



(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) 
1-0022237

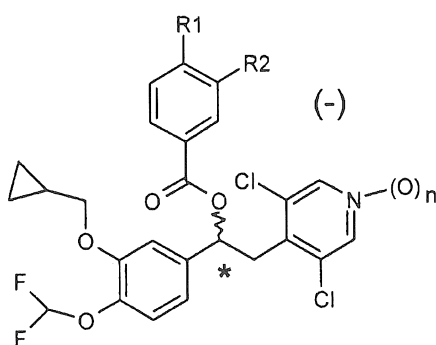
(51)⁷ **C07D 213/61, 213/89, A61K 31/44,**
A61P 11/00

(13) **B**

(21)	1-2011-02336	(22)	04.02.2010		
(86)	PCT/EP2010/000676	04.02.2010	(87)	WO2010/089107	12.08.2010
(30)	09001660.1	06.02.2009	EP		
(45)	25.11.2019	380	(43)	26.03.2012	288
(73)	CHIESI FARMACEUTICI S.P.A. (IT) Via Palermo, 26/A, I-43100 Parma, Italy				
(72)	AMARI, Gabriele (IT), ARMANI, Elisabetta (IT), DELCANALE, Maurizio (IT)				
(74)	Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)				

(54) HỢP CHẤT LÀ DẪN XUẤT CỦA RƯỢU 1-PHENYL-2-PYRIDINYL ALKYLIC LÀM CHẤT ỨC CHẾ PHOSPHODIESTERAZA, QUY TRÌNH ĐIỀU CHẾ, TỔ HỢP VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY, THIẾT BỊ VÀ KIT CHỨA DƯỢC PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất ức chế enzym phosphodiesteraza 4 (PDE4). Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến các hợp chất là dẫn xuất của rượu 1-phenyl-2-pyridinyl alkyllic, quy trình điều chế chúng, dược phẩm và tổ hợp chứa chúng. Các hợp chất, tổ hợp và dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh đường hô hấp đặc trưng bởi tình trạng tắc nghẽn khí đạo như bệnh hen và và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD).



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất ức chế enzym phosphodiesteraza 4 (PDE4). Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến các hợp chất là dẫn xuất của rượu 1-phenyl-2-pyridinyl alkyllic, quy trình điều chế chúng, dược phẩm và tổ hợp chứa chúng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tắc nghẽn khí đạo là đặc điểm của nhiều bệnh hô hấp nghiêm trọng bao gồm bệnh hen và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease – COPD). Các trường hợp dẫn đến tắc nghẽn khí đạo bao gồm phù vách khí đạo, tăng tạo dịch nhày và viêm.

Thuốc để điều trị các bệnh hô hấp như hen và COPD hiện được sử dụng bằng cách xông. Một trong những ưu điểm của đường dùng bằng cách xông so với đường dùng toàn thân là khả năng phân phối thuốc trực tiếp tại vị trí tác dụng, tránh tác dụng phụ trên toàn thân, do đó tạo ra đáp ứng lâm sàng nhanh hơn và tỷ lệ điều trị cao hơn.

Các corticosteroid được sử dụng bằng cách xông là liệu pháp duy trì hiện được lựa chọn đối với bệnh hen và cùng với các chất chủ vận β_2 là chất gây giãn phế quản để làm giảm triệu chứng cấp tính, chúng tạo thành cơ sở chính cho liệu pháp hiện nay để điều trị bệnh này. Liệu pháp hiện có để điều trị bệnh COPD chủ yếu là điều trị triệu chứng bằng liệu pháp gây giãn phế quản bằng chất chống tiết cholin và chất chủ vận thụ thể adrenergic β_2 sử dụng bằng cách xông. Tuy nhiên, các corticosteroid không có tác dụng làm giảm phản ứng viêm trong bệnh COPD như đối với bệnh hen.

Một nhóm chất trị liệu khác đang được nghiên cứu do tác dụng chống viêm của chúng để điều trị các bệnh viêm đường hô hấp như bệnh hen và COPD với đại diện là các chất ức chế enzym phosphodiesteraza (PDE), đặc biệt là phosphodi-

esteraza typ 4 (dưới đây được gọi là PDE4).

Các hợp chất khác nhau có tác dụng làm chất ức chế PDE4 đã được bộc lộ. Tuy nhiên, công dụng của một số chất ức chế PDE4 thế hệ thứ nhất như rolipram và piclamilast bị hạn chế bởi tác dụng phụ không mong muốn của chúng như buồn nôn, tiết axit dạ dày và nôn do tác dụng của chúng trên PDE4 trong hệ thần kinh trung ương trong các tế bào vách tiết axit clohydric trong ruột.

Nguyên nhân gây ra các tác dụng phụ nói trên đã được nghiên cứu rộng rãi.

Đã phát hiện ra rằng PDE4 tồn tại ở hai dạng riêng rẽ thể hiện các cấu hình riêng khác nhau, cụ thể là dạng được thấy là vị trí gắn kết rolipram với ái lực cao hoặc HPDE4, dạng này có mặt đặc trưng trong hệ thần kinh trung ương và trong các tế bào vách tiết axit clohydric, và dạng được thấy là vị trí gắn kết rolipram với ái lực thấp hoặc LPDE4 (Jacobitz, S et al., Mol. Pharmacol, 1996, 50, 891-899), được phát hiện thấy trong các tế bào miễn dịch và viêm. Mặc dù cả hai dạng này dường như đều có hoạt tính xúc tác, song chúng khác nhau về độ nhạy với các chất ức chế. Cụ thể, các hợp chất có ái lực cao hơn đối với LPDE4 dường như ít gây ra các tác dụng phụ như buồn nôn, nôn và tăng tiết ở dạ dày.

Nỗ lực nghiên cứu đối với LPDE4 đã giúp cải thiện một chút tính chọn lọc của các chất ức chế PDE4 thế hệ thứ hai như cilomilast và roflumilast. Tuy nhiên, ngay cả các hợp chất này cũng không có tính chọn lọc tốt đối với LPDE4.

Các hợp chất có hoạt tính ức chế LPDE4 chọn lọc được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO2009/018909.

Các dẫn xuất của rượu 1-phenyl-2-pyridinyl alkylene có khả năng ức chế enzym PDE4 được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO2008/006509.

Các benzamit được thế floalkoxy và ứng dụng làm chất ức chế PDE4 của chúng được bộc lộ trong Công bố đơn quốc tế số WO95/01338.

Các chất ức chế PDE4 đã được phát triển trên lâm sàng, các phát triển mới trong nghiên cứu về PDE4 và các patent bảo hộ chất ức chế PDE4 được tổng kết trong tài liệu: J. O. Odingo, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2005, 15(7), 773-787.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

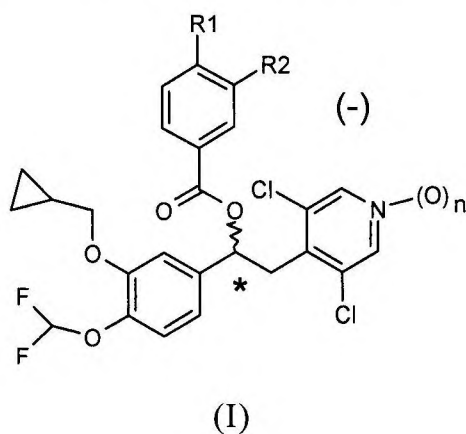
Mục đích của sáng chế là đề xuất các chất ức chế PDE4 hiệu nghiệm có tính chọn lọc tuyệt vời đối với LPDE4.

Đã bất ngờ phát hiện ra rằng sự có mặt của các nhóm thế sulfonamido trên gốc benzoat có khả năng cải thiện đáng kể hiệu lực.

Hơn nữa, đã bất ngờ phát hiện ra rằng các dẫn xuất sulfonylamido theo sáng chế là chất đồng phân đối ảnh (-) (xem nguyên tử cacbon được đánh dấu bằng dấu sao phía dưới) có hiệu lực tốt hơn so với chất đồng phân đối ảnh (+) tương ứng và raxemat.

Giờ đây, đã phát hiện ra rằng thu được tác dụng trị liệu có lợi bất ngờ, cụ thể là tác dụng hiệp đồng, trong điều trị bệnh viêm hoặc tắc nghẽn đường hô hấp khi sử dụng hợp chất theo sáng chế phối hợp với chất chủ vận β_2 có tác dụng kéo dài.

Cụ thể, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức chung (I) là chất đồng phân đối ảnh (-) có tác dụng làm chất ức chế enzyme phosphodiesteraza 4 (PDE4), quy trình điều chế chúng và dược phẩm chứa chúng:



trong đó:

n bằng 0 hoặc 1;

R1 và R2, có thể là giống hoặc khác nhau, và được chọn từ nhóm bao gồm:

- C_1 - C_6 alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen;
- OR3, trong đó R3 là C_1 - C_6 alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy

ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen hoặc nhóm C_3-C_7 xycloalkyl; và

- $HNSO_2R_4$, trong đó R_4 là C_1-C_4 alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen,

trong đó ít nhất một trong số R_1 và R_2 là $HNSO_2R_4$.

Ngoài ra, sáng chế còn bao gồm các hydrat, solvat, phức chất cộng, các muối vô cơ hoặc hữu cơ được dụng của chúng, ví dụ muối natri, kali và lysin.

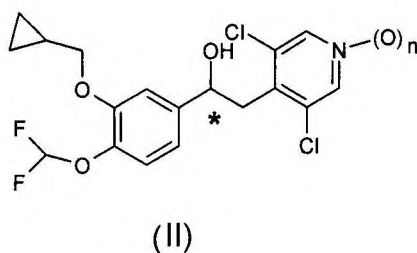
Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I) như được mô tả trên Sơ đồ 1, trong đó quy trình này bao gồm bước cho aldehyt (1) phản ứng với metyldiclopyridin (2) để thu được rượu raxemic (3). Tiếp đó, cho rượu raxemic (3) ngưng tụ với axit không đối xứng như (S)-naproxen hoặc axit (S)-axetylmandelic để tương ứng thu được hỗn hợp đồng phân không đối quang (10) hoặc (5), như con đường 1 hoặc 2 trên Sơ đồ 1. Tiến hành tách thành các chất đồng phân không đối quang đơn tương ứng (11) và (13) hoặc (6) và (8) bằng cách sắc ký, kết tinh hoặc các phương pháp đã được biết rõ khác để tương ứng thu được các rượu đồng phân đối ảnh (-) (12) và (+) (14) hoặc (+) (7) và (-) (9) sau khi tách. Cuối cùng, bằng cách cho các chất đồng phân đối ảnh (+) (14) hoặc (+) (7) phản ứng với axit benzoic thích hợp (15), thu được hợp chất có công thức chung (I).

Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 0 như được mô tả trên Sơ đồ 1, trong đó quy trình này bao gồm bước cho rượu đồng phân đối ảnh bất kỳ, ví dụ (+) (14), phản ứng với axit benzoic (15).

Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 1 như được mô tả trên Sơ đồ 1, trong đó quy trình này bao gồm bước oxy hóa rượu đồng phân đối ảnh (+) (14) bằng chất oxy hóa như axit 3-cloperbenzoic, axit peraxetic hoặc hydro peroxit để thu được rượu đồng phân đối ảnh (+) (7) bằng cách cho phản ứng với axit benzoic có công thức (15) để thu được hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 1.

Sáng chế cũng đề cập đến quy trình điều chế các hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 1 như được mô tả trên Sơ đồ 1, trong đó quy trình này bao gồm bước oxy hóa este có công thức (I), trong đó n bằng 0, bằng chất oxy hóa như axit 3-cloperbenzoic, axit peraxetic hoặc hydro peroxit.

Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất trung gian có công thức chung (II):



trong đó n là như được xác định trên đây và nguyên tử cacbon được thể hiện bằng dấu sao phía dưới thể hiện cấu hình (S).

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

Cụ thể, sáng chế đề xuất được phẩm thích hợp để sử dụng bằng cách xông.

Sáng chế cũng đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với thành phần thứ hai được chọn từ nhóm bao gồm chất chủ vận β_2 có tác dụng kéo dài, chất đối kháng M3 và corticosteroid.

Sáng chế cũng đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất chủ vận β_2 có tác dụng kéo dài được chọn từ nhóm gồm carmoterol, GSK-642444, indacaterol, milveterol, arformoterol, formoterol, salbutamol, formoterol, levalbuterol, terbutaline, AZD-3199, BI-1744-CL, LAS-100977, bambuterol, isoproterenol, procaterol, clenbuterol, reproterol, fenoterol và ASF-1020.

Sáng chế cũng đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với chất đối kháng M3 được chọn từ nhóm bao gồm aclidinium, tiotropium, ipratropium và oxitropium.

Sáng chế cũng đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với corticosteroid được chọn từ nhóm bao gồm dexamethasone, fluticasone, fluticasone furoat, prednisolone, betamethasone, budesonide, mometasone,

mometasone furoat, triamcinolone axetonit, ciclesonide, TPI-1020, beclomethasone, beclomethasone dipropionat, prednisone, deflazacort, hydrocortisone, QAE-397 và flunisolide.

Theo phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) với formoterol hoặc carmoterol.

Sáng chế cũng mô tả hợp chất có Công thức I để sử dụng làm thuốc.

Ngoài ra, phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức (I) để bào chế thuốc để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh bất kỳ liên quan đến hoạt tính của thụ thể PDE4 và cần ức chế hoạt tính của thụ thể PDE4.

Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ phương pháp để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh bất kỳ liên quan đến hoạt tính của thụ thể PDE4 và cần ức chế hoạt tính của thụ thể PDE4, phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng hợp chất có công thức chung (I) với lượng có tác dụng điều trị.

Các ứng dụng hoặc phương pháp nêu trên bao gồm hợp chất có công thức (I) ở dạng riêng rẽ hoặc phối hợp với các dược chất khác trong số các dược chất đã được mô tả trên đây.

Các bệnh nêu trên liên quan đến hoạt tính của thụ thể PDE4 và cần ức chế thụ thể PDE4 bao gồm các bệnh của đường hô hấp đặc trưng bởi tình trạng tắc nghẽn khí đạo như bệnh hen và COPD.

Phần mô tả sáng chế cũng bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức (I) để ức chế PDE4 in vitro.

Sáng chế cũng đề cập đến thiết bị có thể là thiết bị xông bột khô đơn liều hoặc đa liều, thiết bị xông định liều hoặc thiết bị phun mù mềm chứa hợp chất có công thức (I).

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến kit chứa dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I), ở dạng riêng rẽ hoặc phối hợp với dược chất bổ sung, cùng với một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng, và thiết bị có thể là thiết bị xông bột khô đơn liều hoặc đa liều, thiết bị xông định liều hoặc thiết bị phun mù mềm.

Các định nghĩa

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “nguyên tử halogen” bao gồm flo, clo, brom, và iot.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ C_1 - C_x alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh”, trong đó x là số nguyên lớn hơn 1, như C_1 - C_6 hoặc C_1 - C_4 alkyl, được dùng để chỉ các nhóm alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, trong đó số nguyên tử cacbon nằm trong khoảng từ 1 đến x (ví dụ từ 1 đến 6 hoặc từ 1 đến 4). Theo đó, các ví dụ về nhóm alkyl bao gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, t-butyl, pentyl, hexyl và các nhóm tương tự.

Trong các nhóm nêu trên, một hoặc nhiều nguyên tử hydro có thể tùy ý được thay thế bằng nguyên tử halogen, tốt hơn là clo hoặc flo.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “ C_3 - C_7 xycloalkyl” được dùng để chỉ các nhóm hydrocacbon không thơm dạng mạch vòng chứa từ 3 đến 7 nguyên tử cacbon trong vòng. Theo đó, các ví dụ về nhóm này có thể bao gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl và xycloheptyl.

Trừ khi có quy định khác, khi đề cập đến các hợp chất không đối xứng, mức độ tinh khiết “về cơ bản tinh khiết” ở đây nghĩa là ít nhất lớn hơn khoảng 97% tinh khiết không đối xứng, tốt hơn nếu lớn hơn 99% và tốt nhất nếu lớn hơn 99,9%.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 thể hiện sự tồn tại của tác dụng hiệp đồng đối với phương án được ưu tiên của sáng chế.

OA = albumin trứng;

C1 = este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclopyridin-4-yl)-etyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic;

CARM = carmoterol.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có tác dụng làm chất ức chế enzym phosphodiesteraza 4 (PDE4).

Các hợp chất này có tác dụng ức chế sự chuyển hoá các nucleotit vòng, cụ thể là adenosin monophosphat vòng (cAMP), thành dạng 5'-mononucleotit bất hoạt của chúng.

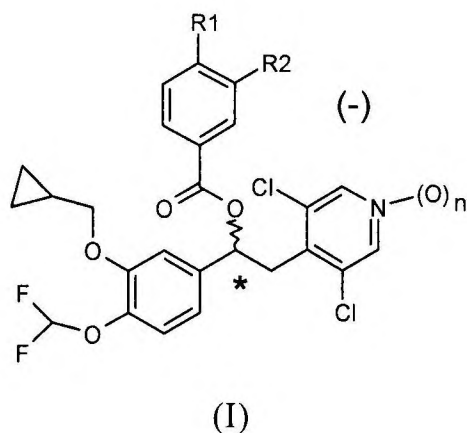
Trong khí đạo, các đáp ứng sinh lý đối với mức nucleotit vòng, cụ thể là cAMP, trong tế bào gia tăng gây ức chế hoạt tính của các tế bào miễn dịch và tiền viêm như dưỡng bào, đại thực bào, tế bào lympho T, bạch cầu ưa eosin và bạch cầu trung tính, từ đó làm giảm mức độ giải phóng các chất trung gian gây viêm bao gồm các cytokine như IL-1, IL-3 và yếu tố hoại tử khối u alpha (TNF- α). Ngoài ra, tình trạng này còn gây giãn cơ trơn và giảm phù.

Vị trí xúc tác của PDE4 đã được nhận biết trước đây: nó chủ yếu bao gồm một vùng kỵ nước, trong đó có mặt hai túi thứ cấp, ví dụ S_0 và S_1 , và một vùng ưa nước chứa các ion kim loại Zn^{2+} và Mg^{2+} , vùng này cũng bao gồm túi thứ cấp S_2 phân bố xung quanh các ion kim loại và túi thứ cấp S_3 phân nhánh khoảng 90° từ giữa của túi kỵ nước.

Hầu hết các hợp chất đã biết được điều chế với một gốc có khả năng tương tác với các túi thứ cấp S_0 và S_1 của vùng kỵ nước như nhóm catechol được thế và với một gốc khác có khả năng tương tác gián tiếp với các ion kim loại của túi thứ cấp S_2 , ví dụ một dị vòng như pyridin hoặc pyrrolidon.

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có thể duy trì sự tương tác với các túi thứ cấp S_0 và S_1 nhờ gốc catechol được thế và sự tương tác với vùng các ion kim loại nhờ vòng pyridin như các chất ức chế PDE4 đã biết khác, nhưng khác với chúng ở sự có mặt của một nhóm axit sulfonylamino-benzoic, điều đó cho phép các hợp chất này tạo ra sự tương tác bổ sung với túi thứ cấp S_3 .

Cụ thể, sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức chung (I) như được xác định trên đây, kể cả các muối vô cơ và hữu cơ được dùng, hydrat, solvat hoặc phức chất cộng của chúng:



Các nhóm hợp chất có công thức I được ưu tiên là nhóm, trong đó:

- R1 là HNSO₂R₄, R2 là OR₃ và n bằng 0;
- R1 là HNSO₂R₄, R2 là OR₃ và n bằng 1;
- R1 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl, R2 là OR₃, trong đó R₃ là xyclopropylmetyl và n bằng 0;
- R1 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl, R2 là OR₃, trong đó R₃ là xyclopropylmetyl và n bằng 1;
- R1 là C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, R2 là HNSO₂R₄ và n bằng 0;
- R1 là metyl, R2 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 0;
- R1 là C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, R2 là HNSO₂R₄ và n bằng 1;
- R1 là metyl, R2 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 1;
- R2 là C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, R1 là HNSO₂R₄ và n bằng 0;
- R2 là metyl, R1 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 0;
- R2 là C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, R1 là HNSO₂R₄ và n bằng 1;
- R2 là metyl, R1 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 1;
- R1 là OR₃, R2 là HNSO₂R₄ và n bằng 0;

- R1 là OR3, R2 là HNSO₂R4 và n bằng 1;
- R1 là OR3, trong đó R3 là xyclopropylmetyl, R2 là HNSO₂R4 và R4 là metyl và n bằng 1;
- R1 là OR3, R2 là HNSO₂R4 và n bằng 1;
- cả R1 và R2 là HNSO₂R4 và n bằng 0;
- cả R1 và R2 là HNSO₂R4, trong đó R4 là metyl và n bằng 0;
- cả R1 và R2 là HNSO₂R4 và n bằng 1;
- cả R1 và R2 là HNSO₂R4, trong đó R4 là metyl và n bằng 1.

Điều hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này là các hợp chất có công thức chung (I) chứa ít nhất một tâm không đối xứng, được thể hiện bằng nguyên tử cacbon có dấu sao phía dưới, và do đó tồn tại dưới dạng các chất đồng phân lập thể đối quang.

