



(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)



1-0024821

(51)⁷ C07D 401/06; A61K 47/10; A61K 9/06; (13) B
A61K 9/08; A61P 17/00; A61P 17/10;
A61P 37/08; C07B 57/00; A61K
31/4439; A61P 14/06

(21) 1-2016-00083

(22) 06/06/2014

(86) PCT/JP2014/065060 06/06/2014

(87) WO2014/196623A1 11/12/2014

(30) 2013-120692 07/06/2013 JP

(45) 25/08/2020 389

(43) 25/03/2016 336A

(73) KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)

28-8, Honkomagome 2-chome, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8650, Japan

(72) KAMEI Noriyuki (JP); KAMIMURA Daigo (JP); SUMIKAWA Yoshitake (JP);
TOKUOKA Shota (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) HỢP CHẤT (+)-5-(3,4-DIFLOPHENYL)-5-[(3-METYL-2-OXOPYRIDIN-1(2H)-YL)METYL]IMIDAZOLIDIN-2,4-DION, DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion tinh khiết quang học hoặc muối của nó. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion tinh khiết quang học, hoặc muối của nó, và được phẩm chứa chúng làm thành phần hoạt tính mà có tác dụng ức chế enzym chuyển hóa yếu tố hoại tử khối u- α (TNF- α).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

TNF- α là một trong các xytokin được tiết ra từ các đại thực bào, bạch cầu đơn nhân và tương tự được kích hoạt bởi các yếu tố ngoại sinh và nội sinh. TNF- α liên quan mật thiết đến sự thúc đẩy sự bài tiết của các xytokin khác nhau và trong việc bảo vệ chống lại sự lây nhiễm. Tuy nhiên, việc sản sinh và bài tiết liên tục và quá mức TNF- α gây ra sự sản sinh thừa các xytokin gây viêm, cơ chế gây chết của các tế bào, và sự can thiệp của sự truyền tín hiệu nội bào và các loại tương tự, dẫn đến tổn thương mô nguyên phát và thứ phát, và cuối cùng trở thành yếu tố gây ra bệnh và sự gia tăng các rối loạn khác nhau (xem tài liệu phi sáng chế 1). Do đó, để điều trị một bệnh lý được cho là gây ra bởi việc sản sinh và bài tiết quá mức TNF- α thì điều quan trọng là ngăn việc sản sinh và bài tiết TNF- α , hoặc hạn chế các hoạt động của TNF- α . Ví dụ về các bệnh mà trong đó TNF- α tham gia bao gồm viêm khớp dạng thấp, lupus ban đỏ hệ thống (SLE), bệnh Crohn, bệnh Behcet, đa xơ cứng, xơ cứng động mạch, bệnh nhược cơ, bệnh tiểu đường, nhiễm trùng huyết, các bệnh truyền nhiễm cấp tính, hen suyễn, viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, bệnh vẩy nến, mụn trứng cá, sốt, thiếu máu và các loại tương tự.

Enzym chuyển hóa yếu tố hoại tử khối u- α (TACE) (còn gọi là ADAM 17), được phân loại thành họ ADAM (disintegrin và metalloproteinaza), là proteaza liên kết màng chứa kẽm ở vị trí xúc tác và

TACE sản sinh TNF- α hòa tan bằng cách tách TNF- α liên kết màng (pro-TNF- α). Do đó, các hợp chất ức chế sự hoạt động enzym của TACE có khả năng ngăn sự sản sinh TNF- α hòa tan, nhờ đó đóng vai trò làm thuốc điều trị các tình trạng bệnh nêu trên gây ra bởi TNF- α . Trên cơ sở đó, nghiên cứu về hợp chất có tác dụng ức chế TACE được thực hiện một cách chủ động (xem tài liệu phi sáng chế 2 và 3).

Mặt khác matrix metalloproteinaza (còn gọi là matrixin) (MMP) là proteaza chứa kẽm ở vị trí xúc tác và có tác dụng làm thoái hóa khuôn nền ngoại bào. Có khoảng 20 enzym MMP được biết đến.

Hợp chất mà ức chế một số loại MMP nhất định cũng đã được báo cáo là ức chế sự sản sinh TNF- α (xem tài liệu phi sáng chế 4). Hơn nữa, do TACE và MMP là hai enzym chứa kẽm tại vị trí xúc tác và có cấu trúc ba chiều giống nhau nên các hợp chất mà ức chế cả MMP và TACE cũng đã được báo cáo (xem tài liệu phi sáng chế 5). Tuy nhiên, báo cáo cũng chỉ ra rằng ở các con chuột được sử dụng liên tục thuốc mà ức chế nhiều loại MMP cùng lúc có sự thoái hóa phì đại trên các sụn tiếp hợp tăng trưởng (xem tài liệu phi sáng chế 6), và chuột được tách MT1-MMP (MMP 14) được quan sát biểu hiện triệu chứng của bệnh viêm khớp (xem tài liệu phi sáng chế 7). Có những quan ngại về các tác dụng phụ xảy ra do sự ức chế MMP dựa trên các báo cáo này. Ngoài ra, do hầu hết MMP tham gia vào việc duy trì và cân bằng các khuôn nền ngoại bào tạo thành cấu trúc cơ bản của cơ thể sống, vì thế sự ức chế hoạt tính xúc tác của nhiều MMP không chọn lọc có khả năng là nguyên nhân gây ra các tác dụng phụ nghiêm trọng đến cơ thể sống. Do đó, các hợp chất nhằm ức chế sự sản sinh TNF- α dựa trên sự ức chế TACE về cơ bản là không thể hiện tác dụng ức chế đối với MMP.

Tài liệu sáng chế 1, tài liệu phi sáng chế 8 và tài liệu phi sáng chế 9 gồm các báo cáo về các hợp chất mà ức chế có chọn lọc TACE. Hơn nữa, tài liệu sáng chế 2 đến tài liệu sáng chế 10 gồm các báo cáo về các hợp chất ức chế TACE có cấu trúc hydatoxin.

Danh sách tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: Công bố đơn WO 03/022801

Tài liệu sáng chế 2: Công bố đơn WO 10/054278

Tài liệu sáng chế 3: Công bố đơn WO 10/036640

Tài liệu sáng chế 4: Công bố đơn WO 07/084455

Tài liệu sáng chế 5: Công bố đơn WO 07/084415

Tài liệu sáng chế 6: Công bố đơn WO 06/019768

Tài liệu sáng chế 7: Công bố đơn WO 05/085232

Tài liệu sáng chế 8: Công bố đơn WO 04/024721

Tài liệu sáng chế 9: Công bố đơn WO 04/033632

Tài liệu sáng chế 10: Công bố đơn WO 04/108086

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Aggarwall B.B., Puri R.K., eds. 1995. Human Cytokines: Their Role in Disease and Therapy. Cambridge, Mass, USA: Blackwell Sci.

Tài liệu phi sáng chế 2: Nelson, F. C. et al., Exp. Opin. Invest. Drugs 1999, 8, 383-392

Tài liệu phi sáng chế 3: Murumkar, P. R. et al., Exp. Opin. Ther. Sáng chế 2010, 20, 31-57

Tài liệu phi sáng chế 4: Mohler, K. M. et al., Nature 1994, 370, 218-220

Tài liệu phi sáng chế 5: DasGupta, S. et al., Bioorg. Med. Chem., 2009, 17,

444-459

Tài liệu phi sáng chế 6: Nakajima, M., The Bone 2001, 15, 161-166

Tài liệu phi sáng chế 7: Holmbeck, K. et al., Cell 1999, 99, 81-92

Tài liệu phi sáng chế 8: Yu, W. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2010, 20, 1877-1880

Tài liệu phi sáng chế 9: Yu, W. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2010, 20, 5286-5289

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần giải quyết bởi sáng chế

Xem xét các vấn đề như vậy tiếp tục đặt ra nhu cầu về chất ức chế sản sinh TNF- α mà dựa trên sự ức chế TACE. Và có mong muốn tìm ra hợp chất mới thể hiện tác dụng ức chế TACE. Như đề cập nêu trên, từ quan điểm về độ an toàn, xét thấy hợp chất mới nhằm ức chế sự sản sinh TNF- α dựa trên sự ức chế TACE cần thể hiện bất kỳ một tác dụng ức chế nào đó đối với MMP, cụ thể là các hợp chất này cần phải có tính chọn lọc đối với MMP. Mặt khác, từ quan điểm tính hữu ích của hợp chất như vậy, có thể mong muốn nhiều hơn rằng hợp chất đó có đặc tính hữu ích khác.

Sáng chế được hoàn thiện với mục đích điều trị và phòng ngừa các bệnh liên quan đến TNF- α . Cụ thể là sáng chế này đề cập đến việc tạo ra hợp chất mới, hoặc muối của chúng, mà thể hiện tác dụng ức chế TACE có chọn lọc (tức là tác dụng ức chế yếu đối với MMP), và tạo ra dược phẩm chứa hợp chất đó làm thành phần hoạt tính.

Là kết quả của sự nghiên cứu tỉ mỉ về những vấn đề trên, các tác giả sáng chế đã có phát hiện đáng ngạc nhiên là hợp chất (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl) metyl]imidazolidin-2,4-dion có hoạt tính ức chế TACE có chọn lọc vượt trội, và độ tan tốt trong chất nền. Các tác giả

sáng chế đã tiếp tục phát triển nghiên cứu của họ để hoàn thiện sáng chế trên cơ sở phát hiện này.

Cụ thể là sáng chế đề cập đến ít nhất các vấn đề tương ứng sau đây.

- (1) Hợp chất (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó.
- (2) Dược phẩm chứa hợp chất theo mục (1) hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.
- (3) Dược phẩm theo mục (2), về cơ bản không chứa chất đồng phân (-).
- (4) Dược phẩm theo mục (2) hoặc (3), trong đó 95% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
- (5) Dược phẩm theo mục (4), trong đó 98% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
- (6) Dược phẩm theo mục (5), trong đó 99,5% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
- (7) Dược phẩm theo mục bất kỳ từ mục (2) đến (6), trong đó dược phẩm là chế phẩm dùng ngoài da.
- (8) Dược phẩm theo mục (7), trong đó chế phẩm dùng ngoài da được chọn từ nhóm bao gồm thuốc xức ngoài da, kem, chất lỏng và thuốc mỡ.
- (9) Dược phẩm theo mục (7) hoặc (8), chứa các glycol được dụng.
- (10) Dược phẩm theo mục (9), trong đó các glycol được dụng là propilen

glycol hoặc butylen glycol.

(11) Dược phẩm theo mục bất kỳ từ mục (7) đến (10), chứa nước làm thành phần.

(12) Dược phẩm theo mục bất kỳ từ mục (7) đến (11), chứa 1% trọng lượng/trọng lượng hoặc nhiều hơn (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

(13) Dược phẩm theo mục (12), chứa 3% trọng lượng/trọng lượng hoặc nhiều hơn (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

(14) Dược phẩm theo mục bất kỳ từ mục (2) đến (13), được sử dụng ngoài da.

(15) Dược phẩm theo mục bất kỳ từ mục (2) đến (14), trong đó dược phẩm là thuốc phòng ngừa và điều trị bệnh ngoài da.

(16) Dược phẩm theo mục (15), trong đó các bệnh ngoài da là một hay nhiều bệnh được chọn từ nhóm bao gồm bệnh xơ cứng bì khu trú, viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, bệnh vẩy nến, và mụn trứng cá.

(17) Phương pháp điều chế (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, bao gồm bước phân giải quang học raxemat ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion bằng phép sắc ký sử dụng cột để tách quang học.

(18) Hợp chất (+)-5-(3,4-Diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion thu được bằng cách phân giải quang học raxemat ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion bằng phép sắc ký sử dụng cột để tách quang học.

(19) Hỗn hợp gồm chất đồng phân (+) và (-) của 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, trong đó đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 90% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).

(20) Hỗn hợp theo mục (19), trong đó chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 96% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).

