



(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)



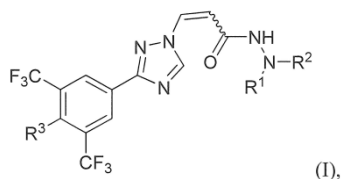
1-0024822

(51)⁷ C07D 249/08; A61K 31/497; A61K 31/498; A61K 31/506; A61K 31/5377; A61K 31/55; C07D 409/12; A61P 29/00; A61P 31/12; A61P 35/00; C07D 401/12; C07D 403/12; A61K 31/4439; A61P 27/02 (13) B

(21) 1-2014-00622 (22) 26/07/2012
(86) PCT/US2012/048319 26/07/2012 (87) WO2013/019548 07/02/2013
(30) 61/513,428 29/07/2011 US; 61/513,432 29/07/2011 US; 61/610,178 13/03/2012 US; 61/653,588 31/05/2012 US; 61/654,651 01/06/2012 US
(45) 25/08/2020 389 (43) 26/05/2014 314A
(73) KARYOPHARM THERAPEUTICS, INC (US)
2 Mercer Road, Natick, MA 01760, United States of America
(72) SANDANAYAKA Vincent, P. (US); SHACHAM, Sharon (IL); SHECHTER, Sharon (IL); MCCAULEY, Dilara (US).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẤT ĐIỀU BIẾN VẬN CHUYỂN NHÂN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHẤT ĐIỀU BIẾN NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất điều biến vận chuyển nhân, ví dụ, chất ức chế duy trì vùng nhiễm sắc thể 1 (CRM1) và cụ thể hơn là đến hợp chất có công thức cấu trúc I:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó các biến có ý nghĩa như được mô tả trong bản mô tả. Sáng chế cũng mô tả quy trình tổng hợp hợp chất có công thức cấu trúc I, hoặc muối được dụng của nó; và dược phẩm chứa hợp chất này, để sử dụng, ví dụ, trong điều trị, điều biến và/hoặc ngăn ngừa các tình trạng bệnh lý liên quan đến hoạt tính của CRM1.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất điều biến vận chuyển nhân, ví dụ, chất ức chế duy trì vùng nhiễm sắc thể 1 (Chromosomal Region Maintenance 1- CRM1) và cụ thể hơn là đến hợp chất có công thức cấu trúc I hoặc muối được dụng của nó. Sáng chế cũng đề xuất quy trình điều chế hợp chất có công thức cấu trúc I, hoặc muối được dụng hoặc được phẩm chứa hợp chất này, để sử dụng, ví dụ, trong điều trị, điều biến và/hoặc phòng ngừa các tình trạng bệnh lý liên quan đến hoạt tính của CRM1.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các tế bào từ khối u ác tính dạng rắn và khối u máu ác tính cơ bản nhất của người thể hiện sự định vị tế bào bất thường trong tế bào của nhiều protein gây bệnh ung thư, protein ngăn chặn khối u, và chất điều chỉnh chu kỳ tế bào (Cronshaw et al. 2004, Falini et al 2006). Ví dụ, một số đột biến p53 dẫn đến sự định vị trong tế bào chất mà không phải trong nhân. Điều này dẫn đến sự mất điều hòa sinh trưởng bình thường, mặc dù chức năng ngăn chặn khối u vẫn còn nguyên vẹn. Trong các khối u khác, p53 kiểu dại bị càng hóa trong tế bào chất hoặc bị thoái biến một cách nhanh chóng, một lần nữa dẫn đến sự mất chức năng ngăn chặn của nó. Việc khôi phục sự định vị trong nhân thích hợp của protein p53 chức năng có thể làm bình thường hóa một số đặc tính của tế bào khối u (Cai et al. 2008; Hoshino et al. 2008; Lain et al. 1999a; Lain et al. 1999b; Smart et al. 1999), có thể khôi phục độ nhạy của tế bào ung thư với các chất gây hại ADN (Cai et al. 2008), và có thể dẫn đến sự thoái biến của khối u được thiết lập (Sharpless & DePinho 2007, Xue et al. 2007). Các dữ liệu tương tự đã thu được đối với protein ngăn chặn khối u khác như forkhead (Turner and Sullivan 2008) và c-Abl (Vignari và Wang 2001). Ngoài ra, sự định vị bất thường của vài protein ngăn chặn khối u và điều hòa sinh trưởng có thể liên quan đến sự phát sinh các bệnh tự miễn dịch (Davis 2007, Nakahara 2009). Sự ức chế CRM1 có thể tạo ra lợi ích quan tâm một cách đặc biệt trong các hội chứng bệnh ung thư trong gia đình (ví dụ, hội chứng Li-Fraumeni do mất một p53 alen, hội chứng bệnh ung thư BRCA1 hoặc 2), trong đó protein ngăn chặn khối u đặc hiệu (TSP) bị mất hoặc rối loạn chức năng và trong đó, sự gia tăng mức TSP nhờ sử dụng

qua đường nội hấp (hoặc khu trú) các chất ức chế CRM1 có thể hỗ trợ sự khôi phục chức năng ngăn chặn khối u bình thường.

Các protein và ARN đặc hiệu được mang vào và đưa ra khỏi nhân nhờ các phân tử vận chuyển chuyên dụng, mà được phân loại là các importin nếu chúng vận chuyển các phân tử vào nhân, và exportin nếu chúng vận chuyển các phân tử ra khỏi nhân (Terry et al. 2007; Sorokin et al. 2007). Protein mà được vận chuyển vào hoặc ra khỏi nhân chứa các trình tự nhập vào/định vị (NLS) hoặc xuất (NES) ra khỏi nhân mà cho phép chúng tương tác với các chất vận chuyển có liên quan. Chất duy trì vùng nhiễm sắc thể 1 (Crm1 hoặc CRM1), mà cũng được gọi là exportin-1 hoặc Xpo1, là exportin cơ bản.

Sự biểu hiện quá mức của Crm1 đã được thông báo trong vài khối u, bao gồm bệnh ung thư buồng trứng ở người (Noske et al. 2008), bệnh ung thư cổ tử cung (van der Watt et al. 2009), bệnh ung thư tuyến tụy (Huang et al. 2009), bệnh ung thư biểu mô tế bào gan (Pascale et al. 2005) và sácôm xương (Yao et al. 2009) và có tương quan một cách độc lập với các kết quả lâm sàng kém trong các loại khối u này.

Sự ức chế của Crm1 kìm hãm sự di cư của protein ngăn chặn khối u và/hoặc chất điều hòa sinh trưởng như p53, c-Abl, p21, p27, pRB, BRCA1, Ikb, ICp27, E2F4, KLF5, YAP1, ZAP, KLF5, HDAC4, HDAC5 hoặc protein forkhead (ví dụ, FOXO3a) ra khỏi nhân mà liên quan đến sự biểu hiện của gen, sự tăng sinh tế bào, sự tạo mạch và di truyền biểu sinh. Các chất ức chế Crm1 đã cho thấy gây cảm ứng chết tế bào theo chương trình ở tế bào ung thư thậm chí với sự có mặt của quá trình hoạt hóa các tín hiệu gây ung thư hoặc kích thích sự sinh trưởng, trong khi chống lại các tế bào bình thường (không được biến nạp). Hầu hết các nghiên cứu về sự ức chế Crm1 đã sử dụng sản phẩm chất ức chế Crm1 tự nhiên Leptomycin B (LMB). Tự bản thân LMB có độc tính ở mức cao đối với tế bào khối u, nhưng được dung nạp kém với độc tố dạ dày-ruột rõ rệt ở động vật (Roberts et al. 1986) và con người (Newlands et al. 1996). Việc tạo dẫn xuất của LMB để cải thiện các đặc tính tương tự được chất tạo ra các hợp chất mà duy trì được hoạt tính kháng khối u và được dung nạp tốt hơn ở các mô hình khối u động vật (Yang et al. 2007, Yang et al. 2008, Mutka et al. 2009). Do đó, các chất ức chế xuất khẩu ra khỏi nhân có thể có tác dụng có lợi ở các rối loạn do khối u và tăng sinh tế bào khác.

Ngoài protein ngăn chặn khối u, Crm1 cũng xuất ra vài protein then chốt mà có liên quan đến nhiều quy trình viêm. Các protein này bao gồm I κ B, NF- κ B, Cox-2, RXR α , Commd1, HIF1, HMGB1, FOXO, FOXP và các protein khác. Họ các chất hoạt hóa phiên mã yếu tố nhân kappa B (NF- κ B/rel), được đặt tên như vậy vì phát hiện ra rằng nó điều khiển sự biểu hiện của gen kappa globulin miễn dịch, điều hòa sự biểu hiện của ARN thông tin của nhiều gen liên quan đến viêm, tăng sinh tế bào, sự miễn dịch và sự sống sót của tế bào. Trong các điều kiện cơ bản, chất ức chế protein của NF- κ B, được gọi là I κ B, gắn kết với NF- κ B trong nhân và phức hệ I κ B-NF- κ B tạo ra chức năng phiên mã NF- κ B bất hoạt. Trong việc đáp ứng với kích thích viêm, I κ B phân ly từ phức hệ I κ B-NF- κ B, mà giải phóng NF- κ B và không làm giảm hoạt tính phiên mã tiềm năng của nó. Nhiều tín hiệu mà hoạt hóa NF- κ B bằng cách tạo đích I κ B đối với sự phân giải protein (phosphoryl hóa của I κ B làm cho nó “được đánh dấu” đối với sự ubiquitin hóa và sau đó là sự phân giải protein). Phức hệ I κ Ba-NF- κ B của nhân có thể được xuất vào tế bào chất nhờ Crm1 trong đó nó phân ly và NF- κ B có thể được tái hoạt hóa. I κ B được ubiquitin hóa cũng có thể phân ly từ phức hệ NF- κ B, khôi phục được hoạt tính phiên mã NF- κ B. Sự ức chế của Crm1 gây xuất vào bạch cầu trung tính của người và các tế bào tương tự đại thực bào (U937) nhờ LMB không chỉ dẫn đến sự tích tụ bất hoạt về mặt phiên mã, phức hệ I κ Ba-NF- κ B của nhân mà còn ngăn ngừa sự hoạt hóa ban đầu của NF- κ B thậm chí ngay khi kích thích tế bào (Ghosh 2008, Huang 2000). Trong nghiên cứu khác, việc điều trị bằng LMB ức chế IL-1 β cảm ứng sự gắn kết NF- κ B ADN (bước thứ nhất trong sự hoạt hóa phiên mã NF- κ B), sự biểu hiện IL-8 và sự biểu hiện phân tử bám dính nội bào trong tế bào nội mô vi mạch phổi (Walsh 2008). COMMD1 là chất ức chế nhân khác của NF- κ B và hoạt tính phiên mã yếu tố có thể gây giảm oxy huyết 1 (HIF1). Việc kìm hãm sự xuất ra khỏi nhân của COMMD1 nhờ ức chế Crm1 dẫn đến sự ức chế gia tăng hoạt tính phiên mã NF- κ B và HIF1 (Muller 2009).

Crm1 cũng qua trung gian vận chuyển retinoit X thụ thể α (RXR α). RXR α được biểu hiện ở mức cao trong gan và đóng vai trò trung tâm trong sự điều chỉnh axit mật, cholesterol, axit béo, steroid và chất chuyển hóa dị sinh và nội cân bằng. Trong bệnh viêm gan, mức RXR α trong nhân được giảm một cách đáng kể, chủ yếu là do sự xuất của RXR α ra khỏi nhân qua trung gian viêm bởi Crm1. LMB có khả năng ngăn ngừa sự

gia tăng trong tế bào chất mức RXR α gây cảm ứng bởi IL-1 β ở tế bào có nguồn gốc từ gan người (Zimmerman 2006).

Vai trò của việc xuất khẩu trong nhân qua trung gian Crm1 trong dẫn truyền tín hiệu NF-kB, HIF-1 và RXR α gợi ý rằng việc kìm hãm xuất khẩu trong nhân có thể có lợi theo cách có tiềm năng trong nhiều quy trình viêm trong khắp các mô và cơ quan bao gồm hệ mạch (viêm mạch, viêm động mạch, đau cơ dạng thấp, chứng xơ vữa động mạch), bệnh ngoài da (xem dưới đây), bệnh thấp khớp (bệnh thấp khớp và chứng viêm khớp có liên quan, chứng viêm khớp vảy nến, bệnh khớp-đốt sống, bệnh khớp dạng tinh thể, luput ban đỏ hệ thống, bệnh mô liên kết hỗn hợp, hội chứng viêm cơ, viêm da cơ, viêm cơ thể vùi, bệnh mô liên kết không biệt hóa, hội chứng Sjogren, bệnh cứng da và hội chứng gỏi chông, v.v).

Sự ức chế CRM1 tác động đến sự biểu hiện của gen bằng cách ức chế/hoạt hóa một loạt các yếu tố phiên mã tương tự ICp27, E2F4, KLF5, YAP1, và ZAP.

Sự ức chế Crm1 có các tác dụng điều trị tiềm năng ở nhiều hội chứng ngoài da bao gồm các bệnh viêm da (dị ứng, viêm da dị ứng, viêm da do hóa chất, bệnh vảy nến), tổn hại do ánh sáng mặt trời (tổn hại do tia cực tím (UV)), và các bệnh lây nhiễm. Sự ức chế CRM1, được nghiên cứu tốt nhất bằng LMB, thể hiện tác dụng tối thiểu đối với tế bào sừng thông thường, và tạo ra hoạt tính chống viêm đối với tế bào sừng được cho vào tia cực tím, TNF α , hoặc các kích thích viêm khác (Kobayashi & Shinkai 2005, Kannan & Jaiswal 2006). Sự ức chế Crm1 cũng điều chỉnh tăng hoạt tính NRF2 (yếu tố liên quan đến yếu tố erythroit nhân 2), mà bảo vệ tế bào sừng (Schafer et al. 2010, Kannan & Jaiswal 2006) và các loại tế bào khác (Wang et al. 2009) khỏi bị tổn hại do oxy hóa. LMB gây cảm ứng chết tế bào theo chương trình ở tế bào sừng bị nhiễm các chủng papillomavirut (HPV) của người gây bệnh ung thư như HPV16, nhưng không có tác dụng ở tế bào sừng không bị nhiễm (Jolly et al. 2009).

Crm1 cũng qua trung gian vận chuyển các protein bảo vệ thần kinh then chốt mà cũng hữu ích đối với bệnh thoái hóa thần kinh bao gồm bệnh Parkinson (PD), bệnh Alzheimer, và bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS). Ví dụ, bằng cách (1) ép sự duy trì nhân của các yếu tố điều hòa bảo vệ thần kinh như NRF2 (Wang 2009), FOXA2

(Kittappa et al. 2007), bằng cách đổ ở tế bào thần kinh, và/hoặc (2) bằng cách ức chế hoạt tính phiên mã NF κ B bằng cách chelat hóa I κ B vào nhân trong tế bào đệm, sự ức chế Crm1 có thể làm chậm hoặc ngăn ngừa sự chết tế bào thần kinh được tìm thấy trong các rối loạn này. Cũng có bằng chứng liên kết sự tăng sinh tế bào đệm bất thường với sự bất thường về mức CRM1 hoặc chức năng CRM1 (Shen 2008).

Sự xuất khẩu nhân nguyên vẹn, chủ yếu qua trung gian qua CRM1, cũng cần thiết đối với sự đột biến nguyên vẹn của nhiều virus. Các virus trong đó sự xuất khẩu nhân, và/hoặc tự bản thân CRM1, có liên quan đến chu kỳ sống của chúng bao gồm virus suy giảm miễn dịch ở người (HIV), adenovirus, retrovirus typ 1 của khỉ, virus gây bệnhh Borna, bệnh cúm (các chủng thông thường như H1N1 và các chủng H5N1 ở chim), các virus gây bệnh viêm gan B (HBV) và C (HCV), papillomavirus của người (HPV), virus hỗn bào hô hấp (RSV), Dungee, Coronavirus hội chứng hô hấp nguy kịch cấp tính, virus gây bệnh sốt vàng, virus West Nile, virus gây rộp da (HSV), xytomegalovirus (CMV), và polyomavirus tế bào Merkel(MCV). (Bhuvanakantham 2010, Cohen 2010, Whittaker 1998). Sẽ được dự đoán rằng các lây nhiễm do virus bổ sung dựa trên việc xuất khẩu của nhân nguyên vẹn sẽ không được bảo đảm trong tương lai.

Protein HIV-1 Rev, mà di chuyển qua nhân và sợi thoi giữa nhân và tế bào chất, tạo thuận lợi cho việc xuất khẩu của các sản phẩm phiên mã HIV không được ghép và được ghép một cách đơn lẻ chứa ARN yếu tố đáp ứng Rev (RRE) bằng con đường xuất CRM1. Việc ức chế sự vận chuyển ARN qua trung gian Rev bằng cách sử dụng chất ức chế CRM1 như LMB hoặc PKF050-638 có thể làm ngừng quy trình phiên mã HIV-1, ức chế sự tạo ra virion HIV-1 mới, và nhờ đó làm giảm hàm lượng HIV-1 (Pollard 1998, Daelemans 2002).

Dengue virus (DENV) là tác nhân gây bệnh nhiễm virus do động vật chân đốt mang virus thông thường, bệnh sốt Dengue (DF), và bệnh sốt xuất huyết chảy máu Dengue nguy kịch hơn của nó và gây chết tiềm tàng (DHF). DHF xuất hiện là kết quả của đáp ứng viêm quá mức đối với DENV. NS5 là protein được bảo tồn lớn nhất và nhiều nhất của DENV. CRM1 điều hòa sự vận chuyển của NS5 từ nhân tới tế bào chất, trong đó hầu hết trong số các chức năng NS5 được qua trung gian. Sự ức chế xuất khẩu

qua trung gian CRM1 của NS5 dẫn đến động học thay đổi của việc tạo ra virus và làm giảm sự cảm ứng của chemokin viêm interleukin-8 (IL-8), trình diện con đường mới đối với việc điều trị các bệnh do DENV gây ra và các flavivirus quan trọng về mặt y học khác bao gồm virus viêm gan C (Rawlinson 2009).

Các protein gắn kết ARN được mã hóa bởi virus khác mà sử dụng CRM1 để xuất ra khỏi nhân bao gồm protein vỏ HSV typ 1 (VP13/14, hoặc hUL47), CMV protein pp65 của người, SARS Coronavirut ORF 3b Protein, và RSV nền (M) protein (Williams 2008, Sanchez 2007, Freundt 2009, Ghildyal 2009).

Thứ vị là, nhiều trong số các virus này liên quan đến các loại bệnh ung thư cụ thể ở người bao gồm bệnh ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) do sự lây nhiễm HBV hoặc HCV mạn tính, bệnh ung thư cổ tử cung do HPV, và ung thư biểu mô tế bào Merkel kết hợp với MCV. Do đó, các chất ức chế CRM1 có thể có các tác dụng có lợi đối với cả quy trình lây nhiễm virus cũng như đối với quy trình biến nạp gây bệnh ung thư do các virus này.

CRM1 kiểm soát sự định vị nhân và do đó hoạt tính của nhiều enzym chuyển hóa ADN bao gồm histon deacetylaza (HDAC), histon acetyltransferaza (HAT), và histon methyltransferaza (HMT). Sự ngăn chặn bệnh cơ tim phì đại bằng chất ức chế CRM1 không thuận nghịch đã được chứng minh và được cho là liên kết với sự duy trì nhân (và hoạt hóa) của HDAC 5, enzym đã biết có tác dụng ngăn chặn chương trình di truyền phì đại (Monovich et al. 2009). Do đó, sự ức chế CRM1 có thể có tác dụng có lợi trong các hội chứng phì đại, bao gồm một số dạng suy tim do xung huyết và bệnh cơ tim phì đại.

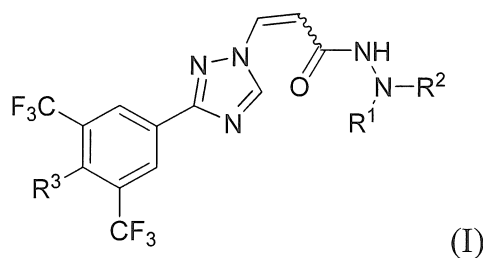
CRM1 cũng đã được liên kết với các rối loạn khác. Rối loạn Leber, rối loạn di truyền được đặc trưng bởi sự thoái hóa tế bào hạch võng mạc và giảm khả năng nhìn, có liên quan đến sự bất hoạt chuyển mạch CRM1 (Gupta N 2008). Cũng có bằng chứng cho thấy có sự liên quan giữa rối loạn thoái hóa thần kinh với các bất thường trong vận chuyển nhân.

Tuy nhiên, cho đến nay, các chất ức chế Crm1 giống được chất phân tử nhỏ để sử dụng in vitro và in vivo là không phổ biến.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế nhằm đề xuất hợp chất, hoặc muối được dụng của nó, hữu ích làm chất điều biến vận chuyển nhân, dược phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất và dược phẩm này là hữu dụng trong việc điều trị các rối loạn khác nhau, như các rối loạn liên quan đến các đáp ứng tế bào bất thường gây ra do quá trình vận chuyển nhân không thích hợp.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 được chọn từ hydro và methyl;

R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl, và quinoxalin-2-yl, pyrimidin-4-yl, 1,1-dioxotetrahydrothiophen-3-yl và xyclopropyl, trong đó R^2 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ methyl và halogen; hoặc

R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử ở giữa chúng tạo thành 4-hydroxypiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, azepan-1-yl, 4-benzylpiperazin-1-yl, 4-ethylpiperazin-1-yl, 3-hydroxyazetidin-1-yl, hoặc morpholin-4-yl;

R^3 được chọn từ hydro và halo; và

~ là liên kết đơn trong đó liên kết đôi cacbon-cacbon được liên kết với nó là có cấu hình (*E*) hoặc (*Z*).

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm chứa hợp chất nêu trên, hoặc muối được dụng của nó, và chất mang được dụng.

Phần mô tả sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị rối loạn kết hợp với hoạt tính CRM1, phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị dùng lượng hữu

hiệu về mặt điều trị của hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó, hoặc được phẩm chứa hợp theo sáng chế, hoặc muối được dụng của nó.

Phần mô tả này cũng mô tả việc sử dụng hợp chất theo sáng chế để điều trị rối loạn liên quan đến hoạt tính của CRM1 ở đối tượng.

Phần mô tả này cũng mô tả việc sử dụng hợp chất theo sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị rối loạn liên quan đến hoạt tính của CRM1 ở đối tượng.

Các chất điều biến vận chuyển nhân của sáng chế, và muối được dụng và/hoặc được phẩm của nó, tạo ra hiệu quả tiếp xúc in vivo tuyệt vời như được đo bởi AUC ở chuột nhắt, chuột cống, chó và khỉ, trong khi thể hiện các mức thâm thấu trong não thấp. Do đó, các hợp chất theo sáng chế, và muối được dụng và/hoặc được phẩm của nó, là hữu ích để điều trị nhiều bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh, liên quan đến các đáp ứng tế bào bất thường được kích hoạt do quá trình vận chuyển nhân không thích hợp, như các bệnh, rối loạn hoặc tình trạng bệnh được mô tả trong bản mô tả sáng chế này. Các hợp chất được đề xuất bởi sáng chế cũng hữu ích để dung trong các nghiên cứu về sự điều biến vận chuyển nhân trong các hiện tượng sinh học và bệnh lý; nghiên cứu về các con đường truyền tín hiệu nội bào; và đánh giá so sánh các chất điều biến vận chuyển nhân.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1 là biểu đồ thể hiện thể tích khối u dưới dạng hàm theo thời gian và thể hiện tác dụng của Hợp chất I-3 đối với thể tích khối u ở mô hình chuột nhắt ghép khác loài ung thư vú âm tính bộ ba (TNBC).

FIG. 2A là hình ảnh thẩm tách Western thể hiện hiệu quả của các nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 đối với CRM1 và protein đánh dấu gây chết tế bào theo chương trình ở tế bào MDA-MB-468 TNBC.

FIG. 2B là hình ảnh thẩm tách Western thể hiện hiệu quả của các nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 đối với CRM1 và protein đánh dấu gây chết tế bào theo chương trình ở tế bào DU4475 luminal BC.

FIG. 2C là hình ảnh thẩm tách Western thể hiện hiệu quả của các nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 đối với CRM1 và protein đánh dấu gây chết tế bào theo chương trình ở tế bào HS578T TNBC.

FIG. 3 là các hình ảnh thẩm tách Western thể hiện hiệu quả của các nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 đối với protein chống gây chết tế bào theo chương trình và chu kỳ tế bào ở các dòng tế bào MDA-MB-468 và HS578T TNBC.

FIG. 4 là biểu đồ về thể trọng trung bình đối theo thời gian trong các ngày từ 0 đến 12 ở chuột đực mắc chứng viêm khớp BALB/c được gây ra bởi kháng thể được trải qua quá trình điều trị được chỉ định.

FIG.5 là đồ thị về tổng điểm số viêm khớp mạn tính trung bình ở chân đối theo thời gian trong các ngày từ 0 đến 12 ở chuột đực mắc chứng viêm khớp BALB/c cảm ứng kháng thể được trải qua quá trình điều trị được chỉ định.

FIG. 6 là biểu đồ dạng cột của việc tính điểm đối với độ dày tai trung bình, sự tạo thang và tạo nếp gấp được xác định từ ngày từ 0 đến 7 ở chuột mắc bệnh vảy nến giống cái BALB/c cảm ứng PMA được trải qua quá trình điều trị được chỉ định.

FIG.7 là bộ biểu đồ thể hiện sự ưu tiên đối với đồ vật của chuột được điều trị như được chỉ ra trong mô hình nhận biết đồ vật mới.

FIG. 8A là bộ biểu đồ thể hiện sự hấp thu thức ăn lũy tích và trung bình theo thời gian ở chuột béo phì và chuột Zucker gây được điều trị như được chỉ định.

FIG. 8B là bộ biểu đồ thể hiện thể trọng trung bình và theo phần trăm theo thời gian ở chuột béo phì và chuột Zucker gây được điều trị như được chỉ định.

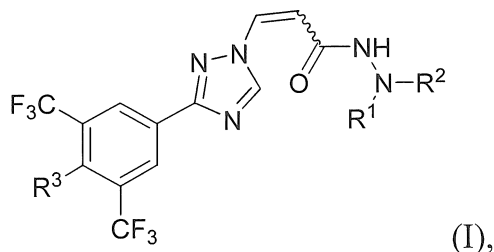
Mô tả chi tiết sáng chế

Các dấu hiệu mới của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này khi xem xét phần mô tả chi tiết dưới đây của sáng chế. Tuy nhiên, cần hiểu rằng phần mô tả chi tiết của sáng chế và các ví dụ cụ thể được thể hiện, trong khi việc thể hiện một số phương án của sáng chế, được đề xuất chỉ với mục đích minh họa do các thay đổi và biến đổi khác nhau trong phạm vi của sáng chế sẽ trở nên

rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này dựa vào phần mô tả chi tiết của sáng chế và các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Hợp chất theo sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 được chọn từ hydro và metyl;

R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl, và quinoxalin-2-yl, pyrimidin-4-yl, 1,1-dioxotetrahydrothiophen-3-yl và xyclopropyl, trong đó R^2 là tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ metyl và halogen; hoặc

R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử xen giữa chúng tạo ra 4-hydroxypiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, azepan-1-yl, 4-benzylpiperazin-1-yl, 4-ethylpiperazin-1-yl, 3-hydroxyazetidin-1-yl, hoặc morpholin-4-yl;

R^3 được chọn từ hydro và halo; và

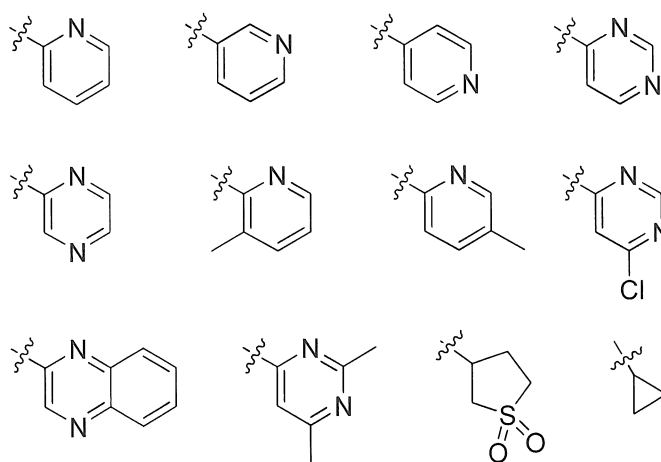
~ là liên kết đơn trong đó liên kết đôi cacbon-cacbon được gắn vào đó có cấu hình (E)- hoặc (Z).

Nhìn chung, như được mô tả trên đây, R^1 được chọn từ hydro và metyl. Theo một số phương án, R^1 là hydro. Theo một số phương án, R^1 là metyl.

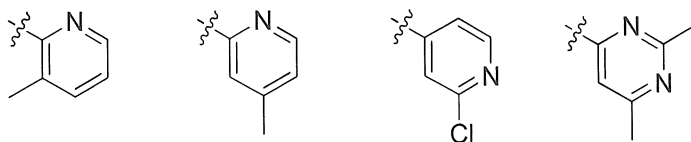
Nhìn chung, như được mô tả trên đây, R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl, quinoxalin-2-yl, pyrimidin-4-yl, 1,1-dioxotetrahydrothiophen-3-yl và xyclopropyl, trong đó R^2 là tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ metyl và halogen. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là pyridin-2-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là pyridin-

3-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là pyridin-4-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là pyrazin-2-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là pyrimidin-4-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là quinoxalin-2-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl và pyridin-4-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl và pyrimidin-4-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl và pyrimidin-4-yl.

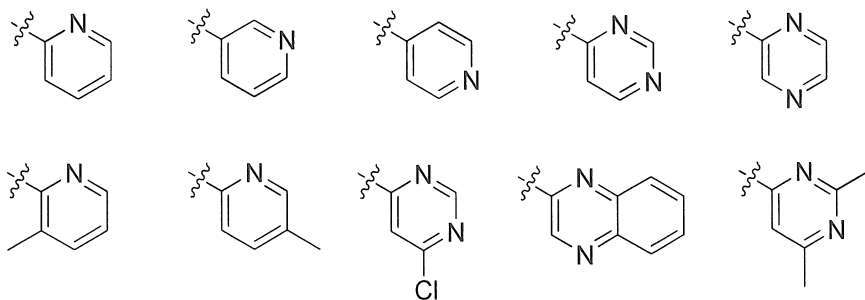
Theo một số phương án, R^2 được chọn từ:



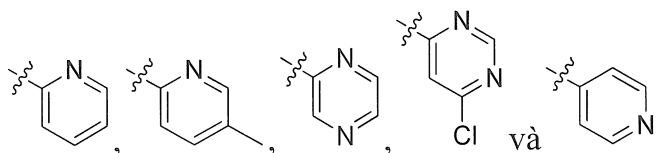
Theo một số phương án về công thức I, R^2 tùy ý được thế bằng phần tử thế đơn lẻ được chọn từ metyl và clo. Theo một số phương án về công thức I, R^2 là tùy ý được thế bằng nhóm metyl. Theo một số phương án về công thức I, R^2 tùy ý được thế bằng nhóm clo. Theo một số phương án, R^2 được chọn từ:



Theo một số phương án, R^2 được chọn từ:



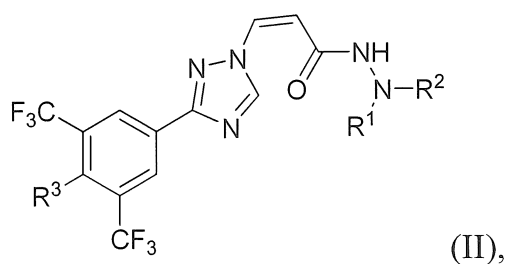
Theo một số phương án, R^2 được chọn từ:



Theo một số phương án về công thức I, R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử xen giữa chúng tạo ra 4-hydroxypiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, azepan-1-yl, 4-benzylpiperazin-1-yl, 4-ethylpiperazin-1-yl, 3-hydroxyazetidin-1-yl, hoặc morpholin-4-yl. Theo một số phương án về công thức I, R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử xen giữa chúng tạo ra 4-hydroxypiperidin-1-yl.

Nhìn chung, như được mô tả trên đây, R^3 được chọn từ hydro và halogen. Theo một số phương án, R^3 là hydro. Theo một số phương án, R^3 là halogen (ví dụ, clo, brom, iot hoặc flo). Theo một số phương án này, R^3 là clo.

Nhìn chung, như được mô tả trên đây, liên kết đôi cacbon-cacbon ở giữa gốc triazol và gốc carbonyl là có cấu hình (E) hoặc cấu hình (Z). Theo một số phương án, liên kết đôi đó là có cấu hình (E). Theo một số phương án, liên kết đôi đó là có cấu hình (Z) và hợp chất có công thức II:



(II),

hoặc muối được dụng của nó, trong đó R^1 , R^2 và R^3 là như được xác định trên đây và được mô tả trong bản mô tả sáng chế này.

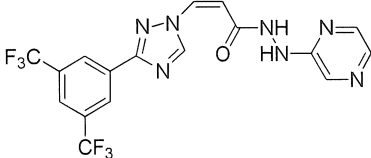
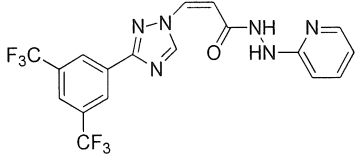
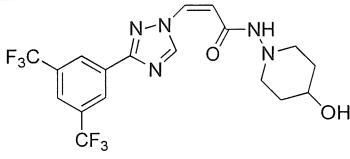
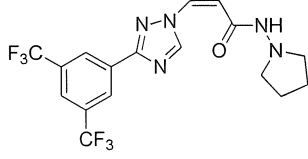
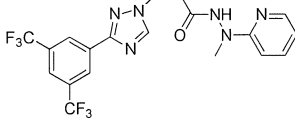
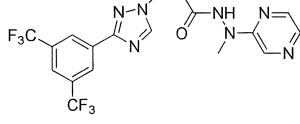
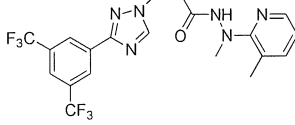
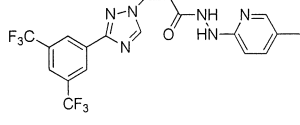
Phương án khác của sáng chế là hợp chất có công thức II, hoặc muối được dụng của nó, trong đó các giá trị và giá trị thay thế đối với các biến là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức I.

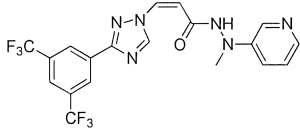
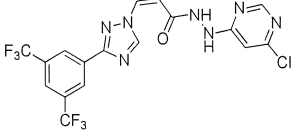
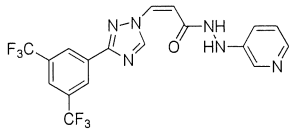
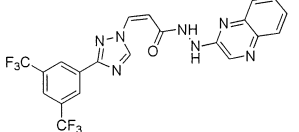
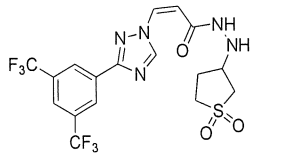
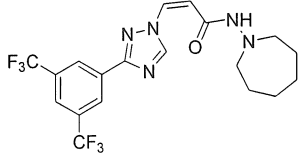
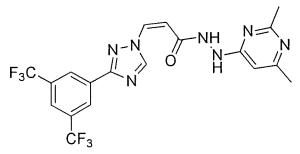
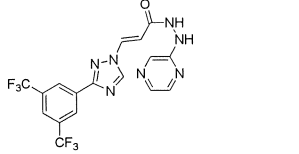
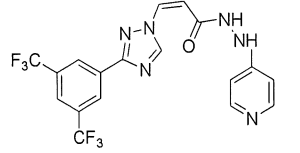
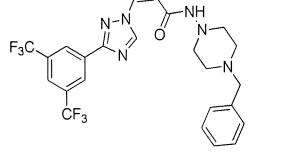
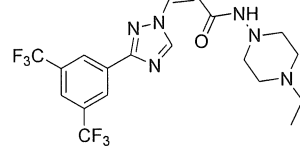
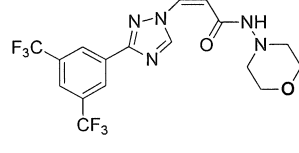
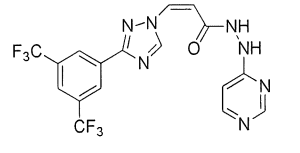
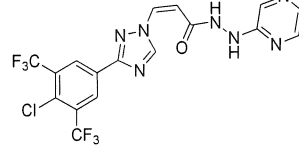
Theo khía cạnh thứ nhất của phương án khác này, R^1 là như được xác định trên đây; và R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl và pyrimidin-4-yl, trong đó R^2 tùy ý được thế bằng phần tử thế đơn lẻ được chọn từ methyl và clo; hoặc R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử xen giữa chúng tạo ra 4-hydroxypiperidin-1-yl.

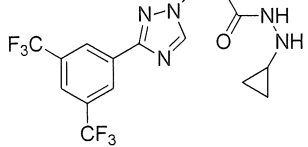
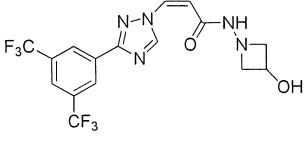
Theo khía cạnh cụ thể của khía cạnh thứ nhất, R^3 là hydro. Các giá trị và các giá trị thay thế đối với các biến còn lại là như được mô tả trên đây đối với hợp chất có công thức I, hoặc theo phương án khác, hoặc khía cạnh thứ nhất của nó.

Các hợp chất minh họa có công thức I là được nêu trong Bảng 1.

Bảng 1. Hợp chất minh họa có công thức I.

	
I-3	I-4
	
I-5	I-6
	
I-7	I-8
	
I-9	I-10

	
I-11	I-12
	
I-13	I-14
	
I-15	I-16
	
I-17	I-18
	
I-19	I-20
	
I-21	I-22
	
I-23	I-24

	
I-25	I-26

Theo một số phương án, hợp chất theo sáng chế được chọn từ hợp chất bất kỳ trong số các hợp chất từ I-3 đến I-26. Theo một khía cạnh của các phương án này, hợp chất được chọn từ các hợp chất I-3, I-4, I-5, I-7, I-8, I-10, I-12, I-18, I-19 và I-24. Theo khía cạnh cụ thể hơn, hợp chất theo sáng chế được chọn từ I-3 và I-4.

Dược động học (PK) đóng vai trò ngày càng cao trong việc phát hiện và phát triển dược chất. Dược động học là nghiên cứu định lượng theo dòng thời gian về độ hấp thu, phân bố, chuyển hóa và/hoặc bài tiết của dược chất. Khi dược chất được dùng, thì nó phân bố một cách nhanh chóng từ vị trí dùng vào hệ tuần hoàn của máu trong cơ thể. Một phương pháp đo phạm vi của sự phân bố của chất điều trị là diện tích dưới đường cong nồng độ-thời gian trong huyết tương (AUC), được tính toán đến nồng độ được đo cuối cùng (AUC_t) và được ngoại suy đến vô tận (AUC_{Inf}). Do đó, AUC là phép đo hữu ích để định lượng sự tiếp xúc với dược chất.

Nhìn chung, sự tiếp xúc của chất điều trị càng cao, thì tác dụng của chất này cũng càng lớn. Tuy nhiên, sự tiếp xúc ở mức cao của chất điều trị có thể có các tác dụng có hại đối với một số mô như não. Trong khi hàng rào máu não (BBB), mạng lưới bảo vệ gồm có các kết nối chặt chẽ giữa các tế bào màng trong, làm giới hạn sự khuếch tán của các phân tử ưa nước và/hoặc phân tử lớn, dược chất với AUC ở mức cao vẫn có khả năng thấm qua BBB và/hoặc dịch não tủy. Sự thấm này thường là không mong muốn và có thể dẫn đến các tác dụng phụ không mong muốn. Các nỗ lực phát hiện dược chất hiện nay được nhằm vào, riêng phần, sự cân bằng rõ rệt giữa việc làm tối đa sự tiếp xúc dược chất (ví dụ, AUC), trong khi làm giảm đến mức tối thiểu sự thấm vào não.

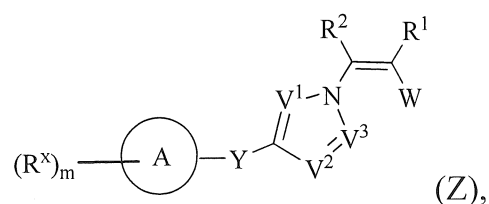
Tỷ lệ của não với huyết tương (B:P) là một phương pháp định lượng sự phân bố tương đối của chất điều trị trong mô não vào hệ tuần hoàn và, do đó, tạo ra một sự chỉ dẫn về mức thấm vào não của chất điều trị đã nêu. Tỷ lệ của não với huyết tương ở mức cao là được ưu tiên khi hướng đích điều trị các bệnh được định vị trong hệ thần kinh

trung ương (CNS), bao gồm não và dịch não tủy. Tuy nhiên, tỷ lệ của não với huyết tương thấp thường ưu tiên đối với các chất điều trị không CNS để làm giảm đến mức tối thiểu sự thấm vào não và ngăn ngừa các tác dụng phụ tiềm tàng do sự tích tụ không mong muốn của các chất điều trị trong não và mô CNS gây ra.

Như được mô tả chi tiết hơn trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế, hợp chất theo sáng chế thể hiện AUC cao hơn và/hoặc B:P thấp hơn khi so sánh với chất ức chế vận chuyển nhân khác, như các chất được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ 13/041,377 được đồng sở hữu, được nộp ngày 5 tháng 3 năm 2011 và được công bố số US 2009/0275607 vào ngày 10 tháng 11 năm 2011. Theo một số phương án của sáng chế, hợp chất có công thức I có hoạt tính xuất khẩu nhân nhỏ hơn khoảng $1\mu\text{M}$, AUC_{Inf} lớn hơn khoảng 3300 (ví dụ, lớn hơn khoảng 3500), và tỷ lệ B:P nhỏ hơn khoảng 2,5 khi được dùng liều cho chuột ở 10 mg/kg po.

Phương pháp tổng hợp của sáng chế

Theo sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế dẫn xuất (Z)-olefin của hợp chất có công thức Z hữu ích trong việc tạo ra hợp chất theo sáng chế (ví dụ, các tiền chất đối với hợp chất theo sáng chế):



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

Vòng A là vòng tùy ý được thể được chọn từ phenyl, vòng aryl hai vòng có từ 8 đến 10 cạnh, vòng heteroaryl một vòng có từ 5 đến 6 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, và vòng heteroaryl hai vòng có từ 8 đến 10 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh;

Y là liên kết cộng hóa trị hoặc $-\text{L}-$;

L là gốc hydrocarbon no hoặc không no, mạch thẳng hoặc mạch nhánh có hóa trị hai có từ 1 đến 8 cacbon, trong đó một hoặc nhiều đơn vị metylen của L tùy ý được thay

thế bằng $-NR-$, $-N(R)C(O)-$, $-C(O)N(R)-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-C(O)O-$, $-S-$, $-SO-$, $-SO_2-$, $-C(S)-$, $-C(NOR)-$ hoặc $-C(NR)-$;

mỗi R độc lập là hydro hoặc nhóm tùy ý được thế được chọn từ vòng cacbon béo, phenyl, no hoặc không no một phần có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 6 cacbon, vòng dị vòng no hoặc không no một phần có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 2 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, vòng heteroaryl một vòng có từ 5 đến 6 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, vòng aryl hai vòng có từ 8 đến 10 cạnh, và vòng heteroaryl hai vòng có từ 8 đến 10 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh; hoặc

hai nhóm R trên cùng nitơ cùng với nguyên nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no hoặc không no một phần, có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, hoặc vòng heteroaryl có từ 5 đến 6 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác, loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh;

mỗi trong số V^1 , V^2 và V^3 độc lập là $C(R^y)$ hoặc N;

mỗi R^x và R^y là độc lập được chọn từ $-R$, halogen, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-NRC(O)NR_2$ và $-NRSO_2R$;

mỗi R^1 và R^2 độc lập là hydro, đơteri, triti hoặc halogen;

W là $-CN$, haloalkyl, $-NO_2$ hoặc $-C(=Z)R^3$;

Z là O, S, hoặc NR;

R^3 được chọn từ hydro, $-R$, hoặc, $-SR$ và $-N(R^4)_2$;

mỗi R^4 độc lập là $-R$; hoặc

hai R^4 trên cùng nitơ cùng với nguyên nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no hoặc không no một phần có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, hoặc vòng heteroaryl có từ 5 đến 6 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thế bằng $-(R^5)_n$;

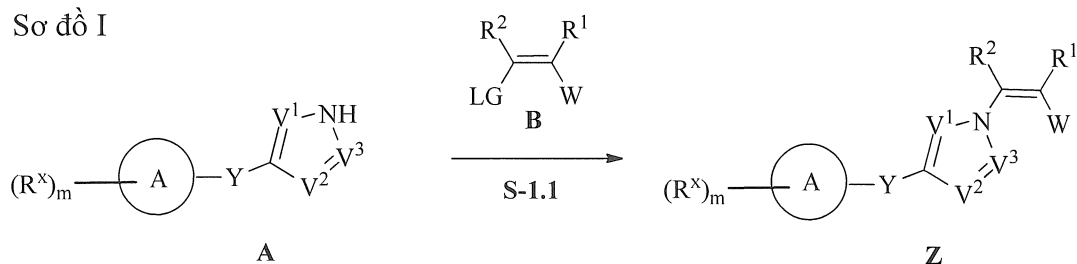
mỗi R^5 là độc lập được chọn từ $-R$, halogen, $-OR$, $-SR$, $-N(R)_2$, $-CN$, $-NO_2$, $-N_3$, $-SOR$, $-SO_2R$, $-SO_2NR$, $-C(O)R$, $-CO_2R$, $-C(O)OR$, $-C(O)N(R)_2$, $-NRC(O)R$, $-OC(O)R$, $-OC(O)N(R)_2$, $-NRC(O)OR$, $-NRC(O)NR_2$ và $-NRSO_2R$; và

mỗi m và n độc lập là số nguyên được chọn từ 0, 1, 2, 3 và 4.

