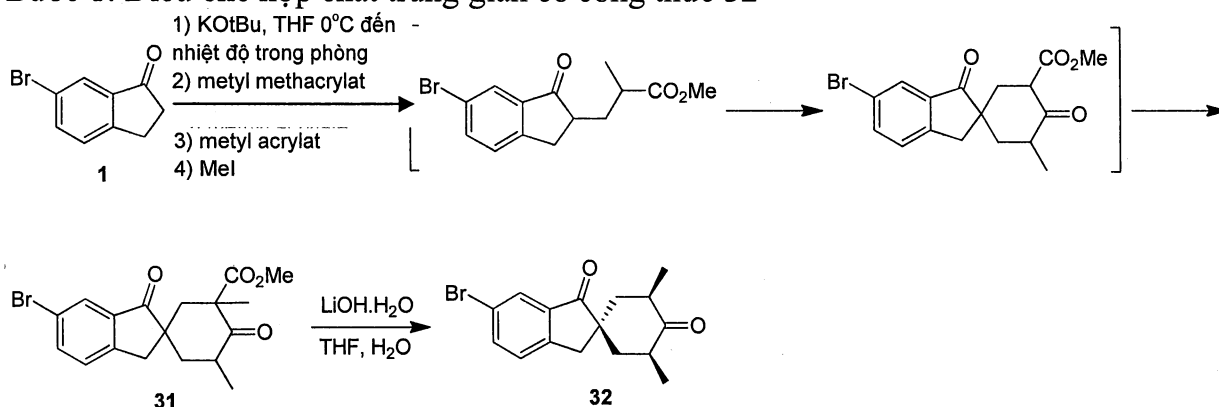
^1H NMR: (CD_3OD): δ 9,05 (s, 1H), 8,70-8,71 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,60-7,62 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,44-7,47 (m, 3H), 4,86 (s, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,10-3,20 (q, 2H), 2,70-2,71

(m, 1H), 2,04-2,06 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,491 (m, 1H), 1,30-1,33 (m, 2H), 1,15-1,18 (m, 1H), 0,95-0,96 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

Ví dụ 10

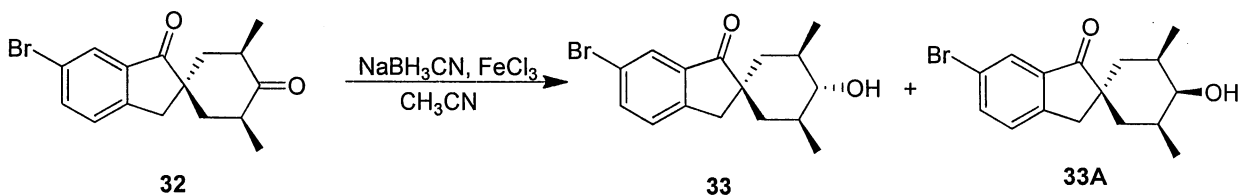


Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 32



Cho *t*-BuOK (58,5 g, 521,2 mmol, 1,1 đương lượng) vào hỗn hợp chứa 6-bromindan-1-on (100,00 g, 473,8 mmol) trong THF khan (1 L) ở 0°C, 2 phút sau đó, làm ấm hỗn hợp này lên đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 10 phút nữa trước khi bổ sung methyl methacrylat (49,8 g, 53,2 mL, 497,5 mmol, 1,05 đương lượng) trong một phần. Sau 2 giờ, methyl acrylat (49,0 g, 51,2 mL, 568,6 mmol, 1,2 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng này. Sau 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, MeI (101 g, 44,3 mL, 710,7 mmol, 1,5 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng này, và ít khuấy trong 16 giờ. Bổ sung H₂O (1 L) sau đó đến LiOH.H₂O (79,5 g, 1895,2 mmol, 4,0 đương lượng), khuấy hỗn hợp này trong 28 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Loại bỏ THF dưới áp suất thấp. Pha loãng phần dư bằng H₂O (1 L) và lọc, rửa bằng H₂O cho tới khi trung hòa dịch lọc này. Sản phẩm này được rửa bằng MeOH thu được 50g hợp chất trung gian có công thức 32.

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 33

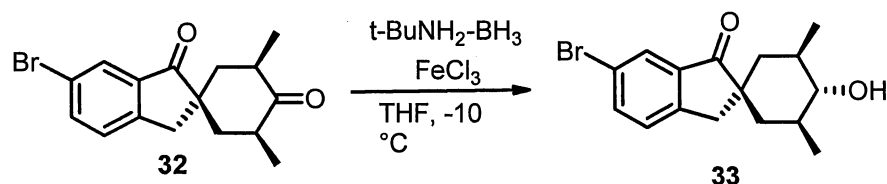


Cho NaBH_3CN (29,4 g, 367,1 mmol, 2,5 đương lượng) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 32 (60,0 g, 186,9 mmol) và FeCl_3 (33,0 g, 205,5 mmol, 1,1 đương lượng) trong THF (600 mL) ở 0°C . Làm ấm hỗn hợp này đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dừng phản ứng này bằng cách bổ sung nước và loại bỏ THF dưới điều kiện chân không. Chiết bằng DCM (3 x 200 mL). Các pha hữu cơ gom được được rửa bằng H_2O và nước muối, làm khô, và cô đặc dưới điều kiện chân không thu được sản phẩm thô, được tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel để tạo ra hợp chất có công thức 33 (25,2 g, 42%) và 33A (12.0 g).

LC-MS: tR = 1,239 phút, MS (ESI) m/z 323,1 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CDCl₃): δ: 7,889-7,894 (s, 1H), 7,671-7,696 (d, 1H), 7,311-7,332 (d, 1H), 3,605 (s, 1H), 2,981 (s, 2H), 1,769-1,797 (m, 4H), 1,072-1,082 (m, 2H), 1,019-1,056 (m, 6H).

Bước 2: Phương pháp điều chế khác hợp chất trung gian có công thức 33

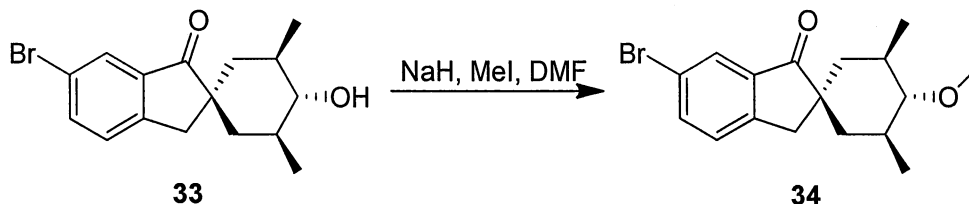


Hỗn hợp chứa FeCl_3 (6.0 g, 37.0 mmol) với toluen (60 mL) được làm lạnh đến 0°C . Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 32 (11,9 g, 37.0 mmol) trong THF (48 mL) sau đó được cho vào hỗn hợp này. Khuấy hỗn hợp này trong 5 phút ở 0°C và sau đó làm lạnh đến -10°C . Dung dịch chứa $t\text{-BuNH}_2\text{-BH}_3$ (3,5 g, 40,7 mmol) trong THF (12 mL) được bổ sung nhỏ giọt vào hỗn hợp phản ứng này ở -10°C . Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở khoảng -10°C trong 30 phút, dùng dung dịch HCl 6N (10 mL), khuấy ở khoảng 0°C trong 30 phút, và sau đó làm ấm đến nhiệt độ trong phòng. Cô đặc hỗn hợp này để loại bỏ THF, và bổ sung toluen (60 mL). Loại bỏ lớp nước, và pha hữu cơ được rửa bằng nước (3 x 60 mL). Cô đặc pha hữu cơ này đến một phần hai thể tích, gia nhiệt đến 50°C thu được dung dịch, và sau đó làm lạnh đến 0°C trong 1 giờ và được giữ ở 0°C trong 1 giờ. Lọc chất rắn và rửa bằng toluen (12 mL) lạnh (0°C), và

được làm khô dưới điều kiện chân không thu được hợp chất có công thức 33 (9,93 g, 83%).

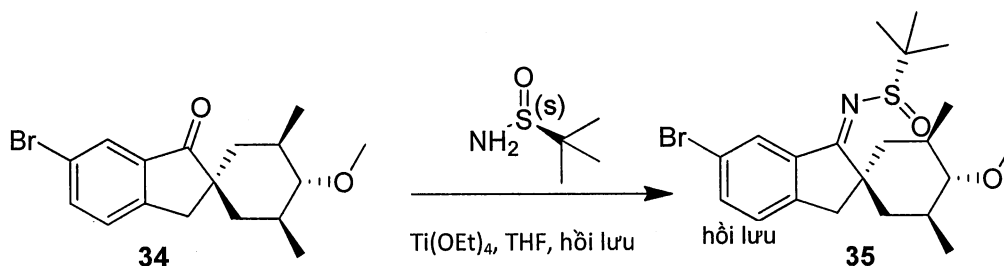
LC-MS: $t_R = 2,36$ phút, MS (ESI) m/z 323.0/325.0 $[M+H]^+$

Bước 3: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 34



Cho NaH (5.0 g, 123,8 mmol, 2.0 đương lượng) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 33 (20.0 g, 61,9 mmol) với DMF (200 mL) ở 0°C. Sau đó khuấy hỗn hợp này trong 15 phút ở 0°C và bổ sung MeI (17,6 g, 123,8 mmol, 2.0 đương lượng) ở 0°C. Sau đó nó được làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 1,5 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dừng hỗn hợp này bằng H₂O và chiết bằng EtOAc. Rửa các pha hữu cơ gom được bằng H₂O và nước muối, làm khô, cô đặc để thu được sản phẩm thô, được tinh chế bằng cột trên slicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ: EtOAc từ 100/1 đến 5/1) thu được hợp chất trung gian có công thức 34 (20 g, 96,2%).