(21) Hỗn hợp theo mục (19) hoặc (20), trong đó chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 99% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó theo sáng chế có tác dụng ức chế TACE có chọn lọc vượt trội, và hữu ích làm thuốc phòng ngừa và điều trị bệnh liên quan đến TNF- α .

Mô tả chi tiết sáng chế

Tiếp theo, sáng chế được mô tả chi tiết hơn.

Thứ nhất, muối của hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là nó là muối được dụng. Các muối như vậy ví dụ như bao gồm muối của bazơ vô cơ, muối của bazơ hữu cơ và các loại tương tự. Ví dụ về muối của bazơ vô cơ bao gồm muối kim loại kiềm và muối kim loại kiềm thổ, như muối lithi, muối natri, muối kali, muối magiê, muối canxi và muối bari. Ví dụ về muối của bazơ hữu cơ bao gồm muối trietylamin, muối pyridin, muối etanolamin, muối xyclohexylamin, muối dixyclohexylamin, muối dibenzyletanolamin, muối benzylamin, muối 2-metylbenzylamin, muối α -metylbenzylamin, muối bruxin, muối quinin, muối quinidin, muối xinchonin, muối xinchonidin, muối acginin và tương tự.

Tiếp theo, phương pháp điều chế hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-

[(3-methyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)methyl]imidazolidin-2,4-dione theo sáng chế (sau đây còn được gọi là “(+)-(I)”) theo sáng chế được mô tả. Hợp chất này có thể được điều chế bằng nhiều phương pháp. Ví dụ, hợp chất có thể được điều chế hiệu quả theo phương pháp điều chế được thể hiện dưới đây.

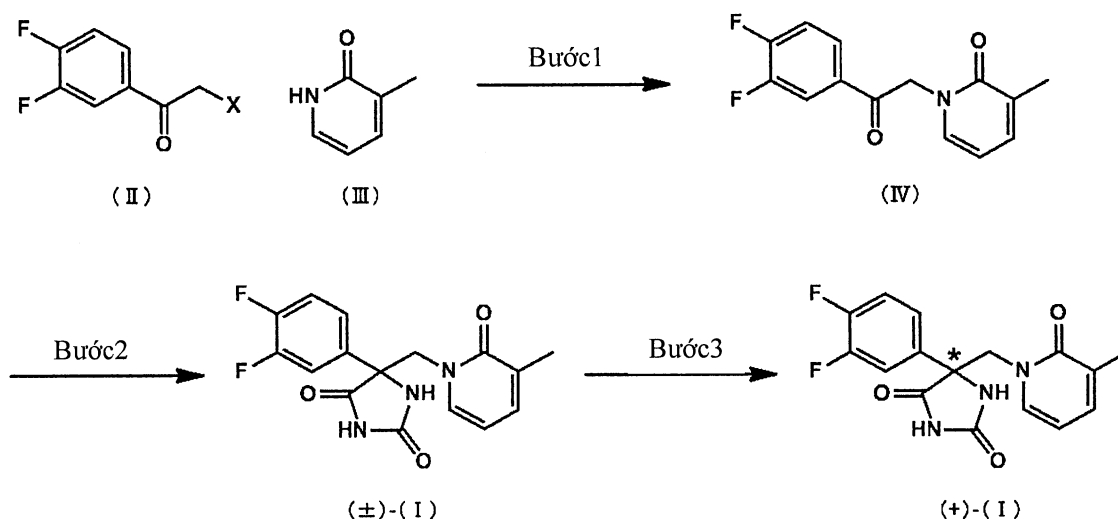
Các ví dụ cụ thể về "nhóm bảo vệ" được sử dụng trong các phương pháp điều chế sau đây bao gồm các ví dụ về nhóm hydroxyl hoặc nhóm carboxyl, nhóm tert-butyl, nhóm benzyl, nhóm o-methylbenzyl, nhóm p-nitrobenzyl, nhóm p-methoxybenzyl, nhóm o-chlorobenzyl, nhóm 2,4-dichlorobenzyl, nhóm p-bromobenzyl, nhóm allyl, nhóm tert-butoxycarbonyl, nhóm benzyloxycarbonyl, nhóm o-methylbenzyloxycarbonyl, nhóm p-nitrobenzyloxycarbonyl, nhóm p-methoxybenzyloxycarbonyl, nhóm o-chlorobenzyloxycarbonyl, nhóm 2,4-dichlorobenzyloxycarbonyl, nhóm p-bromobenzyloxycarbonyl, nhóm allyloxycarbonyl, nhóm methoxymethyl, nhóm tetrahydropyranyl và tương tự. Với ví dụ của nhóm bảo vệ carbonyl, các ví dụ gồm nhóm bảo vệ dẫn xuất từ ethandiol, propandiol, mercaptoethanol, mercaptopropanol, ethanedithiol, propanedithiol và tương tự.

Phương pháp điều chế 1 (Phương pháp điều chế sử dụng cột không đối xứng)

Hợp chất (+)-(I) có thể được điều chế, ví dụ, dựa trên phương pháp được thể hiện trong sơ đồ 1 sau đây (bước 1 đến bước 3).

[Công thức 1]

Sơ đồ 1

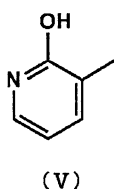


(trong đó X là nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc nguyên tử iốt. Dấu (*) chỉ dạng tinh khiết quang học.)

Bước 1

Trong bước 1, hợp chất có công thức chung (II) và hợp chất (III) được cho phản ứng với sự có mặt của bazơ để điều chế hợp chất (IV). Thay vì hợp chất (III), hợp chất (V),

[Công thức 2]



là chất hỗn biến của hợp chất (III), có thể được sử dụng. Ví dụ về các bazơ được ưu tiên bao gồm kali cacbonat, natri cacbonat, cacbonat xezi, natri hydrua và tương tự. Ngoài ra, để thúc đẩy phản ứng này, chất phụ gia có thể được thêm vào. Ví dụ về các chất phụ gia như vậy bao gồm kali iodua, natri iodua, tetrabutylamoni iodua, kali bromua, natri bromua, tetrabutylamoni bromua và tương tự. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể các phản ứng. Ví dụ về các dung môi phản ứng được

ưu tiên bao gồm ví dụ như N, N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, axeton, axetonitril, metanol, etanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, 2-metoxyetanol, dung môi hỗn hợp của chúng và tương tự. Hơn nữa, nước có thể được thêm vào dung môi phản ứng. Trong trường hợp nước được thêm vào, mặc dù lượng nước được thêm vào dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể nhưng ví dụ là tốt hơn là 10% hoặc ít hơn. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể, nhưng từ mức nhiệt độ trong phòng ví dụ như đến 60°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 2 ngày.

Bước 2

Trong bước 2, hợp chất ($\pm$)-(I), raxemat được điều chế bằng cách cho hợp chất (IV) phản ứng với xyanua với sự có mặt của muối. Ví dụ về các muối được ưu tiên là amoni cacbonat, amoni bicacbonat và tương tự. Ví dụ về các xyanua được ưu tiên bao gồm kali xyanua, natri xyanua và tương tự. Các dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng. Các ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm nước, nước amoniac, metanol, etanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, N, N-dimetylformamit, dung môi hỗn hợp của chúng và tương tự. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ, 50°C đến 120°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 10 ngày. Các hợp chất ($\pm$)-(I) mà thu được ở bước này cũng có thể thu được ở dạng muối của nó phụ thuộc vào quy trình vận hành của phản ứng này.

Bước 3

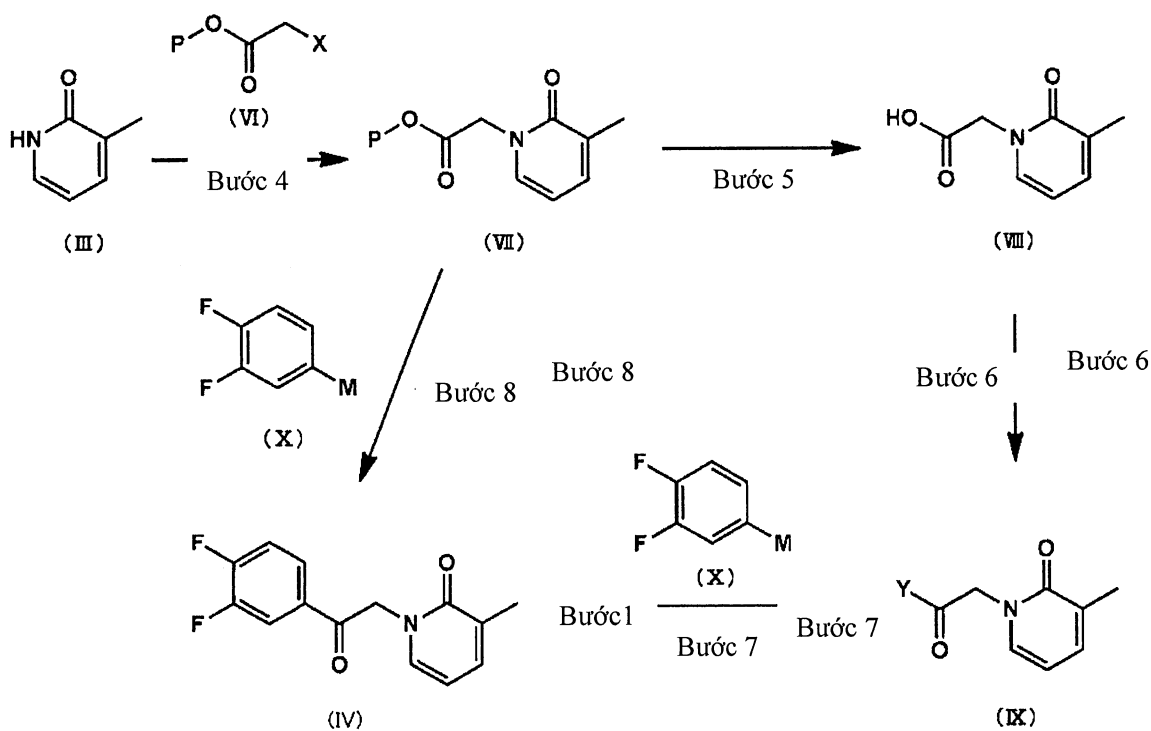
Trong bước 3, các hợp chất ($\pm$)-(I) được tách quang học sử dụng cột không đối xứng để tạo ra hợp chất (+)-(I). Phân giải quang học sử dụng cột không đối xứng có thể được tiến hành theo phương pháp mà chuyên gia trong lĩnh vực biết; ví dụ xem tài liệu "Separation of Optical Isomers" (Kikan Kagaku Sosetsu, No. 6, 1989, Edited by The Chemical Society of Japan, Scientific Societies Press). Các cột không đối xứng khác nhau được sử dụng là có bán sẵn trên thị trường và cột thích hợp có thể được chọn. Chiralpak AD

(do Daicel Corporation sản xuất) là tốt hơn xét về khả năng phân giải tốt hơn đối với cả hai chất đồng phân quang học.

Hợp chất (IV) nêu trên cũng có thể được điều chế trong Sơ đồ 2 dưới đây (bước 4 đến bước 8).

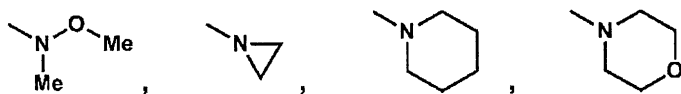
[Công thức 3]

Sơ đồ 2



(trong đó X là nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc nguyên tử iốt; Y là nhóm dẫn xuất amin như được thể hiện dưới đây;

[Công thức 4]



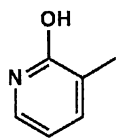
P là nhóm bảo vệ; M là MgBr, MgCl, Li, ZnBr hoặc ZnCl.)