Các hợp chất có công thức Z được mô tả, ví dụ, trong đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 13/041,377, được nộp ngày 5 tháng 3 năm 2011, và trong đơn yêu cầu cấp patent tạm thời Mỹ số 61/513,428, được nộp ngày 29 tháng 7 năm 2011, và 61/653,588, được nộp ngày 1 tháng 6 năm 2012. Các hợp chất có công thức Z được tổng hợp một cách thông thường như hỗn hợp gồm các chất đồng phân (E) và (Z), mà phải được tách. Sự tách các chất đồng phân (E)- và (Z)-olefin đòi hỏi tách sắc ký ở phạm vi rộng và dẫn đến việc mất 50% hợp chất trung gian A, do chất đồng phân không mong muốn thường không thể được chuyển hóa thành chất đồng phân mong muốn. Hiệu suất 50% là không hiệu quả và chi phí cao trong bước tổng hợp bất kỳ, nhưng hiệu suất không chấp nhận được này thậm chí còn khó giải quyết hơn khi kết thúc quy trình tổng hợp nhiều bước. Ngạc nhiên là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng việc sử dụng các bazơ bị cản trở về mặt không gian trong phản ứng cộng nucleophin ở vị trí 1,4 có thể có tác dụng tính chọn lọc (Z) của phản ứng, nhờ đó tạo ra chất đồng phân cis-olefin là sản phẩm chính và riêng biệt. Do đó, sáng chế đề xuất quy trình tổng hợp chọn lọc (Z) của các hợp chất có công thức Z, và phương pháp điều chế các hợp chất trung gian tổng hợp hữu ích để tạo ra các hợp chất có công thức Z. Bước then chốt trong quy trình tổng hợp các hợp chất có công thức Z được mô tả trong Sơ đồ I.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức Z được tạo ra theo Sơ đồ I, được nêu dưới đây:

Sơ đồ I



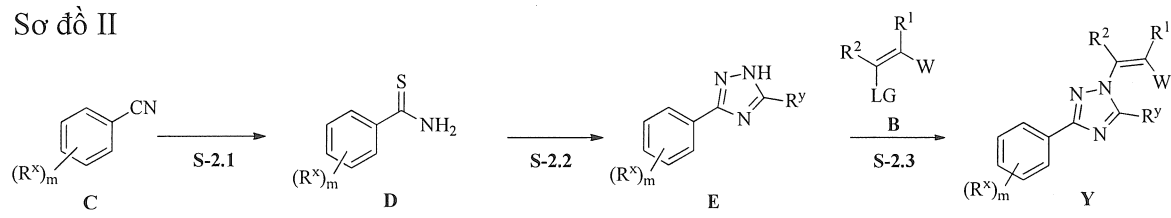
trong đó, LG là nhóm rời chuyển và mỗi trong số vòng A, Y, V¹, V², V³, R^x, R¹, R², W và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z và được mô tả trong các phương án trong bản mô tả sáng chế này.

Theo một số phương án của bước S-1.1, hợp chất trung gian A được liên hợp với hợp chất trung gian B qua phản ứng cộng/tách loại nucleophin ở vị trí 1,4. Theo một số phương án của bước S-1.1, LG là nhóm rời chuyển thích hợp. Theo một số phương án này của bước S-1.1, LG là halogen. Theo một số phương án, LG là iot. Theo một số phương án của bước S-1.1, LG là bromo. Theo một số phương án của bước S-1.1, LG là sulfonat. Theo một số phương án này, LG là metansulfonat (mesylat).

Theo một số phương án của bước S-1.1, hợp chất trung gian A được liên hợp với hợp chất trung gian B với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có khả năng lựa chọn bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp. Bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian thích hợp để sử dụng trong sáng chế bao gồm 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO), N,N-dicyclohexylmetylamin, 2,6-di-tert-butyl-4-metylpyridin, quinuclidin, 1,2,2,6,6-pentametylpiperidin (PMP), 7-metyl-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-en (MTBD), triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin và trixyclohexylphosphin.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức Y được tạo ra theo Sơ đồ II, được nêu dưới đây:

Sơ đồ II



trong đó, LG là nhóm rời chuyển và mỗi trong số R^x, R^y, R¹, R², W và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z và được mô tả trong các phương án trong bản mô tả sáng chế này.

Theo một số phương án của bước S-2.1, hợp chất trung gian C được cho phản ứng với muối thiolat để tạo ra hợp chất trung gian D. Theo một số phương án của bước

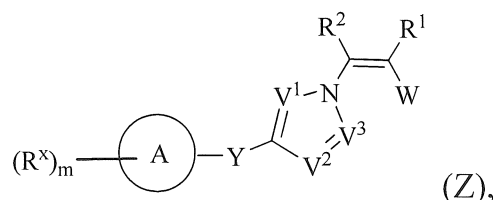
S-2.1, muối thiolat là muối natri thiolat. Theo một số phương án của bước S-2.1, muối thiolat là kali thiolat.

Ở bước S-2.2, hợp chất trung gian D được cho phản ứng với chất tương đương hydrazin để tạo ra hợp chất trung gian E.

Ở bước S-2.3, hợp chất trung gian E được liên hợp với hợp chất trung gian B để tạo ra hợp chất có công thức Y. Theo một số phương án của bước S-2.3, LG là nhóm rời chuyển thích hợp. Theo một số phương án này của bước S-2.3, LG là halogen. Theo một số phương án, LG là iot. Theo một số phương án của bước S-2.3, LG là brom. Theo một số phương án của bước S-2.3, LG là sulfonat. Theo một số phương án này, LG là metansulfonat (mesylat).

Theo một số phương án của bước S-2.3, hợp chất trung gian E được liên hợp với hợp chất trung gian B với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ có khả năng lựa chọn bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp. Bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian thích hợp để sử dụng trong sáng chế bao gồm 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO), N,N-dicyclohexylmetylamin, 2,6-di-tert-butyl-4-methylpyridin, quinuclidin, 1,2,2,6,6-pentamethylpiperidin (PMP), 7-metyl-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-en (MTBD), triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin và trixyclohexylphosphin.

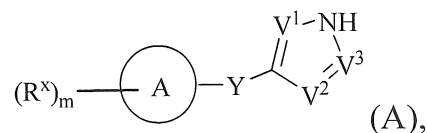
Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức Z:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số vòng A, Y, V¹, V², V³, R^x, R, R¹, R², W và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

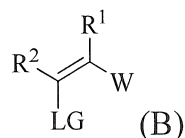
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức A:



trong đó, mỗi trong số vòng A, R^x , Y, V^1 , V^2 , V^3 và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z; và

(b) cho hợp chất có công thức A phản ứng với olefin có công thức B:



trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, W, R^1 và R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z;

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức Z.

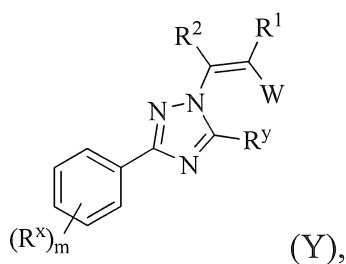
Như được mô tả trên đây, hợp chất có công thức A được liên hợp với hợp chất trung gian B qua phản ứng cộng/tách loại nucleophin ở vị trí 1,4. Theo một số phương án, hợp chất có công thức A được liên hợp với hợp chất trung gian B với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian. Các bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp bao gồm các bazơ amin bậc ba. Theo một số phương án, bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp bao gồm các bazơ amin bậc hai bị cản trở về mặt không gian. Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian được chọn từ 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO), N,N-dicyclohexylmetylamin, 2,6-di-tert-butyl-4-methylpyridin, quinuclidin, 1,2,2,6,6-pentamethylpiperidin (PMP), 7-methyl-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-en (MTBD), triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin và trixyclohexylphosphin. Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO). Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU).

Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là phosphin. Theo một số phương án này, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là triphenylphosphin.

Theo một số phương án, bước (b) trên đây được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 0°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 25°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 50°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 100°C.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng phản ứng cộng/tách loại nucleophin ở vị trí 1,4 của hợp chất có công thức A và hợp chất trung gian B đòi hỏi việc sử dụng dung môi hữu cơ không proton, phân cực. Các dung môi hữu cơ không proton, phân cực thích hợp bao gồm các ete như dioxan, tetrahydrofuran và methyl tert-butyl ete (MTBE), và các amit như dimethylformamit (DMF) và dimethylacetamit (DMA). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng lựa chọn dung môi thích hợp đối theo nhiệt độ phản ứng mong muốn.

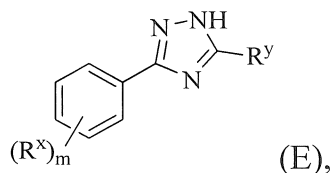
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức Y:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R, R^x, R^y, R¹, R², W và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

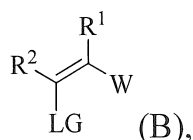
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x , R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Y; và

(b) cho hợp chất công thức E này phản ứng với olefin có công thức B:



trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, W, R^1 và R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Y,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức Y.

Như được mô tả trên đây, hợp chất có công thức E được liên hợp với hợp chất trung gian B qua phản ứng cộng/tách loại nucleophin ở vị trí 1,4. Theo một số phương án, hợp chất có công thức E được liên hợp với hợp chất trung gian B với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian. Các bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp bao gồm các bazơ amin bậc ba. Theo một số phương án, bazơ bị cản trở về mặt không gian thích hợp bao gồm các bazơ amin bậc hai bị cản trở về mặt không gian. Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian được chọn từ 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-en (DBN), 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO), N,N-dicyclohexylmetylamin, 2,6-di-tert-butyl-4-methylpyridin, quinuclidin, 1,2,2,6,6-pentamethylpiperidin (PMP), 7-methyl-1,5,7-triazabicyclo(4.4.0)dec-5-en (MTBD), triphenylphosphin, tri-tert-butylphosphin và tricyclohexylphosphin. Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt

không gian là 1,4-diazabicyclo(2.2.2)octan (DABCO). Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU).

Theo một số phương án, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là phosphin. Theo một số phương án này, bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian là triphenylphosphin.

Theo một số phương án, bước (b) trên đây được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0°C đến 100°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 0°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 25°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 50°C. Theo một số phương án, bước (b) được thực hiện ở nhiệt độ khoảng 100°C.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng phản ứng cộng/tách loại nucleophin ở vị trí 1,4 của hợp chất có công thức E và hợp chất trung gian B đòi hỏi việc sử dụng của dung môi hữu cơ không proton, phân cực. Các dung môi hữu cơ không proton, phân cực thích hợp bao gồm các ete như dioxan, tetrahydrofuran và methyl tert-butyl ete (MTBE), và amit như dimethylformamit (DMF) và dimethylacetamit (DMA). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng lựa chọn dung môi thích hợp theo nhiệt độ phản ứng mong muốn.

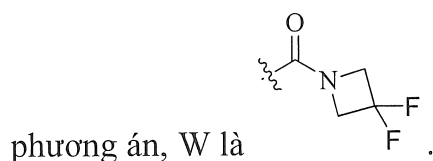
Theo một số phương án về hợp chất có công thức Y, W là -CN. Theo một số phương án, W là haloalkyl. Theo một số phương án này, W là -CF₃. Theo một số phương án, W là -NO₂.

Theo một số phương án, W là -C(=Z)R³. Theo một số phương án này, Z là O. Theo một số phương án, W là -C(O)R³, trong đó R³ được chọn từ -OR, -SR hoặc -N(R⁴)₂. Theo một số phương án, W là -C(O)OR. Theo một số phương án, W là -C(O)OR, trong đó R được chọn từ methyl, ethyl, isopropyl, butyl, tert-butyl và sec-butyl. Theo một số phương án, W là -C(O)OCH₃. Theo một số phương án, W là -C(O)OCH₂CH₃. Theo một số phương án, W là -C(O)OCH(CH₃)₂.

Theo một số phương án, W là -C(O)N(R⁴)₂. Theo một số phương án, W là -(O)NH(R⁴). Theo một số phương án, W là -C(O)NH₂. Theo một số phương án, W là -C(=O)N(R⁴)₂, trong đó cả hai nhóm R⁴ cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo

ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, trong đó vòng được tạo ra theo cách như vậy tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 3 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 7 cạnh, có từ 1 đến 2 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 7 cạnh có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$.

Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 6 cạnh có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có từ 4 đến 5 cạnh có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có 4 cạnh, có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách này tùy ý được thể bằng $-(R^5)_n$. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có 4 cạnh có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách này được thể bằng ít nhất một flo. Theo một số phương án, W là $-C(O)N(R^4)_2$, trong đó cả hai nhóm R^4 cùng với nguyên tử nitơ mà chúng gắn vào tạo ra vòng dị vòng no có 4 cạnh có 1 nguyên tử nitơ, trong đó vòng được tạo ra theo cách như vậy được thể bằng ít nhất hai flo. Theo một số

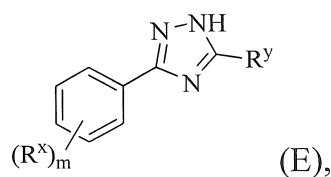


Theo một số phương án, R^1 là hydro. Theo một số phương án, R^1 là đoteri. Theo một số phương án, R^2 là hydro. Theo một số phương án, R^2 là đoteri. Theo một số phương án, mỗi R^1 và R^2 là hydro.

Theo một số phương án, m là 1. Theo một số phương án, m là 2. Theo một số phương án này, R^x là haloalkyl. Theo một số phương án, R^x là $-\text{CF}_3$.

Theo một số phương án, R^y là hydro.

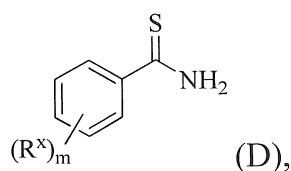
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức E:



trong đó R^x , R^y và m là như được mô tả đối với hợp chất có công thức Z,

bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức D:



trong đó, mỗi trong số R^x và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức E; và

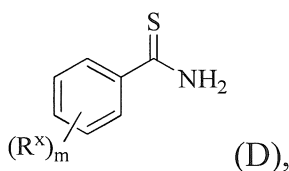
(b) cho phản ứng hợp chất có công thức D để tạo ra hợp chất có công thức E.

Theo một số phương án, các điều kiện hữu hiệu để tạo ra hợp chất có công thức D bao gồm chất tương đương hydrazin. Do đó, theo một số phương án, bước (b) của phương pháp điều chế hợp chất có công thức E bao gồm cho hợp chất có công thức D phản ứng với chất tương đương hydrazin để tạo ra hợp chất có công thức E. Theo một số phương án, hợp chất trung gian D được cho phản ứng với hydrazin hydrat để tạo ra hợp chất có công thức E. Theo một số phương án, hợp chất trung gian D được cho phản

ứng với dạng được bảo vệ của hydrazin như tert-butyl hydrazincarboxylat và tiếp theo khử bảo vệ để tạo ra hợp chất trung gian D.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng việc bổ sung hydrazin vào hợp chất trung gian D đòi hỏi dung môi hữu cơ không proton, phân cực. Các dung môi hữu cơ không proton, phân cực thích hợp bao gồm các ete như dioxan, tetrahydrofuran và metyl tert-butyl ete (MTBE), các rượu như rượu isopropylic và các amit như dimetylformamit (DMF) và dimetylaxetamit (DMA). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng lựa chọn dung môi thích hợp theo nhiệt độ phản ứng mong muốn.

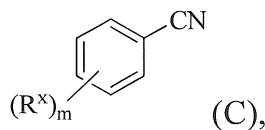
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức D:



trong đó, R^x và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức C:



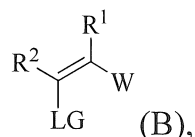
trong đó, mỗi trong số R^x và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức D; và

(b) cho phản ứng có công thức C để tạo ra hợp chất có công thức D.

Như được mô tả trên đây, theo một số phương án, hợp chất trung gian C được xử lý bằng muối thiolat để tạo ra hợp chất trung gian D. Theo một số phương án, muối thiolat là natri thiolat. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ biết rằng phản ứng của hợp chất trung gian C với muối thiolat đòi hỏi việc sử dụng của dung môi ưa

nước có cực. Các dung môi ưa nước có cực bao gồm các ete như dioxan, tetrahydrofuran và metyl tert-butyl ete (MTBE).

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức B:



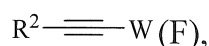
trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, R^1 , R^2 và W là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức F:



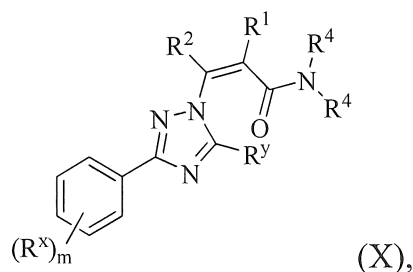
trong đó, mỗi trong số R^2 và W là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức B; và

(b) cho phản ứng hợp chất có công thức F để tạo ra hợp chất có công thức B.

Như được mô tả trên đây, theo một số phương án của hợp chất trung gian B, LG là halogen. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức F được xử lý bằng muối halogenua. Theo một số phương án, hợp chất có công thức F được xử lý bằng natri halogenua. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức F được xử lý bằng natri iodua. Theo một số phương án, hợp chất trung gian F được xử lý bằng muối halogenua với sự có mặt của axit. Các axit thích hợp bao gồm cả axit vô cơ và axit hữu cơ. Theo một số phương án, hợp chất trung gian F được xử lý bằng muối halogenua và axit hữu cơ như axit axetic. Theo một số phương án, hợp chất trung gian F được xử lý bằng natri iodua với sự có mặt của axit axetic để tạo ra hợp chất có công thức B.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng việc bổ sung muối halogenua vào hợp chất trung gian F đòi hỏi dung môi hữu cơ không proton, phân cực. Các dung môi hữu cơ không proton, phân cực thích hợp bao gồm các ete như dioxan, tetrahydrofuran và methyl tert-butyl ete (MTBE).

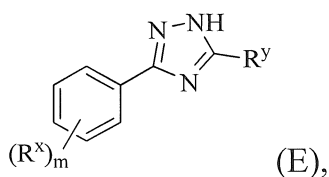
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức X:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R, R^x, R^y, R¹, R², R⁴ và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

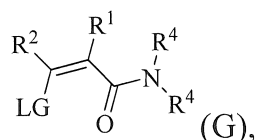
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x, R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức X; và

(b) cho hợp chất công thức E này phản ứng với olefin có công thức G:



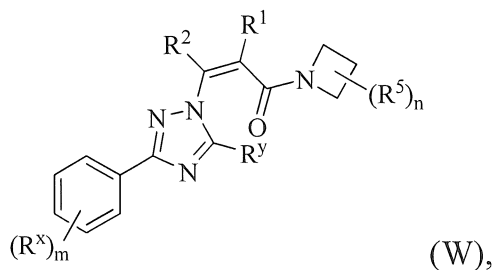
trong đó:

LG là halogen, -OSO₂R hoặc -OSO₂CF₃; và

mỗi trong số R , R^1 , R^2 và R^4 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức X,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức X.

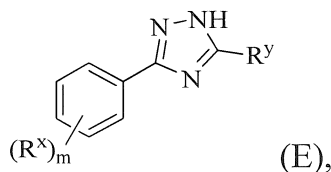
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức W:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R , R^x , R^y , R^1 , R^2 , R^5 , m và n là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

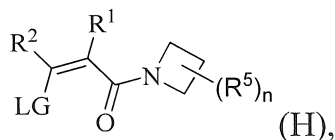
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x , R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức W; và

(b) cho hợp chất công thức E này phản ứng với olefin có công thức H:



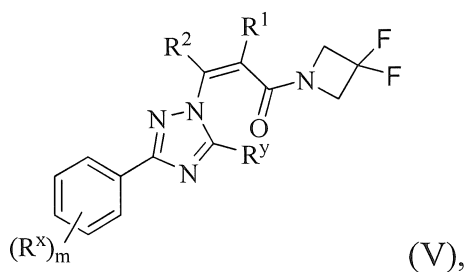
trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R , R^1 , R^2 , R^5 và n là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức W,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức W.

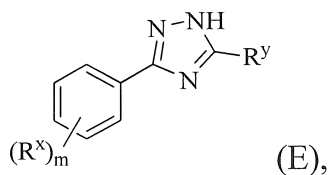
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức V:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R , R^x , R^y , R^1 , R^2 , và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

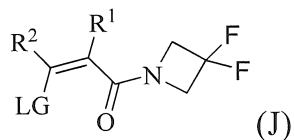
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x , R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V; và

(b) cho hợp chất công thức E này phản ứng với olefin có công thức J:



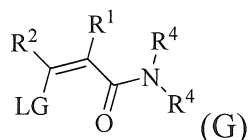
trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, R¹ và R² là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức V.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức G:



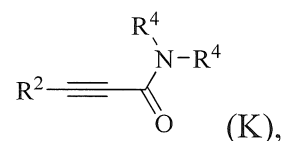
trong đó:

LG là halogen, -OSO₂R hoặc -OSO₂CF₃; và

mỗi trong số R, R¹, R² và R⁴ là như được mô tả trong bản mô tả sáng chế này đối với hợp chất có công thức Z,

bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức K:



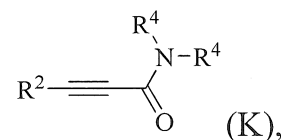
trong đó, mỗi trong số R² và R⁴ là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G; và

(b) cho phản ứng hợp chất có công thức K để tạo ra hợp chất có công thức G.

Như được mô tả trên đây, theo một số phương án về hợp chất trung gian G, LG là halogen. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức K được xử lý bằng muối halogenua. Theo một số phương án, hợp chất có công thức K được xử lý bằng natri halogenua. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức K được xử lý bằng natri iodua. Theo một số phương án, hợp chất trung gian K được xử lý bằng muối halogenua với sự có mặt của axit. Các axit thích hợp bao gồm cả axit vô cơ và axit hữu cơ. Theo một số phương án, hợp chất trung gian K được xử lý bằng muối halogenua và axit hữu

cơ như axit axetic. Theo một số phương án, hợp chất trung gian K được xử lý bằng natri iodua với sự có mặt của axit axetic để tạo ra hợp chất có công thức G.

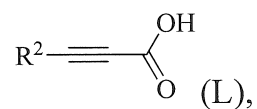
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức K:



trong đó, mỗi trong số R^2 và R^4 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức L:



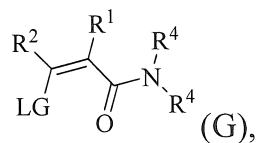
trong đó, R^2 là hydro, đơteri, triti hoặc halogen; và

(b) cho hợp chất có công thức L phản ứng với $\text{HN}(\text{R}^4)_2$, trong đó mỗi R^4 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức K, để tạo ra hợp chất có công thức K.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức L được xử lý bằng chất liên hợp amit với sự có mặt của $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ để tạo ra hợp chất có công thức K. Chất liên hợp amit thích hợp bao gồm HOBt, HOAt, HAMDU, HAMTU, PyBOP, PyBrOP, TBTU, HATU và T3P. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng việc sử dụng chất liên hợp amit đòi hỏi việc sử dụng bazơ. Các bazơ thích hợp bao gồm các bazơ hữu cơ, như triethylamin, diisopropyletyl amin, pyridin, 4-dimethylpyridin (DMAP), và tương tự.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức L được cho phản ứng với chất clo hóa như thionyl clorua để tạo ra axyl clorua, mà sau đó được cho phản ứng với $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ để tạo ra hợp chất có công thức K.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức G:



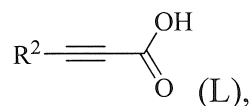
trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, R^1 , R^2 và R^4 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

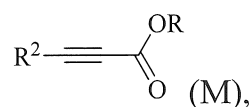
bao gồm các bước:

(a) cung cấp axit propargylic có công thức L:



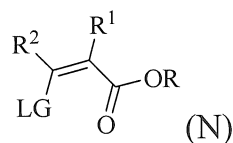
trong đó, R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G;

(b) cho hợp chất có công thức L phản ứng với rượu có công thức HO-R để tạo ra este propargylic có công thức M:



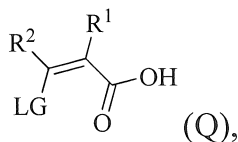
trong đó, mỗi trong số R và R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G;

(c) cho phản ứng este của propargylic có công thức M để tạo ra hợp chất có công thức N:



trong đó, mỗi trong số R, R^1 , R^2 và LG là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G;

(d) thủy phân hợp chất có công thức N để tạo ra hợp chất có công thức Q:



trong đó, mỗi trong số R, R¹, R² và LG là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G; và

(e) cho hợp chất có công thức Q phản ứng với HN(R⁴)₂, trong đó mỗi R⁴ là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức G, để tạo ra hợp chất có công thức G.

Theo một số phương án, axit propargylic có công thức L được xử lý bằng rượu để tạo ra este propargylic có công thức M. Các rượu thích hợp bao gồm metanol, etanol và isopropanol. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng sự este hóa của axit propargylic có công thức L có thể được thực hiện bằng axit xúc tác. Do đó, theo một số phương án, axit propargylic có công thức L được xử lý bằng metanol hoặc etanol với sự có mặt của axit sulfuric xúc tác để tạo ra este propargylic có công thức M.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng sự este hóa này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 100°C, hoặc đến nhiệt độ sôi của rượu. Theo một số phương án, sự este hóa của axit propargylic có công thức L được gia nhiệt đến hồi lưu (nhiệt độ sôi của rượu).

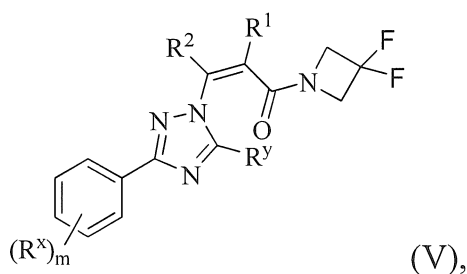
Như được mô tả trên đây, theo một số phương án của hợp chất có công thức N, LG là halogen. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức M được xử lý bằng muối halogenua. Theo một số phương án, hợp chất có công thức M được xử lý bằng natri halogenua. Theo một số phương án này, hợp chất có công thức M được xử lý bằng natri iodua. Theo một số phương án, hợp chất có công thức M được xử lý bằng muối halogenua với sự có mặt của axit. Các axit thích hợp bao gồm cả axit vô cơ và axit hữu cơ. Theo một số phương án, hợp chất có công thức M được xử lý bằng muối halogenua và axit hữu cơ như axit axetic. Theo một số phương án, hợp chất có công thức M được xử lý bằng natri iodua với sự có mặt của axit axetic để tạo ra hợp chất có công thức N.

Theo một số phương án, este của hợp chất có công thức N được thủy phân thành axit acrylic. Các điều kiện thủy phân thích hợp là đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này và bao gồm hydroxit như lithi hydroxit, natri hydroxit, kali hydroxit và xezi hydroxit với sự có mặt của nước. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng phản ứng thủy phân có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25°C đến 100°C. Theo một số phương án, phản ứng thủy phân acrylat có công thức N là được gia nhiệt đến hồi lưu.

Theo một số phương án, axit acrylic có công thức Q được cho phản ứng với $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ để tạo ra hợp chất có công thức G. Theo một số phương án, axit acrylic có công thức Q được xử lý bằng chất liên hợp amit với sự có mặt của $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ để tạo ra hợp chất có công thức G. Chất liên hợp amit thích hợp bao gồm HOBt, HOAt, HAMDU, HAMTU, PyBOP, PyBrOP, TBTU, HATU và T3P. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ nhận biết rằng việc sử dụng các thuốc thử liên kết với amit đòi hỏi cần sử dụng bazơ. Các bazơ thích hợp bao gồm các bazơ hữu cơ như triethylamin, diisopropyletyl amin, pyridin, 4-dimethylpyridin (DMAP), và các bazơ tương tự.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức Q được cho phản ứng với chất clo hóa như thionyl clorua để tạo ra axyl clorua, mà sau đó được cho phản ứng với $\text{HN}(\text{R}^4)_2$ để tạo ra hợp chất có công thức G.

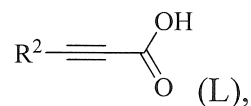
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức V:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R, R^x , R^y , R^1 , R^2 và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

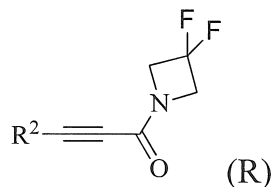
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức L:



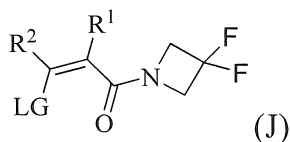
trong đó, R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V;

(b) cho hợp chất có công thức L phản ứng với  để tạo ra hợp chất có công thức R:



trong đó, R_2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V;

(c) cho phản ứng hợp chất có công thức R để tạo ra hợp chất có công thức J:

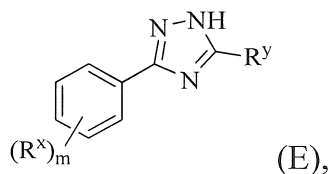


trong đó:

LG là halogen, $-\text{OSO}_2\text{R}$ hoặc $-\text{OSO}_2\text{CF}_3$; và

mỗi trong số R, R^1 và R^2 là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V; và

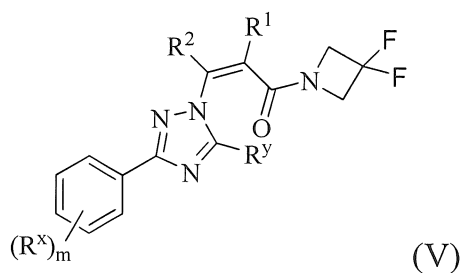
(d) cho hợp chất có công thức J phản ứng với hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x , R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức V.

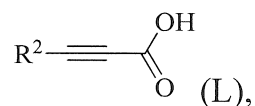
Theo một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế hợp chất có công thức V:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó, mỗi trong số R, R^x, R^y, R¹, R² và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức Z,

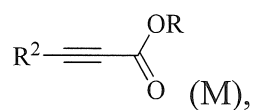
bao gồm các bước:

(a) cung cấp hợp chất có công thức L:



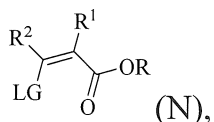
trong đó, R² là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V;

(b) cho hợp chất có công thức L phản ứng với rượu có công thức HO-R để tạo ra hợp chất có công thức M:



trong đó, mỗi trong số R và R² là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V,

(c) cho phản ứng hợp chất có công thức M để tạo ra hợp chất có công thức N:

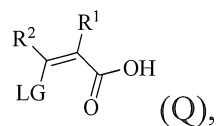


trong đó:

LG là halogen, -OSO₂R hoặc -OSO₂CF₃; và

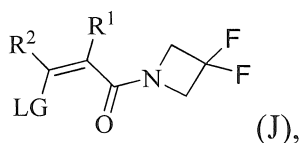
mỗi trong số R, R¹ và R² là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V;

(d) thủy phân hợp chất có công thức N để tạo ra hợp chất có công thức Q:



trong đó, mỗi trong số R¹, R² và LG là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V;

(e) cho hợp chất có công thức Q phản ứng với  để tạo ra hợp chất có công thức J:

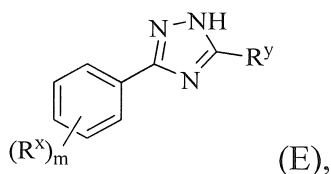


trong đó:

LG là halogen, -OSO₂R hoặc -OSO₂CF₃; và

mỗi trong số R, R¹ và R² là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V; và

(f) cho hợp chất có công thức J phản ứng với hợp chất có công thức E:



trong đó, mỗi trong số R^x, R^y và m là như được xác định trên đây đối với hợp chất có công thức V,

với sự có mặt của bazơ nucleophin bị cản trở về mặt không gian để tạo ra hợp chất có công thức V.

Các định nghĩa

Các hợp chất theo sáng chế bao gồm các hợp chất được mô tả chung trên đây, và còn được minh họa bởi các nhóm, phân nhóm và gốc được bộc lộ trong bản mô tả sáng chế này. Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, các định nghĩa sau đây sẽ áp dụng trừ phi được quy định khác. Đối với mục đích của sáng chế, các nguyên tố hóa học được nhận dạng theo bản hệ thống tuần hoàn các nguyên tố, CAS version, Handbook of Chemistry và Physics, 75th Ed. Ngoài ra, các nguyên lý chung về ngành hóa học hữu cơ được mô tả trong ấn phẩm: “Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, và “March’s Advanced Organic Chemistry”, 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. và March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001.

Trừ phi được quy định theo khác trong bản mô tả sáng chế này, danh pháp chung được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này theo các ví dụ và các quy tắc được nêu trong ấn phẩm: Nomenclature of Organic Chemistry, Sections A, B, C, D, E, F, và H, Pergamon Press, Oxford, 1979, mà được đưa ra trong bản mô tả sáng chế này với mục đích tham khảo đối với các tên cấu trúc hóa học minh họa của nó và các quy tắc đối với việc đặt tên cấu trúc hóa học. Tùy ý là, tên của hợp chất có thể được tạo ra bằng cách sử dụng chương trình đặt tên hóa học: ACD/ChemSketch, Version 5.09/September 2001, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, Canada.

Các hợp chất theo sáng chế có thể có các tâm không đối xứng, các trục không đối xứng, và các mặt phẳng không đối xứng (ví dụ, như được mô tả trong ấn phẩm: E. L. Eliel và S. H. Wilen, Stereo-chemistry of Carbon compounds, John Wiley & Sons, New York, 1994, pages 1119-1190), và xuất hiện ở dạng racemat, hỗn hợp racemic, và như các chất đồng phân không đối quang hoặc chất đồng phân đối ảnh riêng rẽ, với tất cả các chất đồng phân có thể có và hỗn hợp của chúng, bao gồm các chất đồng phân quang học, được bao gồm trong sáng chế.

Thuật ngữ “béo” hoặc “nhóm béo” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là gốc hydrocarbon có hóa trị một mà là mạch thẳng (nghĩa là không phân nhánh), mạch nhánh hoặc mạch vòng (bao gồm nhiều vòng được ngưng tụ, được tạo cầu và được ngưng tụ spiro). Nhóm béo có thể là no hoặc có thể chứa một hoặc nhiều đơn vị không no, nhưng không phải là thơm. Trừ phi được quy định theo cách khác, các nhóm béo chứa từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Tuy nhiên, theo một số phương án, nhóm

béo chứa từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 8 nguyên tử cacbon. Theo một số phương án, các nhóm béo chứa từ 1 đến 4 nguyên tử cacbon và, theo phương án khác nữa, các nhóm béo chứa từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon. Các nhóm béo thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm alkyl, alkenyl, và alkynyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, và các nhóm lai của nó như (xycloalkyl)alkyl, (xycloalkenyl)alkyl hoặc (xycloalkyl)alkenyl.

Thuật ngữ “alkyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là nhóm béo no mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Theo một khía cạnh, nhóm alkyl chứa từ 1 đến 10 hoặc từ 2 đến 8 nguyên tử cacbon. Alkyl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metyl, etyl, propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, t-butyl, và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “alkenyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là nhóm béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có một hoặc nhiều liên kết đôi cacbon-cacbon (*nghĩa là*, $-\text{CH}=\text{CH}-$). Theo một khía cạnh, nhóm alkenyl có từ hai đến tám nguyên tử cacbon, và bao gồm, ví dụ, mà không chỉ giới hạn ở, etenyl, 1-propenyl, 1-butenyl và các nhóm tương tự. Thuật ngữ “alkenyl” bao gồm các gốc có các liên kết đôi cacbon-cacbon ở dạng “cis” và “trans” hoặc, theo cách khác, các cấu hình “E” và “Z”. Nếu nhóm alkenyl bao gồm nhiều hơn một liên kết đôi cacbon-cacbon, mỗi liên kết đôi cacbon-cacbon độc lập là liên kết đôi cis hoặc trans, hoặc hỗn hợp của chúng.

Thuật ngữ “alkynyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là gốc béo mạch thẳng hoặc mạch nhánh có một hoặc nhiều liên kết ba cacbon-cacbon (*nghĩa là*, $-\text{C}\equiv\text{C}-$). Theo một khía cạnh, nhóm alkyl có từ hai đến tám nguyên tử cacbon, và bao gồm, ví dụ, mà không chỉ giới hạn ở, 1-propynyl (propargyl), 1-butynyl và tương tự.

Thuật ngữ “vòng béo,” “cacboxycyl,” “cacboxyclo,” và “vòng cacbon,” được sử dụng đơn lẻ hoặc như một phần của phần lớn, đề cập đến hệ vòng một vòng hoặc hai vòng béo mạch vòng no hoặc không no một phần, như được mô tả trong bản mô tả sáng chế này, có từ 3 đến 10 cạnh, trong đó các hệ vòng béo là tùy ý được thể như được xác định trên đây và được mô tả trong bản mô tả sáng chế này. Các nhóm vòng béo bao gồm, mà không hạn chế, cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclopentenyl, cyclohexyl, cyclohexenyl, cycloheptyl, cycloheptenyl, cyclooctyl, cyclooctenyl, và

xyclooctadienyl. Thuật ngữ “vòng béo,” “cacboxyclyl,” “cacboxyclo,” và “vòng cacbon” cũng bao gồm các vòng béo mà được ngưng tụ với một hoặc nhiều vòng thơm hoặc không thơm, như decahydronaphtyl, tetrahydronaphtyl, decalin, hoặc bixyclo[2.2.2]octan.

Thuật ngữ “xycloalkyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là hệ vòng một vòng hoặc hai vòng béo mạch vòng no có từ 3 đến 10 cạnh. Xycloalkyl có thể tùy ý được thế như được mô tả trong bản mô tả sáng chế này. Theo một số phương án, xycloalkyl có từ 3 đến 6 cacbon.

Thuật ngữ “heteroxycloalkyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là hệ vòng béo no hoặc không no trong đó ít nhất một nguyên tử cacbon được thay thế bằng nguyên tử khác loại được chọn từ N, S và O. Heteroxycloalkyl có thể chứa một hoặc nhiều vòng, mà có thể được gắn cùng với nhau theo cách treo hoặc có thể được ngưng tụ. Theo một khía cạnh, heteroxycloalkyl là hệ vòng có từ ba đến bảy cạnh và bao gồm, ví dụ, và mà không chỉ giới hạn ở, piperidinyl, piperazinyl, pyrrolidinyl, tetrahydrofuranlyl và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “nguyên tử khác loại” có nghĩa là một hoặc nhiều trong số oxy, lưu huỳnh, nitơ, phospho hoặc silic, và bao gồm dạng được oxy hóa bất kỳ của nitơ, lưu huỳnh, phospho hoặc silic; dạng bậc bốn của nitơ bazơ bất kỳ; và nitơ thế được của vòng dị vòng, ví dụ, N (như trong 3,4-dihydro-2H-pyrollyl), NH (như trong pyrrolidinyl) hoặc NR^+ (như trong pyrrolidinyl được thế N).

Thuật ngữ “không no” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa rằng phần có một hoặc nhiều đơn vị không no.

Thuật ngữ “halo” hoặc “halogen,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là halogen và bao gồm, ví dụ, và mà không chỉ giới hạn ở, flo, clo, brom, iot và các nguyên tử tương tự, ở cả dạng phóng xạ và không phóng xạ.

Thuật ngữ “haloalkyl,” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là nhóm béo mà được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen. Theo một số phương án, haloalkyl đề cập đến nhóm béo được halogen hóa trước. Theo một số phương án, haloalkyl đề cập đến nhóm alkyl mà được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen.

Các nhóm haloalkyl minh họa bao gồm $-\text{CF}_3$, $-\text{CCl}_3$, $-\text{CF}_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2(\text{CF}_3)_2$, $-\text{CF}_2(\text{CF}_3)_2$, và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “aryl,” đơn lẻ hoặc trong tổ hợp, như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là hệ vòng thơm vòng cacbon chứa một hoặc nhiều vòng, mà có thể được gắn cùng với nhau theo cách treo hoặc có thể được ngưng tụ. Theo các phương án cụ thể, aryl là một, hai hoặc ba vòng. Theo một khía cạnh, aryl có từ năm đến mười hai nguyên tử vòng. Thuật ngữ “aryl” bao gồm các gốc thơm như phenyl, naphthyl, tetrahydronaphthyl, indanyl, biphenyl, phenantryl, antryl và axenaphthyl. Nhóm “aryl” có thể có từ 1 đến 4 phần tử thế, như alkyl thấp, hydroxyl, halo, haloalkyl, nitro, xyano, alkoxy, alkylamino thấp và các nhóm tương tự.

Thuật ngữ “heteroaryl,” đơn lẻ hoặc trong tổ hợp, như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là hệ thơm trong đó ít nhất một nguyên tử cacbon được thay thế bằng nguyên tử khác loại được chọn từ N, S và O. Heteroaryl có thể chứa một hoặc nhiều vòng, mà có thể được gắn cùng với nhau theo cách treo hoặc có thể được ngưng tụ. Theo các phương án cụ thể, heteroaryl là một, hai hoặc ba vòng. Theo một khía cạnh, heteroaryl có từ năm đến mười hai nguyên tử vòng. Thuật ngữ “heteroaryl” bao gồm các nhóm dị thơm như triazolyl, imidazolyl, pyrrolyl, pyrazolyl, tetrazolyl, pyridyl, pyrimidinyl, pyrazinyl, pyridazinyl, indolyl, furyl, benzofuryl, thienyl, benzothienyl, quinolyl, oxazolyl, oxadiazolyl, isoxazolyl, và các nhóm tương tự. Nhóm “heteroaryl” có thể có từ 1 đến 4 phần tử thế, như alkyl thấp, hydroxyl, halo, haloalkyl, nitro, xyano, alkoxy, alkylamino thấp và các nhóm tương tự.

Sẽ được hiểu rằng các phần tử thế và các kiểu thế đối với các hợp chất theo sáng chế có thể được chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này để tạo ra các hợp chất mà ổn định về mặt hóa học mà có thể được tổng hợp một cách dễ dàng bằng các kỹ thuật đã được biết đến trong lĩnh vực này, cũng như các phương pháp được nêu dưới đây. Nói chung, thuật ngữ “được thế” liệu có được đi trước bởi thuật ngữ “tùy ý” hay không, có nghĩa là một hoặc nhiều hydro của phần được xác định được thay thế bằng phần tử thế thích hợp. Trừ phi được quy định theo cách khác, nhóm “tùy ý được thế” có thể có phần tử thế thích hợp ở mỗi vị trí thay thế được của nhóm và, khi nhiều hơn một vị trí trong cấu trúc đã nêu bất kỳ có thể được thế bằng nhiều hơn một phần tử

thể được chọn từ nhóm được định rõ, phần tử thể có thể là giống nhau hoặc khác nhau ở mọi vị trí. Theo cách khác, nhóm “tùy ý được thể” có thể là không được thể.