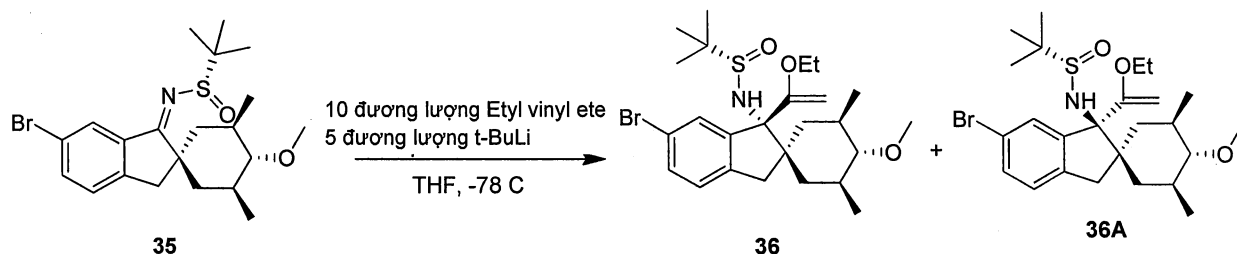
Bước 4: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 35



Hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 34 (20.0 g, 59,3 mmol) và titan (IV) etoxit (108,2 g, 474,4 mmol) trong THF khô (200 ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Bổ sung (*S*)-*N*-*tert*-butylsulfinamit (29 g, 237,2 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở 80 °C dưới khí N₂ qua đêm. Sau đó hỗn hợp phản ứng này được làm mát và bổ sung nước (400 ml). Lọc hỗn hợp này và chiết lớp nước này bằng EtOAc (3 × 400 mL). Pha hữu cơ riêng biệt được làm khô và cô đặc dưới áp suất thấp thu được

sản phẩm thô. Tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc= 20:1) thu được hợp chất trung gian có công thức 35 (18,4 g, 70,5%).

Bước 5: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 36

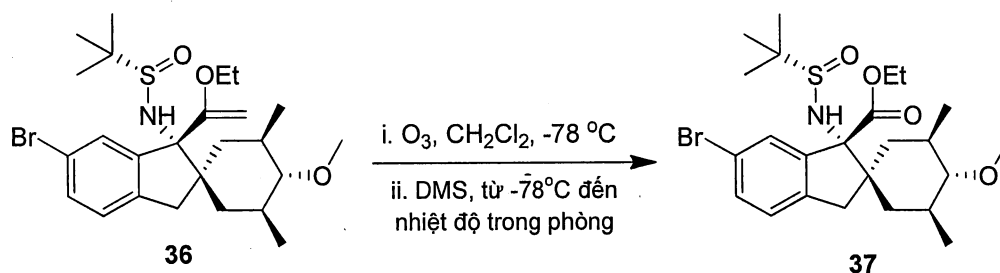


t-BuLi (131 mL, 170,3 mmol, 1,3 M trong hexan) được bổ sung nhỏ giọt vào dung dịch chứa ethyl vinyl ete (12,3 g, 170,3 mmol, 5,0 đương lượng) trong THF khan (100 mL) ở -78°C dưới N₂ và khuấy trong 20 phút. Sau đó khuấy hỗn hợp thu được ở 0 °C trong 45 phút nữa. Làm lạnh lại dung dịch này đến -78 °C và bổ sung nhỏ giọt hợp chất có công thức 35 (15,0 g, 34,1 mmol) trong THF khan (50 mL) và khuấy hỗn hợp này trong 2 giờ ở -78 °C. Hỗn hợp phản ứng này được dừng bằng NH₄Cl bão hòa (50 mL) và chiết bằng EtOAc (3 × 300 mL). Pha hữu cơ được cô đặc thu được phần dư, được tinh chế bằng silica gel sắc ký cột thu được hợp chất trung gian có công thức 36 (11 g, 64,7%) và 36A (1,441 g, độ tinh khiết 100%).

LC-MS t_R = 5,676 phút; MS (ESI) *m/z* 514,2 [M+H]⁺.

¹H-NMR (CD₃OD): δ 7,546 (s, 1H), 7,454-7,479 (d, 1H), 7,208-7,228 (d, 1H), 4,620-4,755 (d, 1H), 4,373-4,381 (m, 1H), 4,048-4,055 (m, 1H), 3,844-3,903 (m, 2H), 3,458-3,474 (s, 3H), 2,986-3,000 (m, 2H), 2,326-2,377 (m, 1H), 1,969-2,001 (m, 1H), 1,671 (s, 1H), 1,457-1,520 (t, J = 12 Hz, 3H), 1,373-1,408 (m, 2H), 1,328 (s, 9H), 1,169-1,278 (m, 5H), 1,073-1,106 (d, 3H).

Bước 5: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 37

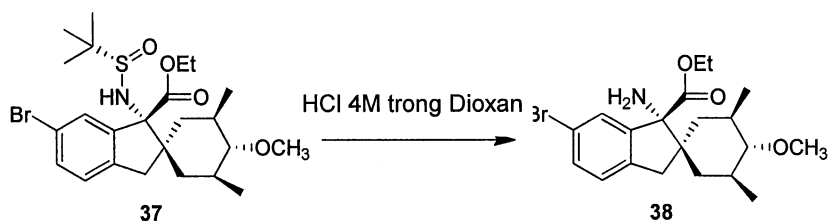


Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 36 (4,8 g, 9,37 mmol) trong DCM:MeOH = 5:1 (40 mL), được làm lạnh đến -78°C và thổi khí ozon qua hỗn hợp này trong 20 phút. Sau đó thổi vào hỗn hợp này N_2 và xử lý bằng Me_2S (10 mL) ở -78°C , sau đó làm ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 3 giờ. Loại bỏ dung môi dưới điều kiện chân không, tinh chế phần dư bằng sắc ký cột trên silicagel (ete dầu mỏ: EtOAc = 20:1 đến 8:1) thu được hợp chất trung gian có công thức 37 (3.5 g, 72.9%).

LC-MS tR = 1,297 phút; MS (ESI) m/z 516,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7,84 (s, 1H), 7,42-7,44 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,09-7,11 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,40 (s, 1H), 4,26-4,39 (m, 2H), 3,44 (s, 3H), 2,93-2,97 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 2,70-2,74 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H), 2,22-2,30 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,75-1,79 (m, 1H), 1,61-1,66 (m, 1H), 1,54-1,57 (m, 2H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,14 (s, 9H), 1,06-1,08 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,89-0,91 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 0,67-0,74 (m, 1H).

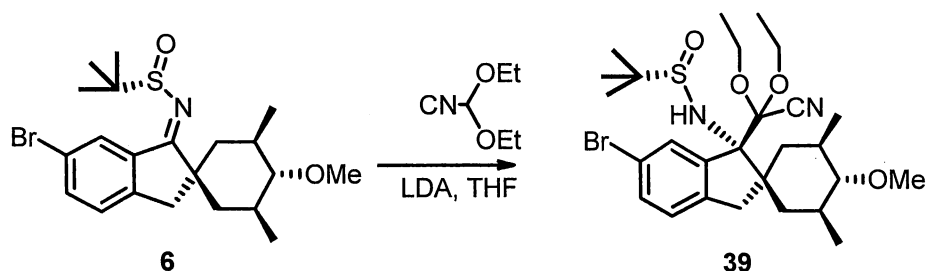
Bước 6: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 38



Cho dung dịch HCl 4M trong dioxan (2 mL) vào hợp chất có công thức 37 (860 mg, 1,7 mmol) trong MeOH (10 mL). Khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút. Loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được hợp chất trung gian thô có công thức 38 (800 mg). Phần còn lại này được sử dụng cho bước tiếp theo không cần tinh chế tiếp.

