(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) **1-0023115**

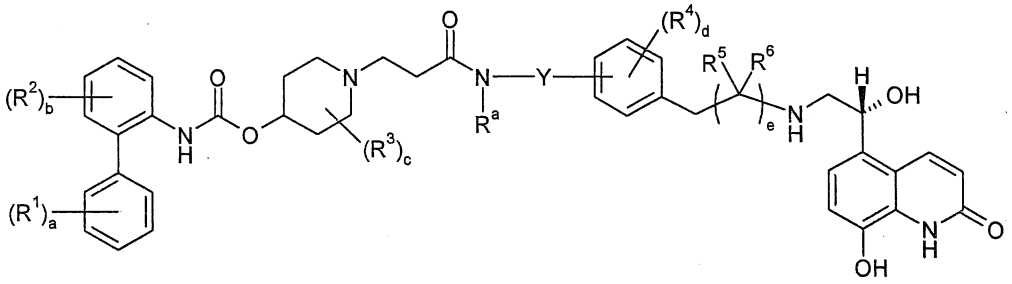
(51)[7] **C07D 401/12**, A61K 31/444, A61P 11/00, 11/08

(13) **B**

(21) 1-2011-03141 (22) 16.04.2010
(86) PCT/US2010/031356 16.04.2010 (87) WO2010/123766 28.10.2010
(30) 61/172,039 23.04.2009 US
(45) 25.02.2020 383 (43) 25.01.2013 298
(73) Theravance Respiratory Company, LLC (US)
951 Gateway Boulevard, South San Francisco, California 94080, United States of America.
(72) HUGHES, Adam (GB), BYUN, Daniel (US), CHEN, Yan (CN), FLEURY, Melissa (CA), JACOBSEN, John, R. (US), STANGELAND, Eric, L. (US), WILSON, Richard, D. (GB), YEN, Rose (CA)
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT DIAMIT CÓ HOẠT TÍNH ĐỐI KHÁNG THỤ THỂ MUSCARIN VÀ HOẠT TÍNH CHỦ VẬN THỤ THỂ GIẢI PHÓNG ADRENALIN BETA-2, VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

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



I

hoặc muối dược dụng của nó. Các hợp chất này có hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin và hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β2. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất diamit mới có hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin và hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này, quy trình và chất trung gian để điều chế các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Rối loạn liên quan đến phổi, như bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (chronic obstructive pulmonary disease: COPD) và bệnh hen, thường được điều trị bằng thuốc giãn phế quản. Ví dụ, xem tài liệu, Ziedalski et al., *Advances in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *Expert Opin. Pharmacother.*, (2003) 4(7), 1063-1082; Tashkin et al., *The Role of Long-Acting Bronchodilators in the Management of Stable COPD*, *Chest*, 2004: 125; 249-259; và Donohue, *Therapeutic Responses in Asthma và COPD: Bronchodilators*, *Chest*, 2004: 126; 125-137. Các thuốc giãn phế quản này thường được dùng bằng cách xông sử dụng cơ cấu xông được giữ bằng tay.

Thuốc giãn phế quản thường được sử dụng có hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin (tức là tác nhân chống tiết axetylcholin) hoặc hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2 (chất nhận adrenalin). Gần đây, các hợp chất có cả hai hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin và hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2 (MABA) trong cùng một phân tử đã được báo cáo. Ví dụ, xem patent Mỹ số 7,141,671, cấp ngày 28.11.2006, patent này mô tả hợp chất biphenyl có cả hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin lẫn hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2.

Hợp chất MABA hoạt tính kép được mong muốn là sẽ đặc biệt hữu hiệu để điều trị các rối loạn liên quan đến phổi bởi vì các hợp chất này có thể được bào chế và được dùng làm tác nhân điều trị duy nhất, nhưng khi được sử dụng, chúng tạo ra sự

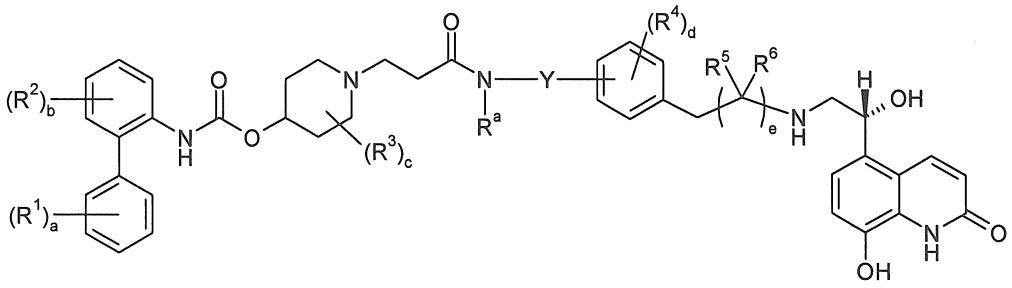
giãn phế quản thông qua hai kiểu tác dụng khác biệt và có thể là đồng vận. Ngoài ra, hợp chất MABA có khả năng được kết hợp với tác nhân kháng viêm, như corticosteroit để xông (inhaled corticosteroid: ICS), để tạo ra liệu pháp tác dụng ba trong một chất xông duy nhất chỉ sử dụng 2 tác nhân điều trị (MABA + ICS).

Do đó, vẫn cần hợp chất MABA mới. Cụ thể, vẫn cần hợp chất MABA mới mà rất hữu hiệu làm chất đối kháng thụ thể muscarin lẫn chất chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Ngoài ra, hợp chất MABA có khoảng thời gian tác dụng kéo dài, tức là hợp chất này tạo ra sự giãn phế quản đáng kể trong ít nhất khoảng 24 giờ sau khi dùng thuốc bằng cách xông, có thể đặc biệt hữu hiệu để điều trị một số rối loạn liên quan đến phổi khi mong muốn dùng tác nhân giãn phế quản mỗi lần hằng ngày.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến hợp chất diamit mới có cả hai hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin lẫn hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Các hợp chất này gây ra sự giãn phế quản khi được dùng cho động vật có vú bằng cách xông. Trong một số trường hợp, hợp chất theo sáng chế được thấy là có khoảng thời gian tác dụng kéo dài, tức là tạo ra sự giãn phế quản trong ít nhất khoảng 24 giờ sau khi dùng thuốc. Do đó, hợp chất theo sáng chế được mong muốn là hữu hiệu và thuận lợi làm tác nhân giãn phế quản để điều trị các rối loạn liên quan đến phổi.

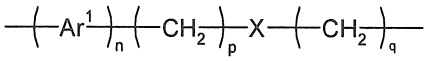
Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

Y là nhóm có công thức (a):



(a)

và Y được gắn vào vị trí 3 hoặc 4 của vòng phenylen tương ứng với nhóm $-CH_2-(CR^5R^6)_e-$;

X được chọn từ –C(O)NH- và –NHC(O)-;

Ar^1 được chọn từ phen-1,3-ylen và phen-1,4-ylen, trong đó nhóm phenylen là không được thế hoặc được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl) và halo;

mỗi R^1 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl), hydroxyl và halo;

mỗi R^2 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl) và halo;

mỗi R^3 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl; hoặc hai nhóm R^3 được liên kết để tạo thành C_{1-3} alkylen, C_{2-3} alkenylen hoặc oxiran-2,3-diyl;

mỗi R^4 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl) và halo;

R^5 được chọn từ hydro, metyl và etyl;

R^6 được chọn từ hydro, metyl và etyl;

R^a được chọn từ C_{1-6} alkyl;

a là 0, 1, 2 hoặc 3;

b là 0, 1, 2 hoặc 3;

c là 0, 1, 2, 3 hoặc 4;

d là 0, 1, 2 hoặc 3;

e là 0 hoặc 1;

n là 0 hoặc 1;

p là 0, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6; với điều kiện khi n là 0, thì p là 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6;

q là 0, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6;

hoặc muối dược dụng của nó.

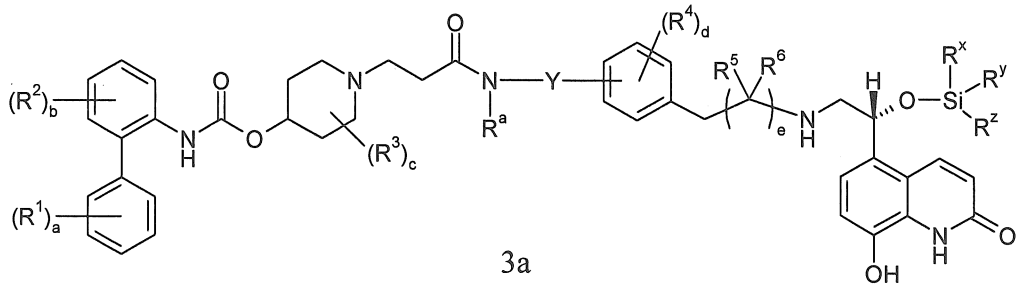
Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "hợp chất có công thức I" có nghĩa là hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của nó; tức là, thuật ngữ này có nghĩa là hợp chất có công thức I ở dạng bazơ tự do hoặc ở dạng muối dược dụng của nó trừ khi có quy định khác.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa (a) hợp chất có công thức I; (b) chất mang dược dụng. Khía cạnh này của sáng chế bao gồm, ví dụ, dược phẩm thích hợp để dùng bằng cách xông.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa (a) hợp chất có công thức I, và (b) tác nhân kháng viêm steroit (ví dụ, corticosteroit). Thuật ngữ "tác nhân kháng viêm steroit" như được sử dụng ở đây bao gồm muối dược dụng và/hoặc solvat của các tác nhân này trừ khi có quy định khác. Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa (a) hợp chất có công thức I; (b) tác nhân kháng viêm steroit; và (c) chất mang dược dụng. Các khía cạnh này của sáng chế bao gồm, ví dụ, chế phẩm thích hợp để dùng bằng cách xông. Theo phương án cụ thể, tác nhân kháng viêm steroit là corticosteroit (ví dụ, glucocorticoit), như fluticason propionat hoặc solvat của nó; hoặc fluticason furoat hoặc solvat của nó.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến phương pháp đối kháng thụ thể muscarin và phương pháp chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2 trong hệ hoặc mẫu sinh học chứa thụ thể muscarin và thụ thể giải phóng adrenalin β_2, phương pháp này bao gồm việc điều trị hệ hoặc mẫu sinh học bằng hợp chất có công thức I. Khía cạnh này bao gồm cả các phương pháp *in vivo* lẫn *in vitro*.

Sáng chế còn đề cập đến quy trình và chất trung gian mới hữu hiệu để điều chế hợp chất có công thức I. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 3a:



3a

hoặc muối của nó, trong đó R^x và R^y độc lập được chọn từ C_{1-4} alkyl, phenyl, và -C_{1-4} alkyl-(phenyl); và R^z được chọn từ C_{1-4} alkyl, phenyl, -C_{1-4} alkyl-(phenyl) và –O-(C_{1-4} alkyl).

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến quy trình điều chế hợp chất có công thức I, quy trình này bao gồm bước khử bảo vệ hợp chất có công thức 3a để tạo ra hợp chất có công thức I.

Các khía cạnh và phương án khác của sáng chế sẽ được mô tả dưới đây.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I. Các hợp chất này chứa một hoặc nhiều tâm bất đối và do đó, các hợp chất này (và chất trung gian của nó) có thể tồn tại dưới dạng hỗn hợp raxemic; chất đồng phân lập thể tinh khiết (tức là, chất đồng phân đối ảnh hoặc chất đồng phân không đối quang); hỗn hợp được làm giàu đồng phân lập thể và chất tương tự khác. Hợp chất bất đối được thể hiện hoặc được gọi tên ở đây mà không có hóa học lập thể xác định tại tâm bất đối được dự định bao gồm bất kỳ hoặc tất cả các dạng biến thể đồng phân lập thể có thể có ở tâm lập thể không xác định trừ khi có quy định khác. Việc mô tả hoặc gọi tên chất đồng phân lập thể cụ thể nghĩa là tâm lập thể được chỉ định có hóa học lập thể xác định với điều kiện là lượng không đáng kể của chất đồng phân lập thể khác cũng có thể có mặt trừ khi có quy định khác, miễn là việc sử dụng hợp chất được mô tả hoặc được gọi tên không bị loại trừ khi có mặt chất đồng phân lập thể khác.

Hợp chất có công thức I còn chứa vài nhóm bazơ (ví dụ, nhóm amino) và do đó, các hợp chất này có thể tồn tại dưới dạng bazơ tự do hoặc ở các dạng muối khác nhau, như dạng muối proton hóa một lần hoặc dạng muối proton hóa hai lần hoặc hỗn hợp của chúng. Tất cả các dạng này được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, trừ khi có quy định khác.

Sáng chế còn bao gồm hợp chất có công thức I được đánh dấu đồng vị, tức là, hợp chất có công thức I, trong đó nguyên tử được thay thế hoặc được làm giàu bằng nguyên tử có cùng số nguyên tử nhưng khối lượng nguyên tử khác với khối lượng nguyên tử mà nổi trội trong tự nhiên. Ví dụ về các chất đồng vị mà có thể được đưa

vào hợp chất có công thức I bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{13}N, ^{15}N, ^{15}O, ^{17}O, ^{18}O, ^{35}S, ^{36}Cl, và ^{18}F. Được quan tâm cụ thể là các hợp chất có công thức I được làm giàu triti hoặc cacbon-14, các hợp chất này có thể được sử dụng, ví dụ, trong các nghiên cứu phân bố mô. Còn được quan tâm là các hợp chất có công thức I được làm giàu đoteri, đặc biệt là ở vị trí chuyển hóa, các hợp chất này được mong đợi là có độ ổn định chuyển hóa tốt hơn. Còn được quan tâm là các hợp chất có công thức I được làm giàu trong chất đồng vị phát ra positron, như ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O và ^{13}N, các hợp chất này có thể được sử dụng, ví dụ, trong các nghiên cứu chụp cắt lớp bằng phát xạ positron (Positron Emission Tomography: PET).

Ngoài ra, khi có thể, tất cả các chất đồng phân cis-trans hoặc E/Z (chất đồng phân hình học), các dạng tautome và dạng topoisomeric của hợp chất theo sáng chế cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng chế, trừ khi có quy định khác.

Các hợp chất được mô tả ở đây thường được gọi tên bằng cách sử dụng chức năng AutoNom của phần mềm MDL® ISIS/Draw có bán sẵn trên thị trường (Symyx, Santa Clara, California).

Các phương án tiêu biểu

Các phần tử thế và các giá trị sau đây nhằm để đưa ra các ví dụ tiêu biểu về các khía cạnh và phương án khác nhau của sáng chế. Các giá trị tiêu biểu này nhằm xác định và minh họa thêm các khía cạnh và phương án này và không nhằm loại trừ các phương án khác hoặc giới hạn phạm vi của sáng chế. Theo đó, việc trình bày giá trị hoặc phần tử thế cụ thể được ưu tiên không nhằm loại trừ các giá trị hoặc phần tử thế khác ra khỏi sáng chế theo bất cứ cách nào, trừ khi có quy định đặc biệt khác.

Theo một phương án, n là 0, và Ar^1 không có mặt. Theo phương án khác, n là 1, và Ar^1 có mặt.

Theo một phương án, khi có mặt, Ar^1 là phen-1,3-ylen không được thế. Theo phương án khác, Ar^1 là phen-1,3-ylen được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl) và halo. Theo phương án khác, Ar^1 là phen-1,3-ylen được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế độc lập được chọn từ metyl, etyl, metoxy, flo hoặc clo. Ví dụ tiêu biểu về Ar^1 bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phen-1,3-

ylen, 2-metylphen-1,3-ylen, 4-metylphen-1,3-ylen, 5-metylphen-1,3-ylen, 6-metylphen-1,3-ylen, 2-metoxyphen-1,3-ylen, 4-metoxyphen-1,3-ylen, 5-metoxyphen-1,3-ylen, 6-metoxyphen-1,3-ylen, 2-flophen-1,3-ylen, 4-flophen-1,3-ylen, 5-flophen-1,3-ylen, 6-flophen-1,3-ylen, 2-clophen-1,3-ylen, 4-clophen-1,3-ylen, 5-clophen-1,3-ylen, 6-clophen-1,3-ylen, 2,4-dimetylphen-1,3-ylen, 2,5-dimetylphen-1,3-ylen, 2,6-dimetylphen-1,3-ylen, 4,6-dimetylphen-1,3-ylen, 2-clo-5-metoxyphen-1,3-ylen, và 5-clo-2-metoxyphen-1,3-ylen. Theo phương án cụ thể, Ar^1 là phen-1,3-ylen hoặc 6-metylphen-1,3-ylen.

Theo phương án khác, Ar^1 là phen-1,4-ylen không được thế. Theo phương án khác nữa, Ar^1 là phen-1,4-ylen được thế bằng từ 1 đến 3 phần tử thế độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl) và halo. Theo phương án khác, Ar^1 là phen-1,4-ylen được thế bằng 1 hoặc 2 phần tử thế độc lập được chọn từ metyl, etyl, metoxy, flo hoặc clo. Ví dụ tiêu biểu về Ar^1 bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, phen-1,4-ylen, 2-metylphen-1,4-ylen, 3-metylphen-1,4-ylen, 5-metylphen-1,4-ylen, 6-metylphen-1,4-ylen, 2-metoxyphen-1,4-ylen, 3-metoxyphen-1,4-ylen, 5-metoxyphen-1,4-ylen, 6-metoxyphen-1,4-ylen, 2-flophen-1,4-ylen, 3-flophen-1,4-ylen, 5-flophen-1,4-ylen, 6-flophen-1,4-ylen, 2-clophen-1,4-ylen, 3-clophen-1,4-ylen, 5-clophen-1,4-ylen, 6-clophen-1,4-ylen, 2,3-dimetylphen-1,4-ylen, 2,5-dimetylphen-1,4-ylen, 2,6-dimetylphen-1,4-ylen, 3,5-dimetylphen-1,4-ylen, 2-clo-5-metoxyphen-1,4-ylen, và 5-clo-2-metoxyphen-1,4-ylen.

Theo phương án cụ thể, Ar^1 là phen-1,3-ylen, phen-1,4-ylen hoặc 6-metylphen-1,3-ylen.

Theo các phương án riêng biệt, p là 0, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6; với điều kiện là p không thể là 0 khi n là 0. Ngoài ra, theo một phương án, khi n là 0 và X là –NHC(O)-, thì p thường không phải là 1. Các nhóm $–(CH_2)_p–$ tiêu biểu bao gồm $–CH_2–$, $–(CH_2)_2–$, $–(CH_2)_3–$, $–(CH_2)_4–$, $–(CH_2)_5–$, và $–(CH_2)_6–$. Theo phương án cụ thể, p là 0, 1, 2, 3, hoặc 4.

Theo các phương án riêng biệt, q là 0, 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6. Các nhóm $–(CH_2)_q–$ tiêu biểu bao gồm $–CH_2–$, $–(CH_2)_2–$, $–(CH_2)_3–$, $–(CH_2)_4–$, $–(CH_2)_5–$, và $–(CH_2)_6–$. Theo phương án cụ thể, q là 0, 1 hoặc 2.

Theo một phương án, X là –C(O)NH-. Theo phương án khác, X là –NHC(O)-.

Theo phương án cụ thể, Y tạo thành nhóm có công thức: $–(CH_2)_p–X–(CH_2)_q–$, trong đó X, p và q như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

$–(CH_2)_p–C(O)NH–(CH_2)_q–$; và

$–(CH_2)_p–NHC(O)–(CH_2)_q–$.

Theo phương án cụ thể khác, Y tạo thành nhóm có công thức: $–(CH_2)_p–X–$, trong đó X và p như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

$–(CH_2)_p–C(O)NH–$; và

$–(CH_2)_p–NHC(O)–$.

Theo phương án cụ thể khác, Y tạo thành nhóm có công thức: $–Ar^1–(CH_2)_p–X–(CH_2)_q–$, trong đó Ar^1, X, p và q như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

$–$(phen-1,3-ylen)$–(CH_2)_p–C(O)NH–(CH_2)_q–$;

$–$(phen-1,3-ylen)$–(CH_2)_p–NHC(O)–(CH_2)_q–$;

$–$(phen-1,4-ylen)$–(CH_2)_p–C(O)NH–(CH_2)_q–$; và

$–$(phen-1,4-ylen)$–(CH_2)_p–NHC(O)–(CH_2)_q–$;

trong đó nhóm phen-1,3-ylen hoặc phen-1,4-ylen là không được thế hoặc được thế như được xác định ở đây.

Theo phương án cụ thể khác, Y tạo thành nhóm có công thức: $–Ar^1–(CH_2)_p–X–$, trong đó Ar^1, X và p như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

$–$(phen-1,3-ylen)$–(CH_2)_p–C(O)NH–$;

$–$(phen-1,3-ylen)$–(CH_2)_p–NHC(O)–$;

$–$(phen-1,4-ylen)$–(CH_2)_p–C(O)NH–$; và

$–$(phen-1,4-ylen)$–(CH_2)_p–NHC(O)–$;

trong đó nhóm phen-1,3-ylen hoặc phen-1,4-ylen là không được thế hoặc được thế như được xác định ở đây.

Theo phương án cụ thể khác, Y tạo thành nhóm có công thức: $–Ar^1–X–(CH_2)_q–$, trong đó Ar^1, X và q như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

–(phen-1,3-ylen)–C(O)NH–$(CH_2)_q$–;

–(phen-1,3-ylen)–NHC(O)–$(CH_2)_q$–;

–(phen-1,4-ylen)–C(O)NH–$(CH_2)_q$–; và

–(phen-1,4-ylen)–NHC(O)–$(CH_2)_q$–;

trong đó nhóm phen-1,3-ylen hoặc phen-1,4-ylen là không được thế hoặc được thế như được xác định ở đây.

Theo phương án cụ thể khác, Y tạo thành nhóm có công thức: $–Ar^1–X–$, trong đó Ar^1 và X như được xác định ở đây. Các ví dụ tiêu biểu bao gồm:

–(phen-1,3-ylen)–C(O)NH–;

–(phen-1,3-ylen)–NHC(O)–;

–(phen-1,4-ylen)–C(O)NH–; và

–(phen-1,4-ylen)–NHC(O)–;

trong đó nhóm phen-1,3-ylen hoặc phen-1,4-ylen là không được thế hoặc được thế như được xác định ở đây.

Theo một phương án, Y được gắn vào vị trí 3 của vòng phenylen tương ứng với nhóm $-CH_2-(CR^5R^6)_e-$. Theo phương án khác, Y được gắn vào vị trí 4 của vòng phenylen tương ứng với nhóm $-CH_2-(CR^5R^6)_e-$.

Theo một phương án, a là 0, và R^1 không có mặt. Theo các phương án riêng biệt khác, a là 1, 2 hoặc 3, tức là, một, hai hoặc ba nhóm R^1 có mặt ở vị trí có sẵn bất kỳ của vòng phenyl mà R^1 được gắn vào đó. Ví dụ, khi a là 1, R^1 có thể ở vị trí 2-, 3-, 4-, 5- hoặc 6- của vòng phenyl mà R^1 được gắn vào đó; khi a là 2, các nhóm R^1 có thể ở vị trí 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4-, hoặc 3,5- của vòng phenyl mà R^1 được gắn vào đó; và khi a là 3, các nhóm R^1 có thể ở vị trí 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,5-, 2,4,6-, hoặc 3,4,5- của vòng phenyl mà R^1 được gắn vào đó.

Theo một phương án, khi có mặt, mỗi R^1 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl), hydroxyl và halo. Theo phương án khác, mỗi R^1 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl), và halo. Theo phương án khác, mỗi R^1 độc lập được chọn từ metyl, etyl, metoxy, flo, clo và brom.

Theo một phương án, b là 0, và R^2 không có mặt. Theo các phương án riêng biệt khác, b là 1, 2 hoặc 3, tức là, một, hai hoặc ba nhóm R^2 có mặt ở vị trí có sẵn bất kỳ của vòng phenylen mà R^2 được gắn vào đó. Ví dụ, khi b là 1, nhóm R^2 có thể ở vị trí 3-, 4-, 5- hoặc 6- của vòng phen-1,2-ylen mà R^2 được gắn vào đó; khi b là 2, các nhóm R^2 có thể ở vị trí 3,4-, 3,5-, 3,6-, 4,5-, 4,6-, hoặc 5,6- của vòng phen-1,2-ylen mà R^2 được gắn vào đó; và khi b là 3, các nhóm R^2 có thể ở vị trí 3,4,5-, 3,4,6-, hoặc 4,5,6-của vòng phen-1,2-ylen mà R^2 được gắn vào đó.

Theo một phương án, khi có mặt, mỗi R^2 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl), và halo. Theo phương án khác, mỗi R^2 độc lập được chọn từ halo. Theo phương án khác, mỗi R^2 độc lập được chọn từ metyl, etyl, metoxy, flo, clo và brom.

Theo một phương án, c là 0, và R^3 không có mặt. Theo các phương án riêng biệt khác, c là 1, 2, 3 hoặc 4, tức là, một, hai, ba hoặc bốn nhóm R^3 có mặt ở vị trí có sẵn bất kỳ của vòng piperidin-1,4-yl mà R^3 được gắn vào đó.

Theo một phương án, khi có mặt, mỗi R^3 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl. Theo phương án khác, mỗi R^3 là metyl. Các nhóm R^3 tiêu biểu bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl và isopropyl.

Theo phương án khác, hai nhóm R^3 được liên kết để tạo thành C_{1-3} alkylen hoặc C_{2-3} alkenylen hoặc oxiran-2,3-diyl. Các nhóm tiêu biểu bao gồm -CH_2-, -CH_2CH_2-, -CH=CH-, -$CH_2CH_2CH_2$-, và -CH_2CH=CH-. Ví dụ, hai nhóm R^3 ở vị trí 2 và 6 trên vòng piperidin có thể được liên kết để tạo thành cầu nối etylen (tức là, vòng piperidin và các nhóm R^3 tạo thành vòng 8-azabixyclo[3.2.1]octan); hoặc hai nhóm R^3 ở vị trí 1 và 4 trên vòng piperidin có thể được liên kết để tạo thành cầu nối etylen (tức là, vòng piperidin và các nhóm R^3 tạo thành vòng 1-azabixyclo[2.2.2]octan); hoặc hai nhóm R^3 ở vị trí 2 và 6 trên vòng piperidin có thể được liên kết để tạo thành cầu nối etylenylen (tức là, vòng piperidin và các nhóm R^3 tạo thành vòng 8-

azabixyclo[3.2.1]oct-6-en). Theo phương án này, các nhóm R^3 như được xác định ở đây cũng có thể có mặt.

Theo phương án khác nữa, hai nhóm R^3 được liên kết để tạo thành nhóm oxiran-2,3-diyl. Ví dụ, hai nhóm R^3 ở vị trí 2 và 6 trên vòng piperidin có thể được liên kết để tạo thành vòng 3-oxatrixyclo[3.3.1.$0^{2,4}$]nonan. Theo phương án này, các nhóm R^3 khác như được xác định ở đây cũng có thể có mặt.

Theo một phương án, d là 0, và R^4 không có mặt.

Theo các phương án riêng biệt khác, d là 1, 2, hoặc 3, tức là, một, hai hoặc ba nhóm R^4 có thể được liên kết ở vị trí có sẵn bất kỳ của vòng phenylen mà R^4 được gắn vào đó. Ví dụ, khi d là 1 và Y được gắn vào vị trí 3 của vòng phenylen, nhóm R^4 có thể ở vị trí 2-, 4-, 5- hoặc 6- của vòng phen-1,3-ylen mà R^4 được gắn vào được. Khi d là 1 và Y được gắn vào vị trí 4 của vòng phenylen, nhóm R^4 có thể ở, ví dụ, vị trí 2-, 3-, 5- hoặc 6- của vòng phen-1,4-ylen mà R^4 được gắn vào đó.

Khi d là 2 và Y được gắn vào vị trí 3 của vòng phenylen, các nhóm R^4 có thể ở, ví dụ, vị trí 2,4-, 2,5-, 2,6-, 4,5-, 4,6-, hoặc 5,6 của vòng phen-1,3-ylen mà R^4 được gắn vào đó. Khi d là 2 và Y được gắn vào vị trí 4 của vòng phenylen, các nhóm R^4 có thể ở, ví dụ, vị trí 2,3-, 2,5-, 2,6-, 3,5-, 3,6-, hoặc 5,6- của vòng phen-1,4-ylen mà R^4 được gắn vào đó.

Khi d là 3 và Y được gắn vào vị trí 3 của vòng phenylen, các nhóm R^4 có thể ở, ví dụ, vị trí 2,4,5-, 2,4,6-, 2,5,6-, hoặc 4,5,6 của vòng phenylen mà R^4 được gắn vào đó. Khi d là 3 và Y được gắn vào vị trí 4 của vòng phenylen, các nhóm R^4 có thể ở, ví dụ, vị trí 2,3,5-, 2,3,6-, 2,5,6-, hoặc 3,5,6 của vòng phenylen mà R^4 được gắn vào đó.

Theo một phương án, khi có mặt, mỗi R^4 độc lập được chọn từ C_{1-3} alkyl, -O-(C_{1-3} alkyl), và halo. Theo phương án khác, mỗi R^4 độc lập được chọn từ metyl, etyl, metoxy, flo, clo và brom. Theo phương án cụ thể, R^4 được chọn từ metyl, metoxy, clo và flo. Theo phương án cụ thể khác, d là 2, và mỗi R^4 là metyl. Theo phương án cụ thể khác nữa, d là 2, và một R^4 là metoxy, và R^4 còn lại là clo.

Theo một phương án, e là 0, và -CR^5R^6- không có mặt. Theo phương án khác, e là 1.

Theo một phương án, khi có mặt, R^5 là hydro. Theo phương án khác, R^5 là metyl. Theo phương án khác nữa, R^5 là etyl.

Theo một phương án, khi có mặt, R^6 là hydro. Theo phương án khác, R^6 là metyl. Theo phương án khác nữa, R^6 là etyl. Theo phương án cụ thể, R^6 là hydro, và R^5 là hydro hoặc metyl. Theo phương án cụ thể khác, R^5 và R^6 đều là metyl.

Khi $R^5 \neq R^6$, nguyên tử cacbon mà R^5 và R^6 gắn vào đó là bất đối. Theo một phương án, tâm lập thể này có cấu hình (*R*). Theo phương án khác, tâm lập thể này có cấu hình (*S*). Theo các phương án cụ thể, nhóm $–CH_2-(CR^5R^6)_e-$ được chọn từ $–CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2C^*H(CH_3)-$, trong đó C* có cấu hình (*R*), cấu hình (*S*) hoặc là raxemic.

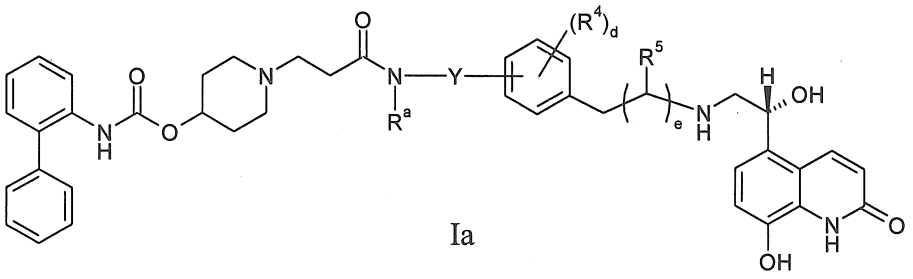
Theo một phương án, R^a được chọn từ C_{1-6} alkyl. Theo phương án khác, R^a là C_{1-4} alkyl. Theo phương án khác nữa, R^a là C_{1-3} alkyl. Các nhóm R^a tiêu biểu bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, *sec*-butyl, isobutyl, *tert*-butyl, *n*-pentyl và *n*-hexyl. Theo phương án cụ thể, R^a là metyl.

Theo một phương án, hợp chất có công thức I là bazơ tự do. Theo phương án khác, hợp chất có công thức I là dạng muối mono. Theo phương án khác nữa, hợp chất có công thức I là dạng muối hai lần.

Phân nhóm phụ tiêu biểu

Các công thức và nhóm phụ sau đây được dự định để đưa ra ví dụ tiêu biểu về các khía cạnh và phương án khác nhau của sáng chế và như thế, chúng không nhằm làm loại trừ các phương án khác hoặc làm giới hạn phạm vi của các phương án hoặc của sáng chế, trừ khi có quy định khác.

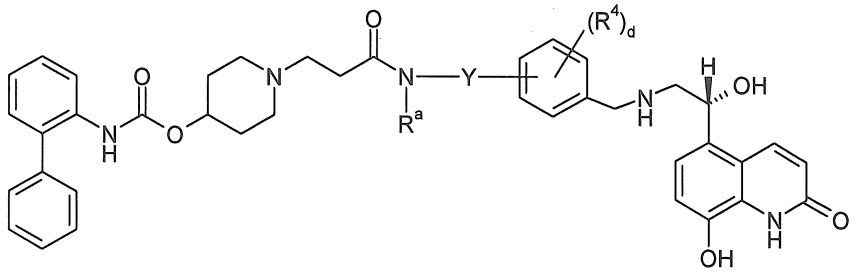
Phương án cụ thể của sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức Ia:



Ia

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^6 là hydro, và R^4, R^5, R^a, Y, d và e như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

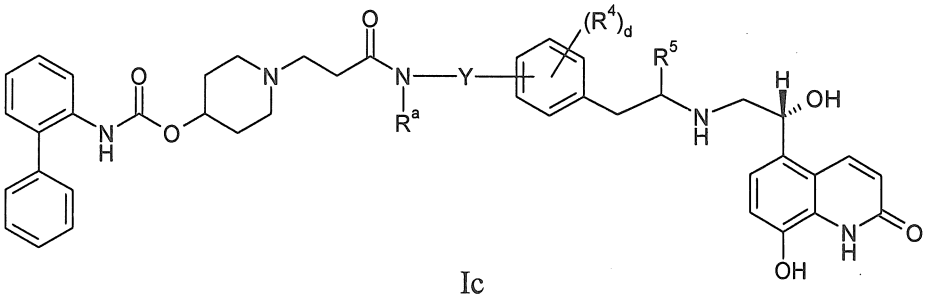
Phương án cụ thể khác đề cập đến hợp chất có công thức Ib:



Ib

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b, c và e là 0 (tức là, R^1, R^2, R^3 và CR^5R^6 không có mặt), và R^4, R^a, Y và d như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

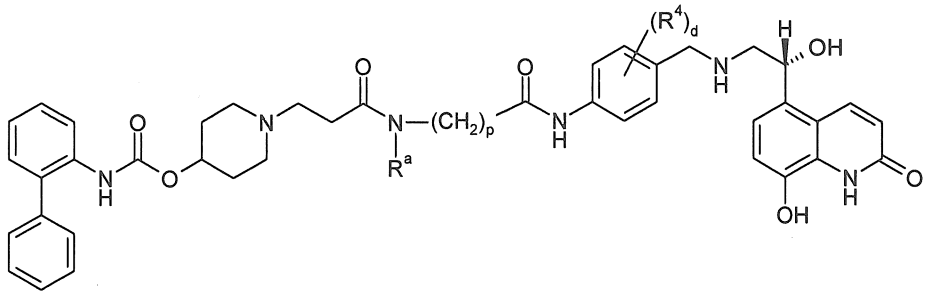
Phương án cụ thể khác đề cập đến hợp chất có công thức Ic:



Ic

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^6 là hydro, e là 1, và R^4, R^5, R^a, Y và d như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

Phương án cụ thể khác đề cập đến hợp chất có công thức II:



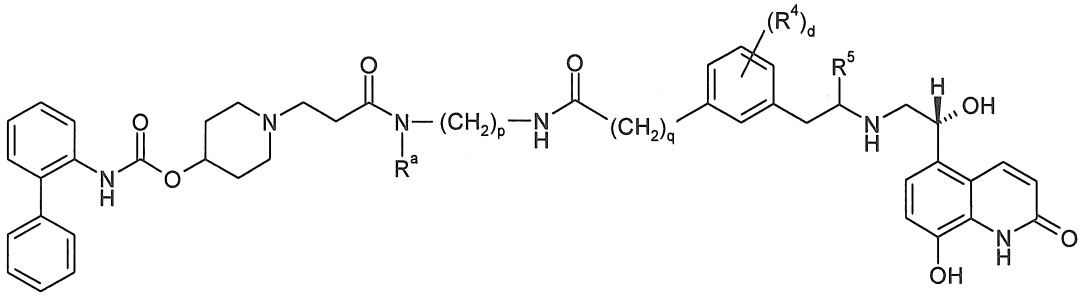
II

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b, c và e là 0 (tức là, R^1, R^2, R^3 và CR^5R^6 không có mặt), Y tạo thành nhóm có công thức: $-(CH_2)_p$-C(O)NH-, và R^4, R^a, d và p như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án cụ thể về hợp chất có công thức II, R^a là metyl; p là 3 hoặc 4; và d là 0, 1 hoặc 2; và mỗi R^4 độc lập được chọn từ metyl; metoxy, clo và flo.