Các tổ hợp của các phần tử thể được bao gồm bởi sáng chế tốt hơn là các tổ hợp mà dẫn đến sự hình thành các hợp chất ổn định hoặc khả thi về mặt hóa học. Nếu tự bản thân phần tử thể được thể bằng nhiều hơn một nhóm, sẽ được hiểu rằng nhiều nhóm này có thể là trên cùng một nguyên tử cacbon hoặc trên các nguyên tử cacbon khác nhau, miễn là cấu trúc ổn định thu được. Thuật ngữ “ổn định” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, đề cập đến các hợp chất mà hầu như không bị thay đổi khi được trải qua các điều kiện tạo ra chúng, loại bỏ chúng và, theo một số phương án, thu hồi, tinh chế chúng và sử dụng đối với một hoặc nhiều mục đích được bộc lộ trong bản mô tả sáng chế này.

Các phần tử thể có hóa trị một thích hợp đối với nguyên tử cacbon có thể thể được của nhóm “tùy ý được thể” độc lập là halogen; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, mà có thể được thể bằng R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ mà có thể được thể bằng R° ; $-CH=CHPh$, mà có thể được thể bằng R° ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}pyridyl$ mà có thể được thể bằng R° ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)C(S)NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^\circ$; $-C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR^\circ_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^\circ$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR-$, $SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^\circ_2$; $-C(S)NR^\circ_2$; $-C(S)SR^\circ$; $-SC(S)SR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^\circ_2$; $-C(O)N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(O)C(O)R^\circ$; $-C(O)CH_2C(O)R^\circ$; $-C(NOR^\circ)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^\circ$; $-S(O)_2NR^\circ_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)S(O)_2NR^\circ_2$; $-N(R^\circ)S(O)_2R^\circ$; $-N(OR^\circ)R^\circ$; $-C(NH)NR^\circ_2$; $-P(O)_2R^\circ$; $-P(O)R^\circ_2$; $-OP(O)R^\circ_2$; $-OP(O)(OR^\circ)_2$; SiR°_3 ; $-(C_{1-4}alkylen\ mạch\ thẳng\ hoặc\ mạch\ nhánh)O-N(R^\circ)_2$; hoặc $-(C_{1-4}alkylen\ mạch\ thẳng\ hoặc\ mạch\ nhánh)C(O)O-N(R^\circ)_2$, trong đó mỗi R° có thể được thể như được xác định dưới đây và độc lập là hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon, -

CH_2Ph , $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, $-\text{CH}_2$ -(vòng heteroaryl có từ 5 đến 6 cạnh), hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, hoặc, mặc dù định nghĩa trên đây, hai sự kiện khác nhau của R° , cùng với (các) nguyên tử xen vào của chúng, tạo ra vòng no, không no một phần có từ 3 đến 12 cạnh, hoặc vòng một vòng hoặc hai vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, mà có thể được thể như được xác định dưới đây.

Các phần tử thể có hóa trị một thích hợp đối với R° (hoặc vòng được tạo ra bằng cách thực hiện hai sự kiện độc lập của R° cùng với các nguyên tử xen vào của chúng), độc lập là halogen, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{R}^\bullet$, $-(\text{haloR}^\bullet)$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{CH}(\text{OR}^\bullet)_2$, $-\text{O}(\text{haloR}^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{R}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^\bullet$, $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^\bullet_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{SiR}^\bullet_3$, $-\text{OSiR}^\bullet_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^\bullet$, $-(\text{C}_{1-4}$ alkylen mạch thẳng hoặc mạch nhánh) $\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, hoặc $-\text{SSR}^\bullet$ trong đó mỗi $\text{R}^\bullet$ là không được thể hoặc ở đó được đứng trước bằng “halo” chỉ được thể bằng một hoặc nhiều halogen, và là độc lập được chọn từ vòng béo có từ 1 đến 4 cacbon, $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh. Các phần tử thể có hóa trị hai thích hợp đối với nguyên tử cacbon no của R° bao gồm $=\text{O}$ và $=\text{S}$.

Các phần tử thể có hóa trị hai thích hợp đối với nguyên tử cacbon no của nhóm “tùy ý được thể” bao gồm sau đây: $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{NNR}^*_2$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{R}^*$, $=\text{NNHC}(\text{O})\text{OR}^*$, $=\text{NNHS}(\text{O})_2\text{R}^*$, $=\text{NR}^*$, $=\text{NOR}^*$, $-\text{O}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{O}-$, và $-\text{S}(\text{C}(\text{R}^*_2))_{2-3}\text{S}-$, trong đó mỗi khi xuất hiện độc lập R^* được chọn từ hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon mà có thể được thể như được xác định dưới đây, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh không được thể, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh. Các phần tử thể có hóa trị hai thích hợp được gắn vào cacbon có thể thể được lân cận của nhóm “tùy ý được thể” bao gồm: $-\text{O}(\text{CR}^*_2)_{2-3}\text{O}-$, trong đó mỗi khi xuất hiện độc lập R^* được chọn từ hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon mà có thể được thể như được xác định dưới đây, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến

6 cạnh không được thế, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh.

Phần tử thế thích hợp đối với nhóm béo R^* bao gồm halogen, $-R^\bullet$, $-(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^\bullet$, $-\text{O}(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^\bullet$, $-\text{NR}^\bullet_2$, và $-\text{NO}_2$, trong đó mỗi $R^\bullet$ là không được thế hoặc nếu được đứng trước bằng “halo” chỉ được thế bằng một hoặc nhiều halogen, và độc lập là vòng béo có từ 1 đến 4 cacbon $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh.

Các phần tử thế thích hợp đối với nitơ có thể thế được của nhóm “tùy ý được thế” bao gồm $-R^\dagger$, $-\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{O})R^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})R^\dagger$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})R^\dagger$, $-\text{S}(\text{O})_2R^\dagger$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\dagger_2$, $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\dagger_2$, và $-\text{N}(\text{R}^\dagger)\text{S}(\text{O})_2R^\dagger$; trong đó mỗi $R^\dagger$ độc lập là hydro, vòng béo có từ 1 đến 6 cacbon mà có thể được thế như được xác định dưới đây, $-\text{OPh}$ không được thế, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh không được thế, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, hoặc, mặc dù định nghĩa trên đây, hai lần xuất hiện độc lập của $R^\dagger$, cùng với (các) nguyên tử xen vào của chúng tạo ra vòng no, không no một phần có từ 3 đến 12 cạnh không được thế hoặc vòng một vòng hoặc hai vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh.

Phần tử thế thích hợp đối với nhóm béo của $R^\dagger$ độc lập là halogen, $-R^\bullet$, $-(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}^\bullet$, $-\text{O}(\text{halo}R^\bullet)$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}^\bullet$, $-\text{NR}^\bullet_2$, hoặc $-\text{NO}_2$, trong đó mỗi $R^\bullet$ là không được thế hoặc ở đó được đứng trước bằng “halo” chỉ được thế bằng một hoặc nhiều halogen, và độc lập là vòng béo có từ 1 đến 4 cacbon $-\text{CH}_2\text{Ph}$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, hoặc vòng no, không no một phần có từ 5 đến 6 cạnh, hoặc vòng aryl có từ 0 đến 4 nguyên tử khác loại độc lập được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh.

Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, “chất tương đương hydrazin” có nghĩa là chất phản ứng mà có thể được sử dụng để đưa phần $-\text{N}-\text{N}-$ vào phân tử. Các chất tương đương hydrazin bao gồm hydrazin hydrat cũng như các dạng được bảo vệ của hydrazin, như tert-butyl hydrazin carboxylat.

Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, “nhóm rời chuyển” đề cập đến nhóm chức mà được chuyển từ phân tử trong phản ứng hóa học. Các nhóm rời chuyển bao gồm halogen, cũng như các nhóm sulfonat, như tosylat và mesylat.

Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “muối được dụng” đề cập đến các muối mà trong phạm vi của lĩnh vực y khoa thích hợp, thích hợp đối với việc sử dụng trong tiếp xúc với mô của con người và động vật bậc thấp mà không có các phản ứng gây độc, kích thích, dị ứng và các phản ứng tương tự, và tương ứng với tỷ lệ lợi ích/nguy cơ thích hợp. Muối được dụng là đã được biết đến trong lĩnh vực này. Ví dụ, S. M. Berge et al., mô tả muối được dụng chi tiết trong ấn phẩm: J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1–19, phần mô tả có liên quan của ấn phẩm này được đưa ra trong bản mô tả sáng chế này để tham khảo. Muối được dụng của hợp chất theo sáng chế bao gồm các muối thu được từ các axit và bazơ vô cơ và hữu cơ thích hợp mà tương thích với việc điều trị của người bệnh.

Các ví dụ về các muối cộng axit không độc được dụng là các muối chứa nhóm amino được tạo ra với axit vô cơ như axit clohydric, axit hydrobromic, axit phosphoric, axit sulfuric và axit perchloric hoặc với các axit hữu cơ như axit axetic, axit oxalic, axit maleic, axit tartaric, axit xitric, axit succinic hoặc axit malonic hoặc bằng cách sử dụng các phương pháp khác được sử dụng trong lĩnh vực này như trao đổi ion. Các muối cộng axit được dụng khác bao gồm adipat, alginat, ascorbat, aspartat, benzensulfonat, benzoat, bisulfat, borat, butyrat, camphorat, camphorsulfonat, xitrat, xyclopentanpropionat, digluconat, dodexylsulfat, etansulfonat, format, fumarat, glucoheptonat, glyxerophosphat, gluconat, hemisulfat, heptanoat, hexanoat, hydroiodua, 2-hydroxy-etansulfonat, lactobionat, lactat, laurat, lauryl sulfat, malat, maleat, malonat, metansulfonat, 2-naphtalensulfonat, nicotinat, nitrat, oleat, oxalat, palmitat, pamoat, pectinat, persulfat, 3-phenylpropionat, phosphat, pivalat, propionat, stearat, succinat, sulfat, tartrat, thioxyanat, p-toluensulfonat, undecanoat, muối valerat, và tương tự.

Theo một số phương án, các axit vô cơ minh họa mà tạo ra các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit clohydric, hydrobromic, sulfuric và phosphoric và các muối kim loại của axit như natri monohydro orthophosphat và kali

hydro sulfat. Các axit hữu cơ minh họa mà tạo ra các muối thích hợp bao gồm axit mono-, di- và tricarboxylic. Sự minh họa của các axit này là, ví dụ, axit axetic, glycolic, lactic, pyruvic, malonic, succinic, glutaric, fumaric, malic, tartaric, xitric, ascorbic, maleic, hydroxymaleic, benzoic, hydroxybenzoic, phenylaxetic, xinamic, salixylic, 2-phenoxybenzoic, p-toluensulfonic và các axit sulfonic khác như axit metansulfonic và axit 2-hydroxyetansulfonic. Các muối của axit mono- hoặc di có thể được tạo ra và các muối này có thể tồn tại ở dạng được hydrat hóa, solvat hóa hoặc hầu như khan. Nói chung, các muối cộng axit của các hợp chất này có thể hòa tan nhiều trong nước và các dung môi hữu cơ ưa nước khác nhau, và thường có nhiệt độ nóng chảy cao hơn so với các dạng bazơ tự do của chúng.

Theo một số phương án, các muối cộng axit của hợp chất có công thức I được tạo ra một cách thích hợp nhất từ các axit được dụng, và bao gồm, ví dụ, các muối được tạo ra với các axit vô cơ, *ví dụ*, axit clohydric, sulfuric hoặc phosphoric và axit hữu cơ ví dụ axit succinic, maleic, axetic hoặc fumaric.

Các muối không được dụng khác, *ví dụ*, oxalat có thể được sử dụng, ví dụ, trong việc tách các hợp chất có công thức I đối với việc sử dụng trong phòng thí nghiệm, hoặc đối với việc chuyển hóa tiếp theo thành muối cộng axit được dụng. Cũng được bao gồm trong phạm vi của sáng chế là các muối cộng bazơ (như các muối natri, kali và amoni), các solvat và hydrat của các hợp chất theo sáng chế. Sự chuyển hóa của muối của hợp chất đã nêu thành muối của hợp chất mong muốn đạt được bằng cách áp dụng các kỹ thuật tiêu chuẩn, đã được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

“Muối cộng bazơ được dụng” là muối cộng bazơ hữu cơ hoặc vô cơ không độc bất kỳ của các hợp chất axit có công thức I, hoặc bất kỳ trong số các chất trung gian của nó. Các bazơ vô cơ minh họa mà tạo ra các muối thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lithi, natri, kali, canxi, magie hoặc bari hydroxit. Các bazơ hữu cơ minh họa mà tạo ra các muối thích hợp bao gồm các amin béo, vòng no hoặc hữu cơ thơm như metylamin, trimetyl amin và picolin hoặc amoniac. Việc lựa chọn muối thích hợp có thể là quan trọng sao cho este về mặt chức năng, nếu có, ở trong phân tử là không bị thủy

phân. Các tiêu chuẩn lựa chọn đối với muối thích hợp sẽ được biết đến đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Các muối thu được từ các bazơ thích hợp bao gồm các muối kim loại kiềm, kim loại kiềm thổ, amoni và $N^+(C_{1-4}alkyl)_4$. Các muối kim loại kiềm hoặc kim loại kiềm thổ đại diện bao gồm natri, lithi, kali, canxi, magie, và các nguyên tố tương tự. Các muối được dụng khác bao gồm, khi thích hợp, amoni không độc, amoni bậc bốn, và amin cation được tạo ra bằng cách sử dụng các ion đối như halogenua, hydroxit, carboxylat, sulfat, phosphat, nitrat, alkyl thấp sulfonat và aryl sulfonat.

Trừ phi được quy định khác, các cấu trúc được mô tả trong bản mô tả sáng chế này cũng có nghĩa bao gồm tất cả các dạng đồng phân (ví dụ, chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân hình học (hoặc cấu hình)) của cấu trúc; ví dụ, cấu hình R và S đối với mỗi tâm không đối xứng, các chất đồng phân liên kết đôi Z và E, và các chất đồng phân cấu hình Z và E. Do đó, các chất đồng phân thuộc hóa học lập thể đơn lẻ cũng như hỗn hợp gồm chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân hình học (hoặc cấu hình) của các hợp chất hiện tại là nằm trong phạm vi của sáng chế. Trừ phi được quy định khác, tất cả các dạng tautome của các hợp chất theo sáng chế là nằm trong phạm vi của sáng chế.

Ngoài ra, trừ phi được quy định khác, các cấu trúc được mô tả trong bản mô tả sáng chế này cũng có nghĩa bao gồm các hợp chất mà chỉ khác nhau với sự có mặt của một hoặc nhiều nguyên tử được làm giàu về mặt đồng vị. Ví dụ, các hợp chất được tạo ra nhờ sự thay thế của hydro bằng đơteri hoặc triti, hoặc cacbon bằng cacbon được làm giàu ^{13}C - hoặc ^{14}C là nằm trong phạm vi của sáng chế. Các hợp chất này là hữu ích, ví dụ, là các dụng cụ phân tích, như các đầu dò trong các thử nghiệm sinh học, hoặc như các chất điều trị theo sáng chế.

Thuật ngữ “các chất đồng phân lập thể” là thuật ngữ chung đối với tất cả các chất đồng phân của phân tử riêng rẽ mà chỉ khác nhau theo hướng của các nguyên tử của chúng trong không gian. Nó bao gồm các chất đồng phân có phản chiếu (chất đồng phân đối ảnh), các chất đồng phân hình học (cis/trans) và các chất đồng phân của các

hợp chất với nhiều hơn một tâm không đối xứng mà không có ảnh phản chiếu của nhau (chất đồng phân không đối quang).

Thuật ngữ “điều trị” hoặc “việc điều trị” có nghĩa là làm giảm một hoặc nhiều triệu chứng, loại trừ nguyên nhân của một hoặc nhiều triệu chứng, trên cơ sở tạm thời hoặc lâu dài hoặc để ngăn ngừa hoặc làm chậm sự khởi phát của một hoặc nhiều triệu chứng kết hợp với rối loạn hoặc tình trạng bệnh.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu về mặt điều trị” có nghĩa là lượng hợp chất mà có hiệu quả trong việc điều trị hoặc làm giảm tính nguy kịch của một hoặc nhiều triệu chứng của rối loạn hoặc tình trạng bệnh.

Thuật ngữ “chất mang dược dụng” có nghĩa là dung môi không độc, chất phân tán, tá dược, chất phụ trợ hoặc nguyên liệu khác mà được trộn với hoạt chất để cho phép sự hình thành dược phẩm, *nghĩa là*, dạng liều có khả năng được dùng cho người bệnh. Một ví dụ về chất mang là chất dầu dược dụng thường được sử dụng đối với việc dùng ngoài đường tiêu hóa. Chất mang dược dụng là đã được biết đến trong lĩnh vực này.

Khi giới thiệu các yếu tố được bộc lộ trong bản mô tả sáng chế này, các mạo từ “một” và “này” được dự định có nghĩa rằng có một hoặc nhiều yếu tố. Thuật ngữ “bao gồm”, “có” và “gồm có” được dự định được kết thúc mở và có nghĩa rằng có thể có các yếu tố bổ sung khác với các yếu tố được liệt kê.

Dược phẩm và cách dùng

Dược phẩm dược dụng

Phương án khác của sáng chế là dược phẩm chứa hợp chất theo sáng chế, hoặc muối dược dụng của nó, và chất mang dược dụng, chất phụ trợ hoặc tá dược dạng lỏng. Lượng của chất trong dược phẩm của sáng chế là lượng mà có hiệu quả để ức chế CRM1 theo cách đo được trong mẫu sinh học hoặc ở người bệnh. Theo một số phương án, dược phẩm theo sáng chế được bào chế để dùng cho người bệnh cần dược phẩm này. Thuật ngữ “đối tượng mắc bệnh” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, có nghĩa là động vật. Theo một số phương án, động vật là động vật có vú. Theo một số phương án, đối tượng mắc bệnh là đối tượng mắc bệnh trong thú y (*nghĩa là*, đối tượng mắc bệnh là

động vật có vú không phải con người). Theo một số phương án, đối tượng mắc bệnh là chó. Theo các phương án khác, đối tượng mắc bệnh là con người.

Cụm từ “chất mang được dụng, chất phụ trợ hoặc tá dược dạng lỏng” đề cập đến chất mang không độc, chất phụ trợ hoặc tá dược dạng lỏng mà không phá hủy hoạt tính dược lý của hợp chất mà nó được tạo ra. Chất mang được dụng, chất phụ trợ hoặc tá dược dạng lỏng có thể được sử dụng trong dược phẩm của sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất trao đổi ion, nhôm oxit, nhôm stearat, lecithin, protein huyết thanh, như albumin huyết thanh của người, các chất đệm như phosphat, glyxin, axit sorbic, kali sorbat, hỗn hợp glyxerit riêng phần gồm các axit béo thực vật no, nước, muối hoặc chất điện phân, như protamin sulfat, dinatri hydro phosphat, kali hydro phosphat, natri clorua, các muối kẽm, silic dioxit dạng keo, magie trisilicat, polyvinyl pyrrolidon, các chất chủ yếu là xenluloza, polyetylen glycol, natri carboxymetylxenluloza, polyacrylat, sáp, polyme khối polyetylen-polyoxypropylen, polyetylen glycol và chất béo sợi.

Dược phẩm theo sáng chế có thể được dùng qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa (bao gồm qua da, trong cơ, trong tĩnh mạch và trong da), nhờ phun xông, cục bộ, trực tràng, mũi, khoang miệng, âm đạo hoặc qua vật chứa được cấy ghép. Theo một số phương án, các hợp chất hoặc dược phẩm được đề xuất có thể được dùng được trong tĩnh mạch và/hoặc trong bụng.

Thuật ngữ “ngoài đường tiêu hóa” như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, bao gồm dưới da, trong tĩnh mạch, trong cơ, trong mắt, trong thủy tinh thể, trong khớp, trong hoạt dịch, trong xương ức, trong vỏ bọc, trong gan, các kỹ thuật tiêm hoặc truyền trong các thương tổn trong bụng và trong sọ. Tốt hơn là, dược phẩm được dùng qua đường miệng, dưới da, trong bụng hoặc trong tĩnh mạch. Các dạng dược phẩm tiêm được vô trùng của sáng chế có thể là huyền phù trong nước hoặc trong dầu. Huyền phù này có thể được tạo ra theo các kỹ thuật đã được biết đến trong lĩnh vực này bằng cách sử dụng các chất gây phân tán hoặc làm ướt và các chất tạo huyền phù thích hợp. Chế phẩm tiêm được vô trùng cũng có thể là dung dịch hoặc huyền phù tiêm được vô trùng trong chất pha loãng hoặc dung môi chấp nhận được không độc dùng ngoài đường tiêu hóa, ví dụ, dung dịch trong 1,3-butanediol. Trong số các tá dược dạng lỏng và dung môi

chấp nhận được mà có thể được dùng là nước, dung dịch Ringer và dung dịch natri clorua đẳng trương. Ngoài ra, các dầu cố định vô trùng thường được dùng là dung môi hoặc môi trường tạo huyền phù.

Dược phẩm được dụng của sáng chế có thể được dùng qua đường miệng ở dạng liều chấp nhận được qua đường miệng bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, viên nang, viên nén, huyền phù và dung dịch trong nước. Trong trường hợp viên nén để dùng qua đường miệng, các chất mang thường được sử dụng bao gồm lactoza và tinh bột ngô. Các chất bôi trơn, như magie stearat, cũng thường được bổ sung vào. Đối với việc dùng qua đường miệng ở dạng viên nang, các chất pha loãng hữu ích bao gồm lactoza và tinh bột ngô được làm khô. Khi huyền phù trong nước được đòi hỏi để dùng qua đường miệng, thì hoạt chất được tổ hợp với chất nhũ hóa và chất tạo huyền phù. Nếu muốn, một số chất tạo ngọt, chất tạo hương hoặc chất tạo màu cũng có thể được bổ sung vào. Theo một số phương án, dược phẩm dùng qua đường miệng được đề xuất được bào chế để giải phóng ngay hoặc giải phóng duy trì/chậm. Theo một số phương án, dược phẩm là thích hợp để dùng trong khoang miệng hoặc dưới lưỡi, bao gồm viên nén, viên thuốc hình thoi và kẹo thơm. Hợp chất được đề xuất cũng có thể ở dạng được bao vi nang.

Theo cách khác, dược phẩm được dụng của sáng chế có thể được dùng ở dạng viên thuốc đạn để dùng qua trực tràng. Dược phẩm được dụng theo sáng chế cũng có thể được dùng khu trú, đặc biệt là khi đích điều trị bao gồm khu vực hoặc cơ quan dễ dàng áp dụng bởi việc áp dụng khu trú, bao gồm các bệnh về mắt, da hoặc đường ruột phía dưới. Dược phẩm dùng khu trú thích hợp được tạo ra một cách dễ dàng đối với mỗi trong số các khu vực hoặc cơ quan này.

Việc dùng khu trú đối với đường ruột phía dưới có thể có tác dụng trong dược phẩm dạng thuốc đạn dùng qua trực tràng (xem trên đây) hoặc trong dược phẩm thực thích hợp. Miếng đắp qua da dùng khu trú cũng có thể được sử dụng.

Đối với việc sử dụng cho mắt, dược phẩm được dụng có thể được bào chế ở dạng huyền phù được micron hóa hoặc trong thuốc mỡ như mỡ.

Dược phẩm được dụng theo sáng chế cũng có thể được dùng ở dạng sol khí hoặc xông qua mũi.

Theo một số phương án, dược phẩm được dụng theo sáng chế được bào chế để dùng trong màng bụng.

Lượng của các hợp chất theo sáng chế mà có thể được kết hợp với vật liệu mang để tạo ra dạng liều đơn lẻ sẽ thay đổi phụ thuộc vào vật chủ được điều trị và đường dùng cụ thể. Theo một phương án, dược phẩm được bào chế sao cho liều nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100mg/kg thể trọng/ngày của chất ức chế có thể được dùng cho người bệnh đang nhận dược phẩm. Theo phương án khác, liều là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 100mg/kg thể trọng, hoặc nằm trong khoảng từ 1mg đến 1000mg/liều, cứ hằng từ 4 đến 120 giờ hoặc theo các yêu cầu của dược chất cụ thể. Thông thường, dược phẩm theo sáng chế sẽ được dùng nằm trong khoảng từ 1 đến 6 lần/ngày.

Cần phải hiểu rằng liều cụ thể và chế độ điều trị đối với người bệnh cụ thể bất kỳ sẽ phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm hoạt tính của hợp chất cụ thể được dùng, tuổi, thể trọng, sức khỏe tổng thể, giới tính, khẩu phần ăn, thời gian dùng, tốc độ bài tiết, tổ hợp của dược chất, sự chẩn đoán của bác sỹ điều trị và tính nghiêm trọng của bệnh cụ thể cần điều trị. Lượng của hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm cũng sẽ phụ thuộc vào hợp chất cụ thể trong dược phẩm.

Theo một số phương án, dược phẩm còn bao gồm một hoặc nhiều chất điều trị hoặc phòng ngừa bệnh bổ sung. Khi dược phẩm của sáng chế bao gồm tổ hợp của hợp chất có các công thức được mô tả trong bản mô tả sáng chế này và một hoặc nhiều chất điều trị hoặc phòng ngừa bệnh bổ sung, cả hợp chất và chất bổ sung sẽ có mặt ở mức liều nằm trong khoảng từ 1 đến 100%, và tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 5 đến 95% liều thường được dùng trong chế độ liệu pháp điều trị đơn. Các chất bổ sung có thể được dùng một cách riêng biệt, như một phần của chế độ đa liều, từ hợp chất theo sáng chế. Theo cách khác, các chất bổ sung có thể là một phần của dạng liều đơn lẻ, được trộn cùng với hợp chất theo sáng chế trong dược phẩm đơn lẻ.

Khi cải thiện tình trạng bệnh của người bệnh, liều duy trì của hợp chất, dược phẩm hoặc tổ hợp của sáng chế có thể được dùng, nếu cần. Tiếp theo, liều hoặc tần số

dùng hoặc cả hai, có thể được giảm như chức năng của các triệu chứng, đến mức mà ở đó tình trạng bệnh được cải thiện được giữ lại khi các triệu chứng được giảm đến mức mong muốn. Tuy nhiên, người bệnh có thể đòi hỏi việc điều trị không liên tục trong thời gian dài phụ thuộc vào sự tái phát của triệu chứng bệnh

Sử dụng các hợp chất và dược phẩm được dụng

Thông thường, các hợp chất và dược phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này là hữu ích để ức chế CRM1 và do đó, là hữu ích để điều trị một hoặc nhiều rối loạn được kết hợp với hoạt tính của CRM1. Phần mô tả này cũng mô tả phương pháp điều trị rối loạn qua trung gian CRM1 bao gồm bước cho người bệnh cần điều trị này dùng hợp chất theo sáng chế, hoặc muối được dụng hoặc dược phẩm chứa chúng. Hợp chất và dược phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này cũng có thể được dùng cho tế bào trong nuôi cấy, *ví dụ, in vitro hoặc ex vivo*, hoặc cho đối tượng, *ví dụ, in vivo*, để điều trị, ngăn ngừa và/hoặc chẩn đoán nhiều rối loạn, bao gồm các rối loạn được mô tả trong bản mô tả sáng chế này dưới đây.

Hoạt tính của hợp chất được sử dụng trong sáng chế như chất ức chế của CRM1 có thể được thử nghiệm *in vitro*, *in vivo* hoặc trong dòng tế bào. Các điều kiện chi tiết để thử nghiệm hợp chất được sử dụng trong sáng chế như chất ức chế của CRM1 được nêu trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “rối loạn hoặc tình trạng bệnh qua trung gian CRM1” hoặc “rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1” có nghĩa là bệnh bất kỳ hoặc tình trạng bệnh có hại khác trong đó CRM1 đóng vai trò. Do đó, phần mô tả này cũng mô tả việc điều trị hoặc làm giảm tính nghiêm trọng của một hoặc nhiều bệnh trong đó có vai trò của CRM1. Phần mô tả này cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh liên quan đến sự biểu hiện hoặc hoạt tính của protein p53, p73, p21, pRB, p27, I κ B, NF κ B, c-Abl, FOXO, COX-2 ở đối tượng bao gồm cho người bệnh dùng lượng hữu hiệu về mặt điều trị của hợp chất được mô tả trong bản mô tả sáng chế này. Phần mô tả này cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc làm giảm tính nguy kịch của bệnh hoặc tình trạng bệnh được chọn từ rối loạn tăng sinh tế bào (*ví dụ, bệnh ung thư*), rối loạn viêm, rối loạn tự miễn dịch, lây nhiễm virus, rối loạn về mắt

hoặc rối loạn thoái hóa thần kinh, phương pháp này bao gồm cho người bệnh cần điều trị này dùng hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế. Phần mô tả này cũng mô tả phương pháp điều trị hoặc làm giảm tính nguy kịch của bệnh ung thư. Các ví dụ cụ thể về rối loạn trên đây được nêu chi tiết dưới đây.

Các bệnh ung thư có thể điều trị bằng các hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, khối u máu ác tính (bệnh bạch cầu, ung thư bạch huyết, u tủy, các hội chứng loạn sản tủy và tăng sinh tế bào tủy) và các khối u rắn (ung thư biểu mô như tuyến tiền liệt, vú, phổi, ruột kết, tuyến tụy, thận, buồng trứng cũng như mô mềm và sụn xương và khối u cơ chất). Bệnh ung thư vú (BC) có thể bao gồm, bệnh ung thư vú tương tự cơ sở (BLBC), bệnh ung thư vú âm tính bộ ba (TNBC) và bệnh ung thư vú mà là cả BLBC và TNBC. Ngoài ra, bệnh ung thư vú có thể bao gồm ung thư biểu mô ống dẫn hoặc thùy con xâm lấn hoặc không xâm lấn, ung thư biểu mô hình ống, tủy xương, màng nhầy, hình nhú, có lỗ rây của vú, bệnh ung thư vú ở giống đực, bệnh ung thư vú hồi quy hoặc di căn, khối u vú dạng lá, bệnh paget của đầu vú.

Các rối loạn viêm có thể điều trị được bằng hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đa xơ cứng, viêm khớp dạng thấp, bệnh khớp thoái hóa, luput hệ thống, xơ cứng hệ thống, các hội chứng viêm mạch (mạch nhỏ, trung bình và lớn), chứng xơ vữa động mạch, bệnh viêm ruột, hội chứng ruột dễ bị kích thích, bệnh Crohn, viêm ruột kết nhầy, viêm loét ruột kết, viêm dạ dày, sự nhiễm trùng, bệnh vẩy nến và các rối loạn viêm ngoài da khác (như eczema, viêm da dị ứng, viêm da tiếp xúc, chứng mày đay, bệnh cứng da, bệnh vẩy nến, và viêm da với các thành phần viêm cấp tính, bệnh pemphigut, pemphigoit, viêm da dị ứng), và hội chứng mày đay. Theo một số phương án, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1 là đa xơ cứng, hội chứng ruột dễ bị kích thích, viêm khớp dạng thấp, bệnh vẩy nến hoặc các rối loạn viêm ngoài da khác.

Các bệnh do virus có thể điều trị được bằng hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh viêm họng sốt cấp tính, sốt do viêm họng- kết mạc, dịch viêm giác-kết mạc, viêm dạ dày-ruột ở trẻ nhỏ, các lây nhiễm Cocksackie, tăng bạch cầu đơn nhân do nhiễm, ung thư bạch huyết Burkitt, bệnh viêm gan cấp tính, bệnh viêm gan mạn tính, bệnh xơ gan, bệnh ung thư biểu mô tế bào gan, nhiễm HSV-1 sơ cấp (ví

dụ, bệnh nước miệng ở trẻ nhỏ, viêm amidan và viêm họng ở người lớn, bệnh đau mắt đỏ), nhiễm HSV-1 tiềm tàng (ví dụ, bệnh viêm mồng và herpes môi), nhiễm HSV-2 sơ cấp, nhiễm HSV-2 tiềm tàng, viêm màng não vô trùng, tăng bạch cầu đơn nhân do nhiễm, bệnh thể vùi Cytomegalic, bệnh Kaposi, bệnh Castleman đa tâm, ung thư bạch huyết tuôn trào sơ cấp, AIDS, bệnh cúm, hội chứng Reye, bệnh sởi, bệnh viêm não và dây cột sống sau nhiễm, bệnh quay bị, thương tổn biểu mô tăng sản (ví dụ, mụn thông thường, phẳng, bàn chân và hậu môn cơ quan sinh dục, u nhú thanh quản, loạn sản thượng bì dạng hạt), ung thư biểu mô cổ tử cung, ung thư biểu mô tế bào có tua, bệnh bạch hầu thanh quản, bệnh viêm phổi, bệnh viêm phế quản, bệnh lạnh thông thường, nhiễm khuẩn, bệnh đại, hội chứng tương tự cúm, bệnh viêm phế quản với viêm phổi nguy kịch, bệnh sởi Đức, bệnh rubella bẩm sinh, bệnh thủy đậu, và bệnh zona. Các bệnh do virus có thể điều trị được bằng hợp chất theo sáng chế cũng bao gồm nhiễm virus mạn tính, bao gồm bệnh viêm gan B và viêm gan C.

Các rối loạn về mắt minh họa bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chứng phù điểm vàng (chứng phù điểm vàng do đái tháo đường và không do đái tháo đường), thoái hóa điểm vàng liên quan đến tuổi tác (các dạng ướt và khô), thoái hóa điểm vàng dạng đĩa hóa già, chứng phù điểm vàng dạng túi, chứng phù mí mắt, chứng phù võng mạc, bệnh võng mạc do đái tháo đường, bệnh màng mạch-võng mạc, bệnh hoàng điểm tân mạch, bệnh tăng nhãn áp tân mạch, bệnh viêm màng mạch nhỏ, viêm móng mắt, bệnh viêm mạch võng mạc, bệnh viêm nội nhãn, bệnh viêm toàn nhãn, bệnh viêm mắt di căn, bệnh viêm hắc mạc, viêm biểu mô sắc tố võng mạc, viêm màng kết, viêm thể mi, viêm màng cứng mắt, viêm thượng cùng mạc, viêm dây thần kinh thị giác, viêm dây thần kinh thị giác sau nhãn cầu, viêm giác mạc, viêm mí mắt, bong võng mạc dịch rỉ, loét màng sừng, loét màng kết, viêm giác mạc hình tròn mạn tính, bệnh viêm mắt kết hợp với sự giảm oxy huyết hoặc thiếu máu cục bộ, bệnh võng mạc tính sớm, bệnh võng mạc do đái tháo đường tăng sinh tế bào, bệnh màng mạch polyp, tăng sinh tế bào u mạch võng mạc, sự nghẽn động mạch võng mạc, sự nghẽn tĩnh mạch võng mạc, bệnh Coat, bệnh dịch kính-võng mạc dịch rỉ thuộc gia đình, bệnh không mạch đập (bệnh Takayasu), bệnh Eales, hội chứng kháng thể kháng phospholipid, bệnh võng mạc bạch cầu, hội chứng dính quá mức của máu, bệnh macroglobulin huyết, bệnh võng mạc kết hợp với

interferon, bệnh vồng mạc do tăng huyết áp, bệnh vồng mạc do bức xạ, sự thiếu hụt tế bào gốc màng sừng hoặc bệnh đục thủy tinh thể.

Bệnh thoái hóa thần kinh có thể điều trị được bằng hợp chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bệnh Parkinson, Alzheimer và Huntington, và bệnh xơ cứng teo cơ một bên (ALS/Lou Gehrig's Disease). Theo một số phương án, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1 là ALS.

Các hợp chất và dược phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này cũng có thể được sử dụng để điều trị các rối loạn phát triển mô bất thường và chứng xơ hóa bao gồm bệnh cơ tim giãn nở, bệnh cơ tim phì đại, bệnh cơ tim giới hạn, chứng xơ hóa phổi, chứng xơ gan, viêm tiểu cầu thận và các rối loạn thận khác.

Các hợp chất và dược phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này cũng có thể được sử dụng để điều trị các rối loạn liên quan đến sự hấp thu thức ăn, như bệnh béo phì và chứng háu ăn. Theo một số phương án, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1 là bệnh béo phì.

Theo một số phương án, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1 là bệnh teo cơ, bệnh viêm khớp, ví dụ, bệnh viêm xương-khớp và viêm khớp dạng thấp, viêm cột sống cứng khớp, tổn thương não cho chấn thương, tổn thương tủy sống, nhiễm trùng, bệnh thấp khớp, chứng xơ vữa động mạch do bệnh ung thư, bệnh đái tháo đường typ 1, bệnh đái tháo đường typ 2, bệnh thận do xoắn khuẩn, bệnh tăng nhãn áp, bệnh thận, hóa già, đau đầu, đau, hội chứng đau vùng phức hệ, bệnh tim phì đại, sự mòn cơ, các rối loạn dị hóa, chứng béo phì, sự làm chậm phát triển của bào thai, bệnh dư cholesterol huyết, bệnh tim, bệnh suy tim mạn tính, chứng thiếu máu cục bộ/trào ngược lại, đột quỵ, phình mạch não, đau họng, bệnh phổi, xơ nang, thương tổn phổi do axit, chứng tăng huyết áp phổi, bệnh hen, bệnh nghẽn phổi mạn tính, hội chứng Sjogren, bệnh màng trong suốt, bệnh thận, bệnh cần thận, bệnh gan do rượu, bệnh gut, bệnh lạc nội mạc tử cung, bệnh về da, bệnh viêm xoang mũi, u trung biểu mô, chứng loạn sản ngoại bì tiết mồ hôi-ID, bệnh behcet, bệnh sắc tố không kiểm chế, bệnh lao, bệnh hen, bệnh Crohn, viêm ruột kết, bệnh mắt dị ứng, bệnh viêm ruột thừa, bệnh paget, bệnh viêm tuyến tụy, bệnh nha chu, bệnh lạc nội mạc tử cung, bệnh viêm ruột, bệnh viêm phổi,

bệnh do silic dioxit gây ra, chứng ngưng thở khi ngủ, AIDS, HIV-1, bệnh tự miễn dịch, hội chứng kháng phospholipit, luput, viêm thận luput, sốt địa trung hải trong gia đình, hội chứng sốt theo chu kỳ di truyền, bệnh căng thẳng xã hội, bệnh thần kinh, bệnh thần kinh amyloid gia đình, bệnh viêm thần kinh, bệnh parkinson, đa xơ cứng, bệnh Alzheimer, xơ cứng teo cơ một bên, bệnh huntington, bệnh đục thủy tinh thể hoặc mất thính giác.

Theo các phương án khác, rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1 là tổn thương đầu, viêm màng mạch nhỏ, đau do viêm, bệnh hen gây ra do dị ứng, bệnh hen không do dị ứng, viêm cầu thận, viêm loét ruột kết, viêm ruột non gây chết hoại, globulin niệu miễn dịch quá mức D kèm sốt tái phát (HIDS), thụ thể TNF kết hợp với hội chứng tuần hoàn (TRAPS), cryopyrin kết hợp với hội chứng tuần hoàn, hội chứng Muckle-Wells (chứng thoái hóa dạng tinh bột do tật diếm gây chứng mày đay), chứng mày đay lạnh do yếu tố gia đình, bệnh viêm đa hệ khởi phát ở trẻ nhỏ (NOMID), sốt theo chu kỳ, viêm nhiệt miệng, viêm họng và viêm hạch (hội chứng PFAPA), hội chứng Blau, chứng viêm khớp khô sinh mủ, bệnh viêm mủ da hoại thư, mụn trứng cá (PAPA), sự thiếu hụt chất đối kháng thụ thể interleukin-1 (DIRA), sự xuất huyết dưới màng nhện, bệnh thận có vách, sự cấy ghép, sự cấy ghép cơ quan, sự cấy ghép mô, hội chứng loạn sản tủy, viêm do kích thích, viêm do kích thích thực vật, viêm do dầu sơn độc/urushiol, viêm do kích thích hóa chất, viêm do ong đốt, viêm do côn trùng cắn, sạm nắng, vết bỏng, chứng viêm da, nội độc tố huyết, thương tổn phổi, hội chứng đau do hô hấp cấp tính, bệnh viêm gan do rượu, hoặc tổn thương thận do lây nhiễm vật ký sinh gây ra.

Theo phương án khác, hợp chất hoặc dược phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này có thể được sử dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa dị ứng và các rối loạn hô hấp, bao gồm bệnh hen, viêm phế quản, xơ hóa phổi, viêm mũi dị ứng, độc tố oxy, bệnh khí thũng, viêm phế quản mạn tính, hội chứng đau do hô hấp cấp tính, và bệnh nghẽn phổi mạn tính bất kỳ (COPD).

Phần mô tả này bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức I trong sản xuất thuốc để điều trị rối loạn hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoạt tính CRM1. Phần mô tả này bộc lộ việc sử dụng hợp chất có công thức I để sản xuất thuốc để điều trị bệnh kết hợp

với sự biểu hiện hoặc hoạt tính của protein p53, p73, p21, pRB, p27, I κ B, NF κ B, c-Abl, FOXO hoặc COX-2 ở đối tượng. Phần mô tả cũng mô tả việc sử dụng hợp chất có công thức I trong sản xuất thuốc để điều trị bệnh ung thư và/hoặc rối loạn khối u, sự tạo mạch, các rối loạn tự miễn dịch, các rối loạn viêm và/hoặc bệnh, các biểu sinh học, các rối loạn và/hoặc bệnh hormone, các bệnh virus, rối loạn thoái hóa thần kinh và/hoặc các bệnh và rối loạn mắt.

Phần mô tả này cũng mô tả phương pháp ức chế CRM1 ở mẫu sinh học hoặc người bệnh bao gồm cho mẫu sinh học tiếp xúc với hoặc cho người bệnh dùng, muối được dùng của hợp chất có công thức I, hoặc được phẩm được dùng chứa chúng.

Các rối loạn do khối u

Hợp chất hoặc được phẩm được mô tả trong bản mô tả sáng chế này có thể được sử dụng để điều trị rối loạn do khối u. “Rối loạn do khối u” là bệnh hoặc rối loạn được đặc trưng bởi tế bào có khả năng phát triển tự động hoặc sao chép, ví dụ, trạng thái bất thường hoặc tình trạng bệnh được đặc trưng bởi sự phát triển tăng sinh tế bào, lành tính hoặc ác tính. Các rối loạn do khối u minh họa bao gồm: ung thư biểu mô, sarcoma (ví dụ, mô mềm), sarcoma xương, các rối loạn di căn (ví dụ, các khối u xuất hiện từ nguồn gốc tuyến tiền liệt, não, xương, dạ dày-ruột, phổi, vú, buồng trứng, cổ tử cung, tuyến tụy, thận, đầu và cổ và gan), các rối loạn do khối u máu (ví dụ, bệnh bạch cầu, ung thư bạch huyết, u tủy và các rối loạn tế bào huyết tương ác tính khác), và các khối u di căn. Theo một phương án, bệnh ung thư được điều trị được chọn từ vú, buồng trứng, cổ tử cung, dạ dày-ruột, tuyến tiền liệt, ruột kết, phổi, thận, não, gan và bệnh ung thư tuyến tụy. Việc điều trị bằng hợp chất có thể là với lượng hữu hiệu để cải thiện ít nhất một triệu chứng của rối loạn do khối u, *ví dụ*, làm giảm sự tăng sinh tế bào, làm giảm khối khối u, v.v.

Theo một phương án, rối loạn do khối u là bệnh ung thư vú tương tự cơ sở (BLBC). BLBC chiếm đến 15% trong số các bệnh ung thư vú (BC) và thường là bệnh ung thư vú âm tính bộ ba (TNBC), được đặc trưng bởi sự thiếu hụt ER, thụ thể progesteron PR, và sự khuếch đại HER-2. Theo phương án cụ thể, bệnh ung thư vú là TNBC. Ngoài ra, hầu hết BRCA1 kết hợp BC là BLBC và TNBC, biểu hiện xytokeratin

cơ sở và EGFR. BLBC là được đặc trưng bởi kiểu hình xâm lấn, mức mô học cao và các kết quả lâm sàng kém với tốc độ tái phát và di căn ở mức cao.

