



(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) 
1-0021145

(51)⁷ **C07C 233/58, A61K 31/167, C07C**
233/59, 233/60, C07D 307/30, 333/38,
333/58

(13) **B**

(21) 1-2013-00358

(22) 01.07.2011

(86) PCT/EP2011/061128 01.07.2011

(87) WO2012/001148 05.01.2012

(30) 61/360,670 01.07.2010 US

(45) 25.06.2019 375

(43) 25.07.2013 304

(73) 4SC AG (DE)

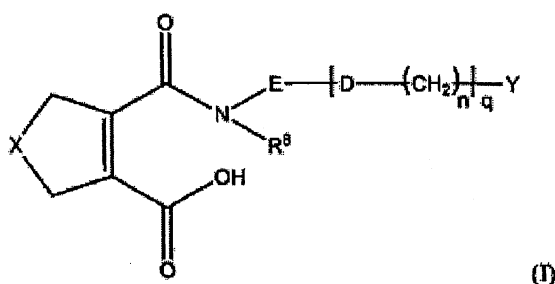
Am Klopferspitz 19a, 82152 Planegg-Martinsried, Germany

(72) AMMENDOLA, Aldo (DE), DIEDERICHS, Julia (AT), LEBAN, Johann (AT),
VITT, Daniel (DE)

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

(54) MUỐI CANXI CỦA HỢP CHẤT ỨC CHẾ DIHYDROOROTAT
DEHYDROGENAZA, DƯỢC PHẨM VÀ THUỐC CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ
QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất muối canxi của các hợp chất có công thức chung (I):



trong đó X được chọn từ nhóm bao gồm CH₂, S, hoặc O; D là O hoặc S; R⁸ là hydro hoặc alkyl; E là nhóm phenylen tùy ý được thế; Y là hệ vòng có từ 6 đến 9 cạnh một vòng hoặc hai vòng được thế hoặc không được thế mà có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N hoặc S và chứa ít nhất một vòng thơm; n là 0 hoặc 1, và q là 0 hoặc 1; với điều kiện là các hợp chất trong đó X = CH₂, q = 0, Y = phenyl không được thế và E - phenylen không được thế được loại trừ; hoặc hydrat của nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất muối canxi của hợp chất mà có thể được sử dụng làm chất chống viêm, điều hòa miễn dịch và chống tăng sinh. Cụ thể là, sáng chế đề xuất muối canxi của hợp chất mà ức chế dihydroorotat dehydrogenaza (DHODH), quy trình sản xuất hợp chất này và dược phẩm chứa hợp chất này để điều trị và phòng bệnh mà việc ức chế dihydroorotat dehydrogenaza (DHODH) là có lợi.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Viêm khớp dạng thấp (rheumatoid arthritis - RA) là một bệnh khá phổ biến đặc biệt là ở người già. Việc điều trị bằng các thuốc thông thường ví dụ như thuốc chống viêm không steroid là chưa đủ. Do sự già hóa dân số, đặc biệt là ở các nước phương Tây phát triển hoặc ở Nhật Bản nên việc phát hiện ra các thuốc mới để điều trị bệnh RA được yêu cầu cấp bách.

Công bố đơn quốc tế số WO 2003/006425 mô tả các hợp chất cụ thể nhất định mà được báo cáo là hữu ích để điều trị và phòng ngừa các bệnh mà khi ức chế dihydroorotat dehydrogenaza (DHODH) là có lợi. Tuy nhiên, các muối cụ thể theo sáng chế thì chưa được bộc lộ.

Công bố đơn quốc tế số WO 99/38846 và đơn yêu cầu cấp sáng chế châu Âu số EP 0 646 578 mô tả các hợp chất mà được báo cáo là hữu ích để điều trị bệnh RA.

Thuốc chống viêm khớp dạng thấp với cơ chế tác dụng mới, leflunomide, gần đây được đưa ra thị trường bởi công ty Aventis dưới tên thương mại ARAVA [EP 780128, WO 97/34600]. Leflunomide có đặc tính điều hòa miễn dịch cũng như đặc tính chống viêm [EP 217206, DE 2524929]. Cơ chế tác dụng dựa vào sự ức chế

dihydroorotat dehydrogenaza (DHODH), là một enzym trong quá trình sinh tổng hợp pyrimidin.

De Julian-Ortiz (J. Med. Chem. 1999, 42, 3308-3314) mô tả các hợp chất có các gốc axit xyclopentenoic chống bệnh hecpet tiềm năng nhất định.

Đơn yêu cầu cấp sáng chế Đức số DE 33 46 814 A1 mô tả các dẫn xuất amit của axit cacbonic nhất định để điều trị, phòng ngừa và làm thuyên giảm các bệnh có liên quan đến sự rối loạn chức năng não và các triệu chứng của nó.

Trong cơ thể, DHODH xúc tác cho sự tổng hợp pyrimidin, là quá trình cần thiết cho sự tăng trưởng của tế bào. Việc ức chế DHODH sẽ ức chế sự tăng trưởng của các tế bào tăng sinh nhanh (thuộc bệnh học), trong khi các tế bào tăng trưởng với tốc độ bình thường có thể thu được pyrimidin cần thiết dựa trên chu kỳ chuyển hóa bình thường. Các loại tế bào quan trọng nhất cho đáp ứng miễn dịch, các tế bào lympho chỉ dùng sự tổng hợp pyrimidin để phát triển và phản ứng đặc biệt nhạy với sự ức chế DHODH. Các chất ức chế sự phát triển của tế bào lympho là thuốc quan trọng để điều trị các bệnh tự miễn.

Chất ức chế DHODH Leflunomide (ARAVA) là thuốc đầu tiên của nhóm các hợp chất này (các leflunomide) để điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp. Công bố đơn quốc tế số WO 99/45926 là một tài liệu tham khảo khác bộc lộ các hợp chất có tác dụng như các chất ức chế DHODH.

Đơn yêu cầu cấp sáng chế Nhật số JP-A-50-121428 bộc lộ các monoamit của axit xyclopenten-1,2-dicarboxylic được thế N như các chất diệt cỏ và các chất tổng hợp của nó. Ví dụ, monoamit của axit N-(4-clophenyl)-1-xyclopenten-1,2-dicarboxylic được tạo ra bởi phản ứng của 1-xyclopenten-1,2-dicarboxylic anhydrit với 4-cloanilin.

Trong bài báo Journal of Med. Chemistry, 1999, Vol. 42, các trang 3308-3314, sự tổng hợp thực sự và việc sàng lọc các hợp chất chống bệnh hecpet tiềm năng mới có sử dụng máy tính đã được mô tả. Trong bảng 3 ở trang 3313 các kết quả thử nghiệm về IC₅₀ và độc tính tế bào được thể hiện cho hợp chất axit 2-(2,3-

diflophenylcarbamoyl)-l-xyclopenten-1-carboxylic, axit 2-(2,6-diflophenylcarbamoyl)-l-xyclopenten-1-carboxylic và axit 2-(2,3,4-triflophenyl-carbamoyl)-l-xyclopenten-1-carboxylic.

Đơn yêu cầu cấp sáng chế Đức số DE 3346814 và đơn yêu cầu cấp sáng chế Mỹ số US 4661630 bộc lộ các amit của axit carboxylic. Các hợp chất này có lợi cho các bệnh rối loạn chức năng não và cũng có các hoạt tính chống loét, chống hen, chống viêm và hạ cholesterol.

Trong đơn yêu cầu cấp sáng chế châu Âu số EP 0097056, đơn yêu cầu cấp sáng chế Nhật số JP 55157547, đơn yêu cầu cấp sáng chế Đức số DE 2851379 và đơn yêu cầu cấp sáng chế Đức số DE 2921002 các dẫn xuất axit tetrahydrophtalamic đã được mô tả.

Sáng chế đề xuất chất hữu hiệu khác, đặc biệt là ở dạng muối canxi, mà có thể được sử dụng để điều trị các bệnh cần sự ức chế DHODH.

Cụ thể là, trước đây đã tìm thấy rằng các hợp chất có công thức chung (I) được trình bày dưới đây như axit 2-(3-flo-3'-metoxy-biphenyl-4-ylcarbamoyl)-xyclopent-1-encarboxylic (INN Vidofludimus), thể hiện hoạt tính chống viêm tốt và tính khả dụng trong việc điều trị qua đường miệng các bệnh tự miễn ví dụ như điều trị bệnh viêm khớp dạng thấp hoặc các bệnh viêm ruột. Tuy nhiên, độ hòa tan của các hợp chất được nêu trên trong các môi trường nước là dưới 1mg/ml ở độ pH trung tính.

Độ hòa tan của hợp chất là tính chất quan trọng trong việc nghiên cứu thuốc, khi dùng nó như điểm đầu tiên để phát triển công thức. Hơn nữa, sau khi dùng qua đường miệng, sự tái hấp thu thuốc từ ruột vào hệ tuần hoàn ít nhất một phần phụ thuộc vào độ hòa tan của nó. Chỉ các chất được hòa tan mới có thể được tái hấp thu, vì thế việc làm tăng độ hòa tan có thể được cho là dẫn đến sự hấp thu hợp chất tốt hơn trong đường dạ dày ruột, nghĩa là sinh khả dụng qua đường miệng tốt hơn và do đó cải thiện được đặc tính dược động học. Có thể mong muốn tạo ra các hợp chất có sinh khả dụng tăng để cải thiện việc sử dụng chúng làm hoạt chất để dùng qua đường miệng.

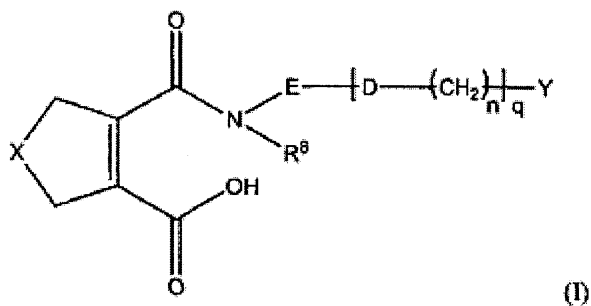
Vì thế, các tác giả của sáng chế đã thực hiện nhiều nỗ lực để làm tăng độ hòa tan của các hợp chất trong các môi trường nước và sau đó là sinh khả dụng của chúng. Với động cơ này, việc nghiên cứu phát triển dạng muối mới của các hợp chất được thực hiện, tạo ra các muối thể hiện các tính chất lý hóa được cải tiến đáng kể một cách bất ngờ.

Đã phát hiện thấy rằng các muối canxi của các hợp chất có công thức (I) như được mô tả dưới đây, như muối canxi của axit 2-(3-flo-3'-metoxy-biphenyl-4-ylcarbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic, thể hiện các tính chất hóa lý có lợi như độ hòa tan trong nước tăng lên trong khi vẫn giữ độ ổn định kéo dài tốt. Ngoài ra, cũng phát hiện thấy rằng không phải tất cả các muối của hợp chất này đều có độ hòa tan trong nước tăng đến mức độ như nhau; thực tế, mặc dù độ hòa tan của các muối thử nghiệm đều cao hơn dạng axit tự do, song các độ hòa tan của các muối này lại khác nhau đáng kể. Quan trọng hơn, muối canxi thể hiện sinh khả dụng tăng đáng kể một cách ngạc nhiên so với các muối khác hoặc so với dạng axit tự do.

Do đó, một nhóm các muối canxi của các hợp chất có tác dụng ức chế DHODH, cụ thể là DHODH của người, đã được tìm thấy.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là đề xuất muối canxi của các hợp chất có công thức chung (I)



trong đó:

X được chọn từ nhóm bao gồm CH₂, S, hoặc O;

D là O hoặc S;

R^8 là hydro hoặc alkyl, tốt hơn là hydro hoặc metyl;

E là nhóm phenylen tùy ý được thế;

Y là hệ vòng có 6 đến 9 cạnh một vòng hoặc hai vòng được thế hoặc không được thế mà có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N hoặc S và chứa ít nhất một vòng thơm; tốt hơn là, Y là phenyl được thế hoặc không được thế;

n là 0 hoặc 1, tốt hơn là 0; và

q là 0 hoặc 1, tốt hơn là 0;

với điều kiện là các hợp chất trong đó $q = 0$, Y = phenyl không được thế và E = phenylen không được thế được loại trừ;

hoặc hydrat của nó.

E tốt hơn là nhóm phenylen không được thế hoặc nhóm phenylen mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ halogen, nitro hoặc alkoxy; tốt hơn nữa là E là nhóm phenylen mà được thế bằng một nguyên tử flo hoặc clo, một nhóm metoxy hoặc bằng bốn nguyên tử flo. Thậm chí tốt hơn nữa là, E là nhóm phenylen mà được thế bằng một hoặc bốn nguyên tử flo, thậm chí tốt hơn nữa là một nguyên tử flo.

Y tốt hơn là nhóm phenyl, pyridin hoặc benzothiophen tùy ý được thế. Tốt hơn nữa là, Y là nhóm phenyl không được thế hoặc nhóm phenyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ halogen, alkyl, alkoxy, haloalkoxy, haloalkyl hoặc CN. Thậm chí tốt hơn nữa là E là nhóm phenyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ flo, clo, CN, metoxy, etoxy, triflometyl hoặc triflometoxy. Thậm chí tốt hơn nữa là, E là nhóm phenyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ metoxy hoặc triflometoxy, thậm chí tốt hơn nữa là metoxy.

Nhóm alkyl, nếu không được chỉ ra theo cách khác, tốt hơn là mạch thẳng hoặc mạch nhánh bão hòa có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon, tốt hơn là nhóm metyl, etyl,

propyl, isopropyl, butyl, *t*-butyl, isobutyl, pentyl hoặc hexyl, nhóm metyl, etyl, isopropyl hoặc *t*-butyl được ưu tiên hơn, nhóm metyl hoặc etyl được ưu tiên hơn nữa, nhóm metyl thậm chí được ưu tiên hơn nữa.

Nhóm alkoxy là nhóm O-alkyl, nhóm alkyl là như được nêu ở trên.