Theo phương án cụ thể khác về hợp chất có công thức II, R^a là metyl; p là 4; và d là 0, 1 hoặc 2; và mỗi R^4 độc lập được chọn từ metyl; metoxy, clo và flo. Như được thể hiện trong Bảng III, tất cả các hợp chất theo phương án này được thử nghiệm trong thử nghiệm Einthoven trên chuột nhắt (100μg) có tác dụng bảo vệ phế quản trong 24 giờ.

Phương án cụ thể khác đề cập đến hợp chất có công thức III:

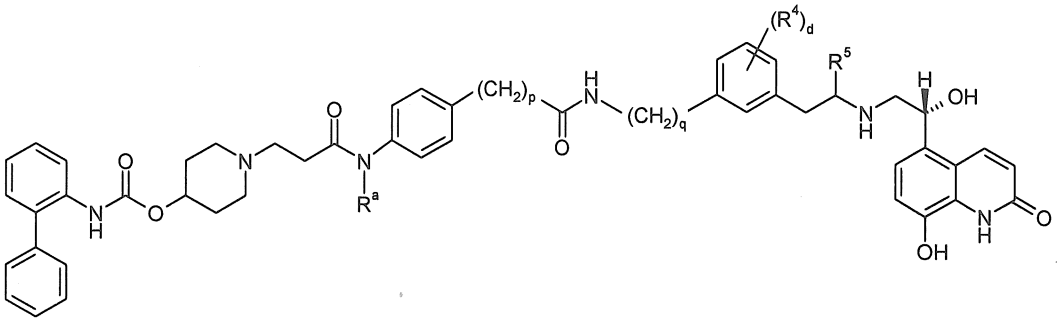


III

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^6 là hydro, e là 1, Y tạo thành nhóm có công thức: $-(CH_2)_p$-NHC(O)-$(CH_2)_q$- và R^4, R^5, R^a, d, p và q như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án cụ thể về hợp chất có công thức III, R^a là metyl; p là 3 hoặc 4; q là 1; R^5 là metyl; và d là 0.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức IV:

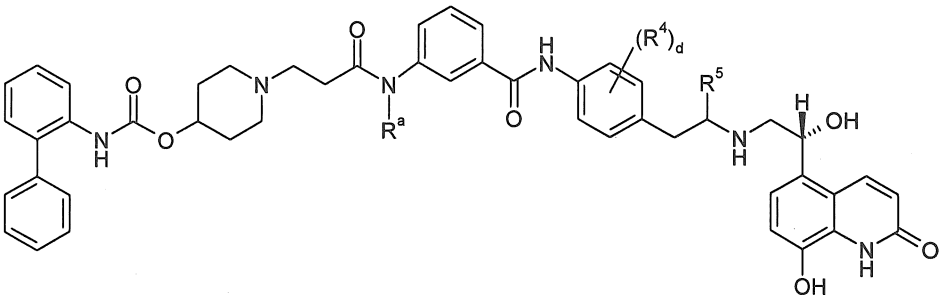


IV

tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^6 là hydro, e là 1, Y tạo thành nhóm có công thức: $-Ar^1-(CH_2)_p-C(O)NH-(CH_2)_q-$, Ar^1 là phenyl-1,4-en, và R^4, R^5, R^a, d, p và q như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

Theo phương án cụ thể về hợp chất có công thức IV, R^a là metyl; p là 1; q là 1 hoặc 2; R^5 là hydro hoặc metyl; d là 0 hoặc 1; và R^4 được chọn từ metyl; metoxy, và flo.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức V:



V

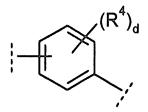
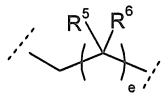
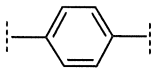
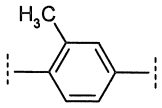
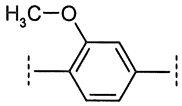
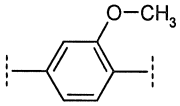
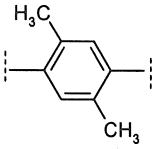
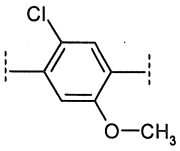
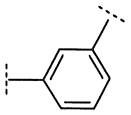
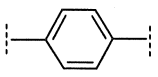
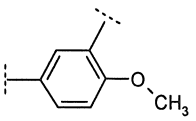
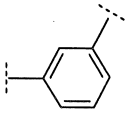
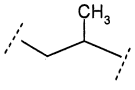
tức là, hợp chất có công thức I trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^6 là hydro, e là 1, Y tạo thành nhóm có công thức: $-Ar^1-C(O)NH-$, Ar^1 là

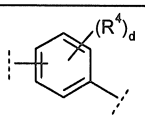
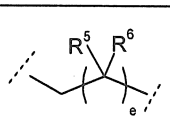
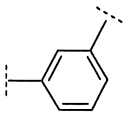
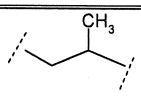
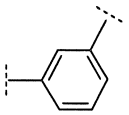
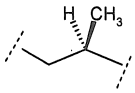
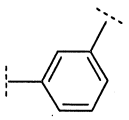
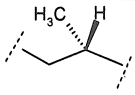
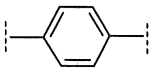
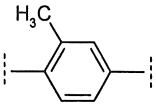
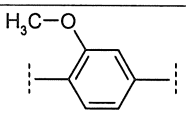
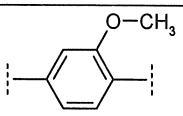
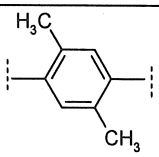
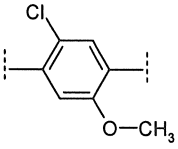
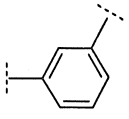
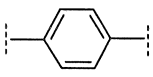
phenyl-1,3-en, và R^4, R^5, R^a, và d như được xác định ở đây, hoặc muối dược dụng của nó.

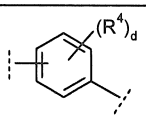
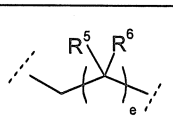
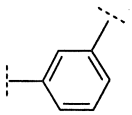
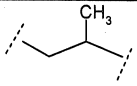
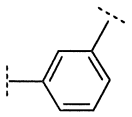
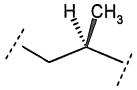
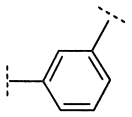
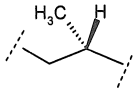
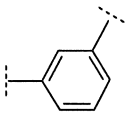
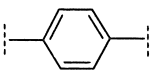
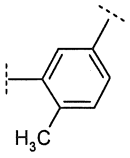
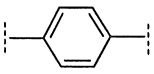
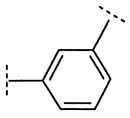
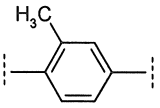
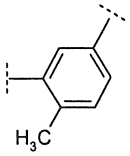
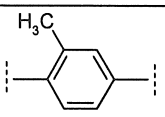
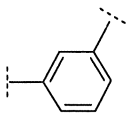
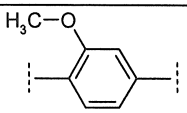
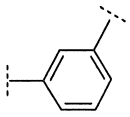
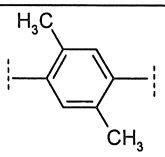
Theo phương án cụ thể về hợp chất có công thức V, R^a là metyl; R^5 là hydro hoặc metyl; d là 0, 1 hoặc 2; và mỗi R^4 độc lập được chọn từ metyl; metoxy, clo và flo.

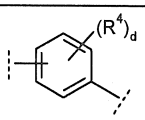
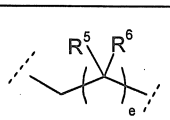
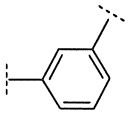
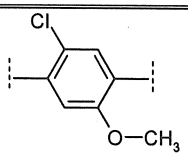
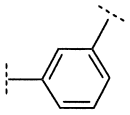
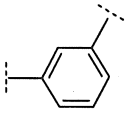
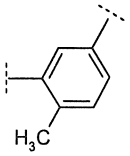
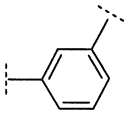
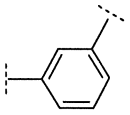
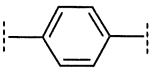
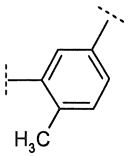
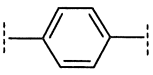
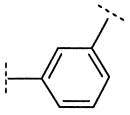
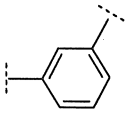
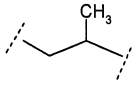
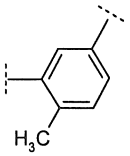
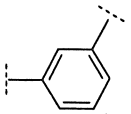
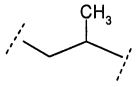
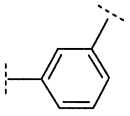
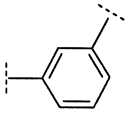
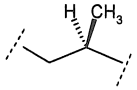
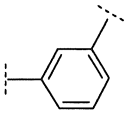
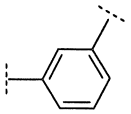
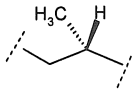
Phương án cụ thể về hợp chất có công thức I là các hợp chất trong đó a, b và c là 0 (tức là, R^1, R^2 và R^3 không có mặt), R^a là metyl; và $(Ar^1)_n$, $(CH_2)_p$, X, $(CH_2)_q$, $(R^4)_d$ (và vòng phenylen mà nó được gắn vào đó), và $-CH_2(CR^5R^6)_e-$ như được xác định trong Bảng I:

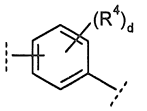
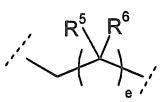
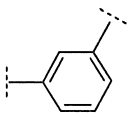
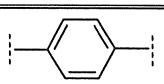
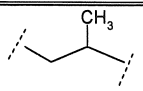
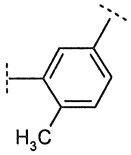
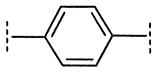
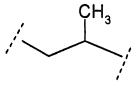
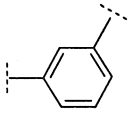
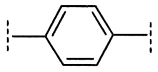
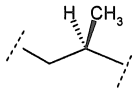
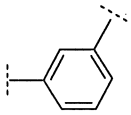
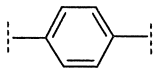
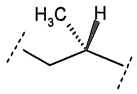
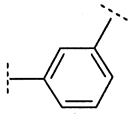
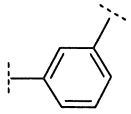
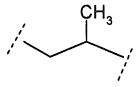
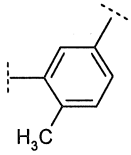
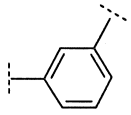
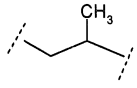
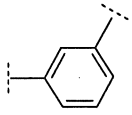
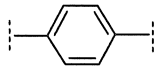
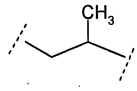
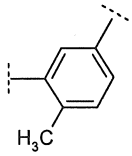
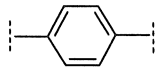
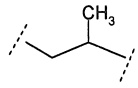
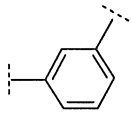
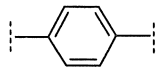
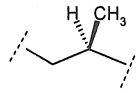
Bảng I

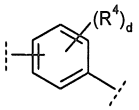
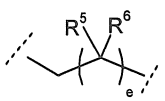
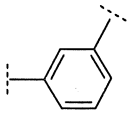
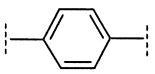
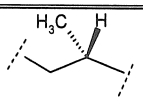
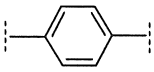
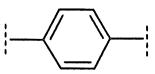
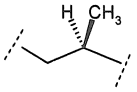
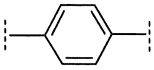
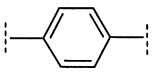
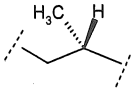
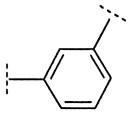
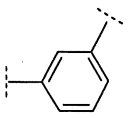
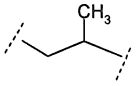
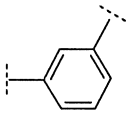
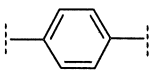
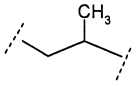
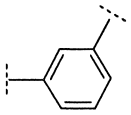
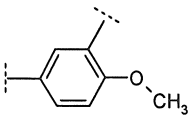
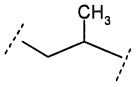
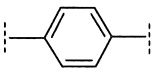
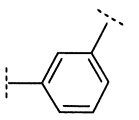
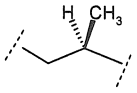
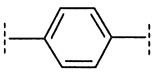
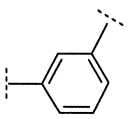
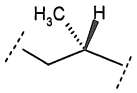
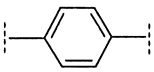
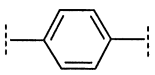
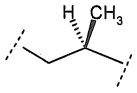
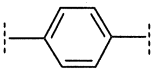
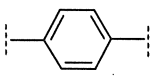
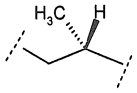
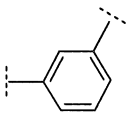
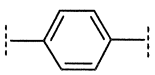
ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-1	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-2	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-3	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-4	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-5	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-6	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		CH_2
I-7	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-8	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-9	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-10	---	$(CH_2)_3$	C(O)NH	---		

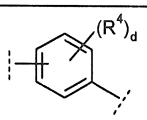
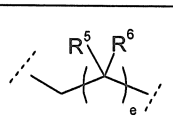
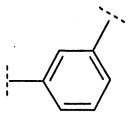
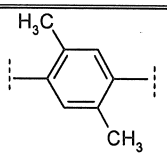
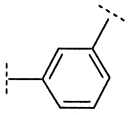
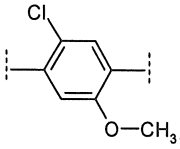
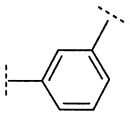
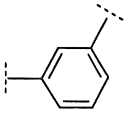
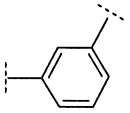
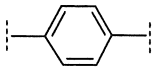
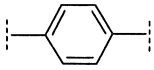
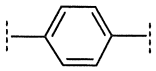
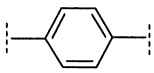
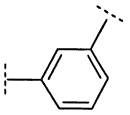
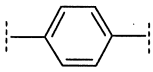
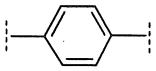
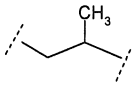
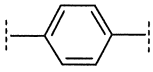
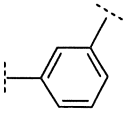
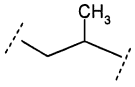
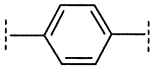
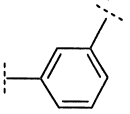
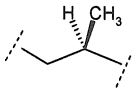
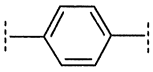
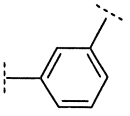
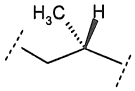
ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-11	---	$(CH_2)_3$	NHC(O)	CH_2		
I-12	---	$(CH_2)_3$	NHC(O)	CH_2		
I-13	---	$(CH_2)_3$	NHC(O)	CH_2		
I-14	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-15	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-16	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-17	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-18	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-19	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		CH_2
I-20	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-21	---	$(CH_2)_4$	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$

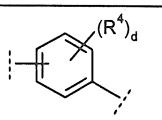
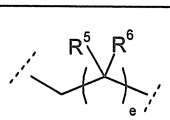
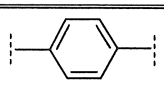
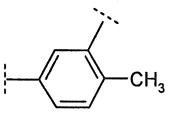
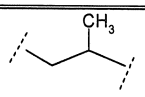
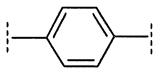
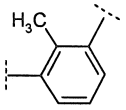
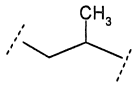
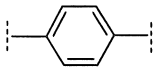
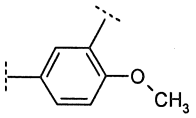
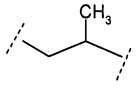
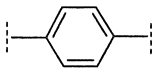
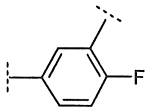
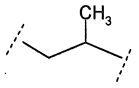
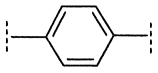
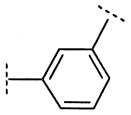
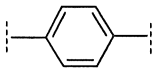
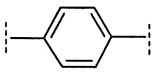
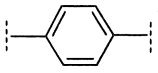
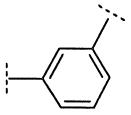
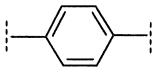
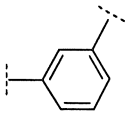
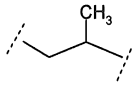
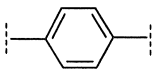
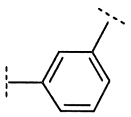
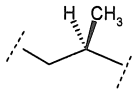
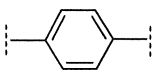
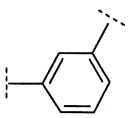
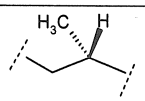
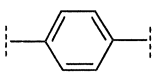
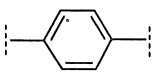
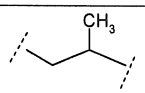
ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-22	---	$(CH_2)_4$	NHC(O)	CH_2		
I-23	---	$(CH_2)_4$	NHC(O)	CH_2		
I-24	---	$(CH_2)_4$	NHC(O)	CH_2		
I-25		---	C(O)NH	---		CH_2
I-26		---	C(O)NH	---		CH_2
I-27		---	C(O)NH	---		CH_2
I-28		---	C(O)NH	---		CH_2
I-29		---	C(O)NH	---		CH_2
I-30		---	C(O)NH	---		CH_2

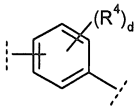
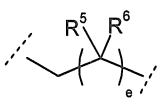
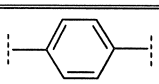
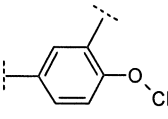
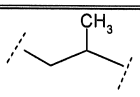
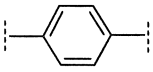
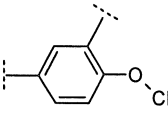
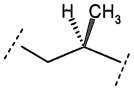
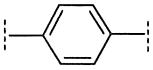
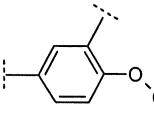
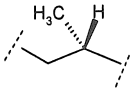
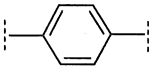
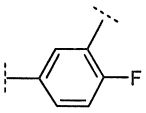
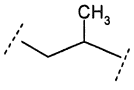
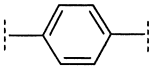
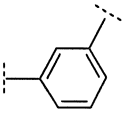
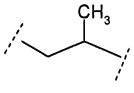
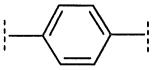
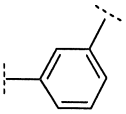
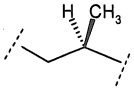
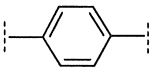
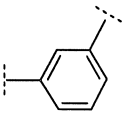
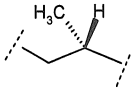
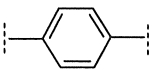
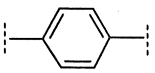
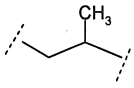
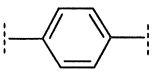
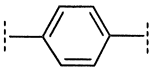
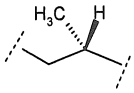
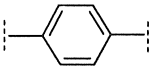
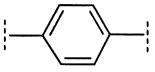
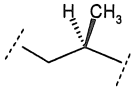
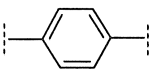
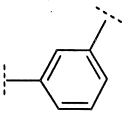
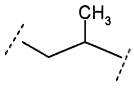
ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-31		---	C(O)NH	---		CH_2
I-32		---	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-33		---	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-34		---	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-35		---	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-36		---	C(O)NH	---		
I-37		---	C(O)NH	---		
I-38		---	C(O)NH	---		
I-39		---	C(O)NH	---		

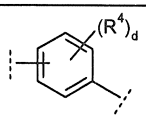
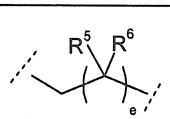
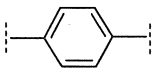
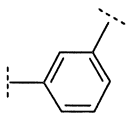
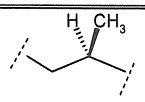
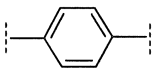
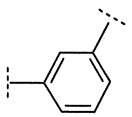
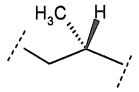
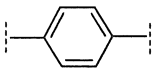
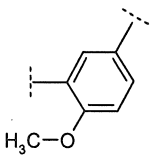
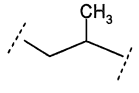
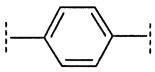
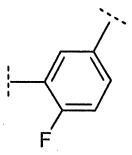
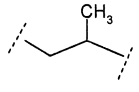
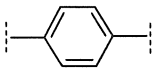
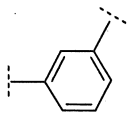
ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-40		---	C(O)NH	---		
I-41		---	C(O)NH	---		
I-42		---	C(O)NH	---		
I-43		---	C(O)NH	---		
I-44		---	C(O)NH	CH_2		
I-45		---	C(O)NH	CH_2		
I-46		---	C(O)NH	CH_2		
I-47		---	C(O)NH	CH_2		
I-48		---	C(O)NH	CH_2		

ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-49		---	C(O)NH	CH_2		
I-50		---	C(O)NH	CH_2		
I-51		---	C(O)NH	CH_2		
I-52		---	NHC(O)	CH_2		
I-53		---	NHC(O)	CH_2		
I-54		---	NHC(O)	CH_2		
I-55		---	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-56		---	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-57		---	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-58		---	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-59		CH_2	C(O)NH	---		CH_2

ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-60		CH_2	C(O)NH	---		CH_2
I-61		CH_2	C(O)NH	---		CH_2
I-62		CH_2	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-63		CH_2	C(O)NH	---		$(CH_2)_2$
I-64		CH_2	C(O)NH	CH_2		$(CH_2)_2$
I-65		CH_2	C(O)NH	CH_2		$(CH_2)_2$
I-66		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-67		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-68		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-69		CH_2	C(O)NH	CH_2		

ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-70		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-71		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-72		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-73		CH_2	C(O)NH	CH_2		
I-74		CH_2	NHC(O)	CH_2		CH_2
I-75		CH_2	NHC(O)	CH_2		CH_2
I-76		CH_2	NHC(O)	CH_2		$(CH_2)_2$
I-77		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-78		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-79		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-80		CH_2	NHC(O)	CH_2		

ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-81		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-82		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-83		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-84		CH_2	NHC(O)	CH_2		
I-85		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-86		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-87		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-88		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-89		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-90		CH_2	C(O)NH	$(CH_2)_2$		
I-91		CH_2	NHC(O)	$(CH_2)_2$		

ID	$(Ar^1)_n$	$(CH_2)_p$	X	$(CH_2)_q$		
I-92		CH_2	NHC(O)	$(CH_2)_2$		
I-93		CH_2	NHC(O)	$(CH_2)_2$		
I-94		CH_2	NHC(O)	$(CH_2)_2$		
I-95		CH_2	NHC(O)	$(CH_2)_2$		
I-96		$(CH_2)_2$	NHC(O)	CH_2		CH_2

Các hợp chất được nêu trong Bảng I có thể ở dạng bazơ tự do hoặc có thể ở dạng muối dược dụng của nó. Được đặc biệt quan tâm là các hợp chất của Bảng I mà thể hiện tác dụng bảo vệ phế quản 24 giờ sau khi dùng thuốc bằng cách xông, ví dụ, như được xác định trong thử nghiệm Einthoven.

Định nghĩa

Khi mô tả sáng chế bao gồm các khía cạnh và phương án khác nhau của sáng chế, các thuật ngữ sau có ý nghĩa như được xác định dưới đây, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ ở dạng số ít cũng bao gồm cả dạng số nhiều tương ứng, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ "alkyl" có nghĩa là nhóm hydrocacbon no hóa trị một, nhóm này có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Trừ khi có quy định khác, các nhóm alkyl này thường chứa từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon. Nhóm alkyl tiêu biểu bao gồm, ví dụ, metyl, etyl, *n*-propyl, isopropyl, *n*-butyl, *sec*-butyl, isobutyl, *tert*-butyl, *n*-pentyl, *n*-hexyl, *n*-heptyl, *n*-octyl, *n*-nonyl, *n*-dexyl và các nhóm tương tự khác.

Khi một số nguyên tử cacbon cụ thể được chỉ định cho một thuật ngữ cụ thể, thì số nguyên tử cacbon được thể hiện phía trước thuật ngữ. Ví dụ, thuật ngữ "C_{1-3} alkyl" có nghĩa là nhóm alkyl có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon trong đó nguyên tử cacbon ở cấu hình chấp nhận được về mặt hóa học bất kỳ, bao gồm cả cấu hình mạch thẳng hoặc mạch nhánh.

Thuật ngữ "alkylen" có nghĩa là nhóm hydrocacbon no hóa trị hai mà có thể là mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Trừ khi có quy định khác, các nhóm alkylen này thường chứa từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon. Nhóm alkylen tiêu biểu bao gồm, ví dụ, metylen, etan-1,2-diyl ("etylen"), propan-1,2-diyl, propan-1,3-diyl, butan-1,4-diyl, pentan-1,5-diyl và các nhóm tương tự khác.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ amino" có nghĩa là nhóm bảo vệ thích hợp để ngăn chặn các phản ứng không mong muốn ở nhóm amino. Các nhóm bảo vệ amino tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, *tert*-butoxycarbonyl (BOC), trityl (Tr), benzyloxycarbonyl (Cbz), 9-florenylmetoxycarbonyl (Fmoc), benzyl, formyl, trimetylsilyl (TMS), *tert*-butyldimetylsilyl (TBS), và các nhóm tương tự khác.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ carboxyl" có nghĩa là nhóm bảo vệ thích hợp để ngăn chặn các phản ứng không mong muốn ở nhóm carboxyl (tức là, -COOH). Nhóm bảo vệ carboxyl tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, este, như metyl, etyl, *tert*-butyl, benzyl (Bn), *p*-metoxybenzyl (PMB), 9-florenylmetyl (Fm), trimetylsilyl (TMS), *tert*-butyldimetylsilyl (TBS, TBDMS), diphenylmetyl (benzhydryl, DPM) và các nhóm tương tự khác.

Thuật ngữ "halo" có nghĩa là flo, clo, bromo, và iodo.

Thuật ngữ "nhóm bảo vệ hydroxyl" có nghĩa là nhóm bảo vệ thích hợp để ngăn chặn các phản ứng không mong muốn ở nhóm hydroxyl. Nhóm bảo vệ hydroxyl

tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các nhóm silyl bao gồm các nhóm tri(C_{1-6} alkyl)silyl, như trimetylsilyl (TMS), trietylsilyl (TES), *tert*-butyldimetylsilyl (TBS) và các nhóm tương tự khác; este (các nhóm axyl) bao gồm các nhóm C_{1-6} alkanoyl, như formyl, axetyl và các nhóm tương tự khác; các nhóm arylmetyl, như benzyl (Bn), *p*-metoxybenzyl (PMB), 9-florenylmetyl (Fm), diphenylmetyl (benzhydryl, DPM) và các nhóm tương tự khác. Ngoài ra, 2 nhóm hydroxyl cũng có thể được bảo vệ dưới dạng nhóm alkyliden, như prop-2-ylidin, được tạo thành, ví dụ, bằng phản ứng với keton, như axeton.

Thuật ngữ "nhóm rời chuyển" có nghĩa là nhóm chức hoặc nguyên tử mà có thể được thay thế bằng nhóm hoặc nguyên tử khác trong phản ứng thế, như phản ứng thế ái nhân. Ví dụ, các nhóm rời chuyển tiêu biểu bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các nhóm clo, bromo và iodo; các nhóm este sulfonic, như mesylat, tosylat, brosylat, nosylat và các nhóm tương tự khác; và các nhóm axyloxy, như axetoxy, trifloaxetoxy và các nhóm tương tự khác.

Thuật ngữ "micron hóa" hoặc "dạng được micron hóa" có nghĩa là hạt trong đó ít nhất khoảng 90% số hạt có đường kính nhỏ hơn khoảng 10μm, trừ khi có quy định khác.

Thuật ngữ "muối dược dụng" có nghĩa là muối mà được chấp nhận để dùng cho bệnh nhân hoặc động vật có vú, như người (ví dụ, muối có độ an toàn chấp nhận được cho động vật có vú đối với chế độ liều đã cho). Muối dược dụng tiêu biểu bao gồm muối của các axit axetic, ascorbic, benzensulfonic, benzoic, camphorsulfonic, xitric, etansulfonic, edisylic, fumaric, gentisic, gluconic, glucoronic, glutamic, hippuric, bromhydric, clohydric, isethionic, lactic, lactobionic, maleic, malic, mandelic, metansulfonic, muxic, naphtalensulfonic, naphtalen-1,5-disulfonic, naphtalen-2,6-disulfonic, nicotinic, nitric, orotic, pamoic, pantotenic, phosphoric, sucxinic, sulfuric, tartric, p-toluensulfonic và xinafoic, và các axit tương tự khác.

Thuật ngữ "dẫn xuất được bảo vệ của nó" có nghĩa là dẫn xuất của hợp chất cụ thể, trong đó một hoặc nhiều nhóm chức của hợp chất được bảo vệ hoặc được phong bế tránh trải qua các phản ứng không mong muốn bằng nhóm bảo vệ hoặc nhóm phong bế. Các nhóm chức mà có thể được bảo vệ bao gồm, ví dụ, nhóm

carboxy, nhóm amino, nhóm hydroxyl, nhóm thiol, nhóm carbonyl và các nhóm tương tự khác. Các nhóm bảo vệ thích hợp cho các nhóm chức này đã được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này biết đến như được minh họa trong tài liệu của T. W. Green and P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York, 1999, và các tài liệu tham khảo được trích dẫn ở đây.

Thuật ngữ "muối của nó" có nghĩa là hợp chất được tạo thành khi hydro của axit được thay thế bằng một cation, như cation kim loại hoặc cation hữu cơ và các cation tương tự khác. Ví dụ, cation có thể ở dạng được proton hóa của hợp chất có công thức I, tức là trong đó một hoặc nhiều nhóm amino được proton hóa bằng axit. Thông thường, muối là muối dược dụng, mặc dù muối dược dụng này là không cần thiết đối với muối của hợp chất trung gian mà không dự định để dùng cho bệnh nhân.

Thuật ngữ "solvat" có nghĩa là phức hoặc khối kết tụ được hình thành bởi một hoặc nhiều phân tử của chất tan, tức là hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của nó, và một hoặc nhiều phân tử của dung môi. Các solvat này thường là chất rắn kết tinh có tỷ lệ mol của chất tan và dung môi gần như cố định. Các dung môi tiêu biểu bao gồm, ví dụ, nước, metanol, etanol, isopropanol, axit axetic và các nhóm tương tự khác. Khi dung môi là nước, solvat được tạo thành là hydrat.

Thuật ngữ "lượng hữu hiệu để điều trị bệnh" có nghĩa là lượng đủ để điều trị bệnh có hiệu quả khi được sử dụng cho bệnh nhân cần điều trị.

Thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" được dùng trong bản mô tả này có nghĩa là việc điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khỏe (như COPD hoặc bệnh hen) của bệnh nhân, như, động vật có vú (ví dụ, người), bao gồm biện pháp điều trị bất kỳ trong số các biện pháp điều trị sau hoặc sự kết hợp các biện pháp điều trị này:

(a) ngăn ngừa sự xuất hiện của bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ, tức là điều trị phòng ngừa bệnh cho bệnh nhân;

(b) cải thiện tình trạng bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ, tức là loại trừ hoặc làm thuyên giảm bệnh, các rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ của bệnh nhân;

(c) ngăn chặn bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ, tức là làm chậm hoặc ngăn chặn sự phát triển của bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ của bệnh nhân; hoặc

(d) làm giảm bớt triệu chứng của bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ của bệnh nhân.

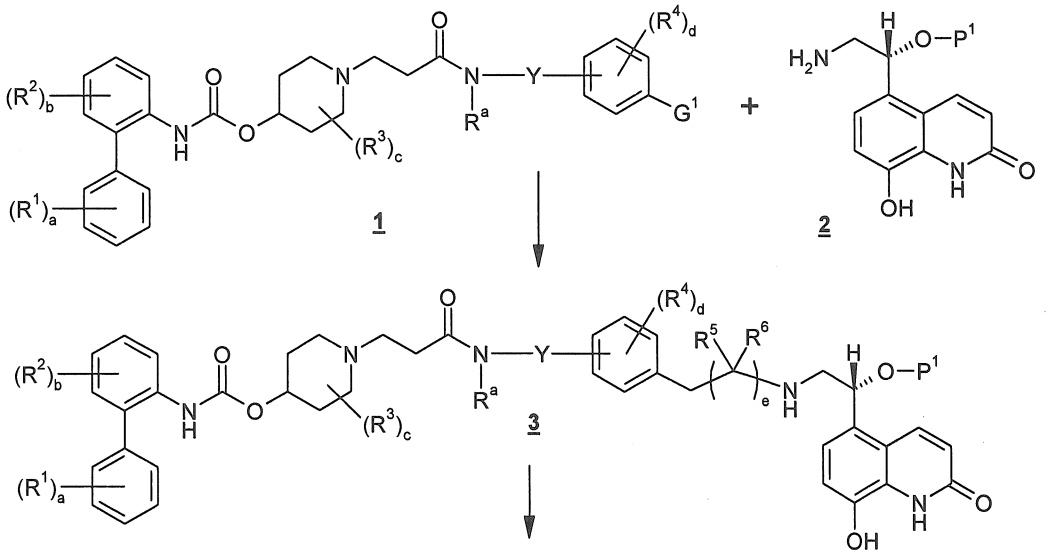
Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này hiểu tất cả các thuật ngữ được sử dụng ở đây theo nghĩa thông thường của chúng.

Quy trình tổng hợp chung

Hợp chất theo sáng chế, và chất trung gian của nó, có thể được điều chế theo các phương pháp và quy trình chung sau bằng cách sử dụng chất ban đầu và chất phản ứng có sẵn trên thị trường hoặc được điều chế thông thường. Các phần tử thế và biến số (ví dụ, R^1, R^2, Y, a, b, v.v..) được sử dụng trong các Sơ đồ sau có nghĩa giống như nghĩa của các phần tử thế và biến số đã được xác định trong bản mô tả, trừ khi có quy định khác. Ngoài ra, các hợp chất có nguyên tử axit hoặc bazơ hoặc nhóm chức có thể được sử dụng hoặc có thể được điều chế ở dạng muối trừ khi có quy định khác (trong một số trường hợp, việc sử dụng muối trong phản ứng cụ thể sẽ yêu cầu chuyển hóa muối thành dạng không phải là muối, ví dụ, bazơ tự do, bằng cách sử dụng các quy trình thông thường trước khi thực hiện phản ứng).