Liệu pháp điều trị kết hợp

Theo một số phương án, hợp chất được mô tả trong bản mô tả sáng chế này được dùng kết hợp với chất điều trị hoặc liệu pháp điều trị “thứ hai” bổ sung. Việc lựa chọn chất điều trị thứ hai có thể được thực hiện từ chất bất kỳ mà thường được sử dụng trong liệu pháp điều trị đơn để điều trị bệnh hoặc tình trạng bệnh được chỉ định. Như được sử dụng trong bản mô tả sáng chế này, thuật ngữ “được dùng kết hợp” và các thuật ngữ có liên quan đề cập đến việc dùng đồng thời hoặc theo trình tự của chất điều trị theo sáng chế. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng với chất điều trị khác một cách đồng thời hoặc theo trình tự trong các dạng liều đơn vị riêng biệt hoặc cùng với dạng liều đơn vị đơn lẻ. Do đó, sáng chế đề xuất dạng liều đơn vị đơn lẻ bao gồm hợp chất có công thức I, chất điều trị bổ sung, và chất mang được dùng, chất phụ trợ hoặc tá dược dạng lỏng.

Theo một phương án của sáng chế, trong đó chất điều trị thứ hai được dùng cho đối tượng, lượng hữu hiệu của hợp chất theo sáng chế là nhỏ hơn lượng hữu hiệu của nó, có thể là chất điều trị thứ hai không được dùng. Theo phương án khác, lượng hữu hiệu của chất điều trị thứ hai là nhỏ hơn lượng hữu hiệu của nó, hợp chất theo sáng chế không được dùng. Theo cách này, các tác dụng phụ không mong muốn kết hợp với các liều cao của chất có thể được giảm thiểu. Các lợi ích hiệu lực khác (bao gồm, mà không hạn chế, chế độ liều được cải thiện và/hoặc chi phí về dược chất được giảm) sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Việc điều trị bệnh ung thư bổ sung minh họa bao gồm, ví dụ: hóa học trị liệu, các liệu pháp điều trị hướng đích như các liệu pháp điều trị kháng thể, các chất ức chế kinaza, liệu pháp điều trị miễn dịch và liệu pháp điều trị hormone, liệu pháp điều trị biểu sinh, chất ức chế proteasom, và các liệu pháp chống tạo mạch. Các ví dụ về mỗi trong số các phép điều trị này được đề xuất dưới đây.

Các ví dụ về các chất hóa học trị liệu trong liệu pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm, ví dụ, các chất chống chuyển hóa (ví dụ, axit folic, purin và dẫn xuất pyrimidin)

và các chất alkyl hóa (ví dụ, nitơ mù tạt, nguồn nitơ, platin, alkyl sulfonat, hydrazin, triazen, aziridin, độc tố trực chính, các chất gây độc tế bào, các chất ức chế topoisomeraza và cá chất khác). Các chất minh họa bao gồm aclarubixin, actinomycin, alitretinoin, altretamin, aminopterin, axit aminolevulinic, amrubixin, amsacrin, anagrelit, arsen trioxit, asparaginaza, atrasentan, belotecan, bexaroten, bendamustin, bleomycin, bortezomib, busulfan, camptothecin, capecitabin, carboplatin, carboquon, carmofur, carmustin, celecoxib, chlorambucil, chlormethin, cisplatin, cladribin, clofarabin, crisantaspaza, cyclophosphamid, xytarabin, dacarbazin, dactinomycin, daunorubicin, decitabin, demecolxin, docetaxel, doxorubicin, efaproxiral, elesclomol, elsamitruxin, enocitabin, epirubicin, estramustin, etoglucid, etoposid, floxuridin, fludarabin, flouxil (5FU), fotemustin, gemcitabin, cấy ghép gliadel, hydroxycarbamid, hydroxyure, idarubicin, ifosfamid, irinotecan, irofulven, ixabepilone, larotaxel, leucovorin, liposomal doxorubicin, liposomal daunorubicin, lonidamin, lomustin, lucanthone, mannosulfan, masoprocol, melphalan, mercaptopurin, mesna, methotrexat, methyl aminolevulinat, mitobronitol, mitoguazon, mitotan, mitomycin, mitoxantron, nedaplatin, nimustin, oblimersen, omacetaxin, ortataxel, oxaliplatin, paclitaxel, pegaspargaza, pemetrexed, pentostatin, pirarubicin, pixantron, plicamycin, porfimer natri, prednimustin, procarbazine, raltitrexed, ranimustin, rubitecan, sapacitabin, semustin, sitimagene ceradenovec, strataplavin, streptozoxin, talaporfin, tegafur-uracil, temoporfin, temozolomid, teniposid, tesetaxel, testolacton, tetranitrat, thiotepa, tiazofurin, tioguanin, tipifarnib, topotecan, trabectedin, triaziquon, trietylenmelamin, triplatin, tretinoin, treosulfan, trofosfamid, uramustin, valrubicin, verteporfin, vinblastin, vincristin, vindesin, vinflunin, vinorelbin, vorinostat, zorubicin, và các chất gây độc tế bào khác hoặc các chất gây độc tế bào được mô tả trong bản mô tả sáng chế này.

Do các dược chất hoạt động cùng với nhau tốt hơn so với đơn lẻ, nên hai hoặc nhiều dược chất thường được dùng ở cùng lúc. Thông thường, hai hoặc nhiều chất hóa học trị liệu được sử dụng như hóa học trị liệu kết hợp. Theo một số phương án, các chất hóa học trị liệu (bao gồm hóa học trị liệu kết hợp) có thể được sử dụng trong tổ hợp với hợp chất được mô tả trong bản mô tả sáng chế này.

Liệu pháp điều trị hướng đích tạo ra việc sử dụng các chất đặc hiệu đối với các protein mất khả năng điều hòa của tế bào ung thư. Các được chất phân tử nhỏ của liệu pháp điều trị hướng đích thường là các chất ức chế của các miền enzym trên các protein đột biến, biểu hiện quá mức hoặc tới hạn khác trong tế bào ung thư. Các ví dụ nổi bật là các chất ức chế tyrosin kinaza như axitinib, bosutinib, cediranib, dasatinib, erlotinib, imatinib, gefitinib, lapatinib, lestaurtinib, nilotinib, semaxanib, sorafenib, sunitinib, và vandetanib, và cả các chất ức chế kinaza phụ thuộc cyclin như alvociclib và seliciclib. Liệu pháp điều trị kháng thể đơn dòng là chiến lược khác trong đó chất điều trị là kháng thể mà gắn kết một cách đặc hiệu với protein trên bề mặt của tế bào ung thư. Các ví dụ bao gồm kháng thể trastuzumab kháng HER2/neu (Herceptin®) thường được sử dụng trong bệnh ung thư vú, và kháng thể rituximab kháng CD20 và tositumomab thường được sử dụng trong nhiều khối u ác tính tế bào B. Các kháng thể minh họa khác bao gồm cetuximab, panitumumab, trastuzumab, alemtuzumab, bevacizumab, edrecolomab, và gemtuzumab. Các protein ngưng tụ minh họa bao gồm aflibercept và denileukin diftotox. Theo một số phương án, liệu pháp điều trị hướng đích có thể được sử dụng trong tổ hợp với hợp chất được mô tả trong bản mô tả sáng chế này, *ví dụ*, Gleevec (Vignari và Wang 2001).

Liệu pháp điều trị hướng đích cũng có thể bao gồm các peptit nhỏ như “các thiết bị nhà ở” mà có thể gắn kết với các thụ thể bề mặt tế bào hoặc các động đến chất nền ngoại bào xung quanh khối u. Các nuclit phóng xạ mà được gắn vào các peptit này (*ví dụ*, RGD) sau cùng giết tế bào ung thư nếu sự phân hủy nuclit ở vùng lân cận của tế bào. Ví dụ về liệu pháp điều trị bao gồm BEXXAR®.

Liệu pháp chống tạo mạch có thể bao gồm chất ức chế kinaza tạo đích yếu tố phát triển màng trong mạch (VEGF) như sunitinib, sorafenib, hoặc các kháng thể đơn dòng hoặc thụ thể “decoy” với thụ thể VEGF hoặc VEGF bao gồm bevacizumab hoặc VEGF-Trap, hoặc thalidomit hoặc chất tương tự của nó (lenalidomit, pomalidomit), hoặc các chất tạo đích các đích kháng tạo mạch VEGF như yếu tố phát triển nguyên bào sợi (FGF), angiopoietin hoặc angiostatin hoặc endostatin.

Các liệu pháp điều trị biểu sinh bao gồm các chất ức chế enzym kiểm soát các biến đổi biểu sinh, ADN metyltransferaza một cách đặc hiệu và histon deacetylaza, mà

thể hiện các tác dụng kháng khối u có triển vọng đối với một số khối u ác tính, cũng như oligonucleotit nghĩa ngược và ARN nhiễu ngắn.

Liệu pháp miễn dịch bệnh ung thư đề cập đến một tập hợp đa dạng gồm các chiến lược điều trị được xác định gây cảm ứng hệ miễn dịch của chính người bệnh để chống lại khối u. Các phương pháp hiện nay tạo ra đáp ứng miễn dịch chống lại khối u bao gồm liệu pháp miễn dịch BCG trong bàng quang bệnh ung thư bàng quang bề mặt, vắc xin Provenge bệnh ung thư tuyến tiền liệt, và việc sử dụng interferon và các xytokin khác để gây đáp ứng miễn dịch ở người bệnh mắc bệnh ung thư biểu mô tế bào thận và khối u ác tính.

Sự cấy ghép tế bào gốc tạo máu dị sinh có thể được xem là dạng của liệu pháp điều trị miễn dịch, do tế bào miễn dịch của người cho sẽ thường tấn công khối u trong tác dụng mảnh ghép kháng khối u. Theo một số phương án, các chất liệu pháp miễn dịch có thể được sử dụng trong tổ hợp với hợp chất được mô tả trong bản mô tả sáng chế này.

Các tác nhân dung trong liệu pháp hormone bao gồm sử dụng chất chủ vận hormone hoặc chất đối kháng hormone và bao gồm retinoit/axit retinoic, các hợp chất mà ức chế estrogen hoặc testosterone, cũng như việc dùng progestogen.

Thông thường, phần mô tả trên đây mô tả sáng chế. Việc hiểu đầy đủ hơn có thể đạt được nhờ tham chiếu đến các Ví dụ cụ thể dưới đây. Các ví dụ này được mô tả chỉ với mục đích minh họa và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế. Các thay đổi theo dạng và sự thể của các chất tương đương được dự định là các trường hợp có thể gợi ý hoặc tạo ra lợi ích. Mặc dù các thuật ngữ cụ thể được dùng trong bản mô tả sáng chế này, các thuật ngữ này nhằm mục đích mô tả và không nhằm mục đích giới hạn sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các chữ viết tắt

atm	Không khí
aq.	Nước
BINAP	2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl

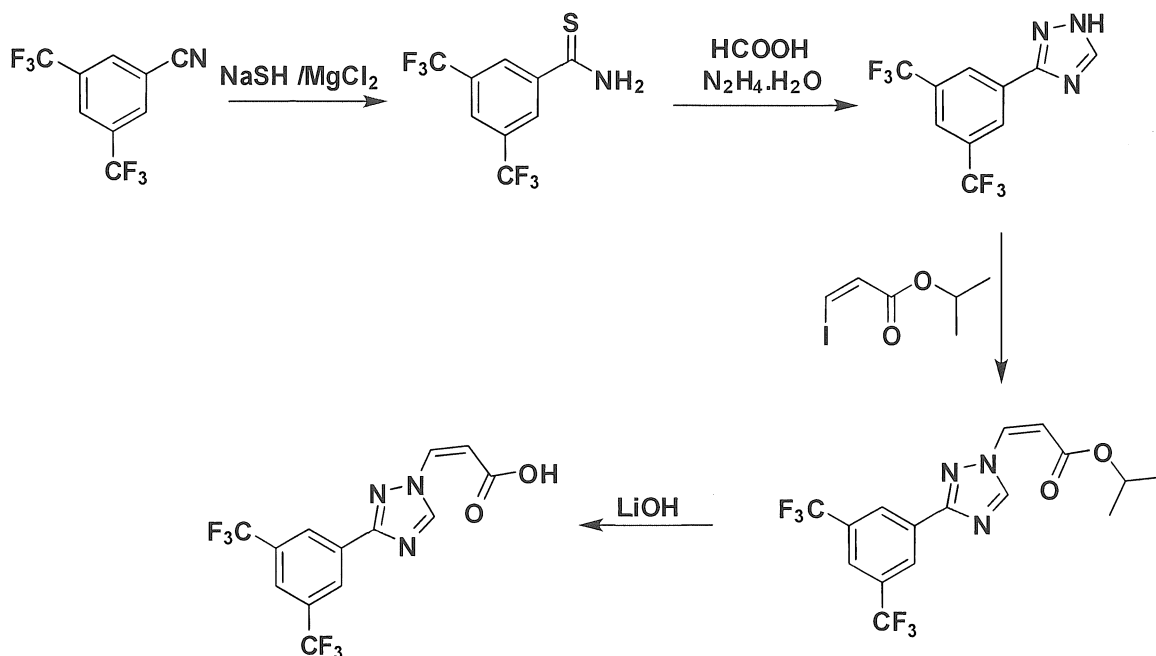
Boc	tert-butoxycarbonyl
CDI	N,N'-Carbonyldiimidazol
CH ₂ Cl ₂	Diclometan
DCC	N,N-Dixyclohexylcarbodiimit
DCM	Diclometan
DBU	Diaza(1,3)bixyclo[5.4.0]undecan
DIC	N,N'-Diisopropylcarbodiimit
DIPEA	N,N-Diisopropyletylamin
DMAP	N,N-Dimetyl-4-aminopyridin
DMF	N,N-Dimetylformamit
DMSO	Dimetylsulfoxit
DPPF	Diphenylphosphinoferoxen
EA	Etyl acxtat
EDCI	N-[3-(dimetylamino)propyl]-N'-etylcabodiimit hydroclorua
EDC	1-Etyl-3-(3-dimetylamino)propylcarbodiimit
eq.	(các) đương lượng
Et ₂ O	Dietylete
EtOAc	Etyl axetat
EtOH	Etanol
EtI	Iodoetan
Et	Etyl
Fmoc	9-fluorenylmetyloxycarbonyl
GC	Sắc ký khí
h	giờ
HetAr	Heteroaryl
HOBt	N-Hydroxybenzotriazol
HBTUO-(Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetrametyluron hexaflophosphat	
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
LAH	Lithi nhôm hydrua
LCMS	Phép đo phổ khối sắc ký lỏng

MCPBA	Axit m-cloperbenzoic
MeCN	Axetonitril
MeOH	Metanol
min	Phút
MeI	Iodometan
MeMgCl	Metyl magie clorua
Me	Metyl
NaOAc	Natri axetat
NMR	Cộng hưởng từ hạt nhân
NMP	N-Metyl pyrrolidinon
o.n.	qua đêm
RT	Nhiệt độ trong phòng hoặc thời gian lưu
T3P	Anhydrit propylphosphonic
TEA	Trietylamin
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Sắc ký lớp mỏng

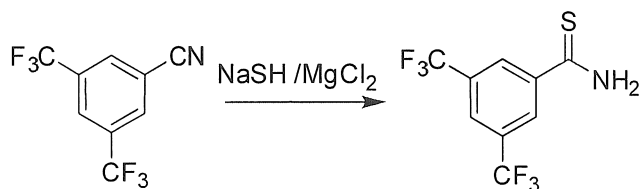
Trong phần mô tả về các quy trình dưới đây, cần hiểu rằng, nếu thích hợp, các nhóm bảo vệ thích hợp sẽ được bổ sung vào, và sau đó được loại bỏ, các chất phản ứng và các chất trung gian khác nhau theo cách mà sẽ được hiểu một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các quy trình thông thường sử dụng các nhóm bảo vệ này, cũng như các ví dụ về các nhóm bảo vệ thích hợp, được mô tả, ví dụ trong ấn phẩm: “Protective Groups in Organic Synthesis”, T.W. Green, P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience, New York, (1999). Cũng cần hiểu rằng sự biến đổi của nhóm hoặc phân tử thể thành nhóm hoặc phân tử thể khác nhờ thao tác hóa học có thể được thực hiện trên hợp chất trung gian hoặc sản phẩm cuối cùng bất kỳ trong quy trình tổng hợp hướng tới việc thu được sản phẩm cuối cùng, trong đó loại biến đổi có thể có được giới hạn bởi tính không tương thích vốn có của các nhóm chức khác nhau được thực hiện bởi phân tử ở giai đoạn đối với các điều kiện hoặc chất phản ứng được dùng trong quy trình biến đổi. Tính không tương thích vốn có này, và các cách biến đổi chúng bằng cách thực hiện các biến đổi thích hợp và các bước tổng hợp theo thứ tự thích hợp, sẽ

được hiểu một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hóa học. Các ví dụ về các biến đổi được nêu dưới đây, và sẽ được hiểu rằng các quy trình biến đổi được mô tả không chỉ giới hạn ở các nhóm chung hoặc các phần tử thể mà các quy trình biến đổi được minh họa. Các tham chiếu và phần mô tả đối với các biến đổi thích hợp khác được nêu trong ấn phẩm: “Comprehensive Organic Transformations – A Guide to Functional Group Preparations” R. C. Larock, VHC Publishers, Inc. (1989). Các tham chiếu và mô tả về các phản ứng thích hợp khác được mô tả trong sách giáo khoa về hóa học hữu cơ, ví dụ, “Advanced Organic Chemistry”, March, 4th ed. McGraw Hill (1992) hoặc “Organic Synthesis”, Smith, McGraw Hill, (1994). Các kỹ thuật để tinh chế các chất trung gian và các sản phẩm cuối bao gồm, ví dụ, sắc ký thường và sắc ký pha đảo trên cột hoặc đĩa quay, kết tinh lại, chưng cất và chiết lỏng-lỏng và rắn- lỏng, mà sẽ được hiểu một cách dễ dàng bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này. Các định nghĩa về các phần tử thể và các nhóm là như được mô tả đối với công thức I, ngoại trừ khi được xác định một cách khác biệt. Các thuật ngữ “nhiệt độ trong phòng” và “nhiệt độ môi trường” sẽ có nghĩa là, trừ phi được quy định khác, nhiệt độ nằm trong khoảng từ 16 đến 25 °C. Thuật ngữ “hồi lưu” sẽ có nghĩa là, trừ phi được quy định khác, đề cập đến dung môi, nhiệt độ ở hoặc cao hơn nhiệt độ sôi của dung môi.

Ví dụ 1: Tổng hợp hợp chất trung gian axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic.

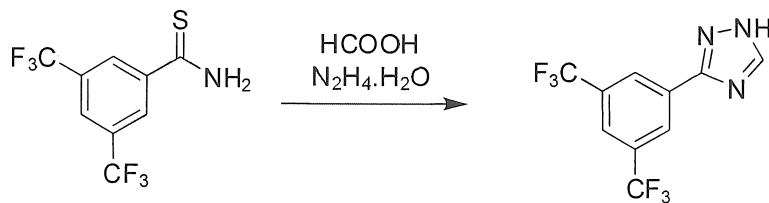


Tổng hợp 3,5-bis(triflometyl)benzothioamit:



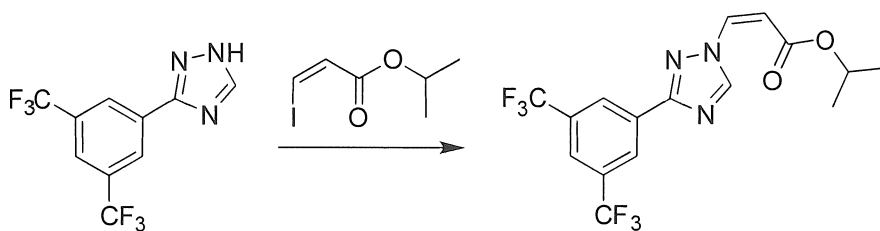
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 2L dung dịch chứa 3,5-bis(triflometyl)benzonitril (200g) trong DMF (1L). Sau đó, xử lý dung dịch bằng NaSH (123,7g, 2,0 đương lượng) và MgCl₂ (186,7g, 1,0 đương lượng) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Rót hỗn hợp phản ứng vào huyền phù nước đá (10L) và chiết hợp chất bằng EtOAc (3 x 1L). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối bão hòa (3 x 100mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 205g sản phẩm thô mong muốn 3,5-bis(triflometyl)benzothioamit (hiệu suất: 90%), được sử dụng mà không cần tinh chế thêm trong bước tiếp theo.

Tổng hợp 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 5L dung dịch chứa 3,5-bis(triflometyl)benzothioamit (205,65g) trong DMF (1,03L). Thêm từng giọt hydrazin hydrat (73,2 mL, 2,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Thêm nhỏ giọt HCOOH (1,03L) vào và hỗn hợp phản ứng được hồi lưu ở 90°C trong 3 giờ. Sau khi được làm mát đến nhiệt độ trong phòng, rót hỗn hợp phản ứng vào dung dịch nước natri bicarbonat bão hòa (7L) và chiết bằng EtOAc (3 x 1 L). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối bão hòa (3 x 500 mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20mmHg) để thu được 180g hợp chất thô. Khuấy vật liệu thô này bằng ete dầu mỏ (3 x 500 mL), lọc và làm khô để thu được 160g 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol thu được là chất rắn màu vàng nhạt (hiệu suất: 75%).

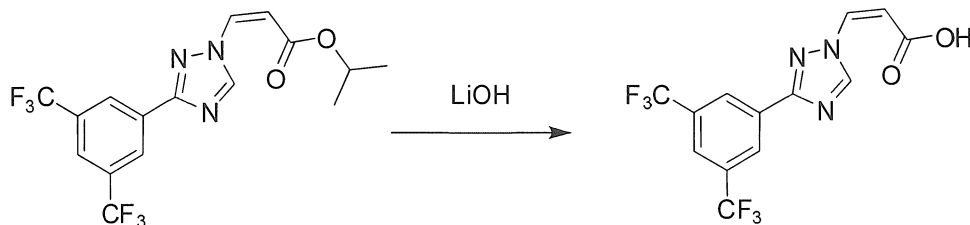
Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 2L dung dịch chứa 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (160g) trong DMF (960mL). Xử lý dung dịch này bằng DABCO (127,74g, 2 đương lượng) và khuấy trong 30 phút trước khi thêm nhỏ giọt (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (150,32g, 1,1 đương lượng) vào. Sau khoảng 1 giờ, rót hỗn hợp phản ứng vào huyền phù nước đá (5 L) và chiết bằng EtOAc (3 x 1 L). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối bão hòa (3 x 100mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20 mmHg) để thu được 250g hợp chất thô mà

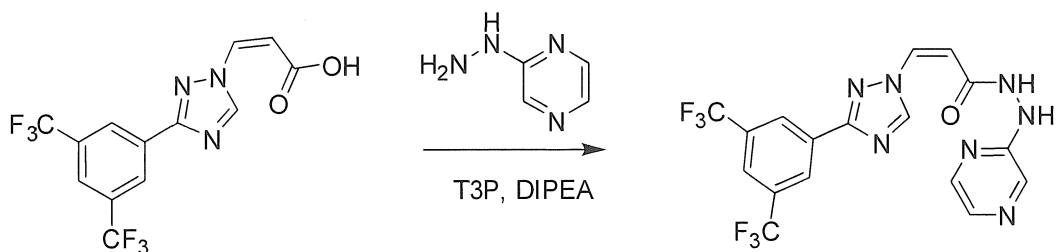
được tinh chế bằng sắc ký cột (60/120 silicagel) bằng cách sử dụng gradient ethyl axetat/n-hexan (cột được nhồi trong hexan và hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa từ 2% EtOAC/n-hexan). Gom các phân đoạn chứa các hợp chất mong muốn để thu được 138g hợp chất mong muốn thô (hiệu suất: 61%).

Tổng hợp axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic:



Trong bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 5L, hòa tan (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat (130g, 1,0 đương lượng) trong THF (1,3L). Thêm nhỏ giọt dung dịch chứa LiOH (69,3g, 5,0 đương lượng) trong nước (1,3L) vào dung dịch và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ trước khi làm ngừng bằng 400 mL huyền phù nước đá và tạo tính axit (độ pH = từ 2 đến 3) bằng nước HCl pha loãng. Chiết hỗn hợp bằng EtOAc (3 x 1 L) và rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khan qua Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 110g axit carboxylic mong muốn (hiệu suất: 94 %) (hàm lượng cis = 90,0%, hàm lượng trans = 8,2% theo LCMS).

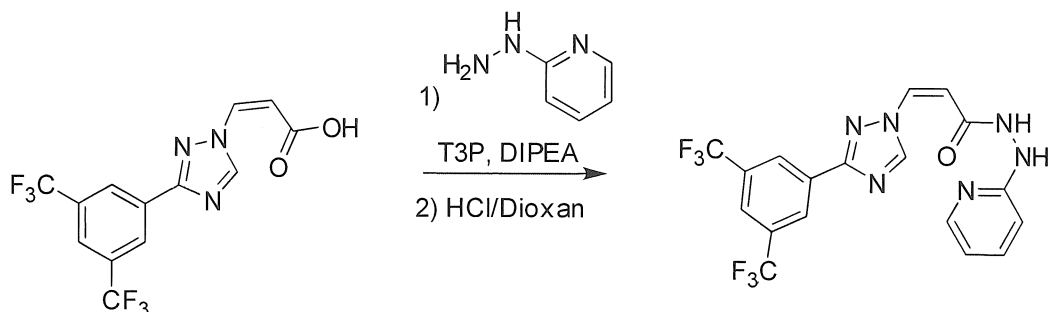
Ví dụ 2: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit (I-3).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 50-mL huyền phù chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,200g) trong 1:1

CH₂Cl₂: AcOEt (25 mL). Thêm 2-hydrazinopyrazin (0,062g) vào ở -40°C tiếp theo T3P (50%) (0,432g) và DIPEA (0,147g). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20 mmHg). Tinh chế sản phẩm thô dạng dầu bằng TLC điều chế bằng cách sử dụng 5% MeOH trong CH₂Cl₂ làm pha động (trong khí amoniac) để thu được 40 mg (hiệu suất: 16%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ,10,53 (s, 1H), 9,59 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06-8,07 (m, 1H), 7,92-7,93 (d, J=2,8 Hz, 1H), 7,51-7,53 (d, J=10,4 Hz, 1H), 6,07-6,10 (d, J=10,4 Hz, 1H); LCMS đối với C₁₇H₁₂F₆N₇O [M+H]⁺ được dự đoán: 444,31, phát hiện: 444,49 (RT 2,70 phút, độ tinh khiết: 95,78%).

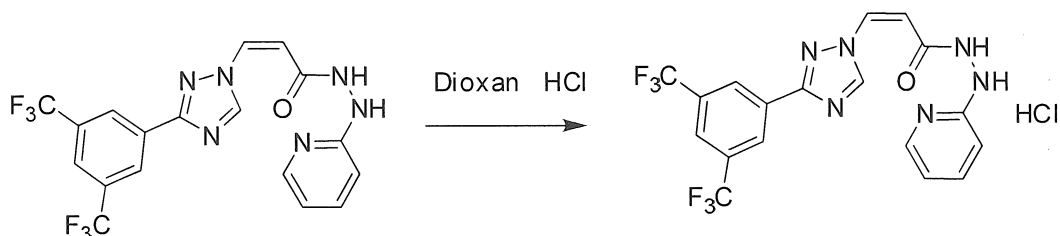
Ví dụ 3: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit hydroclorua (I-4).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 500-mL huyền phù chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (10g, 1,0 đương lượng) trong 1:1 CH₂Cl₂:AcOEt (200mL). Thêm 2-Hydrazinopyridin (3,11g) ở -40°C. Thêm nhỏ giọt T3P (50% trong etylaxetat) (21,75g) vào tiếp theo DIPEA (7,36g) và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20mm Hg) để thu được dầu thô màu nâu mà được tinh chế bằng sắc ký cột (hợp chất được tách rửa bằng 1,3% MeOH trong CH₂Cl₂). Gom các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn để thu được 6,0g (hiệu suất: 48%) (Z)-3-(3-(3,5-bis-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ,10,41(s, 1H), 9,66 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,06-8,08 (d, J=5,2 Hz, 1H), 7,48-7,53 (m, 1H), 7,49-7,52 (d, J=10,4, 1H), 6,71-6,75 (m, 1H), 6,66-6,68 (d,

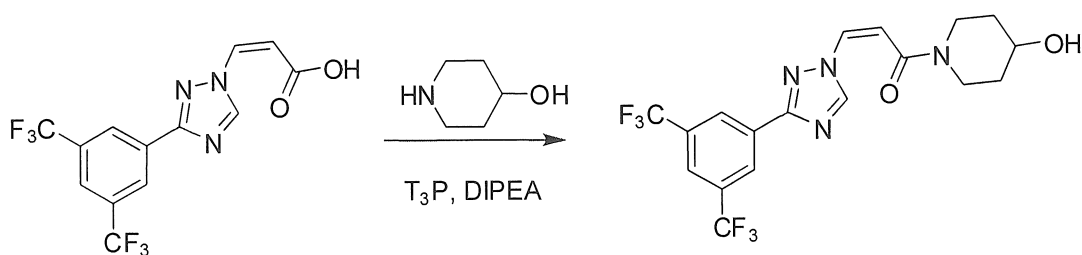
$J=8,4\text{Hz}, 1\text{H}$), 6,07-6,09 (d, $J=10,4$, 1H), LCMS đối với $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ được dự đoán: 443,33, phát hiện: 443,44 (RT 2,45 phút, độ tinh khiết: 100%).

Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit hydroclorua:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 500-mL dung dịch chứa (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit (5,5g) trong Et₂O (250mL). Làm lạnh dung dịch đến 5°C, được xử lý bằng HCl trong 1,4-dioxan, cho phép dung dịch phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy cho đến khi phản ứng hoàn thành, như được chỉ ra bằng phân tích TLC (khoảng 1 giờ). Lọc chất rắn trên phễu Büchner, rửa bằng Et₂O và làm khô trong chân không để thu được 5,5g (hiệu suất: 92%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit hydroclorua. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ , 11,26 (s, 1H), 10,89 (s, 1H), 9,55 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,03-8,07 (m, 2H), 7,62-7,59 (d, $J=10,4$ Hz, 1H), 7,21-7,24 (m, 1H), 7,05-7,09 (m, 1H), 6,16-6,19 (d, $J=10,4\text{Hz}, 1\text{H}$), LCMS đối với $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 443,33; phát hiện 443,44 (RT 3,54 phút, độ tinh khiết: 99,0%).

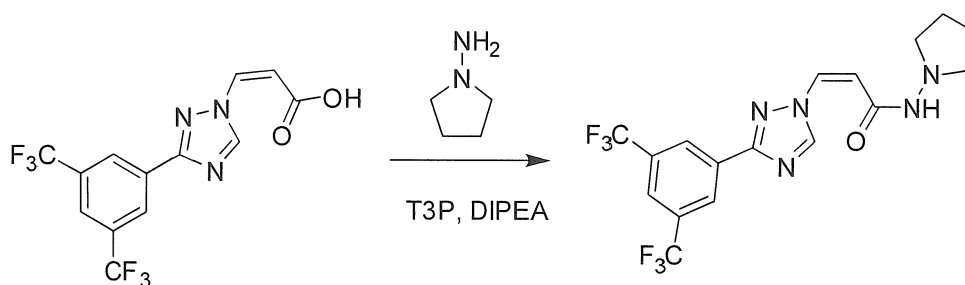
Ví dụ 4: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(4-hydroxypiperidin-1-yl)prop-2-en-1-on (I-5).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, dung tích 50-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-

(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,20g) trong CH_2Cl_2 (10mL). Thêm piperidin-4-ol (0,07g, 1,2 đương lượng) vào và làm lạnh dung dịch đến -60°C đối với việc bổ sung T3P (anhydrit propyl phosphonic) (0,40mL, 1,2 đương lượng) và DIPEA (0,19mL, 2,0 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút trước khi được rót vào nước (50 mL) và chiết bằng CH_2Cl_2 (2 x 50 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối bão hòa (50 mL), làm khan qua MgSO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20mmHg). Tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng silica 60/120 và $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ làm pha động. (hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa bằng cách sử dụng 3,0% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) thu được 0,025g (hiệu suất: 10%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(4-hydroxypiperidin-1-yl)prop-2-en-1-on. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ ,8,75 (s,1H), 8,58 (s, 2H), 7,93 (s, 1H), 7,08-7,11 (d, $J=10,4$ Hz, 1H) ,6,01-6,04 (d, $J=10,4\text{Hz}$, 1H), 4,02-4,14 (m, 1H), 3,98-4,01 (m, 1H), 3,78-3,85 (m, 1H), 3,47-3,52 (s, 1H), 3,32-3,38 (s, 1H), 1,96 (s, 1H), 1,83 (s, 1H), 1,27 (s, 1H), 0,90 (s, 1H); LCMS đối với Công thức hóa học: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 435,34; phát hiện 435,24 (RT 2,408 phút, độ tinh khiết: 89,6%).

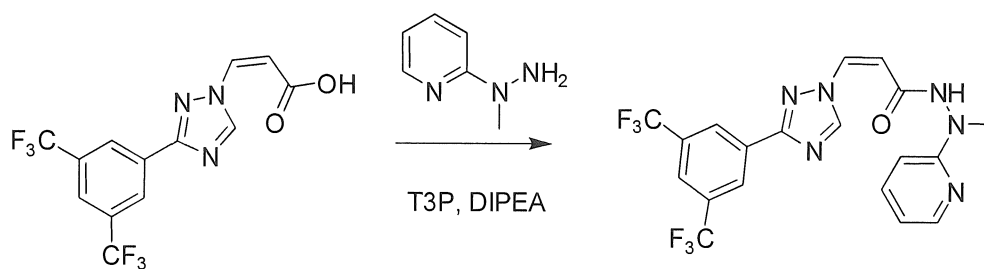
Ví dụ 5: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(pyrrolidin-1-yl)acrylamit (I-6).



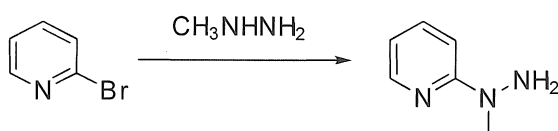
Xử lý dung dịch được làm lạnh (-40°C) chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,35g) trong 1:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{EtOAc}$ (200mL) bằng 1-aminopyrrolidin HCl (0,134 g). Sau đó, xử lý hỗn hợp bằng T3P (50% trong EtOAc; 0,77ml, 1,3 đương lượng) tiếp theo thêm từ từ DIPEA (0,51ml, 3,0 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C trước khi làm ngừng bằng nước đá và chiết bằng EtOAc (3 x 20mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối bão hòa, làm khan bằng Na_2SO_4 khan và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu

được 0,275g chất rắn thô. Tinh chế bằng sắc ký cột trên silicagel (cỡ hạt từ 60 đến 120) bằng cách sử dụng MeOH trong CH₂Cl₂ làm pha động thu được (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(pyrrolidin-1-yl)acrylamit mong muốn tinh khiết (7,0mg hiệu suất: 1,7%): ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,49 (s, 1H), 8,95 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,4-7,38 (d, J=7,6 Hz, 1H), 5,87-5,84 (d, J=10,4Hz, 1H), 2,86-2,81 (m, 4H), 1,74-1,73 (m, 4H); LCMS đối với C₁₇H₁₆F₆N₅O [M+H]⁺ 420,33; phát hiện 420,13 (RT 7,76 phút, độ tinh khiết: 92,4%).

Ví dụ 6: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit (I-7).



Tổng hợp 2-(1-metylhydrazinyl)pyridin:

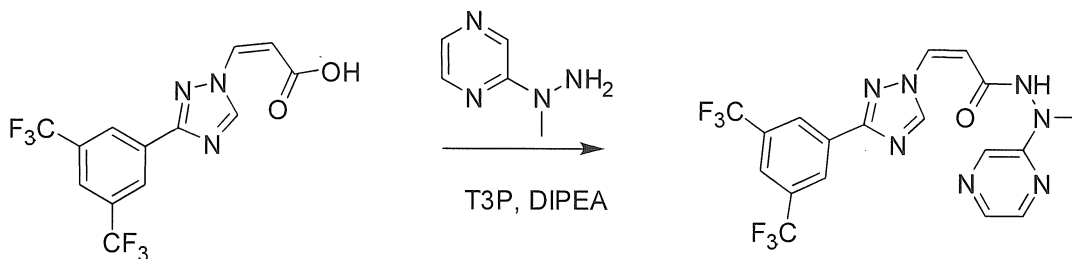


Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 25-mL bằng 2-bromopyridin (0,31g) và metyl hydrazin (5,09g, 34,2 đương lượng) trong khí nitơ và khuấy hỗn hợp và gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu ở từ 80 đến 85°C trong 1 giờ. Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (40 °C, 20mmHg) để thu được chất dầu màu vàng mà được xử lý bằng 10% trọng lượng/thể tích nước Na₂CO₃ và chiết bằng EtOAc. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối bão hòa, làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (40°C, 20mmHg) để thu được chất dầu màu vàng (0,40g), mà được sử dụng trong bước tiếp theo.

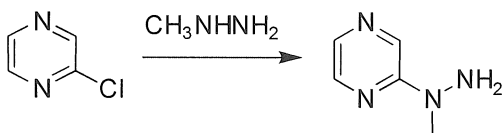
Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,43g), 2-(1-metylhydrazinyl)pyridin (0,15g, 1,0 đương lượng) trong EtOAc (10mL). Thêm T3P (50% trong EtOAc;

1,1g, 1,5 đương lượng) và DIPEA (0,40g, 2,5 đương lượng) vào trong khí nitơ ở -60°C và kiểm tra sự tiến triển của phản ứng bằng TLC (bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và hiển thị hóa bằng ánh sáng tia cực tím). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (25°C , 20mmHg) để thu được 0,65g chất rắn thô. Quá trình tinh chế được thực hiện trên sắc ký cột nhanh trong CH₂Cl₂ và MeOH (hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa ở 3,3% MeOH trong CH₂Cl₂). Gom các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20mm Hg) để thu được 90,0mg (hiệu suất: 18%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyridin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,89 (s, 1H), 9,79 (brs, 1H), 8,57-8,62 (d, 2H), 7,92-7,94 (d, J=11,2Hz, 1H), 7,59-7,64 (m, 1H), 7,19-7,25 (q, 1H), 6,75-6,89 (m, 2H), 5,85-5,88 (d, J=10,8 Hz, 1H), 3,46 (d, 3H); LCMS đối với C₁₉H₁₅F₆N₆O [M+H]⁺ 457,35; phát hiện 456,26 (RT 2,52 phút, độ tinh khiết: 100,0%).

Ví dụ 7: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit (I-8).



Tổng hợp 2-(1-metylhydrazinyl)pyrazin:

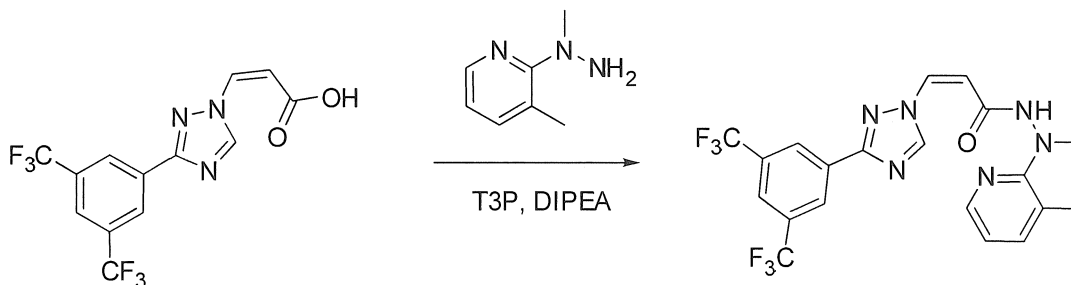


Trong bình thót cổ đáy tròn 3 cổ, 25-mL, hò tan 2-clopyrazin (0,5g) trong metyl hydrazin (0,5g, 1,5 đương lượng) trong khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng. Thêm K₂CO₃ dạng rắn (0,9g, 1,5 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng và gia nhiệt đến hồi lưu ở từ 80 đến 85°C trong 1,0 giờ. Sau đó, cho phép hỗn hợp phản ứng mát đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc dưới áp suất giảm (40°C , 20 mmHg) để thu được phần cặn là chất dầu màu vàng mà được xử lý bằng 10% trọng lượng/thể tích nước Na₂CO₃ và chiết

bằng EtOAc. Rửa phần chiết hữu cơ bằng nước muối, làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (40 °C, 20 mmHg) để thu được 0,43g chất dầu màu vàng mà được sử dụng như trong bước tiếp theo.

Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,3g), 2-(1-metylhydrazinyl) pyrazin (0,12g, 1,1 đương lượng) và CH₂Cl₂ (10mL). Thêm T3P (50% trong EtOAc; 0,38g, 1,5 đương lượng) và DIPEA (0,50g, 3,5 đương lượng) vào trong khí nitơ ở -60°C. Kiểm tra sự tiến triển của phản ứng bằng TLC (bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím). Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (25°C, 20mmHg) để thu được 0,265g sản phẩm thô là chất rắn. Quá trình tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký cột nhanh Combi bằng cách sử dụng CH₂Cl₂:MeOH làm rửa giải (hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa ở 1,5% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được 75,0mg hợp chất tinh khiết (hiệu suất 23%); (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,77 (s, 1H), 9,40-9,36 (br s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,29-8,27 (d, 2H), 8,15 (s, 1H), 7,925-7,92 (d, 1H), 7,56-7,54 (d, J=10,4 Hz, 1H), 6,13-6,10 (d, J=10,4 Hz, 1H), 3,43 (d, 3H); LCMS đối với C₁₈H₁₄F₆N₇O [M+H]⁺ 458,34; phát hiện 458,24 (RT 2,83 phút; độ tinh khiết: 96,31%).

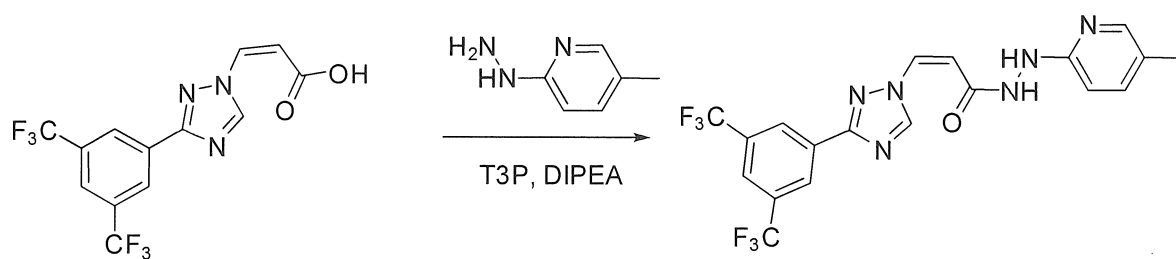
Ví dụ 8: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(3-metylpyridin-2-yl)acrylohydrazit (I-9).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) trong EtOAc (20mL). Làm lạnh dung dịch đến -70°C và xử lý một cách liên tiếp bằng 3-metyl-2-(1-

methylhydrazinyl)pyridin (0,135g, 1,0 đương lượng), T3P (50% trong EtOAc; 1,4mL, 4 đương lượng) và DIPEA (0,6mL, 6 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong suốt ở -60°C trong 4 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC bằng cách sử dụng 2,5% MeOH trong CH_2Cl_2 làm pha động và hiện màu dưới tia cực tím. Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (25°C , 20 mm Hg) để thu được hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột (cỡ hạt 60/120 SiO_2 và tách rửa bằng MeOH: CH_2Cl_2 gradient). Hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa bằng từ 0,3 đến 0,4% MeOH trong diclometan. Gom các phân đoạn chứa vật liệu mong muốn để thu được 0,21g (hiệu suất: 40%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(3-metylpyridin-2-yl)acrylohydrazit. ^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 10,73 (s, 1H), 9,32 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,45-8,46 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,97-7,99 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,48-7,50 (d, J = 10 Hz, 1H), 7,01-7,05 (m, 1H), 5,86-5,88 (d, J = 10 Hz, 1H), 3,26 (s, 3H); LCMS đối với $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{F}_9\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 525,35; phát hiện 525,19 (RT 3,31 phút, độ tinh khiết 99,40%).