Nhóm haloalkyl là nhóm alkyl mà được thế bởi một hoặc nhiều nguyên tử halogen, nhóm alkyl là như được nêu ở trên; triflometyl được ưu tiên.

Nhóm haloalkyloxy là nhóm alkoxy mà được thế bởi một hoặc nhiều nguyên tử halogen, nhóm alkoxy là như được nêu ở trên; OCF₃ được ưu tiên.

Halogen tốt hơn là clo, brom, flo hoặc iot, flo, clo hoặc brom được ưu tiên, flo được ưu tiên hơn.

Sáng chế cũng đề cập đến được phẩm chứa muối canxi của các hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên hoặc cùng với dung môi hoặc chất mang được đựng của nó.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc phòng ngừa tình trạng bệnh mà có lợi khi ức chế dihydroorotat dehydrogenaza (DHODH) mà bao gồm sử dụng một lượng hữu hiệu của muối canxi của hợp chất có công thức (I) như được mô tả trên đây.

Sáng chế cũng mô tả việc sử dụng muối canxi của các hợp chất có công thức (I) như được mô tả ở trên để sản xuất thuốc để phòng và điều trị các bệnh, mà việc ức chế sinh tổng hợp pyrimidin là có lợi.

Sáng chế cũng đề cập đến các hydrat của các muối theo sáng chế, mà chỉ ra rằng các tinh thể có thể thu được từ các muối này chứa nước với lượng tỷ lệ hoặc dưới lượng tỷ lệ cụ thể, ví dụ như 0,5, 1 hoặc 2 phân tử nước trên một phân tử hợp chất có công thức (I) hoặc có công thức (Ia) như được mô tả ở đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1: Biểu đồ về sự giảm tăng sinh tế bào T của người được gây ra bởi axit 2-(biphenyl-4-ylcarbamoyl)-cyclopent-1-encarboxylic được sử dụng với nồng độ 100 μ M;

Fig.2: Biểu đồ so sánh lượng vidofludimus dạng axit tự do (các chấm đen) và dạng muối canxi của nó (các chấm trắng) trong huyết tương ở chuột sau khi dùng qua đường miệng một liều duy nhất 10mg/kg trọng lượng cơ thể.

Fig.3: Phổ raman của muối Ca (vết trên đỉnh) và axit tự do (vết đáy)

Fig.4: Hình ảnh soi kính hiển vi quang học với bộ phân cực chéo của vidofludimus dạng muối Ca.

Fig.5: Biểu đồ PXRD của vidofludimus dạng muối Ca.

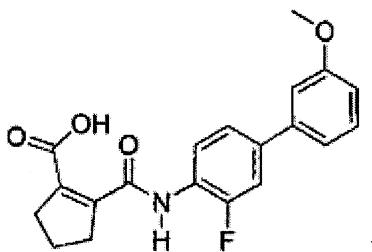
Fig.6: Biểu đồ PXRD của vidofludimus dạng axit tự do.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả một cách chi tiết hơn.

Các khía cạnh ưu tiên khác của sáng chế được thể hiện tóm tắt trong các mục từ 1 đến 8 như sau:

[1] Muối của hợp chất có công thức (Ia)



công thức (Ia)

với canxi (Ca).

[2] Hợp chất theo mục [1], mà là muối của axit 2-(3-flo-3'-metoxy-biphenyl-4-ylcarbamoyl)-xyclopent-1-encarboxylic với canxi.

[3] Dược phẩm chứa hợp chất như được nêu trong mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [2] cùng với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

[4] Hợp chất theo mục [1] đến [2] để sử dụng làm thuốc.

[5] Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (Ia) nêu trong mục bất kỳ trong số các mục [1] đến [2] để sản xuất thuốc dùng để điều trị bệnh hoặc chỉ định điều trị trong đó việc ức chế dihydrooratat dehydrogenaza và/hoặc interleukin-17 (IL-17) là có lợi.

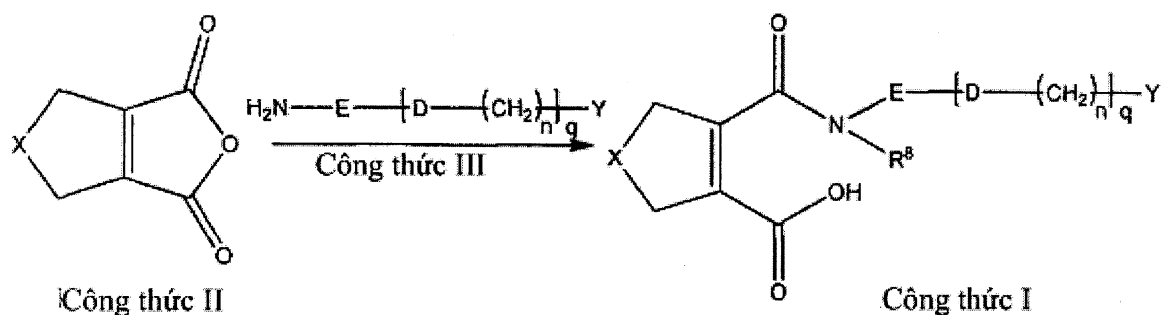
[6] Sáng chế mô tả việc sử dụng theo mục [5], trong đó bệnh hoặc chỉ định là bệnh tự miễn.

[7] Sáng chế mô tả việc sử dụng theo mục [6], trong đó bệnh tự miễn này được chọn từ nhóm bao gồm bệnh viêm cứng khớp đốt sống, bệnh viêm giáp tự miễn, bệnh tiêu chảy mỡ, bệnh Grave, bệnh viêm ruột (bệnh Crohn, bệnh viêm loét đại tràng), bệnh đái tháo đường typ I, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh đa xơ cứng, bệnh lang trắng, bệnh thoái hóa khớp, bệnh vẩy nến, bệnh viêm khớp vẩy nến hoặc bệnh viêm khớp dạng thấp.

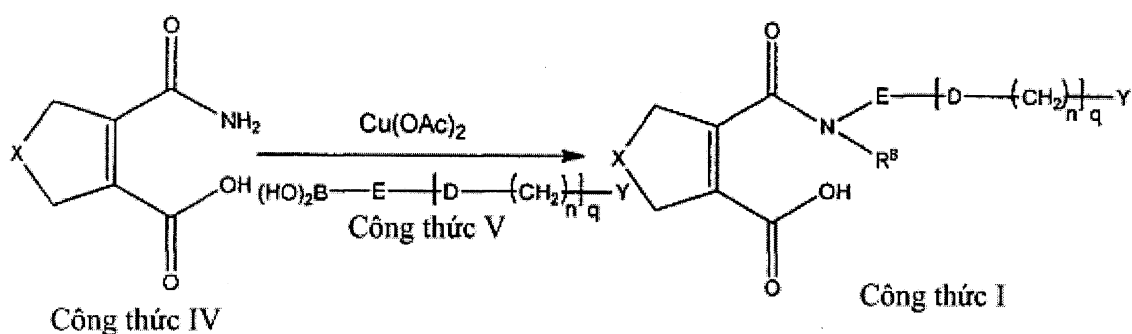
[8] Sáng chế mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức (Ia) như nêu trong mục bất kỳ trong số các mục [1] đến [2] để sản xuất thuốc dùng để điều trị các dạng ung thư bất kỳ.

Ngoài ra, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế các hợp chất theo sáng chế như các amit mong muốn có công thức (I), cũng như muối canxi của nó như được mô tả ở trên.

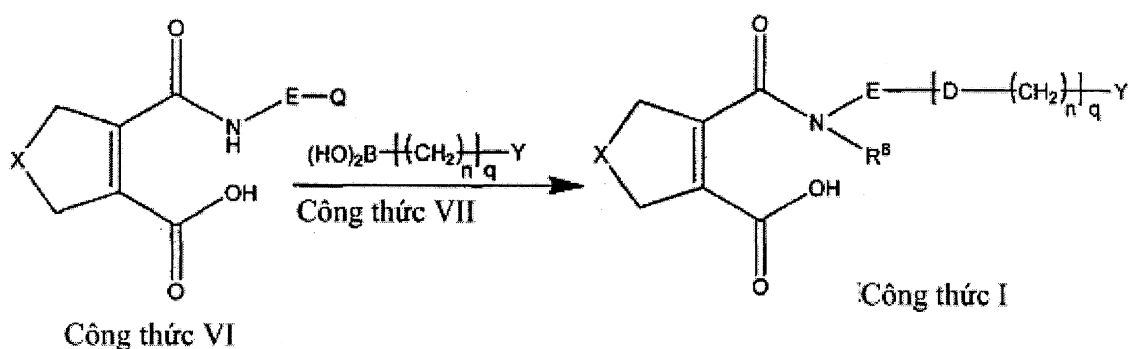
Phương pháp đầu tiên để tổng hợp các amit có công thức (I) bao gồm bước cho anhydrit axit có công thức (II) phản ứng với amin có công thức (III).



Phương pháp thứ hai theo sáng chế để điều chế các hợp chất có công thức (I) bao gồm bước cho amin có công thức (IV) phản ứng với axit aryl-boronic có công thức chung (V) $(\text{HO})_2\text{B}-\text{E}-[\text{D}-(\text{CHR}^3)_n]_q-\text{Y}$ [M. P. Winters, Tetrahedron Lett, 39, (1998), 2933-2936].



Phương pháp thứ ba theo sáng chế để điều chế các hợp chất có công thức (I) bao gồm bước cho dẫn xuất halogen có công thức (VI) phản ứng với axit arylboronic có công thức chung (VII) $[\text{N. E. Leadbeater, S. M. Resouly, Tetrahedron, 55, 1999, 11889-11894}]$. Q là nhóm halogen như clo, brom, flo hoặc iot, brom được ưu tiên.



Trong các cấu trúc có công thức từ II đến VII như được mô tả ở đây, các gốc X, E, D, Y, R₈, cũng như các biến số n và q có nghĩa như được xác định ở đây cho công thức I.

Tốt hơn là, các muối theo sáng chế là các muối canxi thu được từ hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất từ 1 đến 74 dưới đây:

1. axit 2-((4-(benzyloxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
13. axit 2-((2'-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
14. axit 2-((2'-clo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
15. axit 2-((2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
16. axit 2-((4-((2,6-diflobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
17. axit 2-((2'-etoxy-3-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
18. axit 2-((2-clo-3'-xyano-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
19. axit 2-((2-clo-4'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
22. axit 2-((3-clo-4-(6-metoxypyridin-3-yl)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
23. axit 2-((4'-metoxy-2-metyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
24. axit 2-((3,5-dibromo-4-((2,5-diflobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
25. axit 2-((3,5-dibromo-4-((3,4-diflobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
26. axit 2-((3-flo-3'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic

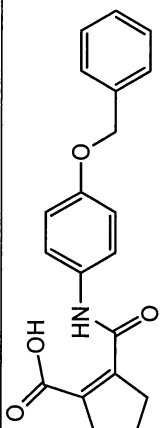
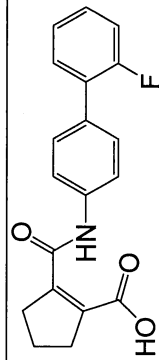
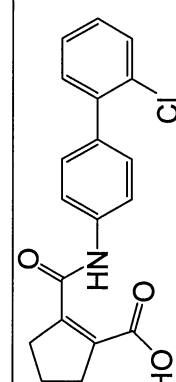
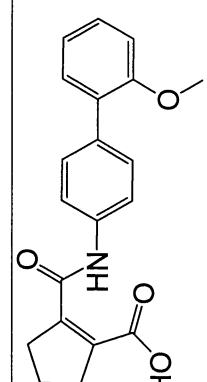
27. axit 2-((3,3'-diflo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
29. axit 4-((4-(benzyloxy)-3,5-dibromophenyl)carbamoyl)-2,5-dihydrothiophen-3-carboxylic
30. axit 2-((3,4',5-triflo-3'-metyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
31. axit 2-((3,5-diflo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
32. axit 2-((2'-metoxy-3-nitro-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
33. axit 2-((3-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
34. axit 2-((2'-clo-3-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
35. axit 2-((3-metoxy-3'-(triflometoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
36. axit 2-((2'-flo-3-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
37. axit 2-((2',3,4'-trimetoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
38. axit 2-((3'-etoxo-3-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
39. axit 2-((3,3'-dimetoxo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
40. axit 2-((3,5-dibromo-4-((2-clo-6-flobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
41. axit 4-((2'-clo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)-2,5-dihydrothiophen-3-carboxylic
42. axit 2-((4-(m-tolylthio)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
43. axit 2-((3'-(triflometoxo)-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic

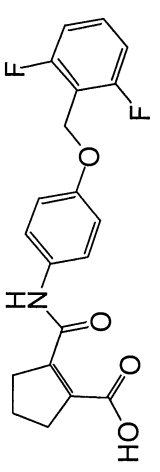
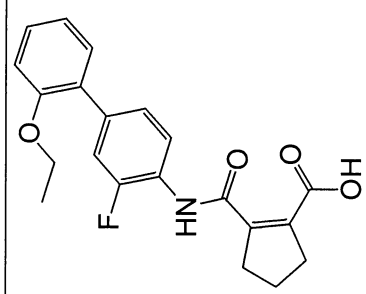
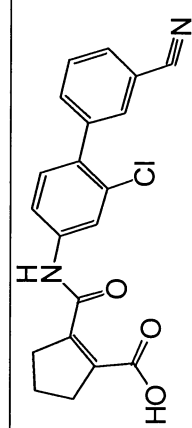
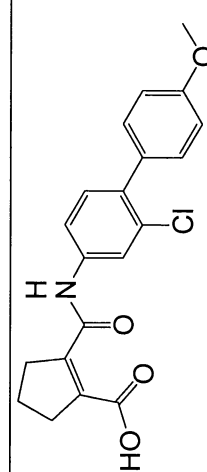
44. axit 2-((4-(benzo[b]thiophen-2-yl)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
45. axit 2-((4-(benzo[b]thiophen-2-yl)-2-flophenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
46. axit 2-((3'-etoxy-3-flo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
47. axit 4-((3,5-diflo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)-2,5-dihydrofuran-3-carboxylic
50. axit 2-((4-phenoxyphenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
52. axit 4-((3,5-dibromo-4-((2-clo-6-flobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)-2,5-dihydrothiophen-3-carboxylic
53. axit 2-((3-clo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
54. axit 2-((2-clo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
56. axit 2-((2,3,5,6-tetraflo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
57. axit 2-((2'-metoxy-3-metyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
58. axit 2-((3,5-diclo-2'-metoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
62. axit 2-((2'-etoxy-3,5-diflo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
63. axit 2-((3'-etoxy-3,5-diflo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
64. axit 2-((3,5-diflo-3'-(triflometoxy)-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
65. axit 2-((2'-clo-3,5-diflo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic

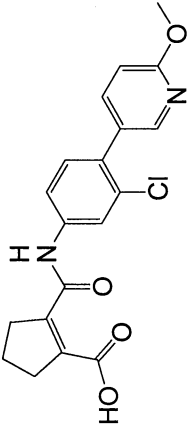
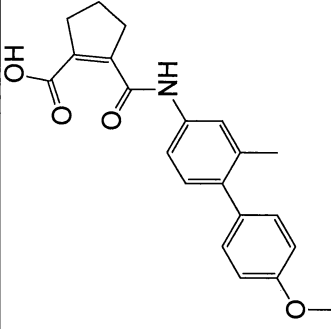
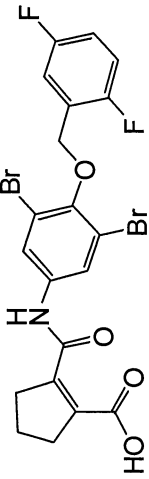
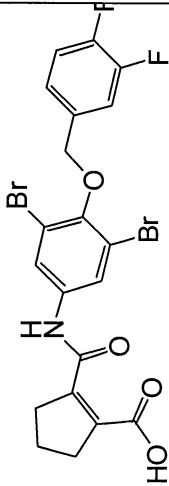
66. axit 2-((2',3,5-triflo-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
67. axit 2-((3,5-diflo-2',4'-dimetoxy-[1,1'-biphenyl]-4-yl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
68. axit 2-((3-clo-4-((2-(triflometyl)benzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
69. axit 2-((3-clo-4-((2-clo-6-flobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
72. axit 2-((4-(benzyloxy)-3-clophenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic
74. axit 2-((3-clo-4-((2-flobenzyl)oxy)phenyl)carbamoyl)xyclopent-1-encarboxylic

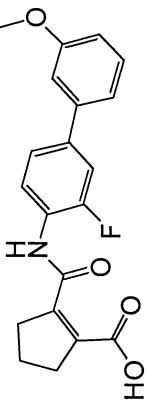
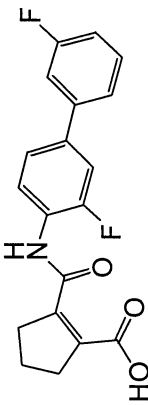
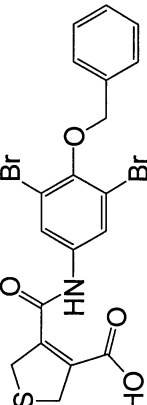
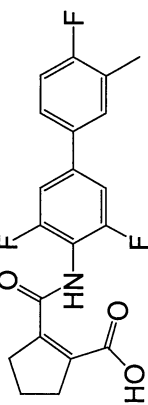
Tốt hơn là, muối canxi theo sáng chế là muối canxi được nêu ở trên, trong đó hợp chất có công thức (I) được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất được thể hiện dưới đây ở bảng 1. Ví dụ 76 không phải là một phần của sáng chế.

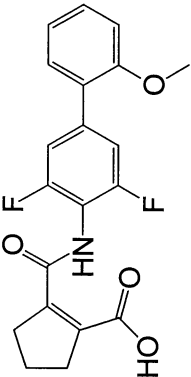
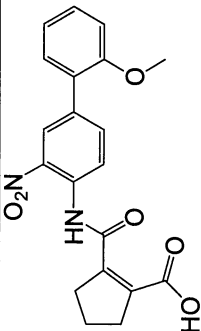
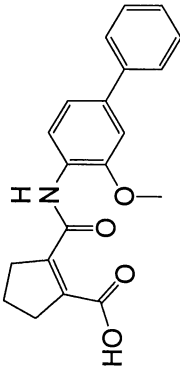
Bảng 1: Các thuật ngữ viết tắt: N.D. = không được xác định, m_C = nhiều tâm hoạt tính ức chế được xác định: A: 0-800nM B: 800-1500nM C: > 1500nM

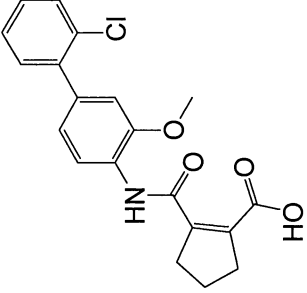
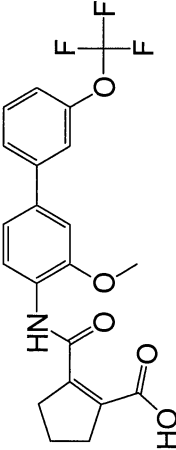
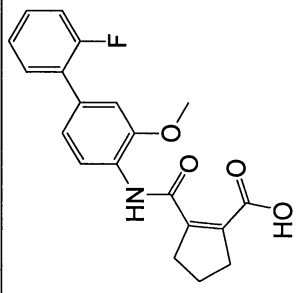
N	Cấu trúc	¹ H-NMR	Khối lượng phân tử [g/mol]	HPLC/MS (ESI)	Giá trị IC ₅₀ -thu được từ người [μM]	Giá trị IC ₅₀ -thu được từ chuột [μM]	Giá trị IC ₅₀ tỷ lệ [μM]
01		N.D.	337,37	338 [M+H] ⁺	0,350	8,2	N.D.
13		δ= 1,91 (m _C , 2H, CH ₂), 2,65 (m _C , 2H, CH ₂), 2,78 (m _C , 2H, CH ₂), 7,27 – 7,51 (m, 6H, CH _{Ar}), 7,72 (d, 2H, CH _{Ar}), 10,40 (s, 1H, NH), 12,67 (s, 1H, OH).	325	326 [M+H] ⁺	A	C	C
14		δ= 1,95 (m _C , 2H, CH ₂), 2,65 (m _C , 2H, CH ₂), 2,78 (m _C , 2H, CH ₂), 7,35 – 7,72 (m, 8H, CH _{Ar}), 10,36 (s, 1H, NH), 12,66 (s, 1H, OH).	341	342 [M+H] ⁺	A	C	C
15		δ= 1,94 (m _C , 2H, CH ₂), 2,66 (m _C , 2H, CH ₂), 2,79 (m _C , 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 7,01-7,67 (m, 8H, CH _{Ar}), 10,30 (s, 1H, NH).	337	338 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

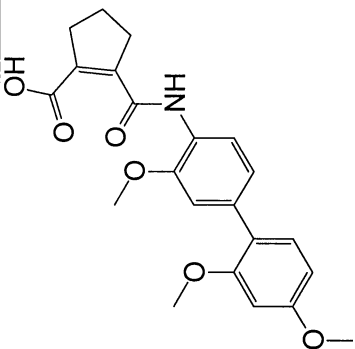
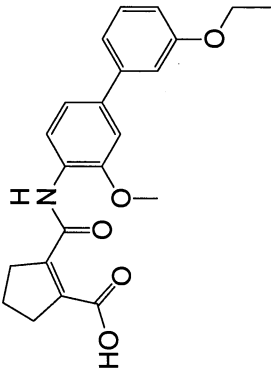
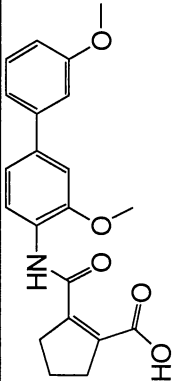
16		$\delta = 1,90$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,57 (m _C , 2H, CH ₂), 2,76 (m _C , 2H, CH ₂), 5,08 (s, 2H, CH ₂ -O), 6,95-7,57 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,11 (s, 1H, NH), 11,33 (s, 1H, OH).	373	374 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
17		$\delta = 1,04$ (m _C , 3H, O-CH ₂ -CH ₃), 1,65 (m _C , 2H, CH ₂), 2,45 (m _C , 2H, CH ₂), 2,55 (m _C , 2H, CH ₂), 3,82 (m _C , 2H, O-CH ₂ -CH ₃), 6,75-6,87 (m, 2H, CH _{Ar}), 7,06-7,28 (m, 4H, CH _{Ar}), 7,71-7,77 (m, 1H, CH _{Ar}), 10,23 (s, 1H, NH), 12,83 (s, 1H, OH).	369	370 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
18		$\delta = 1,7$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,60 (m _C , 2H, CH ₂), 2,73 (m _C , 2H, CH ₂), 7,36-7,91 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,61 (s, 1H, NH), 12,61 (s, 1H, OH).	366	367 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
19		$\delta = 2,16$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,89 (m _C , 2H, CH ₂), 3,01 (m _C , 2H, CH ₂), 4,03 (s, 3H, O-CH ₃), 7,23-8,15 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,66 (s, 1H, NH), 13,00 (s, 1H, OH).	371	372 [M+H] ⁺	A	A	A

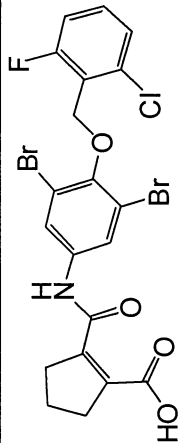
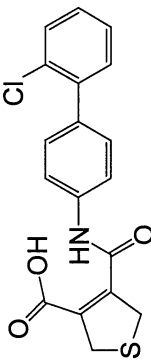
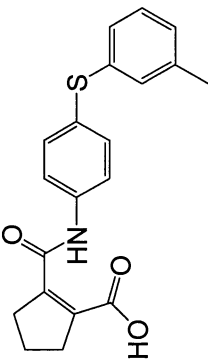
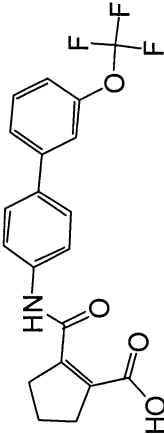
22		$\delta = 1,74$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,48 (m _C , 2H, CH ₂), 3,71 (s, 3H, O-CH ₃), 6,70-8,02 (m, 6H, CH _{Ar}), 10,28 (s, 1H, NH), 12,48 (s, 1H, OH).	372	373 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
23		$\delta = 1,92$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,50 (s, 3H, CH ₃), 2,66 (m _C , 2H, CH ₂), 2,79 (m _C , 2H, CH ₂), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 6,97-7,54 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,20 (s, 1H, NH), 12,00 (s, 1H, OH).	351	352 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
24		$\delta = 1,92$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,64 (m _C , 2H, CH ₂), 2,74 (m _C , 2H, CH ₂), 5,02 (s, 2H, O-CH ₂), 7,28 – 7,93 (m, 5H, CH _{Ar}), 10,41 (s, 1H, NH), 12,68 (s, 1H, OH).	529	530 [M+H] ⁺	A	B	C
25		$\delta = 1,83$ (m _C , 2H, CH ₂), 2,55 (m _C , 2H, CH ₂), 2,65 (m _C , 2H, CH ₂), 4,86 (s, 2H, O-CH ₂), 7,28 – 7,85 (m, 5H, CH _{Ar}), 10,34 (s, 1H, NH), 12,56 (s, 1H, OH).	529	530 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

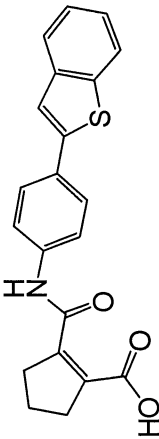
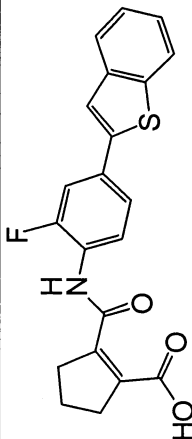
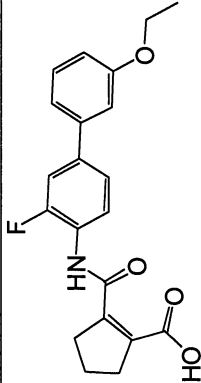
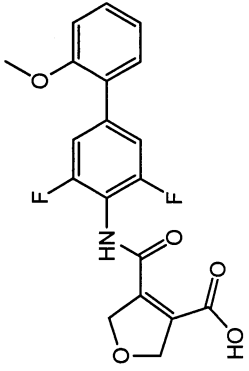
26		$\delta = 1,89$ (mC, 2H, CH ₂), 2,69 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 6,92-8,09 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,57 (s, 1H, NH).	355	356 [M+H] ⁺	A	C	C
27		$\delta = 1,67$ (mC, 2H, CH ₂), 2,47 (mC, 2H, CH ₂), 2,58 (mC, 2H, CH ₂), 6,94-7,91 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,40 (s, 1H, NH), 12,81 (s, 1H, OH).	343	344 [M+H] ⁺	A	C	N.D.
29		$\delta = 3,93$ (mC, 2H, CH ₂), 4,03 (mC, 2H, CH ₂), 4,87 (s, 2H, O-CH ₃), 7,30 - 7,83 (m, 7H, CH _{Ar}), 10,49 (s, 1H, OH).	511	512 [M+H] ⁺	A	C	B
30		δ (CD ₃ OD) = 1,91 (mC, 2H, CH ₂), 2,32 (s, 3H, CH ₃), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,93 (mC, 2H, CH ₂), 7,11 (mC, 1H, CH _{Ar}), 7,29 (s, 1H, CH _{Ar}), 7,32 (s, 1H, CH _{Ar}), 7,43 - 7,56 (m, 2H, CH _{Ar}).	375	376 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