Sơ đồ 1 minh họa quy trình thông thường để điều chế hợp chất có công thức I (trong đó R^6 là hydro):

Sơ đồ 1



Công thức I

trong đó:

G^1 là –CHO hoặc $–CH_2C(O)R^5$; và

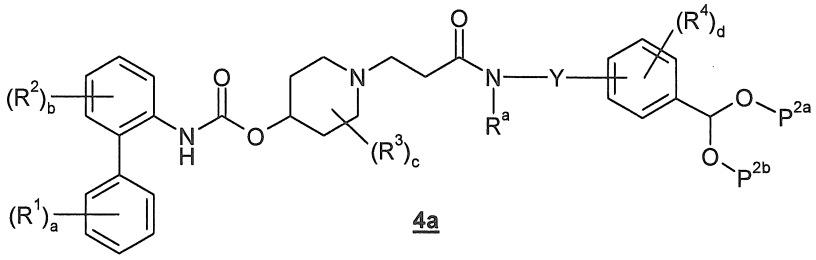
P^1 là nhóm bảo vệ hydroxyl, như *tert*-butyldimetylsilyl.

Trong quy trình này, hợp chất **1** được phản ứng với khoảng từ 0,95 đến 1,5 đương lượng mol hợp chất **2** với sự có mặt của tác nhân khử để thu được hợp chất **3**. Tác nhân khử thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng trong phản ứng này bao gồm, chỉ nhằm mục đích minh họa, chất phản ứng hydrua kim loại, như natri bohydrua, natri triaxetoxybohydrua, natri xyanobohydrua và các nhóm tương tự khác, hoặc hydro và chất xúc tác kim loại, như paladi trên cacbon, và các nhóm tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ –20°C đến 30°C (ví dụ, khoảng từ 0°C đến 5°C) trong khoảng từ 1 giờ đến 6 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như diclometan (DCM), dicloetan và các nhóm tương tự khác. Một cách tùy ý, chất pha loãng có thể chứa dung môi protic, như metanol và các nhóm tương tự khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

Theo cách khác, nếu muốn, hỗn hợp phản ứng chứa hợp chất **3** có thể được sử dụng trực tiếp trong bước tổng hợp tiếp theo mà không cần tách hoặc tinh chế thêm.

Hợp chất **3** tiếp đó được khử bảo vệ để tạo ra hợp chất có công thức I. Các điều kiện cụ thể được sử dụng để khử bảo vệ hợp chất **3** sẽ phụ thuộc vào nhóm bảo vệ được sử dụng. Ví dụ, khi P^1 là nhóm bảo vệ silyl, như *tert*-butyldimetylsilyl, *tert*-butyldiphenylsilyl, diphenylmetylsilyl, di-*tert*-buylmetylsilyl, *tert*-butoxydiphenylsilyl, và các nhóm tương tự khác (tức là, hợp chất có công thức **3a** như được xác định ở đây), phản ứng khử bảo vệ này thường được thực hiện bằng cách cho hợp chất **3** tiếp xúc với nguồn ion florua. Theo phương án cụ thể, nguồn ion florua là trietylamin trihydroflorua. Nguồn ion florua thích hợp khác bao gồm tetrabutylamoni florua, kali florua với 18-crown-6, hydro florua, pyridin hydroflorua, và các nhóm tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 50°C, (ví dụ, khoảng từ 10°C đến 25°C) trong khoảng từ 24 đến 72 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như DCM, dicloetan và các nhóm tương tự khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

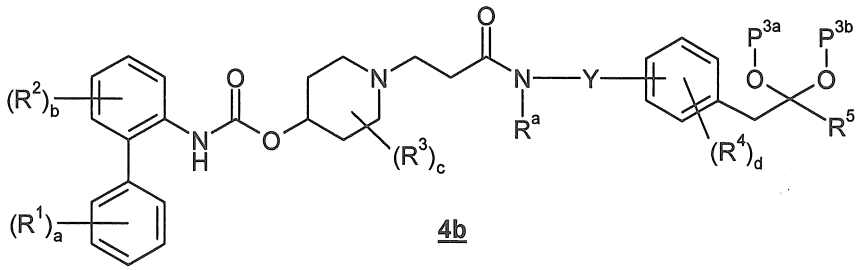
Hợp chất có công thức **1** thường được điều chế bằng cách khử bảo vệ chất trung gian axetal hoặc ketal tương ứng. Ví dụ, khi G^1 là –CHO, hợp chất có công thức **1** thường được điều chế bằng cách khử bảo vệ chất trung gian có công thức **4a**:



4a

trong đó P^{2a} và P^{2b} độc lập được chọn từ C_{1-6} alkyl, hoặc P^{2a} và P^{2b} được liên kết để tạo thành C_{2-6} alkylen, thường là C_{2-4} alkylen.

Tương tự, khi G^1 là $-CH_2C(O)R^5$, hợp chất có công thức **1** thường được điều chế bằng cách khử bảo vệ chất trung gian có công thức **4b**:

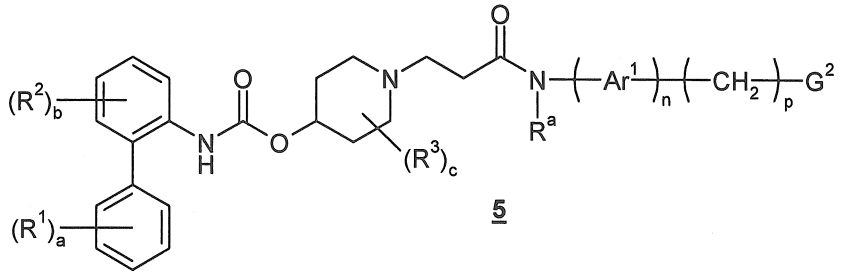


4b

trong đó P^{3a} và P^{3b} độc lập được chọn từ C_{1-6} alkyl, hoặc P^{3a} và P^{3b} được liên kết để tạo thành C_{2-6} alkylen, thường là C_{2-4} alkylen.

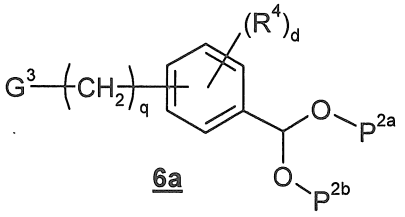
Việc khử bảo vệ hợp chất **4a** hoặc **4b** thường được thực hiện bằng cách cho hợp chất **4a** hoặc **4b** phản ứng với nước axit để thủy phân nhóm axetal hoặc ketal và tạo ra hợp chất aldehyt hoặc keton tương ứng **1**. Axit thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng trong phản ứng này bao gồm, ví dụ, axit clohydric, axit sulfuric, axit metansulfonic, axit *p*-toluensulfonic và các axit tương tự khác. Phản ứng thủy phân thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 30°C (ví dụ, khoảng từ 20°C đến 25°C) trong khoảng 1 giờ đến 6 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như metanol, etanol, isopropanol, diclometan/etanol, axetonitril và các chất tương tự khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác. Theo cách khác, hỗn hợp phản ứng chứa hợp chất **1** có thể được sử dụng trực tiếp trong bước tổng hợp tiếp theo.

Hợp chất có công thức **4a** hoặc **4b** thường được điều chế bằng cách kết hợp hợp chất có công thức **5**:

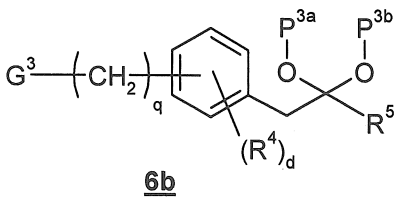


5

với hợp chất có công thức **6a** hoặc **6b**:



6a



6b

trong đó:

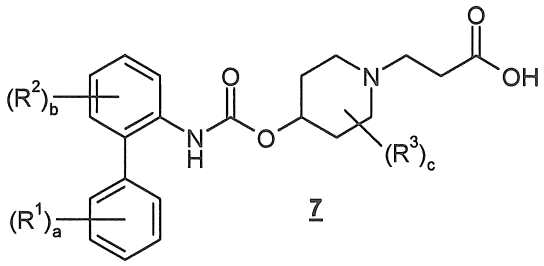
G^2 là $-NH_2$ và G^3 là –COOH; hoặc G^2 là –COOH và G^3 là $-NH_2$,

Phản ứng kết hợp giữa hợp chất **5** và hợp chất **6a** hoặc **6b** để tạo thành hợp chất **4a** hoặc **4b** thường được thực hiện bằng cách sử dụng chất phản ứng kết hợp axit carboxylic – amin. Chất phản ứng kết hợp axit carboxylic – amin thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng trong phản ứng này bao gồm, chỉ nhằm mục đích minh họa, benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimetylamino)phosphoni hexaflophosphat (BOP); N,*N*'-carbonyldiimidazol (CDI); dixyclohexylcarbodiimit (DCC); 3-(dietoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on (DEPBT); 1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimit hydroclorua (EDC HCl); 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat (HATU); 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni hexaflophosphat (HBTU); 2-(6-clo-1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametylaminium hexaflophosphat (HCTU); 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (HOAt); *N*-hydroxybenzotriazol (HOBt); benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBOP); bromo-tris-pyrolidinophosphoni hexaflophosphat (PyBrOP); *O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)-*N*,*N*,*N*',*N*'-tetrametyluroni tetrafloborat (TATU); 2-(1H-benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetrametyluroni tetrafloborat (TBTU); N,*N*,*N*',*N*'-tetrametyl-*O*-(3,4-dihydro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-yl)urani tetrafloborat (TDBTU); *O*-(*N*-sucxinimidyl)-1,1,3,3-tetrametyl urani tetrafloborat (TSTU); và hỗn hợp của chúng, như EDC và HOBt.

Phản ứng kết hợp thường được thực hiện bằng cách cho khoảng từ 0,95 đến 1,5 đương lượng mol hợp chất amin (**5**, khi G^2 là $-NH_2$; hoặc **6a** hoặc **6b** khi G^3 là -

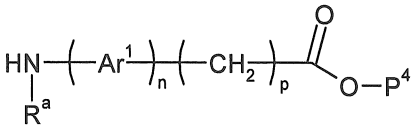
NH_2) phản ứng với axit carboxylic (**5**, khi G^2 là –COOH; hoặc **6a** hoặc **6b** khi G^3 là –COOH) với sự có mặt của chất phản ứng kết hợp. Chất phản ứng kết hợp thường được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 1,5 đương lượng mol tương ứng với axit carboxylic. Thông thường, phản ứng này được thực hiện với sự có mặt của amin gây cản trở, như diisopropyletylamin (DIEA), *N*-metylmorpholin (NMM), colidin, 2,3,5,6-tetrametylpyridin (TEMP), 2,6-di-tert-butyl-4-dimetylaminopyridin (DBDMAP) và các chất tương tự khác, trong chất pha loãng, như diclometan, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, axetonitril, dimetylformamit, dimetyl axetamit, *N*-metylpyrolidon hoặc hỗn hợp của chúng. Phản ứng thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -20°C đến 50°C (ví dụ, khoảng từ 20°C đến 25°C) trong khoảng từ 1 đến 30 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

Hợp chất có công thức **5** thường được điều chế bằng cách kết hợp hợp chất có công thức **7**:

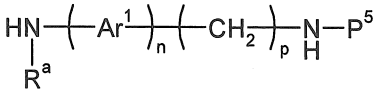


7

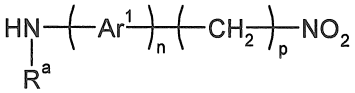
với hợp chất có công thức **8a**, **8b** hoặc **8c**:



8a



8b



8c

trong đó P^4 là nhóm bảo vệ carboxyl (như C_{1-6} alkyl, bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl và các nhóm tương tự khác; hoặc benzyl); và P^5 là nhóm bảo vệ amino (như BOC, Fmoc, Cbz và các nhóm tương tự khác). Khi hợp chất có công thức **8c** được sử dụng, nhóm nitro được khử tiếp thành nhóm amin bằng cách sử dụng chất phản ứng và quy trình tiêu chuẩn, như kim loại kẽm, thiếc hoặc sắt và axit (như axit axetic, axit clohydric và các axit tương tự khác), hoặc hydro hóa xúc tác. Theo phương án này, p thường là 0.

Hợp chất có công thức **8a**, **8b** và **8c** là có sẵn trên thị trường, đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng những biến thể thông thường của các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Hợp chất có công thức **8a** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, metyl 4-(metylamino)butyrat, metyl 5-(metylamino)pentanoat, metyl 3-(metylamino)benzoat, metyl 4-(metylamino)benzoat, metyl 3-(metylamino)-4-metylbenzoat, metyl [3-(metylamino)phenyl]axetat và các nhóm tương tự khác.

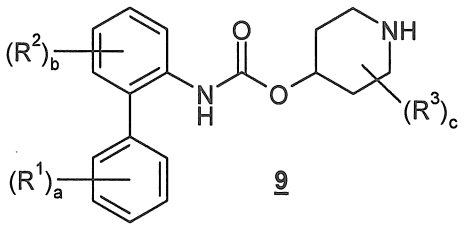
Hợp chất có công thức **8b** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, tert-butyl este của axit (3-metylaminopropyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (3-metylaminopropyl)carbamic, tert-butyl este của axit (4-metylaminobutyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (4-metylaminobutyl)carbamic, tert-butyl este của axit (3-metylaminophenyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (3-metylaminophenyl)carbamic, tert-butyl este của axit (4-metylaminophenyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (4-metylaminophenyl)carbamic, tert-butyl este của axit (3-metylaminobenzyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (3-metylaminobenzyl)carbamic, tert-butyl este của axit (4-metylaminobenzyl)carbamic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (4-metylaminobenzyl)carbamic, và các chất tương tự khác.

Hợp chất có công thức **8c** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, *N*-metyl-3-nitroanilin, *N*-metyl-4-nitroanilin, *N*-etyl-3-nitroanilin, *N*-etyl-4-nitroanilin, và các chất tương tự khác.

Phản ứng kết hợp axit carboxylic – amin giữa hợp chất **7** và hợp chất **8a** hoặc **8b** để tạo thành hợp chất **5** thường được thực hiện bằng cách sử dụng các chất phản

ứng và các điều kiện phản ứng được mô tả ở đây để kết hợp axit carboxylic và amin (ví dụ, hợp chất **5** và hợp chất **6a** hoặc **6b**). Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

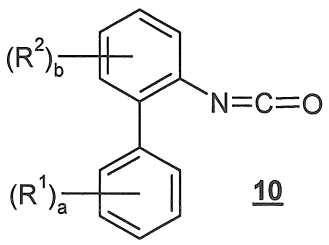
Hợp chất có công thức **7** thường được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức **9**:



9

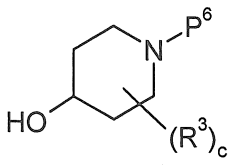
phản ứng với khoảng từ 0,95 đến 1,5 đương lượng mol axit acrylic. Phản ứng này thường được thực hiện trong chất pha loãng, như diclometan, ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 70°C (ví dụ, khoảng 50°C) trong khoảng từ 6 đến 30 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

Hợp chất có công thức **9** là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng những biến thể thông thường của các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các quy trình để điều chế các hợp chất này được tìm thấy trong công bố đơn yêu cầu cấp Patent Mỹ số U.S. 2004/0167167 A1 và R. Naito et al., *Chem. Pharm. Bull.*, 46(8) 1286-1294 (1998). Để minh họa, hợp chất có công thức **9** thường được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức **10**:



10

phản ứng với rượu có công thức **11**:



11

trong đó P^6 là nhóm bảo vệ amino, như benzyl, BOC, Fmoc, Cbz và các nhóm tương tự khác.

Hợp chất có công thức **10** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, 2-(phenyl)phenyl isoxyanat, 2-(phenyl)-5-metylphenyl isoxyanat, 2-(3-clophenyl)-4,6-diflophenyl isoxyanat, 2-(phenyl)-6-flophenyl isoxyanat, 2-(phenyl)-5-bromophenyl isoxyanat, 2-(4-bromophenyl)-5-bromophenyl isoxyanat, 2-(phenyl)-4-metoxyphenyl isoxyanat, 2-(4-metoxyphenyl)phenyl isoxyanat, 2-(phenyl)-5-metoxyphenyl isoxyanat, và các chất tương tự khác.

Hợp chất có công thức **11** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, 4-hydroxy-1-benzylpiperidin, tert-butyl este của axit 4-hydroxypiperidin-1-carboxylic, 9H-floren-9-ylmetyl este của axit 4-hydroxypiperidin-1-carboxylic, 4-hydroxy-4-metyl-1-benzylpiperidin, 2-benzyl-2-azabixyclo[2.2.1]heptan-5-ol, 2-benzyl-2-azabixyclo[2.2.2]octan-5-ol, 8-benzyl-8-azabixyclo[3.2.1]oct-6-en-3-ol, 3-benzyl-3-azabixyclo[3.2.1]octan-8-ol, 8-benzyl-8-azabixyclo[3.2.1]octan-3-ol, 3-benzyl-3-azabixyclo[3.3.1]nonan-9-ol, 9-benzyl-9-azabixyclo[3.3.1]nonan-3-ol, 8-benzylnortropin, 8-benzylnorpseudotropin, và các chất tương tự khác.

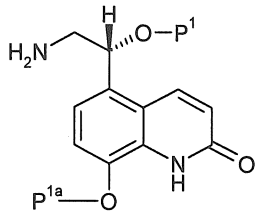
Phản ứng này thường được thực hiện bằng cách cho hợp chất **10** phản ứng với khoảng từ 0,95 đến 1,2 đương lượng mol hợp chất **11** ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 100°C (ví dụ, khoảng từ 60°C đến 80°C) trong khoảng từ 6 đến 24 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Nếu muốn, phản ứng này có thể được thực hiện trong chất pha loãng, như diclometan, toluen và các chất tương tự khác. Theo cách khác, phản ứng này có thể được thực hiện mà không có mặt chất pha loãng. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác. Theo

cách khác, hỗn hợp phản ứng được sử dụng trực tiếp trong bước tổng hợp tiếp theo mà không cần tách sản phẩm.

Nhóm bảo vệ amino, P^6, tiếp đó được loại bỏ bằng cách sử dụng các quy trình thông thường để thu được hợp chất **9**. Ví dụ, khi P^6 là nhóm benzyl, phản ứng khử bảo vệ thường được thực hiện bằng cách sử dụng hydro hoặc amoni format, với sự có mặt của chất xúc tác, như chất xúc tác paladi. Chất xúc tác tiêu biểu bao gồm, ví dụ, paladi trên cacbon, paladi hydroxit trên cacbon và các chất tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 50°C (ví dụ, khoảng 40°C) trong khoảng từ 6 đến 24 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như metanol, etanol, isopropanol và các chất tương tự khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, hợp chất **9** thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

Hợp chất có công thức **2** là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế từ các chất ban đầu và chất phản ứng có sẵn trên thị trường bằng cách sử dụng các quy trình đã biết. Ví dụ, điều chế hợp chất có công thức **2**, trong đó P^1 là tert-butyldimetylsilyl, được mô tả trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931, công bố ngày 16.02.2006. Các nhóm bảo vệ khác mà có thể được sử dụng đối với P^1 bao gồm, ví dụ, dimetylisopropylsilyl, dietylisopropylsilyl, dimetylhexylsilyl, *tert*-butyldiphenylsilyl, diphenylmetylsilyl và các chất tương tự khác.

Ngoài ra, nếu muốn, nhóm hydroxyl có công thức **2** còn có thể được bảo vệ, tức là, hợp chất có công thức **2a** có thể được sử dụng:

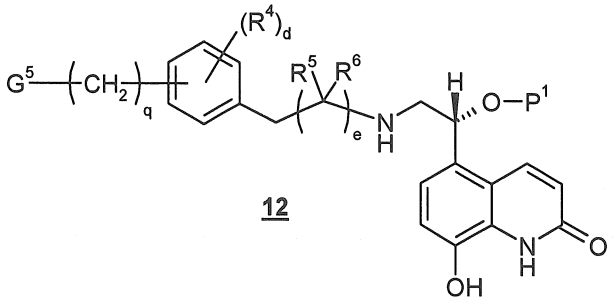


2a

trong đó P^{1a} là nhóm bảo vệ hydroxyl, như nhóm benzyl hoặc 4-metoxybenzyl. Ví dụ, điều chế hợp chất có công thức **2a**, trong đó P^1 là tert-butyldimetylsilyl và nhóm

hydroxyl được bảo vệ là nhóm 4-metoxybenzyl được mô tả trong WO 2008/096129. Khi **2a** được sử dụng, các chất trung gian như **3**, **12** và các chất tương tự khác, thường chứa nhóm P^{1a}. P^{1a} được loại bỏ tiếp bằng cách sử dụng các quy trình và chất phản ứng thông thường. Ví dụ, khi P^{1a} là nhóm benzyl, phản ứng khử bảo vệ thường được thực hiện bằng cách sử dụng hydro hoặc amoni format, với sự có mặt của chất xúc tác, như chất xúc tác paladi. Khi P^{1a} là 4-metoxybenzyl, nhóm này có thể được loại bỏ trong các điều kiện thủy phân axit, như TFA 30% trong DCM.

Theo cách khác, hợp chất có công thức I được điều chế bằng cách kết hợp hợp chất có công thức **5** với hợp chất có công thức **12**:

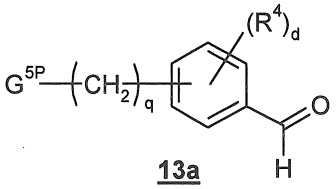


12

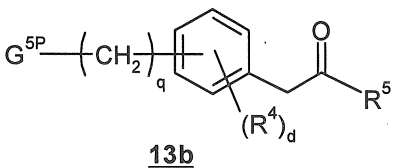
trong đó G^5 là –COOH (khi G^2 là $–NH_2$); hoặc G^5 là $–NH_2$ (khi G^2 là –COOH).

Phản ứng kết hợp axit carboxylic – amin giữa hợp chất **5** và hợp chất **12** thường được thực hiện bằng cách sử dụng các chất phản ứng và các điều kiện phản ứng được mô tả ở đây để kết hợp axit carboxylic và amin (ví dụ, hợp chất **5** và hợp chất **6a** hoặc **6b**). Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác. Việc khử bảo vệ sản phẩm tạo thành (ví dụ, loại bỏ P^1) bằng cách sử dụng các chất phản ứng và điều kiện tiêu chuẩn sẽ tạo ra hợp chất có công thức I.

Hợp chất có công thức **12** được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức **2** phản ứng với hợp chất có công thức **13a** hoặc **13b**:



13a



13b

với sự có mặt của tác nhân khử; trong đó G^{5P} được chọn từ:

–$COOP^7$, trong đó P^7 là nhóm bảo vệ carboxyl (như C_{1-6} alkyl, bao gồm metyl, etyl, *n*-propyl và các chất tương tự khác; hoặc benzyl); và

–NHP^8, trong đó P^8 là nhóm bảo vệ amino (như BOC, Fmoc, Cbz và các chất tương tự khác). Theo cách khác, G^{5P} là nhóm nitro, hoặc G^{5P}-$(CH_2)_q$- là NC-$(CH_2)_{q-1}$-, trong đó nhóm nitro hoặc nhóm xyano được khử tiếp thành nhóm amin bằng cách sử dụng chất phản ứng và quy trình tiêu chuẩn.

Phản ứng của hợp chất **2** với hợp chất **13a** hoặc **13b** thường được thực hiện bằng cách sử dụng các chất phản ứng và các điều kiện phản ứng được mô tả ở đây để alkyl hóa khử amin bằng aldehyt hoặc keton (ví dụ, hợp chất **1** và hợp chất **2**). Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

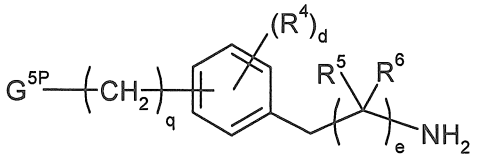
Hợp chất có công thức **13a** và **13b** là có sẵn trên thị trường, đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng những biến thể thông thường của các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật.

Hợp chất có công thức **13a** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, metyl 3-formylbenzoat, metyl 4-formylbenzoat, metyl (3-formylphenyl)axetat, metyl (4-formylphenyl)axetat, metyl 3-(3-formylphenyl)propionat, metyl 3-(4-formylphenyl)propionat, tert-butyl este của axit (3-formylphenyl)carbamic, tert-butyl este của axit (4-formylphenyl)carbamic, tert-butyl este của axit (3-formylbenzyl)carbamic, tert-butyl este của axit (4-formylbenzyl)carbamic, tert-butyl este của axit [2-(3-formylphenyl)etyl]carbamic, tert-butyl este của axit [2-(4-formylphenyl)etyl]carbamic, và các chất tương tự khác.

Hợp chất có công thức **13b** tiêu biểu bao gồm, ví dụ, metyl 3-(2-oxoetyl)benzoat, metyl 4-(2-oxoetyl)benzoat, metyl [3-(2-oxoetyl)phenyl]axetat, metyl [4-(2-oxoetyl)phenyl]axetat, metyl 3-[3-(2-oxoetyl)phenyl]propionat, metyl 3-[4-(2-oxoetyl)phenyl]propionat, 2-(3-*tert*-butoxycarbonylaminophenyl)axetaldehyt, 2-(4-*tert*-butoxycarbonylaminophenyl)-axetaldehyt, 2-[3-(*tert*-butoxycarbonylaminometyl)phenyl]axetaldehyt, 2-[4-(*tert*-

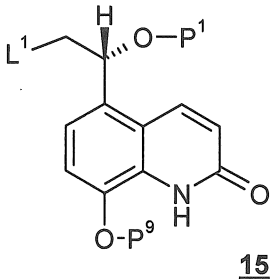
butoxycarbonylaminometyl)phenyl]axetaldehyt, 2-{3-[2-(*tert*-butoxycarbonylamino)-etyl]phenyl}axetaldehyt, 2-{4-[2-(*tert*-butoxycarbonylamino)etyl]phenyl}-axetaldehyt, và các chất tương tự khác.

Hợp chất trung gian có công thức **12** còn có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức **14**:



14

phản ứng với hợp chất có công thức **15**:



15

trong đó L^1 là nhóm rời chuyển, như clo, bromo, iodo, tosyl, nosyl và các chất tương tự khác; và P^9 là nhóm bảo vệ hydroxyl, như benzyl và các chất tương tự khác. Sản phẩm tạo thành tiếp đó được khử bảo vệ một phần (bằng cách loại bỏ P^7 hoặc P^8, và P^9) để tạo ra hợp chất có công thức **12**.

Phản ứng của hợp chất **14** với hợp chất **15** thường được thực hiện bằng cách cho hợp chất **14** phản ứng với khoảng từ 0,95 đến 1,1 đương lượng mol hợp chất **15** với sự có mặt của lượng dư bazơ. Bazơ tiêu biểu bao gồm, ví dụ, natri bicacbonat, natri cacbonat, kali bicacbonat, kali cacbonat, trialkyamin (như trietylamin, diisopropyletylamin, v.v.) và các chất tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20°C đến 120°C, (ví dụ, khoảng 100°C) trong khoảng từ 2 đến 24 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như *N*-metyl-pyrolidinon,

axetonitril và các chất tương tự khác. Nếu muốn, phản ứng này có thể được tạo thuận lợi bằng cách đưa hỗn hợp phản ứng vào chiếu xạ vi sóng (ví dụ, 300 oát). Phản ứng còn có thể được thực hiện nguyên chất, tức là, không có mặt chất pha loãng. Ngoài ra, nếu muốn, một lượng dư amin **14** có thể được sử dụng thay cho bazơ khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm thường được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác.

Sản phẩm tạo thành tiếp đó được khử bảo vệ một phần (tức là, P^7 hoặc P^8 được loại bỏ; và P^9 được loại bỏ, nếu muốn) để tạo ra hợp chất có công thức **12**. Các điều kiện cụ thể được sử dụng để loại bỏ nhóm bảo vệ sẽ phụ thuộc vào các nhóm cụ thể được dùng. Ví dụ, khi P^7 là C_{1-6} alkyl, các nhóm này thường được loại bỏ bằng cách thủy phân nhóm este bằng bazơ, như, lithi hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit và các chất tương tự khác, trong chất pha loãng, như hỗn hợp của metanol và nước và các chất tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ môi trường trong khoảng 30 phút đến 24 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Khi P^8 là nhóm tert-butoxycarbonyl, nhóm này thường được loại bỏ trong các điều kiện thủy phân axit, như axit trifloaxetic 20% trong DCM ở nhiệt độ môi trường. Khi P^9 là nhóm benzyl, nhóm này được loại bỏ dễ dàng bằng cách thủy phân. Thông thường, phản ứng này được thực hiện bằng cách cho hợp chất tiếp xúc với hydro với sự có mặt của chất xúc tác, như chất xúc tác paladi. Các chất xúc tác tiêu biểu bao gồm paladi hydroxit trên cacbon, paladi trên cacbon, và các chất tương tự khác. Nói chung, phản ứng khử benzyl hóa này được thực hiện với sự có mặt của axit, như axit axetic, axit formic và các chất tương tự khác. Phản ứng này thường được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10°C đến 50°C (ví dụ khoảng 25°C) trong khoảng từ 6 đến 24 giờ hoặc cho đến khi phản ứng gần như hoàn thành. Thông thường, phản ứng này được thực hiện trong chất pha loãng, như metanol, etanol và các chất tương tự khác. Sau khi hoàn thành phản ứng, sản phẩm có thể được tách ra bằng cách sử dụng các quy trình thông thường, như chiết, tái kết tinh, sắc ký và các quy trình tương tự khác, hoặc được sử dụng trực tiếp trong phản ứng tiếp theo.

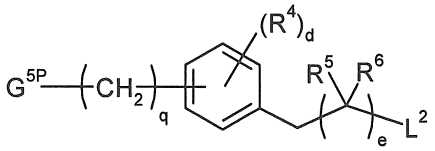
Hợp chất có công thức **14** là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế từ các chất ban đầu và chất phản ứng có sẵn trên thị trường bằng cách

sử dụng các quy trình đã biết. Ví dụ, hợp chất có công thức **14** có thể được điều chế bằng cách cho hợp chất **13a** hoặc **13b** phản ứng với benzyl amin trong các điều kiện alkyl hóa khử và rồi loại bỏ nhóm benzyl bằng cách thủy phân để thu được hợp chất có công thức **14**. Benzyl amin tiêu biểu mà có thể được sử dụng bao gồm, benzyl amin, (*S*)-1-phenyletylamin, (*R*)-1-phenyletylamin, và các chất tương tự khác. Cụ thể, benzyl amin bất đối là hữu hiệu để điều chế các chất trung gian có công thức **14** trong đó R^5 có mặt (tức là, e = 1) và nguyên tử cacbon atom mà R^5 được gắn vào đó có hóa học lập thể cụ thể (tức là, *R* hoặc *S*).

Ngoài ra, hợp chất có công thức **14** trong đó R^5 và R^6 độc lập là metyl hoặc etyl (tức là, không phải hydro) là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng các quy trình thông thường như được minh họa bằng các giải pháp trong các công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2005/0171147 A1, được công bố ngày 4.8.2005; công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2005/0277632 A1, được công bố ngày 15.12.2005; WO 2005/092861 A1, được công bố ngày 6.10.2005; và các chất tương tự khác.

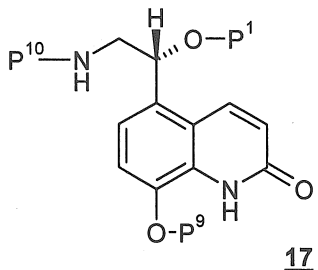
Hợp chất có công thức **15** cũng đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế từ các chất ban đầu và chất phản ứng có sẵn trên thị trường bằng cách sử dụng các quy trình đã biết. Ví dụ, điều chế hợp chất có công thức **15**, trong đó L^1 là brom; P^1 là tert-butyldimetylsilyl, và P^9 là benzyl được mô tả trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931, được công bố ngày 16.02.2006.

Theo cách khác, hợp chất có công thức **12** được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức **16**:



16

phản ứng với hợp chất có công thức **17**:



17

trong đó L^2 là nhóm rời chuyển, như clo, bromo, iodo, tosyl, nosyl và các chất tương tự khác; và P^{10} là nhóm bảo vệ amino, như benzyl và các chất tương tự khác. Theo phương án này, R^5 và R^6 khi có mặt, thường là hydro. Phản ứng này được thực hiện trong các điều kiện tương tự như các điều kiện được mô tả đối với phản ứng của hợp chất **14** và **15**. Hợp chất có công thức **16** và **17** là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc có thể được điều chế từ các chất ban đầu và chất phản ứng có sẵn trên thị trường bằng cách sử dụng các quy trình đã biết. Ví dụ, điều chế hợp chất có công thức **17**, trong đó P^1 là tert-butyldimetylsilyl, P^9 là benzyl, và P^{10} là benzyl được mô tả trong công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931, được công bố ngày 16.02.2006.

Nếu muốn, muối dược dụng của hợp chất có công thức I được điều chế bằng cách cho dạng bazơ tự do của hợp chất có công thức I tiếp xúc với axit dược dụng.

Chi tiết hơn về các điều kiện phản ứng cụ thể và các quy trình khác để điều chế các hợp chất tiêu biểu theo sáng chế hoặc chất trung gian của nó được mô tả trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế dưới đây.

Dược phẩm, hỗn hợp và chế phẩm

Hợp chất có công thức I có thể được bào chế cùng với chất mang hoặc tá dược để tạo thành dược phẩm hoặc chế phẩm. Dược phẩm này thường chứa hợp chất có công thức I với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, dược phẩm có thể chứa lượng nhiều hơn lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị, ví dụ, chế phẩm khối lớn cô đặc; hoặc lượng ít hơn lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị, ví dụ mỗi liều đơn vị được thiết kế để dùng nhiều lần để đạt được lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị.

Dược phẩm thường chứa hợp chất có công thức I với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 95% trọng lượng, ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,01 đến 30% trọng lượng;

hoặc nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10% trọng lượng; hoặc nằm trong khoảng từ 0,01 đến 1% trọng lượng.

Dược phẩm này thường được điều chế bằng cách sử dụng chất mang hoặc tá dược thông thường. Việc lựa chọn tá dược hoặc chất mang cụ thể, hoặc hỗn hợp các chất mang hoặc tá dược, phụ thuộc vào các yếu tố khác nhau như cách dùng thuốc phẩm, để điều trị cho bệnh nhân cụ thể hoặc tình trạng bệnh lý hoặc tình trạng bệnh liên quan đến sức khỏe đang được điều trị. Nhiều chất mang và tá dược thích hợp để bào chế dược phẩm là có sẵn trên thị trường. Ví dụ, các chất này có thể được mua của Sigma (St. Louis, MO). Các quy trình và chất để bào chế dược phẩm thích hợp đối với cách dùng thuốc cụ thể được mô tả trong lĩnh vực dược bao gồm, ví dụ *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); và H.C. Ansel et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Các ví dụ tiêu biểu về các chất có thể được dùng như các chất mang dược dụng bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, các chất sau: (1) đường, như lactoza, glucoza và sucroza; (2) tinh bột, như tinh bột ngô và tinh bột khoai tây; (3) xenluloza, và các dẫn xuất của nó, như natri carboxymetyl xenluloza, etyl xenluloza và xenluloza axetat; (4) tragacan dạng bột; (5) mạch nha; (6) gelatin; (7) bột đá talc; (8) các tá dược, như bơ cacao và sáp dùng cho thuốc đạn; (9) dầu, như, dầu lạc, dầu hạt bông, dầu rum, dầu vừng, dầu oliu, dầu ngô và dầu đậu tương; (10) glycol, như, propylen glycol; (11) các polyol, như, glyxerin, sorbitol, manitol và polyetylen glycol; (12) các este, như, etyl oleat và etyl laurat; (13) aga; (14) các chất đệm, như, magie hydroxit và nhôm hydroxit; (15) axit alginic; (16) nước không sinh nhiệt; (17) muối đẳng trương; (18) dung dịch Ringer; (19) rượu etylic; (20) dung dịch đệm phosphat; (21) khí nén đẩy, như cloflocacbon và hydroflocacbon; và (22) các chất không độc thích hợp khác dùng trong dược phẩm.

Dược phẩm thường được bào chế bằng cách phối hợp hoặc trộn kỹ và cẩn thận hợp chất có công thức I với chất mang dược dụng và thành phần tuỳ ý khác. Nếu cần, hỗn hợp trộn đồng nhất tạo thành sau đó có thể được tạo hình hoặc được nén

thành viên nén, viên nang, viên tròn, hộp nhỏ, viên thuốc đạn, thể phân tán và các dạng tương tự khác bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường.