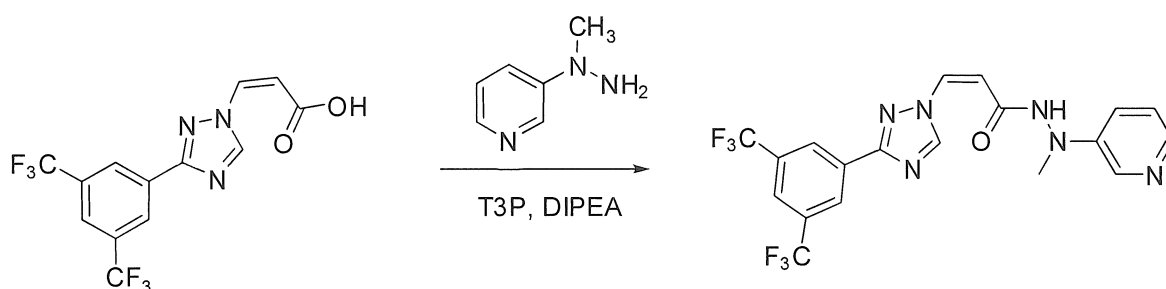
Ví dụ 9: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(5-metylpyridin-2-yl)acrylohydrazit (I-10).



Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50–mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) trong EtOAc (10mL) được xử lý bằng 2-hydrazinyl-5-metylpyridin (0,97g, 1,1 đương lượng). Làm lạnh hỗn hợp đến -60°C và được xử lý bằng T3P (anhydrit propyl phosphonic; 0,85mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (0,5mL, 4,0 đương lượng). Khuấy hỗn hợp trong 30 phút sau đó rót vào nước (50 mL) và chiết bằng CH_2Cl_2 (2 x 50 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối (50 mL), làm khan qua MgSO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20mmHg) để thu được hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột

(SiO₂, cỡ hạt 60/120, MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động). Hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa bằng 2,5% MeOH:CH₂Cl₂. Gom các phân đoạn chứa hợp chất mong muốn và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 0,130 g (hiệu suất: 40%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(5-metylpyridin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ, 10,38 (s, có thể trao đổi, 1H), 9,65 (s, 1H), 8,54 (s, 2H), 8,40 (s, có thể trao đổi, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,48-7,51 (d, J= 10,4 Hz, 1H), 7,33-7,36 (dd, J= 2 Hz, J= 6 Hz, 1H), 6,61-6,63 (d, J= 8,4 Hz, 1H), 6,20-6,23 (d, J= 10,4Hz, 1H), 2,15 (s, 3H); LCMS đối với C₁₉H₁₅F₆N₆O [M+H]⁺ 457,35; phát hiện 457,24 (RT 2,61 phút, độ tinh khiết: 99,13%).

Ví dụ 10: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyridin-3-yl)acrylohydrazit (I-11).

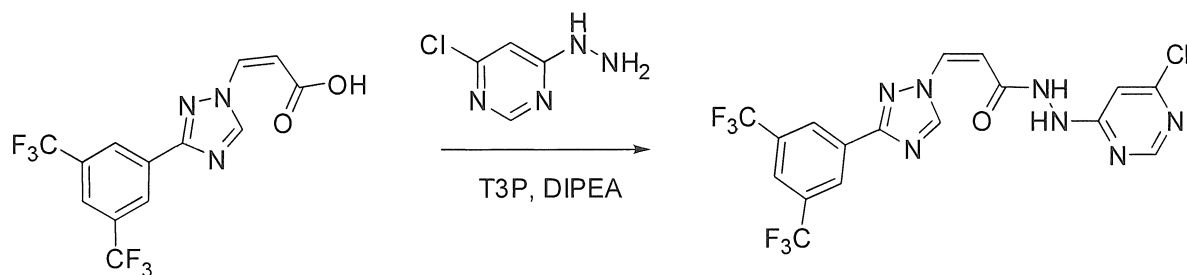


Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25) trong CH₂Cl₂ (12mL) được xử lý bằng 3-(1-metylhydrazinyl)pyridin (0,105g, 1,2 đương lượng). Làm lạnh hỗn hợp đến -60 °C và được xử lý bằng T3P (anhydrit propyl phosphonic; 0,50mL, 1,2 đương lượng) và DIPEA (0,24 mL, 2,0 đương lượng) và khuấy trong 1 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím. Sau đó, rót hỗn hợp phản ứng vào nước (50 mL) và chiết bằng CH₂Cl₂ (2 x 50 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối (50 mL), làm khô qua MgSO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25 °C, 20 mmHg) để thu được hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, cỡ hạt 60/120, MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động). Hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa trong 3,0% MeOH:CH₂Cl₂. Gom phân đoạn chứa hợp chất và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 140 mg (hiệu suất: 43 %) (Z)-3-(3-(3,5-bis

(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-metyl-N'-(pyridin-3-yl)acrylohydrazit.

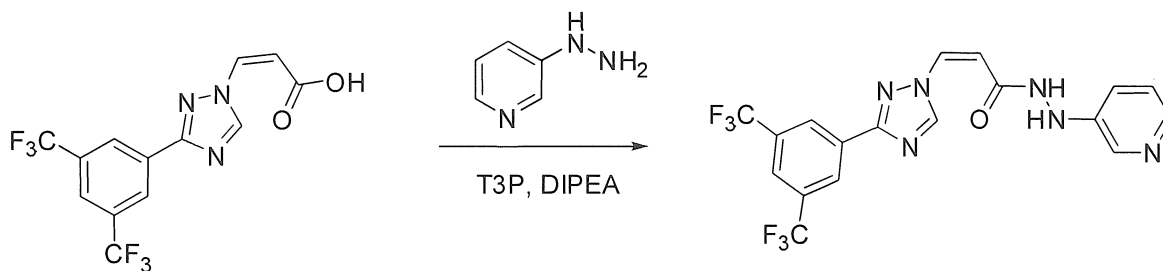
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ , 10,55 (s, 1H), 9,41 (s, 1H), 9,15 (s, 2H), 8,58 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,51-7,54 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 7,18-7,22 (m, 2H), 6,05-6,07 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,20 (s, 3H); LCMS đối với $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 457,35; phát hiện 457,19 (RT 2,43 phút, độ tinh khiết: 83,48%).

Ví dụ 11: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(6-clopyrimidin-4-yl)acrylohydrazit (I-12).



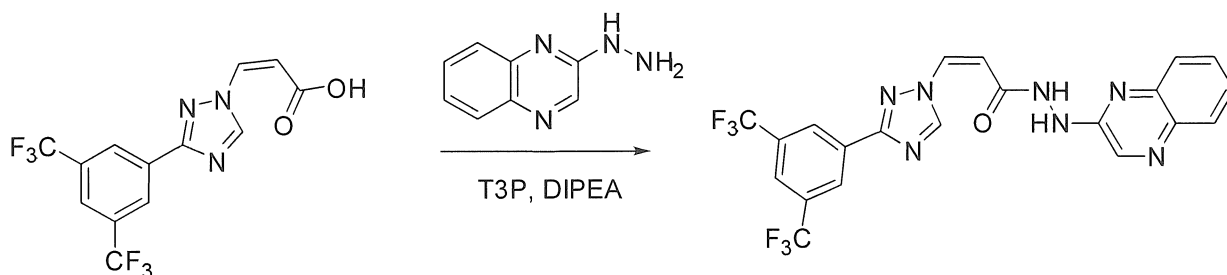
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 25-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,5g) và 4-clo-6-hydrazinopyrimidin (0,20g, 1,0 đương lượng) trong EtOAc (5,0mL). Làm lạnh hỗn hợp ở $-40\text{ }^\circ\text{C}$ và được xử lý bằng T3P (2,3mL, 2,5 đương lượng) và DIPEA (0,98mL, 4,0 đương lượng). Phân tích TLC (bằng cách sử dụng 5% MeOH- CH_2Cl_2 làm rửa giải) thể hiện rằng vật liệu khởi đầu được tiêu thụ sau 30 phút. Sau đó, pha loãng hỗn hợp phản ứng bằng CH_2Cl_2 , rửa bằng nước, làm khan qua Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20mmHg) để thu được vật liệu thô mà được cho vào tinh chế TLC điều chế bằng cách sử dụng 5% MeOH- CH_2Cl_2 làm pha động. Thu được 250 mg (hiệu suất: 36,74%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(6-clopyrimidin-4-yl)acrylohydrazit. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6), δ = 10,59 (br s, có thể thay đổi, 1H), 9,85 (br s, có thể thay đổi, 1H), 9,52 (s, 1H), 8,50 (s, 2H), 8,38 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, 1H, J = 10,4 Hz), 6,69 (s, 1H), 6,05-6,08 (d, 1H, J = 10,4 Hz); LCMS: Được tính toán đối với $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClF}_6\text{N}_7\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 478,76; phát hiện: 478,09 (RT 2,79 phút, độ tinh khiết: 97,51%).

Ví dụ 12: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-3-yl)acrylohydrazit (I-13).

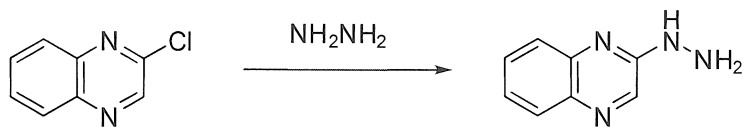


Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) và 3-hydrazinopyridin (0,077g, 1,0 đương lượng) trong EtOAc (10mL). Thêm T3P (50% trong EtOAc; 0,52g, 1,2 đương lượng) và DIPEA (0,27g, 2,0 đương lượng) vào trong khí nitơ ở từ -55 đến -60°C. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím. Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (25°C, 20 mmHg) để thu được 0,475g chất rắn thô. Quá trình tinh chế được thực hiện bằng cách sử dụng sắc ký cột nhanh Combi (với MeOH:CH₂Cl₂). Hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa ở 2,3% MeOH trong CH₂Cl₂. Gom các phân đoạn chứa hợp chất và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20mmHg) để thu được 20,0mg (hiệu suất: 6%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-3-yl)acryloylhydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,35 (s, 1H), 9,66 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,93-7,95 (m, 1H), 7,52-7,54 (d, J= 10,4Hz, 1H), 7,09 -7,15 (m, 2H), 6,04-6,07 (d, J= 10,4 Hz, 1H), LCMS đối với C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33 phát hiện 443,19 (RT 2,19 phút, độ tinh khiết: 99,60%).

Ví dụ 13: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(quinoxalin-2-yl)acryloylhydrazit (I-14).



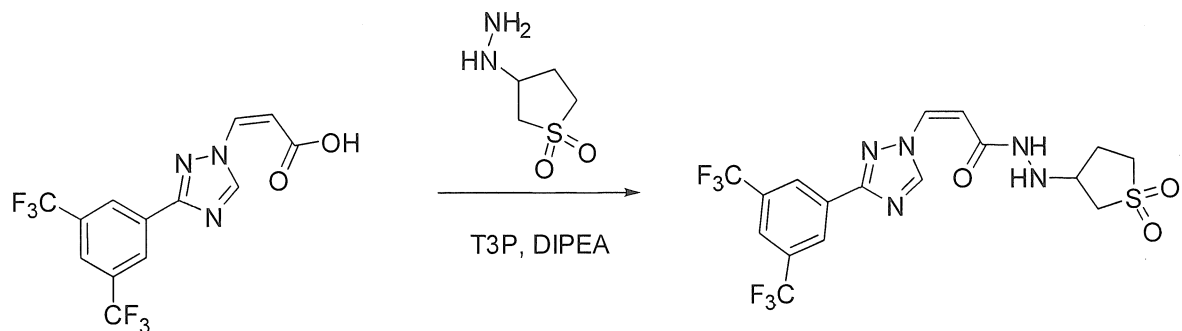
Tổng hợp 2-hydrazinylquinoxalin:



Trong ống bít kín 30-mL, hòa tan 2-cloquinoxalin (1,0g) trong etanol (8mL) và thêm hydrazin hydrat (8mL) vào trong khí nitơ ở nhiệt độ trong phòng. Khuấy hỗn hợp và gia nhiệt đến nhiệt độ hồi lưu (80°C) trong 1 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím và/hoặc với ninhydrin. Cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (40°C, 20 mmHg) để thu được 240mg chất rắn màu trắng, mà được sử dụng trong bước tiếp theo.

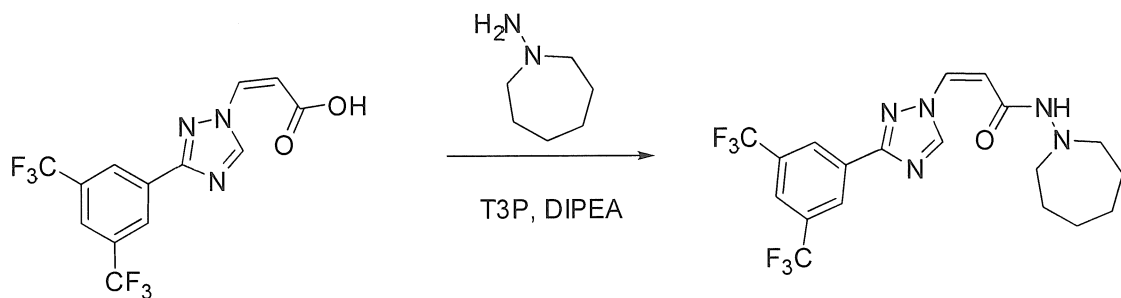
Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) và 2-hydrazinylquinoxalin (0,14g, 1,2 đương lượng) trong EtOAc. Thêm T3P (50% trong EtOAc; 0,83mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (0,5mL, 4,0 đương lượng) vào trong khí nitơ ở từ -55 đến -60°C và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 2 giờ trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (25°C, 20 mmHg) để thu được 0,150g chất rắn thô. Quá trình tinh chế bằng cách sử dụng Sắc ký cột nhanh Combi (tách rửa bằng MeOH:CH₂Cl₂; hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa ở 5% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được 60mg (hiệu suất: 20%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(quinoxalin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 10,851 (s, 1H), 9,89-9,87 (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 8,49-8,54 (m, 3H), 8,26 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,86-7,88 (d, J= 8 Hz, 1H), 7,45 - 7,66 (m, 4H), 6,17-6,20 (d, J = 10,4 Hz, 1H); LCMS đối với C₂₁H₁₄F₆N₇O [M+H]⁺ 494,37; phát hiện 494,19 (RT 2,88 phút, độ tinh khiết: 100%).

Ví dụ 14: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(1,1-dioxotetrahydrothiophen-3yl)acrylohydrazit (I-15).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50–mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,5g) trong EtOAc (20,0mL) được xử lý bằng 2-(1,1-dioxotetrahydrothiophen-3-yl)hydrazin (0,3g, 1,2 đương lượng). Làm lạnh hỗn hợp đến -60°C và xử lý một cách đồng thời bằng T3P (50% trong EtOAc; 2,0 mL, 2 đương lượng) và DIPEA (1mL, 4 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -60°C trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 0,60g phần cặn là chất rắn. Tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 ; tách rửa bằng $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$; hợp chất mong muốn được tách rửa ở 5% MeOH trong CH_2Cl_2) thu được 100 mg (hiệu suất= 15 %) (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(tetrahydrothiophen-1,1-dioxit-3-yl)acrylohydrazit. ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ = 9,57 (s, 1H), 8,64 (s, 2H), 8,10 (s, 1H), 7,34-7,36 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,89-5,92 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,04- 3,26 (m, 4H), 2,27- 2,34 (m, 2H), LCMS đối với $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_3\text{S}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 484,40; phát hiện 483,39 (RT 2,63 phút, độ tinh khiết: 66,39%).

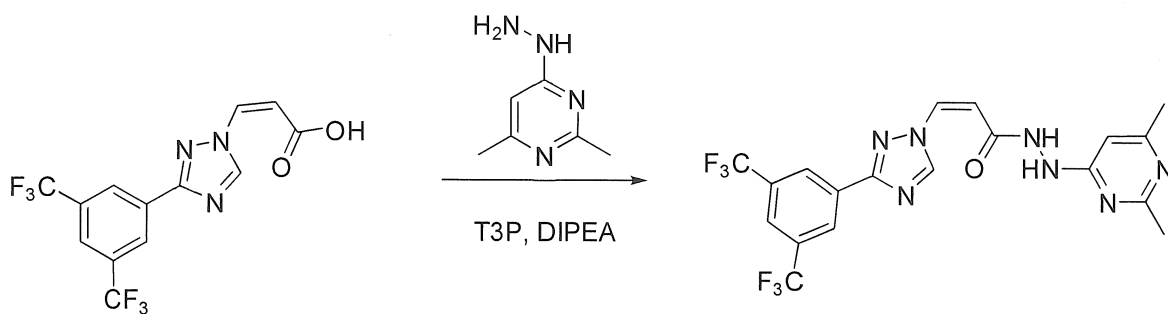
Ví dụ 15: Tổng hợp (Z)-N-(azepan-1-yl)-3-(3-(3,5-bis(trifluorometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylamit (I-16).



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 500ml dung dịch chứa axit (Z)-3-

(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,3g) trong $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{:EtOAc}$ (1:1, 200 mL) và xử lý dung dịch này bằng azepan-1-amin (0,137g) ở nhiệt độ trong phòng. Làm lạnh hỗn hợp đến -60°C và xử lý lần thứ nhất bằng T3P (50% trong EtOAc, 0,78ml) và sau đó bằng DIPEA (0,58 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -60°C trước khi làm ngừng bằng nước đá lạnh và chiết bằng EtOAc (3 x 20 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khan qua Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 0,57g chất rắn. Tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ làm pha động; hợp chất được bắt đầu tách rửa bằng 0,1% MeOH trong CH_2Cl_2) thu được 90mg (hiệu suất: 24%) (Z)-N-(azepan-1-yl)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylamit. $^1\text{HNMR}$ (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ,9,61 (s, 1H), 9,49 (s, 1H), 9,14 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,39-7,97 (d, $J=10$ Hz, 1H), 6,52-6,49 (d, $J=10,4$ Hz, 1H), 5,86-5,83 (d, $J=10,4\text{Hz}$, 1H), 3,00-2,97 (m, 4H), 1,58-1,54 (m, 8H) LCMS đối với $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 448,39; phát hiện 448,30 ở RT 3,22 phút, độ tinh khiết (96,48%).

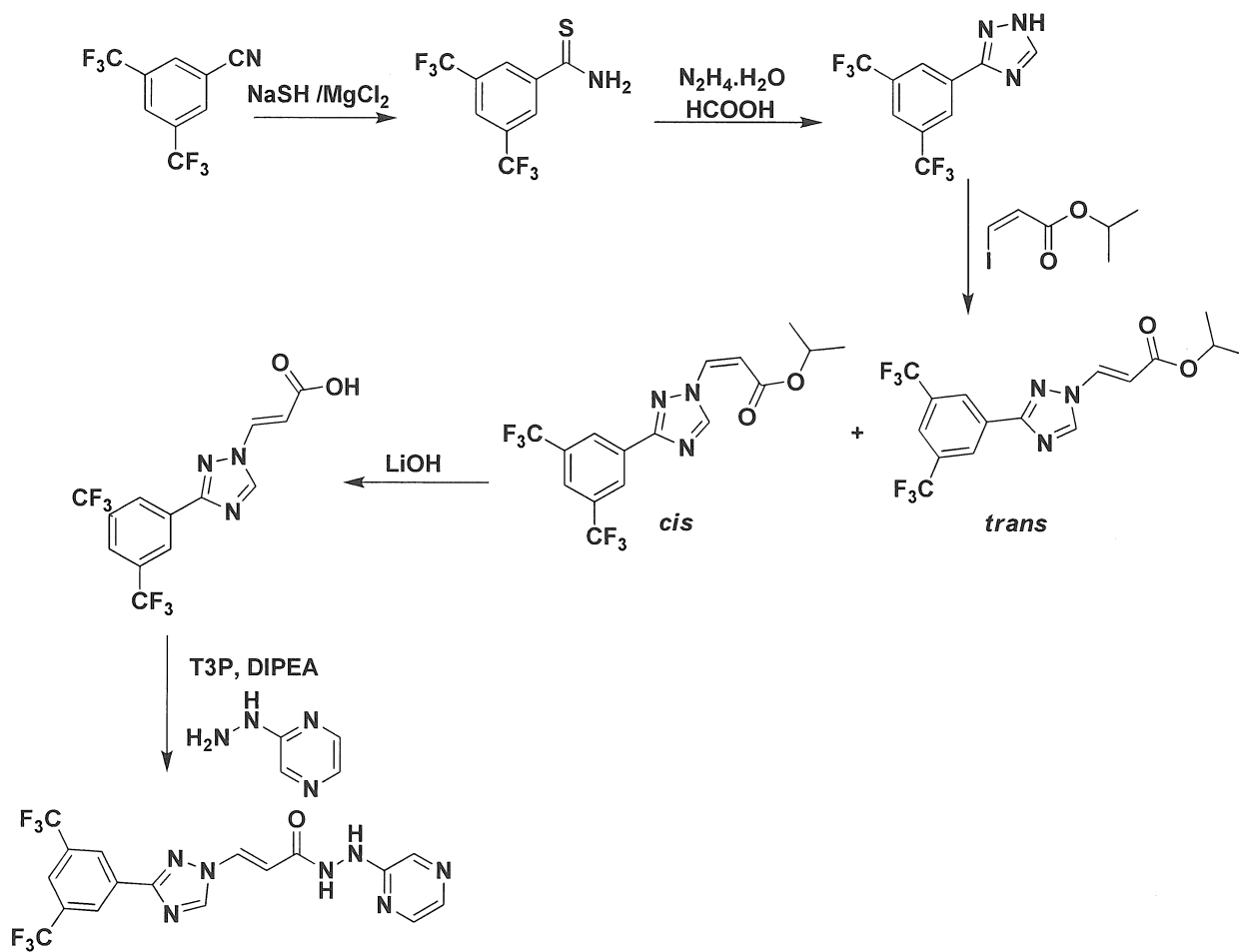
Ví dụ 16: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(2,6-dimethylpyrimidin-4-yl)acrylohydrazit (I-17).



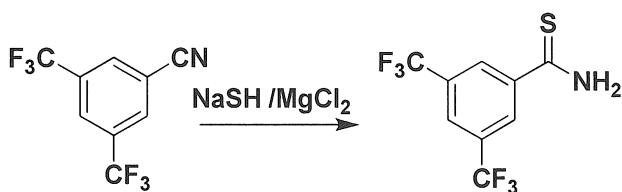
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,20g) được hòa tan trong etyl axetat (15mL). Làm lạnh dung dịch đến -40°C và được xử lý bằng 4-hydrazinyl-2,6-dimethylpyrimidin (0,078g, 1 đương lượng). Sau đó, thêm một cách đồng thời T3P (50% trong EtOAc; 0,7g, 3,0 đương lượng) và DIPEA (0,367g 4,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C . Sau đó, cho phép hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 0,340g hợp chất thô trong dầu mà được tinh chế bằng sắc ký nhanh combi bằng cách sử

dụng MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động (hợp chất mong muốn được tách rửa bằng từ 7 đến 8% MeOH trong CH₂Cl₂) để thu được 50 mg (hiệu suất: 18%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflormetyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(2,6-dimethylpyrimidin-4-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ,10,54 (s, 1H), 9,19 (b, 1H), 8,54 (s, 2H), 8,30 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, J=10,4, 1H), 6,29 (s, 1H), 6,06-6,08 (d, J=10,4, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,13 (s, 3H), LCMS đối với C₁₉H₁₅F₆N₇O [M+H]⁺ 472,37; phát hiện 472,24 (RT 2,88 phút, độ tinh khiết: 99,59%).

Ví dụ 17: Tổng hợp (E)-3-(3-(3,5-bis(triflormetyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit

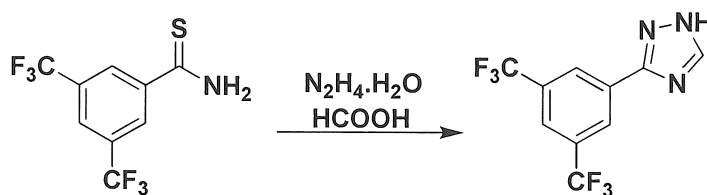


Tổng hợp 3,5-bis(triflormetyl)benzothioamit:



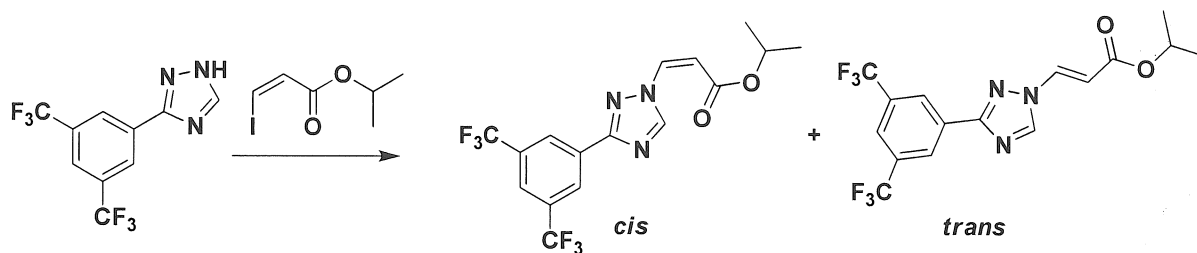
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 2L dung dịch chứa 3,5-bis(triflometyl)benzonitril (200g) trong DMF (1L) được xử lý bằng NaSH (123,7g, 2,0 đương lượng) và MgCl_2 (186,7g, 1 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ trước khi được rót vào huyền phù nước đá (10L) và chiết bằng EtOAc (3 x 1 L). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 100 mL), làm khan qua Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20 mmHg) để thu được 205g hợp chất thô (hiệu suất: 90%), được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Tổng hợp 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol:



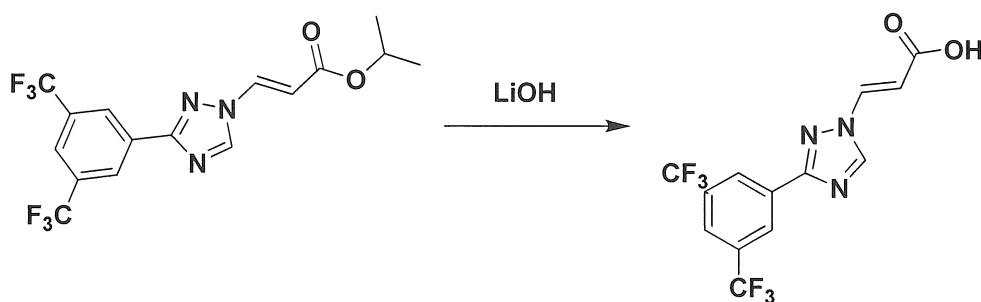
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 5L dung dịch chứa 3,5-bis(triflometyl)benzothioamit (205,65g) trong DMF (1,03L) được xử lý bằng hydrazin hydrat (73,16mL, 2,0 đương lượng) được thêm nhỏ giọt vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ trước khi được xử lý bằng HCOOH (1,028L) được thêm nhỏ giọt vào. Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu ở 90°C trong 3 giờ sau đó được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và rót vào dung dịch nước bão hòa NaHCO_3 (7L) và chiết bằng EtOAc (3 x 1L). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 500 mL), làm khan qua Na_2SO_4 khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 180g chất rắn. Tạo huyền phù chất rắn trong ete dầu mỏ và khuấy huyền phù, lọc và làm khô để thu được triazol mong muốn là chất rắn màu vàng nhạt (160g, hiệu suất: 75%).

Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat và (E)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 2L dung dịch chứa 3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (160g) trong DMF (0,96 L, 6V) được xử lý bằng DABCO (127,74g, 2 đương lượng) và khuấy trong 30 phút. Thêm nhỏ giọt (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (150,32g, 1,1 đương lượng) vào hỗn hợp phản ứng trên đây và khuấy trong 1 giờ trước khi được rót vào huyền phù nước đá (5 L) và chiết bằng EtOAc (3 x 1 L). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 100 mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20 mmHg) để thu được 250g hợp chất thô. Tinh chế bằng sắc ký cột (SiO₂, cỡ hạt 60/120, tách rửa bằng EtOAc:hexan gradient; các hợp chất mong muốn được bắt đầu tách rửa trong từ 2 đến 2,5 % EtOAc trong hexan) thu được cis este tinh khiết (138g, hiệu suất: 61,6%) và trans este tinh khiết (11,6g, hiệu suất: 5,2%).

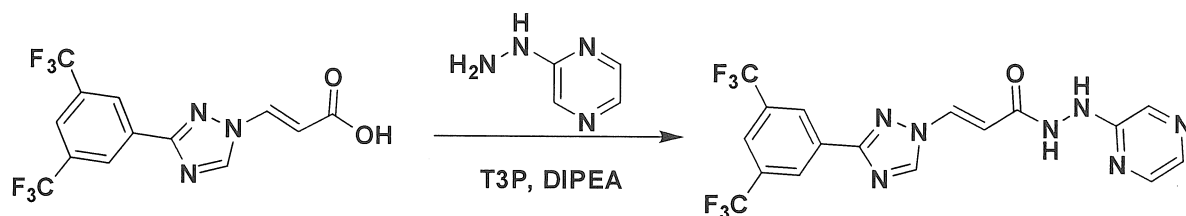
Tổng hợp axit (E)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 500mL dung dịch chứa (E)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat (5,0g) trong THF (50mL). Xử lý dung dịch này bằng dung dịch chứa LiOH (2,66g, 5,0 đương lượng) trong nước (50mL) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ trước khi được pha loãng bằng 40mL nước, axit hóa (độ pH = từ 2 đến 3) bằng nước HCl pha loãng và chiết bằng EtOAc (3 x 100mL). Rửa phần chiết hữu cơ bằng nước muối, làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 2,75g axit

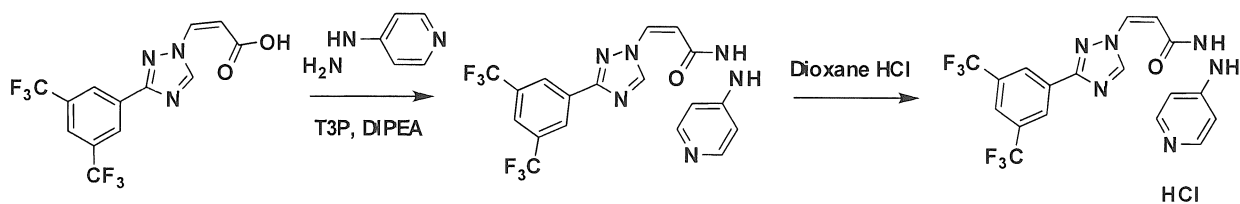
carboxylic không bão hòa mong muốn (hiệu suất: 61,6%, độ tinh khiết: 99,0% bởi LCMS).

Tổng hợp (E)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit:



Thêm dung dịch chứa 2-hydrazinopyrazin (0,23g) trong 12mL THF vào dung dịch chứa axit (E)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,75g) trong EtOAc (25mL) và THF (12,5mL) ở nhiệt độ trong phòng. Thêm từng giọt T3P (50% trong etyl axetat, 1,52mL) và DIPEA (1,46mL) vào và đồng thời khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng trước khi làm ngừng bằng nước đá lạnh và chiết bằng EtOAc (3 x 25 mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khan qua Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20 mmHg), thu được 0,698g chất rắn thô. Thứ nhất, nghiền bằng ete dầu mỏ sau đó bằng Et₂O thu được 275 mg (hiệu suất: 29%) (E)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl) phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ,10,3 (s, 1H), 9,15 (s, 2H), 8,59 (s, 2H), 8,30-8,26 (d, J= 14,8 Hz, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06-8,07 (m, 1H), 6,98-6,95 (d, J= 13,4 Hz, 1H); LCMS đối với C₁₇H₁₂F₆N₇O [M+H]⁺ 443,31; phát hiện 444,19 (RT 2,625 phút, độ tinh khiết: 99,06%).

Ví dụ 18: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-4-yl)acrylohydrazit hydroclorua (I-19).

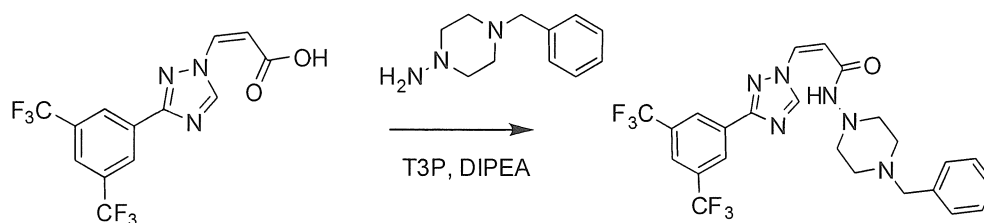


Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) và EtOAc (10,0mL). Thêm

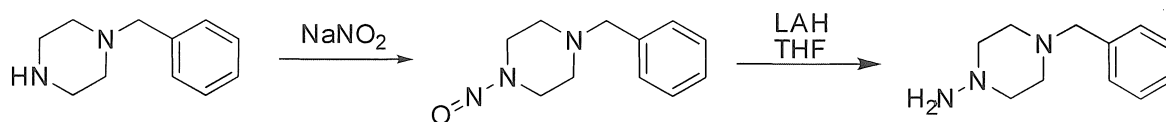
4-Hydrazinylpyridin hydroclorua (0,16g, 1,2 đương lượng) vào ở -40°C tiếp theo thêm đồng thời T3P (50% trong EtOAc, 0,85mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (0,49 mL, 4,0 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 0,35g vật liệu thô. Tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động (hợp chất được tách rửa bằng 4% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được 80mg (hiệu suất: 29,85%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-4-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,53 (br s, NH có thể trao đổi, 1H), 9,58 (s, 1H), 8,88 (br s, NH có thể trao đổi, 1H), 8,84 (s, 2H), 8,29 (s, 1H), 8,09-8,11 (d, 2H), 7,52-7,54 (d, J=10,4 Hz, 1H), 6,66-6,69 (m, 2H), 6,06-6,10 (d, J= 14,4 Hz, H); LCMS đối với C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; phát hiện 443,24 (RT 2,241 phút, độ tinh khiết: 90,17%).

Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 25ml dung dịch lạnh (0°C) chứa (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-4-yl)acrylohydrazit (0,08g) trong CH₂Cl₂ (5,0mL) và được xử lý bằng 4N HCl trong dioxan (0,5mL). Cho phép hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ trong phòng và khuấy trong 4 giờ trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20 mmHg) để thu được 0,05g (hiệu suất: 40,81%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyridin-4-yl)acrylohydrazit-muối HCl. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13,67 (br s, có thể thay đổi, 1H), 10,67 (s, có thể trao đổi, 1H), 9,43 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 8,35-8,38 (m, 4H), 7,60-7,62 (d, J= 10,4 Hz, 1H), 6,92-6,96 (m, 2H), 6,11-6,13 (d, J= 10,4 Hz, 1H); LCMS đối với C₁₈H₁₃F₆N₆O [M+H]⁺ 443,33; phát hiện 443,24 (RT 3,00 phút, độ tinh khiết: 90,97%).

Ví dụ 19: Tổng hợp (Z)-N-(4-benzylpiperazin-1-yl)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylamit (I-20).



Tổng hợp 4-benzylpiperazin-1-amin.



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL HCl đậm đặc và nước và làm lạnh dung dịch ở từ 0 đến 5°C để bổ sung NaNO₂ và benzyl piperazin (5,0g) trong khí nitơ. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 2,5 giờ ở từ 0 đến 5°C trước khi được pha loãng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3 x 100mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ gom lại qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (40°C, 20 mmHg) để thu được 4,40g chất rắn không màu. Quá trình tinh chế bằng cách sử dụng sắc ký nhanh combi (tách rửa bằng 25,5% EtOAc:hexan) thu được 2,0g hợp chất mong muốn (hiệu suất: 34,3%).

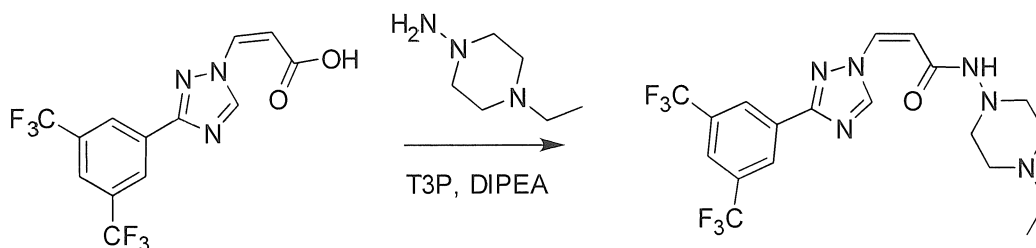
Xử lý dung dịch lạnh (-70°C) chứa 1-benzyl-4-nitroso-4-piperizin (0,8g) trong THF bằng LAH dư trong khí nitơ. Cho phép hỗn hợp phản ứng ấm đến nhiệt độ môi trường và khuấy 1,0 giờ trước khi làm ngừng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3 x 10mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ gom lại qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (40°C, 20 mmHg) để thu được 0,70g 4-benzylpiperazin-1-amin là chất rắn không màu.

Tổng hợp (Z)-N-(4-benzylpiperazin-1-yl)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylamit.

Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,220g, 1,2 đương lượng), 4-benzylpiperazin-1-amin (0,10g, 1,0 đương lượng) và EtOAc (15ml). Thêm T3P (50% trong EtOAc 0,99g, 3,0 đương lượng) và DIPEA (0,27mg, 4,0 đương lượng) trong khí nitơ vào dung dịch lạnh (-60°C). Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC (SiO₂, 15% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động, hiển thị màu dưới ánh sáng tia cực tím). Làm ngừng hỗn hợp phản ứng trong nước và chiết bằng etyl axetat (3 x 15mL). Làm khô các phần chiết hữu cơ gom lại qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25 °C, 20 mmHg) để thu được 0,35g chất rắn thô. Quá trình tinh chế trên sắc ký nhanh Combi (tách rửa bằng 10% MeOH/CH₂Cl₂) thu được 20mg (hiệu suất: 6%) (Z)-N-(4-

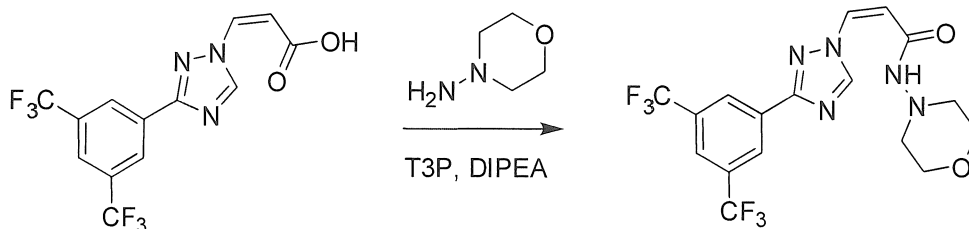
benzylpiperazin-1-yl)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylamit. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,44-9,48 (t, 3H), 9,10 (s, 1H), 8,51 (s, 2H), 7,23-7,41 (m, 6H), 6,46-6,49 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 5,83-5,86 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,47 (s, 2H), 2,81 (s, 4H), 2,23-2,33 (d, 2H) LCMS đối với $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 525,47; phát hiện 525,20 (RT 9,87 phút, độ tinh khiết: 100%).

Ví dụ 20: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(4-etyl piperazin-1-yl)acrylamit (I-21).



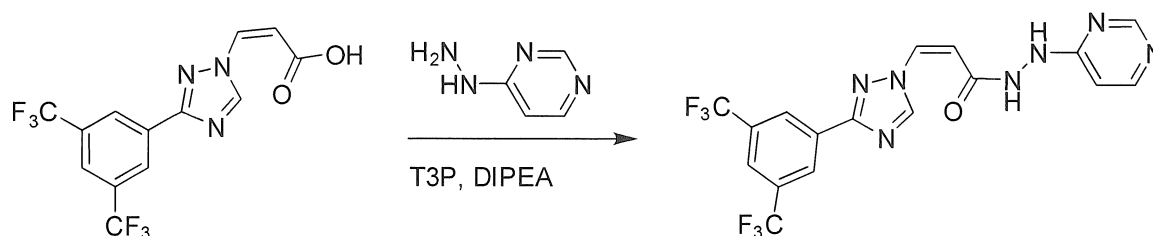
Xử lý dung dịch lạnh (-40°C) chứa axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,25g) trong EtOAc (20mL) bằng 4-etyl piperazin-1-amin (0,12g). Thêm một cách đồng thời T3P (50% trong EtOAc, 0,84mL) và DIPEA (0,24mL) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -40°C trước khi làm ngừng bằng nước đá lạnh và chiết bằng EtOAc (3 x 20 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khan qua Na_2SO_4 khan và cô đặc dưới áp suất giảm (35°C , 20mmHg) để thu được 0,280g hợp chất thô. Quá trình tinh chế bằng sắc ký nhanh combi (tách rửa bằng 2% MeOH trong CH_2Cl_2) tiếp theo tinh thể trên đĩa TLC điều chế (tách rửa bằng 10% MeOH trong CH_2Cl_2) thu được 60mg (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(4-etyl piperazin-1-yl)acrylamit. ^1H NMR (400 MHz, CF_3COOD) δ : 10,75 (s, 1H), 8,31-8,29 (d, J =10,2 H), 7,98 (s, 1H), 7,21-7,23 (d, 1H), 6,08-6,10 (d, 1H), 3,52-3,54 (m, 3H), 3,36 (s, 1H), 3,11 (m, 8H), 1,19-1,22 (m, 3H); LCMS đối với $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{F}_6\text{N}_6\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 463,40; phát hiện 463,23 (RT 2,43 phút, độ tinh khiết: 98,63%).

Ví dụ 21: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-morpholinoacrylamit (I-22).

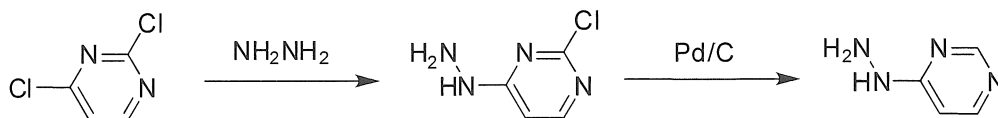


Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,250g), morpholin-4-amin (0,072g, 1,0 đương lượng) và EtOAc (10mL). Làm lạnh dung dịch đến -60°C và được xử lý bằng T3P (50% trong EtOAc; 0,63mL, 1,5 đương lượng) và DIPEA (0,24mL, 2,0 đương lượng) trong khí nitơ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím. Khi hoàn thành, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Làm khan các phần chiết hữu cơ gom lại qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20 mmHg) để thu được 0,35g chất rắn thô. Quá trình tinh chế (Combi-flash, tách rửa bằng 3 % MeOH:CH₂Cl₂) thu được 100mg (hiệu suất: 33%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-morpholinoacrylamit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 9,52 (s, NH trao đổi, 1H), 8,51 (s, 2H), 8,28 (s, 1H), 7,38-7,42 (m, 1H), 6,50-6,53 (d, J= 10,4 Hz, 1H), 5,84-5,86 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 3,63 (s, 4H), 2,87 (s, 4H); LCMS đối với C₁₇H₁₆F₆N₅O₂ [M+H]⁺ 436,33; phát hiện 436,18 (RT 2,64 phút, độ tinh khiết: 100%).

Ví dụ 22: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrimidin-4-yl)acrylohydrazit (I-23).



