



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07D 233/64; C07D 401/04; A61K (13) B
31/506; A61P 25/18



(21) 1-2016-02438 (22) 07/01/2015
(86) PCT/EP2015/050127 07/01/2015 (87) WO2015/104271 16/07/2015
(30) 14150700.4 10/01/2014 EP
(45) 27/07/2020 388 (43) 25/10/2016 343A
(73) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel, Switzerland
(72) BIEMANS, Barbara (NL); GUBA, Wolfgang (DE); JAESCHKE, Georg (DE);
RICCI, Antonio (IT); RUEHER, Daniel (CH); VIEIRA, Eric (CH).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT ETYNYL-IMIDAZOLIN-2,4-DION LÀM CHẤT ĐIỀU BIẾN THỤ
THỂ GLUTAMAT HƯỚNG CHUYỂN HÓA KIỂU PHỤ 4 (MGLUR4) VÀ DƯỢC
PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các hợp chất:

(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo
[5,1 -c][1,4]oxazin-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-
dion;

(3aRS)-2- [2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-
a]quinolin-1,3-dion;

(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-
b]isoquinolin-1,3-dion;

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-
imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion; và

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-
5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion;

hoặc muối được dụng hoặc muối cộng axit, hỗn hợp triệt quang, hoặc chất đồng phân đối
ảnh và/hoặc chất đồng phân quang học tương ứng của nó và/hoặc chất đồng phân lập thể
của nó và dược phẩm chứa các hợp chất này.

Các hợp chất này có thể được sử dụng để điều trị bệnh Parkinson, chứng lo âu, chứng
nôn, rối loạn ám ảnh cưỡng chế, chứng tự kỉ, bảo vệ thần kinh, bệnh ung thư, chứng trầm
cảm và bệnh đái tháo đường typ 2.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các hợp chất:

(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dion;

(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dion;

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion; và

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion;

hoặc muối được dụng hoặc muối cộng axit, hỗn hợp triệt quang, hoặc chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân quang học tương ứng của nó và/hoặc chất đồng phân lập thể của nó và được phẩm chứa các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

WO 2011/029104 A1 mô tả các chất điều biến mGluR4, các hợp chất đặc hiệu được yêu cầu bảo hộ khác với hợp chất này ở chỗ gốc $\text{NHCR}^1\text{R}^2\text{R}^3$ được thay thế bằng $\text{C}\equiv\text{C-R}^3$. WO 2011/128279 A1 mô tả các chất điều biến mGluR4 mà hợp chất đặc hiệu được yêu cầu bảo hộ trong đơn này khác với chất này ở chỗ carbonyl thứ hai được bổ sung.

Đã bất ngờ phát hiện ra rằng các hợp chất này là các chất điều biến dị cấu dương (các PAM) của thụ thể glutamat hướng chuyển hóa 4 (mGluR4).

Thụ thể glutamat hướng chuyển hóa 4 là một protein ở người được mã hóa bởi gen GRM4.

Cùng với GRM6, GRM7 và GRM8 thụ thể glutamat thuộc nhóm III của họ thụ thể glutamat hướng chuyển hóa, và bắt cặp âm với enzym adenylat cyclaza thông qua việc hoạt hóa protein Gai/o. Nó được biểu hiện chủ yếu trên các đầu trước khớp xi nắp thần kinh, có chức năng như tự thụ thể hoặc dị thụ thể và việc hoạt hóa nó sẽ làm giảm sự giải phóng chất dẫn truyền từ các đầu trước xi nắp thần kinh. mGluR4 đang nhận được sự quan tâm lớn, chủ yếu dựa vào sự phân bố dị thường của nó và bằng chứng gần đây cho thấy rằng sự hoạt hóa của thụ thể này đóng vai trò điều biến chính trong nhiều con đường trong CNS hoặc không trong CNS (Celanire S, Campo B, Expert Opinion in Drug Discovery, 2012).

Tính tương tự của các miền liên kết phối tử của các mGluR thuộc nhóm III tạo ra khó khăn trong việc xác định chất chủ vận đẳng cấu có tính chọn lọc của thụ thể này, mặc dù việc này đã có một số tiến triển. Tuy nhiên, việc nhắm vào chất điều biến dị cấu dương (các PAM) chứ không phải là chất chủ vận đẳng cấu tạo ra cơ hội lớn hơn để xác định các phân tử có tính chọn lọc theo cách loại trừ giữa các mGluR.

PAM thuộc mGluR4 nổi lên như là chất có triển vọng để điều trị các triệu chứng vận động (và không vận động) cũng như là tác nhân làm biến đổi bệnh ở bệnh Parkinson thông qua phương pháp không gây tiết dopamin.

Bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh tiến triển làm mất các noron gây tiết dopamin trong chất đen (substantia nigra-SN). Một hậu quả của việc không tiết dopamin trong bệnh này là một loạt các rối loạn vận động, bao gồm chứng chậm chạp, chứng mất vận động, run, rối loạn dáng đi và các vấn đề liên quan đến khả năng giữ thăng bằng. Những dạng rối loạn vận động này tạo thành dấu hiệu đặc trưng cho PD, mặc dù có nhiều triệu chứng không vận động khác cũng liên quan đến bệnh này. Vào giai đoạn sớm của quá trình tiến triển bệnh, các triệu chứng PD được điều trị hiệu quả bằng cách thay thế hoặc tăng dopamin, bằng cách sử dụng các chất chủ vận thụ thể

dopamin D2, levodopa hoặc các chất ức chế monoamin oxidaza B. Tuy nhiên, vì bệnh này tiến triển nên các tác nhân này trở nên kém hiệu quả hơn trong việc kiểm soát các triệu chứng vận động. Ngoài ra, việc sử dụng chúng bị hạn chế do xuất hiện các tác dụng phụ bao gồm rối loạn vận động do chất chủ vận dopamin gây ra.