Sáng chế đề cập đến các hợp chất có công thức (I) là chất đồng phân đối ảnh (-) với cấu hình (S) tại nguyên tử cacbon được thể hiện bằng dấu sao phía dưới.

Sáng chế cũng đề cập đến các hợp chất trung gian có công thức (II), trong đó nguyên tử cacbon được thể hiện bằng dấu sao phía dưới thể hiện cấu hình (S).

Các hợp chất có công thức chung (I) có hoạt tính ức chế in vitro đối với enzym PDE4 trong khoảng nồng độ nM và chúng tạo ra hoạt tính đáng kể ở phổi khi được sử dụng trong khí quản trong mô hình thử nghiệm trên động vật bị bệnh COPD.

Ngoài ra, các hợp chất này có nồng độ duy trì trong phổi, trong khi không phát hiện được trong huyết tương, đây là một chỉ số cho thấy tác dụng ngăn trên toàn thân.

Theo các phương án được ưu tiên, sáng chế đề xuất các hợp chất có công thức (I) được mô tả dưới đây:

Hợp chất	Tên hóa học
C1	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic
C2	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic
C3	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-4-xyclopropylmetoxy-3-metansulfonylamino-benzoic
C4	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3,4-bis-metansulfonylamino-benzoic
C5	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-metansulfonylamino-4-metyl-benzoic
C6	Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-4-metansulfonylamino-3-metyl-benzoic

Các hợp chất nêu trên được nhận biết một cách dễ dàng là các chất đồng phân đối ảnh (-), tuy nhiên các hợp chất này có cấu hình (S) tại nguyên tử cacbon được đánh dấu sao. Như vậy, chính các hợp chất này cũng có thể được nhận biết trong bảng dưới đây:

Hợp chất	Tên hóa học
C1	Este 1-(S)-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic
C2	Este 1-(S)-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic
C3	Este 1-(S)-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit 4-xyclopropylmetoxy-3-metansulfonylamino-benzoic
C4	Este 1-(S)-(3-xyclopropyl-metoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3,4-bis-metansulfonylamino-benzoic
C5	Este 1-(S)-(3-xyclopropyl-metoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3-metansulfonylamino-4-metyl-benzoic
C6	Este 1-(S)-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit 4-metansulfonylamino-3-metyl-benzoic

Có lợi nếu các hợp chất theo sáng chế khác biệt bởi tính chọn lọc đối với LPDE4 cao hơn so với tính chọn lọc đối với HPDE4 như đánh giá được bằng cách xác định giá trị IC_{50} của chúng.

Trong trường hợp LPDE4, IC_{50} là nồng độ mol của hợp chất thử nghiệm tạo ra mức độ ức chế 50% sự mất đi của cAMP, được đánh giá theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu: Cortijo J et al., Br J Pharmacol 1993, 108: 562-568. Thay vào đó, trong trường hợp HPDE4, IC_{50} là nồng độ mol của hợp chất thử nghiệm tạo ra mức độ ức chế 50% gắn kết của $[H^3]$ rolipram, được đánh giá theo phương pháp như được mô tả trong tài liệu: Duplantier AJ et al., J Med Chem

1996; 39: 120-125.

Tốt hơn nếu tỷ lệ IC_{50} của HPDE4/LPDE4 đối với các hợp chất theo sáng chế là lớn hơn 5, tốt hơn nữa nếu lớn hơn 10, thậm chí tốt hơn nữa nếu lớn hơn 20 và tốt nhất nếu lớn hơn 100.

Các hợp chất có công thức chung (I) thông thường có thể được điều chế theo các phương pháp đã biết. Một số quy trình có thể được sử dụng được mô tả dưới đây trên Sơ đồ 1.

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

Theo một phương án cụ thể của sáng chế, các hợp chất có công thức (I) có thể được điều chế theo các con đường tổng hợp được mô tả trên Sơ đồ 1.

Rượu raxemic (3) có thể được điều chế bằng cách cho aldehyt (1) phản ứng với metyldiclopyridin (2).

Con đường 1 - Rượu raxemic (3) có thể được tách thành các chất đồng phân đối ảnh (-) (12) và (+) (14) bằng các phương pháp đã biết, như bằng cách cho hỗn hợp raxemic phản ứng với chất phụ trợ không đối xứng thích hợp, nhờ đó thu được hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang. Các chất đồng phân không đối quang như vậy có thể được điều chế bằng cách kết tinh hoặc bằng cách sắc ký hoặc bằng enzym theo các phương pháp đã biết. Tiếp đó, chất phụ trợ không đối xứng có thể được loại ra khỏi các chất đồng phân không đối quang để thu được rượu không đối xứng mong muốn dưới dạng chất đồng phân đối ảnh đơn. Theo cách khác, hỗn hợp raxemic của rượu có thể được phân giải bằng cách sắc ký với pha tĩnh không đối xứng, theo các phương pháp đã biết (tham khảo tài liệu: “Enantiomer Separation: Fundamentals and Practical Methods” F. Toda, Springer-Verlag 2004; “Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology”, Irving W. Wainer, CRC Press, 1993).

Cụ thể, rượu raxemic (3) có thể được ngưng tụ với axit không đối xứng như (S)-naproxen và hỗn hợp đồng phân không đối quang thu được (10) có thể được tách thành hai chất đồng phân không đối quang đơn (11) và (13) bằng cách sắc ký. Sau khi tách các este đồng phân không đối quang đơn bằng cách thủy phân trong dung môi chứa nước hoặc bằng cách rượu phân trong dung môi chứa rượu, sử dụng các điều kiện axit hoặc bazơ, có thể thu được các chất trung gian là rượu đồng phân đối ảnh tinh khiết (-) (12) và (+) (14).

Con đường 2 - Raxemat (4), thu được bằng cách oxy hóa raxemat (3) được thực hiện theo các phương pháp thông thường, có thể được cho phản ứng với axit không đối quang như axit (S)-axetylmandelic để thu được hỗn hợp của hai chất đồng phân không đối quang (5). Bằng cách nghiền với dietyl ete và kết tinh trong

dung môi như isopropanol, etanol hoặc metanol, hoặc bằng cách tách bằng phương pháp sắc ký, có thể thu được các este đồng phân không đối quang (6) và (8).

Sau khi tách các este đồng phân không đối quang đơn bằng cách thủy phân trong dung môi chứa nước hoặc bằng cách rượu phân trong dung môi chứa rượu, sử dụng các điều kiện axit hoặc bazơ, có thể thu được các chất trung gian là rượu đồng phân đối ảnh tinh khiết (+) (7) và (-) (9).

Các hợp chất có công thức chung (I), trong đó n bằng 0, có thể được điều chế bằng cách cho rượu đồng phân đối ảnh (+) (14) thích hợp phản ứng với axit benzoic (15) với sự có mặt của bazơ mạnh thích hợp như lithi diisopropylamit (LDA), NaH hoặc dimethylaminopyridin (DMAP) và với sự có mặt của chất ngưng tụ như 1-ethyl-3-[3-dimethylaminopropyl]carbodiimide hydroclorua (EDC) hoặc N-hydroxybenzotriazol (HOBT) trong dung môi như diclometan. Các dung môi khác có thể được sử dụng, chẳng hạn dimethylformamit (DMF), tetrahydrofuran (THF), cloroform, dioxan hoặc dung môi không proton bất kỳ mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Theo một phương án cụ thể, phản ứng này cũng có thể được thực hiện mà không có mặt dung môi.

Các hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 1, có thể được điều chế bằng cách oxy hóa các hợp chất có công thức (I) tương ứng, trong đó n bằng 0, bằng chất oxy hóa như axit 3-cloperbenzoic, axit peraxetic hoặc hydro peroxit trong dung môi như cloroform, diclometan hoặc axit axetic (con đường B).

Theo cách khác, các hợp chất có công thức (I), trong đó n bằng 1, cũng có thể được điều chế bằng cách trước tiên, oxy hóa rượu đồng phân đối ảnh (+) (14) bằng các điều kiện phản ứng nêu trên, nhờ đó thu được rượu đồng phân đối ảnh (+) (7). Phản ứng tiếp theo giữa rượu đồng phân đối ảnh nhất định với axit benzoic có công thức (15) tạo ra hợp chất có công thức (I) nêu trên, trong đó n bằng 0 (con đường A).

Việc tách các chất đồng phân đối ảnh (+) (7) và (-) (9) từ rượu raxemic, mà bản thân nó được tạo ra bằng cách oxy hóa rượu raxemic (3), có thể được thực hiện bằng các phương pháp đã biết, như được mô tả trên đây để tách các chất

đồng phân đối ảnh của rượu racemic (3).

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rằng các thay đổi tùy ý đối với các bước tổng hợp được mô tả trên Sơ đồ 1 cũng có thể được áp dụng để điều chế của các hợp chất theo sáng chế.

Cụ thể, các tác giả sáng chế đề cập đến thứ tự của các phản ứng có thể được thực hiện để thu được các hợp chất mong muốn hoặc các chất trung gian của chúng, cũng như việc lựa chọn các điều kiện phản ứng được điều chỉnh tương ứng, bao gồm dung môi, các chất oxy hóa tùy ý, các chất ngưng tụ và yếu tố tương tự.

Ví dụ, trong trường hợp các nhóm thế phản ứng hóa học có mặt trong nguyên liệu ban đầu bất kỳ hoặc các chất trung gian của chúng, mà có thể tạo ra các phản ứng phụ không mong muốn, thì việc bảo vệ các nhóm thế này một cách thích hợp có thể được thực hiện trước khi phản ứng diễn ra.

Tương tự, việc khử bảo vệ sau đó có thể được thực hiện để lại thu được nhóm thế hoặc nhóm phản ứng hóa học nêu trên ở dạng tự do.

Phương pháp bảo vệ và khử bảo vệ các nhóm chức được mô tả trong tài liệu: "Protective Groups in Organic Chemistry" 3rd edition, T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1999) và "Protecting Groups", P.J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994).

Theo quy trình hiện để điều chế các hợp chất theo sáng chế và các biến thể của chúng, nguyên liệu ban đầu có công thức (1) và (2) cũng như các chất phản ứng bổ sung bất kỳ [(ví dụ hợp chất có công thức (15)], chất phụ trợ có tính không đối xứng, dung môi hoặc chất được sử dụng, là đã biết hoặc có thể được điều chế một cách dễ dàng theo các phương pháp đã biết.

Sáng chế cũng đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) phối hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng, ví dụ các chất mang dược dụng được mô tả trong tài liệu: Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, XVII Ed., Mack Pub., N.Y., USA.