Bước 4

Trong bước 4, hợp chất (III) và hợp chất có công thức chung (VI)

được cho phản ứng với sự có mặt của bazơ để điều chế hợp chất có công thức chung (VII). Thay vì hợp chất (III), hợp chất (V),

[Công thức 5]



(V)

là chất hỗn biến của hợp chất có công thức (III), có thể được sử dụng. Ví dụ về các bazơ được ưu tiên bao gồm kali cacbonat, natri cacbonat, cacbonat xezi, natri hydrua và tương tự. Ngoài ra, để thúc đẩy phản ứng này, phụ gia có thể được thêm vào. Ví dụ về các chất phụ gia như vậy bao gồm kali iotua, natri iotua, tetrabutylamoni iotua, kali bromua, natri bromua, tetrabutylamoni bromua và tương tự. Các dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Các ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như N, N-dimetylformamit, dimetyl sulfoxit, axeton, axetonitril, metanol, etanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, 2-metoxietanol, dung môi hỗn hợp của chúng và tương tự. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể, ví dụ, từ nhiệt độ trong phòng đến 60°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 2 ngày.

Bước 5

Trong bước 5, hợp chất có công thức chung (VII) được thủy phân trong nước bazơ vô cơ để sản xuất hợp chất (VIII). Ví dụ về nước bazơ vô cơ được ưu tiên bao gồm nước natri hydroxit, nước kali hydroxit, nước lithi hydroxit và tương tự. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như nước, metanol, etanol, tetrahydrofuran, 1,4-dioxan, dung môi hỗn hợp của chúng và tương tự. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể, nhưng nhiệt độ từ nhiệt độ trong phòng đến 60°C là tốt hơn. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1-96 giờ. Hợp chất (VIII) thu được ở dạng axit cacboxylic, natri carboxylat, kali carboxylat, lithi carboxylat, hỗn

hợp gồm axit cacboxylic và muối vô cơ (natri clorua, lithi clorua hoặc kali clorua) hoặc các loại tương tự.

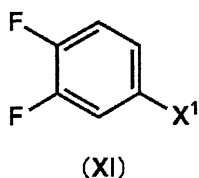
Bước 6

Trong bước 6, hợp chất (VIII) thu được ở bước 5 được chuyển hóa thành dẫn xuất axit cacboxylic hoạt tính, và sau đó phản ứng với amin hoặc muối của nó để tạo ra hợp chất (IX). Ví dụ về dẫn xuất axit cacboxylic hoạt tính bao gồm axit halogenua thu được bằng cách xử lý hợp chất (VIII) với thionyl clorua, photpho oxycloclorua, photpho pentacloclorua, oxalyl clorua, thionyl bromua hoặc tương tự; este hoạt tính thu được bằng phản ứng ngưng tụ của hợp chất (VIII) với chất ngưng tụ là 1-etyl-3'-(3'-dimetylaminopropyl) carbodiimit hydroclorua hoặc dixyclohexylcarbodiimit; và anhydrit hỗn hợp thu được bằng cách cho hợp chất (VIII) phản ứng với etyl cloroformat, pivaloyl clorua, cloroformat isobutyl hoặc tương tự. Hơn nữa, trong phản ứng này, bazơ có thể được thêm vào nếu cần. Ví dụ về bazơ như vậy bao gồm amin hữu cơ, chẳng hạn như trietylamin, tert-butylamin, pyridin, và N-metylmorpholin. Trietylamin, pyridin, hoặc N-metylmorpholin được ưu tiên. Các dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như N, N-dimetylformamit, tetrahydrofuran, diclorometan, cloroform và các loại tương tự. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể, nhưng từ nhiệt độ từ 0°C đến 60°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1-96 giờ.

Bước 7

Trong bước 7, hợp chất (IV) được điều chế bằng cách cho hợp chất (IX) thu được ở bước 6 phản ứng với hợp chất có công thức chung (X). Với hợp chất (X), được trích dẫn lại bằng cách sử dụng hợp chất có công thức chung (XI)

[Công thức 6]



(trong đó X^1 là nguyên tử clo, nguyên tử brom hoặc nguyên tử iốt)

với nguyên liệu, chất phản ứng lithi điều chế bởi phản ứng trao đổi halogen-kim loại bằng cách sử dụng bazơ như n-butyllithi, sec-butyllithi, tert-butyllithi; chất phản ứng Grignard điều chế bằng cách sử dụng magie, isopropylmagie bromua, isopropylmagie clorua hoặc các loại tương tự; chất phản ứng kẽm điều chế bằng cách sử dụng kẽm hoạt tính, kẽm bromua, kẽm clorua hoặc các loại tương tự. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ, tetrahydrofuran, dietyl ete, 1,4-dioxan hoặc dimetoxietan. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể nhưng nhiệt độ từ -100°C đến nhiệt độ trong phòng được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1-24 giờ.

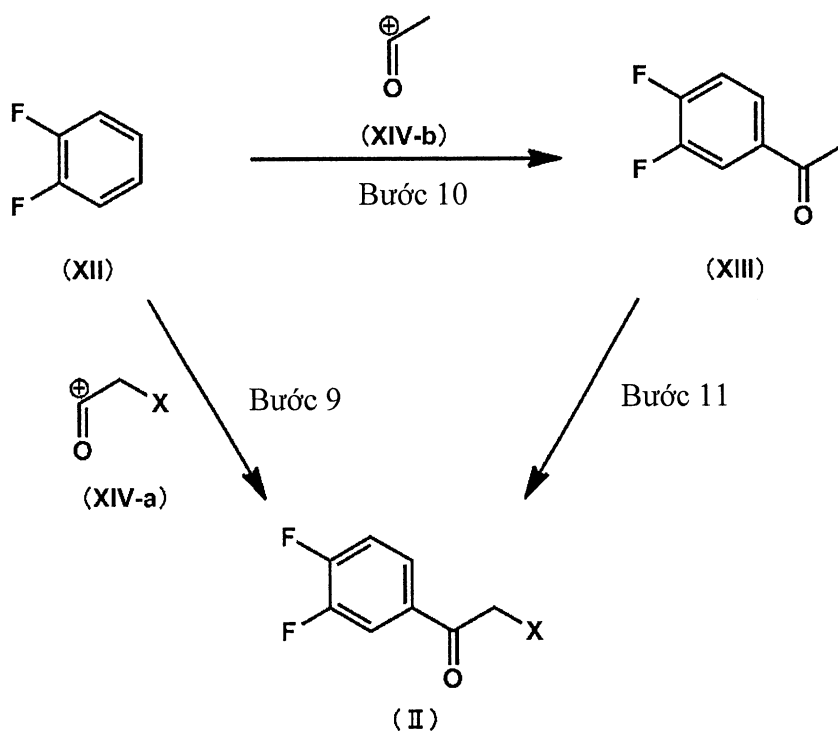
Bước 8

Trong bước 8, với cách thức giống với bước 7, hợp chất (IV) được điều chế bằng cách cho hợp chất có công thức chung (VII) phản ứng với hợp chất có công thức chung (X).

Thêm vào đó, hợp chất (II) nêu trên có thể được điều chế như nêu ra dưới đây bằng phương pháp được mô tả trong Sơ đồ 3 (Bước 9 đến Bước 11).

[Công thức 7]

Sơ đồ 3



(trong đó X là nguyên tử clo, nguyên tử brom và nguyên tử iốt).

Bước 9

Trong bước 9, hợp chất (II) được điều chế bằng cách cho hợp chất (XII) phản ứng với chất trung gian được thể hiện bởi công thức chung (XIV-a). Các ví dụ về chất trung gian (XIV-a) bao gồm chất trung gian hoạt tính thu được từ axit halogenua và axit Lewis; chất trung gian hoạt tính thu được từ anhydrit axit và axit Lewis; và chất trung gian hoạt tính thu được từ axit cacboxylic và chất khử nước. Ví dụ về các axit halogenua bao gồm cloroaxetyl clorua, cloroaxetyl bromua, bromoaxetyl bromua, bromoaxetyl clorua, iodoaxetyl và tương tự. Ví dụ về các anhydrit axit bao gồm anhydrit cloroaxetic, anhydrit bromoaxetic, anhydrit iodoaxetic và tương tự. Ví dụ về các axit cacboxylic bao gồm axit cloroaxetic, axit bromoaxetic, axit iodoaxetic và tương tự. Ví dụ về các axit Lewis bao gồm nhôm clorua, kẽm clorua và tương tự. Ví dụ về các chất khử nước bao gồm photpho pentoxit và tương tự. Các dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên

bao gồm, ví dụ như diclorometan, dicloroeta và tương tự. Ngoài ra, dung môi phản ứng có thể không được sử dụng. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể nhưng nhiệt độ từ 0°C đến 100°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1-24 giờ.

Bước 10

Trong bước 10, hợp chất (XIII) được điều chế bằng cách cho hợp chất (XII) phản ứng với chất trung gian có công thức chung (XIV-b). Các ví dụ của chất trung gian (XIV-b) bao gồm chất trung gian hoạt tính thu được từ halogenua axetyl và axit Lewis; chất trung gian hoạt tính thu được từ anhydrit axetic và axit Lewis; và chất trung gian hoạt tính thu được từ axit axetic và chất khử nước. Ví dụ về halogenua axetyl bao gồm axetyl clorua, axetyl bromua, axetyl iotua. Ví dụ về axit Lewis bao gồm nhôm clorua, kẽm clorua và tương tự. Ví dụ về các chất khử nước bao gồm photpho pentoxit và tương tự. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ, diclorometan, dicloroetan và tương tự. Hơn nữa, dung môi phản ứng có thể không được sử dụng. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể nhưng nhiệt độ từ 0°C đến 100°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1-24 giờ.

Bước 11

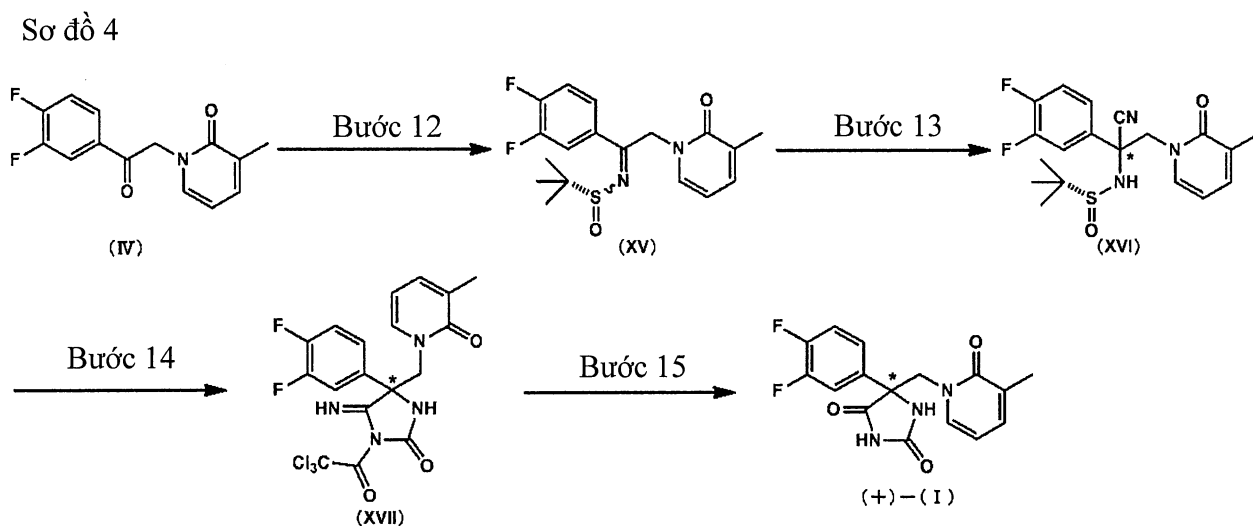
Trong bước 11, hợp chất (II) được điều chế bằng cách cho hợp chất (XIII) phản ứng với tác nhân halogen hóa. Ví dụ về tác nhân halogen hóa bao gồm N-clorosucxinic imit, N-bromosucxinic imit, N-iodosucxinic imit, benzyltrimetylamonitribromua và tương tự. Phản ứng này có thể được đẩy nhanh bằng cách sử dụng axit thích hợp. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm tetrahydrofuran, diclorometan, dicloroetan và tương tự. Mặc dù nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể nhưng nhiệt độ từ 0°C đến 100°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là

từ 1-72 giờ.