Theo một phương án, dược phẩm là thích hợp để sử dụng bằng cách xông. Dược phẩm để sử dụng bằng cách xông thường ở dạng sol khí hoặc dạng bột. Các dược phẩm này thường được dùng bằng cách sử dụng các cơ cấu phân tán đã biết, như máy xông khí dung, máy xông định liều (metered-dose inhaler: MDI), máy xông bột khô (dry powder inhaler: DPI) hoặc cơ cấu phân tán tương tự.

Theo phương án cụ thể, dược phẩm chứa tác nhân điều trị được sử dụng bằng cách xông sử dụng máy xông khí dung. Cơ cấu khí dung này thường tạo ra dòng không khí có vận tốc cao, dòng khí này sẽ làm cho dược phẩm chứa tác nhân điều trị phun dưới dạng sương mà được thực hiện vào dải hộ hấp của bệnh nhân. Do đó, khi được bào chế để sử dụng trong máy xông khí dung, tác nhân điều trị thường được hòa tan trong chất mang thích hợp để tạo ra dung dịch. Theo cách khác, tác nhân điều trị có thể được micron hóa và được kết hợp với chất mang thích hợp để tạo ra huyền phù chứa các hạt được micron hóa. Các cơ cấu khí dung thích hợp để sử dụng tác nhân điều trị bằng cách xông được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc các cơ cấu mà có sẵn trên thị trường. Ví dụ, các cơ cấu hoặc sản phẩm khí dung tiêu biểu bao gồm Respimat Softmist Inhalaler (Boehringer Ingelheim); AERx Pulmonary Delivery System (Aradigm Corp.); PARI LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH); và các loại tương tự khác.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong máy xông khí dung gồm dung dịch trong nước đẳng trương chứa hợp chất có công thức I với lượng nằm trong khoảng từ 0,05μg/ml đến 10mg/ml. Theo một phương án, dung dịch có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 6.

Theo phương án cụ thể khác, dược phẩm chứa tác nhân điều trị được dùng bằng cách xông sử dụng máy xông bột khô. Máy xông bột khô này thường sử dụng tác nhân điều trị dưới dạng bột chảy tự do, bột này phân tán vào dòng khí trong bệnh nhân trong khi xông vào. Để thu được bột chảy tự do, tác nhân điều trị thường được bào chế cùng với tá dược thích hợp như lactoza, tinh bột, manitol, dextroza, axit polylactic (PLA), polylactit-co-glycolit (PLGA) hoặc hỗn hợp của chúng. Thông

thường, tác nhân điều trị được micron hóa và được kết hợp với chất mang thích hợp để tạo ra hỗn hợp thích hợp để xông. Do đó, theo một phương án, hợp chất có công thức I là ở dạng micron hóa.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong máy xông bột khô chứa lactoza được nghiền khô và các hạt hợp chất có công thức I được micron hóa.

Chế phẩm bột khô này có thể được tạo ra, ví dụ, bằng cách kết hợp lactoza với tác nhân điều trị và tiếp đó trộn khô các thành phần. Theo cách khác, nếu muốn, tác nhân điều trị có thể được bào chế mà không cần tá dược. Dược phẩm này tiếp đó thường được nạp vào thiết bị phân tán bột khô, hoặc vào ống xông hoặc viên nang để sử dụng cùng với cơ cấu phân tán bột khô.

Cơ cấu phân tán bột khô thích hợp để sử dụng tác nhân điều trị bằng cách xông được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc các cơ cấu này là có sẵn trên thị trường. Ví dụ, cơ cấu hoặc sản phẩm phân tán bột khô tiêu biểu bao gồm Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Easyhaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certihaler (SkyePharma); Twisthaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZenca); Ultrahaler (Aventis); và các loại tương tự khác.

Theo phương án cụ thể khác nữa, dược phẩm chứa tác nhân điều trị được sử dụng bằng cách xông sử dụng máy xông định liều. Máy xông định liều này thường phóng ra một lượng tác nhân điều trị xác định trước bằng cách sử dụng khí đẩy được nén. Do đó, dược phẩm được dùng bằng cách sử dụng máy xông định liều thường bao gồm dung dịch hoặc hỗn dịch chứa tác nhân điều trị trong chất đẩy được lỏng hóa. Chất đẩy lỏng hóa thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng bao gồm hydrofloalkan (HFA), như 1,1,1,2-tetrafloetan (HFA 134a) và 1,1,1,2,3,3,3-heptaflo-*n*-propan, (HFA 227); và cloflocarbon, như CCl_3F. Theo phương án cụ thể, chất đẩy là hydrofloalkan. Theo một số phương án, chế phẩm hydrofloalkan chứa đồng dung môi, như etanol hoặc pentan, và/hoặc chất hoạt động bề mặt, như sorbitan trioleat, axit oleic, lexithin, và glyxerin.

Dược phẩm tiêu biểu để sử dụng trong máy xông định liệu chứa hợp chất có công thức I với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% trọng lượng; etanol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 20% trọng lượng; và chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% trọng lượng; với chất còn lại là chất đẩy HFA.

Các dược phẩm này thường được bào chế bằng cách cho hydrofloalkan đã được làm lạnh hoặc được nén áp vào đồ chứa thích hợp chứa tác nhân điều trị, etanol (nếu có) và chất hoạt động bề mặt (nếu có). Để điều chế hỗn dịch, tác nhân điều trị được micron hóa và tiếp đó được trộn với chất đẩy. Tiếp đó, dược phẩm này được nạp vào hộp khí dung, hộp này thường tạo ra một phần của cơ cấu xông định liều.

Cơ cấu xông định hiều thích hợp để dùng tác nhân điều trị bằng cách xông được mô tả trong lĩnh vực kỹ thuật này hoặc các cơ cấu này là có bán sẵn trên thị trường. Ví dụ, sản phẩm hoặc cơ cấu xông định liều tiêu biểu bao gồm AeroBid Inhaler System (Forest Pharmaceuticals); Atrovent Inhalation Aerosol (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); Maxair Inhaler (3M); Proventil Inhaler (Schering); Serevent Inhalation Aerosol (GlaxoSmithKline); và các loại tương tự khác.

Theo phương án khác, dược phẩm là thích hợp để sử dụng qua đường miệng. Dược phẩm để sử dụng qua đường miệng có thể ở dạng viên nang, viên nén, viên tròn, viên thuốc hình thoi, viên con nhộng, viên bao đường, dạng bột, viên cốm; hoặc dưới dạng dung dịch hoặc hỗn dịch trong nước hoặc chất lỏng không phải nước; hoặc dưới dạng nhũ tương dầu trong nước hoặc nước trong dầu; hoặc dưới dạng rượu ngọt hoặc xirô; và các dạng tương tự khác; mỗi dạng chứa hợp chất theo các phương án với lượng được xác định trước làm hoạt chất.

Khi được dự định để dùng qua đường miệng ở dạng liều rắn (tức là dưới dạng viên nang, viên nén, viên tròn và các dạng tương tự khác), dược phẩm thường chứa hợp chất có công thức I và một hoặc nhiều chất mang dược dụng, như natri xitrat hoặc dicanxi phosphat. Tuỳ ý hoặc theo cách khác, các dạng liều rắn này còn có thể chứa: (1) chất độn hoặc chất bổ sung, như tinh bột, lactoza, sucroza, glucoza, manitol, và/hoặc axit silixic; (2) chất gắn kết, như carboxymetylxenluloza, alginat, gelatin, polyvinyl pyrolidon, sucroza và/hoặc acaxia; (3) chất làm ẩm, như glyxerol; (4) tác

nhân gây rã, ví dụ aga-aga, canxi cacbonat, tinh bột khoai tây hoặc tinh bột bột sắn, axit alginic, một số silicat, và/hoặc natri cacbonat; (5) tác nhân làm chậm quá trình hoà tan, như parafin; (6) chất làm tăng quá trình hấp thụ, như hợp chất amoni bậc bốn; (7) tác nhân làm ẩm, như rượu xetylic và/hoặc glyxeron monostearat; (8) các chất hấp thụ, như cao lanh và/hoặc đất sét bentonit; (9) các chất làm trơn, ví dụ bột đá talc, canxi stearat, magie stearat, polyetylen glycol dạng rắn, natri lauryl sulfat, và/hoặc hỗn hợp của nó; (10) tác nhân tạo màu; và (11) tác nhân đệm.

Chất làm bay hơi, chất làm ẩm, chất bao, chất tạo ngọt, chất điều vị và chất tạo hương, chất bảo quản và chất chống oxy hoá cũng có thể có mặt trong dược phẩm. Ví dụ về chất chống oxy hoá dược dụng bao gồm: (1) chất chống oxy hoá hoà tan trong nước, như axit ascorbic, xystein hydroclorua, natri bisulfat, natri metabisulfat, natri sulfit và các chất tương tự; (2) chất chống oxy hoá tan trong dầu, như ascorbyl palmitat, hydroxyanisol được butyl hoá (BHA), hydroxytoluen được butyl hoá (BHT), lexithin, propyl galat, alpha-tocopherol và các chất tương tự; và (3) chất càng hoá kim loại, ví dụ axit xitric, axit etylendiamin tetraaxetic (EDTA), sorbitol, axit tartric, axit phosphoric và các chất tương tự. Chất bao cho viên nén, viên nang, viên tròn và các loại tương tự, bao gồm các chất được sử dụng để bao dùng trong đường ruột, như xenluloza axetat phtalat (CAP), polyvinyl axetat phtalat (PVAP), hydroxypropyl metylxenluloza phtalat, este copolyme của axit metacrylic – axit metacrylic, xenluloza axetat trimelitat (CAT), carboxymetyl etyl xenluloza (CMEC), hydroxypropyl metyl xenluloza axetat sucxinat (HPMCAS) và các chất tương tự khác.

Nếu muốn, dược phẩm cũng có thể được bào chế để tạo ra quá trình giải phóng hoạt chất chậm hoặc có kiểm soát bằng cách sử dụng, ví dụ hydroxypropyl metyl xenluloza với các tỷ lệ khác nhau; hoặc chất nền polyme, liposom và/hoặc vi cầu khác.

Ngoài ra, dược phẩm có thể tuỳ ý chứa chất cản sáng và có thể được bào chế sao cho hoạt chất được giải phóng chủ yếu trong một phần nhất định của dải dạ dày-ruột hoặc theo cách kéo dài. Ví dụ về các thành phần được đưa vào mà có thể được sử dụng bao gồm các chất polyme và sáp. Hoạt chất hoặc dược phẩm chứa hoạt chất còn có thể ở dạng được bao vi nang.

Dạng liều lỏng thích hợp để sử dụng qua đường miệng bao gồm, chỉ nhằm mục đích minh hoạ, nhũ tương, vi-nhũ tương, dung dịch, hỗn dịch, xirô và rượu ngọt dược dụng. Các dạng liều lỏng này thường chứa hoạt chất và chất pha loãng trơ, như, nước hoặc dung môi khác, chất hoà tan và chất nhũ hoá, như rượu etylic, rượu isopropylic, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzylic, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, dầu (như, dầu hạt bông, dầu lạc, dầu ngô, dầu mầm, dầu oliu, dầu thầu dầu và dầu vừng), glyxerol, rượu tetrahydrofurylic, polyetylen glycol và este của axit béo của soribtan và hỗn hợp của chúng. Ngoài hoạt chất, hỗn dịch còn có thể chứa chất tạo hỗn dịch như rượu isostearylic được etoxy hoá, polyoxyetylen sorbitol và este soribtan, xenluloza vi tinh thể, metahydroxit nhôm, bentonit, aga-aga và tragacan và hỗn hợp của chúng.

Khi được dự định để dùng qua đường miệng, dược phẩm có thể được bao gói thành dạng liều đơn vị. Thuật ngữ "dạng liều đơn vị" tức là đơn vị liều riêng biệt về mặt vật lý thích hợp để định liều cho bệnh nhân, tức là mỗi đơn vị chứa một lượng hoạt chất được định lượng trước được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn, riêng rẽ hoặc kết hợp với một hoặc nhiều đơn vị bổ sung khác. Ví dụ, dạng liều đơn vị này có thể là viên nang, viên nén, viên tròn và loại tương tự khác.

Hợp chất có công thức I còn có thể được dùng qua biểu bì bằng cách sử dụng hệ và tá dược giải phóng qua biểu bì đã biết. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được trộn với chất làm tăng cường độ thấm, như propylen glycol, polyetylen glycol monolaurat, azaxycloalkan-2-on và các chất tương tự khác, và được đưa vào một miếng dán hoặc hệ giải phóng tương tự. Tá dược bổ sung bao gồm chất keo hoá, chất nhũ hoá và chất đệm, có thể được sử dụng trong dược phẩm dùng qua biểu bì này, nếu cần.

Ngoài ra, hợp chất có công thức I có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa, tức là trong tĩnh mạch, dưới da hoặc trong cơ. Để sử dụng ngoài đường tiêu hóa, hợp chất có công thức I thường được hòa tan trong chất mang chấp nhận được để dùng ngoài đường tiêu hóa, như nước vô trùng, nước muối, dầu thực vật hoặc loại tương tự khác. Để minh họa, dược phẩm dùng trong tĩnh mạch thường chứa dung dịch nước vô trùng

của hợp chất có công thức I, trong đó dung dịch này có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7.

Nếu muốn, hợp chất có công thức I có thể được dùng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị khác. Theo khía cạnh này của sáng chế, hợp chất có công thức I được trộn về mặt vật lý với tác nhân điều trị khác để tạo ra chế phẩm chứa cả hai tác nhân; hoặc mỗi tác nhân có mặt trong các chế phẩm riêng rẽ và khác biệt, các chế phẩm này được sử dụng đồng thời hoặc liên tiếp cho bệnh nhân.

Ví dụ, hợp chất có công thức I có thể được kết hợp với tác nhân điều trị thứ hai bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường để tạo ra chế phẩm chứa hợp chất có công thức I và tác nhân điều trị thứ hai. Ngoài ra, các tác nhân điều trị có thể được kết hợp với chất mang dược dụng để tạo ra dược phẩm chứa hợp chất có công thức I, tác nhân điều trị thứ hai và chất mang dược dụng. Theo phương án này, các thành phần của chế phẩm thường được phối hợp hoặc trộn với nhau để tạo ra hỗn hợp vật lý. Tiếp đó, hỗn hợp vật lý này được dùng với lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị bằng cách sử dụng đường dùng thuốc bất kỳ được mô tả ở đây.

Theo cách khác, tác nhân điều trị có thể giữ độc lập và riêng biệt trước khi dùng cho bệnh nhân. Theo phương án này, các tác nhân điều trị không được trộn với nhau về mặt vật lý trước khi dùng nhưng chúng được dùng đồng thời hoặc dùng lần lượt dưới dạng các chế phẩm riêng biệt. Ví dụ, hợp chất có công thức I có thể được dùng bằng cách xông đồng thời hoặc lần lượt với tác nhân điều trị khác bằng cách sử dụng cơ cấu phân tán bằng cách xông, cơ cấu này sử dụng các khoang riêng biệt (ví dụ, vỉ bấm) đối với mỗi tác nhân điều trị. Theo cách khác, hỗn hợp có thể được dùng bằng cách sử dụng cơ cấu phân tán riêng biệt, tức là một cơ cấu phân tán cho mỗi tác nhân điều trị. Ngoài ra, tác nhân điều trị có thể được giải phóng bằng các đường dùng khác nhau, tức là một tác nhân bằng cách xông và tác nhân còn lại bằng cách dùng qua đường miệng.

Tác nhân điều trị bất kỳ mà tương thích với hợp chất có công thức I có thể được sử dụng kết hợp với các hợp chất này. Theo phương án cụ thể, tác nhân điều trị thứ hai là tác nhân mà được dùng một cách hữu hiệu bằng cách xông. Để minh họa, các loại tác nhân điều trị tiêu biểu mà có thể được sử dụng cùng với hợp chất theo các

phương án bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, tác nhân kháng viêm, như tác nhân kháng viêm steroit (bao gồm corticosteroit và glucocorticoit), tác nhân kháng viêm không steroit (NSAID), và chất ức chế PDE_4; thuốc giãn phế quản, như chất ức chế PDE_3, chất điều biến adenosin 2b và chất chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2; tác nhân chống nhiễm trùng, như thuốc kháng sinh Gram-dương, thuốc kháng sinh Gram-âm, và tác nhân kháng virut; thuốc kháng histamin; chất ức chế proteaza; chất phong bế hướng tâm, như chất chủ vận D_2 và chất điều biến neurokinin; và chất đối kháng thụ thể muscarin (tác nhân chống tiết axetyl cholin). Một số ví dụ về các tác nhân điều trị này là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Các liều thích hợp của tác nhân điều trị khác được sử dụng trong hỗn hợp với hợp chất theo các phương án này thường nằm trong khoảng từ 0,05μg/ngày đến khoảng 500mg/ngày.

Theo phương án cụ thể, hợp chất có công thức I được dùng kết hợp với tác nhân kháng viêm steroit. Ví dụ tiêu biểu về tác nhân kháng viêm steroit mà có thể được sử dụng kết hợp với hợp chất theo các phương án này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, beclometason dipropionat; budesonit; butixocort propionat; 20*R*-16α,17α-[butylidenbis(oxy)]-6α,9α-diflo-11β-hydroxy-17β-(metylthio)androsta-4-en-3-on (RPR-106541); xiclesonit; dexametason; S-flometyl este của axit 6α,9α-diflo-17α□-[(2-furanylcarbonyl)oxy]-11β-hydroxy-16α-metyl-3-oxoandrosta-1,4-dien-17β-carbothioic; S-flometyl este của axit 6α,9α-diflo-11β-hydroxy-16α-metyl-17α□-[(4-metyl-1,3-thiazol-5-carbonyl)oxy]-3-oxoandrosta-1,4-dien-17β-carbothioic; (S)-(2-oxotetrahydrofuran-3S-yl) este của axit 6α,9α-diflo-11β-hydroxy-16α-metyl-3-oxo-17α-propionyloxyandrosta-1,4-dien-17β-carbothioic; flunisolit; fluticason furoat; fluticason propionat; metyl prednisolon; mometason furoat; prednisolon; prednison; rofleponit; ST-126; triamxinolon axetonit; và các chất tương tự khác, hoặc muối dược dụng hoặc solvat của nó. Các tác nhân kháng viêm steroit là có sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng cách sử dụng các quy trình và chất phản ứng thông thường. Ví dụ, việc điều chế và sử dụng các tác nhân kháng viêm steroit được mô tả trong Patent Mỹ số 6,537,983, cấp ngày 25.03.2003; Patent Mỹ số 6,750,210 B2, cấp ngày 15.06.2004; Patent Mỹ số 6,759,398 B2, cấp ngày 06.07.2004; Patent Mỹ số

6,858,596 B2, cấp ngày 22.02.2005; Patent Mỹ số 7,101,866 B2, cấp ngày 05.09.2006; và các tài liệu được trích dẫn ở đây.

Khi được sử dụng, tác nhân kháng viêm steroit thường được sử dụng với lượng mà tạo ra tác dụng có lợi về mặt điều trị khi được cùng sử dụng với hợp chất theo các phương án của sáng chế. Thông thường, tác nhân kháng viêm steroit sẽ được dùng với lượng đủ để tạo ra khoảng từ 0,05µg đến 500µg mỗi liều.

Phần ví dụ sau đây sẽ minh họa dược phẩm tiêu biểu.

A. Chế phẩm bột khô

Hợp chất có công thức I được micron hóa (100mg) được trộn với lactoza đã nghiền (25g) (ví dụ, lactoza trong đó bao gồm không nhiều hơn khoảng 85% số hạt có MMD nằm trong khoảng từ 60µm đến 90µm và không ít hơn 15% số hạt có MMD nhỏ hơn 15µm). Hỗn hợp đã trộn này được nạp tiếp vào mỗi vỉ của gói vỉ có thể bóc được với lượng đủ để tạo ra khoảng từ 10µg đến 500µg hợp chất có công thức I mỗi liều. Chất bên trong vỉ sẽ được dùng bằng cách sử dụng máy xông bột khô.

B. Chế phẩm bột khô

Hợp chất có công thức I được micron hóa (1g) được trộn với lactoza đã nghiền (200g) để tạo thành chế phẩm lượng lớn có tỷ lệ trọng lượng của hợp chất với lactoza được nghiền là 1:200. Chế phẩm đã trộn được bao gói trong cơ cấu xông bột khô có khả năng phân tán nằm trong khoảng từ 10µg đến 500µg hợp chất có công thức I mỗi liều.

C. Chế phẩm bột khô

Hợp chất có công thức I được micron hóa (100mg) và tác nhân kháng viêm steroit được micron hóa (500mg) được trộn với lactoza đã nghiền (30g). Hỗn hợp đã trộn này được nạp tiếp vào mỗi vỉ của gói vỉ có thể bóc được với lượng đủ để tạo ra khoảng từ 10µg đến 500µg hợp chất có công thức I mỗi liều. Chất bên trong vỉ sẽ được dùng bằng cách sử dụng máy xông bột khô.

D. Chế phẩm dùng trong máy xông định liều

Hợp chất có công thức I được micron hóa (10g) được phân tán trong dung dịch được điều chế bằng cách hòa tan lexithin (0,2g) trong nước đã khử khoáng (200ml). Huyền phù tạo thành được sấy phun và tiếp đó được micron hóa để tạo ra chế phẩm micron hóa chứa các hạt có đường kính trung bình nhỏ hơn 1,5µm. Tiếp đó, chế phẩm đã micron hóa được nạp vào ống xông định liều chứa 1,1,1,2-tetrafloetan được nén áp với lượng đủ để tạo ra khoảng từ 10µg đến 500µg hợp chất có công thức I mỗi liều khi được sử dụng bằng máy xông định liều.

E. Chế phẩm dùng cho máy khí dung

Hợp chất có công thức I (25mg) được hòa tan trong nước muối đẳng trương được đệm xitrat (pH=5) (125ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy và được tác động sóng âm cho đến khi hợp chất được hòa tan. Độ pH của dung dịch được kiểm tra và được điều chỉnh, nếu cần, đến độ pH=5 bằng cách thêm từ từ dung dịch natri hydroxit 1N trong nước. Dung dịch được dùng bằng cách sử dụng cơ cấu khí dung mà sẽ tạo ra từ khoảng 10µg đến 500µg hợp chất có công thức I mỗi liều.

F. Viên nang gelatin cứng

Hợp chất có công thức I (50g), lactoza được sấy phun (440g) và magie stearat (10g) được trộn kỹ. Chế phẩm tạo thành được nạp vào viên nang gelatin cứng (500mg chế phẩm mỗi viên nang), viên này được dùng qua đường miệng.

G. Chế phẩm để tiêm

Hợp chất có công thức I (0,2g) được trộn với dung dịch đệm natri axetat 0,4M (2,0ml). Độ pH của dung dịch tạo thành được điều chỉnh đến độ pH=4 bằng cách sử dụng dung dịch axit clohydric 0,5N trong nước hoặc dung dịch natri hydroxit 0,5N trong nước, nếu cần, và tiếp đó lượng nước đủ để tiêm được thêm vào để tạo ra tổng thể tích là 20ml. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc qua bộ lọc vô trùng (0,22micron) để tạo ra dung dịch vô trùng thích hợp để dùng bằng cách tiêm.

Độ hiệu dụng

Hợp chất có công thức I có cả hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin lẫn hoạt tính chủ vận thụ thể adrenergic β_2 và do đó, các hợp chất này được mong đợi là hữu hiệu làm tác nhân điều trị để điều trị các tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ bằng thụ thể muscarin và/hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2, tức là, các tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ mà được làm thuyên giảm hoặc được điều hòa bằng cách điều trị bằng chất đối kháng thụ thể muscarin hoặc chất đối kháng thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Các tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ này là đã biết đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này như được minh họa trong tài liệu Eglen et al., *Muscarinic Receptor Subtypes: Pharmacology and Therapeutic Potential*, *DN&P* 10(8), 462-469 (1997); Emilien et al., *Current Therapeutic Uses and Potential of beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists*, *European J. Clinical Pharm.*, 53(6), 389-404 (1998); và các tài liệu được trích dẫn ở đây. Các tình trạng bệnh liên quan đến sức khoẻ này bao gồm, ví dụ, rối loạn liên quan đến phổi hoặc bệnh liên quan đến tắc nghẽn đường khí thuận nghịch, như bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (ví dụ, viêm phế quản và tràn khí mạn tính và khò khè), bệnh hen, xơ hóa phổi, hội chứng suy hô hấp người lớn/cấp (adult/acute respiratory distress syndrome: ARDS), tắc hô hấp mạn tính, tăng động phế quản, viêm mũi dị ứng, bệnh bụi phổi (như bệnh bụi nhôm, bệnh bụi than phổi, bệnh bụi amiăng, bệnh bụi đá phổi, bệnh rụng lông mi, bệnh bụi sắt phổi, bệnh bụi silic phổi, nhiễm độc thuốc lá và bệnh bụi bông phổi), và rối loạn liên quan đến phổi khác có nguồn gốc chưa xác định mà được hưởng lợi từ việc giãn phế quản gây ra bởi tác nhân điều trị. Ngoài ra, các tình trạng khác đã biết có thể được điều trị, ít nhất một phần, bằng chất đối kháng thụ thể muscarin hoặc chất chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2 bao gồm đẻ sớm, trầm cảm, suy tim sung huyết, bệnh về da (ví dụ, viêm nhiễm, dị ứng, bệnh da vảy nến và tăng sinh), các tình trạng trong đó việc hạ thấp tính axit tiêu hóa là được mong muốn (ví dụ, loét tiêu hóa và loét dạ dày) và các bệnh hao mòn cơ.

Do đó, theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp điều trị rối loạn liên quan đến phổi, phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng

hữu hiệu có tác dụng điều trị của hợp chất có công thức I. Khi được sử dụng để điều trị rối loạn liên quan đến phổi, hợp chất có công thức I thường được sử dụng bằng cách xông ở dạng nhiều liều mỗi ngày, ở dạng liều duy nhất mỗi ngày hoặc liều duy nhất mỗi tuần. Nói chung, mức liều để điều trị rối loạn liên quan đến phổi được mong đợi nằm trong khoảng từ 10μg/ngày đến 1500μg/ngày; như khoảng từ 25μg/ngày đến 1000μg/ngày; bao gồm khoảng từ 50μg/ngày đến 500μg/ngày.

Theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính hoặc bệnh hen, phương pháp này bao gồm việc cho bệnh nhân dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị hợp chất có công thức I. Thông thường, mức liều để điều trị COPD hoặc bệnh hen được mong đợi là nằm trong khoảng từ 10μg/ngày đến 1500μg/ngày. Cụ thể, phương pháp này bao gồm bước làm thuyên giảm các triệu chứng của COPD hoặc bệnh hen. Thuật ngữ "COPD" được người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này hiểu là bao gồm một loạt các tình trạng hô hấp, bao gồm viêm phế quản tắc nghẽn mạn tính và tràn khí, như được minh họa bởi phần giải pháp kỹ thuật của tài liệu Barnes, *Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *N. Engl. J. Med.*, 2000: 343:269-78, và các tài liệu trích dẫn ở đây.

Khi được sử dụng bằng cách xông, hợp chất có công thức I thường có tác dụng làm giãn phế quản. Do đó, theo khía cạnh khác về phương pháp này, sáng chế đề cập đến phương pháp tạo ra sự giãn phế quản ở động vật có vú, phương pháp này bao gồm việc cho động vật có vú dùng một lượng làm giãn phế quản hợp chất có công thức I. Nói chung, mức liều để tạo ra sự giãn phễ quản sẽ nằm trong khoảng từ 10μg/ngày đến 1500μg/ngày.

Khi được sử dụng làm tác nhân điều trị, hợp chất có công thức I được dùng tùy ý kết hợp với tác nhân hoặc các tác nhân điều trị khác. Cụ thể, bằng cách dùng hợp chất có công thức I với tác nhân kháng viêm steroit, liệu pháp tác dụng ba, tức là hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin, hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2, và hoạt tính kháng viêm, được mong đợi bằng cách chỉ sử dụng 2 tác nhân điều trị. Vì dược phẩm (và hỗn hợp) chứa hai tác nhân điều trị thường là dễ dàng bào chế và/hoặc sử dụng so với chế phẩm chứa ba tác nhân điều trị, chế phẩm hai thành phần sẽ tạo ra lợi thế đáng kể so với chế phẩm chứa ba tác nhân điều trị. Do đó, theo

phương án cụ thể, dược phẩm, hỗn hợp và phương pháp theo sáng chế còn chứa tác nhân kháng viêm steroit.

Vì hợp chất có công thức I có cả hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin và hoạt tính chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2, nên các hợp chất này cũng hữu hiệu làm công cụ nghiên cứu để tìm tòi hoặc nghiên cứu các hệ hoặc mẫu sinh học có thụ thể muscarin hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Ngoài ra, các hợp chất này được sử dụng trong các thử nghiệm sàng lọc để phát hiện ra, ví dụ, hợp chất mới có cả hoạt tính đối kháng thụ thể muscarin lẫn hoạt tính đối kháng giải phóng adrenalin β_2. Hệ hoặc mẫu sinh học được sử dụng có thể chứa thụ thể muscarin hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2 hoặc cả hai. Hệ hoặc mẫu sinh học thích hợp bất kỳ có thụ thể muscarin và/hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2 có thể được sử dụng trong các nghiên cứu này có thể được thực hiện *in vitro* hoặc *in vivo*. Hệ hoặc mẫu sinh học tiêu biểu thích hợp cho các nghiên cứu này bao gồm, nhưng không bị giới hạn ở, tế bào, dịch chiết tế bào, màng huyết tương, mẫu mô, động vật có vú (như chuột nhắt, chuột cống, chuột lang, thỏ, chó, lợn, v.v..) và các loại tương tự khác.

Khi được sử dụng làm công cụ nghiên cứu, hệ hoặc mẫu sinh học chứa thụ thể muscarin và/hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2 thường được cho tiếp xúc với hợp chất có công thức I với lượng đối kháng thụ thể muscarin hoặc lượng chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin β_2. Tác dụng của hệ hoặc mẫu sinh học được tạo ra bởi hợp chất này tiếp đó được xác định hoặc được đo bằng cách sử dụng các quy trình và thiết bị thông thường, như bằng cách xác định liên kết trong thử nghiệm gắn kết phối tử phóng xạ hoặc những thay đổi về hệ chức năng gây ra qua trung gian phối tử hoặc bằng cách xác định lượng bảo vệ phế quản được tạo ra bởi hợp chất trong thử nghiệm bảo vệ phế quản ở động vật có vú. Thử nghiệm chức năng tiêu biểu bao gồm những thay đổi về adenosin monophosphat vòng (cAMP) nội bào gây ra qua trung gian phối tử; thay đổi hoạt tính của enzym adenylyl xyclaza (enzym này tổng hợp nên cAMP) gây ra qua trung gian phối tử; thay đổi về việc đưa guanosin 5'-O-(thio)triphosphat ([^{35}S]GTP□S) vào màng đã phân lập gây ra qua trung gian phối tử thông qua sự thay đổi của [^{35}S]GTP□S đối với GDP được xúc tác bởi thụ thể; thay đổi về các ion canxi tự do trong tế bào gây ra qua trung gian phối tử (như được xác định, ví dụ, bằng thiết

bị đọc đĩa hình ảnh được liên kết phát huỳnh quang hoặc FLIPR® của Molecular Devices, Inc.); và các loại tương tự khác. Hợp chất có công thức I được mong đợi là đối kháng hoặc làm giảm sự kích hoạt thụ thể muscarin hoặc chủ vận hoặc gây ra sự kích hoạt thụ thể giải phóng adrenalin β_2 và trong thử nghiệm chức năng được nêu ở đây hoặc trong các thử nghiệm có bản chất tương tự. Hợp chất có công thức I thường được sử dụng trong các nghiên cứu này ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 nanomol đến 100 nanomol.

Ngoài ra, hợp chất có công thức I có thể được sử dụng làm công cụ nghiên cứu để đánh giá các hợp chất hóa học khác. Theo khía cạnh này, hợp chất có công thức I được sử dụng làm chuẩn trong thử nghiệm để cho phép so sánh các kết quả thu được bằng hợp chất thử nghiệm và hợp chất có công thức I. Ví dụ, dữ liệu gắn kết thụ thể muscarin và/hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2 (như được xác định, ví dụ, bằng thử nghiệm thay thế phối tử phóng xạ *in vitro*) đối với hợp chất thử nghiệm hoặc nhóm các hợp chất thử nghiệm được so sánh với dữ liệu gắn kết thụ thể muscarin và/hoặc thụ thể giải phóng adrenalin β_2 đối với hợp chất có công thức I để xác định các hợp chất thử nghiệm mà có mức gắn kết mong muốn, tức là hợp chất thử nghiệm có mức gắn kết bằng hoặc lớn hơn mức gắn kết của hợp chất có công thức I, nếu có. Theo cách khác, ví dụ, tác dụng bảo vệ phế quản có thể được xác định đối với hợp chất thử nghiệm và hợp chất có công thức I trong thử nghiệm bảo vệ phế quản ở động vật có vú và dữ liệu này được so sánh để xác định hợp chất thử nghiệm cho tác dụng bảo vệ phế quản hoặc thời gian tác dụng bằng hoặc lớn hơn. Khía cạnh này, là các phương án riêng biệt, bao gồm, cả (i) tạo ra dữ liệu so sánh (sử dụng các thử nghiệm thích hợp) và (ii) phân tích dữ liệu thử nghiệm để xác định hợp chất thử nghiệm đang được quan tâm.

Các đặc tính và việc sử dụng hợp chất có công thức I có thể được minh họa bằng cách sử dụng các thử nghiệm *in vitro* và *in vivo* đã biết đối với người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các thử nghiệm tiêu biểu được mô tả chi tiết hơn trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế sau đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phần ví dụ sau đây được đưa ra nhằm minh họa cho các phương án và khía cạnh tiêu biểu khác nhau của sáng chế và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ, trừ khi được quy định khác.

Tất cả các chất phản ứng, chất ban đầu và dung môi được sử dụng trong phần Ví dụ thực hiện sau đây được mua từ các nhà cung cấp thương mại (như Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trừ khi có quy định khác.

Phổ ^{1}H NMR được ghi lại trên phổ kế 400MHz Varian AS400, trừ khi có quy định khác. Dịch chuyển hóa học được báo cáo dưới dạng giá trị δ ở đơn vị ppm liên quan đến tetrametylsilan (TMS) làm chuẩn nội. Hằng số kết hợp (giá trị *J*) được cho ở đơn vị hertz (Hz) và tính đa bội được báo cáo bằng cách sử dụng các chữ viết tắt sau đây: s = vạch đơn, d = vạch đôi, t = vạch ba, q = vạch bốn, m = vạch bội, br = vạch rộng, nd = không xác định.

Các điều kiện phổ khối sắc ký lỏng (Liquid chromatography Mass Spectroscopy: LC-MS)

Dữ liệu LC-MS thu được bằng cách sử dụng hệ sắc ký lỏng Agilent 1100 – bơm nhị phân G1312A (Agilent Technologies), phân giải nhanh ZORBAX 3,5µm Rx, cột Bonus-RP (cỡ hạt 3,5µm; 2,1mm x 50mm) (Agilent Technologies) và khối phổ kế API 150EX Single Quadrupole LC/MS (Perkin-Elmer Sciex Instruments). Hệ dung môi được sử dụng là:

Dung môi A: 98% nước và 2% axetonitril (thể tích) + 1ml/l TFA

Dung môi B: 90% axetonitril và 10% nước (thể tích) + 1ml/l TFA

Tốc độ chảy: 500µl/phút

Gradien: (Phương pháp 10-90): 10% B đến 90% B trong 3 phút

(Phương pháp 2-90): 2% B đến 90% B trong 3 phút

(Phương pháp 10-70): 10% B đến 70% B trong 3 phút.