Các ví dụ về chất mang dược dụng bao gồm chất pha loãng (như sucroza,

manitol, lactoza, tinh bột) và các tá dược đã biết bao gồm chất tạo hỗn dịch, chất hòa tan, chất đệm, chất kết dính, chất gây rã, chất bảo quản, chất tạo màu, chất tạo hương vị, chất làm trơn và các chất tương tự. Viên nang, viên nén và gel giải phóng theo thời gian cũng là hữu ích để sử dụng hợp chất của theo sáng chế.

Việc sử dụng hợp chất theo sáng chế có thể được thực hiện theo nhu cầu của bệnh nhân, ví dụ sử dụng qua đường miệng, mũi, ngoài đường tiêu hóa, ví dụ dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong xương ức và bằng cách tiêm truyền, bằng cách xông, sử dụng qua đường trực tràng, âm đạo, khu trú, tại chỗ, qua da và qua mắt. Các dạng liều rắn dùng qua miệng khác nhau có thể được sử dụng để phân phối hợp chất theo sáng chế bao gồm các dạng rắn như viên nén, viên nang chứa gel, viên nang, viên nén dạng viên nang, dạng hạt, viên ngậm và dạng bột thô.

Các dạng liều lỏng dùng qua miệng khác nhau cũng có thể được sử dụng để phân phối hợp chất theo sáng chế, bao gồm dung dịch chứa nước và không chứa nước, nhũ tương, hỗn dịch, xirô và cốm ngọt. Các dạng liều này cũng có thể chứa chất pha loãng trợ thích hợp đã biết như nước và các tá dược thích hợp đã biết như chất bảo quản, chất thấm ướt, chất tạo ngọt, chất tạo hương vị cũng như chất nhũ hóa và/hoặc chất tạo hỗn dịch của hợp chất theo sáng chế. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng bằng cách tiêm, ví dụ tiêm trong tĩnh mạch, ở dạng dung dịch đẳng trương vô trùng. Các chế phẩm đã biết khác cũng có thể được sử dụng.

Thuốc đạn chứa hợp chất theo sáng chế để sử dụng qua đường trực tràng có thể được bào chế bằng cách trộn hợp chất này với tá dược thích hợp như bơ cacao, salixylat và polyetylen glycol.

Chế phẩm dùng qua đường âm đạo có thể ở dạng kem, gel, bột nhào, bột hoặc chế phẩm phun mù chứa các chất mang thông thường ngoài hoạt chất.

Để sử dụng khu trú, dược phẩm có thể ở dạng kem, thuốc mỡ, thuốc xoa, thuốc xức, nhũ tương, hỗn dịch, gel, dung dịch, bột nhào, thuốc bột, thuốc phun mù, thuốc nhỏ thích hợp để sử dụng cho da, mắt, tai hoặc mũi. Việc sử dụng khu trú cũng có thể bao gồm việc sử dụng qua da, ví dụ bằng miếng dán để sử dụng

qua da.

Để điều trị các bệnh về đường hô hấp, tốt hơn nếu hợp chất theo sáng chế được sử dụng bằng cách xông.

Chế phẩm xông bao gồm thuốc bột dùng để xông, khí dung định liều chứa chất đẩy hoặc chế phẩm xông không chứa chất đẩy.

Để sử dụng dưới dạng bột khô, có thể sử dụng thiết bị xông đơn liều hoặc đa liều đã biết. Trong trường hợp này, bột có thể được nạp vào nang làm bằng gelatin, chất dẻo hoặc chất liệu khác, đồ chứa dạng hộp hoặc vỉ hoặc được nạp vào đồ chứa.

Chất pha loãng hoặc chất mang, thường là trơ về mặt hóa học đối với hợp chất theo sáng chế, ví dụ lactoza hoặc chất phụ gia bất kỳ khác thích hợp để cải thiện hiệu quả xông có thể được thêm vào hợp chất theo sáng chế đã được bào chế ở dạng bột.

Khí dung dùng để xông chứa khí đẩy như hydrofloalkan có thể chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng dung dịch hoặc dạng phân tán. Chế phẩm được dẫn động bằng khí đẩy cũng có thể chứa các thành phần khác như đồng dung môi, chất làm ổn định và tùy ý chứa các tá dược khác.

Chế phẩm xông không chứa khí đẩy chứa hợp chất theo sáng chế ở dạng dung dịch hoặc hỗn dịch trong môi trường nước, rượu hoặc rượu-nước và chúng có thể được phân phối bằng vòi phun đã biết hoặc thiết bị phun mù siêu âm hoặc thiết bị phun mù mềm như Respimat®.

Hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng hoạt chất duy nhất hoặc phối hợp với một hoặc nhiều dược chất khác bao gồm các dược chất hiện được sử dụng trong điều trị các rối loạn hô hấp, ví dụ chất chủ vận β_2 , corticosteroid và chất đối kháng M3.

Liều dùng của hợp chất theo sáng chế có thể tùy thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau gồm bệnh cụ thể được điều trị, mức độ nghiêm trọng của các triệu chứng, đường dùng thuốc, tần suất các liều dùng, hợp chất cụ thể được sử dụng, hiệu lực, profin độc tính, và profin dược động học của hợp chất.

Có lợi nếu hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng với liều nằm trong khoảng từ 0,001 đến 1000mg/ngày, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500mg/ngày.

Khi được sử dụng bằng cách xông, có lợi nếu liều hợp chất có công thức (I) nằm trong khoảng từ 0,01 đến 20mg/ngày, tốt hơn nếu nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10 mg/ngày.

Tốt hơn nếu hợp chất có công thức (I) ở dạng riêng rẽ hoặc phối hợp với các hoạt chất khác có thể được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh tắc nghẽn hô hấp bất kỳ như bệnh hen, viêm phế quản mạn tính và bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD).

Tuy nhiên, hợp chất có công thức (I) có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc điều trị bệnh bất kỳ liên quan đến hoạt tính của thụ thể PDE4 và cân ức chế hoạt tính của thụ thể PDE4, hoặc tình trạng bệnh lý do hoạt tính của PDE4 làm trung gian (ví dụ tình trạng bệnh lý trong đó PDE4 được biểu hiện quá mức hoặc có hoạt tính quá mức). Ví dụ về các bệnh này bao gồm: các tình trạng bệnh lý dị ứng như viêm da cơ địa, bệnh mày đay, viêm mũi dị ứng, viêm kết mạc dị ứng, viêm kết mạc mùa xuân, u hạt ưa eosin, bệnh vẩy nến, viêm khớp, viêm đa khớp dạng thấp, sốc nhiễm khuẩn, viêm ruột kết mạn loét, bệnh Crohn, tổn thương tái cấp máu cơ tim và não, viêm thận-tiểu-cầu mạn tính, sốc do nội độc tố, xơ hóa nang, tái phát hẹp động mạch, chứng xơ vữa động mạch, chứng dày sừng, viêm đốt sống dạng thấp, viêm xương-khớp, sốt, đái tháo đường, bệnh bụi phổi, bệnh eczema do ngộ độc và tiếp xúc dị ứng, eczema cơ địa, eczema tiết bã nhờn, phức hợp liken đơn, chấy ngứa, chứng ngứa ở vùng hậu môn-sinh dục, rụng tóc từng vùng, sẹo phì đại, luput ban đỏ hình đĩa, luput ban đỏ toàn thân, bệnh mụn da nang lông và diện rộng, bệnh trứng cá nội sinh và ngoại sinh, bệnh trứng cá đỏ, bệnh Beghet, viêm thận ban xuất huyết phản vệ, bệnh viêm ruột, bệnh bạch cầu, bệnh đa xơ cứng, bệnh dạ dày-ruột, bệnh tự miễn dịch và các bệnh tương tự.

Các bệnh này còn bao gồm các rối loạn thần kinh và tâm thần như bệnh Alzheimer, đa xơ cứng, xơ cứng cột bên teo cơ (amyolateral sclerosis – ALS), teo đa hệ thống (multiple systems atrophy – MSA), bệnh tâm thần phân liệt, bệnh

Parkinson, bệnh Huntington, bệnh Pick, trầm cảm, đột quỵ, và tổn thương tủy sống.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Trong phần dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ thực hiện sáng chế.

Ví dụ 1

Điều chế 1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etanol (3)

Làm lạnh dung dịch chứa 3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-benzaldehyt (5,00g) và 3,5-diclo-4-metylpyridin (2,57g) trong 50ml THF khô tới nhiệt độ -30°C.

Thêm từng phần kali t-butoxit dạng rắn (tBuOK, 1,96g) vào kết hợp duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ -30°C đến -20°C, nhờ đó thu được dung dịch màu đỏ sẫm. Sau khi thêm xong, khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ -30°C trong thời gian 1 giờ. Tiếp đó, thêm dung dịch NH₄Cl bão hoà trong nước (50ml) vào hỗn hợp phản ứng, duy trì nhiệt độ nằm trong khoảng từ -5°C đến -10°C. Màu của hỗn hợp phản ứng chuyển thành màu vàng.

Sau đó, chiết hỗn hợp thu được bằng EtOAc. Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi. Phần cặn được xử lý bằng 30ml hỗn hợp ete dầu mỏ/EtOAc = 8/2; chất kết tủa được lọc và làm khô, thu được 4,83g hợp chất nêu ở đề mục này, hợp chất này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

MS/ESI⁺ 404-406 [MH]⁺.

Ví dụ 2

Điều chế 1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etanol (4)

Hoà tan hợp chất (3) (13,0g) trong CH₂Cl₂ (250ml) rồi thêm axit m-cloperbenzoic (16,5g) và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời

gian 2 giờ. Thêm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (25,4g) vào và khuấy mạnh hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Phần cặn dạng rắn được lọc ra, rửa dung dịch thu được bằng NaOH 1N (3x100ml), sau đó pha hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi để thu được 10,3g sản phẩm mong muốn (4) dưới dạng chất rắn màu trắng, sản phẩm này được sử dụng trong các bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

MS/ESI⁺ 420-422 [MH]⁺.

Ví dụ 3

Điều chế este 1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit axetoxi-phenyl-axetic (5, hỗn hợp các chất đồng phân không đối quang)

Hoà tan hợp chất (4) (19,95g), axit (S)-axetylmandelic (9,22g), 1-etyl-3-[3-dimethylamino propyl]carbodiimit hydroclorua (18g) và 4-dimethylaminopyridin (2,89g) trong CH_2Cl_2 khô (300ml) trong môi trường N_2 . Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Thêm dung dịch NaHCO_3 5% trong nước (200ml) vào và pha nước được chiết bằng CH_2Cl_2 (3 x 100ml). Các pha hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hợp chất (5) nêu ở đề mục này dưới dạng hỗn hợp của hai chất đồng phân không đối quang (32g); phương pháp tách hai chất đồng phân đối quang được mô tả trong Ví dụ 4 và Ví dụ 6.