Phương pháp khác điều chế hợp chất trung gian có công thức 38

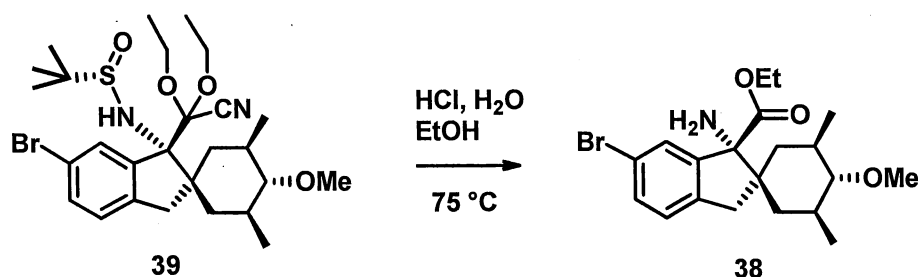
Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 39



Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 6 (5.00 g, 11,4 mmol), dietoxyaxetonitril (3,5 mL, 24,4 mmol) và THF (50 mL) được làm lạnh đến -7°C và được xử lý nhỏ giọt bằng LDA (25,0 mL, 45,0 mmol, 1,8M trong THF/heptan/etylbenzen). Khuấy hỗn hợp này ở từ -7 đến -2°C trong 2 giờ, và sau đó dùng bằng nước (50 mL) và dung dịch nước NH_4Cl bão hòa (25 mL). Bổ sung hexan (100 mL), và tách các lớp này. Rửa lớp hữu cơ này bằng nước, nước muối, và được cô đặc để thu được hợp chất trung gian thô có công thức 39 (9.00 g, 139%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

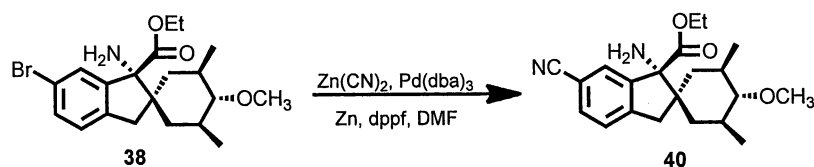
LC-MS: $t_R = 3.74$ phút, MS (ESI) m/z 523.2/525.2 $[\text{M}-\text{OEt}+\text{H}]^+$

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 38



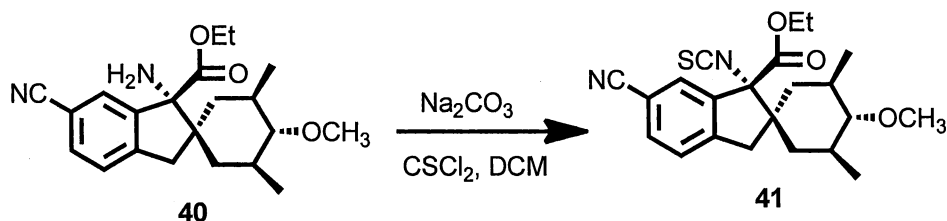
Hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 39 trên đây (9.00 g, 11,4 mmol) trong EtOH (30 mL) được xử lý bằng dung dịch HCl 6N (20 mL). Hỗn hợp phản ứng này được gia nhiệt ở 75°C trong 24 giờ và được làm mát đến nhiệt độ trong phòng. Chiết phản ứng này bằng toluen (50 mL), và pha chứa nước sau đó được bazơ hóa đến $\text{pH} = 8$ bằng dung dịch NaOH 2N (~60 mL). Bổ sung toluen (100 mL), và khuấy và tách các lớp này. Lớp hữu cơ này được rửa bằng dung dịch nước NaCHO_3 và nước muối và cô đặc. Bổ sung hexan và cô đặc dung dịch này lại thu được hợp chất trung gian thô có công thức 38 (3,47 g, 74%) mà được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo. LC-MS: $t_R = 0.86$ phút, MS (ESI) m/z 410,2/412,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Bước 7: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 40



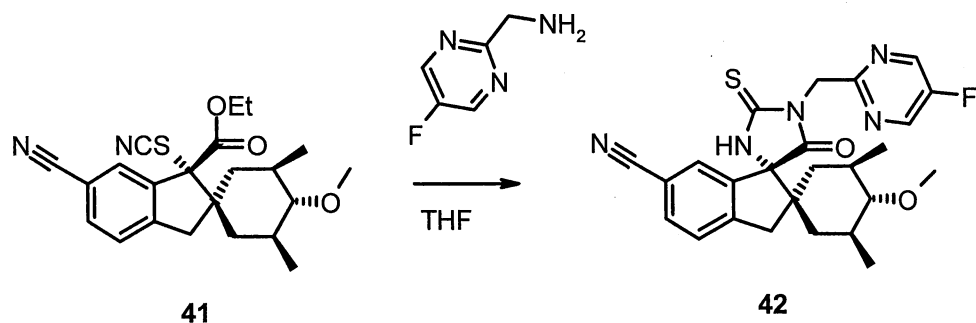
Hợp chất trung gian có công thức 40 được điều chế theo phương pháp tương tự như được mô tả trong bước 7 của phương pháp điều chế hợp chất trung gian có công thức 10A. Nó được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Bước 8: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 41



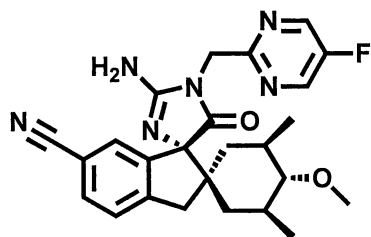
Hợp chất trung gian có công thức 41 được điều chế theo phương pháp tương tự như được mô tả trong bước 8 của phương pháp điều chế hợp chất trung gian có công thức 11A. Hợp chất trung gian thô có công thức 41 được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Bước 9: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 42



Hợp chất trung gian có công thức 42 được điều chế theo phương pháp tương tự như được mô tả trong bước 9 của phương pháp điều chế hợp chất trung gian có công thức 12A. Hợp chất trung gian thô có công thức 42 được sử dụng trực tiếp trong bước tiếp theo.

Bước 10: Điều chế hợp chất nêu trong ví dụ 10

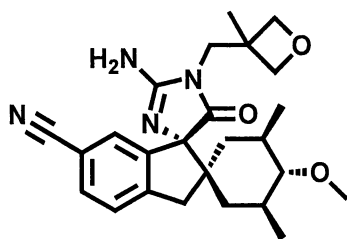


Cho $\text{NH}_3\text{-H}_2\text{O}$ (1 mL) và *tert*-butyl hydroperoxit (1 mL) vào dung dịch chứa hợp chất trung gian có công thức 42 (400 mg, 0,8 mmol) trong EtOH (8 mL). Sau khi bổ sung, khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 12 giờ. Loại bỏ dung môi bằng cách làm bay hơi dưới điều kiện chân không. Tinh chế phần dư bằng phương pháp HPLC điều chế 1 thu được hợp chất nêu trong Ví dụ 6 (65.0 mg, hiệu suất 20%).
LC-MS: $t_R = 0,945$ phút, MS (ESI) m/z 463,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD) δ 8,65-8,70 (s, 2H), 7,60-7,65 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,45-7,55 (m, 2H), 4,95-5,00 (s, 2H), 3,40-3,45 (s, 3H), 3,10-3,20 (m, 2H), 2,30-2,40 (m, 1H), 1,70-1,80 (m, 3H), 1,45-1,55 (m, 1H), 1,25-1,35 (m, 2H), 0,90-1,00 (m, 6H).

^{19}F NMR (400 MHz, MeOD): -141,57

Ví dụ 11

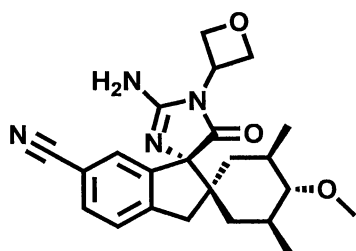


Hợp chất theo Ví dụ 11 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, (3-metyloxetan-3-yl) metanamin được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 11

LC-MS: $t_R = 0,96$ phút, MS (ESI) m/z 437 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,75 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H), 7,68 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 4,60 (d, $J = 6,4$ Hz, 2H), 4,32 (dd, $J = 8,0, 6,4$ Hz, 2H), 3,97 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,69 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,44 (s, 3H), 3,25 (m, 2H), 2,44 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,81-1,75 (m, 2H), 1,67 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,36 (m, 1H), 1,30-1,21 (m, 2H), 1,07 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,98 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

Ví dụ 12

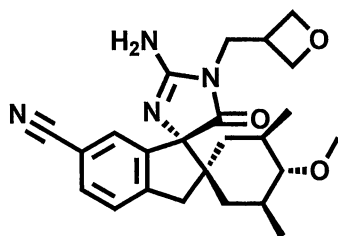


Ví dụ 12 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, 2-aminooxetan được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin thu được Ví dụ 12

LC-MS: $t_R = 0,91$ phút, MS (ESI) m/z 409 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 7,75 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,28 (m, 1H), 5,13 (dd, $J = 14,0, 6,8$ Hz, 2H), 4,87 (dd, $J = 8,0, 6,4$ Hz, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,26 (m, 2H), 2,43 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,68 (m, 1H), 1,35-1,18 (m, 3H), 1,03 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,97 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

Ví dụ 13

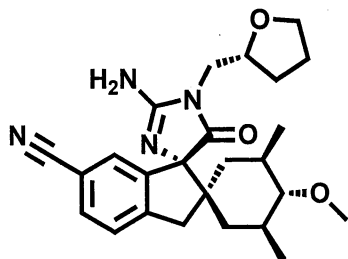


Ví dụ 13 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, oxetan-3-ylmetanamin được sử dụng thay vì (5-flopyriminde)-2metylamin thu được Ví dụ 13.