Tổng hợp 4-hydrazinylpyrimidin:



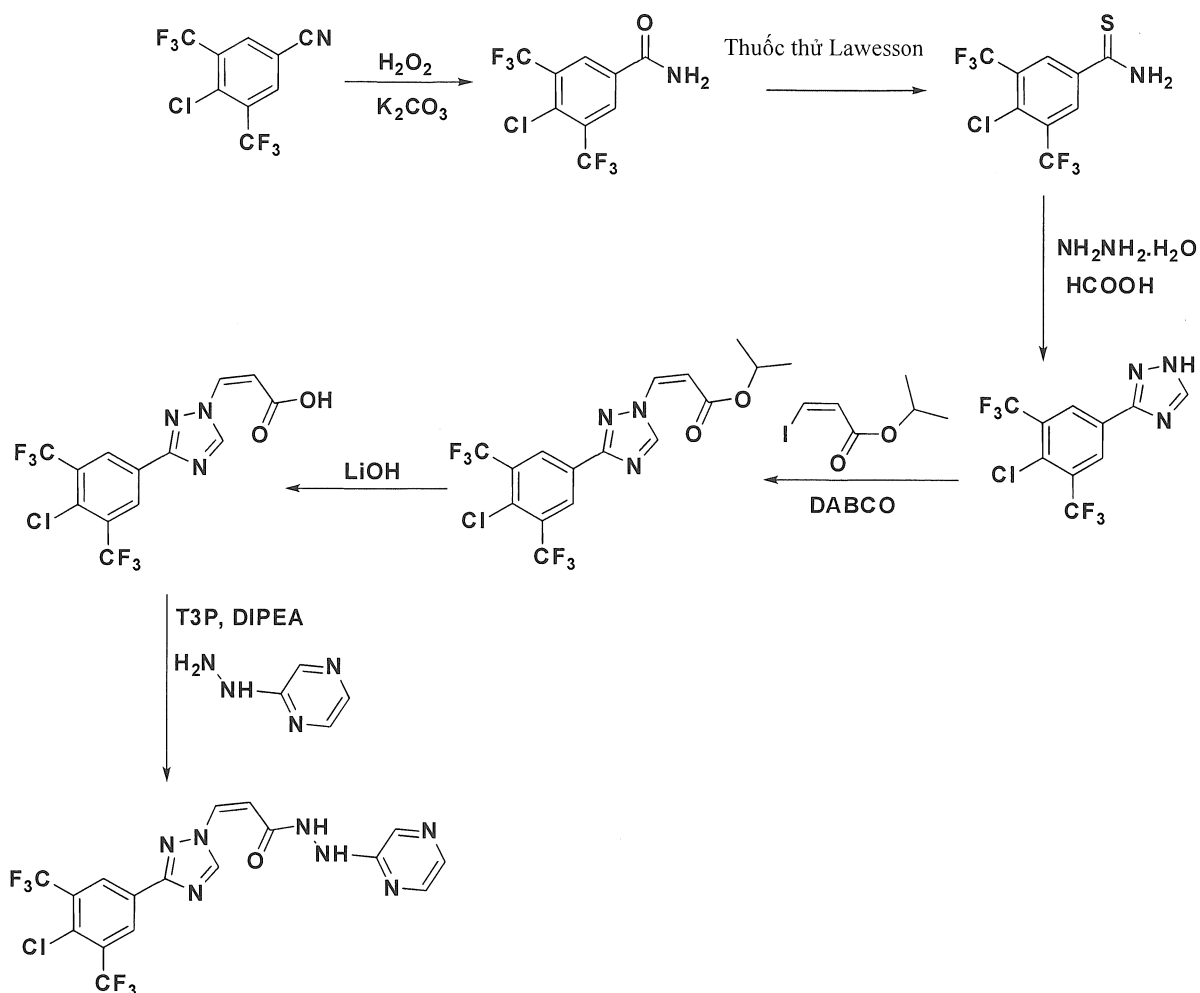
Làm lạnh dung dịch chứa 2,4-diclopyrimidin (2,0g) trong EtOH (25mL) đến từ 0 đến 20 °C và được xử lý bằng hydrazin (2,8mL). Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi bằng TLC sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím. Cô đặc hỗn hợp dưới áp suất giảm để thu được 3,1g 2-clo-4-hydrazinyl-pyrimidin thô (hiệu suất= 94,8%).

Thêm 10% Pd/C (200mg) vào dung dịch chứa 2-clo-4-hydrazinyl-pyrimidin (200mg) được hòa tan trong MeOH (10mL) và khuấy huyền phù trong khí hydro cho đến khi được thể hiện là hoàn thành nhờ phân tích TLC (bằng cách sử dụng 10% MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động và được hiện màu dưới ánh sáng tia cực tím). Lọc hỗn hợp qua Celite® và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 250mg 4-hydrazinylpyrimidin.

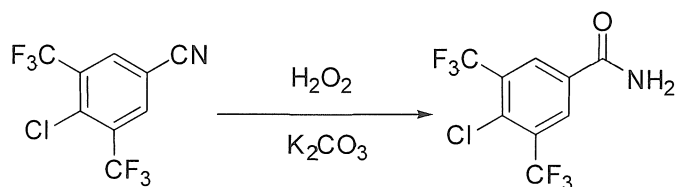
Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrimidin-4-yl)acrylohydrazit.

Nạp vào bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50ml axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (250mg, 1,0 đương lượng) và EtOAc (20,0mL). Thêm 4-Hydrazinylpyrimidin (231mg, 3 đương lượng) vào ở -60°C tiếp theo thêm đồng thời T3P (50% trong EtOAc; 0,84mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (0,24mL, 2,0 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -60°C trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (35°C, 20 mm Hg) để thu được 0,20g chất rắn. Tinh chế bằng sắc ký cột (tách rửa bằng 5% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được 75mg vật liệu mà được tinh chế bằng TLC điều chế (bằng cách sử dụng MeOH:CH₂Cl₂ làm pha động) để tạo ra 13mg (hiệu suất= 5%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrimidin-4-yl)acrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ= 10,59 (s, 1H), 9,68 (s, NH trao đổi, 1H), 9,47 (s, NH trao đổi, 1H), 8,53-8,59 (t, 2H), 8,30 (s, 1H), 8,19-8,20 (d, 1H), 7,53-7,56 (d, J= 11,2 Hz, 1H), 6,66-6,67 (d, 1H), 6,06-6,09 (d, J= 10,4 Hz, 1H); LCMS đối với C₁₇H₁₂F₆N₇O [M+H]⁺ 444,31; phát hiện 444,19 (RT 2,39 phút, độ tinh khiết: 94,97%).

Ví dụ 23: Tổng hợp (Z)-3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit (I-24).

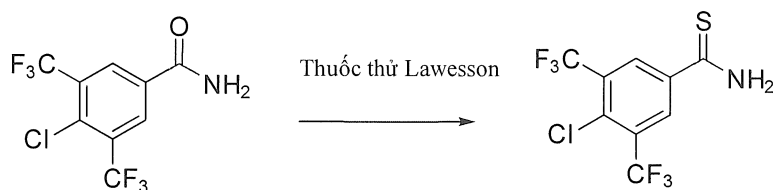


Tổng hợp 4-clo-3,5-bis(triflometyl)benzamid:



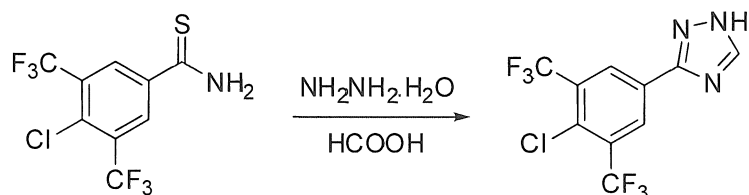
Xử lý dung dịch chứa 4-clo-3,5-bis(triflometyl)benzonitril (1,0g) trong DMSO (10mL) bằng K₂CO₃ dạng rắn (0,55g, 1,1 đương lượng) và H₂O₂ (30% thể tích, 1,0mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ trước khi được rót vào nước đá lạnh (20mL). Lọc chất kết tủa và rửa bằng ete dầu mỏ để thu được 1,0g amit bậc một mong muốn thô (hiệu suất: 90%).

Tổng hợp 4-clo-3,5-bis(triflometyl)benzothioamit:

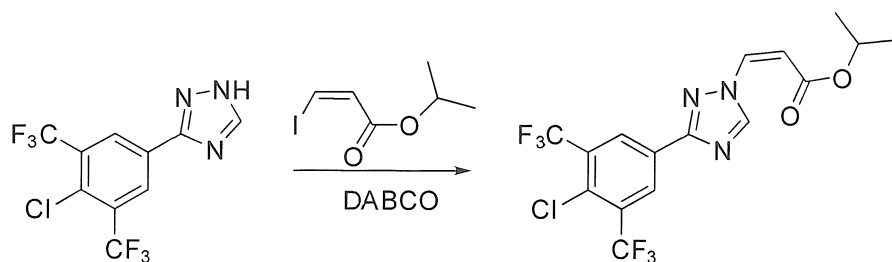


Thêm thuốc thử Lawesson (3,32g, 2,0 đương lượng) vào dung dịch chứa 4-clo-3,5-bis(triflometyl)benzamid (1,2g) trong toluen (20mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 90°C trong 8 giờ trước khi được làm mát đến nhiệt độ trong phòng và lọc. Rót phần lọc vào nước và chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 50mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C, 20mmHg) để thu được 2g hợp chất thô. Tinh chế hợp chất thô bằng sắc ký nhanh combi (tách rửa bằng 7% EtOAc:hexan) để thu được 1,0g hợp chất mong muốn (hiệu suất: 79%).

Tổng hợp 3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol:

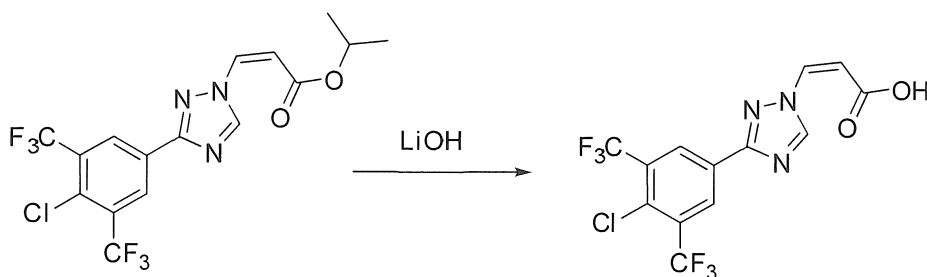


Xử lý dung dịch chứa 4-clo-3,5-bis(triflometyl)benzothioamit (1g) trong DMF (10mL) bằng hydrazin hydrat (0,32g, 2,0 đương lượng) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ trước khi thêm axit formic (3mL) vào. Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu ở 90°C trong 3 giờ sau đó làm mát đến nhiệt độ trong phòng, rót vào nước NaHCO₃ bão hòa (từ từ, duy trì nhiệt độ ở từ 25 đến 30°C) và chiết bằng EtOAc (3 x 100 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 50 mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C, 20 mmHg) để thu được 1,5g hợp chất thô. Tinh chế bằng sắc ký cột (tách rửa bằng 40% EtOAc trong hexan) thu được 0,50g hợp chất mong muốn (hiệu suất: 36%). Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



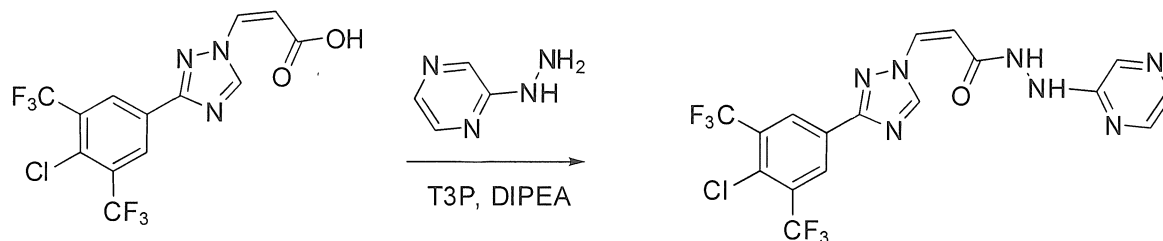
Xử lý dung dịch chứa 3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (2,1g) trong DMF (20mL) bằng DABCO (1,5g, 2 đương lượng) và khuấy hỗn hợp trong 30 phút trước khi bổ sung (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (1,76g, 1,1 đương lượng). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 5 giờ sau đó rót vào nước đá lạnh (50mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 15mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (3 x 10mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C, 20 mmHg) để thu được 3,0g hợp chất thô. Tinh chế bằng sắc ký cột bằng (SiO₂ cỡ hạt 60/120, tách rửa bằng từ 1 đến 1,2% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được este không no mong muốn (1,33g, hiệu suất: 52%).

Tổng hợp axit (Z)-3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic:



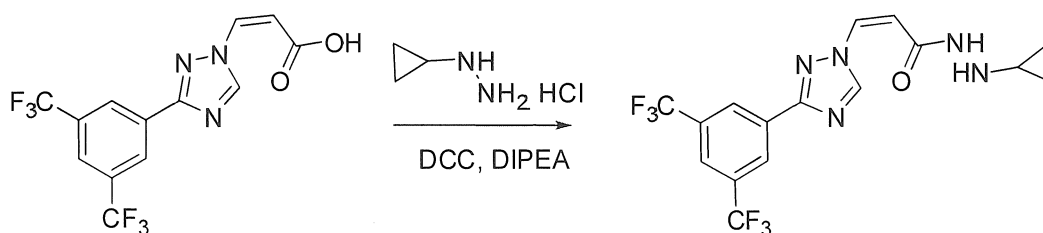
Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 25ml dung dịch chứa (Z)-isopropyl 3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat (1,33g) trong 1:1 THF:nước (26mL). Xử lý dung dịch này bằng LiOH dạng rắn (0,53g, 4 đương lượng) và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ trước khi được pha loãng bằng 400ml nước, axit hóa đến độ pH = từ 2 đến 3 bằng nước HCl pha loãng, và chiết bằng EtOAc (3 x 100mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối, làm khan qua Na₂SO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 0,8g hợp chất thô (hiệu suất: 66 %).

Tổng hợp (Z)-3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit:



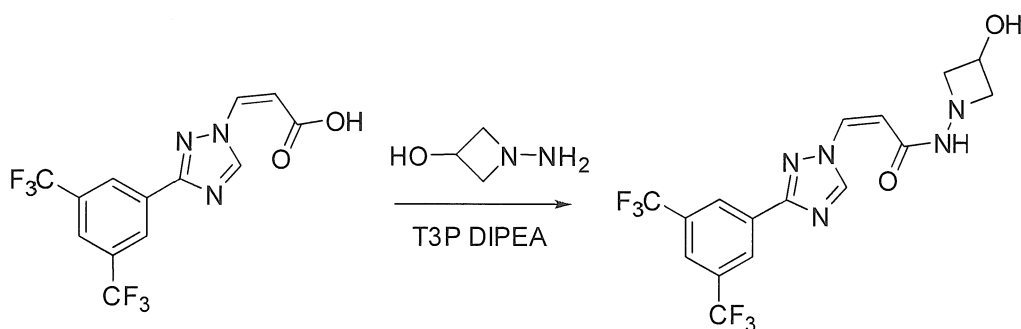
Bình thốt cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50mL được nạp dung dịch chứa axit (Z)-3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,8g) trong 1:1 EtOAc:THF (20mL). Làm lạnh dung dịch đến -70°C và xử lý liên tiếp bằng 2-hydrazinopyrazin (0,275g, 1,2 đương lượng), thêm nhỏ giọt T3P (50% trong EtOAc; 2,5mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (1,44mL, 4,0 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong suốt ở -60°C trong 1 giờ trước khi được cô đặc dưới áp suất giảm (25°C , 20 mm Hg) để thu được hợp chất thô. Tinh chế bằng sắc ký cột (SiO_2 , cỡ hạt 60/120, tách rửa bằng từ 3 đến 4% MeOH trong CH_2Cl_2) thu được 0,30g (hiệu suất: 30%) (Z)-3-(3-(4-clo-3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-(pyrazin-2-yl)acrylohydrazit. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 10,53 (s, 1H), 9,58 (s, 1H), 9,11 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,13 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,97 (s, 1H), 7,52-7,55 (d, J = 10,4 Hz, 1H), 6,08-6,11 (d, J = 10,4 Hz, 1H); LCMS đối với $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClF}_6\text{N}_7\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 478,76 phát hiện 478,1 (RT 2,64 phút, độ tinh khiết: 100%).

Ví dụ 24: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-xyclopropylacrylohydrazit (I-25).

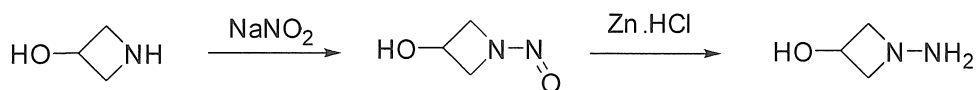


Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 100-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (0,50g) và CH₂Cl₂ (25mL). Thêm DCC (0,29g, 1,0 đương lượng) vào và làm lạnh hỗn hợp đến 0°C để thêm tiếp xyclopropylhydrazin hydroclorua (0,15g, 1,0 đương lượng) và DIPEA (0,24 mL, 1,0 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ trước khi được rót vào nước (50 mL) và chiết bằng CH₂Cl₂ (2 x 50 mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (50 mL), làm khan qua MgSO₄ khan, lọc và cô đặc dưới áp suất giảm (25°C, 20 mmHg) để thu được hợp chất thô. Quá trình tinh chế bằng sắc ký nhanh combi (tách rửa bằng từ 1,5 đến 2,5% MeOH trong CH₂Cl₂) tiếp theo tinh chế tiếp trên đĩa TLC điều chế (tách rửa bằng 70% EtOAc trong hexan) thu được 15mg (hiệu suất: 2,6%) (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N'-xyclopropylacrylohydrazit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ,9,16 (s, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 7,23-7,26 (d, J= 10,4 Hz, 1H) ,6,40-6,43 (d, J= 10,4 Hz, 1H), 4,97 (s, 1H), 4,63 (s, 1H), 3,18-3,20 (m, 1H), 0,83-0,87 (m, 2H), 0,65-0,69 (m, 2H); LCMS đối với Công thức hóa học: C₁₆H₁₄F₆N₅O [M+H]⁺ 406,31 phát hiện 406,19 (RT 2,74 phút, độ tinh khiết: 98,85%).

Ví dụ 25: Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(3-hydroxyazetidin-1-yl)acrylamit (I-26).



Tổng hợp 1-aminoazetidin-3-ol:



Xử lý dung dịch được làm lạnh (từ 15 đến 20°C) chứa azetidin-3-ol hydroclorua (2,0g) trong nước (20ml) bằng NaOH (0,8g trong 10mL nước) và khuấy hỗn hợp ở từ

15 đến 20°C trong 1 giờ. Sau đó, làm lạnh hỗn hợp phản ứng đến 0°C và xử lý tiếp theo bằng dung dịch NaNO₂ (1,89g trong 10mL nước) và axit axetic (1,3mL). Sau khi được khuấy trong 2 giờ ở từ 0 đến 5°C, rót hỗn hợp phản ứng vào nước (20mL), axit hóa đến độ pH = từ 2 đến 3 bằng nước HCl pha loãng và chiết bằng EtOAc (3 x 25mL). Rửa các phần chiết hữu cơ gom lại bằng nước muối (20mL), làm khan qua Na₂SO₄ khan và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 0,26g hợp chất mong muốn, mà được sử dụng trong bước tiếp theo (LCMS độ tinh khiết: 59,84%).

Làm lạnh dung dịch chứa 1-nitrosoazetidin-3-ol (0,25g) trong MeOH (15mL) đến -75°C và xử lý bằng nước HCl pha loãng (1,5mL). Sau đó, thêm từng phần bột kẽm (1,35g) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng ở khoảng -70°C trong 3 giờ trước khi được lọc qua Celite® và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 90mg 1-aminoazetidin-3-ol, mà được sử dụng trong bước tiếp theo.

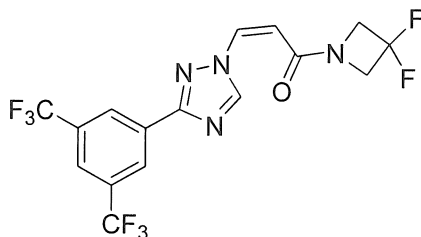
Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(3-hydroxyazetidin-1-yl)acrylamit.

Nạp vào bình thót cổ đáy tròn 3 cổ dung tích 50-mL axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (200mg) và THF (20,0mL). Làm lạnh dung dịch đến -60°C và được xử lý bằng dung dịch chứa 1-aminoazetidin-3-ol (65mg, 1,3 đương lượng) trong THF. Thêm đồng thời T3P (50% trong EtOAc; 0,67mL, 2,0 đương lượng) và DIPEA (0,51mL, 2,0 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút ở -60°C trước khi được cho phép ấm đến nhiệt độ trong phòng. Sau đó, cô đặc hỗn hợp phản ứng dưới áp suất giảm (35°C, 20mmHg), thu được 100mg chất rắn. Tinh chế bằng sắc ký cột (tách rửa bằng 3% MeOH trong CH₂Cl₂) thu được 20mg (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-N-(3-hydroxyazetidin-1-yl)acrylamit. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,60 (s, 1H), 6,38 (s, 1H), 8,52 (s, 2H), 8,26 (s, 1H), 7,32-7,35 (d, J= 10,8 Hz, 1H), 6,40 (d, có thể trao đổi, 1H), 5,78-5,81 (d, J= 10,8 Hz, 1H), 4,14-4,15 (d, 1H), 3,82 (m, 2H), 3,71 (m, 2H); LCMS đối với Công thức hóa học C₁₆H₁₄F₆N₅O₂ [M+H]⁺ 422,31 phát hiện; 422,19 (RT 2,46 phút, độ tinh khiết: 91,49%).

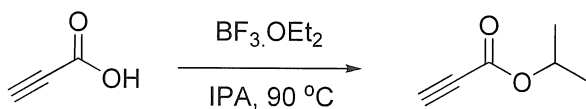
Các ví dụ từ 26 đến 31: Các ví dụ từ 26 đến 31 mô tả các phương pháp tổng hợp

mới hữu ích trong việc tạo ra các hợp chất theo sáng chế (ví dụ, như các tiền chất đối với các hợp chất theo sáng chế, như các hợp chất được mô tả bởi Công thức Z trên đây).

Ví dụ 26.

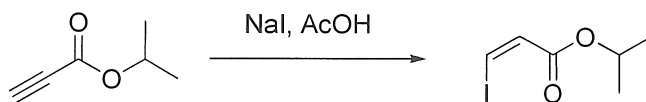


Tổng hợp isopropyl propiolat:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ dung tích 20-L được trang bị phễu bổ sung, hốc cảm nhiệt kế và dụng cụ khuấy cơ học axit propiolic (1000g, 1 đương lượng) và IPA (8L, 8 Thể tích). Thêm từ từ BF₃-etherat (4,54kg, 2,0 đương lượng) từ phễu bổ sung ở 25°C trong thời gian 30 phút. Tăng từ từ nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng đến 90°C và duy trì khối phản ứng ở nhiệt độ đó trong 3 giờ. GC kiểm tra sau 3 giờ cho thấy hoàn thành phản ứng. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng, làm ngừng bằng 20L nước DM đá lạnh và khuấy trong 30 phút. Thêm từ từ 10L diclometan vào hỗn hợp phản ứng và khuấy khối phản ứng trong 30 phút nữa. Tách lớp hữu cơ và chiết lại lớp nước bằng 5L diclometan. Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng 10L nước muối bão hòa, làm khan qua natri sulphat khan, và cô đặc trong chân không ở từ 35°C đến 40°C (sản phẩm là chất dễ bay hơi) để thu được sản phẩm là chất lỏng màu nâu (1,32 kg, 81,25 %). Độ tinh khiết 89,67 % (GC); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,22 (d, 6H, J = 6,6 Hz), 2,85 (s, 1H), 4,98-5,05 (m, 1H).

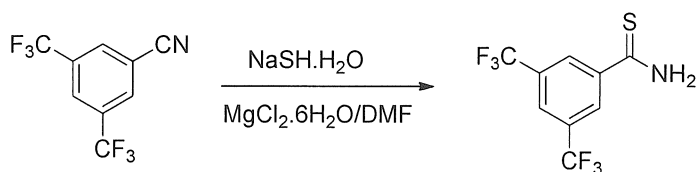
Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ dung tích 20L được trang bị phễu bổ sung, hốc cảm nhiệt kế và dụng cụ khuấy cơ học este của axit isopropyl propiolic (1000g, 1

đương lượng) và axit axetic (3,7L, 3,7 Thể tích) ở 25°C và khuấy khối phản ứng trong 10 phút. Thêm natri iodua (2,138Kg, 1,6 Thể tích) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng (quan sát được màu nâu đen). Gia tăng nhiệt độ đến 110°C và duy trì phản ứng ở nhiệt độ đó trong 1,5 giờ. Việc kiểm tra GC cho thấy hoàn thành phản ứng sau 1,5 giờ. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ trong phòng, làm ngừng bằng nước DM đá lạnh (18,75L, 18,75 thể tích) và khuấy trong 30 phút. Thêm MTBE (5L) vào khối phản ứng và khuấy trong 30 phút nữa. Tách lớp hữu cơ và chiết lại lớp nước bằng MTBE (5L). Rửa lớp hữu cơ gom lại bằng NaHCO₃ (2 x 10 L), NaHSO₃ (2 x 5 L), dung dịch nước muối bão hòa (5,2L, 5,2 thể tích), làm khan qua natri sulphat và cô đặc trong chân không ở 35°C để thu được (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat là chất lỏng màu nâu (1,49kg, 70 %). Độ tinh khiết 87,34 % (GC); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,28 (d, 6H, J = 6,3 Hz), 5,08-5,131 (m, 1H), 6,83 (d, 1H, J = 8,7 Hz), 7,38 (d, 1H, J = 8,7 Hz).

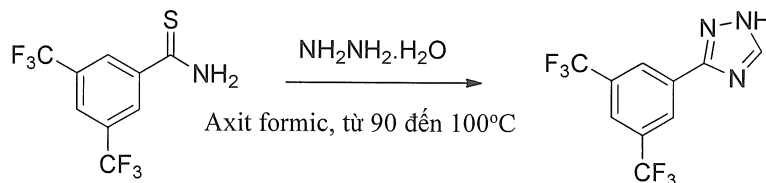
Tổng hợp 3,5-bis(triflometyl)benzothioamit:



Nạp vào bình thót cổ nhiều cổ dung tích 20-L được trang bị dụng cụ khuấy qua miệng bình và nhiệt kế bằng bis(triflometyl)benzonitril (1,25kg, 1,0 đương lượng) và DMF (6,25L, 5 thể tích), và khuấy hỗn hợp thu được trong nitơ ở nhiệt độ trong phòng (28°C). Làm mát hỗn hợp phản ứng đến 10 °C và thêm 0,775g NaSH.H₂O (2 đương lượng) vào trong 10 phút. Sau khi khuấy trong 15 phút, thêm từng phần MgCl₂.6H₂O (1,169 kg, 1,1 đương lượng) vào trong thời gian 15 phút và khuấy phản ứng trong 35 phút nữa. Kiểm tra sự tiến triển của phản ứng (dung dịch có màu xanh) bằng HPLC mà chỉ ra 99,6% sản phẩm và 0,03% benzonitril. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến từ 0 đến 5°C và thêm từng phần 30% HCl được pha loãng (3,75L) vào để điều chỉnh độ pH đến từ 2 đến 3. Chiết khối thu được bằng MTBE (5 L x 1). Tách các lớp và thêm 1L DM vào lớp nước, mà được chiết lại bằng MTBE (2,5L x 1). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng nước muối (4,5 L x 3), làm khô và cô đặc trong chân không. Thêm hexan vào chất rắn thu được, gấn và tách sản phẩm là chất rắn màu vàng (1,400Kg, 98,0%). Độ tinh

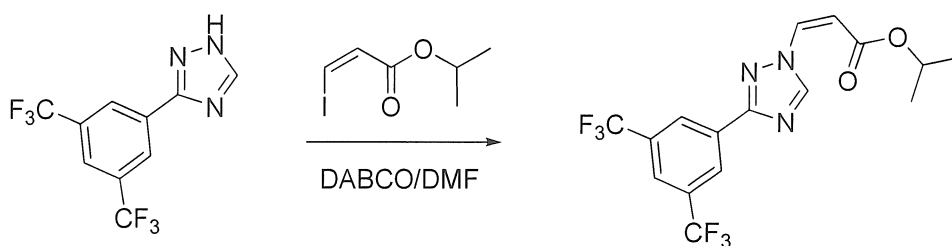
khuyết: 99,28% (HPLC), ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 8,27 (s, 1H), 8,53 (s, 2H), 10,0 (s, 1H), 10,38 (s, 1H).

Tổng hợp 3-(3,5-bis(triflormetyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol:



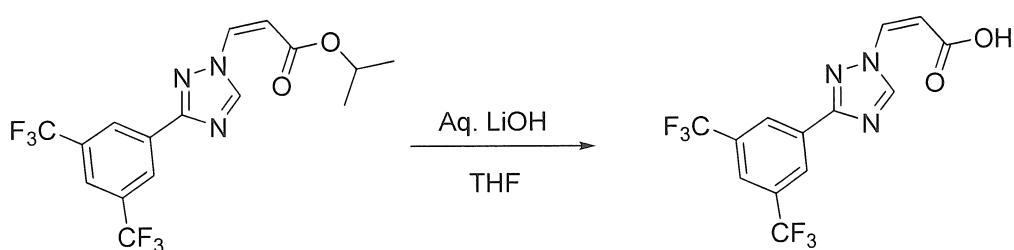
Nạp vào bình thót cổ nhiều cổ dung tích 20-L được trang bị dụng cụ khuấy qua miệng bình và nhiệt kế bằng thioamit (1378g, 1 đương lượng) và DMF (6,89 L, 5 thể tích) và khuấy hỗn hợp trong nitor ở nhiệt độ trong phòng (28 °C). Làm lạnh khối phản ứng đến 10°C và thêm nhỏ giọt hydrazin hydrat (505,4g, 2,0 đương lượng) vào trong 2 giờ kèm khuấy. Làm lạnh khối phản ứng đến từ 0°C đến 5°C và thêm axit formic vào trong thời gian 1 giờ (6,89L, 5 thể tích) (quan sát sự tỏa nhiệt và nhiệt độ được tăng đến 20°C). Sau đó, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng ở từ 95 đến 100°C trong 12 giờ nữa. Kiểm tra sự tiến triển của phản ứng bằng HPLC cho thấy tạo thành 99,5% sản phẩm. Làm lạnh khối phản ứng đến từ 35 đến 40°C, thêm vào 20,6L nước DM được làm lạnh trước (từ 10 đến 15°C) và khuấy trong 30 phút. Chiết khối phản ứng bằng MTBE (8,26L). Chiết lớp nước một lần nữa bằng MTBE (5,512L) và rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng 10% natri bicarbonat (6,89 L, 2 thể tích), nước muối (6,89L x 3), làm khan bằng Natri sulfat và cô đặc trong chân không. Thêm diclometan (2 thể tích) vào chất rắn màu vàng thu được và khuấy ở từ 0 đến 5°C trong 1 giờ, mà, khi lọc, thu được sản phẩm là chất rắn màu vàng (1156g, 82,2%). Độ tinh khiết: 99,7 % (HPLC); ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ : 8,15 (s, 1H), 8,55 (s, 2H), 8,79 (s, 1H), 14,5 (s, 1H, NH).

Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflormetyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Nạp vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ dung tích 10-L được trang bị phễu bổ sung, hốc cảm nhiệt kế, dụng cụ khuấy cơ học và nút bằng 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (600g, 1,0 đương lượng), DABCO (480g, 2,0 đương lượng) và DMF (3,0L). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 30 phút. Sau 30 phút, thêm nhỏ giọt dung dịch chứa iodo este (1024,8g, 2,0 đương lượng) trong DMF (1200mL) vào trong thời gian 1 giờ. Kiểm tra sự tiến triển của phản ứng bằng HPLC và thể hiện (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat: 62,36% và 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol: 15,1%. Sau 1 giờ nữa, thêm một đương lượng DABCO (258g) vào và duy trì phản ứng trong một giờ nữa. Phân tích HPLC thể hiện sự chuyển hóa là 75,63% (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat và 2% 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol. Làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước DM lạnh (12 L), khuấy trong 15 phút và chiết bằng etyl axetat (2 X 6 L). Rửa các lớp hữu cơ gom lại dung dịch nước muối bão hòa (30%, 2 X 3L), làm khan qua Natri sulfat khan (100g) và cô đặc. Đưa khối thô (840g) vào bình thót cổ đáy tròn 10L và thêm metanol (1200mL) vào. Duy trì dung dịch ở từ 0 đến 5°C và khuấy trong 30 phút. Lọc chất rắn thu được và rửa bằng metanol (200mL), mà thu được sản phẩm là chất rắn màu trắng (550 g, 65,0 %), Độ tinh khiết: 87,34 % (HPLC); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,30 (d, 6H, J = 6,0 Hz), 5,12 (m, 1H), 5,73 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 7,24 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 7,91 (s, 1H), 8,58 (s, 2H), 9,70 (s, 1H). Tỷ lệ chất đồng phân cis: chất đồng phân trans là 83:8.

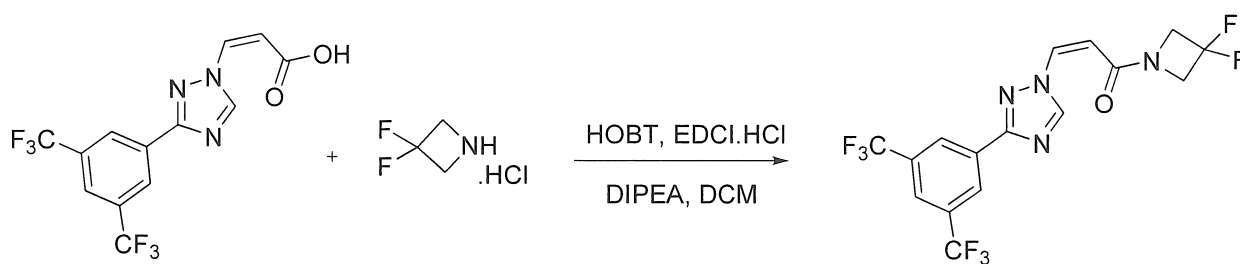
Tổng hợp axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic:



Nạp bình thót cổ đáy tròn bốn cổ 5-L được trang bị phễu bổ sung, hốc cảm nhiệt kế, dụng cụ khuấy cơ học và nút bằng THF (1,25L) và (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat (125g, 1 đương lượng) ở nhiệt độ

trong phòng. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến 0°C. Thêm dung dịch lithi hydroxit đá lạnh (66,58g trong 1,25L nước) vào dung dịch đang khuấy trong thời gian 30 phút qua phễu bổ sung. Tăng một cách từ từ nhiệt độ phản ứng đến 25°C và duy trì khối phản ứng ở nhiệt độ đó trong 2 giờ. Việc kiểm tra HPLC cho kết quả sau đây: axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic: 87,66%; axit (E)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic: 9,91%, (Z)-isopropyl 3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat 2%. Phản ứng được tiếp tục trong 30 phút nữa và kiểm tra HPLC: axit ((Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic: 88,20%; axit (E)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic: 11,03%. Sau khi hoàn thành phản ứng, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh (385mL) và khuấy trong 30 phút. Điều chỉnh độ pH đến từ 1 đến 2 bằng axit clohydric pha loãng (30%, 400 mL) và chiết khối phản ứng bằng etyl axetat (3 x 625mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước muối bão hòa (30%, 650mL), làm khan qua natri sulfat khan (12,5g) và cô đặc dưới áp suất giảm ở từ 30 đến 35°C. Thêm hexan vào vật liệu thô và khuấy trong 30 phút. Lọc chất rắn thu được qua phễu Buchner và rửa bằng hexan (250mL). Làm khô chất rắn thu được trong 30 phút trong chân không và ở nhiệt độ trong phòng trong từ 3 đến 4 giờ. Tách sản phẩm là bột màu trắng (92,8g, 84,36%). Độ tinh khiết: 93% (HPLC); ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 5,98(d, 1H, J = 10,2 Hz), 7,48 (d, 1H, J = 10,2 Hz), 8,2 (s, 1H), 8,50-8,54 (m, 2H), 9,39 (s, 1H).

Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)prop-2-en-1-on:



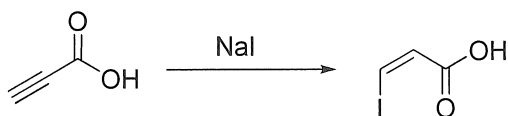
Thêm axit (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylic (100g, 1,0 đương lượng) trong DCM (1,8L, 18 thể tích) vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ dung tích 3-L được trang bị cổng nạp nito, phễu bổ sung, hốc cảm nhiệt kế, dụng cụ

khuấy cơ học. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến -10°C . Thêm HOBt (4,4g, 0,1 đương lượng), EDC·HCl (80,6g, 1,5 đương lượng) và 3,3-difloazetidin hydroclorua (44g, 1,2 đương lượng) vào dung dịch được làm lạnh. Thêm nhỏ giọt DIPEA (72mL, 1,5 đương lượng) vào hỗn hợp thu được ở -10°C trong thời gian 1,5 giờ. Kiểm tra sự tiến triển của phản ứng bằng phân tích HPLC mà thể hiện sự kết thúc phản ứng ở kết thúc việc thêm DIPEA vào. Tăng từ từ nhiệt độ phản ứng đến từ 15°C đến 20°C (khoảng 2 giờ). Làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng 1L huyền phù nước đá. Tách lớp hữu cơ và chiết lớp nước bằng DCM (400mL x 2). Rửa lớp hữu cơ bằng dung dịch nước muối bão hòa (2 x 500 ml), làm khan qua Na_2SO_4 khan (10g) và cô đặc dưới áp suất giảm (khoảng 35°C) để thu được hợp chất thô. Hòa tan hợp chất thô thu được theo cách này trong 5 thể tích DIPE và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 30 phút và sau đó lọc. Trọng lượng thô là 100g (hiệu suất = 82,39 %) [Cis-85,07% theo HPLC, Trans-14,36% theo HPLC].

Tinh chế tiếp hợp chất thô thu được theo cách này nhờ kết tinh lại bằng etyl axetat theo quy trình sau đây. Thêm 100g (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)prop-2-en-1-on vào bình thót cổ đáy tròn bốn cổ 500-mL được trang bị dụng cụ khuấy cơ học, hốc cảm nhiệt kế và nút. Thêm etyl axetat (7 thể tích) vào hợp chất này ở nhiệt độ trong phòng kèm khuấy. Tuy nhiên, hợp chất này không thể hòa tan một cách hoàn toàn. Trong bản mô tả sáng chế này, gia nhiệt dung dịch thu được đến 60°C để thu được dung dịch sạch và sau đó làm lạnh một cách từ từ đến -30°C . Ở -30°C , khuấy dung dịch trong 20 phút và lọc trong điều kiện hút. Làm khô hợp chất thu được trong chân không ở từ 40 đến 45°C trong từ 3 đến 4 giờ để thu được sản phẩm là chất rắn màu trắng. (Cis-98,9% theo HPLC); (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)prop-2-en-1-on. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,57(s, 1H), 8,56(s, 2H), 7,90 (s, 1H), 7,18-7,21 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 5,61-5,65 (d, J = 10,8 Hz, 1H), 4,39-4,45(m, 4H).

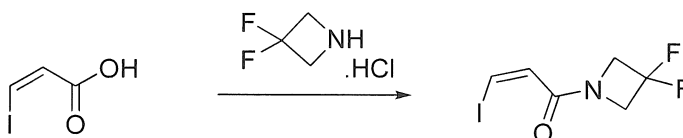
Ví dụ 27.

Tổng hợp axit (Z)-3-iodoacrylic:



Thêm axit propiolic (7,0g, 1,0 đương lượng) được hòa tan trong axit axetic (70mL, 10 thể tích) và natri iodua (29,96g, 2,0 đương lượng) vào bình thót cổ đáy tròn ba cổ dung tích 250-mL được trang bị cổng nạp nitơ. Hỗn hợp phản ứng được hồi lưu ở 100°C trong từ 2 đến 3 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC trên silicagel bằng 10% MeOH:DCM làm pha động. SM $R_f=0,3$ và sản phẩm $R_f=0,5$. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước đá (700mL) và làm trung hòa bằng dung dịch natri bicarbonat bão hòa. Chiết hỗn hợp phản ứng bằng EtOAc (3 x 100mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước muối (3 x 100mL), làm khan qua $MgSO_4$, lọc và cô đặc nhờ cất quay (25°C, 20mmHg) để thu được 12,0g hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng silic dioxit 60/120, sử dụng MeOH:DCM làm pha động. Cột được nhồi sẵn (5 x 10cm) trong DCM và bắt đầu tách rửa trong MeOH theo cách bắt đầu gom phân đoạn (50-mL phân đoạn) từ 2% đến 5% MeOH trong DCM. Hợp chất được bắt đầu tách rửa bằng 2% MeOH trong DCM. Gom các phân đoạn có cùng TLC để thu được 8,0gm hợp chất mong muốn (hiệu suất 40,44%).

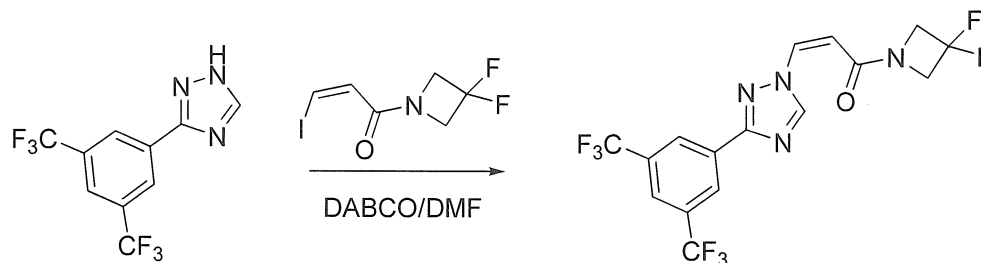
Tổng hợp (Z)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-iodoprop-2-en-1-on:



Trong bình thót cổ đáy tròn ba cổ dung tích 25-mL được trang bị cổng nạp nitơ và vách cao su, hòa tan axit (Z)-3-iodoacrylic (0,250g, 1,0 đương lượng) trong DCM (10mL, 40 thể tích). Làm mát hỗn hợp phản ứng đến 0°C, và thêm DIPEA (0,168g, 1,1 đương lượng), HATU (0,494g, 1,1 đương lượng) và 3,3-difloazetidin hydroclorua (0,179g, 1,1) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong từ 2 đến 3 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC trên silicagel bằng 40% etyl axetat trong hexan. Lọc hỗn hợp phản ứng và cô đặc nhờ cất quay (25°C, 20mmHg) để thu được 0,3g hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng silic dioxit 60/120, sử dụng 40% etyl axetat trong hexan làm pha động. Cột được nhồi sẵn (5 x 10 cm) trong 5% etyl axetat trong hexan và bắt đầu tách rửa trong etyl axetat theo cách gradient nhờ gom phân đoạn (50-mL trên một phân đoạn) từ 20% đến 30% etyl axetat trong hexan. Hợp chất được bắt đầu tách rửa bằng 20% etyl axetat trong hexan. Gom

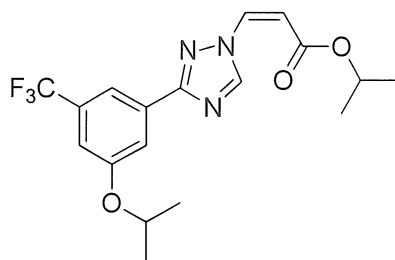
các phân đoạn có cùng TLC để thu được 0,18g hợp chất mong muốn (hiệu suất 52,33%).
Khối lượng: $[M+H]^+$: 273,8.

Tổng hợp (Z)-3-(3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)prop-2-en-1-on:



Trong bình thót cổ đáy tròn ba cổ dung tích 25-mL được trang bị cổng nạp nitơ, hòa tan 3-(3,5-bis(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (0,18g, 1,0 đương lượng) trong DMF (5,0mL, 27,0 thể tích), và thêm DABCO (0,143g, 2,0 đương lượng) và (Z)-1-(3,3-difloazetidin-1-yl)-3-iodoprop-2-en-1-on (0,192g, 1,1 đương lượng) vào. Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong từ 2 đến 3 giờ. Sự tiến triển của phản ứng được theo dõi nhờ phân tích TLC trên silicagel bằng 80% etyl axetat-hexan làm pha động, SM R_f = 0,60 và Sản phẩm R_f = 0,4. Rót hỗn hợp phản ứng vào nước đá (50mL) và chiết bằng EtOAc (3 x 25mL). Rửa các lớp hữu cơ gom lại bằng dung dịch nước muối (3 x 25mL), làm khan qua $MgSO_4$, lọc và cô đặc nhờ cất quay (25°C, 20mmHg) để thu được 0,3g hợp chất thô mà được tinh chế bằng sắc ký cột bằng cách sử dụng silic dioxit 60/120 bằng cách sử dụng etyl axetat:hexan làm pha động. Cột được nhồi sẵn (5 x 10cm) trong hexan và bắt đầu tách rửa trong etyl axetat theo cách gradient bắt đầu với việc gom phân đoạn (50-mL phân đoạn) từ 40% đến 45% etyl axetat trong hexan. Hợp chất được bắt đầu tách rửa bằng 40% etyl axetat trong hexan. Gom các phân đoạn có cùng TLC để thu được 70mg hợp chất mong muốn (hiệu suất 25,64%).