Do vậy, vẫn cần phương pháp mới để điều trị PD, có thể cải thiện hiệu quả kiểm soát các triệu chứng vận động.

Việc hoạt hóa của thụ thể glutamat hướng chuyển hóa 4 (mGluR4) đã được đề xuất là phương pháp điều trị hiệu quả đối với bệnh Parkinson. Một thành viên của mGluR thuộc nhóm III, mGluR4 là một thụ thể glutamat ở trước xi nấp chiếm ưu thế được biểu hiện ở một số vị trí quan trọng trong mạch của hạch đáy có chức năng kiểm soát sự vận động. Việc hoạt hóa của mGluR4 bằng các chất chủ vận ưu tiên nhóm III làm giảm khả năng ức chế và kích thích sau xi nấp, giả thiết là bằng cách làm giảm sự giải phóng GABA và glutamat một cách tương ứng.

Nghiên cứu về thuốc mới có tác dụng làm giảm các triệu chứng vận động của bệnh Parkinson đồng thời làm giảm bớt sự thoái hóa tiếp diễn của các neuron thể vân đã nhận được sự quan tâm đặc biệt. L-AP4, một chất chủ vận đẳng cấu của mGluR4, đã cho thấy tác dụng bảo vệ thần kinh trên các mô hình loài gặm nhấm 6-OHDA có PD và chất điều biến dị cấu dương đầu tiên (-)-PHCCC đã làm giảm sự thoái hóa thể vân ở những con chuột được điều trị bằng 1-metyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin (MPTP). Những nghiên cứu này đưa ra bằng chứng tiền lâm sàng gợi ý rằng các chất hoạt hóa mGluR4 sẽ là phương pháp có giá trị, không chỉ để điều trị triệu chứng của PD, mà còn có thể được dùng làm các chất biến đổi bệnh.

Tác dụng bảo vệ thần kinh của các chất chủ vận mGluR4 chọn lọc cũng được mô tả trong tài liệu: Neuroreport, 19(4), 475-8, 2008, Proc.Natl. Acad. Sci, USA, 100(23), 13668-73, 2003 và J.Neurosci. 26(27), 7222-9, 2006 và Mol. Pharmacol. 74(5), 1345-58, 2008.

Rối loạn lo âu là một trong số các rối loạn tâm thần phổ biến nhất trên thế giới, và xuất hiện cùng với bệnh Parkinson (Prediger R, et al. Neuropharmacology 2012;62:115-24). Sự truyền thần kinh gây tiết glutamat quá mức là một dấu hiệu quan

trọng của bệnh lý thần kinh lo âu. Dựa vào việc nằm trước xi nấp của mGluR4 trong các vùng não liên quan đến bệnh lo âu và các rối loạn tâm trạng, và việc thuốc thể hệ mới làm giảm tính kích thích não quá mức, các chất hoạt hóa mGluR4 có thể là thể hệ thuốc mới để điều trị chứng lo âu (Eur. J. Pharmacol., 498(1-3), 153-6, 2004).

Năm 2010, Addex đã thông báo rằng ADX88178 thể hiện hoạt tính trên hai mô hình loài gặm nhấm tiền lâm sàng mắc bệnh lo âu: thử nghiệm giấu bi ở chuột và EPM ở chuột nhắt và chuột cống. ADX88178 còn thể hiện profin giống như dãi lo âu trong thử nghiệm EPM ở chuột sau khi dùng qua đường miệng.

Các chất điều biến mGluR4 cũng được chỉ ra là có tác dụng chống trầm cảm (Neuropharmacology, 46(2), 151-9, 2004).

Ngoài ra, các chất điều biến mGluR4 cũng được chỉ ra là có liên quan đến việc ức chế tiết glucagon (Diabetes, 53(4), 998-1006, 2004). Do đó, các chất điều biến dị cấu đẳng cấu hoặc dương của mGluR4 có thể được dùng để điều trị bệnh tiểu đường typ 2 thông qua tác dụng làm giảm glucoza-huyết của nó.

Ngoài ra, mGluR4 được chỉ ra là biểu hiện trong dòng tế bào ung thư tuyến tiền liệt (Anticancer Res. 29(1), 371-7, 2009) hoặc caxinom trực tràng ruột kết (Cli. Cancer Research, 11(9)3288-95, 2005). Do đó, các chất điều biến mGluR4 cũng có thể có tác dụng để điều trị ung thư.

Ngoài ra, trong tài liệu British Journal of Pharmacology (2013), 169, 1824-1839, các chất chủ vận của các chất điều biến mGluR4 có thể còn được sử dụng để điều trị các triệu chứng dương tính, âm tính và nhận thức của bệnh tâm thần phân liệt.

Các tác dụng khác của mGluR4 PAM có thể được mong đợi là có tác dụng để điều trị chứng nôn, rối loạn xung lực cưỡng bức và tự kỷ.

Các hợp chất được phân biệt bởi các đặc tính có giá trị trong điều trị bệnh. Chúng có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn, liên quan đến các chất điều biến biến cấu cho thụ thể mGluR4.