Các điều kiện HPLC

HPLC được thực hiện bằng cách sử dụng hệ HP 1100 Series HPLC (Agilent Technologies) và phân giải nhanh ZORBAX 3,5µm Rx, cột Bonus-RP (cỡ hạt 3,5µm; 2,1mm x 50mm) (Agilent Technologies) hoặc cột Ascentis Express C18 HPLC (cỡ hạt 2,7µm, 3,0mm x 3cm). Hệ dung môi được sử dụng là:

Dung môi A:		98% nước và 2% axetonitril (thể tích) + 1ml/l TFA
Dung môi B:		90% axetonitril và 10% nước (thể tích) + 1ml/l TFA
Tốc độ chảy:		500µl/phút
Gradien:	(Phương pháp 10-50):	10% B đến 50% B trong 6 phút
	(Phương pháp 10-70):	10% B đến 70% B trong 6 phút
	(Phương pháp 2-90):	2% B đến 90% B trong 6 phút.

Ví dụ 1

Điều chế axit 3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionic

Dung dịch được khuấy chứa piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (50,0g, 168,7mmol) (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931 A1, được công bố ngày 16.02.2006) và axit acrylic (15,1ml, 219,3mmol) trong DCM (500ml) được đun nóng ở 50°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong MeOH (600ml). Dung dịch tạo thành được đun nóng ở 75°C trong 2 giờ và tiếp đó để yên ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng 48 giờ. Chất rắn tạo thành được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng MeOH, và làm khô để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (61,5g, hiệu suất 99%).

Ví dụ 2

Điều chế metyl este của axit 4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metyl-amino)butyric

N,*N*,*N'*,*N'*-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (1,36g, 3,58mmol) được thêm vào hỗn hợp được khuấy chứa hydroclorua metyl este của axit 4-metylaminobutyric (546mg, 3,26mmol) và axit 3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionic (1,20g, 3,26mmol) trong DCM (15ml), rồi thêm tiếp N,*N*-diisopropyletylamin (1,42ml, 8,15mmol). LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,11 phút; *m/z* 482,4 $[M + H]^+$). Nước và DCM được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2x) và nước muối, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,0g, hiệu suất 100%) dưới dạng dầu màu vàng sáng.

Ví dụ 3

Điều chế axit 4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)butyric

Dung dịch natri hydroxit trong nước (1,0M, 10,4ml, 10,4mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch được khuấy chứa metyl este của axit 4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionyl}metylamino)butyric (1,00g, 2,08mmol) trong THF (10ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. LC-MS (Phương pháp 10-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,34 phút; *m/z* 468,2 $[M + H]^+$). Độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH = 5 bằng dung dịch axit clohydric trong nước (6M) và hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm. Dung dịch amoni clorua trong nước được thêm vào phần cặn và hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng EtOAc. Độ pH của lớp nước được điều chỉnh đến độ pH = 4 bằng dung đệm phosphat và tiếp đó lớp nước được chiết bằng hỗn hợp isopropyl axetat/cloroform có tỷ lệ 1:3 (4x). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu không màu, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 4

Điều chế 1-(2-{[3-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)-phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

N,N,N',N'-tetrametyl-*O*-(7-azabenzotriazol-1-yl)uroni hexaflophosphat (73,2mg, 0,192mmol) được thêm vào dung dịch chứa axit 4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionyl}metylamino)butyric (75mg, 0,16mmol) và 4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylamin (26mg, 0,16mmol) trong DCM (3ml), rồi thêm tiếp *N,N*-diisopropyletylamin (55,9µl, 0,321mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng 48 giờ. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,87 phút; *m/z* 615,4 $[M + H]^+$). Nước và DCM được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2x) và nước muối, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dưới dạng dầu màu vàng, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm. Trong các thử nghiệm tiếp theo, hợp chất này còn được tách ra dưới dạng chất rắn có thể lọc được.

Ví dụ 5

Điều chế 1-(2-{[3-(4-formylphenylcarbamoyl)propyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch axit clohydric trong nước (3M, 1,07ml) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[3-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (98mg, 0,16mmol) trong axetonitril (2ml). Dung dịch màu cam sẫm tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng. Nước được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được chiết bằng DCM (2x). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

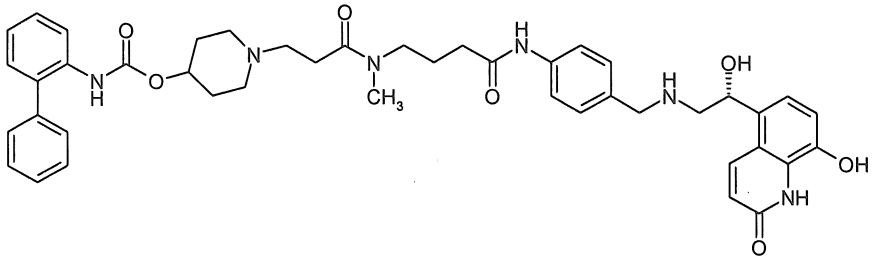
Ví dụ 6

Điều chế 1-(2-{[3-(4-{[(R)-2-(tert-butyldimetyl-silanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Muối của axit 5-[(*R*)-2-amino-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-hydroxy-1H-quinolin-2-on axetic (101mg, 0,256mmol) (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931 A1, được công bố ngày 16.02.2006) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[3-(4-formyl-phenylcarbamoyl)propyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (91mg, 0,16mmol) trong DCM (2ml), rồi thêm tiếp MeOH (1ml). Dung dịch màu vàng tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và tiếp đó natri triaxetoxybohydrua (89mg, 0,40mmol) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được khuấy qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,25 phút; *m/z* 889,8 $[M + H]^+$). Nước và DCM được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2x) và nước muối, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 7

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-1)



• 2 CF_3COOH

Trietylamin trihydroflorua (260µl, 1,60mmol) được thêm vào dung dịch chứa 1-(2-{[3-(4-{[(R)-2-(tert-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}phenylcarbamoyl)propyl]metylcarbamoyl}-etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (~0,16mmol) trong DCM (3ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,00 phút; *m/z* 775,4 $[M + H]^+$). Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (27,8mg, hiệu suất 39%, độ tinh khiết 94%).

Ví dụ 8

Điều chế axit [3-(tritylamino)phenyl]axetic

Dung dịch chứa trityl bromua (77,5g, 240mmol) trong DCM (120ml) được thêm từng giọt vào dung dịch được khuấy chứa axit (3-aminophenyl)axetic (30,20g, 199,8mmol) trong pyridin (200ml) trong môi trường nitơ ở 0°C trong thời gian 5 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 14 giờ và tiếp đó được cô đặc dưới áp suất giảm. DCM (~800ml) và nước (~800ml) được thêm vào phần cặn và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (3 x ~500ml), làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được chất rắn màu trắng nhờ hơi nâu (100,1g). Chất rắn này được tạo huyền phù trong EtOH (500ml) và hỗn hợp phản ứng này được đun nóng ở 60°C trong 1 giờ và tiếp đó được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng. Chất rắn này được thu gom bằng cách lọc, rửa bằng EtOH và làm khô trong chân không cao để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (67,2g, hiệu suất 85%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^{1}H NMR (DMSO-d_6) δ 7,25 (m); 7,13 (m); 6,70 (s); 6,63 (t); 6,55 (d); 6,27 (d); 6,09 (m); 3,29 (br s); 3,16 (s).

Ví dụ 9

Điều chế 2-[3-(tritylamino)phenyl]etanol

Dung dịch chứa phức boran dimetyl sulfua trong THF (2M, 76,2ml, 152mmol) được thêm từng giọt vào huyền phù được khuấy chứa axit [3-(tritylamino)phenyl]axetic (30,00g, 76,24mmol) trong THF (126ml) trong môi trường nitơ ở 0°C trong thời gian 45 phút trong khi vẫn duy trì nhiệt độ ở ≤ 1,8°C. Dung dịch đồng nhất màu hơi vàng tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 18 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (~300ml) được thêm vào từ từ (sủi bọt mạnh sau khi bắt đầu thêm) và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được chiết bằng EtOAc (2 x ~330ml) và lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (25,6g, hiệu suất 86%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7,25 (m); 6,9 (t); 6,4 (m); 6,3 (m); 6,1 (s); 5,0 (s); 3,5 (m); 2,5 (t).

Ví dụ 10

Điều chế 2-[3-(tritylamino)phenyl]etyl este của axit 4-nitrobenzensulfonic

p-nitrobenzensulfonyl clorua (3,50g, 15,8mmol) được thêm từng giọt vào dung dịch được khuấy chứa 2-[3-(tritylamino)phenyl]etanol (5,00g, 13,2mmol) và trietylendiamin (2,22g, 19,8mmol) trong DCM (52,7ml) trong môi trường nitơ ở 0°C trong thời gian 5 phút. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở 0°C trong 40 phút và tiếp đó dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (~ 50ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và tiếp đó các lớp được tách riêng. Lớp nước được chiết bằng DCM (2 x ~50ml) và lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (7,44g, hiệu suất 100%) dưới dạng chất rắn bọt màu vàng cam.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,20 (m); 7,70 (m); 7,30 (m); 6,70 (m); 6,30 (m); 6,10 (m); 5,30 (s); 5,00 (s); 4,00 (t); 3,20 (m); 2,60 (m).

Ví dụ 11

Điều chế 5-[(*R*)-2-{[2-(3-aminophenyl)etyl]benzylamino}-1-(*tert*-butyl-dimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on

Hỗn hợp được khuấy chứa 2-[3-(tritylamino)phenyl]etyl este của axit 4-nitrobenzensulfonic (7,44g, 13,2mmol); 5-[(*R*)-2-benzylamino-1-(*tert*-butyldimetyl-silanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (5,42g, 10,5mmol) (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931 A1, được công bố ngày 16.02.2006) và natri bicacbonat (3,32g, 39,5mmol) trong axetonitril (26,4ml) được đun nóng ở 75°C trong môi trường nitơ trong 18 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và độ pH được điều chỉnh đến độ pH < 2 bằng dung dịch axit clohydric trong nước (1N, ~40ml). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ và tiếp đó độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH = 7 – 8 bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (~30ml). Nước (~ 50ml) và EtOAc (~ 50ml) được thêm vào và các lớp được tách riêng (một lượng nhỏ dung dịch natri clorua nước loãng được thêm vào để thúc đẩy quá trình tách). Lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 30ml) và lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (30-60% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (5,7g, hiệu suất 68%) dưới dạng chất rắn bọt màu vàng sáng.

^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9,10 (s); 7,90 (br s); 7,40 (m); 7,20 (m); 7,10 (m); 7,00 (t); 6,90 (s); 6,50 (m); 6,30 (s); 5,20 (s); 4,80 (m); 3,60 (m); 2,80 (m); 2,60 (m); 0,80 (s); -0,2 (s).

Ví dụ 12

Điều chế axit 4-(*tert*-butoxycarbonylmetylamino)butyric

Di-*tert*-butyldicacbonat (1,56g, 7,16mmol) được thêm vào hỗn hợp được khuấy chứa hydroclorua của axit 4-(metylamino)butyric (1,00g, 6,51mmol) và trietylamin (2,72ml, 19,5mmol) trong DCM (60ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp

tạo thành được khuấy trong khoảng 72 giờ. LC-MS cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 4,11 phút; *m/z* 216,2 $[M + H]^+$). DCM và nước được thêm vào và độ pH của lớp nước được điều chỉnh đến độ pH = 4,5 đến 6 bằng dung dịch axit clohydric trong nước (1M). Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,5g, hiệu suất 100%) dưới dạng dầu đặc màu vàng sáng.

^{1}H NMR ($CDC1_3$) δ 3,28 (br s); 2,85 (s); 2,35 (t); 1,84 (t); 1,46 (s).

Ví dụ 13

Điều chế tert-butyl este của axit {3-[3-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]amino}etyl)phenyl-carbamoyl]-propyl}metylcarbamic

Dung dịch chứa 1-hydroxy-7-azabenzotriazol trong DMF (0,5M, 0,729ml, 0,364mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa axit 4-(*tert*-butoxycarbonylmetylamino)butyric (72,0mg, 0,331mmol); 5-[(*R*)-2-{[2-(3-aminophenyl)etyl]benzylamino}-1-(*tert*-butyl-dimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (210mg, 0,331mmol); 2,6-lutidin (46,5µl, 0,398mmol); và *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (69,8mg, 0,364mmol) trong DMF (3ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 4,56 phút; *m/z* 833,6 $[M + H]^+$). Nước được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng dung dịch lithi clorua 10% trong nước và DCM. Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch lithi clorua 10% trong nước (2x), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được cô đặc tiếp trong chân không cao để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (chứa lượng không đáng kể DMF), chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 14

Điều chế *N*-[3-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]amino}etyl)phenyl]-4-metylaminobutyramit

Axit trifloaxetic (2ml, 20mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa tert-butyl este của axit {3-[3-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]amino}etyl)-phenylcarbamoyl]propyl}metylcarbamic (276mg, 0,331mmol) trong DCM (3ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 2,69 phút; *m/z* 733,4 $[M + H]^+$). Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong DCM. Dung dịch này được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (2x), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (249mg, hiệu suất 100%) dưới dạng dầu màu nâu vàng, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 15

Điều chế 1-[2-({3-[3-(2-{benzyl-[(R)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(tert-butyldimetylsilanyloxy)etyl]amino}etyl)phenylcarbamoyl]propyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch chứa 1-hydroxy-7-azabenzotriazol trong DMF (0,5M, 0,720ml, 0,360mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa axit 3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionic (127mg, 0,344mmol) và *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (69,0mg, 0,360mmol) trong DMF (5ml) ở nhiệt độ trong phòng. *N*-[3-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]amino}etyl)phenyl]-4-metylaminobutyramit (240mg, 0,327mmol) và 2,6-lutidin (114µl, 0,982mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 4,13 phút; *m/z* 1083,7 $[M^+]$). Nước được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng DCM. Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ

được rửa bằng dung dịch lithi clorua 10% trong nước (2x), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-20% MeOH trong DCM bằng TEA 1%) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (258mg, hiệu suất 72%) dưới dạng dầu màu vàng.

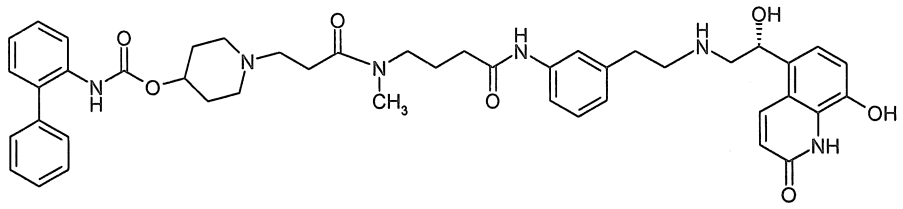
Ví dụ 16

Điều chế 1-(2-{[3-(3-{2-[(R)-2-(tert-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-etyl}phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch chứa axit axetic trong nước (17,4M, 41,4µl, 0,720mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-[2-({3-[3-(2-{benzyl-[(R)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(tert-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-amino}etyl)phenylcarbamoyl]propyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (258mg, 0,238mmol) trong MeOH (3ml) ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch tạo thành được tẩy sạch bằng nitơ (3 chu trình chân không rồi đến nitơ khô) và tiếp đó paladi hydroxit (47mg, 0,34mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng này được tẩy lại bằng nitơ và tiếp đó bằng hydro (5x) và tiếp đó được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong môi trường hydro (quả bóng có kim được nhấn chìm) trong 6 giờ. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,71 phút; *m/z* 903,6 $[M + H]^+$). Hỗn hợp phản ứng được lọc qua thiết bị lọc màng và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 17

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-7)



• 2 CF_3COOH

Trietylamin trihydroflorua (364µl, 2,24mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[3-(3-{2-[(R)-2-(tert-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-etyl}phenylcarbamoyl)propyl]metylcarbamoyl}-etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (202mg, 0,224mmol trong DCM (4ml) ở nhiệt độ trong phòng và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. LC-MS (Phương pháp 2-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 2,77 phút; *m/z* 789,6 $[M + H]^+$). Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (101,6mg, hiệu suất 47%, độ tinh khiết 100%).

Ví dụ 18

Điều chế metyl (3-bromophenyl)axetat

Dung dịch được khuấy chứa axit (3-bromophenyl)axetic (10,0g, 0,0465mol) và axit sulfuric đặc (4,5ml) trong MeOH (230ml) được đun nóng ở 40°C trong 16 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được trộn với nước (50ml) và DCM (100ml). Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% EtOAc/hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (19,8g, hiệu suất 91%) dưới dạng dầu không màu.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 3,36 phút; *m/z* 300,4 $[M + H]^+$; 229,6 $[M^+]$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,48 (s, 1H); 7,44 (d, 1H); 7,26-7,25 (m, 2H); 3,71 (s, 3H); 3,66 (s, 2H).

Ví dụ 19

Điều chế metyl [3-(2-oxopropyl)phenyl]axetat

Hỗn hợp được khuấy chứa metyl (3-bromophenyl)axetat (19,7g, 86,0mmol), tributyl thiếc metoxit (37,1ml, 129mmol), isopropenyl axetat (14,2ml, 129mmol), paladi axetat (961mg, 4,28mmol), và tri-*o*-tolylphosphin (2,63g, 8,64mmol) trong toluen (70ml) được đun nóng ở 100°C trong 6 giờ. Dung dịch kali florua trong nước (4M, 120ml) và EtOAc (200ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc qua Xelit và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước và tiếp đó được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-8% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (11,8g, hiệu suất 66%).

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 4,24 phút; *m/z* 207,3 $[M + H]^+$.

Ví dụ 20

Điều chế muối hydroclorua metyl {3-[(*S*)-2-((*S*)-1-phenyletylamino)propyl]-phenyl}axetat

Hỗn hợp chứa metyl [3-(2-oxopropyl)phenyl]axetat (2,31g, 11,2mmol), (*S*)-1-phenyletylamin (3,4ml, 27,0mmol), natri triaxetoxybohydrua (14g, 68,0mmol), và magie sulfat (3,2g, 27,0mmol) trong DCM (69ml) được khuấy qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C và dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (150ml) được thêm vào cho đến khi ngừng sủi bọt. Các lớp được tách riêng và lớp nước được chiết bằng DCM (70ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM). Axit clohydric trong nước (6N, 2ml) được thêm vào sản phẩm để tạo thành muối hydroclorua. MeOH (50ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được cô đặc dưới áp suất giảm. Quá trình này được lặp lại và tiếp đó lượng tối thiểu MeOH (5ml) được thêm vào để hòa tan hoàn toàn chất rắn. Diisopropyl ete (9ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được để yên ở nhiệt độ

trong phòng trong 2 giờ. Chất kết tủa tạo thành được thu gom bằng cách lọc và rửa bằng ete để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,85 g; hiệu suất 81%; tỷ lệ 10:1 của S,S) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,28 phút; *m/z* 312,2 $[M + H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,71-7,69 (m, 4H); 7,45 (t, 1H); 7,35 (t, 1H); 7,20-7,17 (m, 3H); 4,80-4,76 (m, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,81 (s, 2H); 3,42-3,40 (m, 1H); 2,80 (t, 2H); 1,86 (d, 3H); 1,37 (d, 3H).

Ví dụ 21

Điều chế metyl [3-((*S*)-2-aminopropyl)phenyl]axetat

Dung dịch được khuấy chứa muối hydroclorua metyl {3-[(*S*)-2-((*S*)-1-phenyletylamino)propyl]-phenyl}axetat (1,12g, 3,60mmol), amoni format (1,16g, 257mmol), và paladi hydroxit (0,30g, 2,1mmol) trong EtOH (40ml) được đun nóng ở 75°C trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua Xelit và bánh lọc được rửa bằng EtOAc (2 x 50ml). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong DCM (50ml) và dung dịch amoniac 20% trong nước (50ml). Các lớp được tách riêng và lớp nước được chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (437mg, hiệu suất 58%) dưới dạng dầu không màu.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 1,18 phút; *m/z* 208,4$[M + H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,43 (t, 1H); 7,29-7,25 (m, 3H); 3,85 (s, 3H); 3,81 (s, 2H); 3,31-3,23 (m, 1H); 2,85-2,75 (m, 2H); 1,26 (d, 3H).

Ví dụ 22

Điều chế metyl este của axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]propyl}phenyl)-axetic

Dung dịch chứa metyl este của axit [3-((*S*)-2-aminopropyl)phenyl]axetic (632mg, 3,05mmol) và trietylamin (1,27ml, 9,15mmol) trong *N*-metylpyrolidinon

(3,4ml, 35mmol) được thêm vào 8-benzyloxy-5-[(*R*)-2-bromo-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-etyl]-1H-quinolin-2-on (1,5g, 3,0mmol) (ví dụ, xem công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 2006/0035931 A1, được công bố ngày 16.02.2006). Hỗn hợp tạo thành được chiếu vi sóng (300 oát) ở 100°C trong 1,5 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (20ml) và dung dịch này được rửa nhanh bằng nước muối (100ml), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (400mg, hiệu suất 20%) dưới dạng dầu màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,79 phút; *m/z* 615,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 23

Điều chế axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]propyl}phenyl)axetic

Lithi hydroxit (158mg, 6,59mmol) được thêm vào dung dịch chứa metyl este của axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]propyl}phenyl)axetic (810mg, 1,3mmol) trong hỗn hợp của THF/MeOH/nước có tỷ lệ 3:2:1 (4ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ và tiếp đó được axit hóa đến độ pH = 6 bằng dung dịch nước axit clohydric đặc. Hỗn hợp phản ứng này được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được chất rắn màu vàng (307mg, hiệu suất 39%), chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 3,10 phút; *m/z* 601,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 24

Điều chế axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetic

Dung dịch chứa axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]propyl}phenyl)axetic

(~1,3mmol) trong EtOH (8ml) được tẩy sạch bằng nitơ khô và tiếp đó paladi trên cacbon (10%, ~50% nước, loại Degussa, 300mg) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng này được tẩy sạch bằng hydro và tiếp đó được khuấy trong môi trường hydro (bình cầu) trong 1 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc qua Xelit và đệm lọc rửa bằng MeOH (20ml) và EtOAc (20ml). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-20% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (300mg, hiệu suất 40%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,67 phút; *m/z* 511,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 25

Điều chế tert-butyl este của axit [3-(9H-floren-9-ylmetoxycarbonylamino)propyl]-metylcarbamic

Dung dịch chứa 9-florenylmetyl cloformat (2,75g, 10,6mmol) trong 1,4-dioxan (5ml) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa tert-butyl este của axit *N*-(3-aminopropyl)-*N*-metylcarbamic (2,00g, 10,6mmol) và natri cacbonat (2,81g, 26,6mmol) trong nước (7ml) ở 0°C. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và tiếp đó được rót vào nước (10ml). Hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng dietyl ete (2 x 50ml) và lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được dầu trong suốt. Dầu này được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-70% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (4,24g, hiệu suất 77%) dưới dạng dầu trong suốt (sản phẩm chứa một ít tạp chất, nhưng nó được sử dụng mà không cần tinh chế thêm).

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 4,05 phút; *m/z* 411,2 $[M + H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,96 (d, 2H); 7,81 (d, 2H), 7,56 (t, 2H); 7,48 (t, 2H); 4,55 (d, 2H); 4,37 (t, 1H); 3,41 (t, 2H); 3,27 (t, 2H); 3,01 (s, 3H); 1,89-1,85 (m, 2H); 1,61 (s, 9H).

Ví dụ 26

Điều chế muối hydroclorua của 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (3-metylaminopropyl)carbamic

Axit clohydric đặc (2ml, 60mmol) được thêm từ từ vào dung dịch được khuấy chứa tert-butyl este của axit [3-(9H-floren-9-ylmetoxycarbonylamino)propyl]-metylcarbamic (4,24g, 10,3mmol) trong EtOAc (8ml) và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,21g, hiệu suất 78%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,32 phút; *m/z* 311,4 $[M + H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,82 (d, 2H); 7,66 (d, 2H), 7,42 (t, 2H); 7,34 (t, 2H); 4,45 (d, 2H); 4,12 (t, 1H); 3,23 (t, 2H); 2,99 (t, 2H); 2,71 (s, 3H); 1,88-1,83 (m, 2H).

Ví dụ 27

Điều chế 1-(2-{[3-(9H-floren-9-ylmetoxycarbonylamino)propyl]metylcarbamoyl}-etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

2-clo-1-metylpyridini iodua (3,9g, 15mmol) được thêm vào hỗn hợp được khuấy chứa axit 3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionic (2,8g, 7,6mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (2,6ml, 15mmol) trong DMF (31ml). Ngay khi chất rắn được hòa tan, muối hydroclorua của 9H-floren-9-ylmetyl este của axit (3-metylaminopropyl)carbamic (2,63g, 7,58mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng cho đến khi gần như hoàn toàn bằng phương pháp HPLC và LCMS. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm để loại bỏ hầu hết DMF và phần cặn được hòa tan trong DCM (30ml). Hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước (3 x 20ml) và nước muối (3 x 20ml), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-20% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (5,0g, hiệu suất 97%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 3,24 phút; *m/z* 661,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 28

Điều chế 1-{2-[(3-aminopropyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch 10% của piperidin (0,31g, 3,3mmol) trong DCM (3,2ml) được thêm vào 1-(2-{[3-(9H-floren-9-ylmetoxycarbonyl-amino)propyl]metylcarbamoyl}-etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (2,2g, 3,3mmol) và hỗn hợp tạo thành được lắc ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong DCM (100ml). Hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước (2 x 20ml) và tiếp đó được chiết bằng amoni clorua (1N, 2 x 20ml). Các lớp được tách riêng và DCM được thêm vào lớp nước. Lớp nước được bazơ hóa bằng cách thêm dung dịch kali hydroxit trong nước (1N) và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch kali hydroxit trong nước (1N, 2 x 20ml) và nước muối (1 x 20ml), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,0g, hiệu suất 66%) dưới dạng dầu trong suốt.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 1,85 phút; *m/z* 439,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 29

Điều chế 1-[2-({3-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]propyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Hỗn hợp của axit (3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetic (135mg, 0,264mmol); 2-clopyridi triflat trên nhựa Wang (chất phản ứng Mukaiyama mang polyme) (1,19mmol/g tải nạp; 635mg, 0,775mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (132µl, 0,755mmol) trong DMF (4,78ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. 1-{2-[(3-aminopropyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit

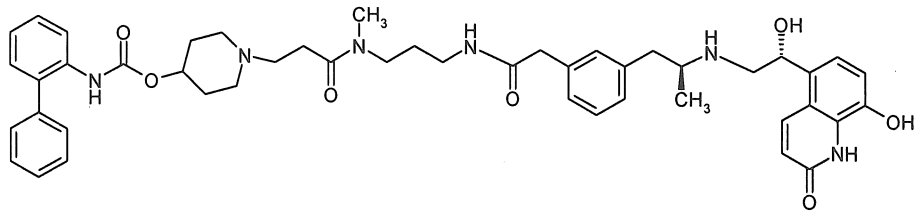
biphenyl-2-ylcarbamic (122mg, 0,278mmol) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc và nhựa được rửa bằng DCM (4ml), MeOH (4ml) và THF (4ml). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong DCM. Dung dịch này được rửa bằng nước (2 x 10ml), dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (2 x 10ml) và nước muối (1 x 10ml); và tiếp đó làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-20% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (59mg, hiệu suất 24%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 4,35 phút; *m/z* 931,7 $[M + H]^+$.

Theo cách khác, phản ứng này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng hỗn hợp của EDC và HOBt làm chất phản ứng kết hợp.

Ví dụ 30

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]-propyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-13)



• 2 CF_3COOH

Dung dịch chứa 1-[2-({3-[2-(3-{(S)-2-[(R)-2-(tert-butyl-dimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-phenyl)axetylamino]propyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (59mg, 0,063mmol) và trietylamin trihydroflorua (10,3µl, 0,0634mmol) trong DCM (1ml) được chiếu vi sóng (300 oát) ở 80°C trong 20 phút. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được

tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 10-50) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (35,2mg, hiệu suất 52%).

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,16 phút; *m/z* 817,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 31

Điều chế metyl 5-metylaminopentanoat hydroclorua

Dung dịch được khuấy chứa 1-metyl-2-piperidinon (4,40ml, 40,0mmol) trong dung dịch natri hydroxit trong nước (4M, 11,0ml, 44,0mmol) được đun nóng ở 100°C trong 15 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và tiếp đó được axit hóa đến độ pH = 2 bằng dung dịch axit clohydric đặc. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được axit 5-metylaminopentanoic thô dưới dạng chất rắn màu trắng hơi hồng. MeOH (40,0ml, 987mmol) và axit clohydric đặc (0,33ml, 4,0mmol) được thêm vào axit 5-metylaminopentanoic thô. Dung dịch vẩn đục tạo thành được đun nóng ở 60°C trong 39 giờ, tại thời điểm này LC-MS cho thấy vẫn còn chất ban đầu. Axit clohydric đặc bổ sung (0,33ml, 4,0mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được đun nóng ở 60°C trong 33 giờ và tiếp đó ở 65°C trong 24 giờ nữa. LC-MS cho thấy vẫn còn chất ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và dung dịch chứa hydro clorua trong MeOH (1,25M) được thêm vào phần cặn. Hỗn hợp tạo thành được đun nóng ở 60°C trong 72 giờ, tại thời điểm này quan sát bằng LC-MS thấy không còn chất ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc một phần dưới áp suất giảm và chất rắn tạo thành được loại bỏ bằng cách lọc, rửa bằng MeOH. Tiếp đó, dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để tạo ra metyl 5-metylaminopentanoat hydroclorua (7,57g, hiệu suất 100%) dưới dạng chất rắn màu vàng sáng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 1,10 phút; *m/z* 146,4 $[M + H]^+$.

^1H NMR (CD_3OD) δ 4,86 (s), 3,66 (s), 3,30 (t), 3,00 (t), 2,69 (s), 2,41 (t), 1,71 (m).

Ví dụ 32

Điều chế metyl este của axit 5-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)pentanoic

Hỗn hợp chứa metyl 5-metylaminopentanoat hydroclorua (7,27g, 40,0mmol), axit 3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionic (13,3g, 36,0mmol) và 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (5,14g, 37,8mmol) trong DCM (160ml) và 2,6-lutidin (12,5ml, 108mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (10,4g, 54,0mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (~100ml) được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp nước được chiết bằng DCM (50ml) và các lớp hữu cơ được kết hợp lại, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (30-100% EtOAc trong hexan; tiếp đó 2-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (12,38g, hiệu suất 69%) dưới dạng dầu đặc màu vàng sáng/chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,43 phút; *m/z* 496,6 $[M + H]^+$. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8,10 (d, 1H), 7,40 (m, 6H), 7,20 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 4,74 (m, 1H), 3,66 (d, 3H), 3,37 (t, 1H), 3,29 (m, 1H), 2,97 (s, 2H), 2,91 (s, 1H), 2,70 (m, 4H), 2,49 (m, 2H), 2,34 (m, 4H), 1,92 (m, 2H), 1,60 (m, 5H).

Ví dụ 33

Điều chế axit 5-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)pentanoic

Hỗn hợp LiOH:nước có tỷ lệ 1:1 (1,97g, 41,2mmol) được thêm vào hỗn hợp chứa metyl este của axit 5-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}-metylamino)pentanoic (10,21g, 20,60mmol), rượu tert-butylic (20ml) và nước (20ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ và tiếp đó độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến pH=2 bằng cách sử dụng

dung dịch axit clohydric trong nước (1N). Lớp nước được chiết bằng DCM (2 x ~80ml) và các lớp hữu cơ được kết hợp lại, làm khô trên natri sulfat, lọc, và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (12,23g, định lượng) dưới dạng chất rắn bọt màu trắng nhờ (chứa rượu tert-butylic còn lại).

LC-MS (Phương pháp 2-90): Rt 2,32 phút; *m/z* 482,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 34

Điều chế 2-(4-nitrophenyl)-1,3-dioxolan

Dung dịch được khuấy chứa *p*-nitrobenzaldehyt (101,5g, 672mmol), etylen glycol (112ml) và axit *p*-toluensulfonic (12,8g, 67,2mmol) trong toluen (800ml) được đun nóng trong bình được trang bị bẫy Dean-Stark ở 120°C trong 4 giờ. Sau khi làm nguội đến nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm. dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (800ml) được thêm vào phần cặn và hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 phút. Chất rắn tạo thành được tách bằng cách lọc và làm khô trong chân không để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (121,8g, hiệu suất 92%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

^{1}H NMR (DMSO-d_6): δ = 8,12 (d, 2H), 7,59 (d, 2H), 5,78 (s, 1H), 3,8-4,0 (m, 4H).

Ví dụ 35

Điều chế 4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylamin

Dung dịch chứa 2-(4-nitrophenyl)-1,3-dioxolan (976mg, 5,00mmol) trong EtOH (30,0ml) được thêm vào hỗn hợp chứa platin dioxit (227mg, 1,00mmol) và natri bicacbonat (420mg, 5,00mmol) trong nitơ khô. Hỗn hợp phản ứng được tạo bọt bằng hydro trong 15 phút và tiếp đó được khuấy trong môi trường hydro (bình cầu) trong 2 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm Xelit rửa bằng MeOH. Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (0,80g, hiệu suất 96%).

Ví dụ 36

Điều chế 1-(2-{[4-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)-phenylcarbamoyl)butyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

1-Hydroxy-7-azabenzotriazol (692mg, 5,08mmol) và *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (1,39g, 7,26mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa axit 5-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionyl}metylamino)pentanoic (2,33g, 4,84mmol), 4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylamin (800mg, 5mmol) và N,*N*-diisopropyletylamin (1,26ml, 7,26mmol) trong DCM (48,4ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,04g, hiệu suất 100%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-70): Rt 2,67 phút; *m/z* 629,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 37

Điều chế 1-(2-{[4-(4-formylphenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Hỗn hợp được khuấy chứa 1-(2-{[4-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (3,04g, 4,84mmol) trong dung dịch axit clohydric trong nước (1M, 10ml) và axetonitril (10ml) được đun nóng ở 50°C trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước và DCM được thêm vào phần cặn. Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,83g, 100% hiệu suất).

LC-MS (Phương pháp 10-70): Rt 2,67 phút; *m/z* 585,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 38

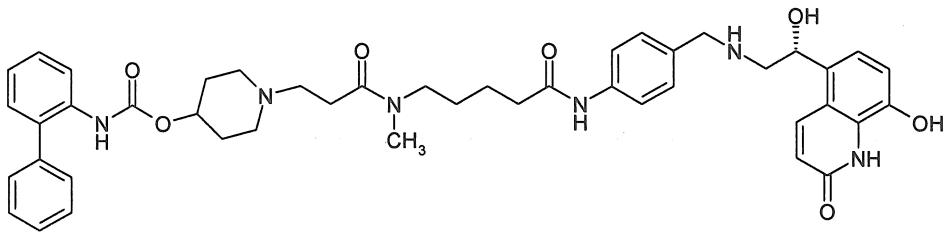
Điều chế 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetyl-silanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-phenylcarbamoyl)butyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Natri triaxetoxybohydrua (3,08g, 14,5mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[4-(4-formyl-phenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (2,83g, 4,84mmol) và muối của axit 5-[(*R*)-2-amino-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-hydroxy-1H-quinolin-2-on axetic (1,91g, 4,84mmol) trong hỗn hợp MeOH:DCM có tỷ lệ 1:1 (40,0ml, 312mmol). Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và tiếp đó các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được chất rắn màu vàng. Chất rắn này được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-30% MeOH trong DCM + 0,5% NH_4OH) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,60g, hiệu suất 82%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-70): Rt 2,72 phút; *m/z* 903,8 $[M + H]^+$.