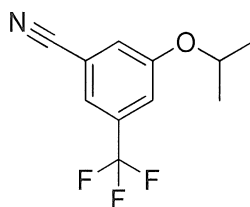
Ví dụ 28. Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3-isopropoxy-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Tổng hợp isopropyl propiolat. Thêm BF_3 eterat (2015g, 14,2 mol) vào hỗn hợp gồm axit propiolic (500g, 7,1mol) trong isopropanol (4000mL) ở 10°C . Sau khi khuấy trong 10 phút, gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 90°C và khuấy trong 2 giờ. Kiểm tra sự kết thúc phản ứng bằng TLC. Đưa hỗn hợp phản ứng xuống đến nhiệt độ từ 25 đến 30°C và làm ngừng bằng đá nghiền, tiếp theo chiết bằng diclometan. Rửa lớp hữu cơ bằng nước và sau đó bằng dung dịch nước muối. Làm khan lớp hữu cơ qua natri sulfat và cô đặc trong chân không để thu được isopropyl propiolat (440g; 55%). Xác nhận sản phẩm bằng ^1H NMR.

Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat. Thêm NaI (930g, 6,2mol) vào hỗn hợp gồm isopropyl propiolat (350g, 3,1mol) trong AcOH (1300mL) ở 25°C . Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến 115°C và khuấy trong 1,5 giờ. Làm mát hỗn hợp phản ứng đến từ 25 đến 30°C và làm ngừng bằng nước, tiếp theo chiết bằng MTBE. Rửa lớp hữu cơ bằng bicarbonat bão hòa, bisulfit và dung dịch nước muối. Làm khan lớp hữu cơ qua natri sulfat và cô đặc trong chân không để thu được sản phẩm (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (626g; 83,5%). Xác nhận sản phẩm bằng ^1H NMR.

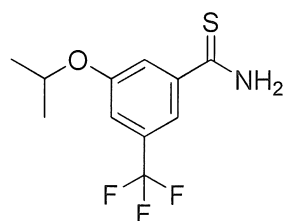
Tổng hợp 3-isopropoxy-5-(triflometyl)benzonitril:



Thêm NaH (122g, 5,08mol) vào hỗn hợp gồm propan-2-ol (102,96g 1,76mol) trong DMF (3200mL, 8 thể tích) ở 5°C . Khuấy hỗn hợp trong 2 giờ. Thêm nhỏ giọt 3-flo-5-(triflometyl)benzonitiil (400, 2,1mol) vào hỗn hợp này. Gia tăng nhiệt độ của khối đến từ 25 đến 30°C và duy trì ở cùng nhiệt độ trong 1 giờ. Kiểm tra phản ứng bằng HPLC. Sau khi kết thúc, làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh và chiết bằng

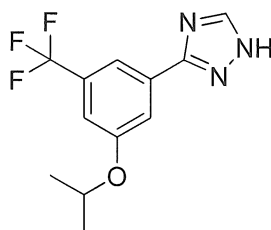
etyl axetat. Rửa lớp etyl axetat bằng nước muối, làm khan qua Natri sulfat và sau đó cô đặc trong chân không để thu được 530g (2,31 mol; 110%) 3-isopropoxy-5-(triflometyl)benzonitril, mà được cho vào bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Độ tinh khiết HPLC – 96,5% theo diện tích (a/a).

Tổng hợp 3-isopropoxy-5-(triflometyl)benzothioamit:



Hòa tan 3-isopropoxy-5-(triflometyl)benzonitril (1000g, 4,3mol) trong DMF (4000mL) và thêm natri hydrosulfua hydrat (636g; 8,6mol) vào tiếp theo magie clorua hexahydrat (960,2g, 4,7mol). Khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ ở từ 25 đến 30°C. Kiểm tra việc kết thúc phản ứng bằng TLC bằng cách sử dụng etyl axetat:hexan (2:8) làm pha động. Làm ngừng hỗn hợp phản ứng trong huyền phù nước đá (250mL) và điều chỉnh độ pH đến 5 bằng cách bổ sung 10% nước HCl vào. Chiết hỗn hợp phản ứng bằng MTBE và rửa bằng 20% dung dịch nước muối. Cô đặc lớp hữu cơ trong chân không để thu được 1136g (4,3 mol; 100%) hợp chất nêu ở đề mục này, mà được cho vào bước tiếp theo. Độ tinh khiết HPLC – 97,37% a/a.

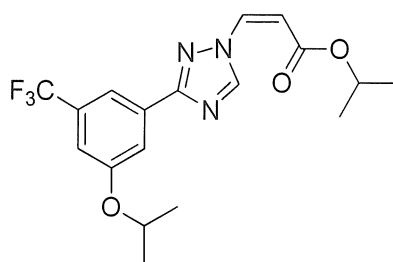
Tổng hợp 3-(3-isopropoxy-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol:



Kết hợp 3-isopropoxy-5-(triflometyl)benzothioamit (646g; 2,74mol) với hydrazin hydrat (140g; 4,4mol) và DMF (3200mL; 5 thể tích). Khuấy hỗn hợp trong 30 phút và làm lạnh đến 10°C. Thêm nhỏ giọt axit formic (3200mL) vào hỗn hợp phản ứng này. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến từ 90 đến 100°C và được duy trì trong 12 giờ. Sau khi phản ứng hoàn thành nhờ xác định bằng HPLC, làm mát khối phản ứng đến từ 25

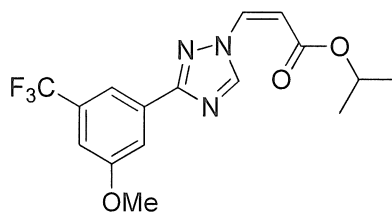
đến 30°C và làm ngừng bằng nước đá lạnh. Chiết hỗn hợp trong MTBE. Rửa lớp hữu cơ bằng nước muối tiếp theo nước natri bicarbonat và cô đặc trong chân không. Lấy phần cặn ra bằng cách sử dụng hexan, tạo huyền phù phần cặn thu được ở 10°C trong 1 giờ. Lọc chất rắn thu được và làm khô trong 12 giờ ở từ 25 đến 30°C để thu được 550g (2,26 mol; 82%) sản phẩm 3-(3-metoxi-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol. Độ tinh khiết HPLC – 95,24 % a/a.

Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3-isopropoxy-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



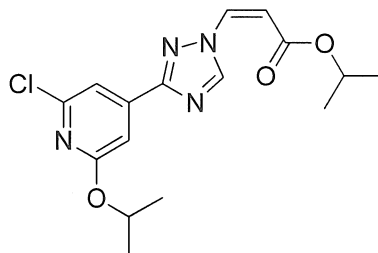
Khuấy hỗn hợp gồm 3-(3-metoxi-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (500g, 1,8mol) và DABCO (417,6g; 3,6mol) trong DMF (1200mL) trong 30 phút. Thêm từ từ (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (864g; 3,6mol) trong DMF (1200mL) vào hỗn hợp này ở từ 25 đến 30°C và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ. Sau 1 giờ, thêm DABCO (208g; 1 đương lượng) vào và khuấy hỗn hợp phản ứng trong 1 giờ. Phân tích HPLC thể hiện 3-(3-metoxi-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol 9,59%, (Z)-isopropyl 3-(3-(3-isopropoxy-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat: 73,76%, (E)-isopropyl 3-(3-(3-isopropoxy-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat: 6,66%. Làm ngừng khối phản ứng bằng nước, chiết bằng diclometan và cô đặc trong chân không để thu được sản phẩm thô. Sắc ký sản phẩm thô bằng cách sử dụng hệ etyl axetat-hexan trong từ 60 đến 120 silicagel để thu được 310g (0,8mol; 44%). Độ tinh khiết HPLC - 99% a/a.

Ví dụ 29. Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3-metoxi-5-(triflometyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



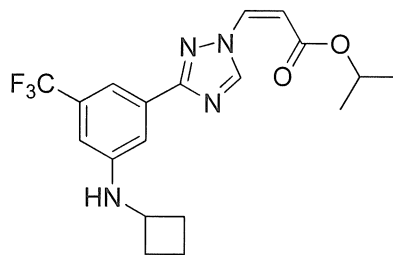
Thêm DABCO (2 đương lượng) vào dung dịch chứa 3-(3-methoxy-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol (0,50g) (được tạo ra theo Ví dụ 3) trong DMF (1,5mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng thu được trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng, sau đó thêm (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (2,0 đương lượng; được tạo ra theo Ví dụ 3) vào. Khuấy hỗn hợp thu được ở nhiệt độ trong phòng trong 3 giờ. Làm ngừng hỗn hợp phản ứng bằng nước đá lạnh, và chiết bằng ethyl axetat (3 lần). Tách các lớp hữu cơ và làm khô lớp hữu cơ gom lại qua natri sulfat khan. Phân tích LC-MS và HPLC cho biết 62% chất đồng phân cis và 36% chất đồng phân trans. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 9,72(s, 1H), 8,02(s, 1H), 7,86(s, 1H), 7,30(s, 1H), 7,28(d, $J = 8,8\text{Hz}$, 1H), 5,71-5,73(d, $J = 10,8\text{Hz}$, 1H), 5,12-5,18(m, 1H), 3,94(s, 3H), 1,34(d, 6H): LCMS đối với $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3$ $[\text{M}+1]^+$ 355,31 phát hiện 355,92 ở 4,317 phút (LCMS 99,82%).

Ví dụ 30. Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(2-(4-(3-isopropoxy-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylate)-2-chloro-6-isopropoxy-4-pyridinyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Thêm DABCO (0,467g, 2 đương lượng) vào 2-chloro-6-isopropoxy-4-(1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyridin (0,5g) (được tạo ra trong Ví dụ 3) trong 3mL DMF và khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút. Thêm dung dịch chứa (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (0,990g, 2 đương lượng) (được tạo ra trong Ví dụ 3) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy hỗn hợp thu được trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Xử lý hỗn hợp phản ứng như trong Ví dụ 3, để thu được 53% chất đồng phân cis và 34% chất đồng phân trans 34%.

Ví dụ 31. Tổng hợp (Z)-isopropyl 3-(3-(3-(cyclobutylamino)-5-(trifluoromethyl)phenyl)-1H-1,2,4-triazol-1-yl)acrylat:



Thêm DABCO (0,188g) vào N-xyclobutyl-3-(1H-1,2,4-triazol-3-yl)-5-(triflometyl)anilin (0,5g) (được tạo ra trong Ví dụ 3) trong 1,5mL DMF và khuấy hỗn hợp thu được trong 30 phút. Thêm dung dịch chứa (Z)-isopropyl 3-iodoacrylat (0,404g) (được tạo ra trong Ví dụ 3) vào hỗn hợp phản ứng và khuấy hỗn hợp thu được trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng. Xử hỗn hợp phản ứng như trong Ví dụ 3, để thu được 44% chất đồng phân cis và 20% chất đồng phân trans.

Ví dụ 32: Thử nghiệm. Các hợp chất minh họa của sáng chế được thử nghiệm song song với Các hợp chất X-1, X2 và X-3 (được mô tả trong Bảng 2), trong các thử nghiệm khác nhau. Các kết quả được nêu trong Bảng 2 dưới đây.

Sự ức chế xuất khẩu nhân

Khả năng của các hợp chất minh họa của sáng chế ức chế sự xuất khẩu nhân qua trung gian CRM1 được thử nghiệm trong thử nghiệm RevGFP. Rev là protein từ virus suy giảm miễn dịch của người typ 1 (HIV-1) và chứa tín hiệu xuất khẩu nhân (NES) ở miền đầu cuối C của nó và tín hiệu định vị nhân (NLS) ở miền đầu cuối N của nó. Sự xuất khẩu nhân của Rev protein phụ thuộc vào con đường NES/CRM1 cổ điển (Neville et al. 1997). Sự tích tụ nhân của Rev có thể quan sát được trong tế bào được xử lý bằng các chất ức chế cụ thể của CRM1, như LMB (Kau et al. 2003).

Trong thử nghiệm này, tế bào U2OS-RevGFP được tạo hạt trên đĩa 384 giếng màu đen đáy trong trước khi thử nghiệm. Pha loãng theo dãy các hợp chất ở tỷ lệ 1:2 trong DMEM, bắt đầu từ 40 μ M trong đĩa 384 giếng riêng biệt và sau đó được chuyển vào tế bào. Ủ tế bào bằng hợp chất trong khoảng 1 giờ trước khi cố định bằng 3,7% formaldehyt và nhuộm nhân bằng Hoechst 33258. Đo lượng GFP trong nhân tế bào và IC₅₀ của mỗi hợp chất được xác định (Kau et al. 2003). Các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính được xét đến trong thử nghiệm Rev-GFP được nêu trên đây nếu chúng có IC₅₀

nhỏ hơn khoảng $10\mu\text{M}$, với các hợp chất được ưu tiên nhất có IC_{50} nhỏ hơn khoảng $1\mu\text{M}$. Các kết quả của thử nghiệm RevGFP được thể hiện trong Bảng 2.

Thử nghiệm sự tăng sinh tế bào

Thử nghiệm sự tăng sinh tế bào CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega) được sử dụng đối với nhiều dòng tế bào u tủy để nghiên cứu các đặc tính độc tế bào và gây độc tế bào của các hợp chất. Thử nghiệm được dựa trên sự phân tách của muối tetrazol, MTS, với sự có mặt của chất liên hợp điện tử PES (phenazin etosulfat). Khử sinh học MTS tetrazol bằng tế bào thành sản phẩm formazan được tạo màu mà có thể hòa tan trong môi trường nuôi cấy mô. Sự chuyển hóa này có lẽ là được hoàn thành bởi NADPH hoặc NADH được tạo ra bởi enzym dehydroaza trong tế bào hoạt hóa về mặt chuyển hóa. Các thử nghiệm được thực hiện bằng cách bổ sung lượng nhỏ của thuốc thử CellTiter 96® AQueous One solution một cách trực tiếp vào các giếng nuôi cấy, ủ trong từ 1 đến 4 giờ và sau đó ghi chép sự hấp thụ ở 490nm bằng dụng cụ đọc đĩa 96 giếng. Độ hấp thụ chỉ ra mối tương quan trực tiếp với số lượng tế bào và hoạt tính chuyển hóa của chúng.

Tạo hạt tế bào ở từ 5×10^3 đến $1,5 \times 10^4$ tế bào trong mỗi giếng của đĩa 96 giếng trong $100\mu\text{L}$ môi trường nuôi cấy mới và cho phép tế bào dính bám để dính bám qua đêm. Pha loãng dung dịch gốc chứa hợp chất trong môi trường nuôi cấy tế bào để thu được tám nồng độ của mỗi dược chất, nằm trong khoảng từ 1nM đến $30\mu\text{M}$ và DMSO ít hơn 1% thể tích được sử dụng làm đối chứng âm tính. Các dung dịch chứa dược chất thu được được chuyển vào tế bào. Sau 72 giờ xử lý, thêm $20\mu\text{L}$ thuốc thử CellTiter 96® Aqueous vào mỗi giếng của các đĩa thử nghiệm 96 giếng và ủ đĩa ở 37°C trong từ 1 đến 4 giờ trong khí CO_2 , độ ẩm 5%. Sau đó, chỉ chép độ hấp thụ của mỗi giếng ở 490nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa 96 giếng. Trong hầu hết các trường hợp, thử nghiệm được thực hiện ba lần và các kết quả thể hiện là nửa nồng độ ức chế tối đa (IC_{50}). Tạo biểu đồ đối với mật độ quang học theo hợp chất và phân tích bằng cách sử dụng các phương trình hồi quy không tuyến tính (IDBS XLfit) và IC_{50} đối với mỗi hợp chất được tính toán.

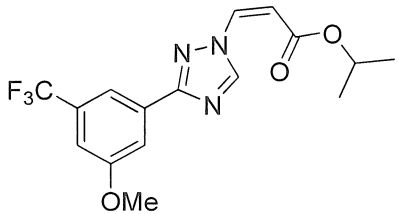
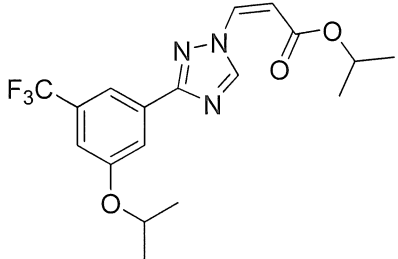
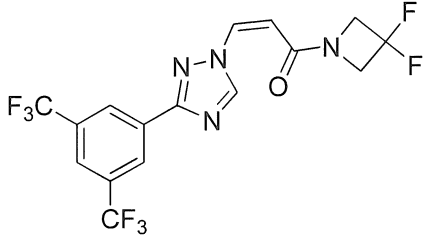
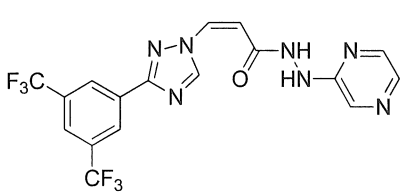
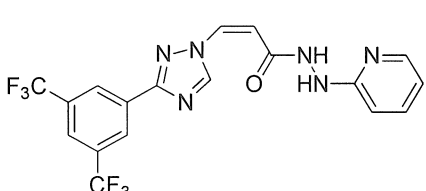
Thử nghiệm dược động học (PK) và xác định tỷ lệ não: huyết tương

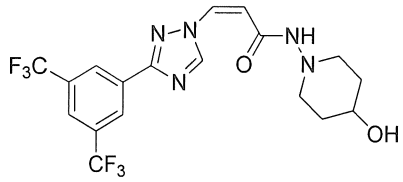
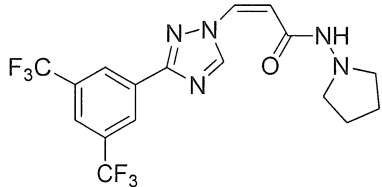
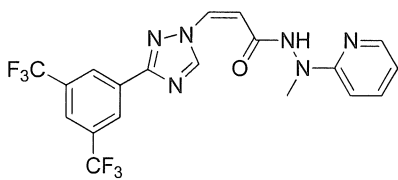
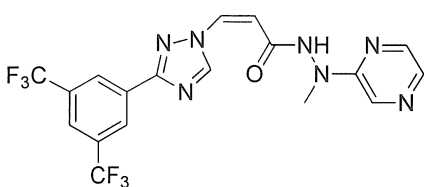
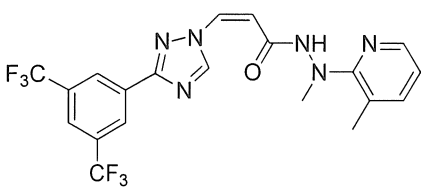
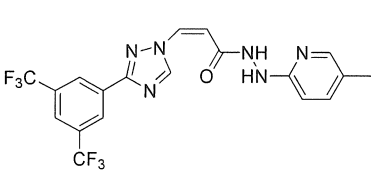
AUC. Gom máu từ các chuột ($N = 3$) để góp phần vào tổng số 10 điểm (trước dùng liều, 5 phút, 15 phút, 30 phút, 1 giờ, 2 giờ, 4 giờ, 8 giờ, 12 giờ và 24 giờ sau dùng liều). Lấy máu của chuột trên cơ sở quay, mỗi chuột đóng góp 3 điểm vào máu gom. Ở các thời điểm được xác định, gây mê động vật trong isofluran và khoảng 110 μL máu/thời điểm được gom qua việc trích sau ổ mắt vào ống K_2EDTA được làm lạnh trước (chống đông). Đặt các mẫu máu vào nước đá và ly tâm (2000g, 5 phút ở 4°C) để thu được huyết tương trong 30 phút gom mẫu. Tất cả các mẫu được lưu trữ đông lạnh ở khoảng -80°C cho đến khi phân tích. Trước khi phân tích, trộn các mẫu với chất chuẩn nội (dexametason) trong axetonitril, tạo lốc xoáy, ly tâm và dịch nổi được bơm vào máy phân tích. Xác định nồng độ của các hợp chất trong huyết tương bằng cách sử dụng dụng cụ đo LC-MS-MS (API 4000, Triple Quadrupole ion hóa phun điện tử; Cột sắc ký lỏng siêu hiệu năng C18, với MeOH và axit formic làm dung môi hữu cơ). Tính toán các giá trị AUC bằng cách sử dụng gói phần mềm WinNonlin Professional 6.2, mô hình được động cho không ngăn NCA200.

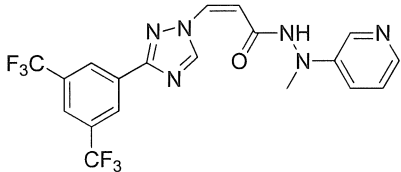
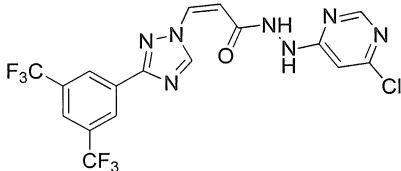
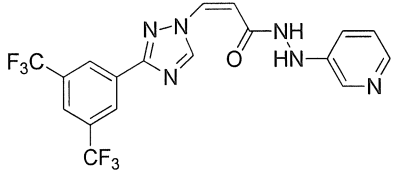
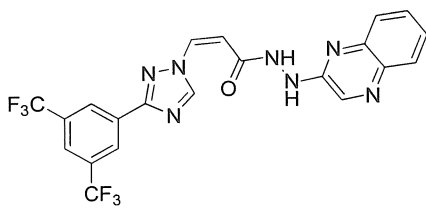
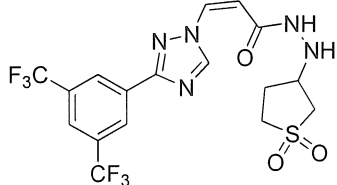
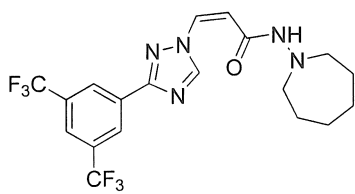
Tỷ lệ của não với huyết tương (B:P). Nhóm chuột riêng biệt ($N = 3$) được dùng liều (PO ở 10mg/kg) và sau đó được giết ở thời điểm nồng độ trong huyết tương tối đa (T_{max} được ước lượng ở 2 giờ sau dùng liều), khi kết thúc thời gian đó, gom huyết tương và mô não. Tiếp theo gom, nhuộm mô não bằng nước muối lạnh, làm khô trên giấy lọc, xác định trọng lượng và làm đông lạnh nhanh bằng cách đặt lên nước đá khô. Tất cả các mẫu được lưu trữ đông lạnh ở khoảng -80°C cho đến khi phân tích. Ở thời gian phân tích, tạo đồng nhất mô não (dung dịch tạo đồng nhất PBS, độ pH = 7,4), được trộn với chất chuẩn nội (dexamethasone) trong axetonitril, tạo lốc xoáy, ly tâm và dịch nổi được bơm vào máy phân tích nồng độ của hợp chất bằng cách sử dụng phương pháp LC-MS-MS (API 4000, Triple Quadrupole ion hóa tia điện tử; Cột sắc ký lỏng siêu hiệu năng C18, với MeOH và axit formic làm các dung môi hữu cơ). Các mẫu huyết tương được xử lý bằng phương pháp giống nhau (ngoại trừ bước làm đồng nhất) và nồng độ của hợp chất trong mỗi nền được tính toán dựa trên các đường cong tiêu chuẩn được tạo ra. Các kết quả của thử nghiệm PK và việc xác định tỷ lệ B:P được thể hiện trong Bảng 2.

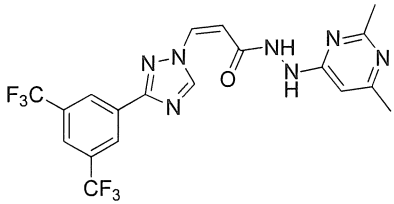
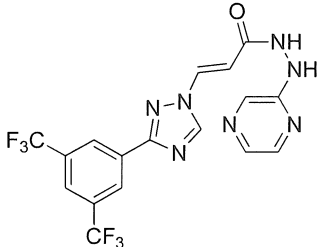
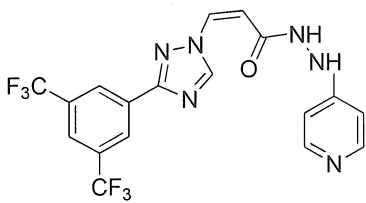
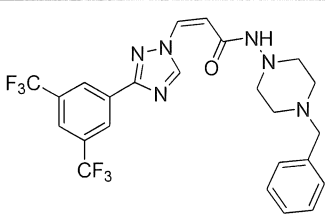
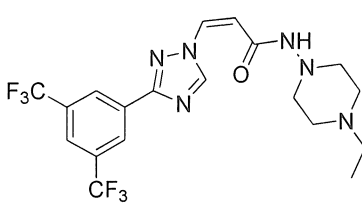
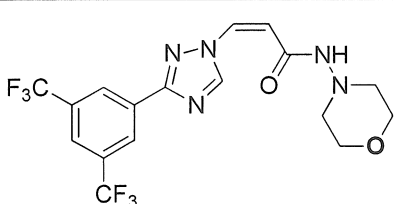
Bảng 2. Các kết quả thử nghiệm đối với Các hợp chất có công thức I và các kết quả so sánh của nó (A = giá trị $\text{IC}_{50} \leq 1 \mu\text{M}$; B = giá trị IC_{50} từ 1 đến $10 \mu\text{M}$; C = giá trị

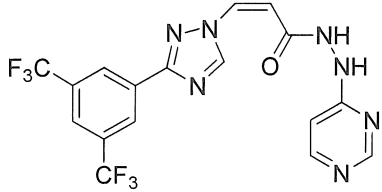
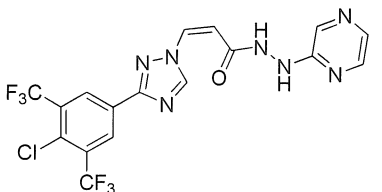
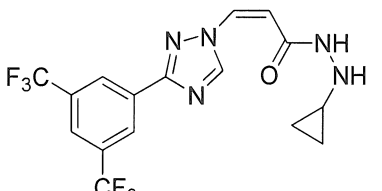
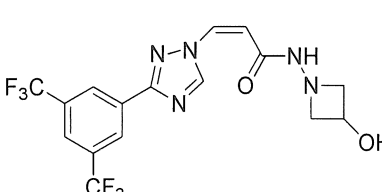
IC₅₀ >10 μ M; NT = không được thử nghiệm).

Hợp chất số	Cấu trúc	Xuất khẩu Rev	Thử nghiệm gây độc tế bào	AUC _{Inf} (hr.ng/mL)*	B:P*
X-1**		A	A	209‡	NT
X-2***		A	A	68,3†	1,27†
X-3		A	A	12300	5,0
I-3		A	A	10100	0,71
I-4		A	A	10800	1,8

Hợp chất số	Cấu trúc	Xuất khẩu Rev	Thử nghiệm gây độc tế bào	AUC _{Inf} (hr•ng/mL)*	B:P*
I-5		NT	A	3850	1,4
I-6		NT	A	NT	NT
I-7		A	A	12200	1,5
I-8		A	A	4600	2,1
I-9		NT	A	NT	NT
I-10		NT	A	4170	0,77

Hợp chất số	Cấu trúc	Xuất khẩu Rev	Thử nghiệm gây độc tế bào	AUC _{Inf} (hr·ng/mL)*	B:P*
I-11		NT	A	NT	NT
I-12		A	A	24900	0,13
I-13		NT	A	NT	NT
I-14		NT	A	NT	NT
I-15		NT	A	NT	NT
I-16		NT	A	NT	NT

Hợp chất số	Cấu trúc	Xuất khẩu Rev	Thử nghiệm gây độc tế bào	AUC _{Inf} (hr·ng/mL)*	B:P*
I-17		NT	A	NT	NT
I-18		NT	A	7140	0,28
I-19		NT	A	4020	0,2
I-20		NT	A	NT	NT
I-21		NT	A	NT	NT
I-22		NT	A	NT	NT

Hợp chất số	Cấu trúc	Xuất khẩu Rev	Thử nghiệm gây độc tế bào	AUC _{Inf} (hr•ng/mL)*	B:P*
I-23		NT	A	NT	NT
I-24		NT	A	3350	0,7
I-25		NT	A	NT	NT
I-26		NT	A	NT	NT

* Dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po.

** Hợp chất 26 của công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2009/0275607.

*** Hợp chất 44 của công bố đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số US 2009/0275607.

‡ Các giá trị AUC_{Inf} đối với hợp chất X-1 được dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po là nhỏ hơn giới hạn định lượng. Các dữ liệu được báo cáo đối với liều dùng 5mg/kg trong tĩnh mạch.

† Dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po.

AUC_{Inf} đối với hợp chất X-1 là dưới dưới giới hạn phát hiện khi dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po. Khi dùng liều ở 5mg/kg trong tĩnh mạch, hợp chất X-1 thể hiện sự tiếp xúc tối thiểu, như được chỉ định bởi AUC_{Inf} thấp 209 giờ•ng/mL. Tỷ lệ của não với

huyết tương đối với hợp chất X-1 là không được xác định do các mức tiếp xúc không đáng kể của nó khi dùng liều po.

AUC_{Inf} đối với hợp chất X-2 được tính toán là 68,3 giờ•ng/mL khi dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po. Mức tiếp xúc này là quá thấp khi so với hợp chất X-3 và các hợp chất có công thức I của sáng chế. Tuy nhiên, hợp chất X-2 thể hiện tỷ lệ của não với huyết thanh vừa phải. AUC_{Inf} thấp kết hợp với tỷ lệ của não với huyết thanh không đáng kể gợi ý rằng hợp chất X-2 có thể cắt ngang qua BBB bất kỳ các mức tiếp xúc thấp. Các tác giả sáng chế cho rằng Hợp chất X-2 sẽ có tỷ lệ của não với huyết thanh cao hơn một cách đáng kể nếu AUC_{Inf} của nó tăng.

AUC_{Inf} đối với hợp chất X-3 được tính toán là 12300 giờ•ng/mL khi dùng liều cho chuột ở 10mg/kg po, cho biết sự tiếp xúc tốt. Tuy nhiên, hợp chất X-3 đã chứng minh tỷ lệ B:P cao là 5,0.

Hợp chất có công thức I được đặc trưng bởi AUC_{Inf} lớn hơn khoảng 3300 giờ•ng/mL, trong hầu hết các trường hợp lớn hơn khoảng 3500 giờ•ng/mL và tỷ lệ B:P tương đối thấp (<2,5). Thông thường, các mức tiếp xúc lớn hơn chất điều trị làm gia tăng khả năng thâm thấu não. Do đó, ngạc nhiên và ngoài mong đợi rằng các hợp chất có công thức I thể hiện các mức AUC_{Inf} cao và tỷ lệ của não với huyết tương tương đối thấp.

Hoạt tính In vivo và In vitro của các hợp chất theo sáng chế đối với bệnh ung thư vú

Bệnh ung thư vú tương tự cơ sở (BLBC) bao gồm đến 15% bệnh ung thư vú (BC) và thường là bệnh ung thư vú âm tính bộ ba (TNBC) và được đặc trưng bởi sự thiếu hụt ER, thụ thể progesteron PR, và sự khuếch đại HER-2. Ngoài ra, hầu hết BC kết hợp với BRCA1 là BLBC và TNBC, biểu hiện các xytokeratin cơ sở và EGFR. BLBC được đặc trưng bởi kiểu hình xâm lấn, mức mô học cao và kết quả lâm sàng kém với tỷ lệ tái phát và di căn ở mức cao. Các liệu pháp bổ sung là cần thiết. Hoạt tính của hợp chất theo sáng chế, ví dụ, Hợp chất I-3 được đánh giá trong các dòng tế bào ung thư vú khác nhau cả *in vitro* và *in vivo*.

Sự ức chế ghép khác loài TNBC (Bệnh ung thư vú âm tính bộ ba) In Vivo

MDA-MB-468 (ATCC #HTB-132) tế bào bệnh ung thư vú âm tính bộ ba thu được từ ATCC. Các tế bào này được cho phát triển trong môi trường Leibovitz's L-15 được bổ sung với 10% huyết thanh bào thai bò (FCS), 1% penixilin và streptomycin, và 2mM L-glutamin. Tế bào được nuôi cấy phụ nhờ bằng cách pha loãng ở tỷ lệ 1:3. Năm mươi (50) chuột giống cái SCID (Charles River Labs), từ 5 đến 6 tuần tuổi, với thể trọng trước điều trị trung bình 19,2 gam là được sử dụng. Tiêm dưới da chuột SCID vào hông bên trái bằng 5×10^6 tế bào MDA-MB-468. Khi khối u đạt đến kích cỡ trung bình nằm trong khoảng từ 100 đến 200mm³, thì chuột được chia một cách ngẫu nhiên và tiếp theo thành nhóm đối chứng dùng tá dược dạng lỏng gồm mười (10) chuột và năm nhóm điều trị gồm (8) chuột/nhóm. Các nhóm là như sau:

Tá dược dạng lỏng (1% Pluronic, 1% PVP trong nước cất)

5 FU 50mg/kg

Hợp chất I-3 5mg/kg Thứ hai (M), Thứ tư (W), Thứ sáu (F)

Hợp chất I-3 15mg/kg, M, W, F

Hợp chất I-3 25mg/kg M, W, F

Hợp chất I-3 25mg/kg M, Thứ năm (Th).

Tất cả các lần dùng đều là qua đường miệng. Các động vật được cho ăn với thức ăn của loài gặm nhấm Labdiet® 5053 vô trùng (được vô trùng trước) và nước vô trùng được cung cấp tự do. Đo khối u cứ hai ngày một lần bằng vi com-pa và tính toán thể tích khối u như (chiều dài x chiều rộng x chiều rộng)/2. Tất cả động vật được xác định trọng lượng hằng ngày để đánh giá sự khác nhau về trọng lượng trong số các nhóm điều trị và kiểm tra trạng thái của động vật. Các động vật bất kỳ thể hiện sự giảm lớn hơn 20% trọng lượng so với thời điểm khởi đầu trong quá trình nghiên cứu được gây mê. Động vật bất kỳ có khối u lớn hơn 1500mm³ theo thể tích cũng được gây mê. Sự sống sót được ghi chép hằng ngày. Các dung dịch chứa liều dùng được pha chế mới mỗi ngày. Hợp chất I-3 được dùng ở dạng bột khô lạnh chứa 67,8% sản phẩm được với sự cân bằng được tạo ra của Pluronic F-68 và PVP K29/32. Điều này được tạo ra bằng cách hòa tan bột khô lạnh ở tỷ lệ 6,64mg/90μL trong nước vô trùng và pha loãng nếu cần trong tá dược dạng lỏng (1% Pluronic F-68 và 1% PVP K29/32) trong nước vô trùng. Tất cả dung dịch phân liều chứa Hợp chất I-3 được phân liều ở 0,1mL/10g. Sự khác

nhau thống kê giữa các nhóm điều trị được xác định bằng cách sử dụng thử nghiệm Mann-Whitney Rank Sum hoặc ANOVA với giá trị tới hạn 0,05.

Vào ngày 33 sau khi tiêm, cắt bỏ khối u. FIG.1 là biểu đồ về thể tích khối u dưới dạng hàm theo thời gian và thể hiện rằng Hợp chất I-3 thể hiện hiệu quả theo cách phụ thuộc liều, ức chế khoảng 60% (5mg/kg thứ hai, thứ tư, thứ sáu) đến gần 100% sự phát triển khối u (đối với chế độ 25mg/kg thứ hai, thứ năm) so với các động vật được điều trị bằng tá dược dạng lỏng. Ngoài ra, Hợp chất I-3 cũng được dung nạp tốt.

Khi cắt bỏ, khối u cũng được nhuộm màu cho protein ngăn chặn khối u (TSP) FOXO3a, I κ B, và p27, và sự định vị nhân của TSP được xác nhận bằng mô hóa học miễn dịch.

Sức chế sự tăng sinh tế bào và gây độc tế bào ở dòng tế bào TNBC và Luminal BC

Thử nghiệm sự tăng sinh tế bào CellTiter 96® AQueous One Solution (Promega) được sử dụng để nghiên cứu các đặc tính độc tế bào và gây độc tế bào của Hợp chất I-3 trong các dòng tế bào TNBC và luminal BC khác nhau.

Tạo hạt tế bào ở từ 5×10^3 đến $1,5 \times 10^4$ tế bào (phụ thuộc vào loại tế bào) trong mỗi giếng của đĩa 96 giếng trong 100 μ L môi trường nuôi cấy mới và tế bào dính bám được cho phép gắn vào qua đêm. Pha loãng dung dịch gốc chứa hợp chất trong môi trường nuôi cấy tế bào để thu được tám nồng độ của mỗi dược chất, nằm trong khoảng từ 1nM đến 30 μ M và DMSO nhỏ hơn 1% thể tích được sử dụng làm đối chứng âm tính. Chuyển dung dịch dược chất thu được vào tế bào. Sau 72 giờ điều trị, 20 μ l thuốc thử CellTiter 96® Aqueous vào mỗi giếng của các đĩa thử nghiệm 96 giếng và ủ các đĩa ở 37°C trong từ 1 đến 4 giờ trong khí CO₂ 5% ẩm. Sau đó, ghi chép sự hấp thụ của mỗi giếng ở 490nm bằng cách sử dụng dụng cụ đọc đĩa 96 giếng. Trong hầu hết các trường hợp, thử nghiệm được thực hiện ba lần và các kết quả được thể hiện là nửa nồng độ ức chế tối đa (IC₅₀). Tạo biểu đồ mật độ quang học đối với nồng độ hợp chất và phân tích bằng cách sử dụng phương trình hồi quy phi tuyến tính (Excel Fit) và IC₅₀ đối với mỗi dòng tế bào đối với Hợp chất I-3 được tính toán.

Các kết quả của thử nghiệm tăng sinh tế bào được thể hiện trong Bảng 3. Các kết quả đã chứng minh tính độc tế bào hiệu nghiệm của Hợp chất I-3 đối với chín trong số mười lăm dòng tế bào BC được thử nghiệm. Hợp chất được xem như có hiệu lực đối với dòng tế bào nếu nó có giá trị IC_{50} nhỏ hơn khoảng $1,0\mu M$. Các dòng tế bào trong đó Hợp chất I-3 có giá trị IC_{50} nhỏ hơn $1,0\mu M$ được cho là các dòng tế bào nhạy, trong khi các dòng tế bào trong đó Hợp chất I-3 có giá trị IC_{50} lớn hơn $1,0\mu M$ được cho là kháng dòng tế bào. Bảy trong số chín dòng tế bào nhạy là TNBC. Các phân tích bộ gen đối với tất cả các dòng BC cho biết rằng tình trạng p53, PI3K/AKT và BRCA1 hoặc 2 không tác động đến tính gây độc tế bào.

Bảng 3. Các giá trị IC_{50} đối với Hợp chất I-3 trong các dòng tế bào ung thư vú khác nhau.

Dòng tế bào	Loại	IC_{50} (μM)	Dòng tế bào	Loại	IC_{50} (μM)
MDA-MB-468	BaB	0,01	HCC-1569	BaA	0,96
MDA-MB-231	BaB	0,01	MDA-MB-157	BaB	1,3
DU4475	Lu	0,013	HS578T	BaB	1,5
BT-549	BaB	0,02	BT-20	BaA	1,5
MCF12A	BaB	0,15	HCC-202	Lu/HER+	5,2
MCF10A	BaB	0,18	HCC-1428	Lu	10,4
UACC812	Lu	0,59	ZR7530	Lu/HER+	19
HCC-1143	BaA	0,6			

Hợp chất I-3 gây chết tế bào theo chương trình và ức chế sự phát triển tế bào BC trong thời gian dài

Khả năng của Hợp chất I-3 gây chết tế bào theo chương trình và ức chế sự phát triển trong thời gian dài của các dòng tế bào BC được chọn là được thử nghiệm.

Tế bào MDA-MB-468 TNBC, DU4475 và HS578T TNBC được cho phơi trần với nồng độ Hợp chất I-3 nằm trong khoảng từ 0 đến $10\mu M$ trong 24 giờ. Sau 24 giờ, toàn bộ phần chiết tế bào protein được chạy trên thẩm tách miễn dịch và được cho phơi trần với các kháng thể kháng protein được nêu trong các FIG. từ 2A đến 2C.

Các FIG. từ 2A đến 2C là hình ảnh của thẩm tách miễn dịch thu được từ một vài trong số hầu hết các dòng tế bào ung thư vú kháng và nhạy được mô tả trên đây, bao gồm MDA-MB-468 TNBC, DU4475 và HS578T TNBC. Nghiên cứu này thể hiện rằng Hợp chất I-3 gây chết tế bào theo chương trình trong các dòng tế bào TNBC và luminal BC nhạy (MDA-MB-468 và DU4475, tương ứng) sau 24 giờ, như được chỉ định bởi sự giảm trong PARP và caspaza 3, hai chất đánh dấu gây chết tế bào theo chương trình, và gia tăng trong PARP được tách và caspaza 3 được tách. Trái lại, chỉ có sự gia tăng không đáng kể trong PARP được tách và caspaza 3 được tách quan sát được khi dòng tế bào kháng, HS578T, được xử lý bằng Hợp chất I-3.

Các thử nghiệm sự phát triển trong thời gian dài cũng được thực hiện, trong đó các tế bào MDA-MB-468, MDA-MB-231 và HS578T được xử lý bằng 1 μ M Hợp chất I-3 và ủ trong 7 (HS578T) hoặc 10 (MDA-MB-468 và MDA-MB-231) ngày. Khi kết thúc thử nghiệm, loại bỏ môi trường ra khỏi tế bào và nhuộm tế bào còn lại bằng màu tím tinh thể. Nghiên cứu thể hiện rằng Hợp chất I-3 ức chế sự phát triển trong thời gian dài của tất cả ba dòng tế bào, bao gồm cả các dòng tế bào BC nhạy (MDA-MB-468 và MDA-MB-231) và kháng (HS578T).

Hợp chất I-3 làm gia tăng FOXO3a và I κ B nhân ở dòng tế bào TNBC

Tế bào MDA-MB-468 TNBC Basal A và BT-20 TNBC Basal B được cho phơi trần với DMSO hoặc 1 μ M Hợp chất I-3 trong 24 giờ và sau đó nhuộm đối với FOXO3a hoặc I κ B có hoặc không có nhuộm nhân DAPI. Kiểm tra tế bào được nhuộm đối với sự định vị nhân. Tiếp theo xử lý bằng Hợp chất I-3, cả FOXO3a và I κ B được định vị trong nhân tế bào, trong khi trong tế bào được xử lý DMSO, cả FOXO3a và I κ B được định vị trong tế bào chất.

Tác dụng của Hợp chất I-3 đối với protein chống gây chết tế bào theo chương trình và chu kỳ tế bào ở hai dòng TNBC

Tác dụng của nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 đối với tế bào MDA-MB-468 và HS578T được kiểm tra. Tế bào MDA-MB-468 và HS578T được cho tiếp xúc với nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3 trong 24 giờ và tổng mức protein tế bào của các

protein khác nhau được tạo dò bằng các kháng thể kháng protein được kể đến trong FIG.3.

FIG.3 thể hiện rằng bất kể sự khác nhau khoảng 100 lần trong IC_{50} của Hợp chất I-3 trong hai dòng tế bào sau 72 giờ (10nM đối với 1,5 μ M), sự giảm ở MCL-1 quan sát được ở cả hai dòng tế bào trong việc đáp ứng với các nồng độ gia tăng của Hợp chất I-3.

Các thử nghiệm được mô tả trong Ví dụ 32 cho thấy rằng sự ức chế của sự xuất khẩu nhân qua trong gian CRM1 bởi các hợp chất theo sáng chế, bao gồm Hợp chất I-3, gây sự định vị nhân và sự hoạt hóa của các protein gen ngăn chặn khối u, dẫn đến sự chết tế bào theo chương trình chọn lọc, gây độc tế bào ung thư và ức chế sự phát triển khối u.