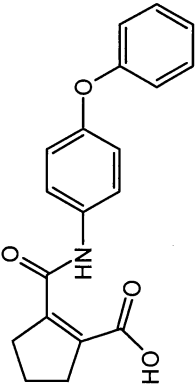
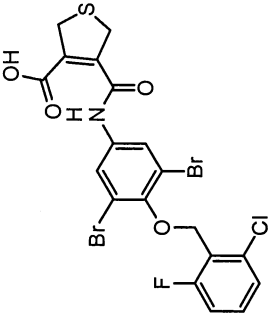
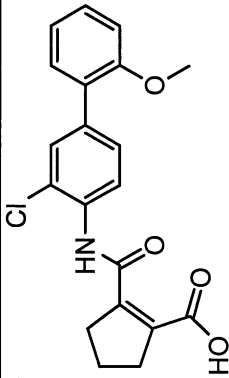
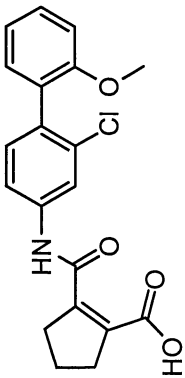
31		$\delta(\text{CD}_3\text{OD}) = 2,00$ (mC, 2H, CH ₂), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,94 (mC, 2H, CH ₂), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 7,00 – 7,10 (m, 2H, CHAr), 7,18 (s, 1H, CHAr), 7,21 (s, 1H, CHAr), 7,31 – 7,39 (m, 2H, CHAr).	373	374 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
32		$\delta = 1,90$ (mC, 2H, CH ₂), 2,64 (mC, 2H, CH ₂), 2,74 (mC, 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 7,03 (mC, 1H, CHAr), 7,11 (mC, 1H, CHAr), 7,34 (s, 1H, CHAr), 7,36 (s, 1H, CHAr), 7,72 – 7,82 (m, 2H, CHAr), 8,02 (s, 1H, CHAr), 10,59 (s, 1H, NH), 12,85 (s, 1H, OH).	382	383 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
33		$\delta = 1,85$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃), 7,22 (mC, 1H, CHAr), 7,29 – 7,36 (m, 2H, CHAr), 7,45 (mC, 2H, CHAr), 7,67 – 7,71 (m, 2H, CHAr), 8,18 (mC, 1H, CHAr), 10,17 (s, 1H, NH).	337	338 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

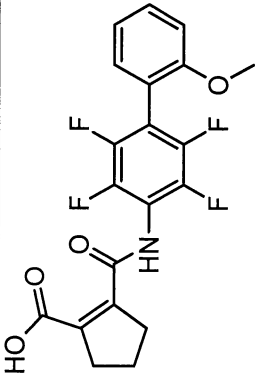
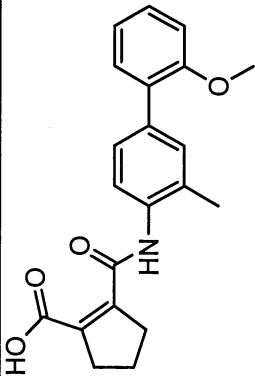
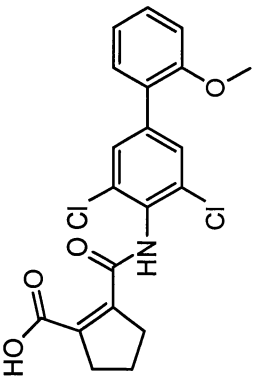
34		$\delta = 1,85$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,85 (s, 3H, O-CH ₃), 6,98 (mC, 1H, CHAr), 7,10 (mC, 1H, CHAr), 7,37 – 7,46 (m, 3H, CHAr), 7,55 (mC, 1H, CHAr), 8,17 (mC, 1H, CHAr), 10,19 (s, 1H, NH).	371	372 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
35		$\delta = 1,84$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,93 (s, 3H, O-CH ₃), 7,26 – 7,35 (m, 3H, CHAr), 7,57 (mC, 1H, CHAr), 7,67 (s, 1H, CHAr), 7,74 (mC, 1H, CHAr), 8,23 (mC, 1H, CHAr), 10,33 (s, 1H, NH).	421	422 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
36		$\delta = 1,85$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,88 (s, 3H, O-CH ₃), 7,11 (mC, 1H, CHAr), 7,19 (s, 1H, CHAr), 7,25 – 7,42 (mC, 3H, CHAr), 7,56 (mC, 1H, CHAr), 8,20 (mC, 1H, CHAr), 10,23 (s, 1H, NH).	355	356 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

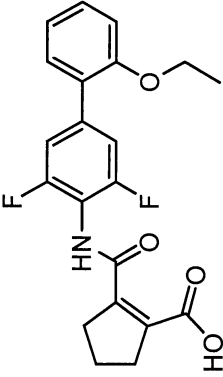
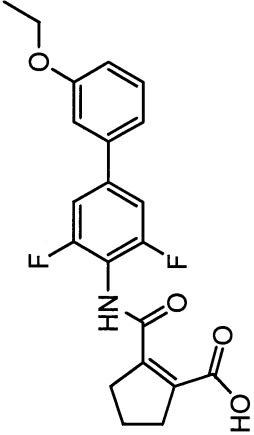
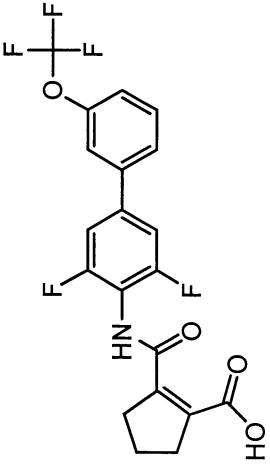
37		$\delta = 1,84$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 6,60 (mC, 1H, CHAr), 6,64 (mC, 1H, CHAr), 7,98 (mC, 1H, CHAr), 7,08 (mC, 1H, CHAr), 7,24 (mC, 1H, CHAr), 8,04 (mC, 1H, CHAr), 10,24 (s, 1H, NH).	397	398 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
38		$\delta = 1,34$ (mC, 3H, O-CH ₂ CH ₃), 1,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃), 4,09 (mC, 2H, O-CH ₂ CH ₃), 6,90 (mC, 1H, CHAr), 7,18 – 7,24 (mC, 3H, CHAr), 7,28 (mC, 1H, CHAr), 7,34 (mC, 1H, CHAr), 8,17 (mC, 1H, CHAr), 10,20 (s, 1H, NH).	381	382 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
39		$\delta = 1,84$ (mC, 2H, CH ₂), 2,71 (mC, 2H, CH ₂), 2,80 (mC, 2H, CH ₂), 3,82 (s, 3H, O-CH ₃), 3,92 (s, 3H, O-CH ₃).	367	368 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

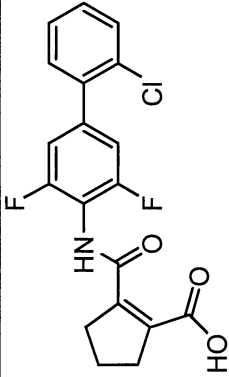
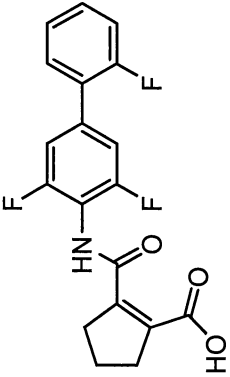
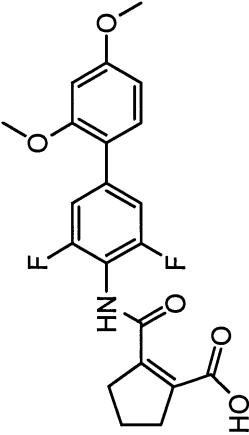
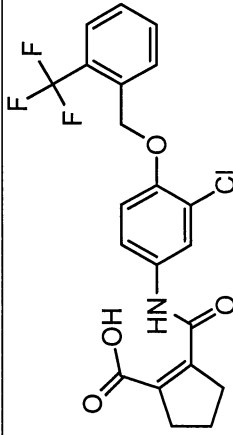
		CH ₃), 6,92 (mC, 1H, CHAr), 7,20 – 7,26 (m, 3H, CHAr), 7,28 (mC, 1H, CHAr), 7,36 (mC, 1H, CHAr), 8,19 (mC, 1H, CHAr), 10,24 (s, 1H, NH).					
40		δ = 1,91 (mC, 2H, CH ₂), 2,63 (mC, 2H, CH ₂), 2,74 (mC, 2H, CH ₂), 5,21 (s, 2H, O-CH ₂), 7,22 – 7,89 (m, 5H, CHAr), 10,38 (s, 1H, NH), 12,65 (s, 1H, OH).	545	546 [M+H] ⁺	A	C	C
41		δ = 4,22 (mC, 2H, CH ₂), 4,34 (mC, 2H, CH ₂), 7,57 – 7,90 (m, 8H, CHAr), 10,65 (s, 1H, OH).	359	360 [M+H] ⁺	A	C	C
42		δ = 1,85 (mC, 2H, CH ₂), 2,17 (s, 2H, CH ₃), 2,56 (mC, 2H, CH ₂), 2,65-2,70 (m, 2H, CH ₂), 6,89-7,59 (m, 8H, CHAr), 10,29 (s, 1H, NH), 12,55 (s, 1H, OH).	353	354 [M+H] ⁺	A	A	A
43		δ = 1,94 (mC, 2H, CH ₂), 2,66 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 7,25-7,76 (m, 8H, CHAr), 10,36 (s, 1H, NH).	391	392 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.

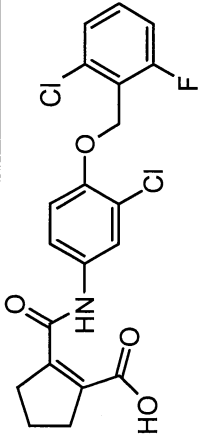
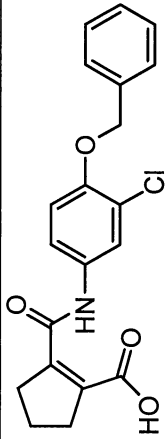
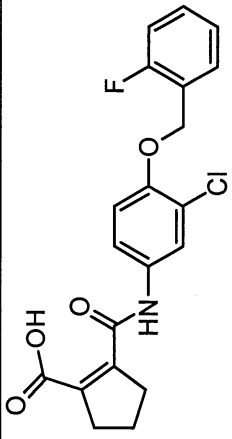
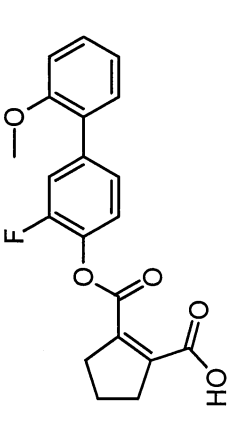
44		δ = 2,03 (mC, 2H, CH ₂), 2,77 (mC, 2H, CH ₂), 2,88 (mC, 2H, CH ₂), 7,41-8,07 (m, 9H, CHAr), 10,55 (s, 1H, NH), 12,83 (s, 1H, OH).	363	364 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
45		δ = 1,74 (mC, 2H, CH ₂), 2,55 (mC, 2H, CH ₂), 2,64 (mC, 2H, CH ₂), 7,18-8,02 (m, 8H, CHAr), 10,55 (s, 1H, NH), 12,91 (s, 1H, OH).	381	382 [M+H] ⁺	A	N.D.	N.D.
46		δ = 1,19 (s, 3H, O-CH ₂ -CH ₃), 1,74 (mC, 2H, CH ₂), 2,54 (mC, 2H, CH ₂), 2,65 (mC, 2H, CH ₂), 3,95 (mC, 2H, O-CH ₂ -CH ₃), 6,75-6,78 (m, 1H, CHAr), 7,04-7,38 (m, 3H, CHAr), 7,43-7,48 (m, 2H, CHAr), 7,87-7,93 (m, 1H, CHAr), 10,41 (s, 1H, NH), 12,90 (s, 1H, OH).	369	370 [M+H] ⁺	A	C	C
47		δ = 4,00 (s, 3H, O-CH ₃), 5,10 – 5,17 (m, 4H, CH ₂), 7,25 – 7,60 (m, 6H, CHAr), 10,55 (s, 1H, NH).	375	376 [M+H] ⁺	A	C	A

50		$\delta = 1,90$ (mC, 2H, CH ₂), 2,64 (mC, 2H, CH ₂), 2,76 (mC, 2H, CH ₂), 6,94 – 7,64 (m, 9H, CHAr), 10,25 (s, 1H, NH), 12,73 (s, 1H, OH).	323	324 [M+H] ⁺	A	A	A
52		$\delta = 4,08$ (mC, 4H, CH ₂), 5,21 (mC, 2H, CH ₂), 6,61 – 7,63 (m, 9H, CHAr), 11,24 (s, 1H, NH).	563	564 [M+H] ⁺	A	B	A
53		δ (CDCl ₃) = 2,03 (mC, 2H, CH ₂), 3,01 – 3,09 (m, 4H, CH ₂), 3,81 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 – 7,05 (m, 2H, CHAr), 7,26 – 7,37 (m, 2H, CHAr), 7,50 (mC, 1H, CHAr), 7,63 (s, 1H, CHAr), 8,36 – 8,39 (m, 2H, NH và CHAr).	371	372 [M+H] ⁺	A	B	B
54		δ (CD ₃ OD) = 2,00 (mC, 2H, CH ₂), 2,81 (mC, 2H, CH ₂), 2,9 (mC, 2H, CH ₂), 3,76 (s, 3H, O-CH ₃), 6,97 – 7,07 (m, 2H, CHAr), 7,14 (mC, 1H, CHAr), 7,22 (mC, 1H, CHAr), 7,37 (CHAr).	371	372 [M+H] ⁺	A	B	A