Phương pháp điều chế 2 (Phương pháp điều chế sử dụng phân tử bất đối)

Hợp chất (+)-(I) còn có thể được điều chế bằng phương pháp được thể hiện ở Sơ đồ 4 dưới đây (Bước 12 đến Bước 15).

[Công thức 8]



(trong đó dấu (*) thể hiện dạng tinh khiết quang học.)

Bước 12

Trong bước 12, hợp chất (IV) được cho phản ứng với (R) -tert-butansulfinamid để điều chế hợp chất (XV). Phản ứng này có thể được thúc đẩy bằng cách sử dụng axit thích hợp. Với axit, titan tetraisopropoxit, titan tetraetoxit, titan tetrabutoxit, axit sulfonic p-toluen và tương tự được đề xuất. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như toluen, xylen, benzen, tetrahydrofuran, dimetoxietan, 1,4-dioxan và tương tự. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể, ví dụ như nhiệt độ từ 0°C đến 130°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 72 giờ. Hợp chất (XV) thu được trong bước này thu được ở dạng E, dạng Z hoặc hỗn hợp của chúng.

Bước 13

Trong bước 13, hợp chất (XV) được cho phản ứng với tác nhân cxyanua hóa để điều chế hợp chất (XVI). Với tác nhân xyanua hóa, xyanua natri, kali xyanua, trimetylsilyl xyanua và tương tự được đề xuất. Phản ứng này có thể được thúc đẩy bằng axit Lewis hoặc tác nhân giữ cation. Với axit Lewis, nhôm trimetyl và tương tự được đề xuất. Với tác nhân giữ cation, este crao (15-crao-5, 18-crao-6 và tương tự), triamit hexametylphosphoric, N,N'-dimetylpropylen urê và tương tự được đề xuất. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như toluen, xylen, benzen, tetrahydrofuran, dimetoxyetan, 1,4-dioxan và tương tự. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ, nhiệt độ từ -40°C đến 60°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 120 giờ.

Nếu cần, bước 12 đến bước 13 có thể được tiến hành theo cách tổng hợp một bình mà không cần thực hiện bất kỳ một xử lý cụ thể nào sau phản ứng.

Bước 14

Trong bước 14, hợp chất (XVI) sau khi loại bỏ nhóm tert-butylsulphinyl sử dụng axit, được cho phản ứng với isoxianic axit tricloaxetyl este sau đó xử lý với trietylamin để điều chế ra hợp chất (XVII). Với axit, hydroclorua, axit sulfuric, axit trifloaxetic và tương tự được đề xuất. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như metylen clorua, cloroform, toluen, xylen, benzen, tetrahydrofuran, dimetoxyetan, 1,4-dioxan và tương tự. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ, nhiệt độ từ 0°C đến 60°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 72 giờ.

Bước 15

Trong bước 15, hợp chất (XVII) được thủy phân bằng axit để điều chế hợp chất (+)-(I). Với axit, hydroclorua, axit sulfuric, axit hydrobromic và tương tự được đề xuất. Dung môi phản ứng không bị giới hạn cụ thể miễn là nó không ức chế đáng kể phản ứng này. Ví dụ về các dung môi phản ứng được ưu tiên bao gồm, ví dụ như metylen clorua, cloroform, toluen, xylen, benzen, tetrahydrofuran, dimetoxietan, 1,4-dioxan, nước và các loại tương tự; Bước này có thể được thực hiện mà không cần dung môi. Nhiệt độ phản ứng không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ, nhiệt độ từ 0°C đến 120°C được ưu tiên. Thời gian phản ứng tốt hơn là từ 1 giờ đến 72 giờ.

Hợp chất (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion (có thể được gọi là "hợp chất sáng chế") được điều chế dựa trên các phương pháp mô tả nêu trên được tách và tinh chế ở dạng hợp chất tự do, muối của nó, hydrat của nó, solvat của nó như solvat etanol, sản phẩm kết tinh đa hình hoặc tương tự. Muối dược dụng của hợp chất sáng chế có thể được điều chế bởi phản ứng tạo thành muối thông thường. Việc tách và tinh chế có thể được thực hiện sử dụng các quy trình hóa học như: chiết phân đoạn, kết tinh, và sắc ký phân đoạn.

Hợp chất (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó, theo sáng chế thể hiện tác dụng ức chế TACE có chọn lọc vượt trội, và có thể được sử dụng làm thành phần hoạt tính của dược phẩm. Do đó, trên thực tế là sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm mà chứa (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính, dựa trên tác dụng ức chế TACE của (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó được mô tả nêu trên, dược phẩm theo sáng chế là đặc biệt hữu ích làm thuốc ức chế sự sản sinh TNF- α hòa tan, và cũng đặc biệt hữu ích làm thuốc phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến TNF- α . Ví dụ về các bệnh như vậy bao gồm viêm khớp dạng thấp, viêm khớp vảy nến, lupus ban đỏ hệ thống (SLE), lupus viêm thận, xơ cứng bì hệ thống, xơ cứng bì khu trú, hội chứng Sjogren, viêm đa cơ,

viêm da, viêm loét đại tràng, bệnh Crohn, bệnh Behcet, đa xơ cứng, xơ cứng động mạch, bệnh nhược cơ, viêm cột sống dính khớp, tiểu đường, nhiễm trùng huyết, các bệnh truyền nhiễm cấp tính, bệnh suyễn, bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, bệnh vẩy nến, mụn trứng cá, loãng xương, bong, sự bắt đầu của từ chối liên kết với các cơ quan hoặc cấy ghép mô (thải ghép), sốt, thiếu máu, ung thư, bệnh nha chu, bệnh tăng nhãn áp, biến chứng tiểu đường, viêm màng bồ đào và các loại tương tự. Ngoài ra, do (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó theo sáng chế biểu hiện tác dụng dược lý và sự hấp thụ qua da tốt, ngay cả khi dùng cục bộ như minh họa trong các ví dụ thử nghiệm 3 và 4 được mô tả dưới đây, trong số các bệnh liên quan đến TNF- α , được phẩm theo sáng chế đặc biệt hữu ích làm thuốc phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh trong đó các triệu chứng xuất hiện trên da (tức là bệnh ngoài da). Ví dụ về các bệnh ngoài da như vậy bao gồm xơ cứng bì khu trú, viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, bệnh vẩy nến, mụn trứng cá và các loại tương tự.

Dược phẩm chứa (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó theo sáng chế có thể được sử dụng một cách hệ thống hoặc cục bộ, qua đường miệng, qua da, mũi, đường hô hấp, phổi, mắt, tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, sử dụng qua trực tràng hoặc các loại tương tự. Hơn nữa, các dạng pha chế dược phẩm này có thể được chọn một cách thích hợp phù hợp với đường sử dụng. Các ví dụ về dạng pha chế như vậy bao gồm viên nén, viên ngậm, viên nén đặt dưới lưỡi, viên nén bọc đường, viên nang, viên tròn, bột, hạt nhỏ, chất lỏng, nhũ tương, kem, thuốc mỡ, kem dưỡng da, gel, chất đông, huyền phù, xi-rô, thuốc nhỏ mắt, thuốc nhỏ mũi, thuốc hít, thuốc đạn, thuốc dính (ví dụ như băng, màng và các loại tương tự), thuốc mỡ mắt, viên đặt âm đạo, thuốc tiêm và các loại tương tự.

Hơn nữa, dược phẩm theo sáng chế có thể chứa một cách thích hợp thành phần khác ngoài thành phần hoạt tính ((+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó), tức là các chất phụ gia lỏng hoặc rắn được dùng dùng cho các chế phẩm (ví

dụ như tá dược, chất kết dính, chất pha loãng, chất kéo dài, chất gây rã, chất ổn định, chất bảo quản, chất đệm, chất nhũ hóa, chất thơm, chất tạo màu, chất tạo ngọt, chất làm đặc, chất giảm nhẹ, chất hòa tan hoặc tương tự) và có thể được điều chế theo phương pháp tiêu chuẩn trong lĩnh vực kỹ thuật hiện tại.

Hơn nữa, hợp chất sáng chế (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion như được thể hiện trong ví dụ thử nghiệm 5 và 6 được nêu dưới đây, thể hiện độ tan vượt trội vào chất nền bên ngoài, do đó, đối với dược phẩm theo sáng chế, trong số các dạng pha chế khác nhau đề cập nêu trên, các chế phẩm bên ngoài để sử dụng qua da; ở các dạng chế phẩm khác nhau được đề cập nêu trên, ở dạng lỏng, nhũ tương, kem, thuốc mỡ, kem dưỡng da, gel và tương tự, các hợp chất sáng chế ở dạng thành phần hoạt tính này có thể được chứa ở hàm lượng cao (ví dụ như 1% trọng lượng/trọng lượng hoặc cao hơn) đối với chế phẩm được điều chế dễ dàng. Trong số các chế phẩm dùng bên ngoài này, thuốc xức ngoài da, kem, chất lỏng hoặc thuốc mỡ được ưu tiên.

Các chế phẩm ở dạng sử dụng bên ngoài (các chế phẩm dùng bên ngoài) như chất lỏng, nhũ tương, kem, thuốc mỡ, kem dưỡng da, gel và tương tự có thể được điều chế theo cách tiêu chuẩn trong lĩnh vực kỹ thuật hiện tại. Với các chất nền được sử dụng cho các chế phẩm dùng bên ngoài, và không có giới hạn cụ thể đối với các chế phẩm được dùng, chất nền hòa tan trong nước, chất nền có dầu, chất nền nhũ tương được đề xuất. Một, hai hay nhiều chất nền được sử dụng tùy thuộc vào sự cần thiết.

Các chất nền hòa tan trong nước, ví dụ như polyetylen glycol (macrogol), etanol, glyxerin, glycol được dùng (ví dụ như propylen glycol, butylen glycol và tương tự) được đề cập. Trong số đó, xét về độ tan thuận lợi hợp chất theo sáng chế, glycol được dùng là tốt hơn.

Với chất nền có dầu, ví dụ, vazolin và parafin mà có nguồn gốc từ chất khoáng, nền chất dẻo là polyetylen được gel hóa với parafin lỏng, sáp ong mà có nguồn gốc từ vi sinh vật sống và các loại tương tự được đề cập.

Với chất nền nhũ tương, ví dụ, lanolin, rượu stearyl và tương tự được đề cập. Khi chất nền nhũ tương được sử dụng, sự bổ sung thêm chất nhũ hóa là tốt hơn; các chất nhũ hóa như vậy, ví dụ như dầu thầu dầu hydro hóa polyoxyetylen, glyxerin monostearat và tương tự được đề cập.

Hơn nữa, nếu cần có thể chứa các chất phụ gia khác. Với các chất phụ gia, không có giới hạn cụ thể miễn chúng là được dùng, ví dụ như lớp tạo màng như alkyl metacrylat copolyme, xenluloza hydroxypropyl, xenluloza hydroxypropylmetyl, metyl xenluloza, etyl xenluloza, rượu polyvinyl và tương tự; dung môi như nước, etyl axetat, butyl axetat, etyl metyl xeton, adipic axit isopropyl este, dietyl sebacat, triaxetin và tương đương; và metyl parahydroxybenzoat (chất bảo quản), axit parahydroxybenzoic (chất bảo quản) và tương tự được trích dẫn.