LC-MS: $t_R = 0,904$ phút; MS (ESI) m/z 423.3 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 7,60-7,62 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,45-7,47 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 4,69-4,73 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 4,44-4,49 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,85-3,91 (m, 1H), 3,74-3,80 (m, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,34-3,38 (m, 1H), 3,08-3,22 (m, 2H), 2,32-2,37 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,61-1,71 (m, 3H), 1,38 (m, 1H), 1,19-1,23 (m, 1H), 0,92-0,99 (m, 7H).

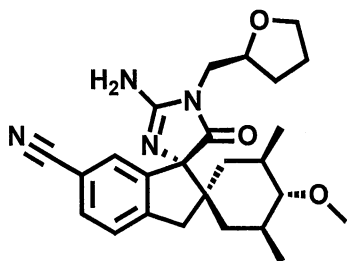
Ví dụ 14



Hợp chất theo Ví dụ 14 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, (*S*)-2-(aminometyl)-tetrahydrofuran được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 14. LC-MS: $t_R = 1,02$ phút, MS (ESI) m/z 437 $[M+H]^+$.

1H NMR :(CD_3OD): δ 7,75 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,16 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,70 (m, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,30 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,19(d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 2,42 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 2,08-1,95 (m, 3H), 1,88-1,1,63 (m, 4H), 1,55 (m, 1H), 1,40-1,30 (m, 2H), 1,05 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,01 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

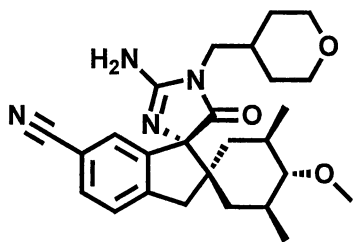
Ví dụ 15



Hợp chất theo Ví dụ 15 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, (*R*)-2-(aminometyl)-tetrahydrofuran được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo ví dụ 15. LC-MS: $t_R = 1,02$ phút, MS (ESI) m/z 437 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 7,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 4,07 (m 1H), 3,88 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,66 (dd, $J = 14,8, 3,2$ Hz, 1H), 3,57 (dd, $J = 14,8, 6,8$ Hz, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,23 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 3,10 (d, 16,0 Hz, 1H), 2,35 (t, $J = 10,4$ Hz, 1H), 2,01-1,86 (m, 3H), 1,76-1,50 (m, 4H), 1,44 (t, $J = 13,2$ Hz, 1H), 1,24 (m, 1H), 1,03 (t, $J = 12,8$ Hz, 1H), 0,98 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,93 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H).

Ví dụ 16

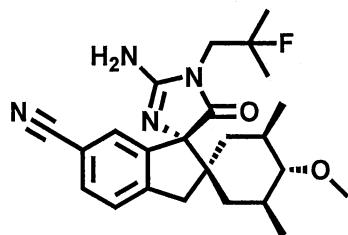


Hợp chất theo Ví dụ 16 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, 2-(aminometyl)-tetrahydropyran được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 16

LC-MS: $t_R = 0,958$ phút, MS (ESI) m/z 451,3 $[M+H]^+$.

1H NMR (CD_3OD): δ 7,62-7,65 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,48-7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 3,93-3,96 (m, 2H), 3,37-3,45 (m, 7H), 3,23-3,27 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 3,11-3,15 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 2,35-2,40 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,96-2,03 (m, 1H), 1,53-1,80 (m, 5H), 1,23-1,46 (m, 4H), 0,92-1,08 (m, 7H).

Ví dụ 17

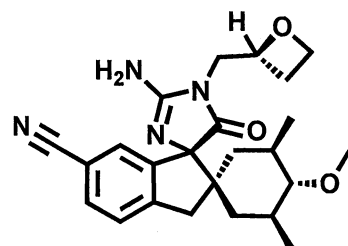


Hợp chất theo Ví dụ 17 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, hợp chất trung gian có công thức 18 được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 17.

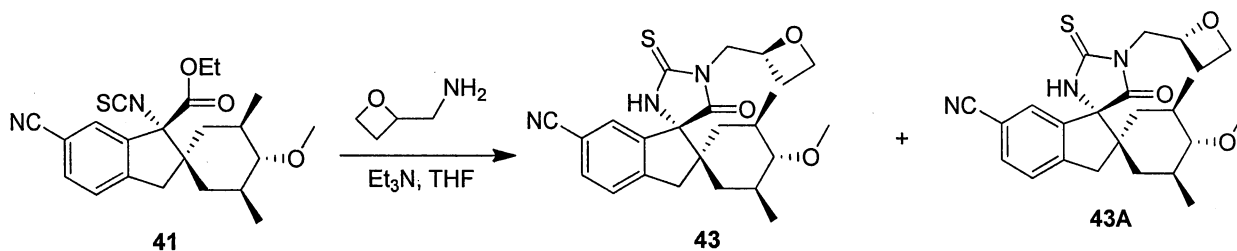
LC-MS: $t_R = 0,969$ phút, MS (ESI) m/z 427,2 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 7,63-7,65 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,49-7,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 3,70-3,76 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,13-3,28 (m, 2H), 2,36-2,41 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,65-1,84 (m, 3H), 1,48-1,51 (m, 1H), 1,37-1,42 (m, 6H), 1,26-1,33 (m, 1H), 1,02-1,09 (m, 1H), 0,92-1,00 (m, 6H), ^{19}F NMR: (CD_3OD): δ -139,58.

Ví dụ 18



Bước 9: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 43

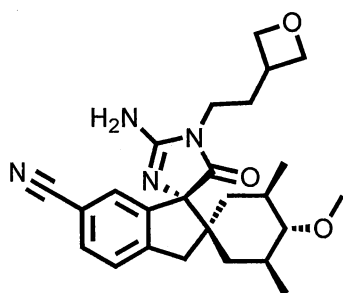


Cho hợp chất 2-(2-aminometyl)oxetan (262 mg, 3,01 mmol) và triethylamin (760 mg, 7,53 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 41 (1 g, 2,51 mmol) trong THF (25 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng này bằng EtOAc (45 mL), sau đó đến dung dịch nước bão hòa NaCHO_3 (2×35 mL) và nước muối (2×35 mL). Loại bỏ dung môi sau đó làm khô thu được hợp chất thô có công thức 43 và 43A mà được tinh chế bằng SFC-phương pháp A. Chất đồng phân không đối quang này được tách bằng SFC-phương pháp B. Chất đồng phân không đối quang mong muốn có công thức 43 được phân tách là đỉnh thứ hai dưới các điều kiện này. Hợp chất này được tinh chế tiếp như được mô tả trong bước 10 của ví dụ 10 thu được Ví dụ 18.

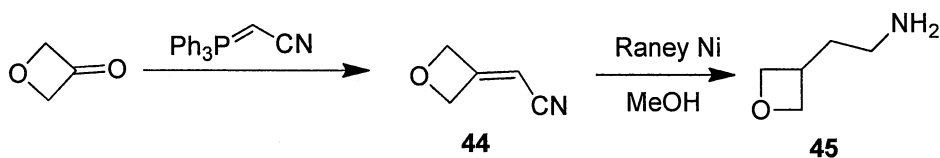
LC-MS: $t_R = 0,863$ phút, MS (ESI) m/z 423,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,61-7,63 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,47-7,49 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 4,95-5,01 (m, 1H), 4,65-4,70 (m, 1H), 4,52-4,58 (m, 1H), 3,73-3,85 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,22-3,26 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 3,10-3,14 (d, $J = 16,4$ Hz, 1H), 2,64-2,72 (m, 1H), 2,33-2,45 (m, 2H), 1,59-1,76 (m, 3H), 1,40-1,49 (m, 1H), 1,22-1,27 (m, 1H), 0,93-1,07 (m, 7H).

Ví dụ 19



Điều chế 3-((2-amino)etyl)oxetan



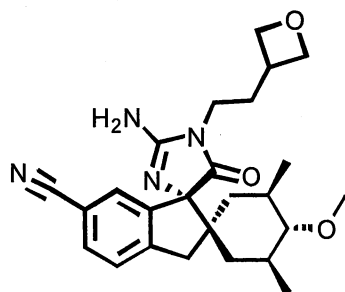
Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 44

Cho 2-(triphenylphosphoranylidene) axetonitril (1,8 g, 6 mmol) vào 3-oxanon (0,42 g, 6 mmol) trong DCM (20 mL) và khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau thời gian này, loại bỏ dung môi dưới áp suất thấp thu được sản phẩm thô (260 mg, thô), được tinh chế bằng sắc ký trên silicagel (dầu mỏ: EtOAc, 3:1) thu được hợp chất trung gian có công thức 44 (260 mg, hiệu suất 46%) là chất rắn màu trắng.

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian 45

Cho Raney-Ni (100 mg) vào hỗn hợp chứa hợp chất trung gian có công thức 44 (260 mg, 2.74 mmol) trong MeOH (10 mL) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng dưới khí hydro trong 12 giờ. Sau đó lọc hỗn hợp này qua giấy lọc Celite[®]. Cô đặc dịch lọc này thu được hợp chất trung gian có công thức 45 (200 mg, thô).