Ví dụ 39

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}phenylcarbamoyl)-butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-14)



• 2 CF_3COOH

Trietylamin trihydroflorua (1,95ml, 12,0mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-metyl}phenylcarbamoyl)butyl] metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (3,60g, 3,98mmol) trong hỗn hợp DCM:DMF có tỷ lệ 9:1 (32,9ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và tiếp đó được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 10-70) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,90g, hiệu suất 46%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 10-70): Rt 2,12 phút; *m/z* 789,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 40

Điều chế dibenzyl-(4-iodo-2,5-dimetylphenyl)amin

Hỗn hợp của 2,5-dimetyl-4-iodoanilin (6,44g, 26,1mmol), benzyl bromua (11,50g, 67,24mmol) và kali cacbonat (8,20g, 59,3mmol) trong EtOH (100ml) được khuấy ở 50°C trong 12 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn (chất rắn màu tím) được trộn với DCM và hỗn hợp phản ứng này được lọc bằng cách sử dụng chân không. Dịch lọc được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (9,35g, 83% hiệu suất) dưới dạng dầu.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 3,99 phút; *m/z* 428,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 41

Điều chế 4-dibenzylamino-2,5-dimetylbenzaldehyt

n-butyllithi trong hexan (1,6M, 20,5ml, 32,8mmol) được thêm từng giọt qua ống bơm vào dung dịch được khuấy chứa dibenzyl-(4-iodo-2,5-dimetylphenyl)amin (9,35g, 21,9mmol) trong toluen (100ml) trong môi trường nitơ ở -15°C trong 30 phút. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở -15°C trong 15 phút và tiếp đó *N,N*-dimetylformamit (1,86ml, 24,1mmol) được thêm từng giọt vào trong thời gian 10 phút. Sau 2 giờ, dung dịch axit clohydric trong nước (1M, 46,6ml) và nước muối (30ml) được thêm vào và

hỗn hợp tạo thành được khuấy trong 15 phút. Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được chiết bằng nước muối, làm khô trên magie sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-50% DCM trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,60g, hiệu suất 49%) dưới dạng dầu trong suốt.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 3,76 phút; *m/z* 330,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 42

Điều chế dibenzyl-[4-(1,3-dioxolan-2-yl)-2,5-dimetylphenyl]amin

1,2-etandiol (1,83ml, 32,8mmol) và axit *p*-toluensulfonic (451mg, 2,62mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 4-dibenzylamino-2,5-dimetylbenzaldehyt (3,60g, 10,9mmol) trong toluen (35,0ml) trong môi trường nitơ. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng ở 80°C qua đêm. TLC (hexan:EtOAc với tỷ lệ 3:1) cho thấy hỗn hợp của sản phẩm và chất ban đầu có tỷ lệ 50:50. Magie sulfat (1,32g, 10,9mmol) được thêm vào và việc khuấy được tiếp tục trong 6 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,19g, hiệu suất 78%) dưới dạng dầu.

Ví dụ 43

Điều chế (4-amino-2,5-dimetylphenyl)metanol

Dung dịch được khuấy chứa dibenzyl-[4-(1,3-dioxolan-2-yl)-2,5-dimetylphenyl)amin (2,00g, 5,35mmol) trong EtOH (14,0ml) và EtOAc (7,00ml) được dội bằng nitơ trong 3 phút và tiếp đó natri bicacbonat (0,200g, 2,38mmol) và paladi trên cacbon hoạt hóa (10% trọng lượng, ~50% nước; 0,800g, 0,360mmol) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng được dội bằng khí hydro trong 3 phút và tiếp đó được khuấy trong môi trường hydro (bình cầu) trong 3 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm Xelit và đệm được rửa bằng MeOH (10ml). Dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 44

Điều chế 1-(2-{[3-(4-hydroxymetyl-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch chứa axit 5-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}-metylamino)pentanoic (1,19g, 2,46mmol); (4-amino-2,5-dimetylphenyl)-metanol (372mg, 2,46mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (858µl, 4,93mmol) trong DCM (18,5ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút. *N*-(3-dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (708mg, 3,69mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (5ml) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng DCM (2 x 2ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (460mg, hiệu suất 31%) dưới dạng dầu màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,53 phút; *m/z* 599,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 45

Điều chế 1-(2-{[4-(4-formyl-2,5-dimetyl-phenylcarbamoyl)butyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

N,N-diisopropyletylamin (0,65ml, 3,7mmol) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[4-(4-hydroxymetyl-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (0,460g, 0,748mmol) và dimetyl sulfoxit (0,531ml, 7,48mmol) trong DCM (2,58ml) ở 0°C. Phức lưu huỳnh trioxit – pyridin (0,357g, 2,24mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở 0°C trong 1 giờ. Nước (3ml) được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat và được lọc để thu được hợp chất nêu ở đề mục này trong dung dịch DCM, chất này được sử dụng ngay lập tức trong phản ứng tiếp theo.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,44 phút; *m/z* 613,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 46

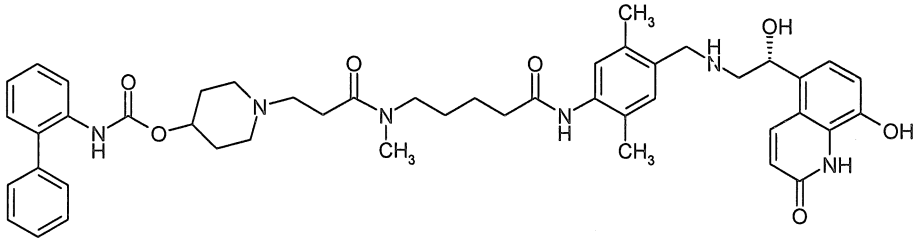
Điều chế 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetyl-silanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Muối của axit 5-[(*R*)-2-amino-1-(*tert*-butyl-dimetylsilanyloxy)etyl]-8-hydroxy-1H-quinolin-2-on axetic (0,295g, 0,748mmol) trong hỗn hợp MeOH:DCM có tỷ lệ 1:1 (3,0ml) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[4-(4-formyl-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (~0,748mmol) trong DCM từ phản ứng trên đây. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và tiếp đó natri triaxetoxybohydrua (0,476g, 2,24mmol) được thêm vào và việc khuấy được tiếp tục ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Dung dịch nước NaOH (1M, 3ml) và DCM (3ml) được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-15% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (420mg, hiệu suất 60%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,39 phút; *m/z* 931,6 $[M^+]$.

Ví dụ 47

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-18)



• 2 CF_3COOH

Dung dịch chứa 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyl-dimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenyl-carbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (0,420g, 0,451mmol) và trietylamin trihydroflorua (0,220ml, 1,35mmol) trong DCM (2,00ml) được chiếu vi sóng (300 oát) ở 80°C trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được trộn với hỗn hợp AcOH:nước có tỷ lệ 1:1 và được lọc. Dịch lọc được tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 2-90) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (124mg, hiệu suất 26%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,75 phút; *m/z* 817,8 $[M + H]^+$. ^1H NMR (CD_3OD) δ 8,30 (m), 7,56 (m), 7,40 (m), 7,06 (m), 6,68 (d), 5,46 (m), 4,35 (s), 3,51 (m), 3,30 (m), 3,16 (m), 2,94 (m), 2,42 (m), 2,27 (m), 1,97 (m), 1,72 (m).

Ví dụ 48

Điều chế metyl 3-metylaminobenzoat

Dung dịch chứa axit formic (106ml) và anhydrit axetic (53,0ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Metyl 3-aminobenzoat (8,50g, 56,2mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được chất rắn. Chất rắn này được hòa tan trong THF (50,0ml) và dung dịch này được làm lạnh đến 0°C. Boran dimetylsulfua (10,7ml, 112mmol) được thêm vào từ từ và hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được làm lạnh đến 0°C và MeOH (10ml) được thêm vào từ từ. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong 3 giờ và tiếp đó được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,25 phút; *m/z* 166,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 49

Điều chế metyl este của axit 3-(acryloylmetylamino)benzoic

2-Propenoyl clorua (2,29ml, 28,2mmol) được thêm vào hỗn hợp được khuấy chứa metyl este của axit 3-metylaminobenzoic (3,11g, 18,8mmol) và natri bicacbonat (3,16g, 37,6mmol) trong DCM (20,0ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy qua đêm ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (4,12g, hiệu suất 100%), chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 50

Điều chế metyl este của axit 3-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)benzoic

Dung dịch được khuấy chứa metyl este của axit 3-(acryloylmetylamino)benzoic (ước tính khoảng 56mmol) và piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (16,6g, 56,0mmol) trong EtOH (20,0ml) được đun nóng ở 90°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn tạo thành được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (13,0g, hiệu suất 45%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,30 phút; *m/z* 516,2 $[M + H]^+$.

Ví dụ 51

Điều chế axit 3-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)benzoic

Dung dịch chứa metyl este của axit 3-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionyl}metylamino)benzoic (6,80g, 13,2mmol) và lithi hydroxit (1,58g, 65,9mmol) trong hỗn hợp axetonitril:nước có tỷ lệ 1:1 (25,0ml)

được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH = 5 bằng dung dịch axit clohydric trong nước (1M) và hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng DCM (20ml). Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (5,80g, hiệu suất 87%) dưới dạng bột màu trắng nhờ.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,15 phút; *m/z* 502,2 $[M + H]^+$.

Ví dụ 52

Điều chế 1-{2-[(3-clocarbonylphenyl)metyl-carbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Hỗn hợp chứa axit 3-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}-metylamino)benzoic (1,00g, 2,00mmol) và thionyl clorua (1,50ml, 20,6mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng ngay lập tức trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 53

Điều chế 1-(2-{[3-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)-phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch chứa 1-{2-[(3-clocarbonylphenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (0,260g, 0,500mmol) trong DCM (1,0ml) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylamin (0,0826g, 0,500mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (348µl, 2,00mmol) trong DCM (2,0ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. LC-MS (Phương pháp 10-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,41 phút; *m/z* 649,4 $[M + H]^+$. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-5%

MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (345mg chứa một ít cặn dung môi, hiệu suất khoảng 100%) dưới dạng dầu màu nâu.

Ví dụ 54

Điều chế 1-(2-{[3-(4-formylphenylcarbamoyl)-phenyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch axit clohydric trong nước (1N, 2,00ml) được thêm vào dung dịch được khuấy chứa 1-(2-{[3-(4-(1,3-dioxolan-2-yl)phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (345mg chứa một ít cặn dung môi, khoảng 0,500mmol) trong axetonitril (2,00ml) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. LC-MS (Phương pháp 10-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,45 phút; *m/z* 605,0 $[M + H]^+$. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 55

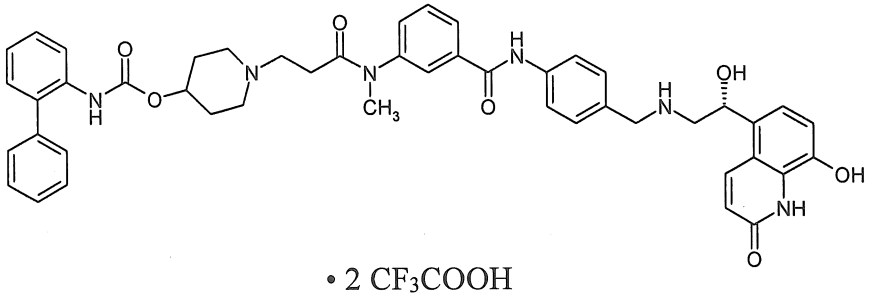
Điều chế 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-metyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metylcarbamoyl} etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Dung dịch chứa 1-(2-{[3-(4-formylphenylcarbamoyl)-phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (151mg, 0,250mmol) và muối của axit 5-[(*R*)-2-amino-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-hydroxy-1H-quinolin-2-on axetic (98,6mg, 0,250mmol) trong hỗn hợp MeOH:DCM có tỷ lệ 1:1 (2,0ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Natri triaxetoxybohydrua (159mg, 0,750mmol) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. LC-MS (Phương pháp 10-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 3,32 phút; *m/z* 923,6 $[M + H]^+$. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa

trong nước được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Ví dụ 56

Điều chế muối axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-3-metoxyphenyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-25)



• 2 CF_3COOH

Dung dịch chứa 1-{2-[(4-{[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetyl-silanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-3-metoxyphenyl)metylcarbamoyl]-etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (231mg, 0,250mmol) và trietylamin trihydroflorua (204µl, 1,25mmol) trong DCM (2,00ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. LC-MS (Phương pháp 10-90) cho thấy sản phẩm có mặt (Rt 2,73 phút; *m/z* 809,6 $[M + H]^+$. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 10-50) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (47,3mg, hiệu suất 23,4%, độ tinh khiết 99%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

Ví dụ 57

Điều chế 2-(4-nitrophenyl)etyl este của axit 4-nitrobenzensulfonic

4-Nitrobenzensulfonyl clorua (4,97g, 22,43mmol) được thêm làm nhiều lần vào dung dịch được khuấy chứa 4-nitrobenzenetanol (3,34g, 20,0mmol) và

trietylendiamin (3,36g, 30,0mmol) trong DCM (62,7ml) ở 0°C trong thời gian 5 phút. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Nước (50ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy trong 10 phút. Lớp hữu cơ được tách ra, làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này dạng thô (5,8g, hiệu suất 82%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

HPLC (Phương pháp 2-90): Rt 4,23 phút (214 nm).

Ví dụ 58

Điều chế 5-[(*R*)-2-{benzyl-[2-(4-nitrophenyl)etyl]amino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on

Dung dịch được khuấy chứa 2-(4-nitrophenyl)etyl este của axit 4-nitrobenzensulfonic (3,78g, 10,7mmol); 5-[(*R*)-2-benzylamino-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (4,620g, 8,975mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (3,59ml, 20,6mmol) trong axetonitril (39,2ml) được đun nóng ở 65°C qua đêm. Sau khi làm nguội hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng, EtOAc (20ml) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng nước muối (20ml). Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-30% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (3,0g, hiệu suất 50%) dưới dạng dầu màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,94 phút; *m/z* 664,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 59

Điều chế 5-[(*R*)-2-{[2-(4-aminophenyl)etyl]benzylamino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on

Hỗn hợp chứa 5-[(*R*)-2-{benzyl-[2-(4-nitrophenyl)etyl]amino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (3,00g, 4,52mmol); sắt (2,52g, 45,2mmol) và sắt (II) clorua tetrahydrat (0,18g, 0,90mmol) trong EtOH (27,3ml) và AcOH (9,09ml) được khuấy ở 80°C qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được

lọc qua đệm Xelit, rửa bằng EtOAc (20ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (10ml), làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,43 phút; *m/z* 634,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 60

Điều chế 1-[2-({3-[4-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-amino}etyl)phenylcarbamoyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Hỗn hợp của 5-[(*R*)-2-{[2-(4-aminophenyl)etyl]benzylamino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (1,27g, 2,00mmol); axit 3-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)benzoic (1,00g, 2,00mmol); 1-hydroxy-7-azabenzotriazol (0,286g, 2,10mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (0,697ml, 4,00mmol) trong DCM (5,00ml) được khuấy trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng. *N*-(3-Dimetylaminopropyl)-*N'*-etylcarbodiimit hydroclorua (0,575g, 3,00mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy trong 3 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (5ml) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng DCM (2 x 5ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,74g, hiệu suất 77%) dưới dạng chất rắn màu vàng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,73 phút; *m/z* 1117,8 $[M^+]$.

Ví dụ 61

Điều chế 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-etyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

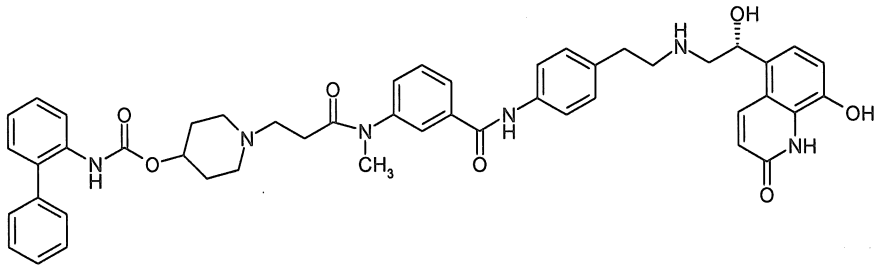
Dung dịch chứa 1-[2-({3-[4-(2-{benzyl-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-

amino}etyl)phenylcarbamoyl]phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (1,74g, 1,56mmol) trong EtOH (12,2ml) và AcOH (0,122ml) được dội bằng nitơ trong 3 phút. Paladi trên cacbon (10%, ~50% nước, 0,18g) được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được dội bằng hydro trong 4 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường hydro (bình cầu) qua đêm và tiếp đó lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký nhanh trên silicagel (0-15% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,11g, hiệu suất 76%) dưới dạng chất lỏng đặc màu hơi nâu.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,46 phút; *m/z* 937,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 62

Điều chế 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)-phenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este ditrifloaxetat của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-34)



• 2 CF_3COOH

Dung dịch chứa 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenyl-carbamoyl)phenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (ước tính khoảng 1,56mmol) và trietylamin trihydroflorua (299µl, 1,84mmol) trong DCM (3,06ml) được chiếu vi sóng (300 oát) ở 80°C trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 10-50) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (280mg, 17%) dưới dạng chất rắn màu trắng.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,98 phút; *m/z* 823,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 63

Điều chế [3-(2-oxopropyl)phenyl]axetonitril

Dung dịch được khuấy chứa 3-bromophenylaxetonitril (10,0g, 51,0mmol), tributyl thiếc metoxit (17,6ml, 61,2mmol), tris(dibenzylidenaxeton)dipaladi (0) (500mg, 0,5mmol), isopropenyl axetat (6,74ml, 61,2mmol) và 2-dixyclohexylphosphino-2'-(*N*,*N*-dimetylamino)biphenyl (800mg, 2mmol) trong toluen (100ml, đã được khử khí) được đun nóng ở 100°C trong môi trường nitơ trong 6 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến nhiệt độ trong phòng và EtOAc (30ml) được thêm vào. Dung dịch chứa kali florua (10g, 200mmol) trong nước (52ml) tiếp đó được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. Nước muối được thêm vào và hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm Xelit. Các lớp được tách riêng và lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, được lọc (nút coton) và được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-30% EtOAc trong hexan) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (6,1g, hiệu suất 69%) dưới dạng dầu màu nâu.

^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7,32 (t, 1H); 7,24 (d, 1H); 7,19 (s, 1H); 7,16 (d,1H); 3,85 (s, 2H); 3,77 (s, 2H); 2,14 (s, 3H).

Ví dụ 64

Điều chế muối {3-[(*R*)-2-((*R*)-1-phenyletylamino)propyl]phenyl}-axetonitril hydroclorua

Natri triaxetoxybohydrua (7,59g, 35,8mmol) được thêm vào dung dịch khuấy chứa [3-(2-oxopropyl)phenyl]axetonitril (2,00g, 11,5mmol) và (*R*)-1-phenyletylamin (1,52ml, 11,9mmol) trong DCM (50,0ml). Hỗn hợp tạo thành được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Dung dịch natri hydroxit trong nước (1M, 10ml) và dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (20ml) được thêm vào và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế từng phần bằng cách sắc ký trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM). Chất tạo thành được hòa tan trong MeOH và axetyl clorua (0,5ml) được thêm

vào. Hỗn hợp phản ứng này được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được hòa tan trong MeOH (15ml). Diisopropyl ete (30ml) được thêm vào từ từ để tạo thành lớp thứ hai trên phần trên của dung dịch. Sau khi để yên ở nhiệt độ trong phòng, hợp chất nêu ở đề mục này (2,0g, hiệu suất 55%) kết tủa và được thu gom bằng cách lọc.

^{1}H NMR (CD_3OD) δ 7,53-7,51 (m, 5H); 7,32 (t, 1H); 7,24 (t, 1H); 7,10 (s, 1H); 7,05 (d, 1H); 4,64-4,59 (m, 1H); 3,21-3,16 (m, 2H); 1,70 (d, 3H); 1,17 (d, 3H).

Ví dụ 65

Điều chế {(*R*)-2-[3-(2-aminoetyl)phenyl]-1-metyletyl}-((*R*)-1-phenyletyl)amin

Natri tetrahydroborat (2,72g, 71,8mmol) được thêm từng phần (phản ứng tỏa nhiệt) vào dung dịch khuấy chứa muối {3-[(*R*)-2-((*R*)-1-phenyletylamino)propyl]phenyl}-axetonitril hydroclorua (2,00g, 6,35mmol) và coban (II) clorua hexahydrat (4,27g, 18,0mmol) trong MeOH (40,0ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ trong phòng và tiếp đó dung dịch axit clohydric đặc trong nước được thêm vào và tiếp tục được khuấy cho đến khi chất rắn vừa tạo thành được hòa tan. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được bazơ hóa bằng cách thêm dung dịch natri hydroxit trong nước (1M). Hỗn hợp phản ứng này được lọc và dịch lọc được chiết bằng DCM (50ml). Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 0,938 phút; *m/z* 283,6 $[M + H]^+$.

Theo cách khác, bước khử này có thể được thực hiện bằng cách sử dụng lithi nhôm hydrua và coban (II) clorua hexahydrat trong THF.

Ví dụ 66

Điều chế *tert*-butyl este của axit (2-{3-[(*R*)-2-((*R*)-1-phenyletylamino)propyl]-phenyl}etyl)carbamic

Dung dịch chứa {(*R*)-2-[3-(2-aminoetyl)phenyl]-1-metyletyl}-((*R*)-1-phenyletyl)amin (khoảng 6,35mmol), di-*tert*-butyldicacbonat (1,41g, 6,46mmol) và

N,N-diisopropyletylamin (1,50ml, 8,62mmol) trong DCM (20,0ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng 72 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (20ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được chiết bằng DCM (2 x 10ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (1,24g, hiệu suất 51%, 2 bước) dưới dạng dầu không màu.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,42 phút; *m/z* 383,2 $[M + H]^+$.

Ví dụ 67

Điều chế *tert*-butyl este của axit {2-[3-((*R*)-2-aminopropyl)phenyl]etyl}carbamic

Dung dịch được khuấy chứa *tert*-butyl este của axit (2-{3-[(*R*)-2-((*R*)-1-phenyletylamino)propyl]phenyl}etyl)-carbamic (1,54g, 4,02mmol), paladi hydroxit trên cacbon (10% trọng lượng, ~50% nước, 2,24g, 0,805mmol), và amoni format (1,27g, 20,1mmol) trong EtOH (50,0ml) được đun nóng từ từ đến 50°C và tiếp đó được khuấy ở 50°C trong 1,5 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc qua đệm Xelit và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,91 phút; *m/z* 279,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 68

Điều chế *tert*-butyl este của axit [2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]-propyl}phenyl)etyl]carbamic

Dung dịch được khuấy chứa 8-benzyloxy-5-[(*R*)-2-bromo-1-(*tert*-butyldimetyl-silanyloxy)etyl]-1H-quinolin-2-on (3,14g, 6,43mmol); *tert*-butyl este của axit {2-[3-((*R*)-2-aminopropyl)-phenyl]etyl}carbamic (1,79g, 6,43mmol) và trietylamin (1,08ml, 7,72mmol) trong DMF (21,0ml) được chiếu vi sóng (300 oát) ở 80°C trong 15 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (10ml) được thêm

vào và hỗn hợp tạo thành được chiết bằng DCM (2 x 10ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (2,8g, hiệu suất 63%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,97 phút; *m/z* 686,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 69

Điều chế 5-[(*R*)-2-{(*R*)-2-[3-(2-aminoetyl)phenyl]-1-metyletylamino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on

Dung dịch chứa *tert*-butyl este của axit [2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etylamino]propyl}-phenyl)etyl]carbamic (2,8g) trong 20% axit trifloaxetic trong DCM được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước được thêm vào để trung hòa TFA và các lớp được tách riêng. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,91 phút; *m/z* 586,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 70

Điều chế metyl (4-formylaminophenyl)axetat

Dung dịch chứa anhydrit axetic (14,3ml, 151mmol) và axit formic (22,8ml, 605mmol) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Metyl (4-aminophenyl)axetat (5,00g, 30,3mmol) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được khuấy qua đêm. Dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (10ml) được thêm vào và hỗn hợp tạo thành được chiết bằng DCM (2 x 10ml). Lớp hữu cơ thu gom được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (4,31g) dưới dạng dầu màu vàng, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,57 phút; *m/z* 194,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 71

Điều chế metyl (4-metylaminophenyl)axetat

Boran dimetylsulfua (8,61ml, 90,8mmol) được thêm từ từ vào dung dịch được khuấy chứa metyl (4-formylaminophenyl)axetat (4,31g) trong THF (20,0ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm và tiếp đó được làm lạnh đến 0°C. MeOH (15ml) được thêm vào cẩn thận và hỗn hợp tạo thành được khuấy trong 3 giờ. Tiếp đó, hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (4,0g, hiệu suất 73%, 2 bước) dưới dạng dầu trong suốt.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 0,67 phút; *m/z* 180,2 $[M + H]^+$.

Ví dụ 72

Điều chế metyl este của axit [4-(acryloylmetylamino)phenyl]axetic

2-Propenoyl clorua (2,18ml, 26,8mmol) được thêm từ từ vào dung dịch chứa metyl (4-metylaminophenyl)axetat (4,00g, 22,3mmol) và *N,N*-diisopropyletylamin (7,78ml, 44,6mmol) trong DCM (20,0ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ và tiếp đó dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước (20,0ml) được thêm vào. Hỗn hợp phản ứng này được chiết bằng DCM (10ml) và lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,20 phút; *m/z* 234,0 $[M + H]^+$.

Ví dụ 73

Điều chế metyl este của axit [4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}-metylamino)phenyl]axetic

Dung dịch được khuấy chứa metyl este của axit [4-(acryloylmetylamino)phenyl]axetic (~22,3mmol) và piperidin-4-yl este của axit

biphenyl-2-ylcarbamic (6,61g, 22,3mmol) trong EtOH (15,0ml) được đun nóng hồi lưu qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (8,41g, hiệu suất 71%, 2 bước) dưới dạng chất rắn dính màu nâu.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,36 phút; *m/z* 530,6 $[M + H]^+$.

Ví dụ 74

Điều chế axit [4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}-metylamino)phenyl]axetic

Dung dịch được khuấy chứa metyl este của axit [4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]-propionyl}metylamino)phenyl]axetic (8,00g, 15,1mmol) và lithi hydroxit (1,81g, 75,5mmol) trong axetonitril (20,0ml) và nước (20,0ml) được đun nóng ở 60°C trong 3 giờ. Độ pH của hỗn hợp phản ứng được điều chỉnh đến độ pH = 5 bằng dung dịch axit clohydric trong nước (1M) và hỗn hợp phản ứng được chiết bằng DCM. Lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-20% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (6,7g, hiệu suất 86%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,17 phút; *m/z* 516,4 $[M + H]^+$.

Ví dụ 75

Điều chế 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]-metyl}phenyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Hỗn hợp của 5-[(*R*)-2-{(*R*)-2-[3-(2-aminoetyl)phenyl]-1-metyletylamino}-1-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)etyl]-8-benzyloxy-1H-quinolin-2-on (0,586g, 1,00mmol); axit [4-({3-[4-(biphenyl-2-ylcarbamoyloxy)piperidin-1-yl]propionyl}metylamino)-phenyl]axetic (0,516g, 1,00mmol); 2-clopyridium triflat

trên nhựa Wang (chất phản ứng Mukaiyama mang polyme) (1,19mmol/g tải nạp; 1,68g, 2,00mmol); và *N,N*-diisopropyletylamin (522µl, 3,00mmol) trong DCM (5,00ml) được khuấy ở nhiệt độ trong phòng qua đêm. Hỗn hợp phản ứng được lọc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng cách sắc ký trên silicagel (0-5% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (412mg, hiệu suất 38%) dưới dạng dầu màu trắng nhờ.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,65 phút; *m/z* 1083,8 $[M + H]^+$.

Ví dụ 76

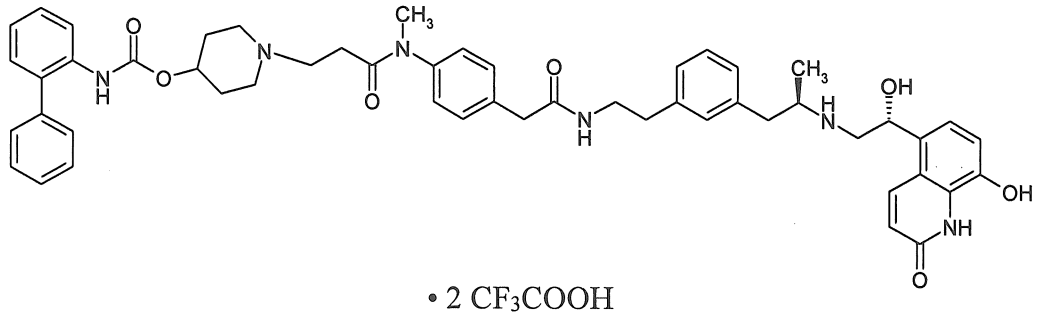
Điều chế 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(*tert*-butyl-dimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic

Nitơ khô được thổi vào dung dịch được khuấy chứa 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(8-benzyloxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]-metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (0,704g, 0,650mmol) trong EtOH (5,00ml) trong 3 phút và tiếp đó là paladi trên cacbon (10% trọng lượng, ~50% nước; 0,289g, 0,130mmol) được thêm vào. Hydro được thổi vào hỗn hợp phản ứng trong 3 phút và tiếp đó hỗn hợp phản ứng được khuấy trong môi trường hydro (bình cầu) trong 1 giờ. Hỗn hợp phản ứng được lọc và dịch lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được hợp chất nêu ở đề mục này, chất này được sử dụng trong phản ứng tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 2,49 phút; *m/z* 994,0 $[M + H]^+$.

Ví dụ 77

Điều chế muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)-etylcarbamoyl]metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (Hợp chất I-86)



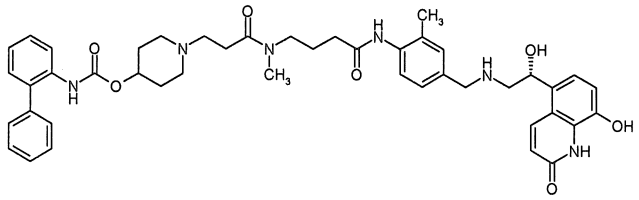
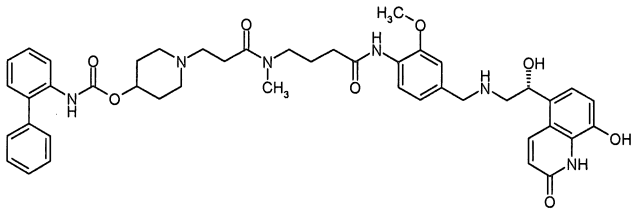
• 2 CF_3COOH

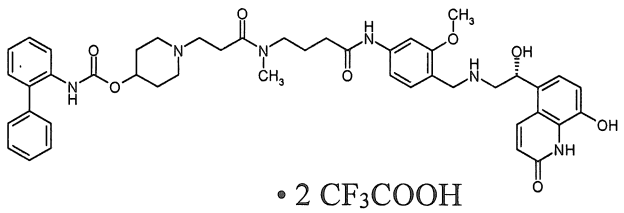
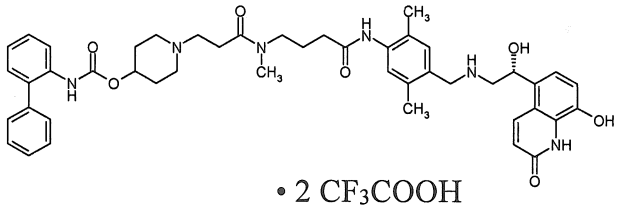
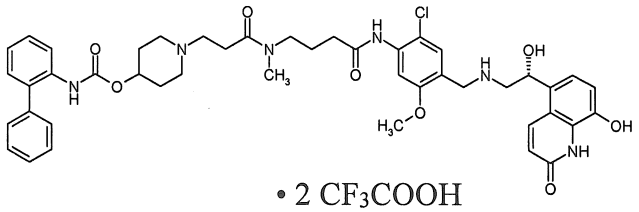
Dung dịch chứa 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]-propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic (~0,65mmol) và trietylamin trihydroflorua (184µl, 1,13mmol) trong DCM (3,00ml) được chiếu vi sóng (300 oát) ở 80°C trong 10 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phương pháp HPLC (Phương pháp 10-50) để thu được hợp chất nêu ở đề mục này (24,7mg, hiệu suất 4%, 2 bước) dưới dạng chất rắn màu trắng.

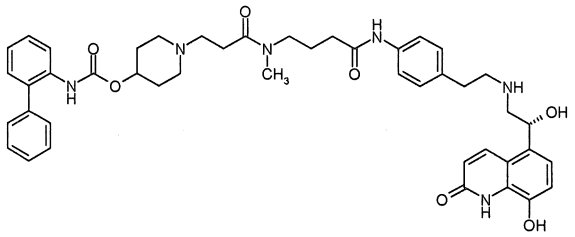
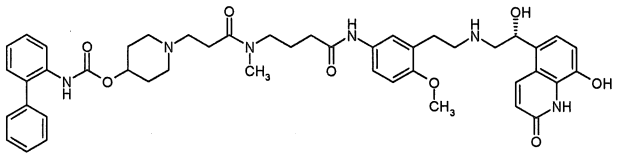
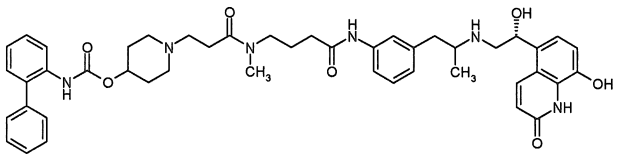
LC-MS (Phương pháp 10-90): Rt 1,78 phút; *m/z* 879,8 $[M + H]^+$.

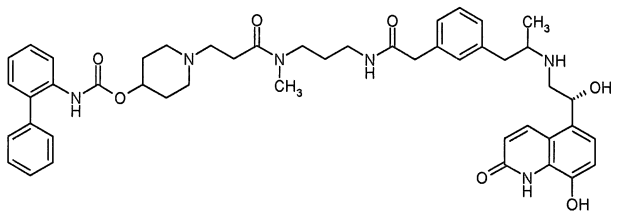
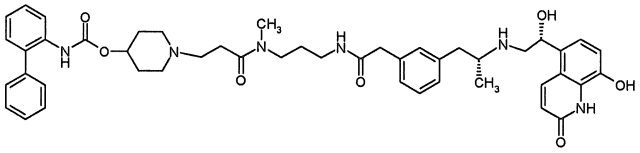
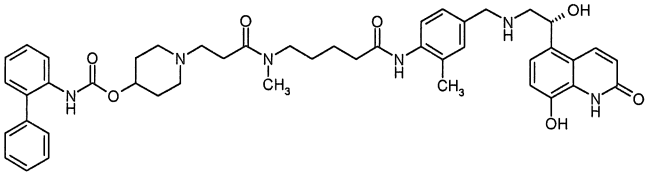
Các hợp chất được thể hiện trong Bảng II được điều chế bằng cách biến đổi các chất ban đầu được sử dụng trong các ví dụ nêu trên hoặc bằng cách sử dụng các quy trình tương tự.