Các chỉ định bệnh được ưu tiên nhất cho các hợp chất là các chất điều biến dị cấu cho thụ thể mGluR4 là bệnh Parkinson, bệnh lo âu, chứng nôn, rối loạn xung lực cưỡng

bức, tự kỷ, bảo vệ thần kinh, ung thư, trầm cảm, bệnh tâm thần phân liệt và bệnh tiểu đường typ 2.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, mục đích của sáng chế đề cập đến các hợp chất đặc hiệu và muối được dụng của nó, các hợp chất có hoạt tính dược lý, các quy trình sản xuất chúng cũng như hợp chất này được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa các rối loạn, liên quan đến chất điều biến biến cấu đối với thụ thể mGluR4, như bệnh Parkinson, chứng lo âu, chứng nôn, rối loạn ám ảnh cưỡng chế, chứng biếng ăn, chứng tự kỉ, bảo vệ thần kinh, bệnh ung thư, chứng trầm cảm, bệnh tâm thần phân liệt và bệnh đái tháo đường typ 2 và được phẩm chứa hợp chất này.

Sáng chế đề xuất hợp chất:

(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dion;

(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dion;

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion; và

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion;

hoặc muối được dụng hoặc muối cộng axit, hỗn hợp triệt quang, hoặc chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân quang học tương ứng của chúng và/hoặc chất đồng phân lập thể của chúng.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến tất cả các hỗn hợp triet quang, tất cả các chất đồng phân đối ảnh và/hoặc chất đồng phân quang học tương ứng của chúng; và được phẩm chứa hợp chất này.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig. 1: Minh họa điểm chính của thử nghiệm trong thử nghiệm dòng mGlu4 PAM Ca^{2+} và xác định các giá trị EC_{50} và $\% \text{E}_{\text{max}}$.

Mô tả chi tiết sáng chế

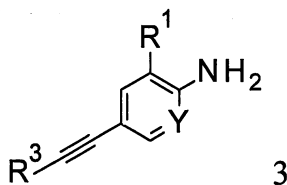
Thuật ngữ "muối cộng axit được dụng" bao gồm muối với axit vô cơ và hữu cơ, như axit clohydric, axit nitric, axit sulfuric, axit phosphoric, axit xitric, axit formic, axit fumaric, axit maleic, axit axetic, axit succinic, axit tartric, axit metansulfonic, axit p-toluensulfonic và axit tương tự.

Việc điều chế các hợp chất của sáng chế có thể được tiến hành bằng phương pháp tổng hợp lần lượt hoặc đồng thời. Việc tổng hợp các hợp chất của sáng chế được thể hiện trong sơ đồ 1 dưới đây. Các kỹ năng cần để tiến hành phản ứng và tinh chế các sản phẩm thu được là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực. Các phần tử thể hoặc các chỉ số được sử dụng trong phần mô tả dưới đây của các quy trình điều chế có ý nghĩa được đưa ra trong bản mô tả này.

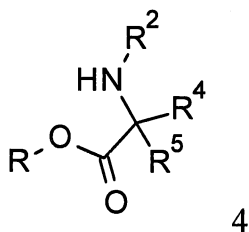
Các hợp chất có thể được điều chế bằng phương pháp được đưa ra dưới đây, bằng các phương pháp được đưa ra trong các ví dụ thực hiện hoặc bằng các phương pháp tương tự. Các điều kiện phản ứng thích hợp cho các bước phản ứng riêng là đã biết đối với người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Trình tự phản ứng không bị giới hạn ở trình tự được thể hiện trong các sơ đồ, tuy nhiên, tùy thuộc vào các nguyên liệu ban đầu và khả năng phản ứng tương ứng của chúng, trình tự các bước phản ứng có thể được thay đổi tự do. Nguyên liệu ban đầu hoặc có thể có sẵn trên thị trường hoặc có thể được điều chế bằng các phương pháp tương tự với các phương pháp được nêu dưới đây, bằng các phương pháp được mô tả được nêu trong bản mô tả hoặc trong các ví dụ thực hiện, hoặc bằng các phương pháp đã biết trong lĩnh vực.

Các hợp chất và các muối được dụng của chúng có thể được điều chế bằng các phương pháp, đã biết trong lĩnh vực, ví dụ bằng các quy trình được mô tả dưới đây, quy trình này bao gồm các bước

a) cho hợp chất có công thức 3:



phản ứng với hợp chất có công thức 4:



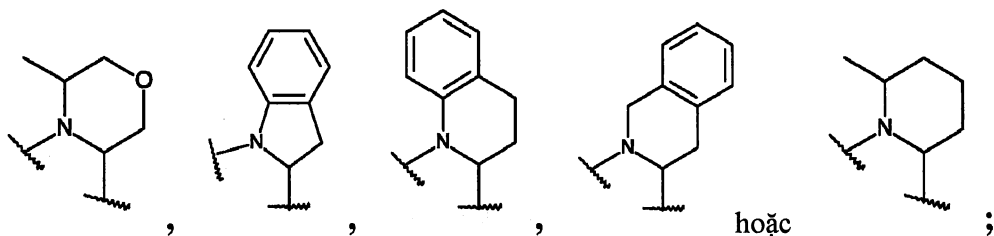
trong đó R là methyl, ethyl hoặc hydro;

Y là C-R¹;

R¹ là hydro hoặc halogen;

R¹ là hydro hoặc halogen;

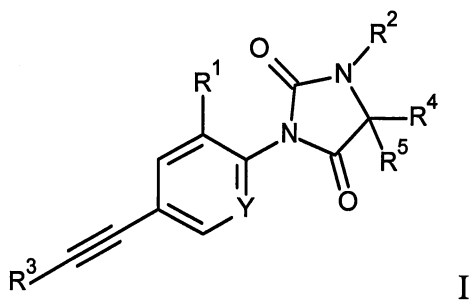
R² và R⁴ cùng với các nguyên tử tương ứng, mà chúng gắn vào tạo thành các vòng sau:



R⁵ là hydro

R³ là phenyl hoặc pyridinyl, trong đó nguyên tử N trong nhóm pyridinyl có thể ở các vị trí khác nhau;

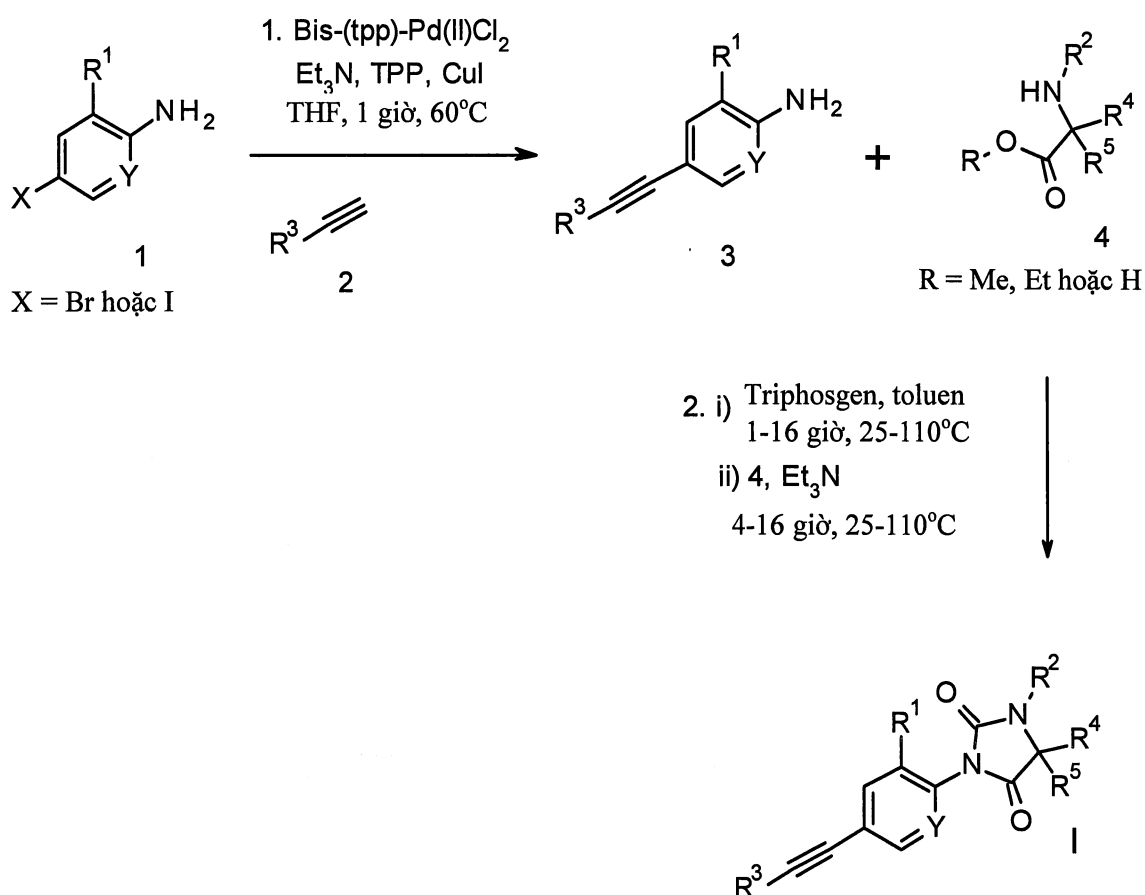
với triphosgen hoặc carbonyldiimidazol (CDI), khi có mặt hoặc không có mặt của bazơ, như triethylamin, và trong dung môi, như toluen hoặc dioxan, để tạo ra hợp chất có công thức:



và, nếu muốn, chuyển hóa hợp chất thu được thành các muối cộng axit được dùng.

Việc điều chế hợp chất có công thức I còn được mô tả chi tiết hơn trong sơ đồ 1 và trong các ví dụ 4 - 6 và 9 - 11.

Sơ đồ 1



Hợp chất imidazolidin-2,4-dion được thế etynyl-phenyl, etynyl-pyridyl có công thức tổng quát I có thể thu được, ví dụ, bằng kỹ thuật kết hợp Sonogashira giữa anilin hoặc aminopyridin 1 được thế thích hợp với arylaxetylen 2 được thế thích hợp để thu được hợp chất etynyl có công thức 3 mong muốn. Quá trình phản ứng giữa hợp chất etynyl có công thức 3 với aminoeste hoặc aminoaxit được thế thích hợp có công thức 4 với phosgen hoặc chất tương đương phosgen như triphosgen hoặc carbonyldiimidazol (CDI) khi có mặt hoặc không có mặt bazơ như triethylamin trong dung môi như toluen hoặc dioxan tạo ra hợp chất imidazolidin-2,4-dion được thế etynyl-phenyl, etynyl-pyridyl có công thức tổng quát I mong muốn (sơ đồ 1). Nói chung là, thứ tự các bước được sử dụng để tổng hợp các hợp chất có công thức I cũng có thể được biến đổi trong một số trường hợp nhất định.