Ví dụ 19

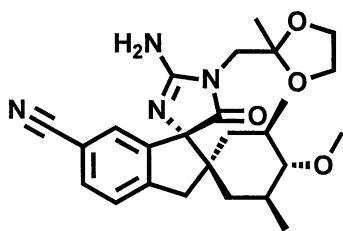


Hợp chất theo Ví dụ 19 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, hợp chất trung gian có công thức 45 được sử dụng để thu được hợp chất theo Ví dụ 19.

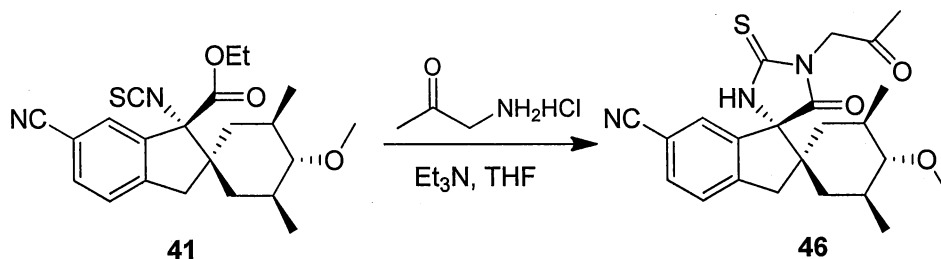
LCMS: tR = 2,358 phút, MS (ESI) m/z 437.3 [M+H]⁺.

¹H NMR: (CD₃OD): δ 7,64-7,66 (d, 1H), 7,49-7,51 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 4,74-4,79 (d, 2H), 4,40-4,43 (d, 2H), 3,49-3,52 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 2,95-3,27 (m, 3H), 2,36-2,41 (m, 1H), 1,97-2,05 (m, 2H), 1,21-1,80 (m, 5H), 1,01-1,09 (m, 4H), 0,92-0,99 (m, 3H).

Ví dụ 20

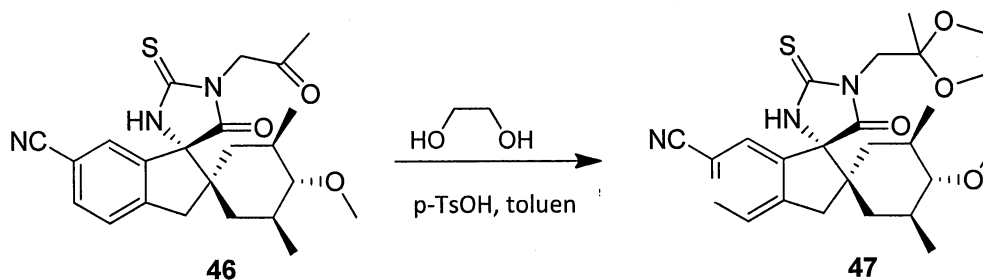


Bước 1: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 46



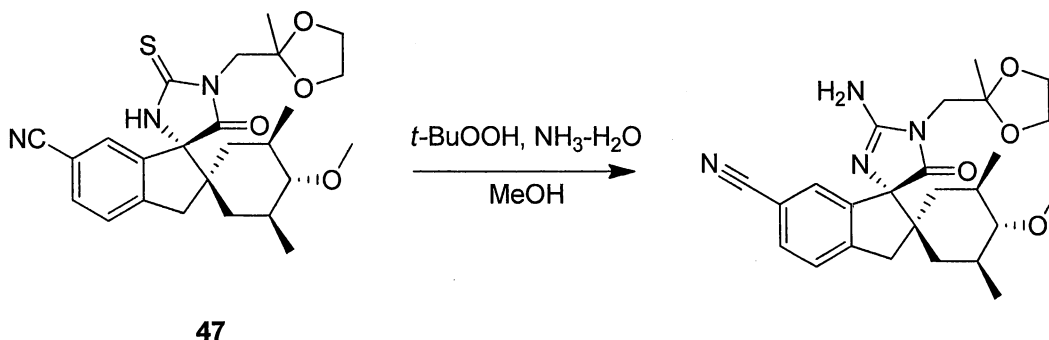
Cho 2-aminoaxeton hydroclorua (41 mg, 0,377 mmol) và trietylamin (76 mg, 0,754 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 41 (100 mg, 0,25 mmol) trong THF khô (3 mL). Khuấy hỗn hợp này qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dừng phản ứng này bằng cách bổ sung nước (3 mL) và chiết bằng EtOAc (2×5 mL). Làm khô các lớp hữu cơ gom được và làm bay hơi dưới điều kiện chân không. Tinh chế nguyên liệu thô này bằng TLC điều chế thu được hợp chất có công thức 46 (50 mg, 24%).

Bước 2: Điều chế hợp chất trung gian có công thức 47



Cho etylen glycol (0,03 mL) và axit *p*-toluen sulfonic (1,1 mg, 0,0068 mmol) vào dung dịch chứa hợp chất có công thức 46 (50 mg, 0,118 mmol) trong toluen (3 mL). Dung dịch này được gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu trong 2 ngày. Hỗn hợp phản ứng này được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và bổ sung nước muối (3 mL). Chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (2×5 mL). Làm khô các lớp hữu cơ gom được và làm bay hơi dưới điều kiện chân không. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng TLC điều chế thu được hợp chất có công thức 47 (51 mg, %).

Bước 3: Điều chế hợp chất nêu ở ví dụ 20

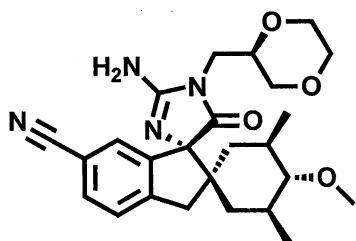


Cho dung dịch nước amoniac (0,8 mL), *t*-BuOOH (2,5 mL) vào hỗn hợp chứa hợp chất có công thức 47 (51 mg, 0,113 mmol) trong MeOH (2,5 mL). Khuấy hỗn hợp này qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó bổ sung dung dịch bão hòa $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2.5 mL) để dừng phản ứng này. Chiết hỗn hợp này bằng EtOAc (2×5 mL). Làm khô các lớp hữu cơ gom được và làm bay hơi dưới điều kiện chân không. Nguyên liệu thô được tinh chế bằng TLC điều chế cơ sở để thu được Ví dụ 20 (12.8 mg, 25%) là chất rắn màu trắng.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): δ 7,60 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,50 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 3,86-4,01 (m, 4H), 3,64-3,75 (m, 2H), 3,42 (s, 3H), 3,03-3,23 (m, 2H), 2,34 (t, 1H), 1,61-1,84 (m, 3H), 1,43 (s, 1H), 1,20-1,37 (m, 4H), 0,89-1,08 (m, 7H).

LC-MS $t_R = 0,891$ phút, MS (ESI) m/z 453,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ví dụ 21

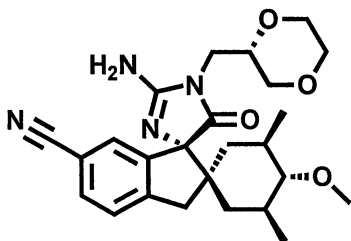


Hợp chất theo Ví dụ 21 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, (R)-(1,4-dioxan-2-yl)metanamin được sử dụng để thu được hợp chất theo Ví dụ 21.

LC-MS: $t_R = 0,928$ phút, MS (ESI) m/z 453,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,63-7,61 (dd, $J = 1,6$ Hz, 4,0 Hz, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,3 (s, 1H), 3,6-3,8 (m, 6H), 3,6-3,5 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,3-3,1 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 1,8-1,6 (m, 3H), 1,6-1,4 (m, 1H), 1,3-1,2 (m, 1H), 1,1 (m, 1H), 0,9-1,01 (m, 6H).

Ví dụ 22

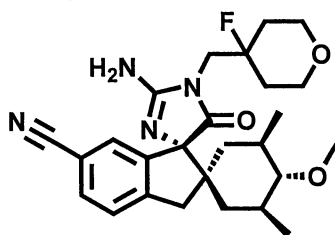


Hợp chất theo Ví dụ 22 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, (S)-(1,4-dioxan-2-yl)metanamin được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 22.

LC-MS: $t_R = 0,928$ phút, MS (ESI) m/z 453,3 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,63-7,61 (dd, $J = 1,6$ Hz, 4,0 Hz, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,3 (s, 1H), 3,6-3,8 (m, 6H), 3,6-3,5 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,3-3,1 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 1,8-1,6 (m, 3H), 1,6-1,4 (m, 1H), 1,3-1,2 (m, 1H), 1,1 (m, 1H), 0,9-1,01 (m, 6H).

Ví dụ 23

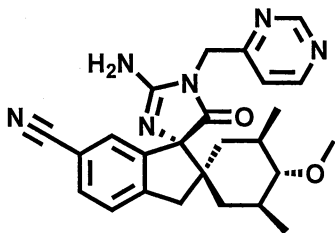


Hợp chất theo Ví dụ 23 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, hợp chất trung gian có công thức 25 được sử dụng để thu được hợp chất theo Ví dụ 23.