Ví dụ 4

Điều chế este 1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (+)-axetoxi-phenyl-axetic (6)

Nghiền hỗn hợp đồng phân không đối quang thô (5) (32g) với Et_2O (100ml), tiếp đó tác động bằng siêu âm và lọc. Quy trình này được lặp lại 4 lần để thu được hỗn hợp rắn được làm giàu các chất đồng phân không đối quang (6). Chất rắn này được kết tinh từ $i\text{PrOH}$ (80ml) và lọc để thu được 9,65g hợp chất (6) với độ tinh khiết đồng phân không đối quang > 95%. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang được xác định bằng phương pháp phân tích HPLC và HPLC

không đối xứng phân tích được thực hiện trên cột Chiracel OD (rửa giải đẳng dòng bằng hexan:isopropanol 40:60, tốc độ dòng 0,45ml/phút, thời gian lưu = 27,2 phút).

MS/ESI⁺ 596, 598 [MH]⁺.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 8,57 (s, 2 H), 7,27 - 7,44 (m, 5 H), 6,91 - 7,18 (m, 1 H), 7,03 (t, 1 H), 6,71 - 6,79 (m, 2 H), 5,95 (dd, 1 H), 5,85 (s, 1 H), 3,72 (dd, 1 H), 3,60 (dd, 1 H), 3,41 (dd, 1 H), 3,23 (dd, 1 H), 2,13 (s, 3 H), 1,07 - 1,31 (m, 1 H), 0,48 - 0,72 (m, 2 H), 0,21 - 0,44 (m, 2 H).

[α]_D = +14° (c=0,54, MeOH).

Ví dụ 5

Điều chế (+)-1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etanol (7)

Tạo huyền phù hợp chất (6) (6,42g) trong metanol (350ml), tiếp đó thêm dung dịch NaHCO₃ bão hoà (175ml) vào. Khuấy mạnh huyền phù màu trắng thu được ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng CH₂Cl₂ (700ml) và rửa bằng dung dịch NaHCO₃ 5% trong nước (300ml); pha nước được chiết bằng CH₂Cl₂ (2 x 300ml), các lớp hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Nghiền chất rắn màu trắng thô thu được với Et₂O (2x100ml) và lọc để thu được 3,88g hợp chất (7) với độ tinh khiết đồng phân đối ảnh >99%. Độ tinh khiết đồng phân đối ảnh được xác định bằng phương pháp HPLC không đối xứng phân tích được thực hiện trên cột Chiracel OD (rửa giải đẳng dòng bằng hexan:isopropanol 30:70, tốc độ dòng 0,35ml/phút, thời gian lưu = 23,3 phút).

MS/ESI⁺ 420-422 [MH]⁺.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 8,51 (s, 2 H), 7,11 (d, 1 H), 7,05 (d, 1 H), 6,88 (dd, 1 H), 7,01 (t, 1 H), 5,59 (d, 1 H), 4,84 (dd, 1 H), 3,89 (dd, 1 H), 3,84 (dd, 1 H), 3,18 (dd, 1 H), 3,02 (dd, 1 H), 1,03 - 1,35 (m, 1 H), 0,46 - 0,67 (m, 2 H), 0,24 - 0,46 (m, 2 H).

[α]_D = +68° (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 6

Điều chế este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (+)-axetoxo-phenyl-axetic (8)

Nghiền hỗn hợp đồng phân không đối quang thô (5) với Et₂O (100ml), tiếp đó tác động bằng siêu âm và lọc. Quy trình này được lặp lại 4 lần, các dịch lọc được thu hồi và làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được hỗn hợp rắn được làm giàu chất đồng phân không đối quang (8), chất đồng phân này được kết tinh từ iPrOH (100ml) để thu được 6,4g hợp chất (8) dưới dạng chất rắn màu trắng với độ tinh khiết đồng phân không đối quang >90%. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang được xác định bằng phương pháp phân tích HPLC và HPLC không đối xứng phân tích được thực hiện trên cột Chiracel OD (rửa giải đẳng dòng với hexan:isopropanol 40:60, tốc độ dòng 0,45ml/phút, thời gian lưu = 21,6 phút).

MS/ESI⁺ 596, 598 [MH]⁺.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 8,27 (s, 2 H), 7,27 - 7,45 (m, 5 H), 7,20 (d, 1 H), 7,08 (d, 1 H), 7,00 (dd, 1 H), 7,08 (t, 1 H), 5,97 (dd, 1 H), 5,85 (s, 1 H), 3,93 (dd, 1 H), 3,89 (dd, 1 H), 3,33 (dd, 1 H), 3,17 (dd, 1 H), 2,07 (s, 3 H), 1,14 - 1,38 (m, 1 H), 0,50 - 0,71 (m, 2 H), 0,21 - 0,47 (m, 2 H).

[α]_D = +26° (c=0,55, MeOH).

Ví dụ 7

Điều chế (-)-1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etanol (9)

Tạo huyền phù hợp chất (8) (1,18g) trong metanol (50 ml), rồi thêm dung dịch NaHCO₃ bão hòa (25 ml) vào. Khuấy mạnh huyền phù màu trắng thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng CH₂Cl₂ (700ml), rồi thêm dung dịch NaHCO₃ 5% trong nước (300ml) vào và các pha được tách ra. Pha nước được chiết bằng CH₂Cl₂ (2 x 100ml), các lớp hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi trong chân không. Nghiền chất rắn màu trắng thô thu được hai lần với Et₂O (50ml) và một lần với CH₂Cl₂ (20ml), sau đó lọc để thu được 0,74g hợp chất (7) với độ tinh

khiết đồng phân đối ảnh >99%. Độ tinh khiết đồng phân không đối quang được xác định bằng phương pháp HPLC không đối xứng phân tích được thực hiện trên cột Chiracel OD (rửa giải đẳng dòng với hexan:isopropanol 30:70, tốc độ dòng 0,35ml/phút, thời gian lưu = 24 phút).

MS/ESI⁺ 420-422 [MH]⁺.

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 8,51 (s, 2 H), 7,11 (d, 1 H), 7,05 (d, 1 H), 6,88 (dd, 1 H), 7,01 (t, 1 H), 5,59 (d, 1 H), 4,84 (dt, 1 H), 3,89 (dd, 1 H), 3,84 (dd, 1 H), 3,18 (dd, 1 H), 3,02 (dd, 1 H), 1,08 - 1,32 (m, 1 H), 0,47 - 0,66 (m, 2 H), 0,26 - 0,45 (m, 2 H)

[α]_D = -61° (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 8

Este 1-(3-xyclopropylmethoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-ethyl của axit 2-(6-methoxy-naphtalen-2-yl)-propionic (10, hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang 11 và 13)

Hoà tan hợp chất (3) (12g) trong DMF (100ml), rồi thêm axit (S)-2-(6-methoxy-naphtalen-2-yl)-propionic (7,5g), 4-dimetylaminopyridin (3,6g) và 1-ethyl-3-[3-dimetylaminopropyl]carbodiimide hydroclorua (5,7g) vào. Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 4 giờ, thêm nước (1000ml) vào. Hỗn hợp thu được được chiết bằng EtOAc (500mlx2), các lớp hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng natri sulfat và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm để thu được 17g dầu, dầu này được kết tinh từ EtOH, nhờ đó thu được 11,5g hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng hỗn hợp của các chất đồng phân không đối quang (11) và (13).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) ppm 8,43 và 8,60 (2s, mỗi 1H, 2H), 7,51-7,68 (m, 3H), 7,10-7,23 (m, 3H), 6,85-6,97 (m, 2H), 6,51-6,68 (m, 1H), 6,22-6,97 (t, 1H, CHF₂), 6,00-6,13 (m, 1H), 3,93-3,95 (s, 3H, OCH₃), 3,72-3,84 (m, 2H), 3,07-3,57 (m, 3H), 1,42-1,45 (d, 3H, CH₃), 0,94-1,25 (m, 1H), 0,51-0,67 (m, 2H), 0,12-0,36 (m, 2H).

MS/ESI⁺ 616, 618 [MH]⁺.

Ví dụ 9

Este 1-(3-xyclopropyl metoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-ethyl của axit (+)-2-(6-metoxy-naphtalen-2-yl)-propionic (chất đồng phân không đối quang được rửa giải thứ hai) (13)

Tách hợp chất này từ hỗn hợp đồng phân không đối quang thu được trong Ví dụ 8 bằng phương pháp tách HPLC sử dụng Daisogel 10 μ m, cột 50x300mm; dung môi rửa giải: n-hexan/metyl-tert-butyl-ete/rượu isopropylic: 90/9,9/0,1; tốc độ dòng: 80ml/phút.; nạp: 300mg mỗi lần bơm mẫu; thời gian rửa giải: từ 11 đến 20 phút. Các phân đoạn thu được được làm bay hơi và phần cặn được kết tinh từ n-hexan/rượu isopropylic.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) ppm 8,60 (s, 2H), 7,68-7,75 (m, 2H), 7,58-7,59 (m, 1H), 7,27-7,29 (d, 1H), 7,12-7,24 (m, 2H), 6,98-7,04 (m, 1H), 6,73-6,78 (dd, 1H), 6,67-6,68 (d, 1H), 6,60-7,35 (t, 1H, CHF_2), 5,99-6,06 (m, 1H), 3,84-3,87 (m, 4H), 3,47-3,55 (m, 2H), 3,32-3,41 (dd, 1H), 3,22-3,29 (m, 1H), 1,33-1,37 (d, 3H, CH_3), 0,96-1,03 (m, 1H), 0,43-0,52 (m, 2H), 0,13-0,21 (m, 2H).

MS/ESI⁺ 616, 618 [MH]⁺.

$[\alpha]_{\text{D}} = +52,8^\circ$ (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 10

Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-ethyl của axit (+)-2-(6-metoxy-naphtalen-2-yl)-propionic (chất đồng phân không đối quang được rửa giải đầu tiên) (11)

Tách hợp chất này từ hỗn hợp đồng phân không đối quang thu được trong Ví dụ 8 bằng phương pháp tách HPLC sử dụng Daisogel 10 μ m, cột 50x300mm; dung môi rửa giải: n-hexan/metyl-tert-butyl-ete/rượu isopropylic: 90/9,9/0,1; tốc độ dòng: 80ml/phút.; nạp: 300mg mỗi lần bơm mẫu; thời gian rửa giải: từ 7 đến 10 phút. Các phân đoạn thu được được làm bay hơi và phần cặn được kết tinh từ n-hexan/rượu isopropylic.