Thử nghiệm sinh học và các số liệu:

Xác định các giá trị EC_{50} bằng thử nghiệm dòng Ca^{2+} in vitro đối với mGlu4 tái tổ hợp ở người được biểu hiện trong các tế bào HEK293:

Dòng tế bào HEK-293 đơn dòng được chuyển nhiễm ổn định bằng cADN mã hóa thụ thể mGlu4 ở người được tạo ra; để làm việc với các chất điều biến dị cấu dương mGlu4 (Positive Allosteric Modulators-PAM), dòng tế bào có mức biểu hiện thụ thể thấp và hoạt tính thụ thể cấu thành thấp được chọn để phân biệt hoạt tính chủ vận so với hoạt tính PAM. Các tế bào được nuôi cấy theo quy trình chuẩn (Freshney, 2000) trong môi trường Eagle cải biến Dulbecco (Dulbecco's Modified Eagle Medium) có nồng độ glucoza cao đã bổ sung 1 mM glutamin, 10% (thể tích/thể tích) huyết thanh bào thai bê đã được bất hoạt bằng nhiệt, Penicillin/Streptomycin, 50 μ g/ml hygromycin và 15 μ g/ml blastixidin (tất cả các chất thử dùng để nuôi cấy tế bào và các chất kháng sinh đều mua từ Invitrogen, Basel, Thụy Sĩ).

Khoảng 24 giờ trước thử nghiệm, 5×10^4 tế bào/lỗ được gieo mầm trong các đĩa có 96 lỗ đáy màu đen/trong suốt, phủ poly-D-lysine. Các tế bào này được nạp 2,5 μ M Fluo-4AM trong dung dịch đệm nạp (1xHBSS, 20 mM HEPES) trong 1 giờ ở nhiệt độ 37°C, và rửa năm lần bằng dung dịch đệm nạp. Các tế bào này được chuyển vào trong hệ thống sàng lọc được chất theo chức năng (Functional Drug Screening System) 7000 (Hamamatsu, Paris, Pháp), và bổ sung 11 dịch pha loãng theo bậc log_{1/2} (half logarithmic serial dilution) chứa hợp chất thử nghiệm ở nhiệt độ 37°C và ủ các tế bào trong khoảng thời gian từ 10 đến 30 phút cùng với đồng thời ghi mức độ phát huỳnh quang trực tuyến. Sau bước ủ trước này, bổ sung chất chủ vận là axit (2S)-2-amino-4-phosphonobutanoic (L-AP4) vào các tế bào ở nồng độ tương ứng với EC_{20} cùng với đồng thời ghi mức độ phát huỳnh quang trực tuyến; để giải thích sự thay đổi theo ngày của đáp ứng của các tế bào, EC_{20} của L-AP4 được xác định ngay trước mỗi thử nghiệm bằng cách ghi đường cong đáp ứng liều hoàn chỉnh của L-AP4.

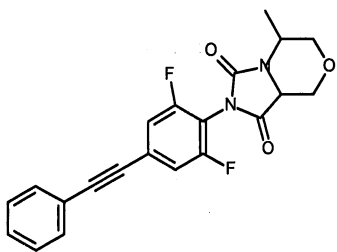
Các đáp ứng được đo bằng mức tăng cực đại của ánh sáng huỳnh quang trừ đi giá trị cơ sở (tức là mức độ phát ánh sáng huỳnh quang khi không bổ sung L-AP4), được chuẩn hóa về hiệu quả kích thích tối đa thu được bằng nồng độ bão hòa của L-AP4. Các đồ thị điểm được xây dựng từ % kích thích tối đa sử dụng XLfit, một chương

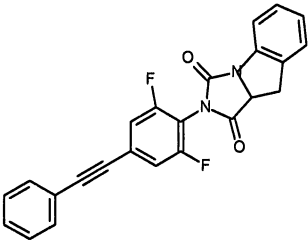
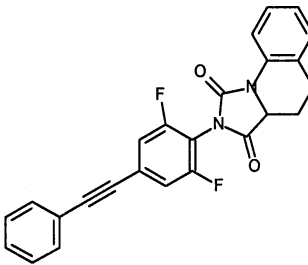
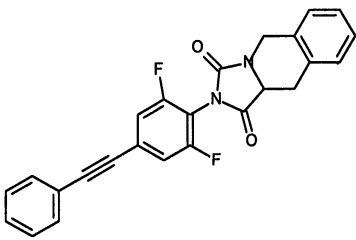
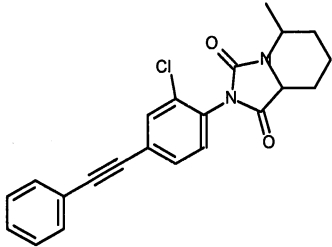
trình làm phù hợp đường cong xây dựng đồ thị điểm lặp lại dựa trên các số liệu sử dụng thuật toán Levenburg Marquardt. Phương trình phân tích cạnh tranh một điểm được sử dụng là $y = A + ((B-A)/(1+((x/C)^D)))$, trong đó y là % tác dụng kích thích cực đại, A là y cực tiểu, B là y cực đại, C là EC_{50} , x là giá trị $\log_{10}$ của nồng độ của hợp chất cạnh tranh và D là độ dốc của đường cong (hệ số Hill). Từ các đường cong này, EC_{50} (nồng độ được chất tại đó đạt được 50% mức độ hoạt hóa thụ thể tối đa), tính được hệ số Hill cũng như % đáp ứng tối đa thu được bằng nồng độ bão hòa của L-AP4 (xem Fig. 1).