Liều lượng của dược phẩm chứa (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó theo sáng chế có thể được xác định thích hợp dựa trên các điều kiện như các mục đích sử dụng, đường sử dụng, các triệu chứng và tương tự. Ví dụ, để sử dụng qua đường miệng của người bệnh là người trưởng thành, hợp chất sáng chế mà là thành phần hoạt tính, có thể được sử dụng thông thường trong khoảng từ 0,01 đến 100mg/kg mỗi liều, và tốt hơn là trong khoảng từ 0,1 đến 10mg/kg, và tốt hơn là sử dụng từ 1-3 lần mỗi ngày. Hơn nữa, ví dụ, trong trường hợp sử dụng trên da của người bệnh trưởng thành ở dạng thuốc cục bộ thì hợp chất sáng chế mà là thành phần hoạt tính có thể được sử dụng thông thường trong khoảng từ 1 đến 100.000mg/cm² mỗi ngày, tốt hơn là trong khoảng từ 10 đến 10.000mg/cm², và tốt hơn nữa là trong khoảng từ 10 đến 2.500mg/cm², và tốt hơn là sử dụng mỗi ngày một lần hoặc chia thành nhiều lần trong một ngày.

Ngoài ra, trong dược phẩm chứa (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó theo sáng chế, miễn là thành phần hoạt tính, (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion (dưới đây còn được gọi là "chất đồng phân(+)-") hoặc muối của nó, được chứa với một lượng hữu hiệu

trong đó về cơ bản không chứa (-)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion (dưới đây còn được gọi là "chất đồng phân (-)-") hoặc muối của nó được ưu tiên. Trong bản mô tả này, "về cơ bản không chứa chất đồng phân (-)-" nghĩa là chất đồng phân (-)- là không thể phát hiện được hoặc được chứa trong phạm vi mà nó không gây ra bất kỳ tác dụng thuốc nào in vivo. Sáng chế còn đề cập đến hỗn hợp (chế phẩm) gồm các chất đồng phân (+) và chất đồng phân (-); hỗn hợp này (chế phẩm) tốt hơn là hỗn hợp (chế phẩm) mà trong đó 95% trọng lượng hoặc nhiều hơn là chất đồng phân (+) và 5% trọng lượng hoặc ít hơn là trọng lượng của chất đồng phân (-). Hỗn hợp này (chế phẩm), theo cách được ưu tiên, là hỗn hợp (chế phẩm) mà trong đó 98% trọng lượng hoặc nhiều hơn là chất đồng phân (+) và 2% trọng lượng hoặc ít hơn là chất đồng phân (-), và còn tốt hơn nữa là hỗn hợp (chế phẩm) mà trong đó 99,5% trọng lượng hoặc nhiều hơn là chất đồng phân (+) và 0,5% trọng lượng hoặc ít hơn là chất đồng phân (-)

Hơn nữa, trong dược phẩm chứa (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó, theo sáng chế, trong tổng trọng lượng của 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó, chất đồng phân (+) tốt hơn là chiếm 95% trọng lượng hoặc nhiều hơn (tức là chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 90% hoặc cao hơn), tốt hơn nữa là chất đồng phân (+) có mặt với lượng 98% trọng lượng hoặc nhiều hơn (tức là, chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 96% hoặc cao hơn) và còn tốt hơn nữa là chất đồng phân (+) có mặt với lượng 99,5% trọng lượng hoặc nhiều hơn (tức là chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 99% hoặc cao hơn).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Đặc điểm của sáng chế được mô tả chi tiết hơn viện dẫn đến các ví dụ hoạt động và các ví dụ thử nghiệm sau đây. Trong các ví dụ và các ví dụ thử nghiệm sau đây, các nguyên liệu, lượng sử dụng và tỷ lệ của nó, việc xử lý, quy trình hoặc tương tự có thể được thay đổi một cách phù hợp miễn là những thay

đổi đó không vượt quá dự định của sáng chế. Vì vậy, phạm vi của sáng chế không nên hiểu là bị giới hạn bởi những ví dụ minh họa cụ thể dưới đây.

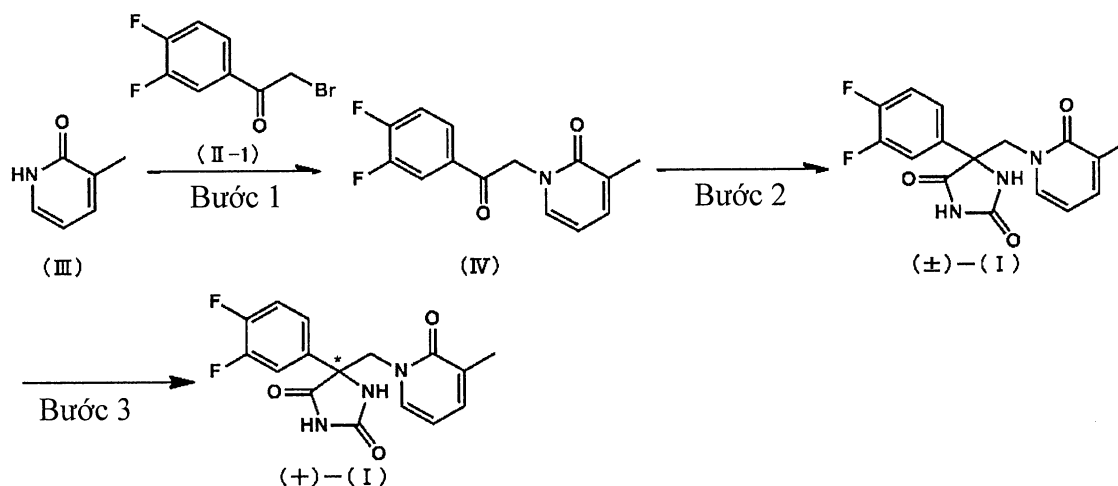
Phổ $^1\text{H-NMR}$ dưới đây được đo bằng phổ kế JNM-ECA 400 (400 MHz, được sản xuất bởi JEOL, Ltd) sử dụng cloform được đơteri hóa (CDCl_3) hoặc sulfoxit dimetyl (DMSO-d_6) được đơteri hóa như dung môi và tetrametylsilan (TMS) làm chất chuẩn nội. Trong các kết quả đo chuyển dịch hóa học, giá trị δ được thể hiện là ppm, và giá trị hằng số ghép đôi J được biểu diễn bằng Hz. Chữ viết tắt s thể hiện cho mức đơn, d cho mức đôi, t cho mức ba, m cho đa mức, và br cho độ rộng. Đối với việc đo lường phổ khối (ion hóa tia điện: ESI-MS), sử dụng Exactive do Thermo Fisher Scientific sản xuất. Để đo vòng quay cụ thể, phân cực kế SEPA-300 do HORIBA, Ltd sản xuất được sử dụng.

Ví dụ 1

Điều chế (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion ((+)-(I))

Phương pháp điều chế 1 (phương pháp điều chế sử dụng cột không đối xứng)

[Công thức 9]



(trong đó dấu (*) thể hiện dạng tinh khiết quang học.)

Bước 1

Xesi cacbonat (436mg, 1,3mmol) và 3',4'-diflophenaxyl bromua (II-1) (300mg, 1,3mmol) được thêm vào dung dịch chứa hợp chất (III) (133mg, 1,2mmol) trong N, N-dimetylformamit (10mL), và hỗn hợp thu được được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Dung dịch phản ứng được pha loãng với nước. Chất rắn kết tủa được gom lại bằng cách lọc và rửa bằng nước để thu được hợp chất (IV) (trọng lượng 206mg, hiệu suất 64%) ở dạng chất rắn màu vàng.

Bước 2

Nước (0,8ml) được thêm vào hỗn dịch của hợp chất (IV) (206mg, 0,78mmol), kali xyanua (61mg, 0,94mmol), và amoni cacbonat (301mg, 3,13mmol) trong etanol (0,8ml). Hỗn hợp thu được được bịt kín, và khuấy trong 67 giờ ở 100°C. Sau khi để nguội, dung dịch phản ứng được pha loãng với nước, và hỗn hợp này được chiết với etyl axetat. Sản phẩm thu được được làm khô qua natri sulfat, và dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Cloform được thêm vào phần cặn này và chất rắn kết tủa được gom lại bằng cách lọc để thu được hợp chất (±) - (I) (trọng lượng 119mg, hiệu suất 46%) ở dạng chất rắn không màu. Các tính chất vật lý được thể hiện dưới đây.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1,98 (3H, s), 4,46 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 4,61 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 6,13 (1H, t, $J=6,9$ Hz), 7,22-7,33 (2H, m), 7,45-7,58 (2H, m), 7,69 (1H, ddd, $J=2,3, 7,8, 12,4$ Hz), 8,66 (1H, s), 10,99 (1H, s).

MS (ESI-FTMS) m/z 334 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Hợp chất (±)-(I) thu được bằng cách tiến hành bước 2 hơn một lần được kết hợp để trang bị cho Bước 3 tiếp theo.

Bước 3

Sắc ký lỏng hiệu suất cao (LaChrom Elite, High Technologies Corporation Hitachi) đã được lắp cột phân giải (Chiralpak AD), và n-hexan-
etanol (30:70) được đưa qua ở nhiệt độ cột là 40°C với tốc độ dòng chảy 8mL/phút trong một giờ để cân bằng. Dung dịch chứa hợp chất (±)-(I) (14mg)

trong n-hexan-etanol (30:70, 2mL) được phun vào, theo quan sát trên máy dò tia UV, mỗi đỉnh đầu tiên (khoảng 12,5 phút đến 15,5 phút) và đỉnh thứ hai (khoảng 18 phút đến 23 phút) được thu thập. Sau khi quy trình tương tự được lặp lại, mỗi đỉnh được làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm. Với hợp chất thể hiện đỉnh đầu tiên thu được hợp chất sáng chế, (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion (hiệu suất 86mg, độ tinh khiết quang học > 99,9%). Với hợp chất thể hiện đỉnh thứ hai thu được chất đồng phân quang học của hợp chất theo sáng chế, (-)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion (hiệu suất 84mg, độ tinh khiết quang học > 99,8%).

Các tính chất vật lý của hợp chất (+)-(I) được thể hiện dưới đây:

Thời gian lưu HPLC 14,4 phút (các điều kiện phân tích, cột: Chiralpak AD-H 4,6φ × 250mm, pha động: n-hexan: etanol = 40:60, tốc độ dòng chảy: 0,5ml/phút, nhiệt độ cột: 30°C, bước sóng dò: 254nm)

$$[\alpha]_D^{26,7} = +229,9^\circ (c\ 1,0, CHCl_3)$$

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 1,98 (3H, s), 4,46 (1H, d, J=13,3 Hz), 4,60 (1H, d, J=13,3 Hz), 6,12 (1H, t, J=6,9 Hz), 7,25 (1H, d, J=6,9 Hz), 7,29 (1H, d, J=6,0 Hz), 7,45-7,58 (2H, m), 7,65-7,73 (1H, m), 8,63 (1H, s), 10,98 (1H, s).

MS (ESI-FTMS) m/z 334 [M+H]⁺.