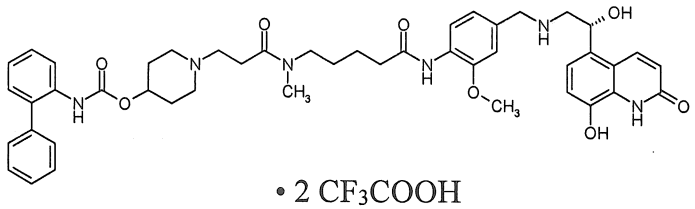
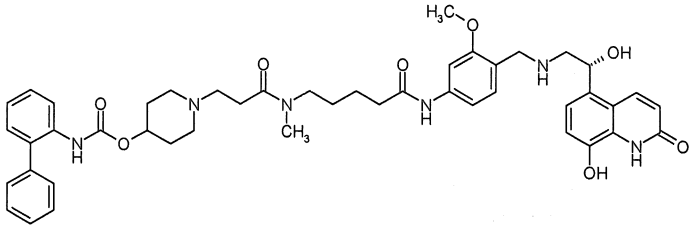
Bảng II

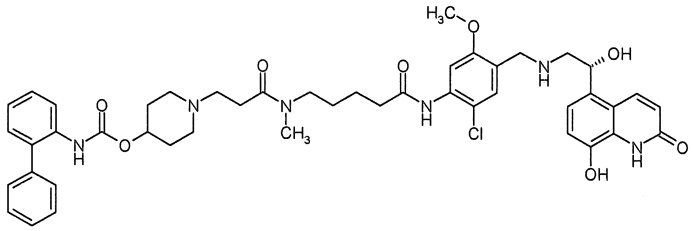
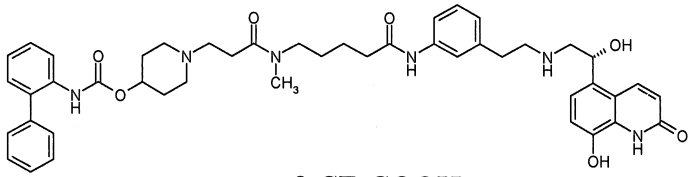
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
78	I-2	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(R)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2-metylphenylcarbamoyl)propyl] metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	39mg Rt 2,94 phút; *m/z* 789,6
79	I-3	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(R)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2-metoxyphenylcarbamoyl)-propyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	14mg Rt 2,90 phút; *m/z* 805,8

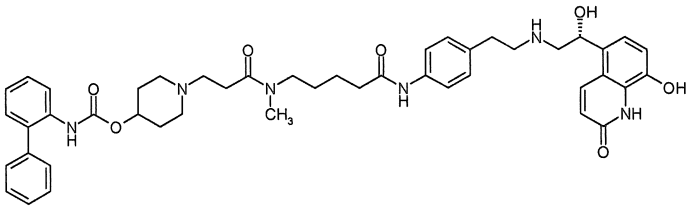
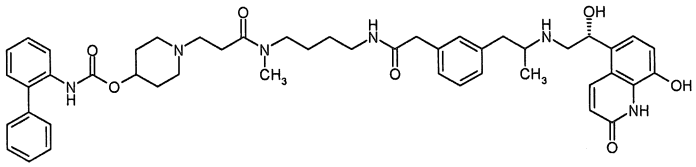
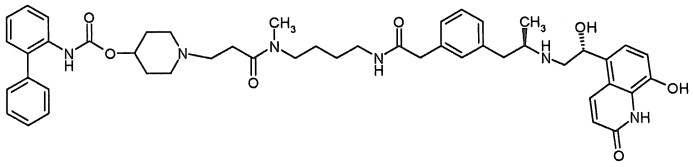
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
80	I-4	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-3-metoxyphenylcarbamoyl)-propyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	9mg Rt 3,18 phút; *m/z* 805,6
81	I-5	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)-propyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	50mg Rt 2,20 phút; *m/z* 803,6
82	I-6	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(2-clo-4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}-5-metoxyphenylcarbamoyl)-propyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	20mg Rt 2,15 phút; *m/z* 839,6

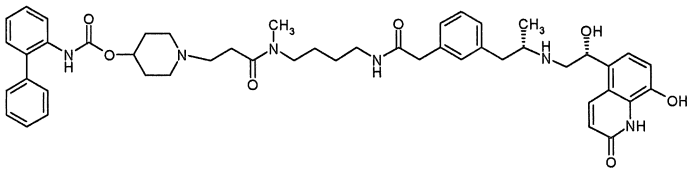
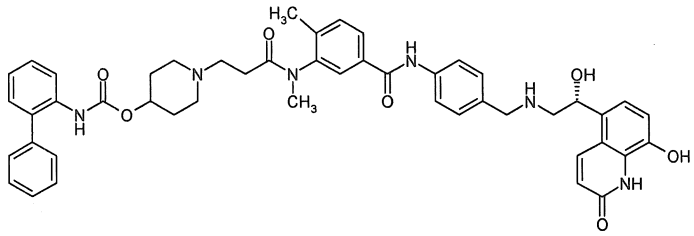
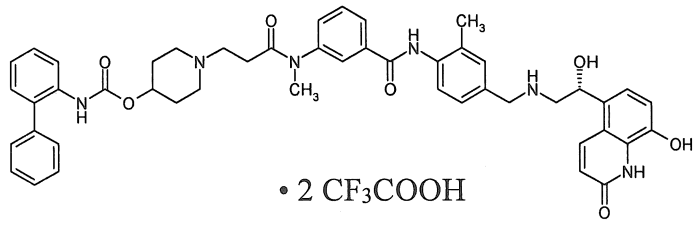
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
83	I-8	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}-phenylcarbamoyl)-propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	144mg Rt 2,77 phút; *m/z* 789,6
84	I-9	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}-4-metoxyphenylcarbamoyl)-propyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	29mg Rt 2,81 phút; *m/z* 819,6
85	I-10	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-phenylcarbamoyl)propyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	38mg Rt 2,93 phút; *m/z* 803,6

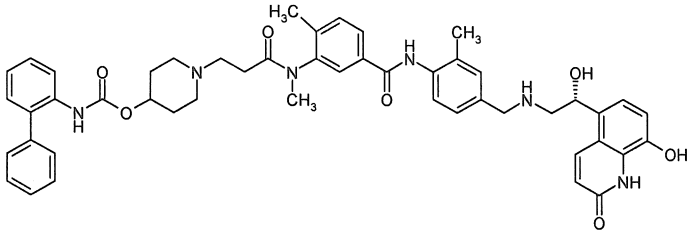
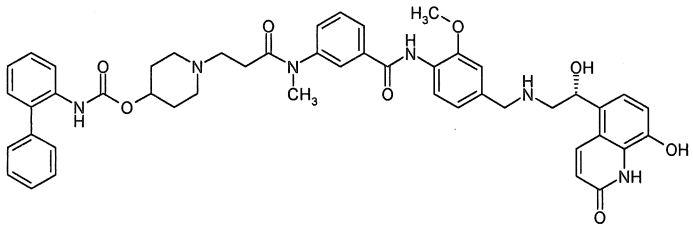
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
86	I-11	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]propyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	35mg Rt 2,95 phút; *m/z* 817,8
87	I-12	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]propyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 2,23 phút; *m/z* 817,6
88	I-15	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2-metylphenylcarbamoyl)butyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	43mg Rt 2,81 phút; *m/z* 803,6

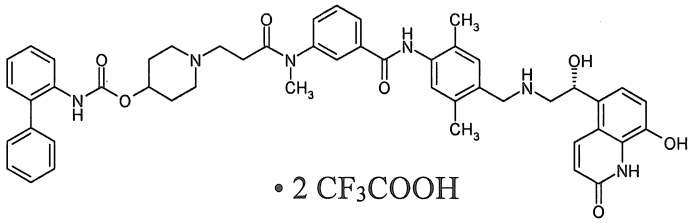
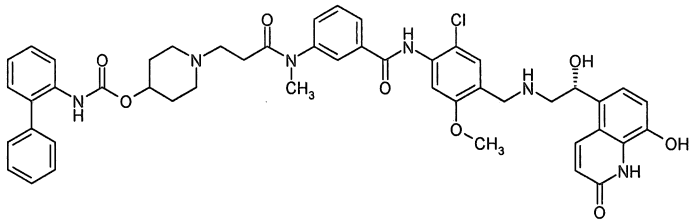
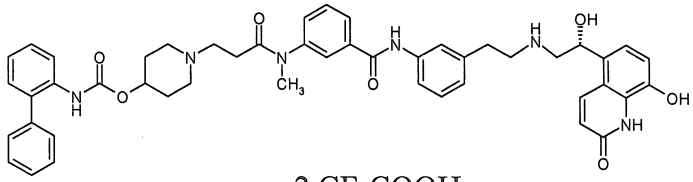
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
89	I-16	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2-metoxyphenylcarbamoyl)-butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 2,18 phút; *m/z* 819,8
90	I-17	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-3-metoxyphenylcarbamoyl)-butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	85mg Rt 2,18 phút; *m/z* 819,8

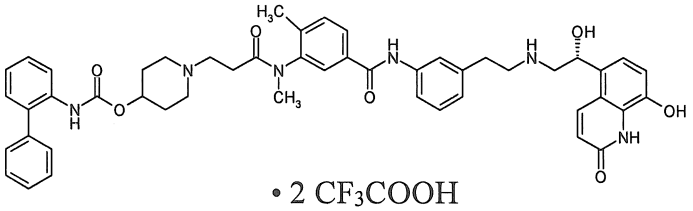
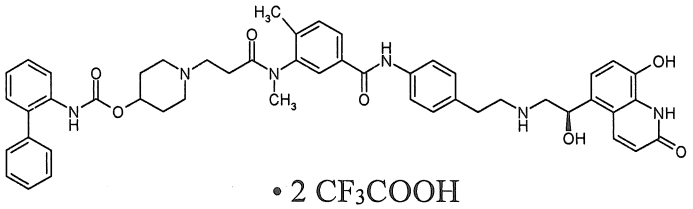
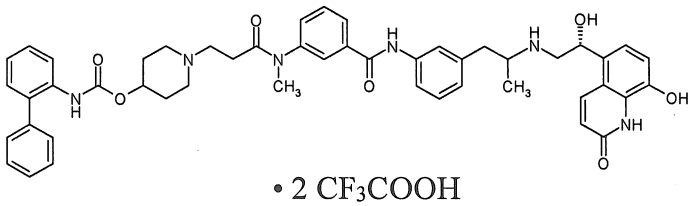
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
91	I-19	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(2-clo-4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-5-metoxyphenylcarbamoyl)-butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	30mg Rt 3,52 phút; *m/z* 853,4
92	I-20	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)butyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	53mg Rt 2,84 phút; *m/z* 803,6

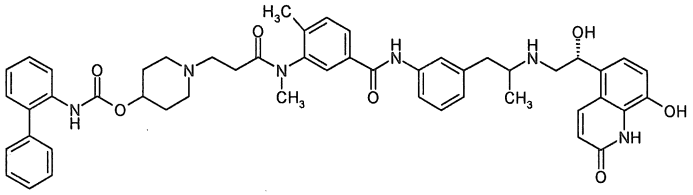
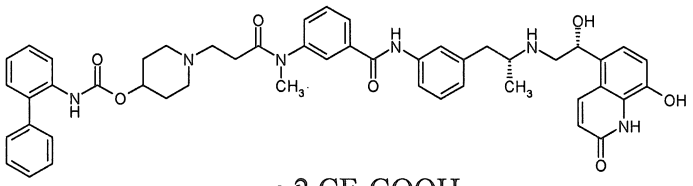
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
93	I-21	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)-butyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	46mg Rt 2,82 phút; *m/z* 803,6
94	I-22	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]butyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	25mg Rt 2,95 phút; *m/z* 831,8
95	I-23	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]butyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 2,26 phút; *m/z* 831,6

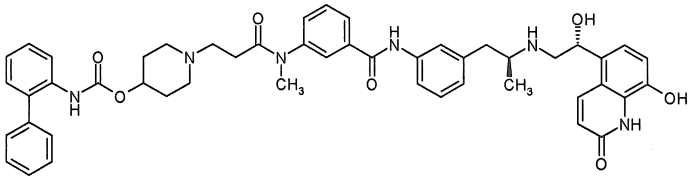
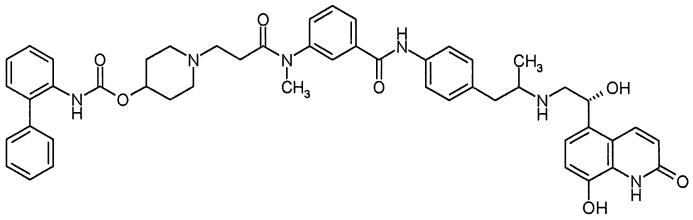
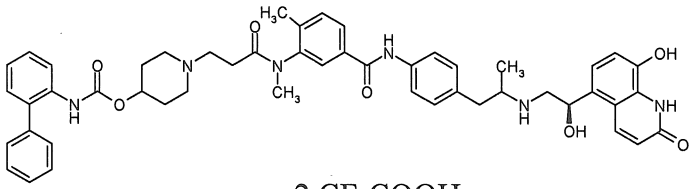
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
96	I-24	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]butyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	4mg Rt 4,34 phút; *m/z* 831,4
97	I-26	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}phenylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	21mg Rt 2,78 phút; *m/z* na
98	I-27	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2-metylphenylcarbamoyl)phenyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	92mg Rt 2,66 phút; *m/z* 823,6

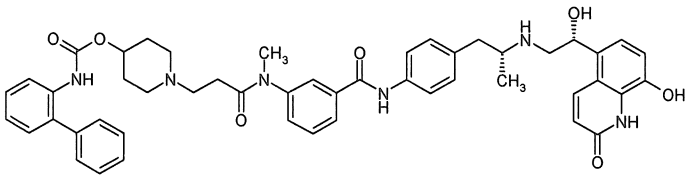
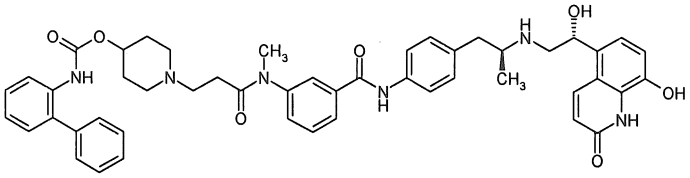
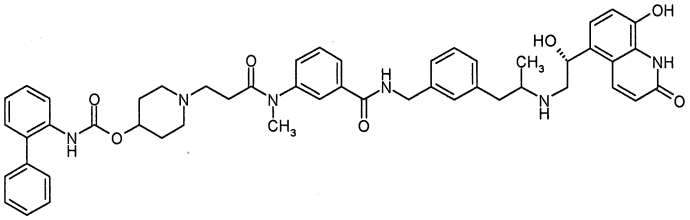
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
99	I-28	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2-metylphenylcarbamoyl)-2-metylphenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	37mg Rt 3,07 phút; *m/z* 837,5
100	I-29	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2-metoxyphenylcarbamoyl)-phenyl]metylcarbamoyl}-etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	28mg Rt 2,76 phút; *m/z* 839,4

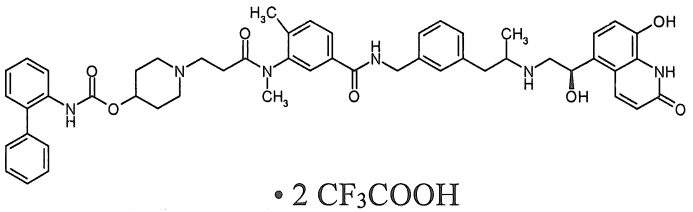
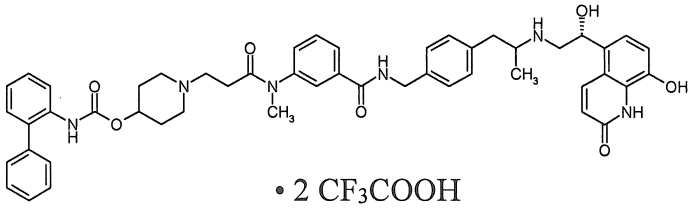
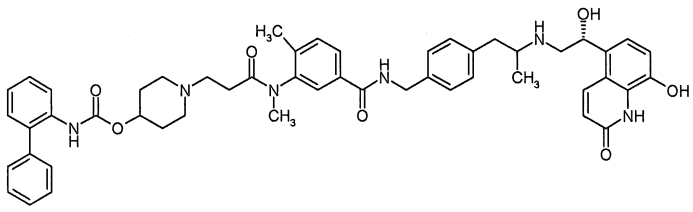
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
101	I-30	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)-phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	29mg Rt 3,51 phút; *m/z* 837,5
102	I-31	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(2-clo-4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-5-metoxyphenylcarbamoyl)-phenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	45mg Rt 3,42 phút; *m/z* 873,6
103	I-32	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	31mg Rt 2,92 phút; *m/z* 823,5

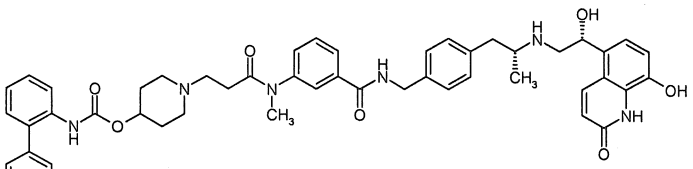
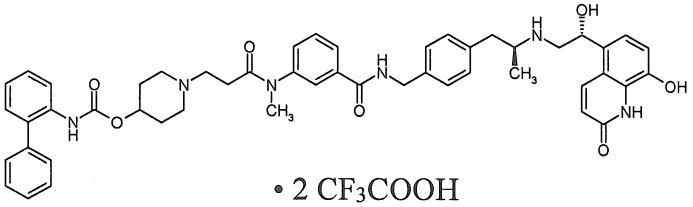
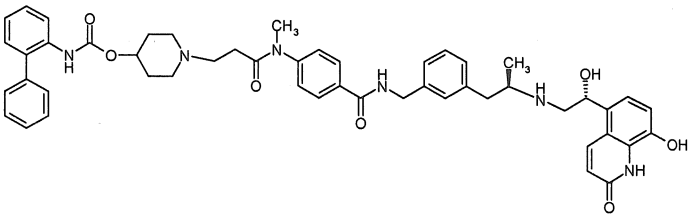
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
104	I-33	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	48mg Rt 3,21 phút; *m/z* 837,5
105	I-34	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	56mg Rt 3,15 phút; *m/z* 837,4
106	I-36	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl-carbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	20mg Rt 3,16 phút; *m/z* 837,4

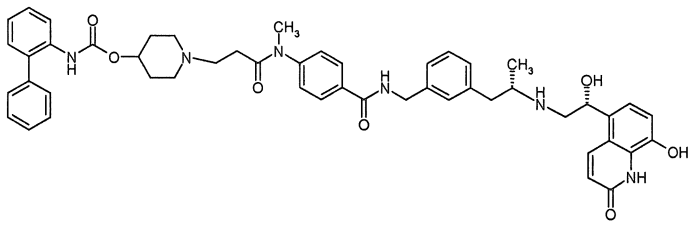
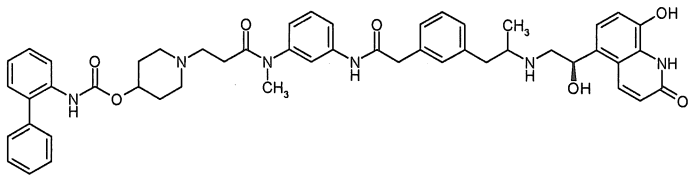
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
107	I-37	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	13mg Rt 3,10 phút; *m/z* 851,6
108	I-38	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 4,15 phút; *m/z* 837,5

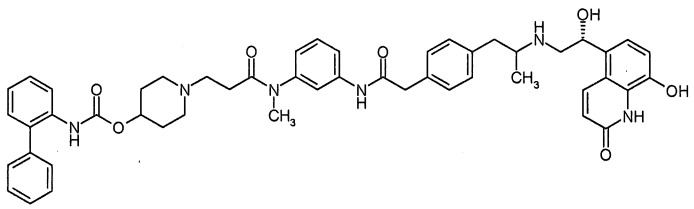
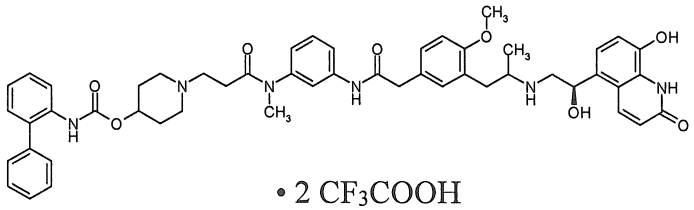
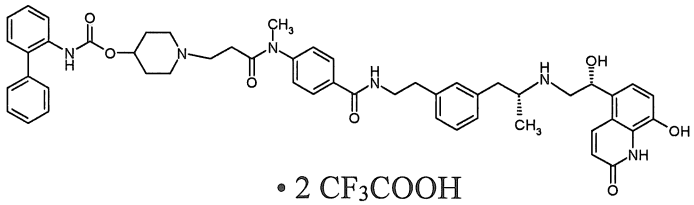
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
109	I-39	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	28mg Rt 2,12 phút; *m/z* 837,8
110	I-40	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 3,06 phút; *m/z* 837,5
111	I-41	 • 2 CF_3COOH 1-(2-{[5-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl-carbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	13mg Rt 3,26 phút; *m/z* 851,3

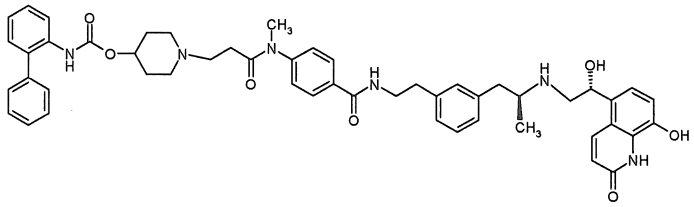
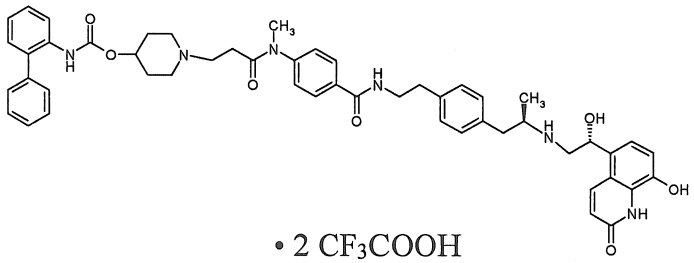
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
112	I-42	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl-carbamoyl)phenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 3,64 phút; *m/z* 837,6
113	I-43	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-phenylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	39mg Rt 3,51 phút; *m/z* 837,5
114	I-44	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	11mg Rt 3,20 phút; *m/z* 851,5

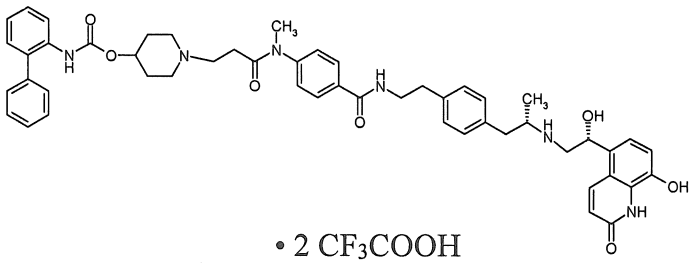
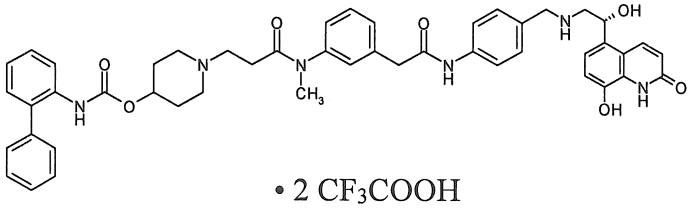
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
115	I-45	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 3,20 phút; *m/z* 865,5
116	I-46	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzyl-carbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	6mg Rt 3,11 phút; *m/z* 851,6
117	I-47	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[5-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)-2-metylphenyl]-metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	19mg Rt 3,30 phút; *m/z* 865,7

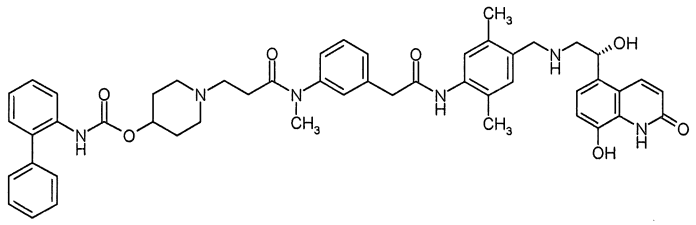
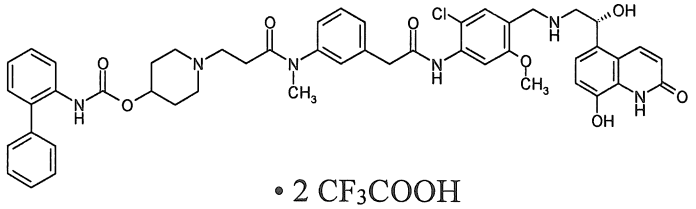
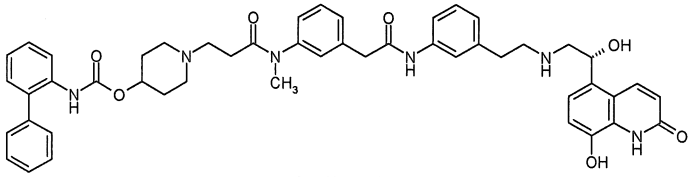
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
118	I-48	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	41mg Rt 3,47 phút; *m/z* 851,5
119	I-49	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[3-(4-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	108mg Rt 3,58 phút; *m/z* 851,6
120	I-50	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	6mg Rt 2,35 phút; *m/z* 851,4

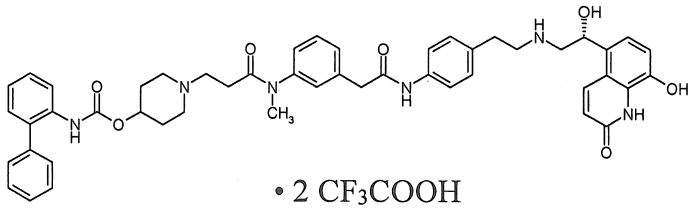
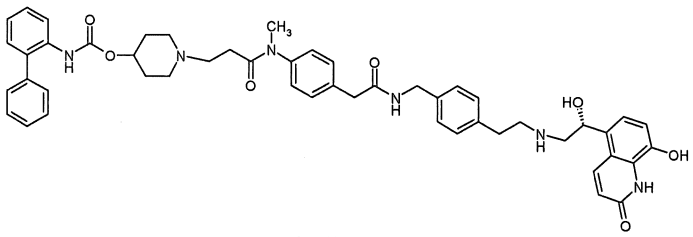
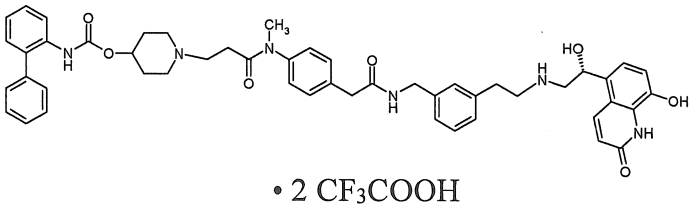
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
121	I-51	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-(2-{[4-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)phenyl]metyl-carbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	6mg Rt 2,33 phút; *m/z* 851,4
122	I-52	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-phenyl)axetylamino]phenyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	11mg Rt 3,31 phút; *m/z* 851,6

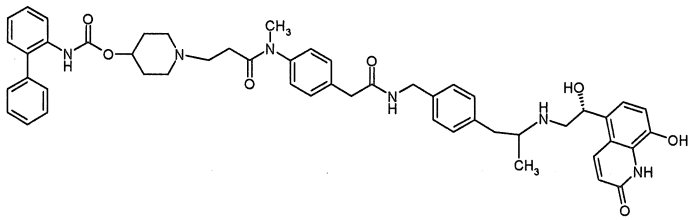
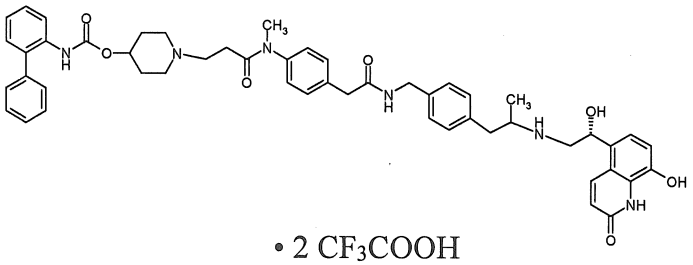
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
123	I-53	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]phenyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	11mg Rt 3,17 phút; *m/z* 851,4
124	I-54	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-4-metoxyphenyl)axetylamino]-phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 3,32 phút; *m/z* 881,6
125	I-55	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 2,33 phút; *m/z* 865,6

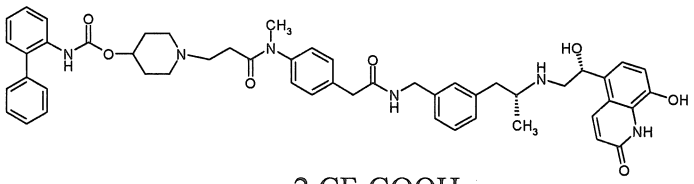
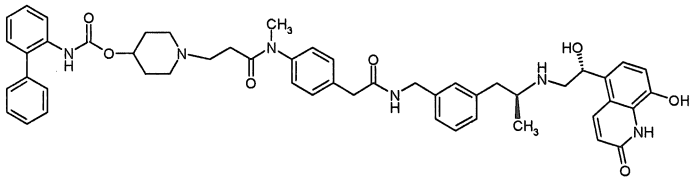
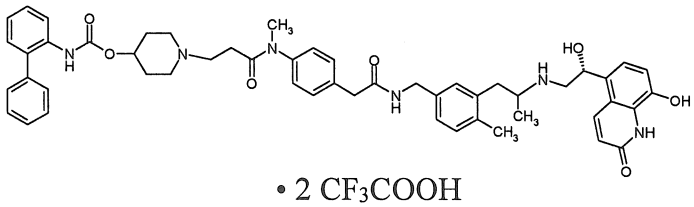
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
126	I-56	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 4,5 phút; *m/z* 865,6
127	I-57	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(4-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 4,38 phút; *m/z* 865,4

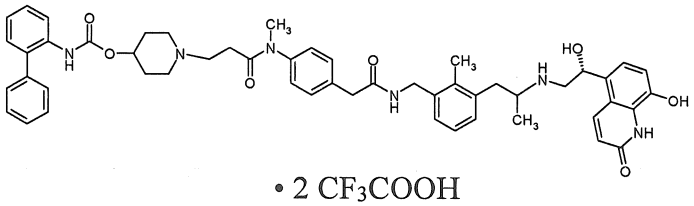
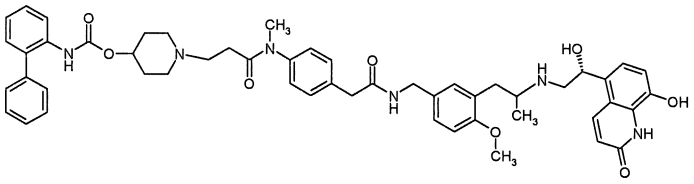
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
128	I-58	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[2-(4-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	4mg Rt 4,56 phút; *m/z* 865,5
129	I-59	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]-metyl}phenylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	65mg Rt 2,02 phút; *m/z* 823,6

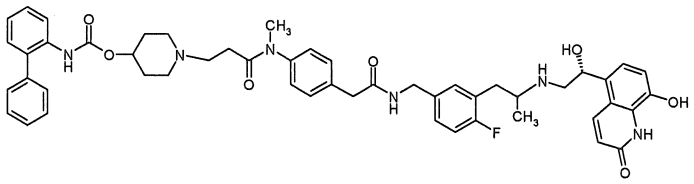
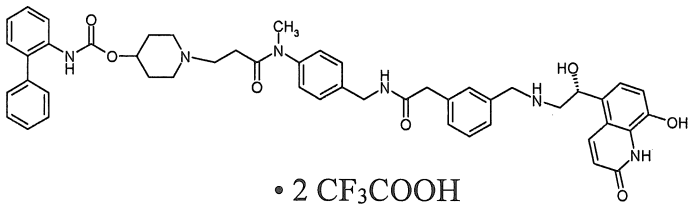
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
130	I-60	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)-metyl]phenyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	28mg Rt 2,05 phút; *m/z* 851,6
131	I-61	 • 2 CF_3COOH 1-[2-({3-[(2-clo-4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-5-metoxyphenylcarbamoyl)-metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	41mg Rt 2,32 phút; *m/z* 887,6
132	I-62	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	42mg Rt 2,05 phút; *m/z* 837,4

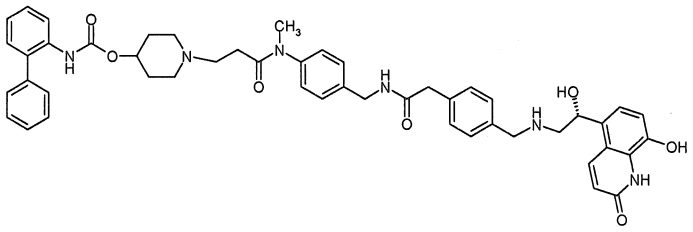
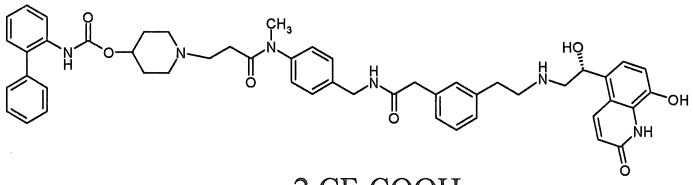
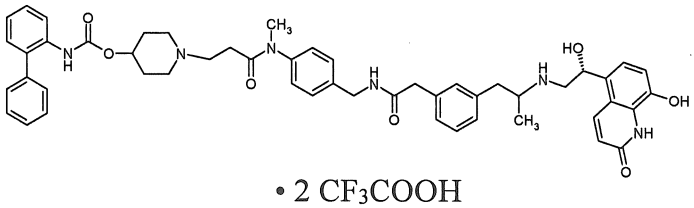
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
133	I-63	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({3-[(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	34mg Rt 2,02 phút; *m/z* 837,4
134	I-64	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}benzylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	na Rt 2,29 phút; *m/z* 851,6
135	I-65	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}benzylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 2,33 phút; *m/z* 851,6

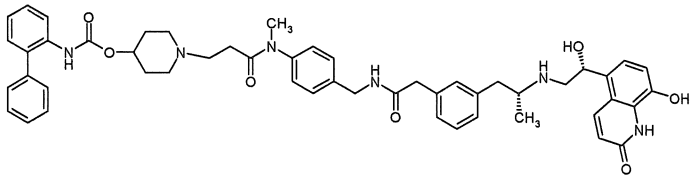
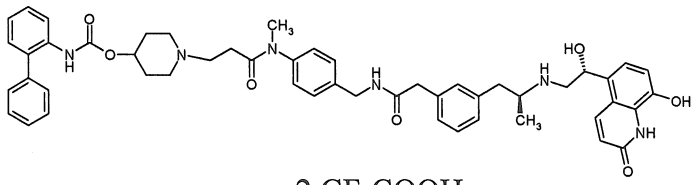
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
136	I-66	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	na Rt 3,57 phút; *m/z* 865,7`
137	I-67	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)metyl]phenyl}-metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 3,70 phút; *m/z* 865,4

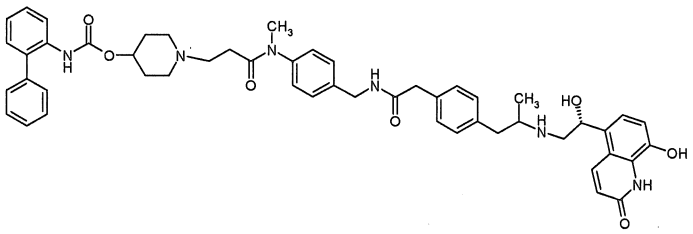
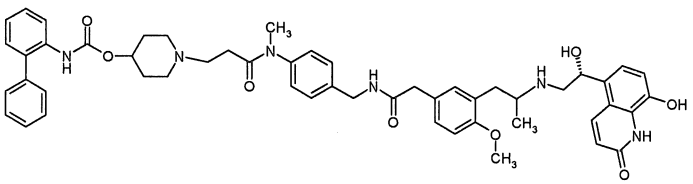
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
138	I-68	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}benzylcarbamoyl)metyl]-phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 4,41 phút; *m/z* 865,6
139	I-69	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}benzyl-carbamoyl)metyl]-phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 4,50 phút; *m/z* 865,6
140	I-70	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-4-metylbenzylcarbamoyl)metyl]-phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	2mg Rt 4,14 phút; *m/z* 879,6

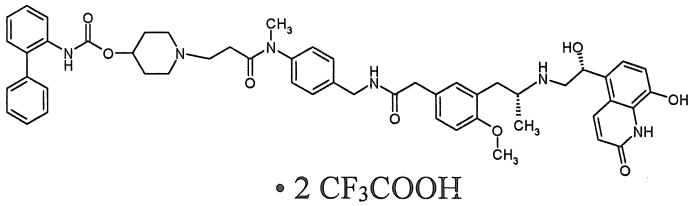
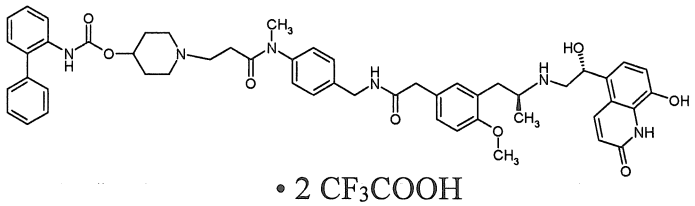
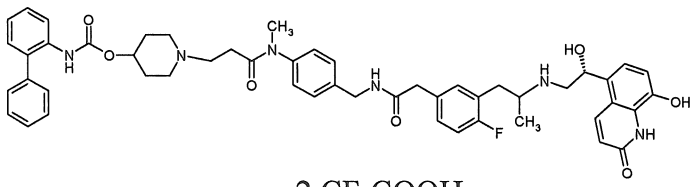
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
141	I-71	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-2-metylbenzyl-carbamoyl)metyl]-phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 2,37 phút; *m/z* 879,6
142	I-72	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-4-metoxybenzylcarbamoyl)-metyl]phenyl}metylcarbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	2mg Rt 4,24 phút; *m/z* 895,7