LC-MS: $t_R = 0,918$ phút, MS (ESI) m/z 469,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H NMR: (CD_3OD): δ 7,62 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,48 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 3,88-3,79 (m, 3H), 3,73-3,62 (m, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,25-3,09 (m, 2H), 2,36 (t, 1H), 1,81-1,60 (m, 7H), 1,46 (m, 1H), 1,23 (m, 1H), 1,06 (m, 1H), 0,99-0,92 (m, 6H), ^{19}F NMR: (CD_3OD 400 MHz): δ -160,19.

Ví dụ 24

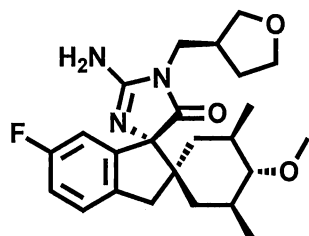


Hợp chất theo Ví dụ 24 được điều chế cho mỗi quy trình được mô tả trong Ví dụ 10. Trong bước 9, 3-pyrimidyl-metanamin được sử dụng thay vì (5-flopyrimidin)-2-metylamin để thu được hợp chất theo Ví dụ 24.

LC-MS: $t_R = 0,867$ phút, MS (ESI) m/z 445,1 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 9,08 (s, 1H), 8,74 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,48 (m, 3H), 4,90 (s, 2H), 3,46 (s, 3H), 3,12-3,24 (m, 2H), 2,41 (m, 1H), 1,63-1,75 (m, 3H), 1,49 (m, 1H), 1,28 (m, 2H), 1,02 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,96 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

Ví dụ 25

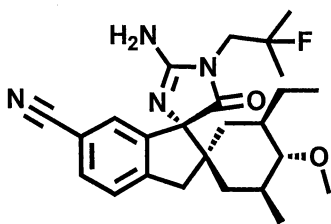


Hợp chất theo Ví dụ 25 được điều chế theo phương pháp tương tự như cho Ví dụ 18. Trong bước 9, sử dụng (tetrahydrofuran-3-yl)metanamin và hai chất đồng phân không đối quang được tách bằng SFC-Phương pháp B. Tinh chế tiếp hợp chất trung gian xuất hiện bên ngoài đỉnh thứ hai từ SFC-Phương pháp B thu được hợp chất nêu trong Ví dụ 26.

LCMS: $t_R = 0,845$ phút; m/z 430.3 $[M+H]^+$.

1H NMR: (CD_3OD): δ 7,63-7,66 (m, 1H), 7,49-7,51 (m, 1H), 7,31 (s, 1H), 3,84-3,93 (m, 1H), 3,71-3,81 (m, 2H), 3,48-3,63 (m, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,11-3,31 (m, 2H), 2,51-2,78 (m, 2H), 1,22-2,09 (m, 7H), 1,00-1,06 (m, 4H), 0,93-0,99 (m, 3H).

Ví dụ 26

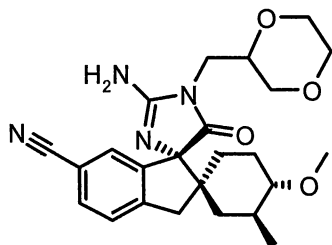


Hợp chất theo Ví dụ 26 được điều chế theo phương pháp tương tự như Ví dụ 1. Trong quá trình điều chế hợp chất theo ví dụ 28, trong bước 1 của ví dụ 1, methyl methacrylat được sử dụng thay vì methyl acrylat. Trong bước 3, chất đồng phân có cực tương ứng có công thức 6B được phân tách và được tinh chế tiếp như được mô tả trong Ví dụ 1. Trong bước 9, hợp chất trung gian có công thức 17 được sử dụng để thu được hợp chất theo Ví dụ 28.

LC-MS: $t_R = 1,16$ phút, MS (ESI) m/z 441 $[M+H]^+$.

1H NMR (CD_3OD): δ 7,64 (dd, 1H, $J = 8, 2$ Hz), 7,50 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,30 (s, 1H), 3,73 (dd, 2H, $J = 22, 4$ Hz), 3,44 (s, 3H), 3,19 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,49 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,71 -1,63 (m, 1H), 1,55 (m, 1H), 1,42-1,33 (m, 8H), 1,22-1,12 (m, 1H), 1,08 (t, 1H, $J = 13$ Hz), 1,01 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 0,79 (t, 3H, $J = 7$ Hz).

Ví dụ 27

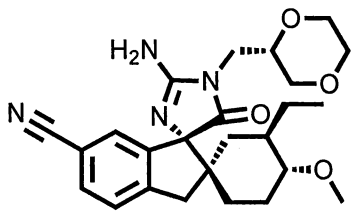


Hợp chất theo Ví dụ 27 được điều chế bằng phương pháp như được mô tả trong Ví dụ 6. (1,4-dioxan-2-yl)metanamin được sử dụng trong bước 9 sau đó đến quá trình ôxy hóa như được mô tả trong bước 10 để thu được hợp chất theo Ví dụ 27.

LC-MS: $t_R = 0,68$ phút, MS (ESI) m/z 439 $[M+H]^+$

1H NMR: (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,67 (không được phân tích, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,20 (không được phân tích, 1H), 6,66 (s, 2H), 3,78 – 2,97 (m, 14H), 2,59 (m, 1H), 1,92 (m, 1H), 1,66 (m, 2H), 1,42 (m, 1H), 1,28 – 1,03 (m, 2H), 0,89 (d, 3H), 0,88 (m, 1H)

Ví dụ 28

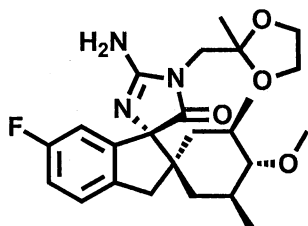


Hợp chất theo Ví dụ 28 được điều chế từ hợp chất trung gian có công thức 11B từ ví dụ 1 theo quy trình tương tự như trong ví dụ 1 và sử dụng *S*-2-(aminometyl) dioxan trong bước 9 của ví dụ 1.

LC-MS: t_R = 0,894 phút, MS (ESI) m/z 453,2 [M+H]⁺

¹H NMR: (CD₃OD): δ 7,63 (dd, *J* = 7,6, 1,2 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 3,61-3,85 (m, 8H), 3,58 (s, 3H), 3,56 (s, 1H), 3,17 (m, 2H), 2,77-2,82 (m, 1H), 2,10 -2,17 (m, 1H), 1,85-1,88 (m, 1H), 1,69-1,75 (m, 1H), 1,37-1,45 (m, 3H), 1,24-1,34 (m, 2H), 1,09-1,15 (m, 1H), 0,75 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

Ví dụ 29



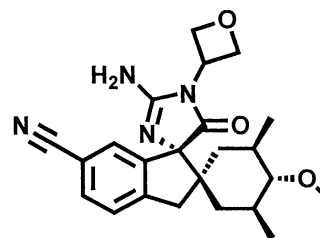
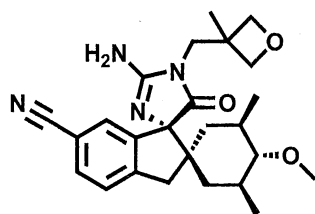
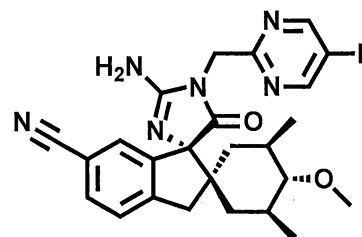
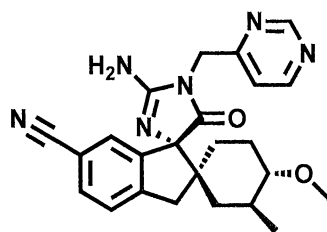
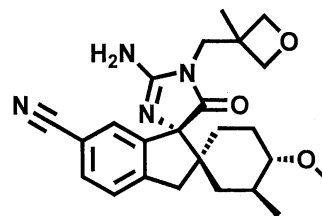
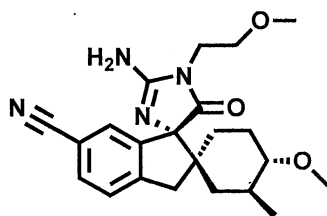
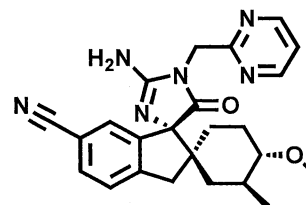
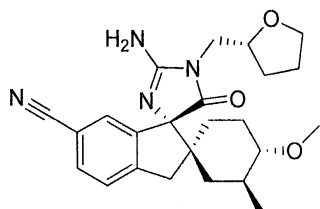
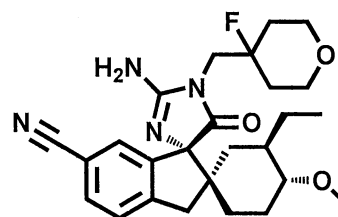
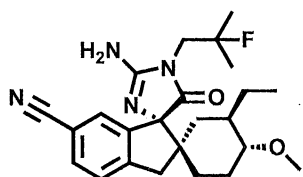
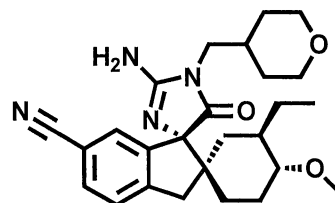
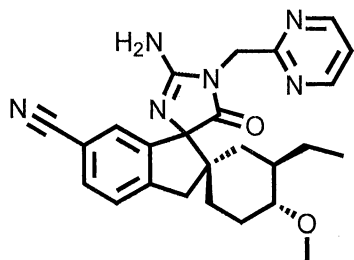
Bắt đầu bằng 6-flu-3-indanon, hợp chất theo Ví dụ 29 được điều chế theo phương pháp tương tự như cho Ví dụ 20.