Các tính chất vật lý của chất đồng phân quang học của hợp chất, (-)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion được thể hiện dưới đây:

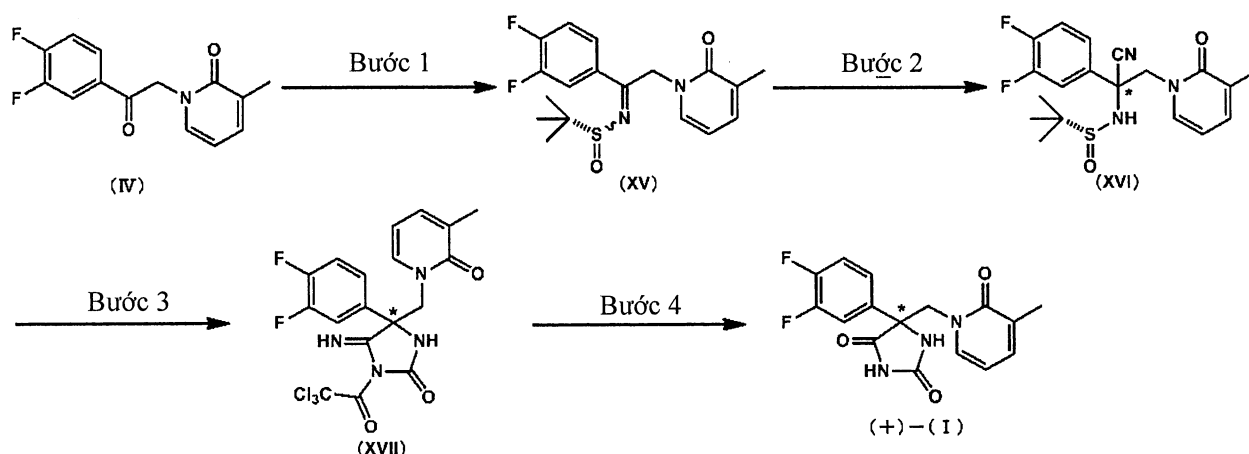
Thời gian lưu HPLC 33,8 phút (điều kiện phân tích, cột: Chiralpak AD-H 4,6φ × 250mm, pha động: n-hexan: etanol = 40:60, tốc độ dòng chảy: 0,5ml / phút, nhiệt độ cột: 30°C, bước sóng dò: 254nm)

$$[\alpha]_D^{27,3} = -196,7^\circ (c\ 1,0, CHCl_3)$$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ : 1,98 (3H, s), 4,46 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 4,60 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 6,12 (1H, t, $J=6,7$ Hz), 7,25 (1H, d, $J=6,9$ Hz), 7,29 (1H, d, $J=6,4$ Hz), 7,45-7,58 (2H, m), 7,69 (1H, ddd, $J=2,3, 7,8, 12,4$ Hz), 8,62 (1H, s), 10,98 (1H, s).

Phương pháp điều chế 2 (phương pháp điều chế sử dụng phân tử bất đối)

[Công thức 10]



(trong đó dấu (*)) thể hiện dạng tinh khiết quang học. Ngoài ra, số ở mỗi bước là số của các bước trong Ví dụ hiện tại.)

Bước 1

Dung dịch chứa hợp chất (IV) (500mg, 1,89mmol) và (R)-tert-butansulfinamit (345mg, 2,85mmol) trong toluen (1,9ml) được thêm titan tetraisopropoxit (596ml, 2,85mmol) và khuấy ở 100°C trong 16 giờ. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, dung dịch nước bão hòa amoni clorua được thêm vào và khuấy. Chất rắn kết tủa được lọc bằng phương pháp lọc Celite và rửa sạch bằng etyl axetat. Lóp hữu cơ được tách và rửa bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua; làm khô qua natri sunfat và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột (silica gel) để thu được hợp chất (XV) (trọng lượng 447mg, hiệu suất 64%).

Bước 2

Dưới điều kiện làm lạnh ở -20°C , dung dịch chứa hợp chất (XV) (244mg, 0,67mmol) trong toluen (1,3ml), dung dịch toluen (1,8mol/L, 556 μl , 1,00mmol) nhôm trimetyl và xyanua trimetylsilyl (126ml, 1,00mmol) được thêm vào và khuấy ở -20°C trong 2 giờ. Dung dịch nước bão hòa amoni clorua được thêm vào và chất rắn kết tủa được lọc bằng phương pháp lọc Celite và rửa bằng etyl axetat. Lớp hữu cơ được tách và rửa bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua; làm khô qua natri sunfat và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột (silica gel) để thu được hợp chất (XVI) (trọng lượng 145mg, hiệu suất 55%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 1,27 (9H, s), 2,18 (3H, s), 4,02 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 4,80 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 6,21 (1H, t, $J=6,9$ Hz), 7,04 (1H, m), 7,30 (1H, m), 7,40-7,50 (2H, m).

Bước 3

Dưới điều kiện làm mát bằng đá, dung dịch chứa hợp chất (XVI) (130mg, 0,337mmol) trong etyl axetat (3,3mL), dung dịch axetat hydroclorua-etyl (1,5ml) được thêm vào và khuấy trong 30 phút. Dung dịch phản ứng này được cô dưới áp suất giảm, và hòa tan trong metylen clorua (3,3mL). Dung dịch này được thêm axit isoxianic tricloaxetyl este (47ml, 0,40mmol) và dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 40 phút. Hỗn hợp phản ứng này được thêm trietyl amin (46ml, 0,33mmol) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Dung dịch phản ứng được cô dưới áp suất giảm và phần cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột (silica gel) để thu được hợp chất (XVII) (trọng lượng 142mg, hiệu suất 90%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 2,23 (3H, s), 4,00 (1H, d, $J=14,2$ Hz), 5,07 (1H, d, $J=14,2$ Hz), 6,20 (1H, t, $J=6,9$ Hz), 7,16 (1H, m), 7,22-7,33 (2H, m), 7,37-7,51 (2H, m), 8,75 (1H, s), 10,17 (1H, s).

Bước 4

Hợp chất (XVII) (125mg, 0,26mmol) được thêm 6mol/L hydroclorua

(5,2mL) và khuấy ở 100°C trong 16 giờ. Sau khi làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được pha loãng với nước và triết hai lần với etyl axetat. Các lớp hữu cơ được kết hợp, rửa bằng dung dịch nước bão hòa natri clorua, làm khô qua natri sunfat và dung môi được làm bay hơi dưới áp suất giảm. Phần cặn được tinh chế bằng phép sắc ký cột (silica gel) để thu được (+)-(I) (lượng 80mg, hiệu suất 92%, độ tinh khiết quang học 97,6%) là chất rắn không màu.

$$[\alpha]_D^{26,5} = +229,6^\circ (c\ 0,05, \text{CHCl}_3)$$

H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 1,98 (3H, s), 4,46 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 4,58 (1H, d, $J=13,7$ Hz), 6,12 (1H, t, $J=6,9$ Hz), 7,22-7,33 (2H, m), 7,45-7,58 (2H, m), 7,69 (1H, ddd, $J=2,3, 7,8, 12,4$ Hz), 8,51 (1H, s), 10,99 (1H, s).

Ví dụ thử nghiệm 1

Thử nghiệm sự ức chế TACE (in vitro)

Trình tự nucleotit của TACE đã được báo cáo trong tài liệu Moss et al. (Moss, M. L. et al., Nature năm 1997, 385, 733-736). Theo đó, các cADN của TACE thu được theo phương pháp quy định từ các tế bào THP-1 hoặc các loại tương tự, và sau đó kết hợp cADN vào vector biểu hiện. Tiếp theo, vector này được biến đổi thành các tế bào động vật có vú hoặc các tế bào côn trùng, và thu được biểu hiện TACE.

Thử nghiệm ức chế TACE được thực hiện bằng cách đo hoạt tính TACE với sự có mặt và sự vắng mặt của các chất thử nghiệm sử dụng TACE thu được như nêu trên làm enzyme, và chất nền tổng hợp huỳnh quang Nma(axit N-metylanthranilic)-Leu-Ala-Gln- Ala-Val-Arg-Ser-Ser-Lys(Dnp(dinitrophenyl))- D-Arg-NH₂ bao gồm trình tự được tách TACE của TNF liên kết màng làm chất nền. Phương pháp thử nghiệm ức chế TACE được thể hiện dưới đây.

Cụ thể, 90 μ L dung dịch enzyme được điều chế với chất đệm thử nghiệm A (50mM chất đệm axit tris-clohydric (độ pH 7,5) bao gồm 200mM natri

clorua, 5mM canxi clorua, 10 μ M kẽm sunfat, và 2mg/mL albumin huyết thanh bò) và 90 μ l chất nền tổng hợp huỳnh quang được điều chế với chất đệm thử nghiệm B (50mM chất đệm axit tris-clohydric (độ pH 7,5) bao gồm 200mM natri clorua, 5mM canxi clorua, 10 μ M kẽm sunfat, và 0,05% PLURONIC F-68) được trộn với nhau, và được cho phản ứng ở 37°C trong 1,5 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo cường độ huỳnh quang (Labsystems, Ascent Floskan) ở bước sóng kích thích 355nm và bước sóng đo 460nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt của chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Theo kết quả, hợp chất sáng chế (+)-5(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion thể hiện hoạt tính ức chế TACE ở 100nM hoặc ít hơn trị số IC50.

Ví dụ thử nghiệm 2

Các thử nghiệm sự ức chế MMP

Các thử nghiệm sự ức chế MMP có thể được thực hiện, ví dụ bằng cách sử dụng chất nền tổng hợp huỳnh quang trên cơ sở các phương pháp được mô tả trong tài liệu Bickett et al. (D. Mark Bickett et al., Anal. Biochem., 1993, 212, 58-64) và Nagase et al. (H. Nagase et al., J. Biol. Chem., 1994, 269, 20.952-20.957). Phương pháp thử nghiệm sự ức chế MMP được thể hiện dưới đây.

Thử nghiệm sự ức chế MMP-1

180 μ l (100ng) của MMP-1 người (Calbiochem # 444208) được trộn với 20 μ l p-amino phenyl thủy ngân axetat (APMA) 10mM, và được kích hoạt bằng cách cho phản ứng ở 37°C trong 1 giờ. 20 μ l dung dịch enzym thu được được pha loãng đến 90 μ l bằng chất đệm thử nghiệm A. Hỗn hợp này được thêm vào 90 μ l chất nền huỳnh quang 20 μ M (Dnp-Pro-Cha(β -

cyclohexylalanyl)-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(Nma)-NH₂) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 5 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo cường độ huỳnh quang (Labsystems, Ascent Floskan) ở bước sóng kích thích 355nm và bước sóng đo 460nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-2

90μl (5ng) của MMP-2 người (Calbiochem # 444213) được trộn với 10μl APMA 10mM, và được kích hoạt bằng cách cho phản ứng ở 37°C trong 1 giờ. 10μl dung dịch enzym thu được được pha loãng đến 90μl với chất đệm thử nghiệm A. Hỗn hợp này được thêm 90μl chất nền huỳnh quang 20μM (MOCAc ((7-metoxycoumarin-4-yl)axetyl)-Pro-Leu-Gly-Leu-A₂pr(Dnp)-Ala-Arg-NH₂, Peptide Institute Inc., # 3163-v) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 5 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo cường độ huỳnh quang (Labsystems, Ascent Floskan) tại bước sóng kích thích 320nm và bước sóng đo 405nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt của chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-3

90μl (1,5ng) của MMP-3 người (Calbiochem # 444217) được điều chế với chất đệm thử nghiệm A được thêm 90ml chất nền huỳnh quang NFF-3 20mM (MOCAc((7-metoxycoumarin-4-yl)axetyl)-Arg-Pro-Lys-Pro-Val-Glu-Nva-Trp-Arg-Lys(Dnp)-NH₂, Peptide Institute Inc., #3168-v) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 4 giờ. Hoạt

tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo cường độ huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 320nm và bước sóng đo 405nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-8

90 μ l (29ng) của MMP-8 người (Calbiochem # 444229) được trộn với 10 μ l của APMA 10mM, và được kích hoạt bằng cách cho phản ứng ở 37°C trong 1 giờ. 10ml dung dịch enzym thu được được pha loãng đến 90 μ l bằng chất đệm thử nghiệm A. Hỗn hợp này được thêm 90 μ l chất nền huỳnh quang 20 μ M (MOCAC-Pro-Leu-Gly-Leu-A₂pr(Dnp)-Ala-Arg-NH₂, Peptide Institute Inc., #3163-v) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 5 giờ. Hoạt tính Enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo cường độ huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 320nm và bước sóng đo 405nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-9

90 μ l (11ng) của MMP-9 người (Calbiochem # 444231) được trộn với 10 μ l của APMA 10mM, và được kích hoạt bằng cách cho phản ứng ở 37°C trong 2 giờ. 10 μ l dung dịch enzym thu được được pha loãng đến 90 μ l với chất đệm thử nghiệm A. Hỗn hợp này được thêm 90 μ l chất nền huỳnh quang 20 μ M (Dnp-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(Nma)-NH₂) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 4 giờ. Hoạt tính Enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo chất nền huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 355nm và

bước sóng đo 460nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt của chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-13

90µl (130ng) của thụ thể MMP-13 (Calbiochem # 444287) được trộn với 10µl APMA 10mM, và được kích hoạt bằng cách cho phản ứng ở 37°C trong 1 giờ. 10µl dung dịch enzym thu được được pha loãng đến 90µl với chất đệm thử nghiệm A. Hỗn hợp này được thêm đến 90µl chất nền huỳnh quang 20mM (Dnp-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(Nma)-NH₂) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 4 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo chất nền huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 355nm và bước sóng đo 460nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-14

90µl (1,9ng) của MMP-14 người (Calbiochem # 475935) được điều chế với chất đệm thử nghiệm A được thêm 90µl chất nền huỳnh quang 20µM (Dnp-Pro-Cha-Gly-Cys(Me)-His-Ala-Lys(Nma)-NH₂) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 5 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo chất nền huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 355nm và bước sóng đo 460nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC50) của chất thử nghiệm được đo.