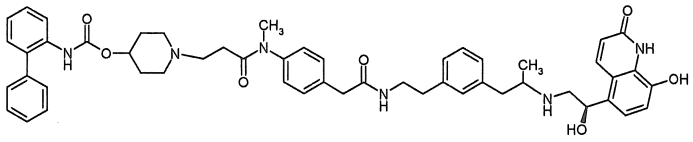
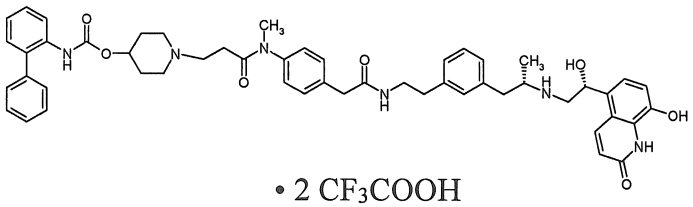
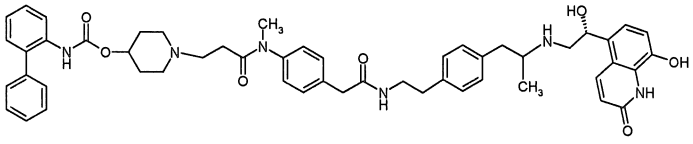
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
143	I-73	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-[2-({4-[(4-flo-3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-benzylcarbamoyl)metyl]phenyl}metylcarbamoyl)-etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	3mg Rt 4,14 phút; *m/z* 883,6
144	I-74	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 3,23 phút; *m/z* 837,5

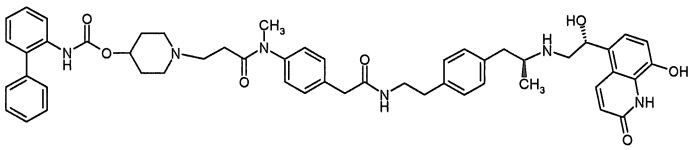
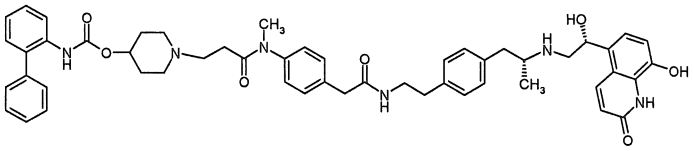
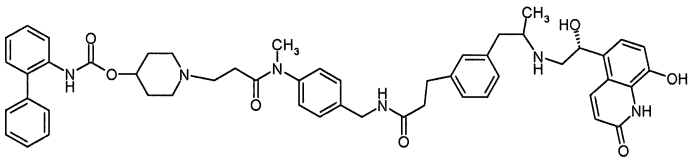
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
145	I-75	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 3,63 phút; *m/z* 837,5
146	I-76	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]etyl}phenyl)axetylamino]metyl}phenyl)-metylcarbamoyl]etyl}-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	0,6mg Rt 3,56 phút; *m/z* 851,4
147	I-77	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 4,31 phút; *m/z* 865,3

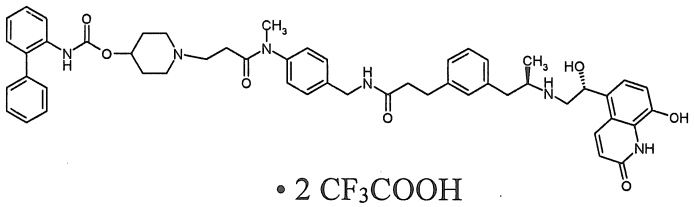
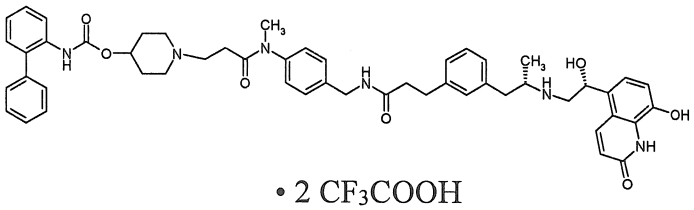
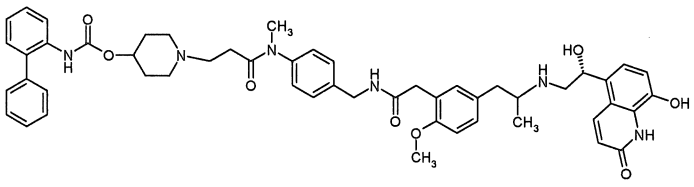
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
148	I-78	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 3,73 phút; *m/z* 865,5
149	I-79	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 3,50 phút; *m/z* 865,5

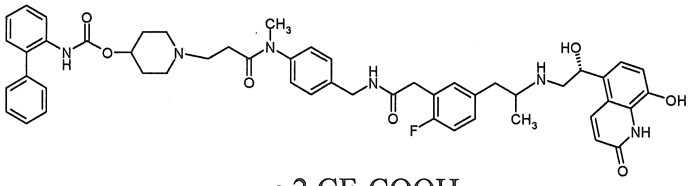
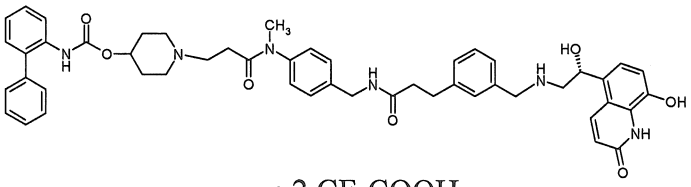
Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
150	I-80	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg
151	I-81	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-4-metoxyphenyl)axetylamino]-metyl}phenyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 3,78 phút; *m/z* 895,5

Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
152	I-82	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-4-metoxyphenyl)axetylamino]-metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 3,78 phút; *m/z* 895,6
153	I-83	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}-4-metoxyphenyl)axetylamino]-metyl}phenyl)metyl-carbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 3,02 phút; *m/z* 895,6
154	I-84	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-flo-3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydro-quinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]-metyl}phenyl)metyl-carbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 3,50 phút; *m/z* 883,6

Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
155	I-85	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 3,05 phút; *m/z* 879,8
156	I-86	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]-propyl}-phenyl)etylcarbamoyl]-metyl}phenyl)metyl-carbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	5mg Rt 4,45 phút; *m/z* 879,6
157	I-88	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 3,03 phút; *m/z* 879,6

Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
158	I-89	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]-etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	8mg Rt 4,53 phút; *m/z* 879,5
159	I-90	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(4-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	10mg Rt 2,36 phút; *m/z* 879,6
160	I-91	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[3-(3-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}phenyl)propionylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	20mg Rt 3,61 phút; *m/z* 879,6

Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
161	I-92	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[3-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)propionylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	7mg Rt 4,52 phút; *m/z* 879,7
162	I-93	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[3-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)propionylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	4mg Rt 4,24 phút; *m/z* 879,7
163	I-94	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(5-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]propyl}-2-metoxyphenyl)axetylamino]-metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	15mg Rt 3,39 phút; *m/z* 895,5

Ví dụ	Số ID	Hợp chất	Lượng/LC-MS[1]
164	I-95	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[2-(2-flo-5-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydro-quinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)-axetylamino]-metyl}phenyl)metylcarbamoyl]etyl}-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	12mg Rt 4,10 phút; *m/z* 883,5
165	I-96	 • 2 CF_3COOH Muối của axit ditrifloaxetic của 1-{2-[(4-{[3-(3-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)-etylamino]metyl}phenyl)propionylamino]metyl}-phenyl)metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic	3mg Rt 4,34 phút; *m/z* 851,4

[1] Lượng được phân lập (dạng thô hoặc tinh khiết) tính theo miligam; Rt = thời gian duy trì trong phút; LC-MS: quan sát thấy *m/z*, thông thường $[M + H]^+$; na (not available) = không có.

Chế phẩm và thử nghiệm sinh học

Ví dụ A

Nuôi cấy tế bào và điều chế màng từ các tế bào biểu hiện thụ thể muscarin M_1, M_2, M_3 và M_4 của người

Dòng tế bào CHO biểu hiện ổn định các kiểu phụ thụ thể muscarin hM_1, hM_2, hM_3 và hM_4 của người đã được tách dòng vô tính lần lượt được sinh trưởng đến gần nhập dòng trong môi trường Hams F-12 được bổ sung FBS 10% và Gentixin 250µg/ml. Các tế bào được sinh trưởng trong lồng ủ 5% CO_2, 37°C và được nâng lên bằng EDTA 2mM trong dPBS. Các tế bào được thu gom bằng cách ly tâm 5 phút ở 650 x g (x10m/s^2), và các viên tế bào được bảo quản lạnh ở -80°C hoặc màng được điều chế ngay để sử dụng.

Để điều chế màng, các viên tế bào được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm phân giải và được đồng nhất bằng máy phá vỡ mô Polytron PT-2100 (Kinematica AG; 20 giây x 2 lần bung). Màng thô được ly tâm ở 40.000 x g (x10m/s^2) trong 15 phút ở 4°C. Tiếp đó, viên màng được tái tạo huyền phù bằng dung dịch đệm tái tạo huyền phù và được đồng nhất lại bằng máy phá vỡ mô Polytron.

Nồng độ protein của huyền phù chứa màng được xác định bằng phương pháp được mô tả trong tài liệu Lowry et al., 1951, Journal of Biochemistry, 193, 265. Tất cả màng được bảo quản lạnh trong các phần mẫu ở -80°C hoặc được sử dụng ngay.

Các phần mẫu chứa màng thụ thể hM_5 được mua từ PerkinElmer, Inc. (Wellesley, MA) và được bảo quản ở –80°C cho đến khi sử dụng.

Ví dụ B

Thử nghiệm gắn kết phối tử phóng xạ của thụ thể muscarin

Thử nghiệm gắn kết phối tử phóng xạ đối với thụ thể muscarin đã được tách dòng vô tính được thực hiện trong đĩa vi chuẩn độ 96 lỗ với tổng thể tích thử nghiệm là 100µl. Màng tế bào CHO biểu hiện ổn định kiểu phụ thụ thể muscarin hM_1, hM_2,

hM_3, hM_4 hoặc hM_5 được pha loãng trong dung dịch đệm thử nghiệm đến các nồng độ protein đích đặc hiệu sau đây (µg/lỗ): 10µg đối với hM_1, 10-15µg đối với hM_2, 10-20µg đối với hM_3, 10-20µg đối với hM_4, và 10-12µg đối với hM_5 để đạt được các tín hiệu tương tự (cpm). Màng được đồng nhất nhanh bằng cách sử dụng máy phá vỡ mô Polytron (10 giây) trước khi thêm vào đĩa thử nghiệm.

Nghiên cứu gắn kết bão hòa để xác định giá trị K_D của phối tử phóng xạ được thực hiện bằng cách sử dụng L-[N-metyl-^{3}H]scopolamin metyl clorua ([^{3}H]-NMS) (TRK666, 84,0 Ci/mmol, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, England) ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,001nM đến 20nM.

Thử nghiệm thay thế để xác định giá trị K_i của hợp chất thử nghiệm được thực hiện bằng [^{3}H]-NMS ở nồng độ 1nM và mười một nồng độ hợp chất thử nghiệm khác nhau. Hợp chất thử nghiệm ban đầu được hòa tan đến nồng độ 400µM trong dung dịch đệm pha loãng và tiếp đó được pha loãng theo bậc 5x bằng dung dịch đệm pha loãng đến nồng độ cuối cùng nằm trong khoảng từ 10pM đến 100µM. Trình tự thêm và thể tích được thêm vào các đĩa thử nghiệm là như sau: 25µl phối tử phóng xạ, 25µl hợp chất thử nghiệm được pha loãng, và 50µl màng. Các đĩa thử nghiệm được ủ trong 6 giờ ở 37°C. Phản ứng gắn kết được kết thúc bằng cách lọc nhanh qua đĩa lọc sợi thủy tinh GF/B (PerkinElmer, Inc.) được xử lý sơ bộ trong BSA 1%. Các đĩa lọc được rửa ba lần bằng dung dịch đệm rửa (HEPES 10mM) để loại bỏ hoạt tính phóng xạ không liên kết. Tiếp đó, các đĩa được làm khô trong không khí và 50µl dịch nhấp nháy lỏng Microscint-20 (PerkinElmer, Inc.) được thêm vào mỗi lỗ. Tiếp đó, các đĩa được đếm trong máy đếm nhấp nháy lỏng PerkinElmer Topcount (PerkinElmer, Inc.).

Dữ liệu gắn kết được phân tích bằng phép phân tích hồi quy phi tuyến bằng gói phần mềm GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) bằng cách sử dụng mô hình cạnh tranh một vị trí. Giá trị K_i của hợp chất thử nghiệm được tính từ giá trị IC_{50} quan sát được và giá trị K_D của phối tử phóng xạ bằng cách sử dụng phương trình Cheng-Prusoff (Cheng Y; Prusoff WH. (1973) *Biochemical Pharmacology*, 22(23):3099-108). Giá trị K_i được chuyển thành giá trị pK_i để xác định

giá trị trung bình nhân và khoảng tin cậy 95%. Tiếp đó, các thông số thống kê sơ lược này được chuyển đổi ngược thành giá trị K_i để báo cáo dữ liệu.

Trong thử nghiệm này, giá trị K_i thấp hơn có nghĩa là hợp chất thử nghiệm có ái lực gắn kết cao hơn với thụ thể. Dữ liệu gắn kết thụ thể hM_3 (K_i) đối với hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong Bảng III.

Ví dụ C

Nuôi cấy tế bào và điều chế màng từ các tế bào biểu hiện thụ thể giải phóng adrenalin β_1, β_2 hoặc β_3 của người

Dòng tế bào phôi thận người (Human embryonic kidney: HEK-293) biểu hiện ổn định thụ thể β_1 và β_2 adrenergic của người đã được tách dòng vô tính hoặc dòng tế bào buồng trứng chuột túi má Trung Quốc (Chinese hamster ovarian: CHO) biểu hiện ổn định thụ thể β_3 giải phóng adrenalin của người đã được tách dòng vô tính được sinh trưởng gần đến nhập dòng trong môi trường DMEM hoặc Hams F-12 cùng với FBS 10% với sự có mặt của Gentixin 500µg/ml. Đơn lớp tế bào được nâng lên bằng EDTA 2mM trong PBS. Các tế bào được tạo viên bằng cách ly tâm ở tốc độ 1000 vòng/phút, và các viên tế bào được giữ lạnh ở -80°C hoặc màng được điều chế ngay để sử dụng.

Để điều chế màng biểu hiện thụ thể β_1 và β_2, các viên tế bào được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm phân giải (HEPES 10mM/HCl, EDTA 10mM, độ pH=7,4 ở 4°C) và được đồng nhất bằng cách sử dụng máy đồng nhất thủy tinh Dounce được lắp chặt (30 nhịp) trên nước đá.

Đối với màng biểu thiện thụ thể β_3 nhạy với proteaza hơn, các viên tế bào được đồng nhất trong dung dịch đệm phân giải (10mM Tris/HCl, độ pH=7,4) có bổ sung một viên "Viên cốc-tai chất ức chế proteaza hoàn toàn (Complete Protease Inhibitor Cocktail Tablets) cùng với EDTA 2mM" trên 50ml dung dịch đệm (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN). Dịch đồng nhất được ly tâm ở 20.000 x g (x10m/s^2), và viên tạo thành được rửa một lần bằng dung dịch đệm phân giải bằng cách tái tạo huyền phù và ly tâm như được mô tả trong bản mô tả này. Tiếp đó, viên

cuối cùng được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm thử nghiệm gắn kết đã được làm lạnh bằng nước đá (Tris 75mM/HCl, độ pH = 7,4, $MgCl_2$ 12,5mM, EDTA 1mM).

Nồng độ protein của huyền phù chứa màng được xác định bằng các phương pháp được mô tả trong tài liệu Lowry et al., 1951, *Journal of Biological Chemistry*, *193*, 265; và Bradford, *Analytical Biochemistry*, 1976, *72*, 248-54. Tất cả màng được bảo quản lạnh thành các phần mẫu ở -80°C hoặc được sử dụng ngay.

Ví dụ D

Thử nghiệm để xác định độ hiệu quả chủ vận thụ thể giải phóng adrenalin

Thử nghiệm AMP mạch vòng (cAMP) được thực hiện ở dạng thử nghiệm miễn dịch phóng xạ bằng cách sử dụng Hệ thử nghiệm hoạt hóa adenylyl xyclaza Flashplate (Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System) bằng [^{125}I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đối với thử nghiệm này, dòng tế bào HEK-293 biểu hiện ổn định các thụ thể β_1 hoặc β_2 của người đã được tách dòng vô tính được sinh trưởng gần đến nhập dòng trong DMEM cố bổ sung thêm FBS 10% và Genetixin (500µg/ml); hoặc dòng tế bào CHO-K1 biểu hiện bền thụ thể giải phóng adrenalin β_3 của người đã được tách dòng vô tính được sinh trưởng gần đến nhập dòng trong môi trường Hams F-12 được bổ sung thêm FBS 10% và Genetixin (250µg/ml). Các tế bào được rửa bằng PBS và được gạn trong dPBS (nước muối đệm phosphat Dulbecco: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, mà không có $CaCl_2$ và $MgCl_2$) chứa dung dịch EDTA 2mM hoặc dung dịch Trypsin-EDTA (trypsin 0,05%/EDTA 0,53mM). Sau khi đếm các tế bào trong máy đếm tế bào Coulter, các tế bào được tạo viên bằng cách ly tâm ở tốc độ 1000 vòng/phút và được tái tạo huyền phù trong dung dịch đệm kích thích chứa IBMX (PerkinElmer Kit) được làm ấm sơ bộ đến nhiệt độ trong phòng đến nồng độ nằm trong khoảng từ 1,6 x 10^6 đến 2,8 x 10^6 tế bào/ml. Khoảng 40.000 đến 80.000 tế bào mỗi lỗ được sử dụng trong thử nghiệm này. Hợp chất thử nghiệm (10mM trong DMSO) được pha loãng trong PBS chứa BSA 1% trong Beckman Biomek-2000 và được thử nghiệm ở 11 nồng độ khác nhau nằm trong khoảng từ 100µM đến 1pM. Hỗn

hợp phản ứng được ủ trong 10 phút ở 37°C và được ngừng bằng cách thêm 100µl dung dịch đệm phát hiện đã được làm lạnh chứa [^{125}I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA). Lượng cAMP được tạo ra (pmol/lỗ) được tính dựa trên lượng quan sát được đối với mẫu và chuẩn cAMP như được mô tả trong sổ tay hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất.

Dữ liệu được phân tích bằng phép phân tích hồi quy phi tuyến bằng gói phần mềm GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) với phương trình xích-ma. Phương trình Cheng-Prusoff (Cheng Y, and Prusoff WH., *Biochemical Pharmacology*, 1973, *22,* 23, 3099-108) được sử dụng để tính giá trị EC_{50}.

Trong thử nghiệm này, giá trị EC_{50} thấp hơn có nghĩa là hợp chất thử nghiệm có hoạt tính chức năng cao hơn ở thụ thể được thử nghiệm. Dữ liệu độ hiệu quả $h\beta_2$ (EC_{50}) đối với hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong Bảng III.

Ví dụ E

Thử nghiệm Einthoven

Thử nghiệm này xác định khả năng của hợp chất thử nghiệm tạo ra tác dụng bảo vệ phế quản chống lại sự co thắt phế quản gây ra do metacholin (MCh) ở chuột cống.

Chuột cống đực Sprague-Dawley (Harlan, Indianapolis, IN), thể trọng từ 200g đến 350g, được sử dụng cho tất cả các nghiên cứu.

Hợp chất thử nghiệm hoặc chất dẫn (nước khử ion vô trùng) được dùng liều bằng cách xông (IH) trong thời gian 10 phút trong khoang xông có hình bánh (R+S Molds, San Carlos, CA) bằng cách sử dụng 5ml dung dịch định liều. Các con chuột được cho tiếp xúc với khí dung, khí dung này được sinh ra từ thiết bị LC Star Nebulizer Set Model 22F51 (PARI Respiratory Equipment, Inc. Midlothian, VA) được dẫn động bằng Bioblend (5% CO_2/ 95% không khí khí quyển) ở áp suất 22psi. Các con chuột được dùng liều bằng 100µg hợp chất thử nghiệm trừ khi có quy định khác.

Tại các thời điểm định trước, các con chuột được gây mê bằng cách tiêm trong màng bụng (IP) 120mg/kg inactin (thiobutabarbital). Liều bổ sung (40mg/kg, IP) được dùng nếu chúng phản ứng với các kích thích vật lý (ví dụ, véo chân). Vị trí phẫu thuật được cạo lông và một vết rạch đường giữa 1-2cm phía trước của cổ được thực hiện. Tĩnh mạch cảnh được tách ra và được đưa ống thông vào bằng ống thông polyetylen chứa đầy nước muối (PE-50) để cho phép truyền trong tĩnh mạch MCh. Khí quản được phẫu tích và đưa ống thông vào bằng kim 14G (#NE-014, Small Parts, Miami Lakes, FL). Sau khi đặt ống thông khí quản, mỗi con chuột được lọc máu bằng oxy bằng cách sử dụng máy hô hấp nhân tạo (Model 683, Harvard Apparatus, Inc., MA) được đặt ở thể tích nhát bóp là 1ml/100g thể trọng (nhưng không vượt quá 2,5ml thể tích) và tốc độ là 90 nhát bóp mỗi phút. Thiết bị nối chữ T được đặt dọc theo ống thở của máy hô hấp nhân tạo để cho phép đánh giá những thay đổi về áp suất lọc (VP) bằng cách sử dụng bộ chuyển đổi Biopac, bộ này được nối với máy khuếch đại sơ bộ Biopac (TSD 137C). Nhiệt độ cơ thể được duy trì ở 37°C bằng cách sử dụng miếng sưởi.

Những thay đổi về VP được ghi lại bằng cách sử dụng phần mềm Acknowledge Data Collection (Santa Barbara, CA). Giá trị đường gốc được thu thập trong ít nhất 2,5 phút. Tiếp đó, các con chuột được dùng liều bằng cách truyền trong tĩnh mạch không tích lũy 40 và 80μg/kg MCh. MCh được truyền trong tĩnh mạch trong 2,5 phút từ bơm tiêm (sp210iw, World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) ở tốc độ 2ml/kg/phút, với thời khoảng 2 phút giữa hai liều MCh. Những thay đổi về áp suất lọc (cm H_2O) ở các con chuột được điều trị được biểu hiện bằng % ức chế đáp ứng MCh tương ứng với các con đối chứng.

Các chất gây co thắt phế quản khác, như histamin và axetylcholin, có thể được sử dụng thay cho MCh trong thử nghiệm này. Ngoài ra, chuột lang có thể được sử dụng thay cho các con chuột cống.

Trong thử nghiệm này, % ức chế cao hơn của đáp ứng MCh chỉ ra rằng hợp chất thử nghiệm tạo ra tác dụng bảo vệ phế quản tốt hơn. Mức ức chế lớn hơn hoặc bằng 30% ở 24 giờ là dấu hiệu của thời gian tác dụng dài. Dữ liệu bảo vệ phế quản đối với hợp chất theo sáng chế được thể hiện trong Bảng III.

Bảng III

Số ID	hM_3 K_i (nM)[1]	$h\beta_2$ EC_{50} (nM)[2]	Tác dụng bảo vệ phế quản ở 24 giờ[3]	Số ID	hM_3 K_i (nM)[1]	$h\beta_2$ EC_{50} (nM)[2]	Tác dụng bảo vệ phế quản ở 24 giờ[3]
I-1	0,1	3	nd	I-2	0,1	1	Không
I-3	0,1	1	Có	I-4	0,1	2	Có
I-5	0,1	1	Có	I-6	0,1	1	Có
I-7	0,1	1	Có	I-8	0,1	1	Có
I-9	0,1	6	nd	I-10	0,1	1	Có
I-11	0,1	1	Có	I-12	0,1	1	Không
I-13	0,1	1	Có	I-14	0,1	1	Có
I-15	0,1	1	Có	I-16	0,1	1	Có
I-17	0,1	1	Có	I-18	0,1	1	Có
I-19	0,1	1	Có	I-20	0,1	1	Có
I-21	0,1	1	Có	I-22	0,1	1	Có
I-23	0,1	1	Có	I-24	0,1	1	Có
I-25	0,1	1	Có	I-26	0,2	1	Có
I-27	0,1	1	Không	I-28	0,2	1	Không
I-29	0,1	1	Không	I-30	0,2	1	Không
I-31	0,2	1	Có	I-32	0,1	1	Không
I-33	0,2	1	Không	I-34	0,1	1	Có
I-35	0,2	1	Có	I-36	0,2	1	Có
I-37	0,2	1	Không	I-38	0,2	1	Không
I-39	0,2	1	Không	I-40	0,1	1	Có
I-41	0,3	1	Không	I-42	0,2	1	Không
I-43	0,1	1	Có	I-44	0,1	1	Không
I-45	0,2	1	Không	I-46	0,1	1	Có
I-47	0,2	3	nd	I-48	0,3	1	Có
I-49	0,1	1	Có	I-50	0,4	nd	nd
I-51	0,2	1	nd	I-52	0,2	1	Không

Số ID	hM_3 K_i (nM)[1]	$h\beta_2$ EC_{50} (nM)[2]	Tác dụng bảo vệ phế quản ở 24 giờ[3]	Số ID	hM_3 K_i (nM)[1]	$h\beta_2$ EC_{50} (nM)[2]	Tác dụng bảo vệ phế quản ở 24 giờ[3]
I-53	0,1	1	Không	I-54	0,2	2	nd
I-55	0,2	1	Có	I-56	0,2	1	Không
I-57	0,1	1	nd	I-58	0,2	1	nd
I-59	0,1	3	nd	I-60	0,1	3	nd
I-61	0,1	1	Có	I-62	0,1	1	Có
I-63	0,1	1	nd	I-64	0,3	1	Không
I-65	0,1	1	Có	I-66	0,2	1	Không
I-67	0,1	1	Có	I-68	0,1	1	Có
I-69	0,1	1	Có	I-70	0,3	1	nd
I-71	0,1	1	nd	I-72	0,4	4	nd
I-73	0,2	1	nd	I-74	0,3	2	nd
I-75	0,2	2	nd	I-76	0,3	1	nd
I-77	0,1	1	Có	I-78	0,3	1	Có
I-79	0,1	1	Không	I-80	0,2	1	Không
I-81	0,1	1	Có	I-82	0,1	1	Có
I-83	0,2	2	Có	I-84	0,1	1	nd
I-85	0,2	2	Có	I-86	0,2	1	Có
I-87	0,1	1	Có	I-88	0,1	1	Có
I-89	0,1	1	Có	I-90	0,1	1	nd
I-91	0,2	1	Có	I-92	0,2	1	Có
I-93	0,8	11	nd	I-94	0,1	1	Có
I-95	0,2	1	Có	I-96	0,1	3	nd

nd = không xác định.

[1] Dữ liệu gắn kết thụ thể muscarin hM_3 (K_i) (dữ liệu xung quanh hoặc gần nhất với 0,1nM)

[2] Hiệu quả đối kháng thụ thể giải phóng adrenalin $h\beta_2$ (EC_{50}) (dữ liệu xung quanh hoặc gần nhất với 1nM)

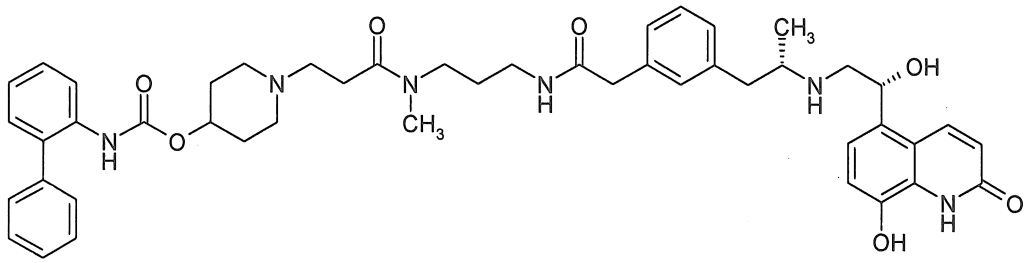
[3] Tác dụng bảo vệ phế quản ở 24 giờ, ví dụ, ≥ 30% ức chế đáp ứng MCh ở 24 giờ trong thử nghiệm Einthoven trên chuột (100µg).

Dữ liệu trong Bảng III chứng minh rằng tất cả các hợp chất được thử nghiệm có giá trị gắn kết thụ thể hM_3 (K_i) nằm trong khoảng từ 0,1nM đến 0,8 nM. Hơn nữa, tất cả các hợp chất được thử nghiệm có giá trị hiệu quả $h\beta_2$ (EC_{50}) nằm trong khoảng từ 1nM đến 11nM. Ngoài ra, phần lớn các hợp chất được thử nghiệm trong thử nghiệm Einthoven trên chuột (bằng cách sử dụng 100µg hợp chất thử nghiệm) tạo ra tác dụng bảo vệ phế quản đáng kể (≥ 30% ức chế co thắt phế quản do MCh gây ra) 24 giờ sau khi dùng thuốc.

YÊU CẦU BẢO HỘ

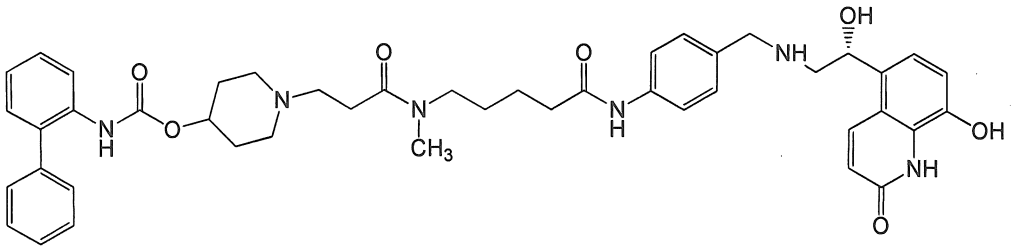
1. Hợp chất được chọn từ:

(a) 1-[2-({3-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)axetylamino]propyl}metyl-carbamoyl)etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic có công thức:



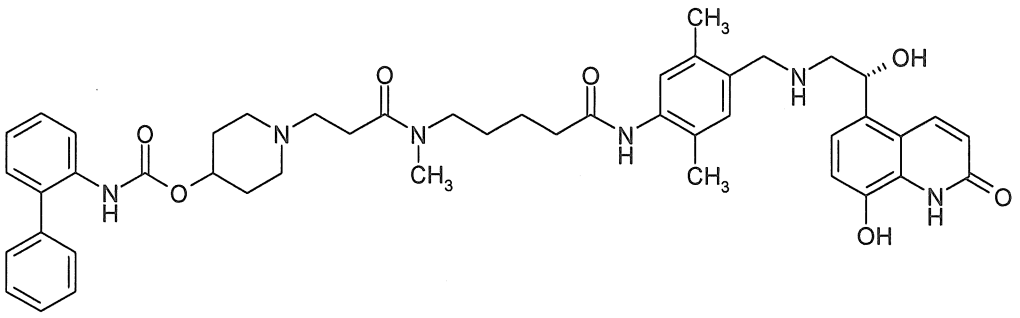
hoặc muối dược dụng của nó;

(b) 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-phenylcarbamoyl)-butyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic có công thức:



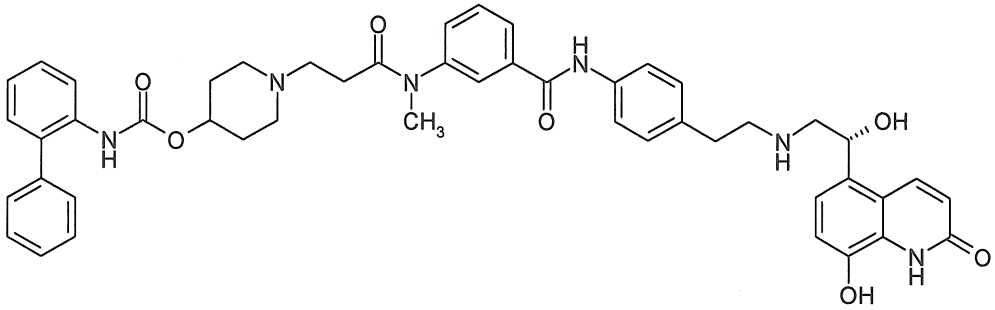
hoặc muối dược dụng của nó;

(c) 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]metyl-carbamoyl}etyl) piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic có công thức:



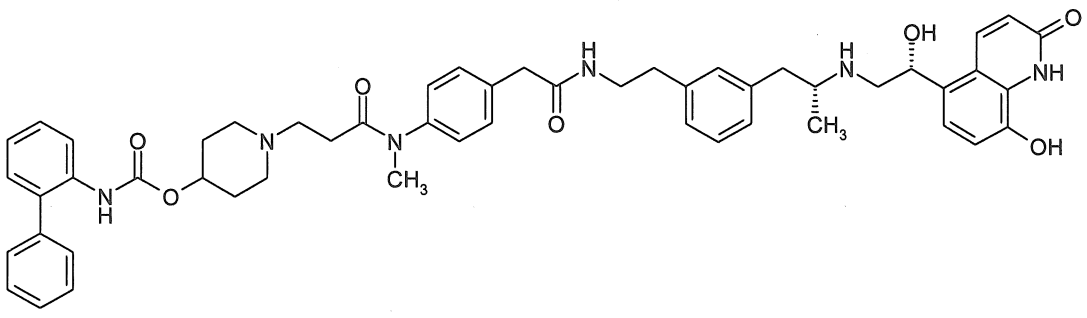
hoặc muối dược dụng của nó;

(d) 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl)phenyl]metylcarbamoyl}-etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó; và

(e) 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl)etylcarbamoyl]metyl}phenyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic có công thức:



hoặc muối dược dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-[2-({3-[2-(3-{(*S*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl) axetylamino]-propyl}metylcarbamoyl)-etyl]piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic hoặc muối dược dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}phenylcarbamoyl)-butyl] metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic hoặc muối dược dụng của nó.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-(2-{[4-(4-{[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]metyl}-2,5-dimetylphenylcarbamoyl)butyl]metylcarbamoyl}etyl)-piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic hoặc muối dược dụng của nó.

5. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-(2-{[3-(4-{2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]etyl}phenylcarbamoyl) phenyl]metylcarbamoyl}etyl)piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic hoặc muối dược dụng của nó.

6. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này là 1-{2-[(4-{[2-(3-{(*R*)-2-[(*R*)-2-hydroxy-2-(8-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinolin-5-yl)etylamino]propyl}phenyl) etylcarbamoyl]metyl}phenyl)-metylcarbamoyl]etyl}piperidin-4-yl este của axit biphenyl-2-ylcarbamic hoặc muối dược dụng của nó.

7. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6 hoặc muối dược dụng của nó; và chất mang dược dụng.

8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó dược phẩm này chứa tác nhân điều trị khác, trong đó tác nhân điều trị khác được chọn từ tác nhân kháng viêm, thuốc giãn phế quản, tác nhân chống nhiễm trùng, thuốc kháng histamin, chất ức chế proteaza, chất phong bế hướng tâm và chất đối kháng thụ thể muscarin.

9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó tác nhân điều trị là tác nhân kháng viêm steroit hoặc muối dược dụng hoặc solvat của nó.

10. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó tác nhân kháng viêm steroit là corticosteroit hoặc muối dược dụng hoặc solvat của nó.