		(mC, 1H, CHAr), 7,50 (mC, 1H, CHAr), 7,85 (mC, 1H, CHAr).						
56		δ (DMSO-d ₆) = 1,93 (mC, 2H, CH ₂), 2,67 (mC, 2H, CH ₂), 2,79 (mC, 2H, CH ₂), 3,79 (s, 3H, O-CH ₃), 7,09 (mC, 1H, CHAr), 7,20 (mC, 1H, CHAr), 7,37 (mC, 1H, CHAr), 7,51 (mC, 1H, CHAr).	409	410	A	A	A	A
57		δ (CD ₃ OD) = 1,97 (mC, 2H, CH ₂), 2,33 (s, 3H, CH ₃), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,94 (mC, 2H, CH ₂), 3,78 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 – 7,06 (m, 2H, CHAr), 7,25 – 7,35 (m, 4H, CHAr), 7,50 (mC, 1H, CHAr).	351	352	A	B	B	B
58		δ (CD ₃ OD) = 1,93 (mC, 2H, CH ₂), 2,87 – 2,95 (m, 4H, CH ₂), 3,83 (s, 3H, O-CH ₃), 7,01 – 7,10 (m, 2H, CHAr), 7,29 – 7,37 (m, 2H, CHAr), 7,56 (s, 2H, CHAr).	405	406	A	B	B	B

62		δ (CD ₃ OD) = 1,35 (mC, 3H, OCH ₂ CH ₃), 2,00 (mC, 2H, CH ₂), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,94 (mC, 2H, CH ₂), 4,07 (mC, 2H, OCH ₂ CH ₃), 6,98 – 7,08 (m, 2H, CHAr), 7,30 – 7,37 (m, 2H, CHAr).	387	388 [M+H] ⁺	A	B	A
63		δ (CD ₃ OD) = 1,40 (mC, 3H, OCH ₂ CH ₃), 1,99 (mC, 2H, CH ₂), 2,84 (mC, 2H, CH ₂), 2,93 (t, J = 7,5 Hz, 2H, CH ₂), 4,09 (mC, 2H, OCH ₂ CH ₃), 6,94 (mC, 1H, CHAr), 7,13 – 7,20 (m, 2H, CHAr), 7,30 – 7,38 (m, 3H, CHAr).	387	388 [M+H] ⁺	A	B	A
64		δ (CD ₃ OD) = 1,99 (mC, 2H, CH ₂), 2,85 (mC, 2H, CH ₂), 2,91 (mC, 2H, CH ₂), 7,31 – 7,39 (m, 3H, CHAr), 7,54 – 7,59 (m, 2H, CHAr), 7,66 (mC, 2H, CHAr).	427	428 [M+H] ⁺	A	C	N.D.

65		δ (CD3OD) = 2,00 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,94 (mC, 2H, CH2), 7,12 (s, 1H, CHAr), 7,14 (s, 1H, CHAr), 7,37 – 7,42 (m, 3H, CHAr), 7,49 – 7,53 (m, 1H, CHAr).	377	378 [M+H] ⁺	A	A	N.D.
66		δ (CD3OD) = 2,00 (mC, 2H, CH2), 2,84 (mC, 2H, CH2), 2,94 (t, J = 7,8 Hz, 2H, CH2), 7,18 – 7,30 (m, 4H, CHAr), 7,38 – 7,46 (m, 1H, CHAr), 7,46 – 7,55 (m, 1H, CHAr).	361	362 [M+H] ⁺	A	B	N.D.
67		δ (CD3OD) = 1,94 (mC, 2H, CH2), 2,84 – 2,92 (m, 4H, CH2), 3,82 (s, 3H, O-CH3), 3,83 (s, 3H, O-CH3), 6,58 – 6,64 (m, 2H, CHAr), 7,14 (s, 1H, CHAr), 7,17 (s, 1H, CHAr), 7,26 (mC, 1H, CHAr).	403	404 [M+H] ⁺	A	C	N.D.
68		δ = 1,90 (mC, 2H, CH2), 2,63 (mC, 2H, CH2), 2,74 (mC, 2H, CH2), 5,27 (s, 2H, O-CH2), 7,19 – 7,82 (m, 7H, CHAr), 10,23 (s, 1H, NH), 12,69 (s, 1H, OH).	439	440 [M+H] ⁺	A	C	C

69		δ = 1,89 (mC, 2H, CH ₂), 2,62 (mC, 2H, CH ₂), 2,74 (mC, 2H, CH ₂), 5,18 (mC, 2H, O-CH ₂), 7,27 – 7,77 (m, 6H, CHAr), 10,21 (s, 1H, NH), 12,69 (s, 1H, OH).	423	424 [M+H] ⁺	A	A	N.D.
72		δ = 1,73 (mC, 2H, CH ₂), 2,46 (mC, 2H, CH ₂), 2,57 (mC, 2H, CH ₂), 4,99 (mC, 2H, O-CH ₂), 7,00 – 7,62 (m, 8H, CHAr), 10,02 (s, 1H, NH), 12,70 (s, 1H, OH).	371	372 [M+H] ⁺	A	B	N.D.
74		δ = 1,82 (mC, 2H, CH ₂), 2,55 (mC, 2H, CH ₂), 2,67 (mC, 2H, CH ₂), 5,11 (mC, 2H, O-CH ₂), 7,14 – 7,72 (m, 7H, CHAr), 10,18 (s, 1H, NH), 12,53 (s, 1H, OH).	389	390 [M+H] ⁺	A	A	N.D.
76		δ (CDCl ₃) = 2,01 (mC, 2H, CH ₂), 2,99 – 3,04 (m, 4H, CH ₂), 3,81 (s, 3H, O-CH ₃), 6,96 – 7,04 (m, 2H, CHAr), 7,27 – 7,41 (m, 4H, CHAr), 8,19 (s, 1H, NH), 8,28 (mC, 1H, CHAr).	355	356 [M+H] ⁺	A	B	A

Các hợp chất có công thức (I) có thể thu được qua nhiều phương pháp, bao gồm phương pháp được mô tả trong đơn yêu cầu cấp sáng chế Nhật số JP-A-50-121428. Theo các phương án được ưu tiên của sáng chế thì hai phương pháp tổng hợp dưới đây được sử dụng.

Phương pháp 1: Trong bước thứ nhất, axit xycloalken-1,2-dicarboxylic có thể thu được từ axit α,α' -dibromo alkandicarboxylic tương ứng như được mô tả bởi R.N.Mc Donald và R.R. Reitz, J. Org. Chem. 37, (1972) 2418-2422. Axit xyclopenten-1,2-dicarboxylic có thể cũng thu được với lượng lớn từ axit pimelic [D.C. Owsley và J.J. Bloomfield, Org. Prep. Proc. Int. 3, (1971) 61-70; R. Willstätter, J. Chem. Soc. (1926), 655-663].

Các axit dicarboxylic được thế trong hoặc trên hệ vòng nhìn chung đều có thể được tổng hợp qua sự tổng hợp xyanhydrin [Shwu-Jiüan Lee et.al., Bull. Inst. Chem. Academia Sinica Number 40, (1993), 1-10 hoặc B, R, Baker et al, J, Org, Chem. 13, 1948, 123-133; và B.R. Baker et.al., J. Org. Chem. 12, 1947, 328-332; L. A. Paquette et. al., J. Am. Chem. Soc. 97, (1975), 6124-6134].

Các axit dicarboxylic sau đó có thể được chuyển hóa thành anhydrit axit tương ứng bằng phản ứng của chúng với anhydrit của axit axetic [P. Singh và S.M. Weinreb, Tetrahedron 32, (1976), 2379-2380].

Các phương pháp khác để bào chế các anhydrit axit khác nhau có công thức (II) đã được mô tả trong tài liệu V. A. Montero et al., J. Org. Chem. 54, (1989), 3664-3667; P. ten Haken, J. Heterocycl. Chem. 7. (1970), 121 1-1213; K. Alder, H. Holzrichter, J. Lieb. Annalen d. Chem. 524, (1936), 145-180; K. Alder, E. Windemuth, J. Lieb. Annalen d. Chem. 543, (1940), 56-78; và W. Flaig, J. Lieb. Annalen d. Chem. 568, (1950), 1-33.

Các anhydrit này sau đó có thể được phản ứng với các amin tương ứng thành amit mong muốn có công thức (I). Phản ứng này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các điều kiện phản ứng như được mô tả trong tài liệu J.V. de Julian Ortiz et al., J. Med. Chem. 42, (1999), 3308 (con đường A được xác định trong ví dụ 1) hoặc bằng cách sử dụng 4-dimethylamino pyridin (con đường xác định B trong ví dụ 1).

Phương pháp 2: Amit có công thức (I) cũng có thể được tổng hợp bằng cách cho amin có công thức (IV) phản ứng với axit arylboronic có công thức chung (V) [M. P. Winters, Tetrahedron Lett., 39, (1998), 2933-2936].

Biarylanilin có thể được tổng hợp nói chung qua phản ứng liên hợp paladi [G. W. Kabalka et al., Chem.Comm., (2001), 775; A. Demeter, Tetrahedron Lett. 38; (1997), 5219-5222; V. Snieckus, Chem.Comm. 22, (1999), 2259 - 2260].

Phương pháp 3: Amit có công thức (I) cũng có thể được tổng hợp bằng cách cho dẫn xuất halogen có công thức (VI) phản ứng với axit arylboronic axit có công thức chung (VII) [N. E. Leadbeater, S. M. Resouly, Tetrahedron, 55, 1999, 11889-11894].

Muối canxi theo sáng chế có thể được sử dụng cho nhiều bệnh của người và động vật, tốt hơn là các bệnh của người, mà sự ức chế chuyển hóa pyrimidin là có lợi. Các bệnh này là:

- chứng xơ hóa, viêm màng mạch nhỏ, viêm mũi, hen hoặc bệnh khớp, cụ thể là, chứng thoái hóa khớp
- tất cả các dạng thấp khớp
- các bệnh và các rối loạn miễn dịch cấp tính như nhiễm trùng, sốc do nhiễm khuẩn, sốc do nội độc tố, nhiễm khuẩn Gram âm, hội chứng sốc do độc tố, hội chứng suy hô hấp cấp, đột quy, tổn thương tái tưới máu, tổn thương hệ thần kinh trung ương, các dạng dị ứng nghiêm trọng, các phản ứng mảnh ghép chống lại vật chủ và vật chủ chống lại mảnh ghép, bệnh alzheimer hoặc chứng sốt, sự tái phát hẹp van tim, bệnh viêm phổi mạn tính, bệnh bụi phổi, sacôm phổi, bệnh tái hấp thu xương. Các bệnh miễn dịch này cũng bao gồm sự điều hòa và kìm hãm mong muốn hệ miễn dịch;
- tất cả các kiểu bệnh tự miễn, cụ thể là viêm khớp dạng thấp, viêm đốt sống dạng thấp, viêm khớp xương mạn tính, viêm khớp do Gut, đa xơ cứng, đái tháo đường phụ thuộc insulin và đái tháo đường không phụ thuộc insulin, và lupus ban đỏ, viêm loét

đại tràng, bệnh viêm ruột khu vực Morbus Crohn, bệnh viêm ruột, cũng như các bệnh viêm mạn tính khác, ỉa chảy mạn tính;

- các rối loạn ngoài da như bệnh vẩy nến
- teo võng mạc tiến triển
- tất cả các loại nhiễm trùng bao gồm các nhiễm trùng cơ hội.

Muối canxi theo sáng chế và thuốc được bào chế từ nó nhìn chung hữu ích để điều trị rối loạn tăng sinh tế bào, để điều trị hoặc phòng, các bệnh và các tình trạng bệnh miễn dịch (ví dụ như các bệnh viêm, các bệnh miễn dịch thần kinh, các bệnh tự miễn hoặc các bệnh khác).

Muối canxi theo sáng chế cũng hữu ích để phát triển thuốc điều hòa miễn dịch và chống viêm hoặc, thông thường hơn, để điều trị các bệnh mà sự ức chế sinh tổng hợp pyrimidin là có lợi.

Muối canxi theo sáng chế cũng hữu ích để điều trị các bệnh mà bị gây ra bởi sự tăng sinh tế bào ác tính, như tất cả các dạng ung thư máu và ung thư dạng rắn. Vì thế các hợp chất theo sáng chế và thuốc được bào chế từ nó nhìn chung hữu ích để điều chỉnh hoạt động của tế bào, sự tăng sinh tế bào, sự tồn tại của tế bào, sự biệt hóa tế bào, chu trình tế bào, sự trưởng thành tế bào và sự chết tế bào hoặc gây ra sự thay đổi toàn thân về chuyển hóa đường, lipid hoặc protein. Chúng cũng có thể được sử dụng để hỗ trợ tạo thể hệ tế bào, bao gồm sự sinh trưởng và sản sinh tế bào máu (tác dụng tiền chất sinh huyết) sau khi làm suy yếu hoặc phá hủy các tế bào, như bị gây ra bởi, ví dụ, chất độc, bức xạ, liệu pháp miễn dịch, sự thiếu sinh trưởng, sự thiếu dinh dưỡng, chứng kém hấp thu, sự rối loạn điều hòa miễn dịch, chứng thiếu máu và tương tự hoặc để tạo ra các mẫu chứng điều trị của sự sản sinh và phá hủy mô, và sự thay đổi có tác dụng điều trị của tế bào và sự duy trì mô và nội cân bằng tế bào máu.

Các bệnh và các tình trạng bệnh này bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở ung thư như u máu (ví dụ bệnh bạch cầu, u lymphô, u tủy) hoặc các khối u rắn (ví dụ ung thư vú, tuyến tiền liệt, gan, bàng quang, phổi, thực quản, dạ dày, trực tràng, sinh dục

niệu, dạ dày ruột, da, tủy, não, tử cung, ruột kết, đầu và cổ, và buồng trứng, khối u ác tính, u bào hình sao, ung thư phổi tế bào nhỏ, u thần kinh đệm, ung thư biểu mô tế bào nền và có vảy, Sacôm như Sacôm Kaposi và Sacôm xương), điều trị các rối loạn có liên quan đến các tế bào T như thiếu máu không tái tạo và hội chứng DiGeorge, bệnh Graves.