Thử nghiệm ức chế MMP-17

90 μ l (5,8ng) của MMP-17 người (Calbiochem # 475940) được điều chế với chất đệm thử nghiệm A được thêm 90 μ l chất nền huỳnh quang 20mM (MOCAc-Pro-Leu-Gly-Leu-A₂pr(Dnp)-Ala-Arg-NH₂, Peptide Institute Inc., #3163-v) được điều chế với chất đệm thử nghiệm B, và được cho phản ứng ở 37°C trong 5 giờ. Hoạt tính enzym sau đó được xác định bằng cách đo bằng dụng cụ đo chất nền huỳnh quang (Labsystems, Floskan Ascent) ở bước sóng kích thích 320nm và bước sóng đo 405nm.

Từ hoạt tính enzym với sự có mặt hoặc vắng mặt chất thử nghiệm, tỷ lệ ức chế được xác định, và nồng độ ức chế 50% (IC₅₀) của chất thử nghiệm được đo.

Là kết quả trong các thử nghiệm, các nồng độ ức chế 50% với MMPs của hợp chất sáng chế (+)-5(3,4-diflophenyl)-5- [(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl] imidazolidin-2,4-dion, được thể hiện trong Bảng 1

[Bảng 1]

	Hoạt tính ức chế (IC ₅₀ , nM)
MMP-1	>10000
MMP-2	>10000
MMP-3	>10000
MMP-8	>10000
MMP-9	>10000
MMP-13	>10000
MMP-14	>10000
MMP-17	>10000

Ví dụ thử nghiệm 3

Thử nghiệm ức chế phù nề tai gây ra bởi sử dụng riêng TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-axetat) ở chuột (thử nghiệm hiệu quả in vivo dựa trên bệnh viêm da liên quan đến TNF- α)

Phù nề tai được gây ra bởi sử dụng 54 μ mol/L dung dịch TPA-axeton trên cả mặt trong và ngoài của tai trái của chuột BALB/c (thể tích sử dụng của dung dịch TPA-axeton 54mmol/L là 10 μ l cho mỗi bên của tai trái (tức là 1,08nmol TPA/vành tai)). Đối với nhóm không bị gây phù nề, axeton được sử dụng tương tự thay cho 54 μ mol/L dung dịch TPA-axeton. Chất thử nghiệm được hòa tan và điều chế trong 1% trọng lượng/thể tích dung dịch axeton chứa 10% thể tích DMSO (chất dẫn thuốc sử dụng cục bộ), sau đó dung dịch thử nghiệm được sử dụng ở cả phía bên trong và bên ngoài tai trái của chuột (thể tích sử dụng dung dịch thử nghiệm này là 10 μ l cho mỗi bên của tai trái) 1 giờ trước khi sử dụng TPA. Đối với nhóm đối chứng, chất dẫn thuốc sử dụng cục bộ được sử dụng tương tự thay vì dung dịch chất thử nghiệm. Đối với nhóm etanercept, 0,2ml dung dịch etanercept 5mg/mL được sử dụng qua tĩnh mạch (1mg/chuột) vào ngày trước khi sử dụng TPA và 1,5 giờ trước khi sử dụng TPA. Đối với nhóm IgG người (hIgG) (nhóm đối chứng etanercept), 0,2ml dung dịch hIgG 5mg/mL được sử dụng qua tĩnh mạch (1mg/chuột). Độ dày vành tai được đo khi gây mê bằng ete vào ngày trước khi sử dụng TPA và 6 giờ sau khi sử dụng TPA để đánh giá hiệu quả ức chế phù nề tai của chất thử nghiệm dựa trên sự gia tăng độ dày vành tai làm chỉ số.

Tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của chất thử nghiệm được tính dựa trên công thức sau đây sử dụng (A) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm được sử dụng chất thử nghiệm, (B) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày tai của nhóm không bị gây phù nề, và (C) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày tai của nhóm đối chứng.

$$\text{Tỷ lệ (\%)} \text{ sự ức chế phù nề tai của chất thử nghiệm} = (C-A)/(C-B) \times 100$$

(A): Giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm được sử dụng chất thử nghiệm.

(B): Giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm không bị gây phù nề.

(C): Giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm đối chứng.

Tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của etanercept được tính dựa trên công thức sau đây sử dụng (B) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm không bị gây phù nề, (D) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm etanercept, và (E) giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm hIgG.

$$\text{Tỷ lệ (\%)} \text{ sự ức chế phù nề tai của etanercept} = (E-D)/(E-B) \times 100$$

(D): Giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm etanercept

(E): Giá trị trung bình của sự gia tăng độ dày vành tai của nhóm hIgG

Hơn nữa, tỉ lệ etanercept được tính dựa trên công thức sau bằng cách so sánh tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của chất thử nghiệm với tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của etanercept (sử dụng như kiểm soát tích cực) ở cùng thời điểm.

“Tỷ lệ Etanercept” = Tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của mỗi chất thử nghiệm / Tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của etanercept

Tỷ lệ (%) sự ức chế phù nề tai của hợp chất sáng chế (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion là 62% và tỷ lệ etanercept là 3,4.

Hợp chất theo sáng chế thể hiện hiệu quả bằng cách sử dụng cục bộ vượt trội hơn so với sử dụng etanercept là loại thuốc đang bày bán dành cho các bệnh liên quan đến TNF- α qua tĩnh mạch.

Ví dụ thử nghiệm 4

Nghiên cứu dược động học sau khi sử dụng qua tĩnh mạch và dưới da ở chuột

không lông

Sử dụng qua tĩnh mạch

Các chất thử nghiệm (0,1-0,5mg/5ml/kg) được sử dụng bằng cách tiêm bolus tĩnh mạch vào đuôi của những con chuột không lông khi gây mê.

Tiêm dưới da

Vị trí tiêm 4cm² (2cm x 2cm) được đánh dấu trên da lưng của chuột không lông khi gây mê (bằng cách cho ăn) sử dụng đánh dấu bằng dầu. Các chất thử nghiệm được sử dụng ở vị trí sử dụng với lượng 50µl/động vật (1% trọng lượng/thể tích dung dịch Macrogol 400). Gạc thấm (BEMCOT®) có kích cỡ khoảng 2 cm x 2 cm được cố định sử dụng băng hai mặt bằng tấm polyetylen khoảng 4cm x 4cm, và mặt gạc thấm được đặt trên mặt mà trên đó chất thử nghiệm đã được tiêm. Băng dính đàn hồi (Elastopore, khoảng 10cm) mắc trong băng gạc để cố định và bảo vệ mặt mà trên đó chất thử nghiệm được sử dụng. Những con chuột sau đó được cho trở về lồng của chúng. Hai mươi bốn giờ sau khi sử dụng, phương pháp băng kín được xác nhận đã được thực hiện chuẩn xác.

Lấy máu

Tĩnh mạch đuôi chuột được cắt bằng dao cạo, và sử dụng ống hút vi thể lấy máu từ tĩnh mạch đuôi. Các mẫu máu được thu thập 5, 15, 30 phút, 1, 3, và 6 giờ sau khi sử dụng qua tĩnh mạch, và tương ứng 30 phút, 1, 3, 6, và 24 giờ sau khi sử dụng dưới da. Lượng máu thu được tại mỗi thời điểm là khoảng 30-50µl. Lượng máu này được chuyển tới ống chứa heparin natri, và huyết thanh được thu bằng cách quay ly tâm (4°C, 19.200×g, 10 phút). Huyết thanh được trữ lạnh trong tủ lạnh với nhiệt độ -30°C.

Phương pháp đo nồng độ trong huyết thanh của chất thử nghiệm

Huyết thanh thu được được bảo quản lạnh bằng phương pháp trên được giải đông ở nhiệt độ trong phòng. Sau khi loại bỏ protein bằng metanol,

nồng độ của chất thử nghiệm trong huyết thanh được đo. Các dụng cụ dùng để đo nồng độ huyết thanh bao gồm ống thu tự động HTC PAL do CTC Analytics sản xuất, và HPLC Accela cùng với TSQ Quantum Ultra do Thermo Fisher Scientific sản xuất.

Tính tỷ lệ hấp thụ qua da

Tỷ lệ hấp thụ qua da được tính bằng phương trình sau đây bằng cách tính AUC (diện tích dưới đường cong của nồng độ trong huyết thanh) từ nồng độ trong huyết thanh của chất thử nghiệm được đo bằng phương pháp được mô tả ở trên.

$$\text{Tỷ lệ hấp thụ qua da (\%)} = ((\text{Div} \times \text{AUC}_{\text{pc}}) / (\text{Dpc} \times \text{AUC}_{\text{iv}})) \times 100$$

Div: Liều lượng của chất thử nghiệm trong khi sử dụng qua tĩnh mạch

Dpc: Liều lượng của chất thử nghiệm trong khi sử dụng qua da

AUC_{iv}: Diện tích dưới đường cong của nồng độ trong huyết thanh của chất thử nghiệm sau khi sử dụng qua tĩnh mạch

AUC_{pc}: Diện tích dưới đường cong của nồng độ trong huyết thanh của chất thử nghiệm sau khi sử dụng qua da

Hợp chất theo sáng chế được xác nhận có khả năng hấp thụ qua da sau khi sử dụng dưới da tốt. Vì vậy, có thể suy luận rằng các hợp chất theo sáng chế này cũng có tính thẩm thấu qua da tốt.

Ví dụ thử nghiệm 5

Thử nghiệm độ tan trong chất lỏng thứ 2 đối với thử nghiệm gây rã trong được diễn Nhật Bản

Điều chế dung dịch mẫu cho một đường cong hiệu chỉnh

Các chất thử nghiệm (10,0mg) được cân chính xác, và metanol được thêm vào để điều chỉnh đến 10mL. Dung dịch đã được pha loãng 10 lần để

điều chế dung dịch 100µg/ml.

Điều chế dung dịch mẫu để đo độ tan

Chất thử nghiệm 5,0mg trong ống ly tâm được cân, thêm 5,0ml chất lỏng thứ 2 cho thử nghiệm gây rã trong được điện Nhật Bản, siêu âm trong 3 phút, và lắc trong 2 giờ sau đó. Dung dịch này được lọc qua màng lọc (0,2µm), 500µl dịch lọc được đo, 500µl axetonitril được thêm vào, và khuấy đều để thu được dung dịch mẫu.

Điều chế chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong được điện Nhật Bản (độ pH 6,8)

250ml dung dịch nước kali dihydro photphat 0,2mol/L được thêm 118ml dung dịch nước natri hydroxit 0,2 mol/L và nước để điều chỉnh đến 1000ml.

Phương pháp đo độ tan trong chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong được điện Nhật Bản

Sử dụng sắc ký lỏng hiệu năng cao, mỗi dung dịch mẫu cho một đường cong hiệu chuẩn và dung dịch mẫu cho độ tan được đo hai lần để tính diện tích trung bình.

Phương pháp tính độ tan trong chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong được điện Nhật Bản

Dựa trên diện tích trung bình thu được ở phương pháp trên, công thức sau được sử dụng để tính toán độ hòa tan.