^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) ppm 8,27 (s, 2H), 7,64-7,80 (m, 2H), 7,56-7,57 (m, 1H), 7,28-7,29 (d, 1H), 7,14-7,20 (m, 3H), 6,68-7,42 (t, 1H, CHF_2),

6,93-6,98 (m, 2H), 6,00-6,07 (m, 1H), 3,88-3,92 (m, 4H), 3,71-3,84 (m, 2H), 3,39-3,51 (dd, 1H), 3,16-3,25 (dd, 1H), 1,33-1,37 (d, 3H, CH₃), 1,08-1,23 (m, 1H), 0,50-0,59 (m, 2H), 0,34-0,26 (m, 2H).

MS/ESI⁺ 616, 618 [MH]⁺.

[α]_D = +45 ° (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 11

(+)-1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etanol (14)

Thêm kali tert-butoxit (5,1g) vào huyền phù chứa este 1-(3-xyclopropyl metoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit (+)-2-(6-metoxynaphtalen-2-yl)-propionic (13) (14g) trong metanol (110ml). Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ phòng trong thời gian 2 giờ để thu được dung dịch trong suốt. Thêm từ từ nước vào trong điều kiện khuấy để bắt đầu kết tủa (dung dịch đục).

Sau khi khuấy trong thời gian 60 phút nữa, chất rắn kết tủa được lọc, rửa bằng nước và hòa tan trong cloroform (100ml). Dung dịch thu được được làm khô bằng natri sulfat và dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được kết tinh trong cloroform/hexan=1/2,5 để thu được 8,1g chất rắn màu trắng.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) ppm δ 8,45 (s, 2H), 7,19-7,08 (d, 1H), 7,06-7,00 (d, 1H), 6,95-6,85 (dd, 1H), 6,99-6,24 (t, 1H, CHF₂), 5,18-5,00 (m, 1H), 3,98-3,78 (m, 2H), 3,54-3,35 (m, 1H), 3,31-3,15 (m, 1H), 2,04-1,94 (d, 1H, OH), 1,40-1,14 (m, 1H), 0,75-0,53 (m, 2H), 0,50-0,29 (m, 2H).

MS/ESI⁺ 404, 406 [MH]⁺.

[α]_D = +9,35° (c=1, CHCl₃).

Ví dụ 12

(-)-1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etanol (12)

Bắt đầu từ chất đồng phân không đối quang (11), theo quy trình nêu trong Ví dụ 10, thu được rượu (12).

MS/ESI⁺ 404, 406 [MH]⁺.

$[\alpha]_D = -9,15^\circ$ (c=1, CHCl₃).

Ví dụ 13

Điều chế rượu (7) bằng cách oxy hóa rượu (14)

Hoà tan hợp chất (14) (3g) trong CH₂Cl₂ (100ml). Thêm dung dịch axit m-clo perbenzoic 70% (5,4g) vào và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Tiếp đó, thêm Na₂S₂O₃ dạng rắn (5g) vào và khuấy mạnh hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Phần cặn rắn được lọc ra, pha loãng dung dịch hữu cơ thu được bằng 100ml CH₂Cl₂ bổ sung và rửa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hoà trong nước (3x100ml). Pha hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi. Nghiền phần cặn trong EtOAc (20ml) để thu được 1,9g sản phẩm mong muốn 7 dưới dạng chất rắn màu trắng, sản phẩm này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) ppm 8,14 (s, 2H), 7,18-7,09 (d, 1H), 7,07-7,02 (d, 1H), 6,92-6,83 (dd, 1H), 7,01-6,22 (t, 1H, CHF₂), 5,10-4,96 (m, 1H), 3,96-3,84 (d, 2H), 3,45-3,29 (m, 1H), 3,23-3,07 (m, 1H), 3,24-3,17 (d, 1H, OH), 1,41-1,67 (m, 1H), 0,75-0,53 (m, 2H), 0,50-0,29 (m, 2H).

MS/ESI⁺ 420, 422 [MH]⁺.

$[\alpha]_D = +65^\circ$ (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 14

Điều chế rượu (9) bằng cách oxy hóa rượu (12)

Có thể điều chế được rượu (9) theo quy trình được mô tả trong Ví dụ 13 bằng cách sử dụng rượu (12) thay cho rượu (14) làm nguyên liệu ban đầu.

MS/ESI⁺ 420, 422 [MH]⁺.

$[\alpha]_D = -60,6^\circ$ (c=0,5, MeOH).

Ví dụ 15

Điều chế este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic (C1)

Bước 1: Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-amino benzoic

Thêm 1-etyl-3-[3-dimetylaminopropyl]carbodiimithydroclorua (2,85g) vào dung dịch chứa rượu (14) (2g), 4-dimetylaminopyridin (0,3g), axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-amino-benzoic (2g) trong CH₂Cl₂ khô (180ml) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường nitơ.

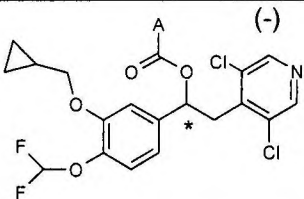
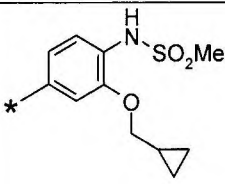
Sau khi khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm, rửa hỗn hợp thu được bằng dung dịch HCl 5% trong nước (2 x 100ml); pha hữu cơ được tách ra và rửa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước (2 x 100ml), làm khô bằng Na₂SO₄ và làm bay hơi đến khô. Phần thô thu được được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel và rửa giải theo gradient (hexan/EtOAc 10/1 đến 6/4) để thu được 1,4g hợp chất nêu ở đề mục này.

Bước 2: Điều chế hợp chất C1

Hoà tan este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-amino-benzoic (1,4g) trong CH₂Cl₂ (140ml). Thêm dung dịch HCl 4M trong dioxan (40ml) vào, và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 24 giờ. Tiếp đó, làm bay hơi hỗn hợp phản ứng đến khô và nghiền phần cặn trong iPrOH (50ml), sau đó trong EtOH (50ml), rồi trong Et₂O (70ml) để thu được 0,880g hợp chất (C1).

Xác định các thông số phân tích của hợp chất C1 được đưa ra trong Bảng 1.

Bảng 1

		
Hợp chất	A	Phân tích
C1		MS/ESI⁺ 671, 673 [MH]⁺; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 9,13 (br, s., 1 H) 8,60 (s, 2 H) 7,55 (dd, 1 H) 7,44 - 7,49 (m, 1 H) 7,39 (d, 1 H) 7,06 (t, 1 H) 6,78 - 7,33 (m, 3 H) 6,20 - 6,30 (m, 1 H) 3,87 - 3,98 (m, 4 H) 3,63 - 3,78 (m, 1 H) 3,38 - 3,50 (m, 1 H) 3,10 (s, 3 H) 1,09 - 1,40 (m, 2 H) 0,48 - 0,67 (m, 4 H) 0,28 - 0,44 (m, 4 H) [α]_D = -22° (c=0,4, MeOH)

Tương tự, các hợp chất dưới đây có thể được điều chế:

- Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-4-xyclopropylmetoxy-3-metansulfonylamino-benzoic,
- Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3,4-bis-metansulfonylamino-benzoic,
- Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-metansulfonylamino-4-metyl-benzoic, và
- Este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-4-metansulfonylamino-3-metyl-benzoic

Ví dụ 16

Điều chế este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-

benzoic (C2)

Hợp chất (C2) được điều chế theo quy trình tổng hợp giống như quy trình nêu trong Ví dụ 15, bắt đầu từ chất trung gian là rượu (7). Theo cách khác, hợp chất (C2) có thể được điều chế bắt đầu từ hợp chất (C1) theo quy trình như được mô tả trong Ví dụ 17.

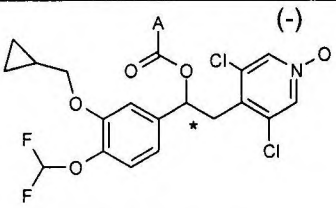
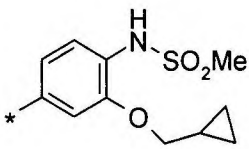
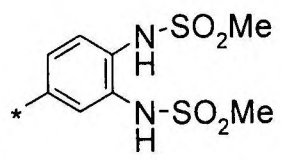
Ví dụ 17

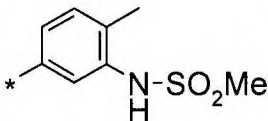
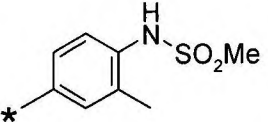
Điều chế este 1-(3-xyclopropylmetoxy-4-diflometoxy-phenyl)-2-(3,5-diclo-1-oxy-pyridin-4-yl)-etyl của axit (-)-3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic (C2) bắt đầu từ hợp chất (C1)

Hoà tan hợp chất (C1) (0,69g) trong CH_2Cl_2 (20ml). Thêm axit m-clo perbenzoic 70% (0,355g) vào và khuấy dung dịch thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Tiếp đó, thêm $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,244 g) dạng rắn vào và khuấy mạnh hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 30 phút. Phần cặn rắn được lọc ra, dung dịch hữu cơ thu được được pha loãng bằng 20ml CH_2Cl_2 bổ sung và rửa bằng dung dịch NaHCO_3 bão hòa trong nước (3x20ml). Lốp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi. Nghiền phần cặn trong EtOAc (20ml) để thu được 0,710g hợp chất mong muốn (C2) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Các hợp chất dưới đây được điều chế theo con đường tương tự bằng cách sử dụng các chất phản ứng thích hợp:

Bảng 2

		
Hợp chất	A	Phân tích
C2		MS/ESI⁺ 687, 689 [MH]⁺; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) ppm 9,14 (br, s., 1 H), 8,56 (s, 2 H), 7,59 (dd, 1 H), 7,49 (d, 1 H), 7,41 (d, 1 H), 7,14 - 7,27 (m, 2 H), 7,07 (dd, 1 H), 7,06 (t, 1 H), 6,18 (dd, 1 H), 3,84 - 4,04 (m, 4 H), 3,61 (dd, 1 H), 3,34 (dd, 1 H), 3,11 (s, 3 H), 1,25 - 1,43 (m, 1 H), 1,13 - 1,26 (m, 1 H), 0,49 - 0,67 (m, 4 H), 0,27 - 0,47 (m, 4 H) [α]_D = -47° (c=0,4, MeOH)
C3		¹H NMR (200 MHz, CD₃OD-d₄ được hiệu chuẩn ở 3,31 ppm) δ ppm 8,42 (s, 2 H), 8,13 (d, J=2,44 Hz, 1 H), 7,85 (dd, J=8,79, 2,44 Hz, 1 H), 7,12 - 6,37 (t, 1H, CHF₂), 7,00 - 7,24 (m, 4 H), 6,26 - 6,40 (m, 1 H), 3,97 (dd, J=14,89, 7,08 Hz, 4 H), 3,75 (dd, J=13,92, 9,52 Hz, 1 H), 3,45 (dd, J=14,16, 4,39 Hz, 1 H), 2,98 (s, 3 H), 1,17 - 1,45 (m, 2 H), 0,54 - 0,75 (m, 4 H), 0,29 - 0,47 (m, 4 H) [α]_D = -36 (c=0,1, CHCl₃)
C4		¹H NMR (200 MHz, CD₃OD-d₄ được hiệu chuẩn ở 7,26 ppm) δ ppm 8,23 (s, 2 H), 7,85 - 8,01 (m, 2 H), 7,69 (d, J=8,30