Leflunomit, trước đây đã được phát hiện thấy là ức chế sự sao chép HCMV trong dịch nuôi cấy tế bào. Nhiễm hecpet ở mắt là nguyên nhân phổ biến nhất gây mù do nhiễm trùng ở nước phát triển. Riêng ở Mỹ có khoảng 50.000 ca trong mỗi năm trong đó 90% là các ca tái phát của các bệnh nhiễm trùng ban đầu. Các ca tái phát được điều trị bằng thuốc kháng virus và corticosteroid. Các cytomegalovirus, một loại virus hecpet khác là nguyên nhân phổ biến gây ra sự phá hủy võng mạc và mù ở bệnh nhân bị AIDS. Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp với các hợp chất kháng virus khác như Ganciclovir và Foscarnet để điều trị các bệnh này.

Muối canxi theo sáng chế còn có thể được sử dụng cho các bệnh do nhiễm động vật nguyên sinh ở người và động vật. Các động vật nguyên sinh gây bệnh ở động vật thú y và người tốt hơn là các ký sinh trùng hoạt động nội bào của ngành Apicomplexa hoặc Sarcomastigophora, cụ thể là Trypanosoma, Plasmodia, Leishmania, Babesia và Theileria, Cryptosporidia, Sarcocystida, Amoebiasis, Coccidia và Trichomonas. Các hoạt chất này hoặc các dược chất tương ứng đặc biệt thích hợp để điều trị bệnh sốt rét nhiệt đới, bị gây ra bởi *Plasmodium falciparum*, bệnh sốt rét với biểu hiện sốt cứ mỗi ba ngày, bị gây ra bởi *Plasmodium vivax* hoặc *Plasmodium ovale* và để điều trị bệnh sốt rét với biểu hiện sốt cứ mỗi bốn ngày, bị gây ra bởi *Plasmodium malariae*. Chúng cũng thích hợp để điều trị bệnh Toxoplasma, bị gây ra bởi *Toxoplasma gondii*, bệnh cầu trùng, ví dụ bị gây ra bởi *Isospora belli*, bệnh nhuc bào tử trùng ở ruột non, bị gây ra bởi *Sarcocystis suis hominis*, bệnh lỵ bị gây ra bởi *Entamoeba histolytica*, bệnh nhiễm ký sinh trùng Crypto, bị gây ra bởi *Cryptosporidium parvum*, bệnh Chagas, bị gây ra bởi *Trypanosoma cruzi*, bệnh buồn ngủ, bị gây ra bởi *Trypanosoma brucei rhodesiense* hoặc *gambiense*, các dạng bệnh Leishmania da và nội tạng cũng như các dạng bệnh Leishmania khác. Chúng cũng thích hợp để điều trị cho các động vật bị

nhuộm động vật nguyên sinh gây bệnh thú y, giống như *Theileria parva*, tác nhân gây bệnh gây ra bệnh sốt ở bò bờ biển Đông, *Trypanosoma congolense congolense* hoặc *Trypanosoma vivax vivax*, *Trypanosoma brucei brucei*, tác nhân gây bệnh gia súc Nagana ở châu Phi, *Trypanosoma brucei evansi* gây ra bệnh Surra, *Babesia bigemina*, tác nhân gây bệnh sốt Texas ở gia súc và trâu, *Babesia bovis*, tác nhân gây bệnh Babesia ở bò châu Âu cũng như bệnh Babesia ở chó, mèo và cừu, các tác nhân gây bệnh *Sarcocystis ovicanis* và *ovifelis* gây bệnh nhuc bào tử trùng ở cừu, gia súc và lợn, Cryptosporidia, các tác nhân gây bệnh nhiễm ký sinh trùng Crypto ở gia súc và chim, các loài Eimeria và Isospora, các tác nhân gây bệnh cầu trùng ở thỏ, gia súc, cừu, dê, lợn và chim, đặc biệt là ở gà và gà tây. Việc sử dụng các hợp chất theo sáng chế được ưu tiên đặc biệt để điều trị bệnh cầu trùng hoặc nhiễm trùng sốt rét, hoặc để bào chế thuốc hoặc thực phẩm để điều trị các bệnh này. Việc điều trị này có thể là dự phòng hoặc trị bệnh. Trong điều trị bệnh sốt rét, các hợp chất theo sáng chế có thể được kết hợp với các chất chống sốt rét khác.

Muối canxi theo sáng chế cũng có thể được sử dụng cho nhiễm trùng vi rút hoặc các nhiễm trùng khác bị gây ra bởi *Pneumocystis carinii* chẳng hạn.

Tốt hơn là, các bệnh hoặc các tình trạng bệnh được điều trị hoặc được phòng ngừa bằng muối canxi theo sáng chế được chọn từ nhóm bao gồm các phản ứng mảnh ghép chống lại vật chủ và vật chủ chống lại mảnh ghép, viêm khớp dạng thấp, đa xơ cứng, lupus ban đỏ, bệnh viêm ruột, và bệnh vẩy nến.

Muối canxi của các hợp chất có công thức (I) có thể được dùng cho động vật, tốt hơn là cho động vật có vú, và cụ thể là cho người, chó và gà làm các chất điều trị, dưới dạng hỗn hợp với một chất khác hoặc ở dạng dược phẩm mà cho phép sử dụng qua đường tiêu hóa hoặc ngoài đường tiêu hóa hoặc dưới dạng một hoạt chất chứa một liều hữu hiệu của ít nhất một trong số các muối canxi nêu trên của hợp chất có công thức (I), ngoài thành phần tá dược và chất bổ sung được dùng không độc thông thường.

Các chất điều trị có thể được dùng qua đường miệng, ví dụ dưới dạng viên tròn, viên nén, viên nén bao tan trong ruột, viên nén bao đường, viên nang gelatin cứng và

mềm, dung dịch, sirô, nhũ tương hoặc hỗn dịch hoặc dưới dạng hỗn hợp sol khí. Tuy nhiên, việc dùng có thể cũng được thực hiện qua đường trực tràng, ví dụ ở dạng viên đạn, hoặc ngoài đường tiêu hóa, ví dụ ở dạng tiêm hoặc truyền, hoặc qua da, ví dụ ở dạng thuốc mỡ, kem hoặc cồn thuốc.

Ngoài các muối nêu trên của các hoạt chất có công thức (I), thì dược phẩm có thể còn chứa thêm chất mang hoặc tá dược trợ thông thường. Do đó, dược phẩm có thể còn chứa các chất phụ trợ, như, ví dụ, chất độn, chất kéo dài, chất làm phân rã, chất kết dính, chất gây trượt, chất làm ẩm, chất làm ổn định, chất nhũ hóa, chất bảo quản, chất làm ngọt, chất màu, chất thơm hoặc hương liệu, chất đệm, và hơn nữa dung môi hoặc chất làm hòa tan hoặc chất để đạt được tác dụng dự trữ, cũng như muối để làm thay đổi áp suất thẩm thấu, chất bao hoặc chất chống oxy hóa. Chúng cũng có thể chứa muối nêu trên của hai hoặc nhiều hợp chất có công thức (I) và cả các hoạt chất có tác dụng điều trị khác.

Do đó, muối theo sáng chế có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc kết hợp với hoạt chất khác - ví dụ với các thuốc đã được biết để điều trị các bệnh được nêu trên, nhờ đó trong trường hợp sau có chất phụ trợ thích hợp, thì tác dụng khuếch đại được chú ý. Các lượng thích hợp được dùng cho người nằm trong khoảng từ 5 đến 500mg.

Để bào chế dược phẩm, có thể sử dụng các tá dược vô cơ hoặc hữu cơ trợ dược dụng. Để bào chế viên tròn, viên nén, viên nén bao tan trong ruột và viên nang gelatin cứng, ví dụ, lactoza, tinh bột ngô hoặc dẫn xuất của nó, bột talc, axit stearic hoặc muối của nó, v.v. có thể được sử dụng. Các tá dược cho viên nang gelatin mềm và thuốc đạn ví dụ là chất béo, sáp, polyol bán rắn và lỏng, dầu tự nhiên hoặc đông cứng. Các tá dược thích hợp để tạo ra dung dịch và sirô ví dụ là nước, sucroza, đường khử, glucoza, các polyol v.v.. Các tá dược thích hợp để tạo ra các dung dịch tiêm ví dụ là nước, rượu, glyxerol, polyol hoặc dầu thực vật.

Liều có thể thay đổi nằm trong khoảng giới hạn rộng và là thích hợp với từng tình trạng bệnh ở từng trường hợp. Đối với các sử dụng nêu trên thì liều thích hợp sẽ thay đổi tùy theo kiểu dùng, tình trạng bệnh cụ thể được điều trị và tác dụng mong muốn đạt được. Tuy nhiên, nói chung, các kết quả mong muốn đạt được với tỷ lệ liều

nằm trong khoảng từ 1 đến 100mg/kg trọng lượng cơ thể động vật tốt hơn là nằm trong khoảng từ 1 đến 50mg/kg. Các tỷ lệ liều thích hợp cho các động vật có vú lớn hơn, ví dụ người, là liều nằm trong khoảng từ 10mg đến 3g/ngày, thích hợp được dùng một lần, ở dạng các liều chia từ 2 đến 4 lần trong một ngày, hoặc ở dạng giải phóng kéo dài.

Nói chung, liều hàng ngày nằm trong khoảng từ 10mg đến 5000mg, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 50 đến 500mg, cho từng người là thích hợp trong trường hợp dùng qua đường miệng mà là dạng dùng được ưu tiên theo sáng chế. Trong trường hợp các dạng sử dụng khác, thì liều hàng ngày cũng nằm trong khoảng tương tự.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được minh họa thêm bằng các ví dụ nhưng cần phải hiểu rằng sáng chế không bị giới hạn dưới đây. Số liệu được trình bày cho các hợp chất cụ thể được mô tả trong bảng 1 ở trên cũng liên quan đến các ví dụ cụ thể của sáng chế.

Bố trí thử nghiệm/thiết bị

¹H-NMR: phổ ¹H-NMR được ghi bằng cách sử dụng quang phổ kế Bruker DPX300 với tần số proton là 300,13 MHz, xung kích thích 30°, và thời gian trễ theo chu kỳ là 1 giây. 16 lần quét được tích lũy, D₂O; MeOD hoặc d₆-DMSO được sử dụng làm dung môi.

DSC: phép đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân được thực hiện với thiết bị Perkin Elmer DSC-7 (chảo đựng mẫu kín bằng vàng dưới khí N₂). Mẫu được gia nhiệt đến điểm nóng chảy với tốc độ 10K/phút, sau đó được làm lạnh (tốc độ làm lạnh 200K/phút) và sau đó lại được gia nhiệt lần nữa với tốc độ 10K/phút,

DVS (SMS): máy phân tích mức hấp thụ hơi nước DVS-1 của công ty Surface Measurement Systems Ltd.. Mẫu được đặt trên chảo đựng mẫu bằng platin và được làm cân bằng ở độ ẩm tương đối định sẵn (độ ẩm tương đối), thông thường độ ẩm tương đối là 50%. Sau đó, chương trình độ ẩm được đặt trước được bắt đầu với tốc độ quét là thay đổi độ ẩm tương đối 5% mỗi giờ. Bước thứ nhất: từ độ ẩm tương đối 50%

đến độ ẩm tương đối 0% (trong trường hợp hydrat có thể được chấp nhận làm nguyên liệu ban đầu thì độ ẩm tương đối nằm trong khoảng từ 50 đến 95%), bước thứ hai: từ độ ẩm tương đối 0% đến 95% (trong trường hợp hydrat có thể được chấp nhận làm nguyên liệu ban đầu thì độ ẩm tương đối nằm trong khoảng từ 95 đến 0%).

Phổ học FT-Raman: phổ FT-Raman được ghi trên hệ thống Bruker RFS 100 FT-Raman với Nd hồng ngoại gần: thiết bị laze YAG hoạt động ở bước sóng 1064nm và máy dò germani được làm lạnh bằng nitơ lỏng. Đối với mỗi ví dụ, tối thiểu 64 lần quét với độ phân giải 2cm^{-1} được tích lũy. Sử dụng nguồn laze nhỏ 300mW. Số liệu FT-Raman được thể hiện trong vùng nằm trong khoảng từ 3500 đến 100cm^{-1} . Số liệu dưới 100cm^{-1} là không đáng tin cậy do ngưỡng thiết bị lọc Rayleigh.

Kính hiển vi quang học: Kính hiển vi Leitz Orthoplan 110680 được trang bị với máy ảnh Leica DFC280 và phần mềm chụp ảnh IM50 phiên bản 5. Các ảnh được ghi lại có hoặc không có các bộ phân cực chéo và với sự phóng đại gấp 4 lần, 10 lần hoặc 25 lần.

Nhiều xạ bột tia X: Bruker D8; bức xạ đồng K_{α} , 40kV/40mA; máy dò LynxEye, kích thước bước $0,02^{\circ}2\theta$, thời gian của một bước là 37 giây. Chuẩn bị mẫu: Các mẫu nhìn chung được đo không cần xử lý đặc biệt nào khác ngoài việc áp dụng áp lực yếu để có được bề mặt phẳng. Bộ giữ mẫu tinh thể đơn bằng silic được sử dụng (độ sâu 0,1, 0,5 hoặc 1mm). Các mẫu được quay trong quá trình đo.

Kính hiển vi Raman: Hệ thống renishaw inVia Reflex Raman. Thiết bị laze điốt ổn định với bước sóng kích thích 785nm và máy ảnh CCD được làm mát Peltier được tăng cường bằng NIR làm máy dò. Các phép đo được thực hiện với khoảng cách hoạt động dài gấp 20 lần mục tiêu. Số sóng nằm trong khoảng từ $2000-100\text{cm}^{-1}$, thời gian phát hiện 10 giây, ba lần tích lũy trong một phổ.