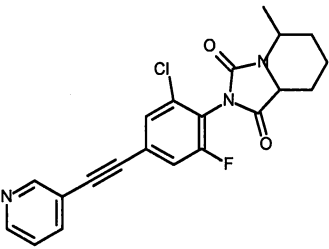
Khi thu được tín hiệu dương tính trong quá trình ủ trước với các hợp chất thử nghiệm PAM (tức là trước khi sử dụng L-AP4 ở nồng độ EC_{20}) thì hoạt tính nêu trên là hoạt tính chủ vận khi không có mặt các tín hiệu này thì điều đó chứng tỏ không có hoạt tính chủ vận. Việc giảm tín hiệu quan sát thấy sau khi bổ sung L-AP4 ở nồng độ EC_{20} thể hiện hoạt tính ức chế của hợp chất thử nghiệm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Danh mục các ví dụ thực hiện và các số liệu:

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	EC_{50} (nM) mGlu4 PAM	Hiệu quả (%)
4		(5RS,8aRS)-2-[2,6-difluoro-4-(2-phenylethynyl)phenyl]-5-methyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dione	204	188

5		(3aRS)-2-[2,6-difluoro-4-(2-phenylethynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dione	188	103
6		(3aRS)-2-[2,6-difluoro-4-(2-phenylethynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dione	74	110
9		(10aRS)-2-[2,6-difluoro-4-(2-phenylethynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dione	56	99
10		(5RS,8aRS)-2-[2-chloro-4-(2-phenylethynyl)phenyl]-5-methyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dione	256	232

11		(5RS,8aRS)-2-[2-(4-(3-(pyridin-2-ylethynyl)phenyl)-5-methyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion)]phenyl]-5-methyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion	180	140
----	---	---	-----	-----

Các hợp chất và các muối được dụng của nó có thể được dùng làm thuốc, ví dụ ở dạng các chế phẩm dược. Các chế phẩm dược có thể được dùng qua đường miệng, ví dụ ở dạng viên nén, viên nén được bao, viên thuốc bao đường, viên nang gelatin cứng và mềm, dung dịch, nhũ tương hoặc huyền phù. Tuy nhiên, chúng cũng có thể được dùng qua trực tràng, ví dụ ở dạng viên đạn, hoặc ngoài đường tiêu hóa, ví dụ ở dạng dung dịch thuốc tiêm.

Các hợp chất và các muối được dụng của nó có thể được xử lý với các chất mang vô cơ hoặc hữu cơ, không có tác dụng dược lý để bào chế các chế phẩm dược. Lactoza, tinh bột ngô hoặc các dẫn xuất của nó, bột talc, axit stearic hoặc các muối của nó và các chất tương tự có thể được sử dụng, ví dụ, như các chất mang cho viên nén, viên nén được bao, viên thuốc bao đường và viên nang gelatin cứng. Các chất mang thích hợp cho viên nang gelatin mềm là, ví dụ, dầu thực vật, sáp, chất béo, các rượu polyhydric bán rắn và lỏng và các chất tương tự; phụ thuộc vào bản chất của các hoạt chất không phải chất mang, tuy nhiên, thường cần thiết trong trường hợp của viên nang gelatin mềm. Các chất mang thích hợp để sản xuất các dung dịch và sirô là, ví dụ, nước, rượu polyhydric, sucroza, đường nghịch chuyển, glucoza và các chất tương tự. Các chất phụ trợ, như các rượu, rượu polyhydric, glyxerol, dầu thực vật và các chất tương tự, có thể được sử dụng cho các dung dịch tiêm chứa nước của các muối tan trong nước của các hợp chất nhưng về nguyên tắc là không cần thiết. Các chất mang thích hợp cho các viên đạn là, ví dụ, dầu tự nhiên hoặc hóa rắn, sáp, chất béo, rượu polyhydric bán lỏng hoặc lỏng và các chất tương tự.

Ngoài ra, các chế phẩm được có thể chứa các chất bảo quản, các chất hòa tan, các chất làm ổn định, các chất tạo ẩm, các chất nhũ tương, các chất làm ngọt, các chất màu, các chất tạo hương, muối để thay đổi áp suất thẩm thấu, các dung dịch đệm, các tác nhân che mùi hoặc các chất chống oxy hóa. Chúng cũng có thể còn chứa các chất có giá trị trị liệu khác.

Như nêu trên, các thuốc chứa hợp chất hoặc các muối được dụng của nó và tá dược không có tác dụng điều trị bệnh cũng là một mục đích của sáng chế, như là quy trình để bào chế thuốc này, quy trình này bao gồm việc đưa một hoặc nhiều hợp chất hoặc các muối được dụng của nó và, nếu muốn, một hoặc nhiều chất có giá trị trị liệu khác vào dạng liều lượng y lý cùng với một hoặc nhiều chất mang không có tác dụng điều trị bệnh.

Liều lượng có thể thay đổi trong giới hạn rộng và tất nhiên, sẽ được điều chỉnh phù hợp với từng yêu cầu trong từng trường hợp cụ thể. Nhìn chung, liều lượng hữu hiệu để dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa là nằm trong khoảng từ 0,01 đến 20 mg/kg/ngày, với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10 mg/kg/ngày là được ưu tiên cho tất cả các chỉ định được mô tả. Liều hằng ngày cho người lớn có cân nặng 70 kg là nằm trong khoảng từ 0,7 đến 1400 mg trong một ngày, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 7 đến 700 mg trong một ngày.

Bào chế được phẩm chứa hợp chất của sáng chế:

Các viên nén có các thành phần sau được bào chế theo phương pháp thông thường:

	mg/viên nén
Thành phần hoạt tính	100
Lactoza bột	95
Tinh bột ngô màu trắng	35
Polyvinylpyrrolidon	8
Tinh bột Na carboxymetyl	10

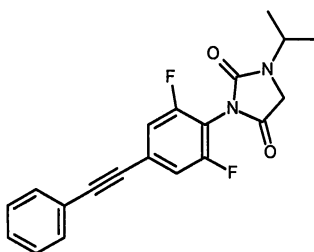
Magie stearat	2
Khối lượng viên nén	250

Phần thử nghiệm:

Các hợp chất của các ví dụ 1 - 3, 7, 8, 12 và 13 không được bao gồm trong sáng chế.