		Hz, 1 H), 7,20 (m, 1 H), 7,00 - 6,25 (t, 1H, CHF ₂), 6,97 - 7,11 (m, 2 H), 6,21 - 6,32 (m, 1 H), 3,91 (dd, J=6,84 Hz, 2 H), 3,72 (dd, J=13,67, 10,74 Hz, 1 H), 3,32 (dd, J=13,92, 3,66 Hz, 1 H), 3,04 (d, J=17,58 Hz, 6 H), 1,16 - 1,35 (m, 1 H), 0,55 - 0,74 (m, 2 H), 0,30 - 0,45 (m, 2 H) [α] _D = -27 (c=0,1, CHCl ₃)
C5		¹ H NMR (200 MHz, DMSO-d ₆ được hiệu chuẩn ở 2,50 ppm) δ ppm 9,25 (s, 1 H), 8,53 (s, 2 H), 7,91 (m, 1 H), 7,76 (d, J=8,30 Hz, 1 H), 7,43 - 6,69 (t, 1H, CHF ₂), 7,40 (d, J=8,30 Hz, 1 H), 7,19 (d, J=4,39 Hz, 2 H), 7,00 - 7,12 (m, 1 H), 6,21 (dd, J=9,52, 4,15 Hz, 1 H), 3,92 (d, J=6,84 Hz, 2 H), 3,63 - 3,55 (m, 1 H), 3,37 (d, J=4,39 Hz, 1 H), 2,99 (s, 3 H), 2,37 (s, 3 H), 1,11 - 1,28 (m, 1 H), 0,48 - 0,65 (m, 2 H), 0,26 - 0,41 (m, 2 H) [α] _D = - 38,67°
C6		¹ H NMR (200 MHz, DMSO-d ₆ được hiệu chuẩn ở 2,50 ppm) δ ppm 8,55 (s, 2 H), 7,93-7,83 (m, 2 H), 7,49 (d, J=8,30 Hz, 1 H), 7,43 - 6,69 (t, 1H, CHF ₂), 7,03 - 7,27 (m, 3 H), 6,11 - 6,24 (m, 1 H), 3,93 (d, J=6,84 Hz, 2 H), 3,60 (s, 3 H), 2,28 (s, 3 H), 1,11 - 1,29 (m, 1 H), 0,57 (m, 2 H), 0,34 (m, 2 H) [α] _D = - 58,0°

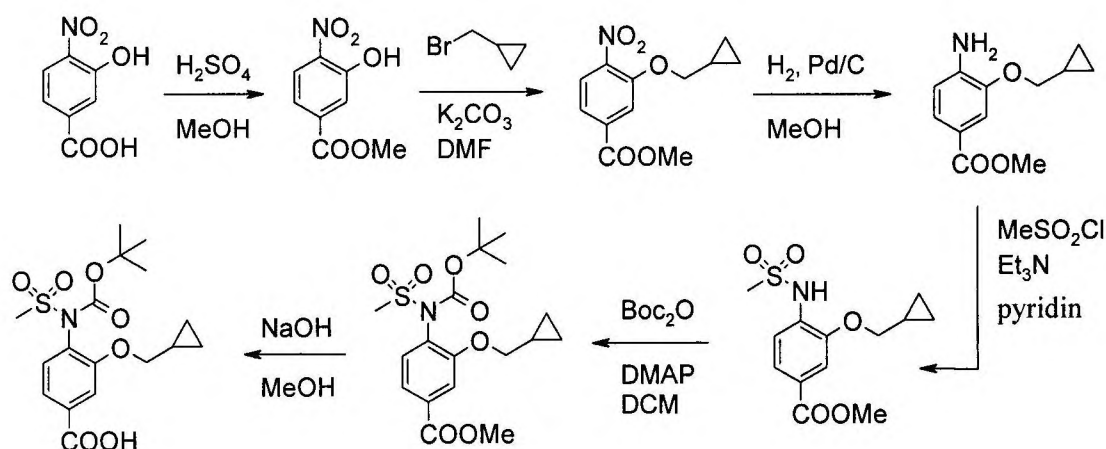
Các chất trung gian axit carboxylic được sử dụng trong quy trình tổng hợp

các hợp chất cuối được mô tả có thể được mua trên thị trường hoặc đã biết hoặc được tổng hợp theo các quy trình đã biết.

Ví dụ 18

Tổng hợp axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metan-sulfonyl)-amino-benzoic

Sơ đồ 2



Bước 1: Este metyl của axit 3-hydroxy-4-nitro-benzoic

Hoà tan axit 3-hydroxy-4-nitro-benzoic (10g) trong MeOH (500ml). Thêm H₂SO₄ 96% (2ml) vào và gia nhiệt hỗn hợp thu được tới 60°C trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô tới khoảng 200ml, pha loãng bằng EtOAc (200ml) và rửa bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa trong nước (2 x 20ml). Lốp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi để thu được 10,5g chất trung gian mong muốn.

Bước 2: Este metyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-nitro-benzoic

Hoà tan este metyl của axit 3-hydroxy-4-nitro-benzoic (10,5g) trong DMF khô (150ml) trong môi trường N₂. Thêm K₂CO₃ (24,3g), KI (2,6g) và xyclopropylmetylbromua (10,3ml) vào và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ 50°C trong thời gian 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (300ml) và chiết bằng Et₂O (2 x 200ml); các lớp hữu cơ được gộp lại, làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi để thu được 12,7g chất trung gian mong muốn.

Bước 3: Este metyl của axit 4-amino-3-xyclopropylmetoxy-benzoic

Hoà tan este metyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-nitro-benzoic (12,7g) trong MeOH (100ml) và EtOAc (100ml); thêm Pd/C 10% (1g, được tạo huyền phù trong 20ml nước) vào và hydro hoá hỗn hợp thu được trong thiết bị Parr (H_2 : 20psi (khoảng 138kPa)) trong thời gian 5 giờ. Thêm HCl 37% (10ml) vào và tiếp tục hydro hóa trong thời gian 2 giờ nữa để thu được sự chuyển hoá hoàn toàn. Chất xúc tác được lọc qua tấm Celite, hỗn hợp thu được được pha loãng bằng EtOAc (200ml) và rửa bằng dung dịch $NaHCO_3$ bão hoà trong nước (2 x 100ml). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi để thu được 10,7 g chất trung gian mong muốn.

Bước 4: Este metyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic

Hoà tan metyl 3-(xyclopropylmetoxy)-4-aminobenzoat (8,86g) trong pyridin (80ml) ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường N_2 . Thêm metansulfonyl clorua (4,04ml) vào và hỗn hợp thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi tới khô, sản phẩm thô được xử lý bằng HCl 1N (500ml) và chiết bằng CH_2Cl_2 (3 x 200ml). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi để thu được 11,7g chất trung gian mong muốn.

MS/ESI⁺ 300 [MH]⁺.

Bước 5: Este metyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-amino-benzoic

Este metyl của axit 3-xyclopropylmetoxy-4-metansulfonylamino-benzoic (3g) trong CH_2Cl_2 (150ml). Thêm dimethylaminopyridin (DMAP, 1,22g) và Boc_2O (2,18g) vào và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Rửa hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch HCl 5% trong nước (2 x 50ml), lớp hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 và dung môi được làm bay hơi. Nghiền phần cặn trong Et_2O và lọc để thu được 4,0g chất trung gian mong muốn, chất trung gian này được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước 6: Axit 3-xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-

amino-benzoic

Hoà tan este metyl của axit xyclopropylmetoxy-4-(N-tert-butoxycarbonyl-N-metansulfonyl)-amino-benzoic (4g) trong MeOH (100ml). Thêm dung dịch NaOH 1N (15ml) vào và khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ, sau đó gia nhiệt tới nhiệt độ 50°C trong thời gian 2 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (250ml) và rửa bằng dung dịch HCl 1N (2 x 100ml). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ và dung môi được làm bay hơi để thu được 3,5g dẫn xuất axit mong muốn.

MS/ESI⁺ 386 [MH]⁺.

Ghi chú

* Cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance – NMR)

s = vạch đơn

d = vạch đôi

t = vạch ba

q = vạch bốn

dd = vạch đôi của vạch đôi

m = đa bội

br = rộng

ESI = phun điện tử

Hoạt tính dược lý của các hợp chất theo sáng chế

Ví dụ 19

Xác định hoạt tính ức chế PDE4 in vitro trong thử nghiệm trên các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cells – PBMCs)

Thử nghiệm này dựa trên hoạt tính ức chế đã biết do chất ức chế PDE4 gây ra trên yếu tố hoại tử khối u alpha được cảm ứng bởi các lipopolysacarit (LPS) (quá trình giải phóng TNF-α trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMCs) được tiến hành theo phương pháp đã được mô tả trước đây (Hatzelmann A et al.,

J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; 297:267-279; Draheim R et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004; 308:555-563).

Ủ PBMCs người được bảo quản lạnh (100 μ l/giếng) trong đĩa có 96 giếng (10^5 tế bào/giếng) trong thời gian 30 phút, với sự có mặt hoặc không có mặt hợp chất thử nghiệm (50microlit) mà nồng độ của chúng nằm trong khoảng từ 10^{-12} M đến 10^{-6} M. Sau đó, thêm LPS (3ng/ml) vào.

Sau khi ủ 18 giờ ở nhiệt độ 37°C trong tủ ẩm được làm ẩm trong môi trường 95% không khí và 5% CO_2 , môi trường nuôi cấy được thu hồi và TNF- α được xác định bằng thử nghiệm ELISA.

Kết quả thu được đối với các hợp chất từ C1 đến C6, được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ giới hạn độ tin cậy 95% của nồng độ mol của hợp chất thử nghiệm tạo ra mức độ ức chế 50% quá trình giải phóng TNF- α được cảm ứng bởi LPS (IC_{50}) nằm trong khoảng từ 0,06 đến 4,4nM. Tác dụng của các hợp chất thử nghiệm được tính dưới dạng tỷ lệ phần trăm ức chế quá trình giải phóng TNF- α , với giả định là mức độ tạo TNF- α được cảm ứng bởi LPS khi không có mặt hợp chất ức chế là 100% và mức độ tạo TNF- α cơ sở của PBMCs khi không có mặt LPS là 0%.