Dung môi: Cho tất cả các thử nghiệm, dung môi loại dùng cho phân tích Fluka, Merck hoặc ABCR được sử dụng.

TG-FTIR: Các phương pháp đo nhiệt trọng được thực hiện với cân vi lượng nhiệt Netzsch TG 209 được kết hợp với quang phổ kế Bruker FTIR vector 22 hoặc IFS 28 (các chảo mẫu có lỗ đường kính nhỏ, khí N₂, tốc độ gia nhiệt 10°C/phút, khoảng nhiệt độ từ 25°C đến 350°C).

HPLC: HPLC được thực hiện bằng sắc ký lỏng Dionex UltiMate® 3000 chứa dung môi Rack, bộ tiết lưu chân không, bơm đôi (mikro), máy trộn tĩnh (500 µl), bộ lấy mẫu tự động, vòng lặp mẫu 25µl, ống tiêm 100µl, lò dạng cột và máy dò DAD (phần tử đo bán vi lượng), mà được thực hiện để phân tích UV. Phân tích số liệu được thực hiện với phần mềm Chromeleon® 6.80 SP3. Các hợp chất được tách ra ở 30°C trên cột Phenomenex Onyx™ Monolithic C18 50x2 mm. Thể tích tiêm là 2 µl và chiều dài bước sóng dò là 305nm. Gradient của axit formic 0,1% trong nước loại dùng cho HPLC/axetonitril được dùng làm pha động, bắt đầu ở nồng độ axetonitril 5%. Nồng độ ban đầu được giữ trong 1 phút, sau đó gradient được tạo dốc tuyến tính đến axetonitril 95% trong khoảng thời gian 2 phút, được giữ trong 0,7 phút ở axetonitril 95%, sau đó được quay lại đến axetonitril 5% trong vòng 0,1 phút và giữ cố định trong 0,7 phút để cân bằng lại cột. Tốc độ chảy của pha động là 1,5ml/phút.

Ví dụ 1. Tổng hợp các hợp chất có công thức (I)

Tổng hợp các hợp chất có công thức (I) được mô tả chi tiết trong công bố đơn quốc tế số WO 2003/0006425, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ 2. Thử nghiệm ức chế hoạt tính DHODH

Hỗn hợp thử nghiệm chuẩn chứa 50µM dexyclo ubichinon, 100µM dihydroorotat, 60µM 2,6-dicloindophenol, cũng như 20mU DHODH. Hoạt độ thể tích của enzym tái tổ hợp được sử dụng là 30U/ml. Các phép đo được thực hiện trong 50mM TrisHCl (KCl 150mM, Triton X-100 0,1%, pH 8,0) ở 30°C trong thể tích cuối cùng là 1ml. Các thành phần được trộn, và phản ứng được bắt đầu bằng cách bổ sung dihydroorotat. Tiếp theo quá trình phản ứng là đo mức giảm hấp thụ bằng phổ quang kế ở bước sóng 600nm trong 2 phút.

Các nghiên cứu ức chế được thực hiện trong thử nghiệm chuẩn với các lượng chất ức chế thêm vào có thể thay đổi. Để xác định giá trị IC_{50} (nồng độ chất ức chế cần để thu được mức ức chế 50%) cần cung cấp ít nhất năm nồng độ chất ức chế khác nhau.

Các nghiên cứu này được thực hiện với DHODH của người tái tổ hợp cũng như của chuột tái tổ hợp được cung cấp bởi Giáo sư M. Loffler, Marburg, Đức [M. Loffler, Chem. Biol. Interact. 124, (2000), 61-76].

Chất chuyển hóa có hoạt tính của leflunomit A77-1726 (Hợp chất 12) được sử dụng để tham khảo [J. Jöckel et. al. Biochemical Pharmacology 56 (1998), 1053-1060].

Các kết quả của thử nghiệm ức chế được trình bày trong bảng 1 ở trên. Rõ ràng là từ việc so sánh các giá trị IC_{50} mà các hợp chất được sử dụng để điều chế muối theo sáng chế không chỉ có hoạt tính ức chế trên enzym của người tương đương hoặc thậm chí tốt hơn so với chất chuyển hóa có hoạt tính của leflunomit mà còn có tính đặc hiệu cao hơn đối với enzym của người.

Ví dụ 3. Thử nghiệm tăng sinh các tế bào T của người

Các tế bào đơn nhân máu ngoại vi của người (Human peripheral blood mononuclear cell - PBMC) thu được từ những người tình nguyện khỏe mạnh và được chuyển vào môi trường nuôi cấy tế bào PMI1640 chứa 10% huyết thanh bào thai bê được thẩm tách 10%. 80.000 tế bào mỗi lỗ được hút bằng ống hút vào đĩa 96 lỗ và thêm ngưng kết tố hồng cầu thực vật (PHA) vào dung dịch nước muối đệm photphat đến nồng độ cuối cùng là 20 μ g/ml để kích thích sự tăng sinh tế bào T. Vidofludirinus được thêm vào dimetyl sulfoxit (DMSO, nồng độ cuối cùng: 0,1% thể tích) đến nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 20nM đến 50 μ M. Sau khi ủ trong 48 giờ, sự tăng sinh tế bào được định lượng bằng cách sử dụng "ELISA BrdU tăng sinh tế bào" (Roche) theo các hướng dẫn của nhà sản xuất. Một nửa sự ức chế tối đa (IC_{50}) được tính bằng cách khớp đường cong xichma có 4 thông số. Sự tăng sinh tế bào T được ức chế bằng Vidofludimus với IC_{50} bằng 4,1 μ M. (xem Fig.1).

Ví dụ 4: Điều chế muối canxi

300,4mg axit Vidofludimus tự do được hòa tan trong 18mL DCM/MeOH (3:1) và được siêu âm trong 8 phút. 31,5mg canxi hydroxit được tạo huyền phù trong 3mL DCM/MeOH (3:1); huyền phù này được thêm từ từ vào dung dịch axit Vidofludimus tự do. Huyền phù nhẹ được khuấy qua đêm ở 25°C. Dung môi được làm bay hơi một phần dưới dòng nitơ ở 25°C. Huyền phù đặc màu vàng nhạt được quan sát thấy. Chất rắn được thu lại bằng cách lọc và được rửa bằng DCM/MeOH (3:1). Sản phẩm được làm khô trong 15 phút trong chân không ở 25°C. Sản phẩm thu được ở dạng tinh thể bằng cách sử dụng các phương pháp được mô tả dưới đây.

Từ phân tích cơ bản, tính được tỷ số giữa flo và canxi. Thành phần cơ bản phù hợp với muối bán canxi.

Phổ Raman của hợp chất mới tạo thành đã cho thấy các điểm khác biệt với phổ của axit tự do (xem Fig.3 thể hiện cả hai phổ). Lưu ý rằng phổ Raman không đơn giản là sự chồng chập phổ của axit tự do, chất tạo muối và dung môi, ví dụ, phổ Raman có các đỉnh mới hoặc các đỉnh thay đổi được quan sát, có thể tương ứng với một loại muối. Tuy nhiên, chỉ từ phổ Raman, không thể xác định được liệu có xảy ra sự tạo thành muối dạng tinh thể hay không. Về nguyên tắc, các thay đổi của đỉnh cũng có thể do sự tạo phức của axit tự do và chất tạo muối dưới dạng sản phẩm vô định hình, hoặc do các chất đa hình của axit tự do hoặc của chất tạo muối, hoặc do các tạp chất, hoặc do các sản phẩm phân hủy. Vì thế, tính nguyên vẹn của cấu trúc phân tử được khẳng định bằng $^1\text{H-NMR}$.

Ngoài ra, nhiễu xạ bột tia X được thể hiện trên Fig.5 cho thấy rằng thu được nguyên liệu dạng tinh thể, tuy nhiên với dạng khác với dạng của axit tự do (xem Fig.6). Các tinh thể được nhìn thấy bằng cách sử dụng kính hiển vi ánh sáng (Fig.4), DSC (phép đo nhiệt lượng bằng tia quét vi phân) biểu thị điểm nóng chảy bằng khoảng 155°C (chỉ ra sự nóng chảy của solvat và dạng không phải solvat), TG-FTIR (thiết bị phân tích nhiệt trọng-kết hợp với quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier) chỉ ra rằng chắc chắn metanol solvat và hydrat được tạo thành và sự hấp phụ hơi động lực chỉ ra

sự tách dung môi sau đó là hấp thu 0,3% nước ở độ ẩm tương đối khoảng 85% và hấp thu 0,4% nước ở độ ẩm tương đối 95% (không thể đảo ngược).

Ví dụ 5: Nghiên cứu về độ hòa tan của các hợp chất

Độ hòa tan trong nước của Vidofludimus dạng axit tự do (axit 2-(3-Flo-3'-methoxybiphenyl-4-ylcarbamoyl)-xyclopent-1-encarboxylic), muối kali của nó và muối canxi của nó được nghiên cứu. Nguyên tắc của phương pháp dựa trên hướng dẫn OECD để nghiên cứu các hóa chất, 105 “Độ hòa tan trong nước”. 2mg hợp chất thử nghiệm được cân vào các lọ Eppendorf có thể tích 1,5ml. Sau đó, nước được thêm vào đến nồng độ bằng 5mg/ml. Sau khi chuẩn bị các mẫu thử độ hòa tan, chúng được ủ trong 24 giờ ở 23°C dưới điều kiện lắc liên tục. Sau đó, các mẫu được ly tâm để tách chất kết tủa từ hợp chất được hòa tan. Các dịch nổi trên bề mặt được chuyển vào các lọ HPLC được đánh dấu để định lượng bằng HPLC-UV. Cuối cùng, các mẫu HPLC này được phân tích trên hệ thống HPLC-UV và các thành phần của chúng được tính từ các đường cong hiệu chỉnh. Nồng độ của hợp chất trong dịch nổi bề mặt bằng với độ hòa tan của nó trong nước. Độ hòa tan trong nước dưới đây được phát hiện thấy đối với Vidofludimus dạng axit tự do và muối kali và canxi của nó;

Bảng 2 - Độ hòa tan của vidofludimus ở dạng muối canxi so với dạng muối kali và dạng axit tự do

	Vidofludimus		
	Dạng axit tự do	Dạng muối kali	Dạng muối natri
Độ hòa tan [µg/ml]	9,5	4700	16,2

Ví dụ 6: Xác định độ sinh khả dụng

Độ sinh khả dụng qua đường miệng của muối canxi và dạng axit tự do của Vidofludimus được so sánh ở loài chuột Wistar đực. Dạng axit tự do hoặc dạng muối canxi được nạp vào viên nang gelatin và chuột được dùng một liều duy nhất khoảng 10mg đương lượng axit tự do mỗi kilogram thể trọng.

Bốn con chuột Wistar đực (có thể trọng nằm trong khoảng: 250-275g) mỗi nhóm được điều trị bằng Vidofludimus dạng axit tự do hoặc dạng muối canxi của nó. Các viên nang được đưa vào thực quản của chuột bằng cách sử dụng thiết bị chuyên dụng. Các mẫu máu tĩnh mạch được lấy từ chuột sau khi gây mê bằng isofluran ở các thời điểm sau sau khi sử dụng: 30 phút; 1 giờ; 2 giờ; 4 giờ; 6 giờ; 8 giờ; 24 giờ; 28 giờ; 32 giờ và 48 giờ. Sự đông máu được ức chế bằng cách sử dụng Na-heparin và huyết tương được tạo ra bằng cách ly tâm các mẫu máu. Các mẫu huyết tương được phân tích Vidofludimus bằng LC-MS/MS và các thông số dược động học được tính theo phương pháp hình thang tuyến tính logarit hỗn hợp.

Để kiểm tra dạng muối kali, sáu con chuột Lewis cái (trọng lượng cơ thể khoảng 200g) được điều trị bằng Vidofludimus dạng axit tự do hoặc dạng muối kali của nó với liều 30mg/kg (đương lượng axit tự do). Các hợp chất được bào chế trong 0,5% methyl xenluloza trong nước muối đậm photphat và chuột được điều trị bằng ống xông qua đường miệng. Các mẫu máu tĩnh mạch được lấy từ chuột sau khi gây mê bằng isofluran ở các thời điểm sau sau khi sử dụng: 30 phút; 1 giờ; 2 giờ; 4 giờ; 8 giờ; 26 giờ; 33 giờ; 48 giờ và 72 giờ. Sự đông máu được ức chế bằng cách sử dụng Na-heparin và huyết tương được tạo ra bằng cách ly tâm các mẫu máu. Các mẫu huyết tương được phân tích Vidofludimus bằng LC-MS/MS và các thông số dược động học (AUC) được tính toán bằng phương pháp theo nguyên tắc hình thang tuyến tính.

Độ sinh khả dụng qua đường miệng của các muối được đánh giá bằng cách so sánh diện tích dưới đường cong thời gian-nồng độ huyết tương (các AUC) và nồng độ huyết tương đạt được tối đa (các giá trị C_{max}) của Vidofludimus sau khi dùng dạng muối với các giá trị quan sát được sau khi dùng dạng axit tự do. Các tỷ số này được thể hiện trong bảng 3 và Fig.2.

Bảng 3: So sánh các thông số PK sau khi dùng qua đường miệng Vidofludimus cho chuột

Hợp chất	AUC_{inf}/AUC_{inf} dạng axit tự do	C_{max}/C_{max} , dạng axit tự do
Vidofludimus dạng axit tự do	1	1

Dạng muối kali	0,96	1,09
Dạng muối canxi	1,72	1,67

Ví dụ 7: Xác định độ ổn định trong thời gian dài

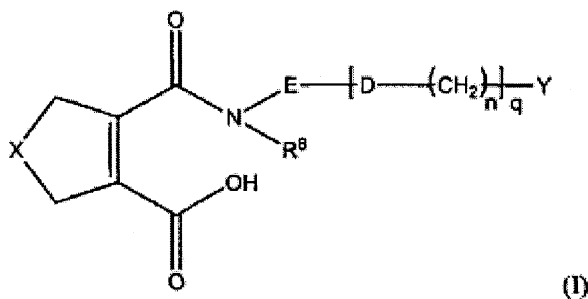
Các hợp chất được bảo quản trong 18 tháng ở các điều kiện môi trường (20-25°C, độ ẩm tương đối 30-60%) và sau đó được phân tích độ tinh khiết bằng HPLC.