Độ tan trong chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong được điện Nhật Bản (µg/mL) = $((P \times 2) / S) \times 100$

S: Diện tích trung bình dung dịch mẫu của đường cong hiệu chuẩn

P: Diện tích trung bình dung dịch mẫu để đo độ tan

Độ tan ($\mu\text{g/mL}$) trong chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong dược điển Nhật Bản thu được trong thử nghiệm này của hợp chất sáng chế (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion và hợp chất tham khảo, ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, được thể hiện ở Bảng 2.

[Bảng 2]

	Độ hòa tan ($\mu\text{g/mL}$) của chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm gây rã trong dược điển Nhật Bản
(+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion	430
($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion	45

Qua thử nghiệm, hợp chất sáng chế có độ tan cao hơn đáng kể trong chất lỏng thứ 2 trong thử nghiệm phân hủy trong dược điển Nhật Bản so với raxemat của chúng. Hợp chất sáng tạo do đó rõ ràng có tính năng thuận lợi trong việc điều chế công thức.

Ví dụ thử nghiệm 6

Thử nghiệm độ tan trong các dung môi hữu cơ

Trong điều kiện nhiệt độ trong phòng, trong 0,5ml ống polypropylen, (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion và ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion được đo trước một lượng thích hợp được điều chế theo cách tương ứng. Trong mỗi ống, dung

môi (Propylen glycol (PG) hoặc butylen glycol (BG)) được thêm với lượng khác nhau, ví dụ: 10 lần, 20 lần hay 100 lần lượng hợp chất thử nghiệm, và khuấy với máy trộn xoáy. Với bộ làm sạch siêu âm dạng bàn đặt ở nhiệt độ 37°C, xử lý siêu âm trong 10 phút; sau khi làm nóng một giờ trong buồng nhiệt, từng ống được giữ nguyên trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Các dung dịch thử nghiệm được quan sát bằng mắt để đánh giá các trạng thái theo các tiêu chí xác định được đưa ra dưới đây.

Tiêu chí xác định độ tan trong các dung môi

Tiêu chí xác định gồm hai loại sau:

"Tan": hợp chất thử nghiệm được hòa tan; không có các chất không tan được xác nhận bằng cách quan sát trực quan.

"Không tan": hợp chất thử nghiệm không tan; chất không tan được xác nhận bằng cách quan sát trực quan

Bảng 3 thể hiện kết quả của thử nghiệm độ tan của hợp chất sáng chế (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion và hợp chất tham khảo, (±)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion.

[Bảng 3]

Lượng hợp chất thử nghiệm bổ sung		(+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion	(±)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion
PG	100 lần	Tan	Tan
	20 lần	Tan	Không tan
	10 lần	Tan	Không tan
BG	100 lần	Tan	Tan
	20 lần	Tan	Không tan

Qua thử nghiệm nêu trên, hợp chất sáng chế được xác nhận có độ tan cao hơn trong các dung môi glycol so với raxemat của nó. Hợp chất sáng chế

do đó rõ ràng có đặc tính thuận lợi trong việc điều chế chế phẩm bằng cách sử dụng chất nền tan trong nước.

Các kết quả thu được trong ví dụ thử nghiệm 5 và 6 cho thấy rõ ràng rằng hợp chất sáng chế có độ tan rất cao trong chất nền tan trong nước hoặc nước được sử dụng rộng rãi làm chất nền. Hợp chất sáng chế có độ tan cao như vậy và đạt được sự điều chế dễ dàng các chế phẩm dùng bên ngoài khi thành phần hoạt tính có nồng độ cao như 1% trọng lượng/trọng lượng hoặc nhiều hơn hợp chất làm thành phần hoạt tính.

Giải thích được đưa ra dưới đây trong các ví dụ pha chế các được phẩm có thành phần hoạt tính là hợp chất sáng chế với các ví dụ cụ thể. Nguyên liệu, số lượng sử dụng và các tỷ lệ, các phương pháp, các quy trình và tương tự trong các ví dụ pha chế sau đây có thể được thay đổi miễn là mục đích của sáng chế được giữ nguyên. Phạm vi của sáng chế do đó không thể bị coi là bị hạn chế bởi các ví dụ cụ thể sau đây.

Ví dụ pha chế 1 (1% trọng lượng/trọng lượng thuốc mỡ)

Liều lượng trong 1g thuốc mỡ

(1) Hợp chất (+)-(I) 10mg

(2) Dầu mỡ trắng 990mg

(1) và (2) được nung trộn cùng với gia nhiệt trong nước (80°C), và được khuấy đều cùng làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Ví dụ pha chế 2 (3% trọng lượng/trọng lượng thuốc mỡ)

Liều lượng trong 1g thuốc mỡ

(1) Hợp chất (+)-(I) 30mg

(2) Dầu mỡ trắng 970mg

(1) và (2) được nung trộn cùng với gia nhiệt trong nước (80°C), và

được khuấy đều cùng với làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Ví dụ pha chế 3 (1% trọng lượng/trọng lượng kem)

Liều lượng trong 1g kem

- (1) Hợp chất (+)-(I) 10mg
- (2) Dầu mỡ trắng 250mg
- (3) Stearyl alcohol 200mg
- (4) Propylen glycol 120mg
- (5) Polyoxyetylen dầu thầu dầu hydro hóa 40mg
- (6) Glyxerin monostearat 10mg
- (7) Metyl paraoxybenzoat 1mg
- (8) Propyl paraoxybenzoat 1mg
- (9) Nước tinh chế: lượng thích hợp

(1) đến (3) được nung trộn cùng với gia nhiệt trong nước (80°C), được thêm dung dịch được gia nhiệt đến 80°C trong đó (4) đến (8) được hòa tan trước trong nước tinh chế và được khuấy đều cùng với làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Ví dụ pha chế 4 (3% trọng lượng/trọng lượng kem)

Liều lượng trong 1g kem

- (1) Hợp chất (+)-(I) 30mg
- (2) Dầu mỡ trắng 250mg
- (3) Rượu stearyl 200mg
- (4) Propylen glycol 120mg

(5) Polyoxyetylen dầu thầu dầu hydro hóa 40mg

(6) Glyxerin monostearat 10mg

(7) Metyl paraoxybenzoat 1mg

(8) Propyl paraoxybenzoat 1mg

(9) Nước tinh chế: lượng thích hợp

(1) đến (3) được nung trộn trong nước (80°C), được thêm dung dịch được gia nhiệt đến 80°C trong đó (4) đến (8) được hòa tan trước trong nước tinh chế và được khuấy đều cùng với làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Ví dụ pha chế 5 (viên nén)

Liều lượng trong 1g viên nén

(1) Hợp chất (+)-(I) 100mg

(2) Lactoza 308mg

(3) Carboxymetyl-xenluloza canxi 30mg

(4) Hydroxymetyl-xenluloza 7mg

(5) Magie stearat 5mg

(6) Xenluloza vi tinh thể 50mg

(1) đến (4) và (6) được trộn đều, và quy trình nghiền và rây được tiến hành. (5) được thêm vào và trộn cùng, sau đó được ép để điều chế.

Ví dụ pha chế 6 (1% trọng lượng/trọng lượng chất lỏng)

Liều lượng trong 1g chất lỏng

(1) Hợp chất (+)-(I) 10mg

(2) Etanol 500 μ g

(3) Glyxerin 200 μ g

(4) Propylen glycol 200 μ g

(5) Nước tinh chế: lượng thích hợp

Khuấy (1) đến (5) để điều chế.

Ví dụ pha chế 7 (3% trọng lượng/trọng lượng chất lỏng)

Liều lượng trong 1g chất lỏng

(1) Hợp chất (+)-(I) 30mg

(2) Etanol 500 μ g

(3) Glyxerin 200 μ g

(4) Propylen glycol 200 μ g

(5) Nước tinh chế: lượng thích hợp

Khuấy (1) đến (5) để điều chế.

Ví dụ pha chế 8 (1% trọng lượng/trọng lượng thuốc xức dạng nhũ tương)

Liều lượng trong 1g thuốc xức

(1) Hợp chất (+)-(I) 10mg

(2) Dầu mỡ trắng 250mg

(3) Stearyl alcohol 50mg

(4) Propylen glycol 120mg

(5) Polyoxyetylen dầu thầu dầu hydro hóa 40mg

(6) Glyxerin monostearat 10mg

(7) Metyl paraoxybenzoat 1mg

(8) Propyl paraoxybenzoat 1mg

(9) Nước tinh chế: lượng thích hợp

(1) đến (3) được nung trộn trong nước (80°C), được thêm dung dịch gia nhiệt đến đến 80°C trong đó (4) đến (8) được hòa tan trước trong nước tinh chế và được khuấy đều cùng với làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Ví dụ pha chế 9 (3% trọng lượng/trọng lượng thuốc xúc dạng nhũ tương)

Liều lượng trong 1g thuốc xúc

(1) Hợp chất (+)-(I) 30mg

(2) Dầu mỡ trắng 250mg

(3) Stearyl alcohol 50mg

(4) Propylen glycol 120mg

(5) Polyoxyetylen dầu thầu dầu hydro hóa 40mg

(6) Glyxerin monostearat 10mg

(7) Metyl paraoxybenzoat 1mg

(8) Propyl paraoxybenzoat 1mg

(9) Nước tinh chế: lượng thích hợp

(1) đến (3) được nung trộn cùng với gia nhiệt trong nước (80°C), được thêm dung dịch được gia nhiệt đến 80°C trong đó (4) đến (8) được hòa tan trước trong nước tinh chế và được khuấy đều cùng với làm lạnh cho đến khi hóa cứng để điều chế.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

(+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, hoặc muối của nó có khả năng ức chế TACE có chọn lọc vượt trội, vì vậy nó hữu ích làm thành phần hoạt tính trong dược phẩm để điều trị và phòng các bệnh liên quan đến TNF- α .

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó.
2. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.
3. Dược phẩm theo điểm 2, trong đó 95% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
4. Dược phẩm theo điểm 3, trong đó 98% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
5. Dược phẩm theo điểm 4, trong đó 99,5% trọng lượng hoặc nhiều hơn trên tổng lượng 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó trong dược phẩm là chất đồng phân (+).
6. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 2 đến 5, trong đó dược phẩm này là chế phẩm dùng ngoài da.
7. Dược phẩm theo điểm 6, trong đó chế phẩm dùng ngoài da được chọn từ nhóm bao gồm thuốc xức, kem, chất lỏng và thuốc mỡ.
8. Dược phẩm theo điểm 6 hoặc 7 chứa các glycol được dụng.
9. Dược phẩm theo điểm 8, trong đó các glycol được dụng là propylen glycol hoặc butylen glycol.
10. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 6 đến 9 chứa nước làm thành phần.

11. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 6 đến 10, chứa 1% trọng lượng/trọng lượng hoặc nhiều hơn (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

12. Dược phẩm theo điểm 11, chứa 3% trọng lượng/trọng lượng hoặc nhiều hơn (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion hoặc muối của nó làm thành phần hoạt tính.

13. Dược phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ điểm 2 đến 12, trong đó dược phẩm này là dược phẩm dùng qua da.

14. Phương pháp điều chế hợp chất (+)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, phương pháp này bao gồm bước phân giải quang học raxemat ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion bằng phép sắc ký sử dụng cột để tách quang học.

15. Hợp chất (+)-5-(3,4-Diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion thu được bằng cách phân giải quang học raxemat ($\pm$)-5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion bằng phép sắc ký sử dụng cột để tách quang học.

16. Hỗn hợp gồm chất đồng phân (+) và (-) của hợp chất 5-(3,4-diflophenyl)-5-[(3-metyl-2-oxopyridin-1(2H)-yl)metyl]imidazolidin-2,4-dion, trong đó chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 90% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).

17. Hỗn hợp theo điểm 16, trong đó chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 96% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).

18. Hỗn hợp theo điểm 16 hoặc 17, trong đó chất đồng phân (+) có độ tinh khiết quang học 99% hoặc cao hơn so với chất đồng phân (-).