Ví dụ 20

Đánh giá khả năng ức chế LPDE4 ái lực thấp so với khả năng cạnh tranh đối với với HPDE4 ái lực cao

Ái lực đối với LPDE4 và HPDE4 được đánh giá theo phương pháp như đã được mô tả trước đây lần lượt trong tài liệu: Cortijo J et al., Br J Pharmacol 1993, 108: 562-568 và Duplantier AJ et al., J Med Chem 1996; 39: 120-125.

Nồng độ của hợp chất thử nghiệm nằm trong khoảng từ 10^{-12} M đến 10^{-5} M. Các giá trị về ái lực đối với LPDE4 và HPDE4 được thử nghiệm trên các hợp chất từ C1 đến C6 nằm trong khoảng từ 82 đến 477.

Trong trường hợp LPDE4, IC_{50} là nồng độ mol của hợp chất thử nghiệm tạo ra mức độ ức chế 50% sự mất đi của cAMP, trong khi trong trường hợp HPDE4, IC_{50} là nồng độ mol của hợp chất thử nghiệm tạo ra mức độ ức chế 50% gắn kết

của [H^3] rolipram.

Các kết quả thu được cho thấy rằng các hợp chất theo sáng chế có tác dụng ức chế LPDE4 với ái lực dưới nanomol và có tính chọn lọc đối với LPDE4 cao hơn đáng kể so với HPDE4.

Ví dụ 21

Hoạt tính hiệp đồng của tổ hợp liều cố định của Carmoterol/hợp chất C1 đối với tình trạng co trong khí quản của chuột lang do carbachol gây ra

Lấy các đoạn khí quản hình chữ chi được từ chuột lang đực đã được gây nhạy cảm bằng albumin trứng (OA) và thu được hai chế phẩm từ khí quản. Cho mỗi mẫu vào bồn đặt cơ quan chứa dung dịch Krebs-Henseleit sinh lý đã được oxy hóa (95% O_2 và 5% CO_2) và giữ ở nhiệt độ $37^\circ C$. Các chế phẩm khí quản được nối với bộ chuyển đổi lực đẳng cự dưới trương lực nghỉ 1g. Sau khoảng thời gian cân bằng 60 phút, các chế phẩm khí quản được lần lượt xử lý trước trong thời gian 30 phút bằng hợp chất C1 ($10^{-7}M$), Carmoterol ($3 \times 10^{-10}M$), tổ hợp của hợp chất C1 và Carmoterol hoặc chất dẫn, tiếp đó sử dụng OA với lượng tích lũy ($10^{-10} - 10^{-5}$ g/ml). Khi kết thúc việc sử dụng OA, thêm carbachol với nồng độ tối đa ($10^{-5}M$) vào để thu được mức độ co tối đa của mỗi chế phẩm. Tác dụng thu được được thể hiện dưới dạng giá trị phần trăm của đáp ứng tối đa do carbachol gây ra (100%).

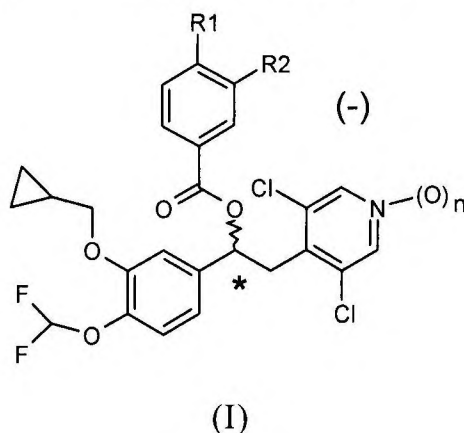
Việc xử lý trước chế phẩm trong thời gian 30 phút bằng hợp chất C1 ($10^{-7}M$) gây ức chế mức độ co do OA gây ra ở mức 23%. Tương tự, mức độ ức chế do Carmoterol ($3 \times 10^{-10}M$) gây ra là 18%.

Tổ hợp của hợp chất C1 ($10^{-7}M$) và Carmoterol ($3 \times 10^{-10}M$) làm giảm mức độ co do OA gây ra ở mức 93%.

Nghiên cứu này cho thấy rằng cả carmoterol và hợp chất C1 có hiệu lực đối kháng đối với tình trạng co do carbachol gây ra trong khí đạo của chuột lang. Ngoài ra, phù hợp với cơ chế tác dụng bù phân tử của chúng, trong khuôn khổ tác dụng chủ vận-đối kháng chức năng, các tổ hợp cố định của chúng có tác dụng hiệp đồng để kiểm soát quá trình co cholinergic trong cơ khí quản của chuột lang.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức chung (I) dưới dạng chất đồng phân đối ảnh (-):



trong đó:

n bằng 0 hoặc 1;

R1 và R2, có thể là giống hoặc khác nhau, và được chọn từ nhóm bao gồm:

- C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen;
- OR₃, trong đó R₃ là C₁-C₆ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen hoặc nhóm C₃-C₇ xycloalkyl; và
- HNSO₂R₄, trong đó R₄ là C₁-C₄ alkyl dạng mạch thẳng hoặc mạch nhánh tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen,

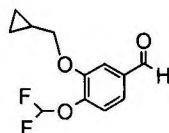
trong đó ít nhất một trong số R₁ và R₂ là HNSO₂R₄, các muối vô cơ hoặc hữu cơ được dụng, hydrat hoặc solvat của chúng.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R₁ là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl, R₂ là OR₃, trong đó R₃ là xyclopropylmetyl và n bằng 0.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R₁ là HNSO₂R₄, trong đó R₄ is metyl, R₂ là OR₃, trong đó R₃ là xyclopropylmetyl và n bằng 1.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R₁ là OR₃, R₂ là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 1.

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R1 is metyl, R2 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 1.
6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó cả R1 và R2 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 0.
7. Hợp chất theo điểm 1, trong đó cả R1 và R2 là HNSO₂R₄, trong đó R₄ là metyl và n bằng 1.
8. Quy trình điều chế hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó quy trình này bao gồm bước cho aldehyt (1):



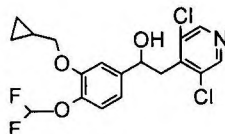
(1)

phản ứng với metyldiclopyridin (2):



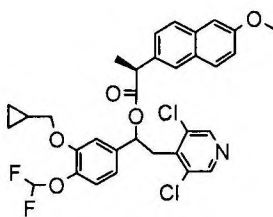
(2)

để thu được rượu raxemic (3), rượu này tùy ý được oxy hóa thành dẫn xuất N-oxit tương ứng (4):



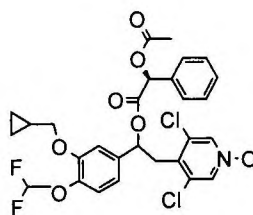
(3)

ngưng tụ hợp chất (3) hoặc (4) với axit không đối xứng như (S)-naproxen hoặc axit (S)-axetylmandelic để tương ứng thu được hỗn hợp đồng phân không đối quang (10):



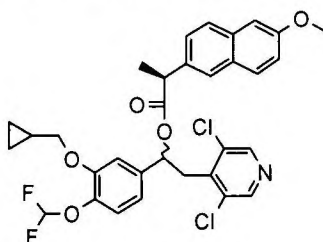
(10)

hoặc (5):



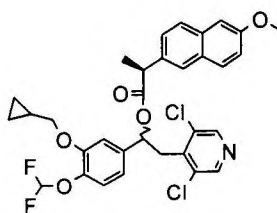
(5)

tách hỗn hợp đồng phân không đối quang (10) hoặc (5) thành hai chất đồng phân không đối quang đơn tương ứng (11):



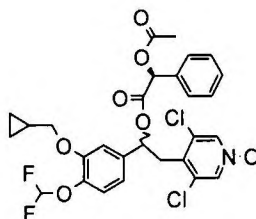
(11)

và (13):



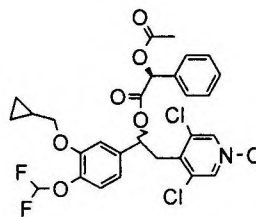
(13)

hoặc (6):



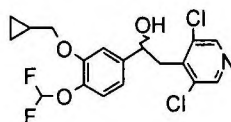
(6)

và (8):



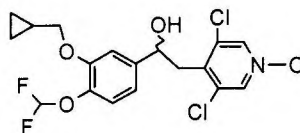
(8)

bằng cách sắc ký, hoặc kết tinh để thu được rượu (+) (14):



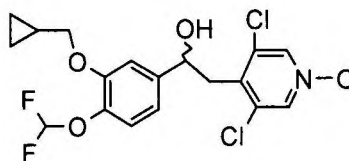
(14)

hoặc (+) (7):



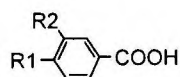
(7)

và (-) (9):



(9)

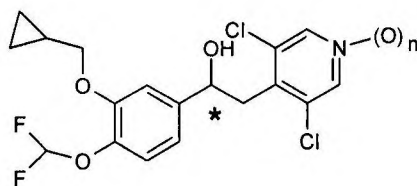
sau khi tách, và sau đó, cho hợp chất (+) (14) hoặc (+) (7) phản ứng với axit benzoic thích hợp (15):



(15)

để thu được hợp chất có công thức chung (I), trong đó R1 và R2 là như được xác định trong điểm 1.

9. Hợp chất có công thức chung (II):



(II)

trong đó n là như được xác định trong điểm 1 và nguyên tử cacbon được đánh dấu bằng dấu sao phía dưới thể hiện cấu hình (S).

10. Tổ hợp của hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 với dược chất thứ hai được chọn từ nhóm bao gồm chất chủ vận β_2 , chất đối kháng M3 và corticosteroid.

11. Tổ hợp theo điểm 10, trong đó dược chất thứ hai là formoterol hoặc carmoterol.

12. Dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

13. Dược phẩm chứa tổ hợp theo điểm 10 hoặc 11 và một hoặc nhiều chất mang và/hoặc tá dược được dùng.

14. Thiết bị chứa dược phẩm theo điểm 12.

15. Thiết bị chứa dược phẩm theo điểm 13.

16. Kit chứa dược phẩm theo điểm 12 và thiết bị, trong đó thiết bị này có thể là thiết bị xông bột khô đơn liều hoặc đa liều, thiết bị xông định liều hoặc thiết bị phun mù mềm.

17. Kit chứa dược phẩm theo điểm 13 và thiết bị, trong đó thiết bị này có thể là thiết bị xông bột khô đơn liều hoặc đa liều, thiết bị xông định liều hoặc thiết bị phun mù mềm.

Fig.1