Ví dụ 1

3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1-isopropyl-imidazolidin-2,4-dion



Bước 1: 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin

Bis-(triphenylphosphin)-paladi(II)diclorua (826mg, 1,18mmol, 0,02 đương lượng) được hòa tan trong 100ml THF. 2,6-diflo-4-iodoanilin (15g, 58,8mmol) và phenylaxetylen (7,2g, 7,8ml, 70,6mmol, 1,2 đương lượng) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng. Trietylamin (29,8g, 41ml, 0,29mol, 5 đương lượng), triphenylphosphin (617mg, 2,35mmol, 0,04 đương lượng) và đồng(I)iodua (112mg, 0,58mmol, 0,01 đương lượng) được bổ sung và hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ 60°C. Hỗn hợp phản ứng được để nguội và được chiết bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa và hai lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ được rửa ba lần bằng nước, làm khô trên natri sulfat và làm bay hơi đến khô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên cột silicagel rửa giải bằng gradien của etyl axetat:heptan 0:100 đến 40:60. Thu được 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (12,6g, hiệu suất 93%) ở dạng chất rắn màu vàng, MS: m/e = 230,1 (M+H⁺).

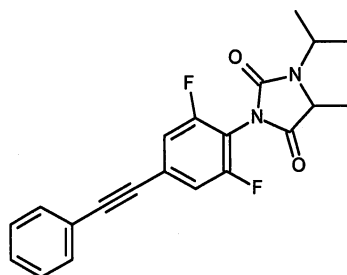
Bước 2: 3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1-isopropyl-imidazolidin-2,4-dion

2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) (180mg, 0,79mmol) được hòa tan trong toluen (3,0ml) và bis(triclorometyl) carbonat (93mg, 0,31mmol, 0,4 đương lượng) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp được khuấy trong 1 giờ ở

nhiệt độ 110°C. Et₃N (397mg, 0,55ml, 3,93mmol, 5 đương lượng) và etyl 2-(isopropylamino)axetat hydroclorua (171mg, 0,94mmol, 1,2 đương lượng) được bổ sung vào hỗn hợp và được khuấy trong 16 giờ ở 110°C. Hỗn hợp phản ứng được để nguội và được nạp trực tiếp lên trên cột silicagel. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh, rửa giải bằng gradien của etyl axetat:heptan 0:100 đến 60:40. Thu được 3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1-isopropyl-imidazolidin-2,4-dion mong muốn (164mg, hiệu suất 59%) dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: m/e = 355,2 (M+H⁺).

Ví dụ 2

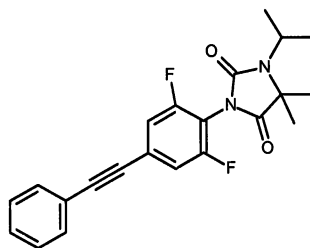
(5RS)-3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1-isopropyl-5-metyl-imidazolidin-2,4-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng dầu màu vàng, MS: m/e = 369,2 (M+H⁺), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và hydroclorua của axit 2-(isopropylamino)propanoic.

Ví dụ 3

3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-1-isopropyl-5,5-dimetyl-imidazolidin-2,4-dion

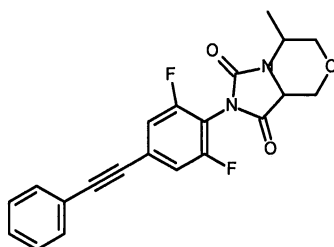


Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng dầu màu vàng sáng, MS: m/e = 383,2 (M+H⁺), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp

được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và metyl 2-(isopropylamino)-2-metylpropanoat.

Ví dụ 4

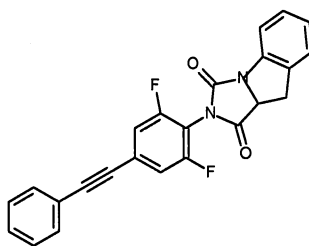
(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: $m/e = 383,1$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và axit (3RS,5RS)-5-metylmorpholin-3-carboxylic.

Ví dụ 5

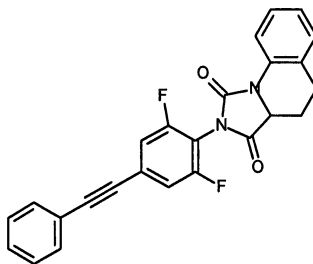
(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng sáng, MS: $m/e = 401,3$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và axit (2RS)-indolin-2-carboxylic.

Ví dụ 6

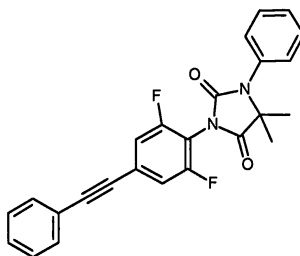
(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: $m/e = 415,3$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và metyl (2RS)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-2-carboxylat.

Ví dụ 7

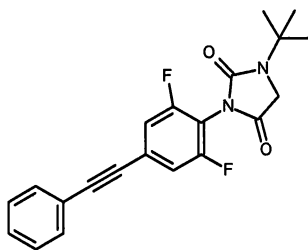
3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5,5-dimetyl-1-phenyl-imidazolidin-2,4-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng sáng, MS: $m/e = 417,2$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và axit 2-metyl-2-(phenylamino)propanoic.