Hợp chất	Xuất hiện sản phẩm thủy phân trong HPLC sau 18 tháng bảo quản	Diện tích đỉnh
Vidofludimus dạng axit tự do	Dưới LOD*	>99%
Dạng muối canxi	Dưới LOD*	>99%

*LOD của sản phẩm thủy phân: 0,1 µg/ml.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Muối canxi của hợp chất có công thức chung (I):



trong đó:

X được chọn từ nhóm bao gồm CH₂, S, hoặc O;

D là O hoặc S;

R^B là hydro hoặc alkyl;

E là nhóm phenylen tùy ý được thế;

Y là hệ vòng có từ 6-9 cạnh một vòng hoặc hai vòng được thế hoặc không được thế có thể chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ N hoặc S và chứa ít nhất một vòng thơm;

n là 0 hoặc 1; và

q là 0 hoặc 1;

với điều kiện là muối canxi của các hợp chất trong đó X = CH₂, q=0, Y= phenyl không được thế và E = phenylen không được thế được loại trừ,

hoặc hydrat của nó.

2. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm 1, trong đó R^B là hydro hoặc metyl.

3. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm 1 hoặc 2, trong đó Y là phenyl được thế hoặc không được thế.
4. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó q là 0.
5. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó E là nhóm phenylen không được thế hoặc nhóm phenylen mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ halogen, nitro hoặc alkoxy.
6. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó Y là nhóm phenyl không được thế hoặc nhóm phenyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ halogen, alkyl, alkoxy, haloalkoxy, haloalkyl hoặc CN.
7. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó E là nhóm phenyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nhóm độc lập được chọn từ metoxy hoặc triflometoxy, thậm chí tốt hơn nữa là metoxy.
8. Muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó hợp chất có công thức 1 là axit 2-(3-flo-3'-metoxy-biphenyl-4-ylcarbamoyl)-xyclopent-1-encarboxylic.
9. Dược phẩm chứa muối hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, cùng với chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.
10. Thuốc chứa muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8.
11. Quy trình điều chế muối canxi hoặc hydrat của hợp chất có công thức chung (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó quy trình này bao gồm các bước sau:

- a) thêm hỗn dịch của canxi hydroxit trong dung môi hữu cơ vào dung dịch chứa axit tự do của hợp chất có công thức (I) như được nêu trong điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9,
- b) khuấy hỗn dịch thu được ở bước a),
- c) làm bay hơi ít nhất một phần dung môi hữu cơ này để thu được hỗn dịch của muối canxi của hợp chất có công thức (I) này,
- d) thu hồi muối canxi của hợp chất có công thức (I) này từ hỗn hợp thu được từ bước c), và
- e) rửa muối canxi của hợp chất có công thức (I) này thu được từ bước d), bằng dung môi hữu cơ này.

Fig. 1:

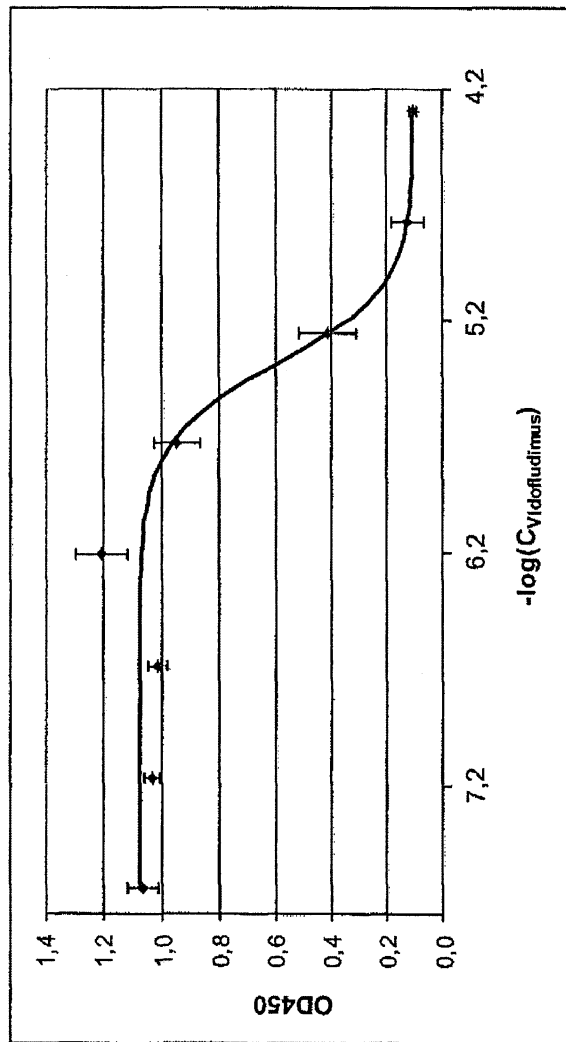
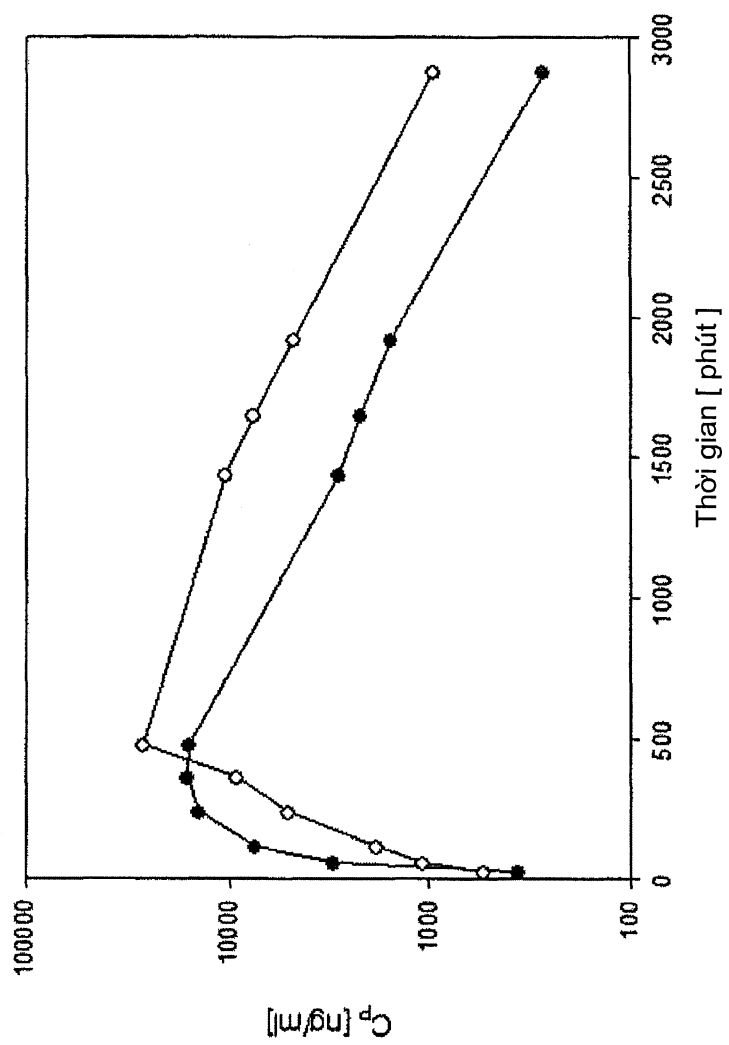


Fig. 2:



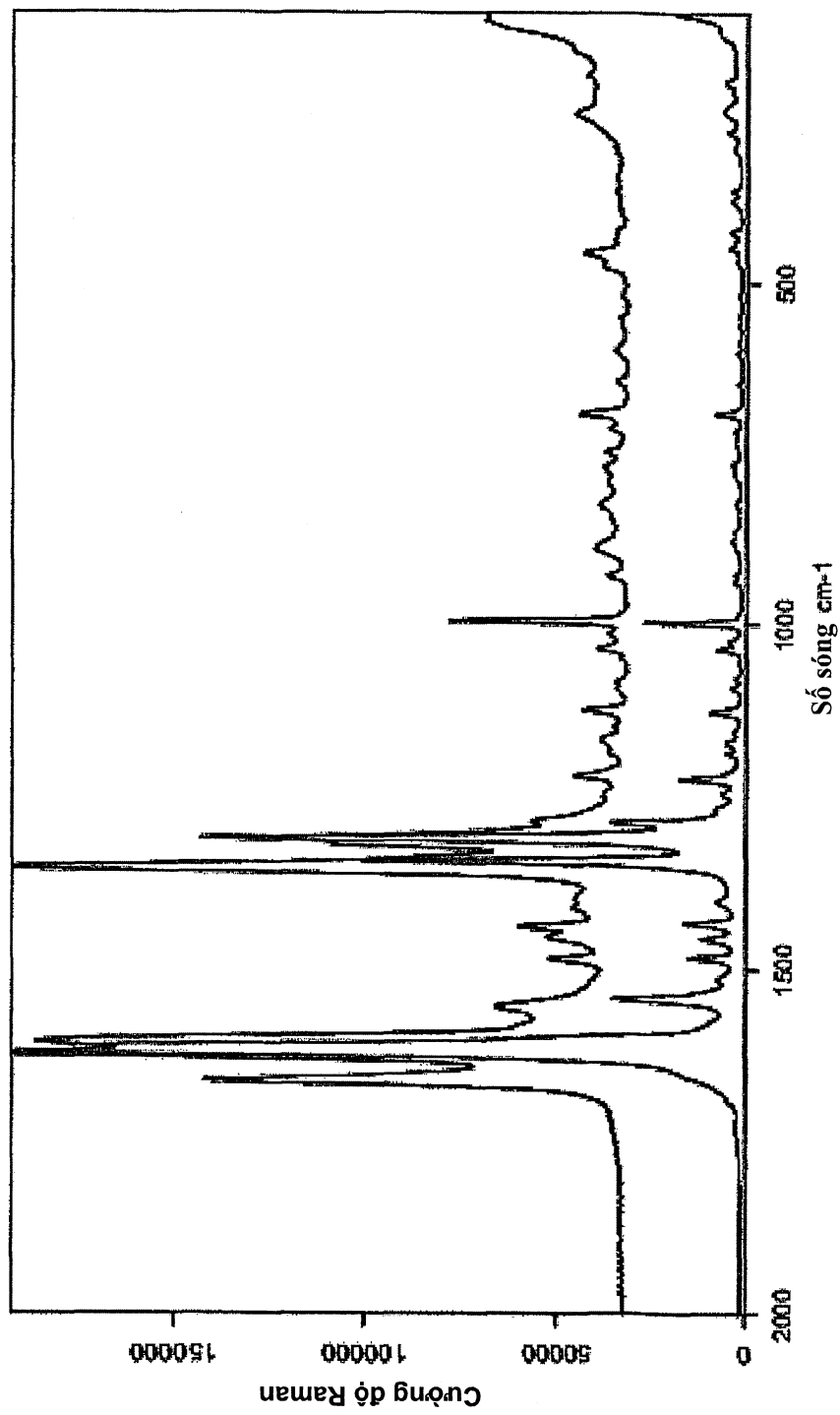


Fig. 3:

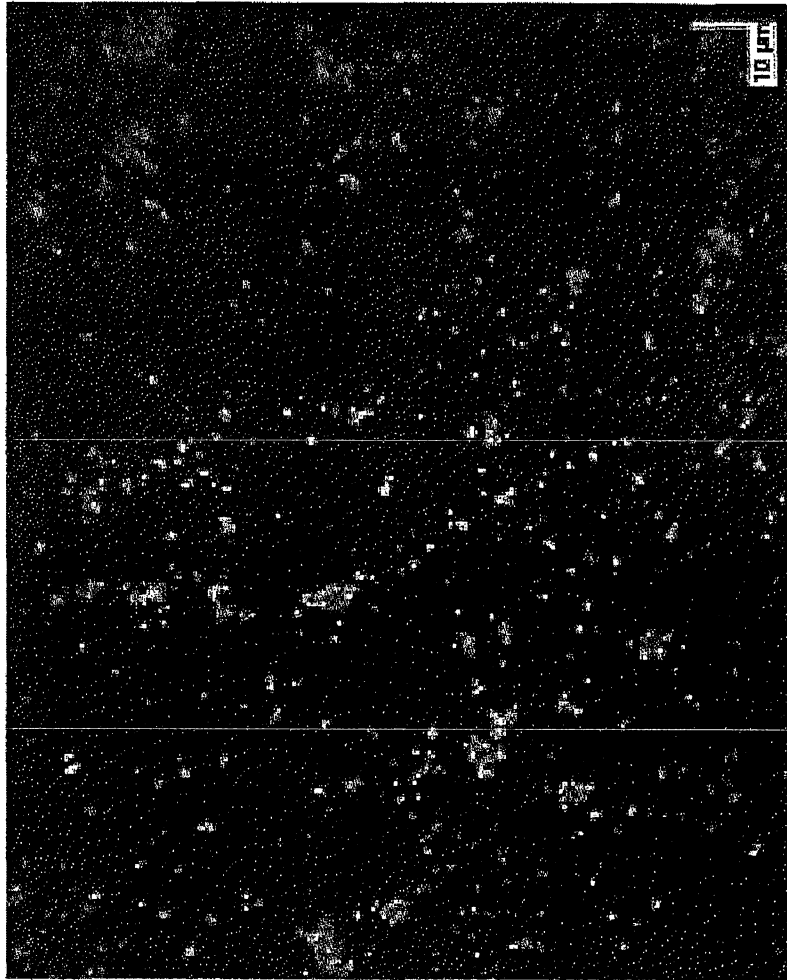


Fig. 4:

Fig. 5:

Biểu đồ nhiễu xạ tia X của SP139-Ca-P4