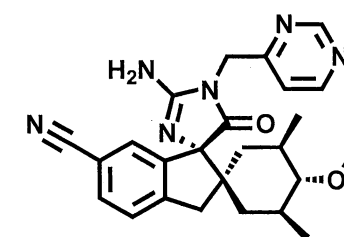
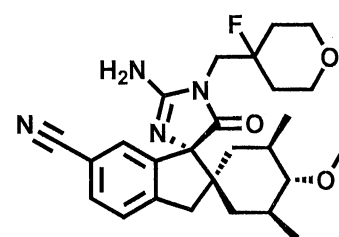
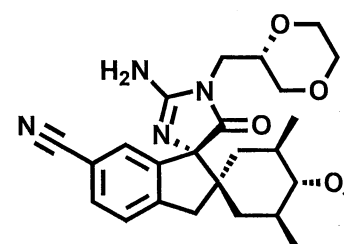
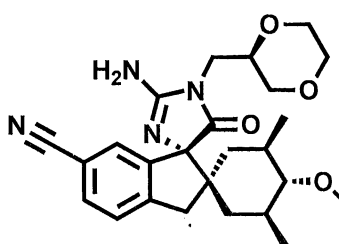
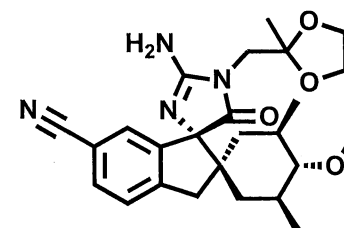
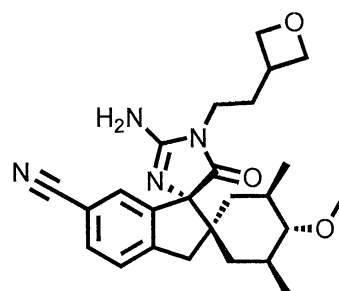
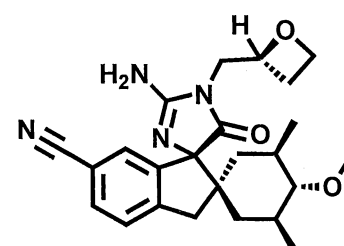
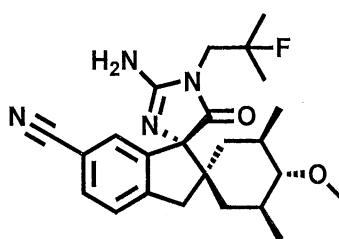
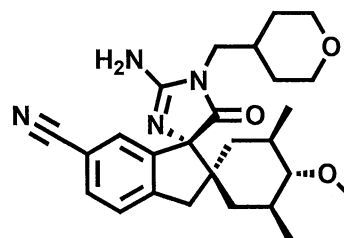
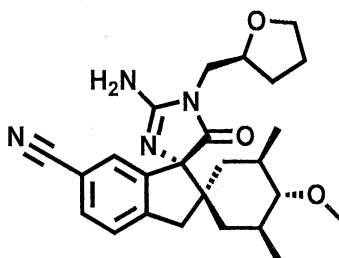
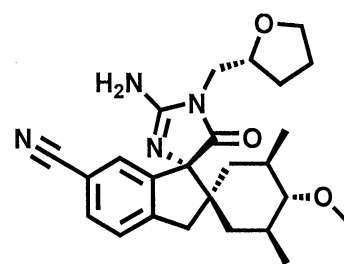
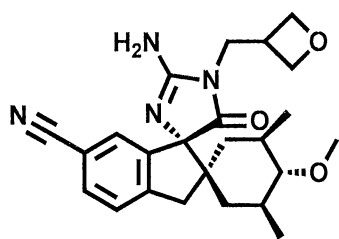
LC-MS t_R = 1,02 phút; MS (ESI) m/z 446 [M+H]⁺.

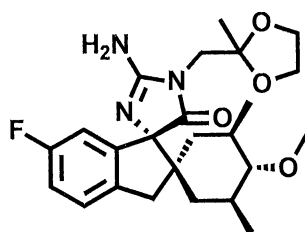
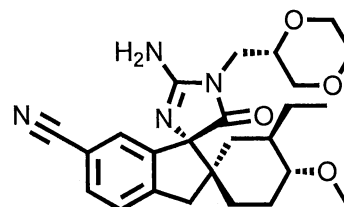
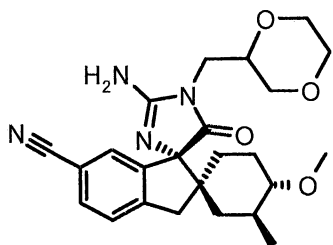
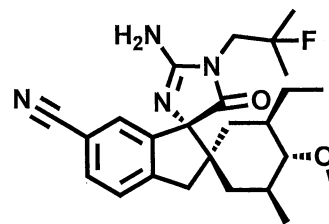
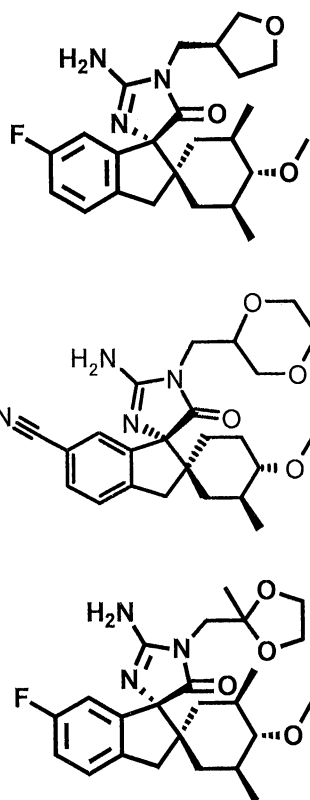
¹H NMR (CD₃OD): δ 7,26 (dd, *J* = 8,4, 5,2 Hz, 1H), 6,95 (m, 1H), 6,62 (dd, *J* = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 4,02-3,89 (m, 4H), 3,70 (d, *J* = 14,8 Hz, 1H), 3,65 (d, *J* = 14,8 Hz, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,12 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H), 2,98 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H), 2,34 (t, *J* = 10,0 Hz, 1H), 1,79-1,60 (m, 3H), 1,43 (m, 1H), 1,34 (m, 1H), 1,32 (m, 1H), 1,30 (s, 3H), 1,00 (m, 1H), 0,99 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,94 (d, *J* = 6,0 Hz, 3H).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức cấu trúc được chọn từ nhóm bao gồm:



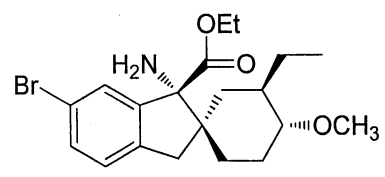
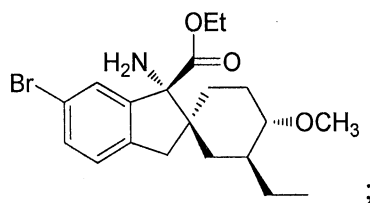
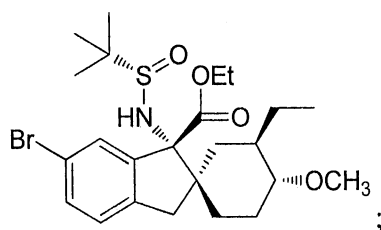
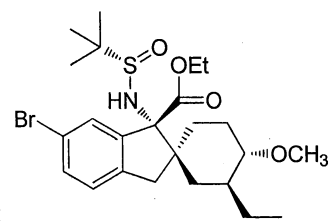
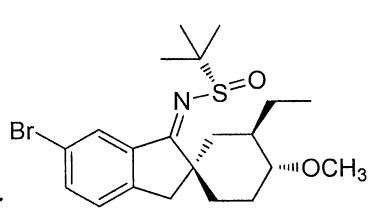
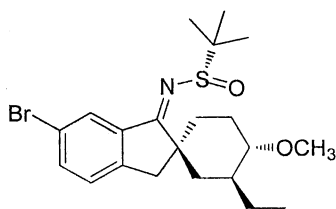
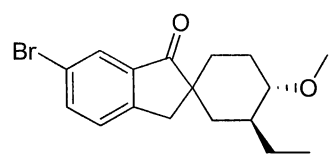
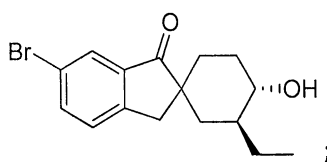
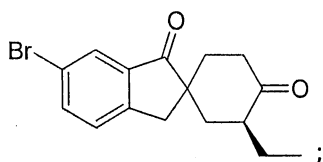