Ví dụ 8

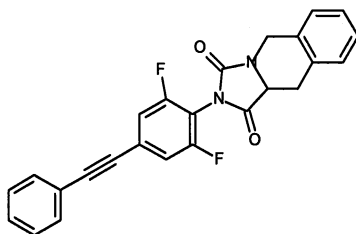
1-tert-Butyl-3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]imidazolidin-2,4-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng dầu màu vàng, MS: $m/e = 369,2$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và hydroclorua của axit 2-(tert-butylamino)axetic.

Ví dụ 9

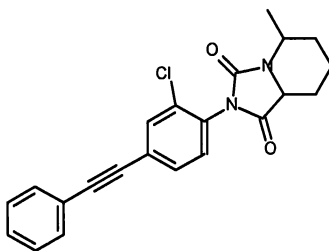
(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng sáng, MS: $m/e = 415,2$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và axit metyl (3RS)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Ví dụ 10

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion



Bước 1: 2-clo-4-(2-phenyletynyl)anilin

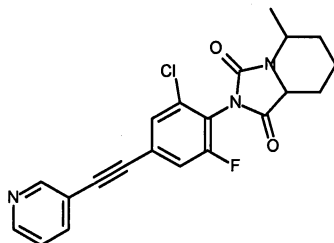
Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng, MS: m/e = 228,1/230,1 ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 1 từ 2-clo-4-iodoanilin và phenylaxetylen.

Bước 2: (5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion

Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: m/e = 379,2/381,2 ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2-clo-4-(2-phenyletynyl)anilin (Ví dụ 10, bước 1) và metyl (2RS,6RS)-6-metylpiperidin-2-carboxylat.

Ví dụ 11

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion



Bước 1: 2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]anilin

Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng, MS: m/e = 228,1/230,1 ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 1 từ 4-bromo-2-clo-6-flo-anilin và 3-etylnylpyridin.

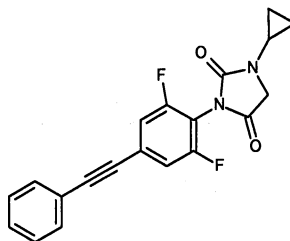
Bước 2: (5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion

Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: m/e = 398,0/400,0 ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương

pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]anilin (Ví dụ 11, bước 1) và metyl (2RS,6RS)-6-metylpiperidin-2-carboxylat.

Ví dụ 12

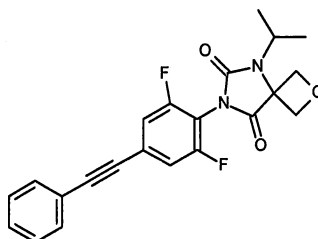
1-Xyclopropyl-3-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]imidazolidin-2,4-dion



Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: $m/e = 353,1$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và axit 2-(xyclopropylamino)axetic.

Ví dụ 13

7-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-isopropyl-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octan-6,8-dion



Bước 1: 7-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octan-6,8-dion

Hợp chất nêu ở đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu vàng sáng, MS: $m/e = 353,2$ ($M+H^+$), bằng cách sử dụng phương pháp hóa học tương tự như phương pháp được mô tả trong Ví dụ 1, bước 2 từ 2,6-diflo-4-phenyletynyl-phenylamin (Ví dụ 1, bước 1) và metyl 3-aminooxetan-3-carboxylat.

Bước 2: 7-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-isopropyl-2-oxa-5,7-diazaspiro [3.4]octan-6,8-dion

(60mg, 169 μ mol) 7-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-2-oxa-5,7-diazaspiro [3.4]octan-6,8-dion (Ví dụ 13, bước 1) được hòa tan trong DMF (1ml) và xesi carbonat (110mg, 0,34mmol, 2 đương lượng) và 2-iodopropan (58mg, 34 μ l, 0,34mmol, 2 đương lượng) được bổ sung ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng được để nguội và được chiết bằng dung dịch NaHCO₃ bão hòa và được chiết hai lần bằng etyl axetat. Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước và nước muối, được làm khô trên natri sulfat và được làm bay hơi đến khô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh trên cột silicagel, rửa giải bằng gradien của etyl axetat:heptan 0:100 đến 60:40. Thu được 7-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-isopropyl-2-oxa-5,7-diazaspiro[3.4]octan-6,8-dion mong muốn (34mg, hiệu suất 51%) dưới dạng chất rắn màu trắng, MS: m/e = 397,2 (M+H⁺).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất:

(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dion;

(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dion;

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion; và

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion;

hoặc muối được dụng hoặc muối cộng axit, hỗn hợp triệt quang, hoặc chất đồng phân đổi ảnh và/hoặc chất đồng phân quang học tương ứng của chúng và/hoặc chất đồng phân lập thể của chúng.

2. Dược phẩm chứa hợp chất:

(5RS,8aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-5,6,8,8a-tetrahydroimidazo[5,1-c][1,4]oxazin-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-3a,4-dihydroimidazo[1,5-a]indol-1,3-dion;

(3aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-4,5-dihydro-3aH-imidazo[1,5-a]quinolin-1,3-dion;

(10aRS)-2-[2,6-diflo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-10,10a-dihydro-5H-imidazo[1,5-b]isoquinolin-1,3-dion;

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-4-(2-phenyletynyl)phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion; và

(5RS,8aRS)-2-[2-clo-6-flo-4-[2-(3-pyridyl)etynyl]phenyl]-5-metyl-6,7,8,8a-tetrahydro-5H-imidazo[1,5-a]pyridin-1,3-dion;

theo điểm 1 và các tá dược được dụng.

Fig.1