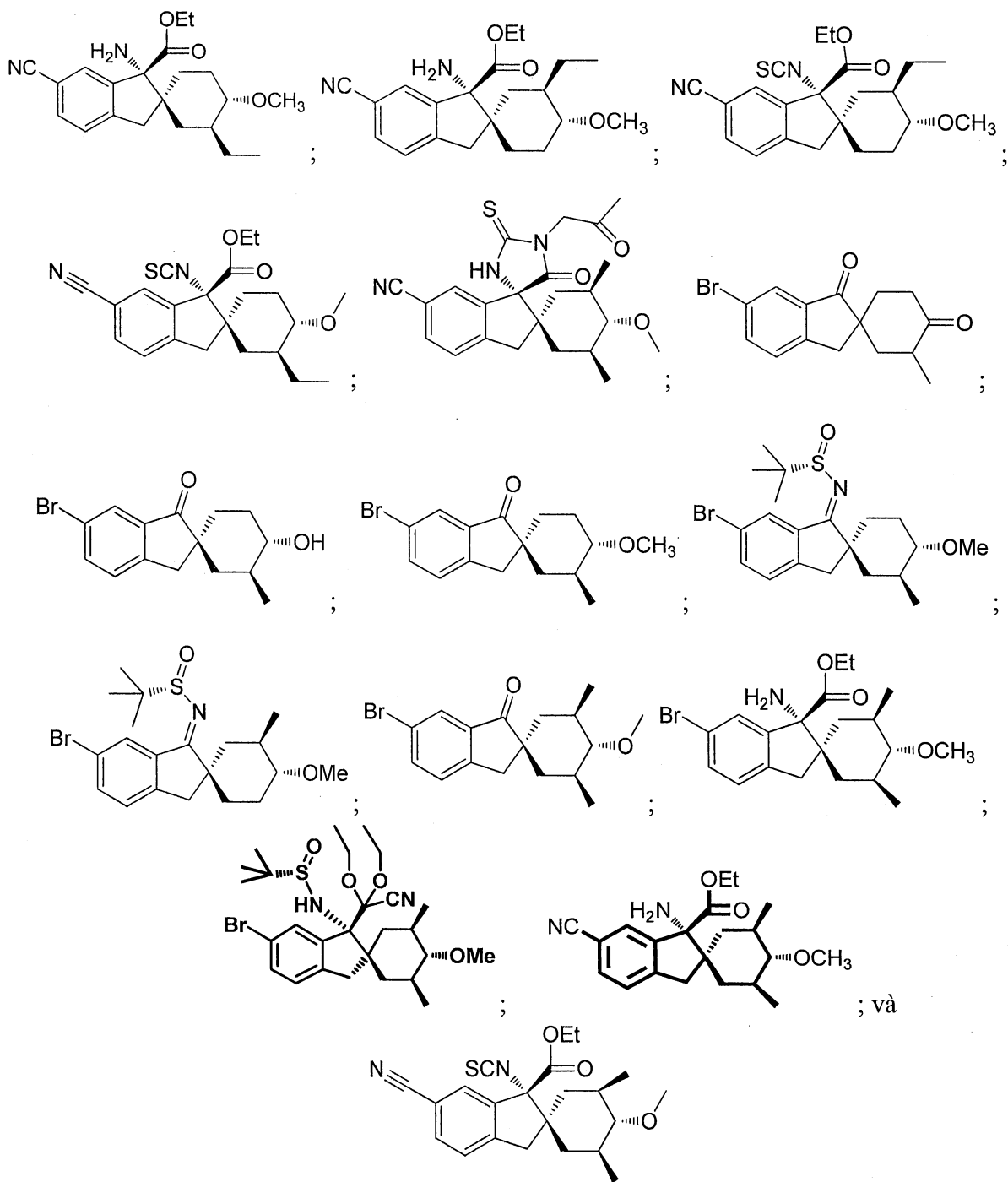


hoặc muối được dụng của hợp chất này.

2. Dược phẩm chứa ít nhất một hợp chất theo điểm 1 hoặc muối được dụng của chúng cùng với tá dược, chất pha loãng và/hoặc chất mang được dụng.

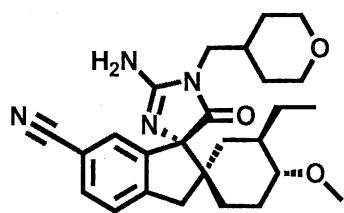
3. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:





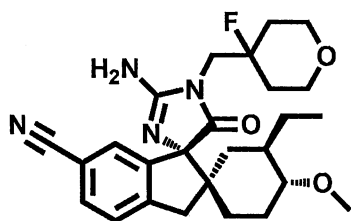
hoặc muối của hợp chất này.

4. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



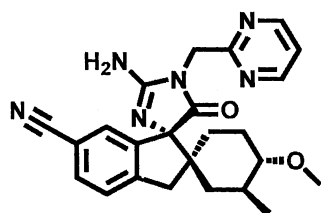
hoặc muối được dụng của nó.

5. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



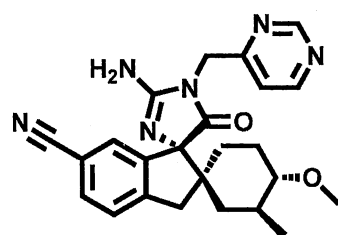
hoặc muối được dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



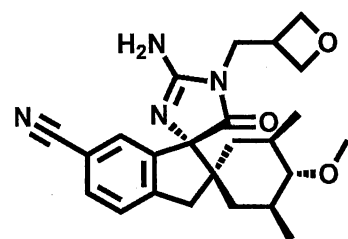
hoặc muối được dụng của nó.

7. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



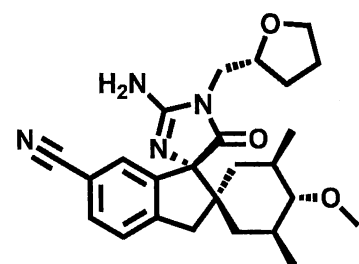
hoặc muối được dụng của nó.

8. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



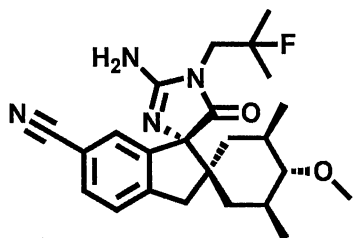
hoặc muối được dụng của nó.

9. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



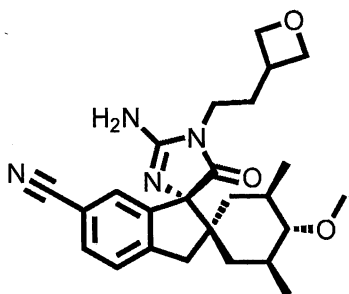
hoặc muối được dụng của nó.

10. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



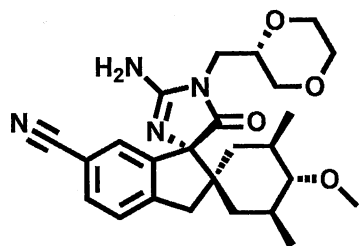
hoặc muối được dụng của nó.

11. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



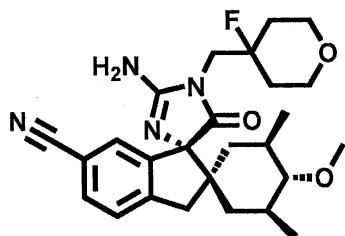
hoặc muối được dụng của nó.

12. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



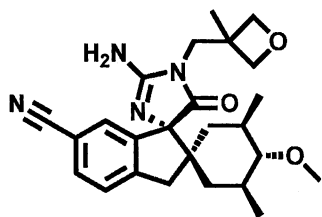
hoặc muối được dụng của nó.

13. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối được dụng của nó.

14. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối được dùng của nó.

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH
 VITAE PHARMACEUTICALS, INC.
 <120> HỢP CHẤT ỨC CHẾ BETA-SECRETASA VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
 <130> 120573-00420
 <140> PCT/US2013/028796
 <141> 2013-03-04
 <150> 61/606,786
 <151> 2012-03-05
 <160> 1
 <170> Phiên bản PatentIn 3.5
 <210> 1
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <221> nguồn
 <223> /Lưu ý="Mô tả trình tự nhân tạo: peptit tổng hợp"
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (1)..(1)
 <223> HiLyte FluorTM488-Glu
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9)..(9)
 <223> Lys-(QXLTM520)-OH
 <400> 1
 Glu Val Asn Leu Asp Ala Glu Phe Lys
 1 5