Ví dụ 33: Kháng thể đơn dòng gây ra bệnh viêm khớp (CAIA)

Chuột BalbC được gán một cách ngẫu nhiên vào các lồng vào ngày đến (-1) và mỗi nhóm (n=8) được gán vào các nhóm điều trị được thể hiện dưới đây với chế độ sau đây:

Tá được dạng lỏng: PO ngày 4, 6, 8, 10

Dexamethasone: 1mg/kg IP các ngày 4, 6, 8, 10

Hợp chất I-4: 4 mg/kg PO, ngày 4, 6, 8, 10

Hợp chất I-4: 7,5mg/kg PO, ngày 4, 6, 8, 10

Hợp chất I-4: 15mg/kg PO, ngày 4, 6, 8, 10

Tình trạng sức khỏe của động vật được kiểm tra khi đến. Chỉ có các động vật có sức khỏe tốt được làm thích nghi với các điều kiện phòng thí nghiệm và được sử dụng trong nghiên cứu. Các động vật được cung cấp tự do khẩu phần ăn dùng cho động vật gặm nhấm thương mại và tiếp cận tự do với nước uống, được cung cấp vào mỗi lồng qua các chai polyetylen với các ống uống nước làm bằng thép không gỉ. Các điều kiện môi trường được kiểm soát một cách tự động được thiết lập để duy trì nhiệt độ ở từ 20 đến 24°C với độ ẩm tương đối (RH) từ 30 đến 70%, chu kỳ ánh sáng:bóng tối là 12:12 và từ 10 đến 30 thay đổi không khí/giờ trong phòng nghiên cứu. Nhiệt độ, RH và chu

kỳ ánh sáng được kiểm tra hằng ngày bằng máy tính kiểm soát. Các động vật được gán số nhận dạng động vật đơn nhất và vào Ngày 0 của nghiên cứu, mỗi động vật nhận tiêm tĩnh mạch đuôi dịch kháng thể (200uL 10mg/mL). Dịch kháng thể được cung cấp bởi MD Biosciences (Catalog #: CIA-MAB-50). Vào ngày 3, sau khi dùng mAb đơn lẻ, tất cả động vật được dùng LPS (200uL 0,5mg/mL) bằng cách tiêm trong bụng liều duy nhất (IP). LPS được dung cấp bởi MD Biosciences (Catalog #: MDLPS.5). Chuột được kiểm tra đối với các tín hiệu về các đáp ứng viêm khớp ở các khớp ngoại vi vào ngày 0. Từ việc khởi phát bệnh, đáp ứng viêm khớp sẽ được kiểm tra vào các ngày nghiên cứu từ 3 đến 8, 10 và 12. Các phản ứng viêm khớp được báo cáo đối với mỗi chân theo thang điểm từ 0 đến 4 theo thứ tự tăng dần của tính trầm trọng.

Điểm số viêm khớp	Thang điểm
Không có phản ứng, bình thường	0
Trung bình, nhưng xác định bị đỏ và sưng ở mắt cá/cổ tay hoặc xuất hiện đỏ và sưng bị giới hạn đến các ngón riêng rẽ, không quan tâm đến số lượng ngón bị tác động	1
Đỏ từ vừa phải đến nghiêm trọng và sưng mắt cá/cổ tay	2
Đỏ và sưng toàn bộ chân bao gồm các ngón	3
Chi bị viêm ở mức tối đa với sự liên quan của đa khớp	4

Các động vật được phát hiện trong các điều kiện gần chết, các động vật bị phá vỡ da đối với chân viêm khớp hoặc với giảm thể trọng lớn hơn 20% và các động vật thể hiện đau nguy kịch và các dấu hiệu đau nguy kịch lâu dài cho chết một cách nhân đạo. Đau nguy kịch hoặc đau được đánh giá dựa trên từng trường hợp bởi các kỹ thuật viên thử nghiệm động vật. Tuy nhiên một cách vắn tắt, các đánh giá được quan sát đối với sự hiển thị hóa khác thường, sự tách biệt so với các động vật khác, sự miễn cưỡng sử dụng các chi, phản ứng bất thường đối với thao tác, sự run và đáng bộ. Các động vật được gây mê nhờ việc xông CO₂, tiếp theo làm trật khớp cổ. Sự đánh giá chủ yếu dựa trên các giá trị trung bình đối với việc ghi điểm số viêm khớp và các phép đo độ dày của chân. Sự phân tích thống kê cũng được thực hiện đối với thể trọng. Khi thích hợp, sự phân tích dữ liệu theo ANOVA với sự phân tích Tukey post hoc được áp dụng để xác định ý nghĩa của các tác dụng điều trị.

Như một phần của mô hình này, các động vật bị mất trọng lượng một cách nhanh chóng trong từ 5 đến 8 ngày đầu tiên và bắt đầu tăng/mất trọng lượng một cách từ từ phụ thuộc vào sự tiến triển của bệnh. I-4 làm gia tăng tỷ lệ tăng trọng lượng so với các nhóm điều trị bằng tá dược dạng lỏng hoặc các nhóm điều trị dexamethasone. FIG.4 là biểu đồ về thể trọng trung bình đối với thời gian trong các ngày từ 0 đến 12 ở chuột viêm khớp giống đực BALB/c được cảm ứng bởi kháng thể được cho vào mô hình.

Ngoài ra, các động vật được cho vào mô hình CAIA thường bắt đầu thể hiện các dấu hiệu của bệnh viêm khớp khoảng Ngày 4 và do bệnh tiến triển tổng số điểm viêm khớp gia tăng dưới dạng hàm theo thời gian. Việc điều trị bằng Hợp chất I-4 làm giảm một cách đáng kể tổng điểm số khi so sánh với tá dược dạng lỏng và thể hiện tác dụng phụ thuộc liều. FIG.5 là biểu đồ về tổng điểm số viêm khớp mạn tính trung bình ở chân đối với thời gian trong các ngày từ 0 đến 12 ở chuột đực mắc chứng viêm khớp BALB/c cảm ứng kháng thể được trải qua quá trình điều trị được chỉ định.

Ví dụ 34: Mô hình cảm ứng PMA

Chuột BALB/c được nhốt vào các lồng thông khí một cách riêng rẽ trong môi trường được kiểm soát (nhiệt độ $22 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm $70 \pm 5\%$, và chu kỳ 12 giờ chiếu sáng /12 giờ bóng tối) trong điều kiện thuận lợi cho động vật. Các chuột được tiếp cận với hạt thức ăn sẵn có trên thị trường và nước uống được xử lý tia cực tím tự do. 4 chuột được nhốt/lồng thông khí một cách riêng rẽ. Mỗi chuột trong lồng được nhận dạng bởi đuôi. 8 chuột/nhóm chuột được phân chia ngẫu nhiên thành các nhóm điều trị khác nhau theo thể trọng. Tiếp theo ngẫu nhiên, thể trọng trung bình đối với tất cả các nhóm là tương đương. Mô hình nghiên cứu là Nhóm 1: Naïve, 1% tá dược dạng lỏng DMSO (từ 10 đến 30ul, một lần hằng ngày khu trú), Nhóm 2: PMA, 1% tá dược dạng lỏng DMSO (từ 10 đến 30ul, một lần hằng ngày khu trú), Nhóm 3: PMA, I-4 10mg/kg trong PVP/Pluronic (đường miệng, M-W-F; Ngày 1- Ngày 3- Ngày 5- Ngày 7), Nhóm 4: PMA, 0,1% betamethasone – 25mg (chất chuẩn đối chứng) (dùng khu trú một lần trong ngày)

4ug Phorbol 12-myristat 13-acetat (PMA) trong 20uL axeton được dùng hằng ngày ở tai chuột. Bắt đầu từ Ngày 2, PMA gây viêm da/bệnh vảy nến được biểu thị với sự gia tăng về chỉ số hoạt tính bệnh lâm sàng kết hợp với độ dày của tai gia tăng, sự tróc

da của tai-da và sự gấp nếp của tai-da. Các tham số sau đây được đánh giá: (i) độ dày của tai, (ii) sự tróc da đối với da của tai. Điều này sẽ dựa trên chỉ số điểm số - 0, không tróc da; 1, tróc da ít; 2, tróc da vừa phải; 3, tróc da nghiêm trọng. (iii) việc gấp nếp đối với da của tai. Điều này sẽ dựa trên chỉ số điểm số - 0, không có gấp nếp; 1, gấp nếp trung bình; 2, gấp nếp ôn hòa; 3, gấp nếp nguy kịch, (iv) trọng lượng của tai (vào ngày giết).

FIG.6 là biểu đồ dạng cột tạo ra điểm số đối với độ dày của tai, sự tróc da đối với tai và sự gấp nếp của da tai. Các kết quả thể hiện rằng việc dùng Hợp chất I-4 qua đường miệng ở 10mg/kg làm giảm độ dày trung bình của tai theo cách có ý nghĩa về mặt thống kê so với tá dược dạng lỏng. Hiệu quả thu được với I-4 có thể so với betamethasone đối chứng dương tính. Ngoài ra, Hợp chất I-4 cũng được dung nạp tốt.

Ví dụ 35: Việc nhận biết đối tượng mới

Đối với thử nghiệm nhận biết đối tượng mới, các chuột Zucker được đặt vào khoang thử nghiệm (kích thước 26" x 18" x 18"; L x W x H). Thức ăn và nước uống không được cho phép trong khi thử nghiệm. Thử nghiệm có 3 pha: a) Pha làm quen: Chuột được đặt một cách đơn lẻ vào khoang thử nghiệm và cho phép khám phá một cách tự do trong 60 phút. Khoảng cách đã đi bởi động vật trong pha này được ghi chép bằng cách sử dụng phần mềm theo dõi (hệ AnyMaze). Mục đích của pha này là để cho chuột làm quen với thiết bị thử nghiệm. Pha thử nghiệm này được thực hiện vào ngày 1. b) Pha mẫu: Vào ngày 2, chuột được đặt một cách đơn lẻ vào khoang thử nghiệm trong 3 phút và cho phép thăm dò một cách tự do khu vực thử nghiệm mà chứa 2 đối tượng mới giống nhau (ví dụ, kim loại hình lập phương, hình trụ làm bằng chất dẻo) được định vị ở 2 góc của khoang thử nghiệm. Khoảng cách đi được bởi động vật trong pha mẫu này được ghi chép một cách tự động, cũng như thời gian tiêu tốn bởi động vật tương tác với đối tượng mới, bằng cách sử dụng hệ phần mềm theo dõi và quan sát bằng mắt thường. Sự tương tác với đối tượng được xác định như sự tương tác tích cực với mũi động vật trong việc tiếp xúc hoặc ở trạng thái gần trực tiếp với đối tượng. c) Pha thử nghiệm: 1 giờ sau pha mẫu, chuột được cho trở lại một cách đơn lẻ vào khoang thử nghiệm trong 3 phút và cho phép thăm dò một cách tự do khu vực thử nghiệm mà chứa 2 đối tượng, một trong số chúng là đối tượng được thể hiện trong pha mẫu và đối tượng

mới thứ hai mà là đơn nhất với pha thử nghiệm. 2 đối tượng được định ở cùng 2 góc của khoang thử nghiệm như được sử dụng đối với pha mẫu. Khoảng cách đi được bởi động vật trong pha thử nghiệm được ghi chép một cách tự động, cũng như thời gian dùng bởi động vật tương tác với các đối tượng mới và quen thuộc, bằng cách sử dụng hệ phần mềm theo dõi và quan sát bằng mắt. Các điểm số của sự tương tác đối tượng trong cả pha mẫu và pha thử nghiệm được ghi chép một cách độc lập bởi 2 người quan sát. Điểm số cuối cùng là điểm số khác nhau giữa mỗi lần đọc. Các điểm số ưu tiên của đối tượng được thể hiện là D1 (nghĩa là thời gian dùng để khám phá đối tượng mới – thời gian dùng để khám phá đối tượng quen thuộc; do đó điểm số dương tính thể hiện sự ưu tiên đối tượng mới), và D2 (nghĩa là $D1/a + b$; điểm số D1 được phân chia bởi toàn bộ thời gian khám phá đối tượng).

FIG.7 mô tả bộ biểu đồ thể hiện sự ưu tiên của đối tượng của chuột Zucker không được điều trị và được điều trị I-4. Dựa trên FIG.7, có thể nhìn thấy được rằng Hợp chất I-4 được dùng qua đường miệng ở 0,625, 1,25 và 2,5mg/kg liều cảm ứng xu hướng nhận biết đối tượng mới được cải thiện ở các chuột Zucker và I-4 cũng được dung nạp tốt.

Ví dụ 36: Nghiên cứu cho ăn ở chuột Zucker béo phì

Chuột giống đực Zucker (fa/fa) và giống đực gầy yếu Zucker (cả hai cùng của Charles River) ở 10 tuần tuổi – thời điểm mà ở đó chuột Zucker fa/fa sẽ thể hiện sự hấp thu thức ăn được tăng cường, khối lượng cơ thể và lipit trong huyết tương được tăng cường so với các bản sao “gầy yếu” của chúng được nhốt một cách đơn lẻ vào các lồng đáy dẻo và cho tập làm quen 14 ngày. Trong khoảng thời gian này, thể trọng của động vật, sự hấp thu thức ăn và nước được ghi chép hằng ngày. Tất cả các động vật được cho tiếp cận tự do với thức ăn và nước trong phòng thí nghiệm tiêu chuẩn trong quá trình nghiên cứu. Khi các dữ liệu hấp thu đường cơ bản 14 ngày được gom lại, chuột béo phì Zucker được gán thành các nhóm điều trị dựa trên dữ liệu đường cơ bản tương đương, nghĩa là tất cả các chuột béo phì Zucker có sự hấp thu thức ăn/nước và thể trọng hằng ngày tương đương. Trong pha này, chuột cũng nhận hai lần dùng tá dược dạng lỏng như quen thuộc với quy trình phân liều. Ngay sau pha đường cơ sở, pha điều trị được bắt đầu. Vật phẩm thử nghiệm và tá dược dạng lỏng được dùng ở khoảng 1 giờ trước khi khởi phát chu kỳ bóng tối. Chế độ liều thay đổi theo nhóm: 5x phân liều hằng tuần là từ

Thứ hai đến Thứ sáu. Mô hình nghiên cứu là như sau: Nhóm A = chuột giống đực gây yếu Zucker, điều trị bằng tá dược dạng lỏng 5x tuần, qua đường miệng, n=6, Nhóm B = chuột giống đực béo phì Zucker, việc điều trị bằng tá dược dạng lỏng 5x tuần, qua đường miệng, n=6, Nhóm C = chuột giống đực béo phì Zucker, I-4 2,5mg/kg 5x tuần, qua đường miệng, n=6.

Thể trọng hằng ngày, sự hấp thu thức ăn và nước uống được đo ở khoảng thời gian cùng ngày. Ở ngày -1 và ngày 7 của pha điều trị.

FIG.8A mô tả sự hấp thu thức ăn lũy tích và trung bình ở chuột Zucker gây yếu và béo phì (W/O cho biết khoảng thời gian nghỉ). Việc dùng Hợp chất I-4 qua đường miệng ở 2,5mg/kg 5X sự hấp thu thức ăn trung bình và lũy tích giảm hằng tuần ở các chuột béo phì (fa/fa) Zucker. Hợp chất I-4 cũng được dung nạp tốt.

Fig.8B mô tả thể trọng trung bình và theo phần trăm ở các chuột Zucker béo phì và gây yếu (W/O cho biết khoảng thời gian nghỉ). Việc dùng I-4 qua đường miệng ở 2,5mg/kg 5X tăng trọng lượng giảm một cách đáng kể hằng tuần so với các đối chứng Zucker fa/fa. Pha rửa trôi 2 ngày, sự tăng thể trọng vẫn giảm so với các đối chứng Zucker fa/fa. I-4 cũng được dung nạp tốt.

Các tài liệu tham khảo

Cronshaw JM and Matunis MJ. 2004. The nuclear pore complex: disease associations and functional correlations *TRENDS Endocrin Metab.* 15:34-39

Falini B et al. 2006. Both carboxy-terminus NES motif and mutated tryptophan(s) are crucial for aberrant nuclear export of nucleophosmin leukemic mutants in NPMc+ AML *Blood.* 107:4514-4523.

Cai X and Liu X. 2008. Inhibition of Thr-55 phosphorylation restores p53 nuclear localization and sensitizes cancer cells to DNA damage. *PNAS.* 105:16958-16963.

Daelemans D, Afonina E, Nilsson J 2002 A synthetic HIV-1 Rev inhibitor interfering with the CRM1-mediated nuclear export. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(22):14440-5.98052-2517.

Davis JR et al. 2007. Controlling protein compartmentalization to overcome disease *Pharmaceut Res.* 24:17-27.

Freundt E, Yu L, Park E, et al 2009 Molecular determinants for subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus open reading frame 3b protein. *J Virol* 83(13):6631-40.

Ghildyal R, Ho A, Dias M, et al 2009 The respiratory syncytial virus matrix protein possesses a Crm1-mediated nuclear export mechanism. *J Virol* 83(11):5353-62.

Ghosh CC et al 2008 Analysis of nucleocytoplasmic shuttling of NF kappa B proteins in human leukocytes. *Methods Mol Biol.* 457:279-92.

Gupta N et al 2008 Retinal tau pathology in human glaucomas. *Can J Ophthalmol.* 2008 Feb;43(1):53-60.

Hoshino L et al. 2008. Combined effects of p53 gene therapy and leptomycin B in human esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology.* 75:113-119.

Lain S et al. 1999a An inhibitor of nuclear export activates the p53 response and induces the localization of HDM2 and p53 to U1A-positive nuclear bodies associated with the PODs *Exp Cell Res.* 248:457-472.

Lain S et al. 1999b. Accumulating active p53 in the nucleus by inhibition of nuclear export: a novel strategy to promote the p53 tumor suppressor function *Exp Cell Res.* 253:315.

Muller PA et al. 2009 Nuclear-cytosolic transport of COMMD1 regulates NF-kappaB and HIF-1 activity. *Traffic* 10(5):514-27.

Mutka S 2007 Nuclear Export Inhibitors (NEIs) as novel cancer therapies AACR Annual Meeting. Poster 5609.

Mutka S, Yang W, Dong S, et al. 2009. Identification of nuclear export inhibitors with potent anticancer activity in vivo. *Cancer Res.* 69: 510-7.

Nakahara J et al. 2009. Abnormal expression of TIP30 and arrested nucleocytoplasmic transport within oligodendrocyte precursor cells in multiple sclerosis *J Clin Invest.* 119:169-181.

Noske A et al. 2008. Expression of the nuclear export protein chromosomal region maintenance/exportin 1/Xpo1 is a prognostic factor in human ovarian cancer. *Cancer.* 112:1733-1743.

Pollard V & Malim M. 1998 The HIV-1 Rev protein *Annu Rev Microbiol* 52:491-532.

Rawlinson S, Pryor M, Wright P, Jans D 2009 CRM1-mediated nuclear export of dengue virus RNA polymerase NS5 modulates interleukin-8 induction and virus production. *J Biol Chem* 284(23):15589-97.

Sanchez V, Mahr J, Orazio N, et al 2007 Nuclear export of the human cytomegalovirus tegument protein pp65 requires cyclin-dependent kinase activity and the Crm1 exporter. *J Virol* 81(21):11730-6.

Sorokin AV et al. 2007. Nucleocytoplasmic transport of proteins . *Biochemistry* 72:1439-1457.

Terry LJ et al. 2007. Crossing the nuclear envelope: hierarchical regulation of nucleocytoplasmic transport. *Science* 318:1412-1416.

Van der Watt PJ et al. 2008. The Karyopherin proteins, Crm1 and Karyopherin beta1, are overexpressed in cervical cancer and are critical for cancer cell survival and proliferation. *Int J Canc.* 124:1829-1840.

Walsh MD et al. 2008 Exportin 1 inhibition attenuates nuclear factor-kappaB-dependent gene expression. *Shock* 29:160-166.

Williams P, Verhagen J, Elliott G 2008 Characterization of a CRM1-dependent nuclear export signal in the C terminus of herpes simplex virus type 1 tegument protein UL47. *J Virol* 82(21):10946-52.

Yang W 2007 Anti-tumor activity of novel nuclear export inhibitors (NEIs) in multiple murine leukemia models. *AACR Annual Meeting*. Poster 5597.

Yao Y et al. 2009. The expression of CRM1 is associated with prognosis in human osteosarcoma. *Oncol Rep.* 21:229-35.

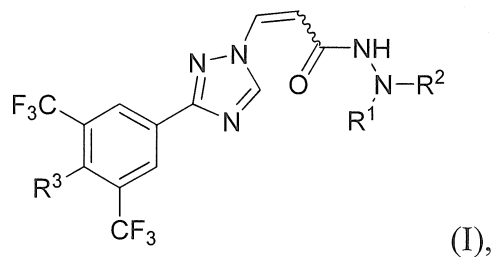
Zimmerman TL et al 2006 Nuclear export of retinoid X receptor alpha in response to interleukin-1beta-mediated cell signaling: roles for JNK and SER260. *J Biol Chem* 281:15434-15440.

Phần mô tả liên quan đến tất cả các patent, đơn yêu cầu cấp patent được công bố và các tài liệu tham chiếu được trích dẫn trong bản mô tả sáng chế này được đưa vào trong bản mô tả sáng chế này để tham khảo.

Trong khi sáng chế được thể hiện một cách cụ thể và được mô tả viện dẫn đến các phương án minh họa của nó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này cần hiểu rằng các phương án biến đổi khác nhau và các nội dung chi tiết có thể được tạo ra về chúng sẽ không nằm ngoài phạm vi của sáng chế được bao gồm bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



hoặc muối được dụng của nó, trong đó:

R^1 được chọn từ hydro và methyl;

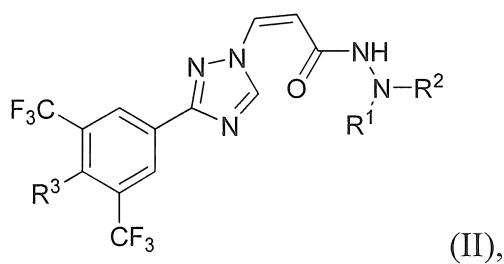
R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl, và quinoxalin-2-yl, pyrimidin-4-yl, 1,1-dioxotetrahydrothiophen-3-yl và xyclopropyl, trong đó R^2 tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ methyl và halogen; hoặc

R^1 và R^2 cùng với các nguyên tử ở giữa chúng tạo thành 4-hydroxypiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, azepan-1-yl, 4-benzylpiperazin-1-yl, 4-ethylpiperazin-1-yl, 3-hydroxyazetidin-1-yl, hoặc morpholin-4-yl;

R^3 được chọn từ hydro và halo; và

~ là liên kết đơn trong đó liên kết đôi cacbon-cacbon được liên kết với nó là có cấu hình (*E*) hoặc (*Z*).

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức cấu trúc II:



hoặc muối được dụng của nó.

3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó:

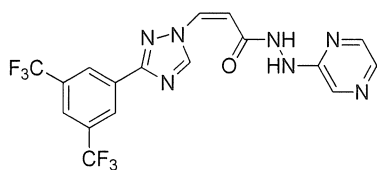
R^1 được chọn từ hydro và metyl; và

R^2 được chọn từ pyridin-2-yl, pyridin-4-yl, pyrazin-2-yl và pyrimidin-4-yl, trong đó R^2 tùy ý được thế bằng phân tử thế đơn được chọn từ metyl và clo; hoặc:

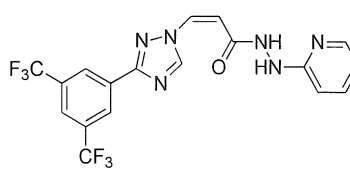
R^1 và R^2 cùng nhau tạo thành 4-hydroxypiperidin-1-yl.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó R^3 là hydro.

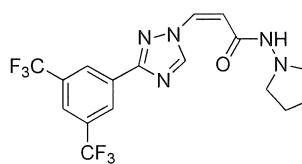
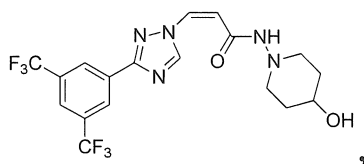
5. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này có một trong số các công thức cấu trúc sau đây:



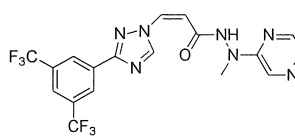
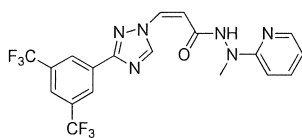
I-3,



I-4,

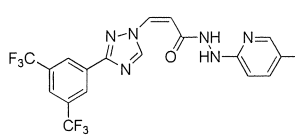
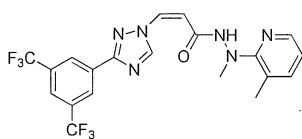


I-6,



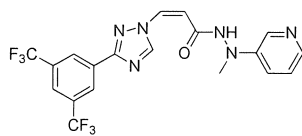
I-7,

I-8,

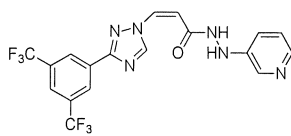


I-9,

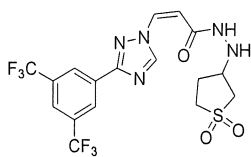
I-10,



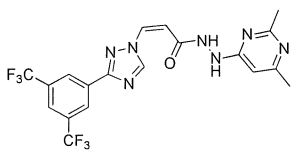
I-11,



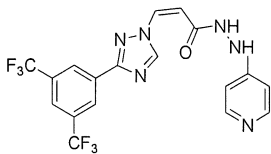
I-13,



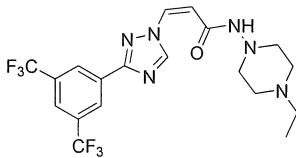
I-15,



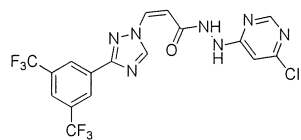
I-17,



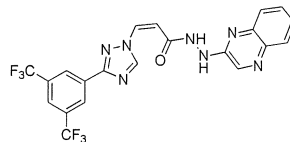
I-19,



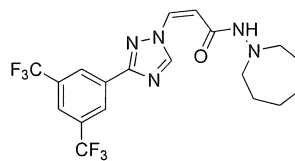
I-21,



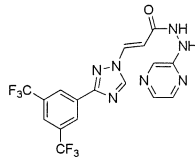
I-12,



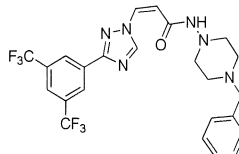
I-14,



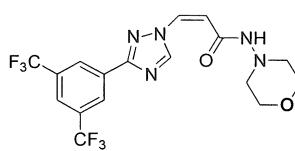
I-16,



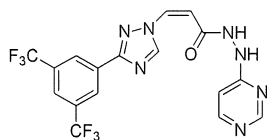
I-18,



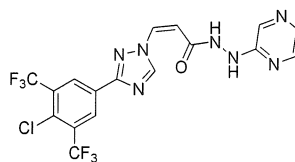
I-20,



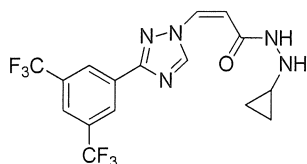
I-22,



I-23,

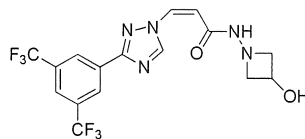


I-24,



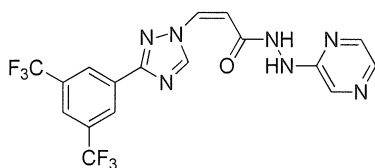
I-25

hoặc

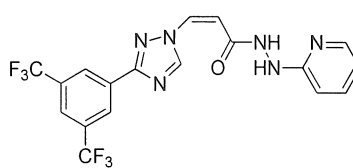


I-26.

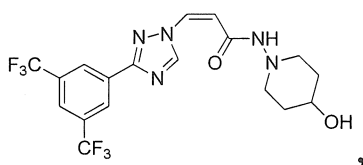
6. Hợp chất theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó, trong đó hợp chất này có một trong số các công thức cấu trúc sau đây:



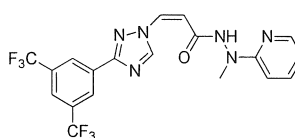
I-3,



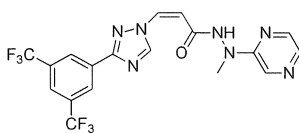
I-4,



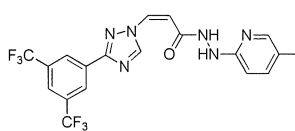
,



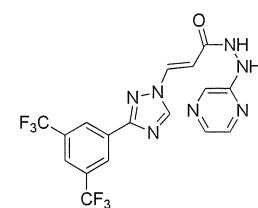
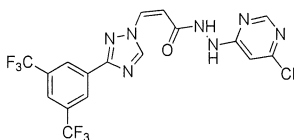
I-7,



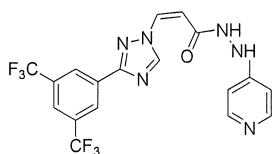
I-8,



I-10,



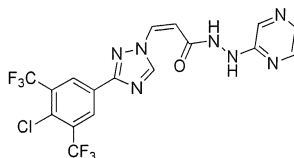
I-12,



I-19

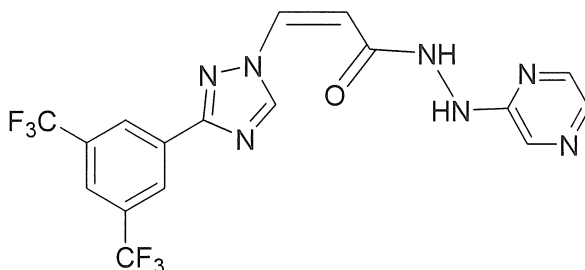
hoặc

I-18,



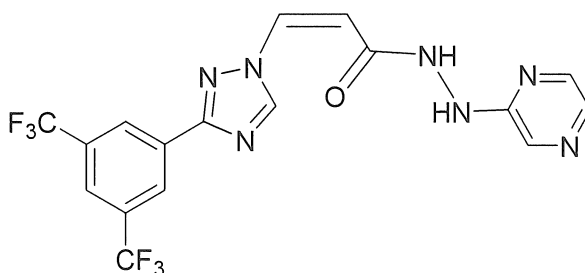
I-24.

7. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, hoặc muối dược dụng của chúng, và chất mang dược dụng.
8. Dược phẩm theo điểm 7, trong đó dược phẩm này còn bao gồm chất điều trị thứ hai được chọn từ các chất hóa trị liệu, các chất trị liệu kháng thể, các chất ức chế kinaza, các chất trị liệu miễn dịch, các chất trị liệu hormone, các chất trị liệu biểu sinh, các chất ức chế proteosom, và các chất trị liệu chống tạo mạch.
9. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này có công thức cấu trúc sau:



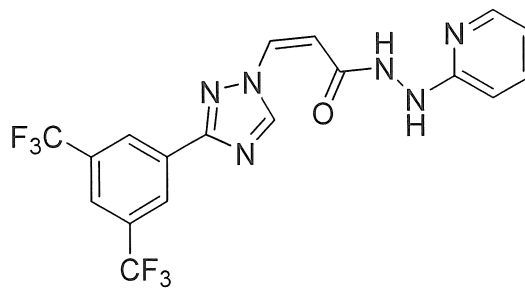
hoặc muối dược dụng của nó.

10. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc:



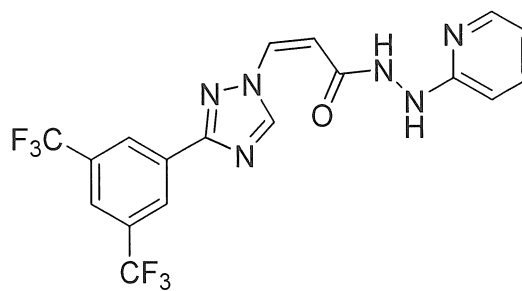
hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

11. Hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối dược dụng của nó.

12. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 có công thức cấu trúc sau:



hoặc muối dược dụng của nó và chất mang dược dụng.

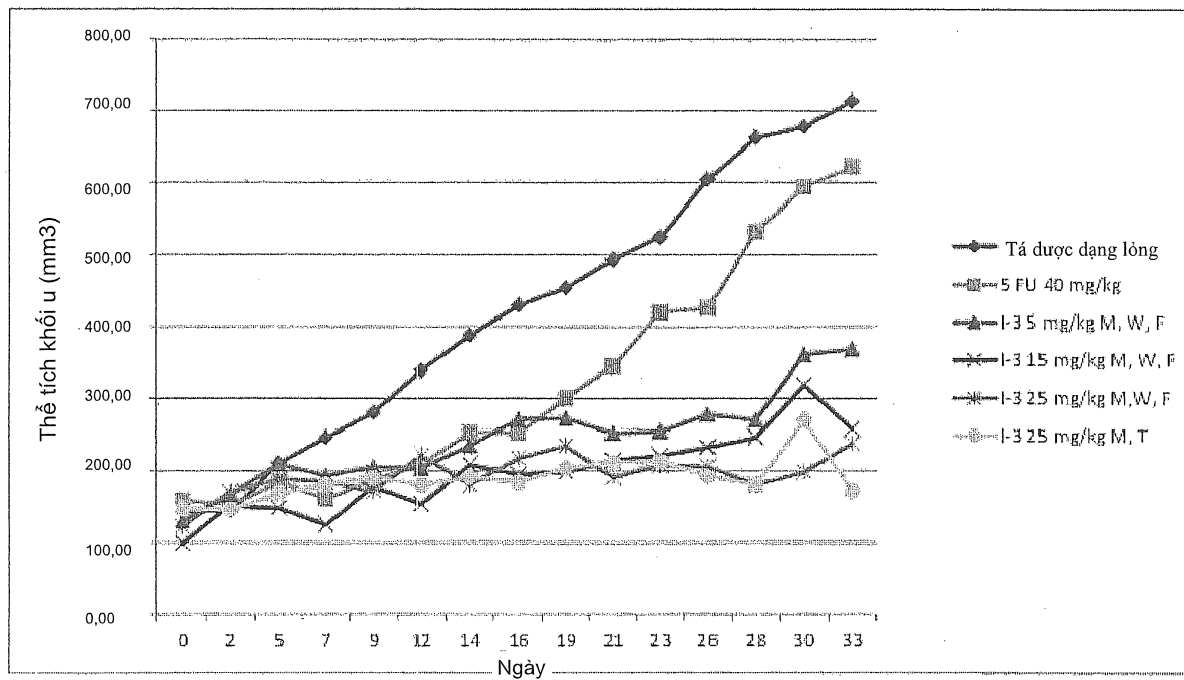


FIG. 1

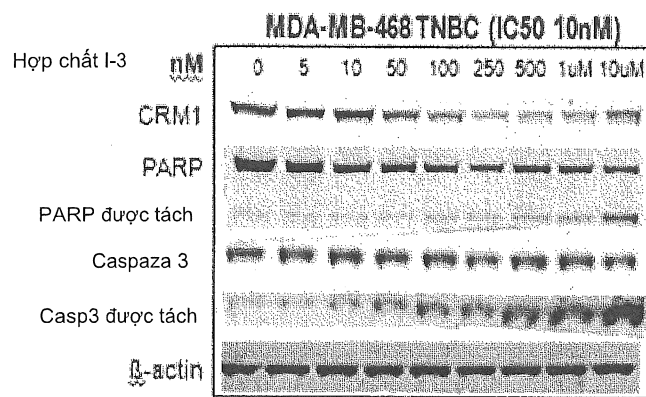


FIG. 2A

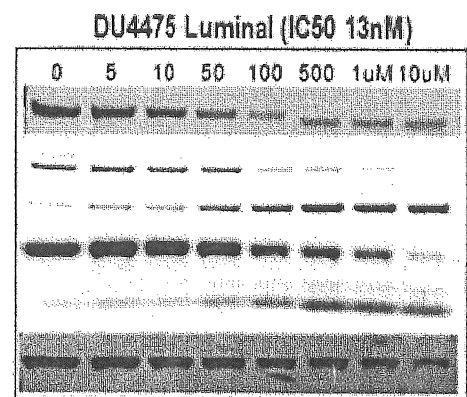


FIG. 2B

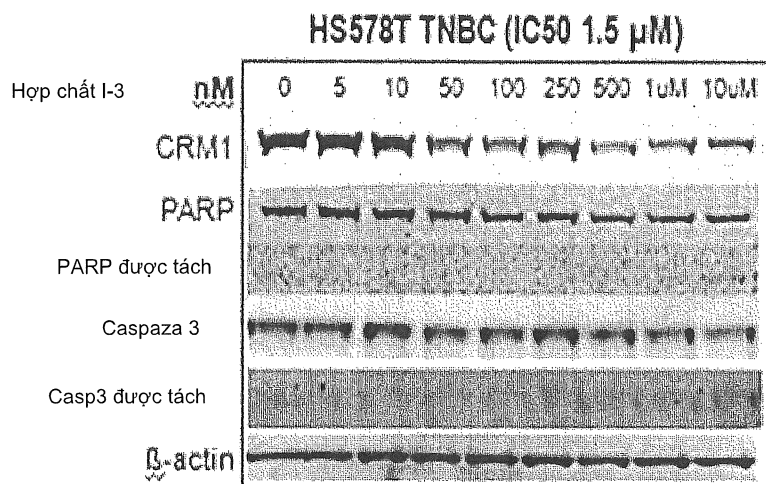


FIG. 2C

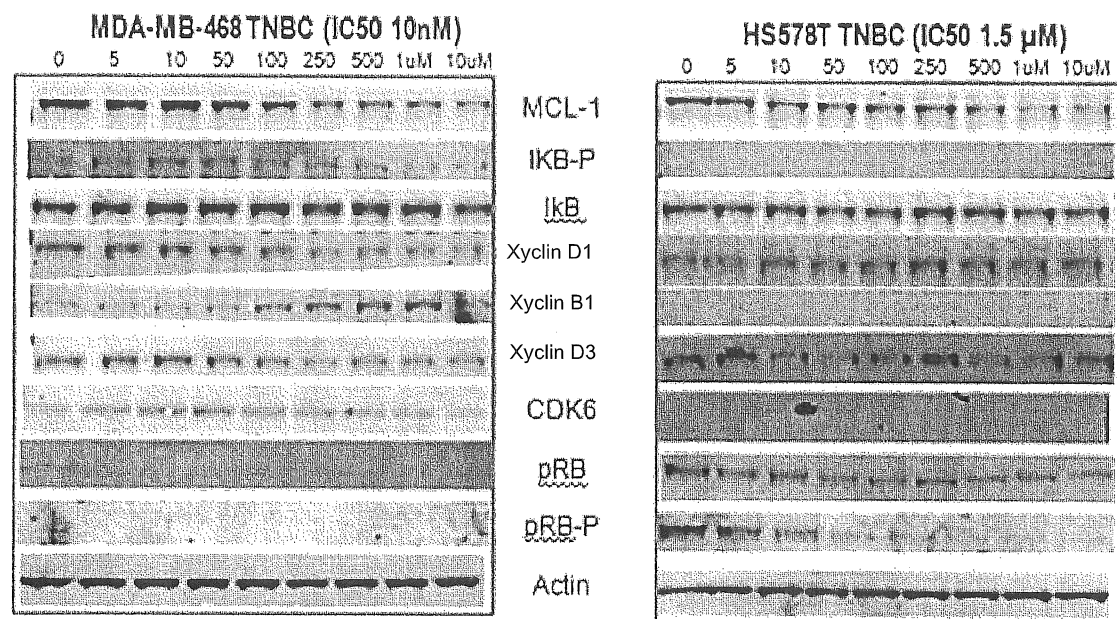


FIG. 3

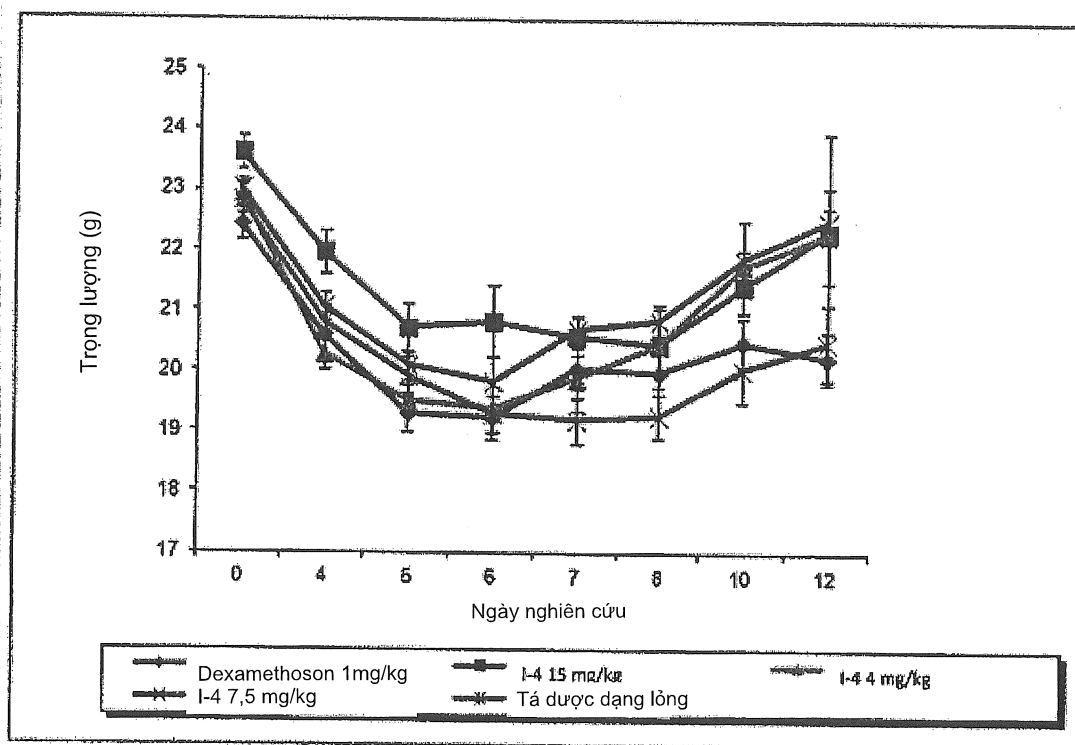


FIG. 4

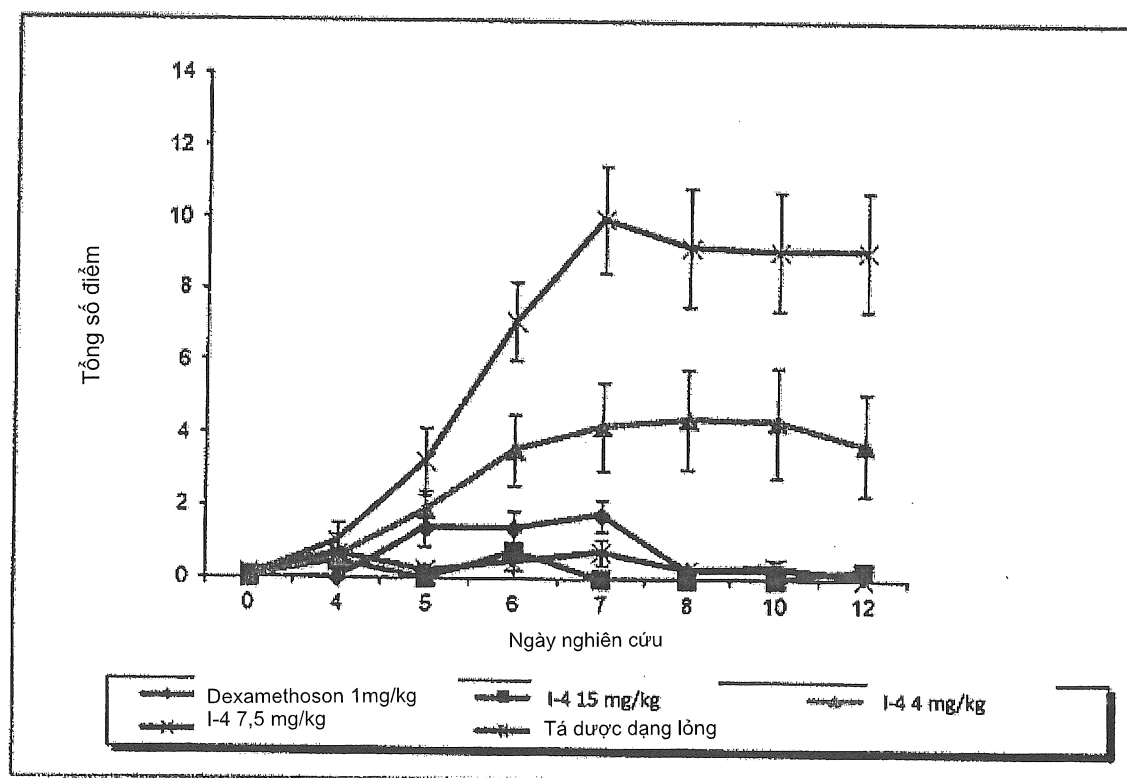


FIG. 5

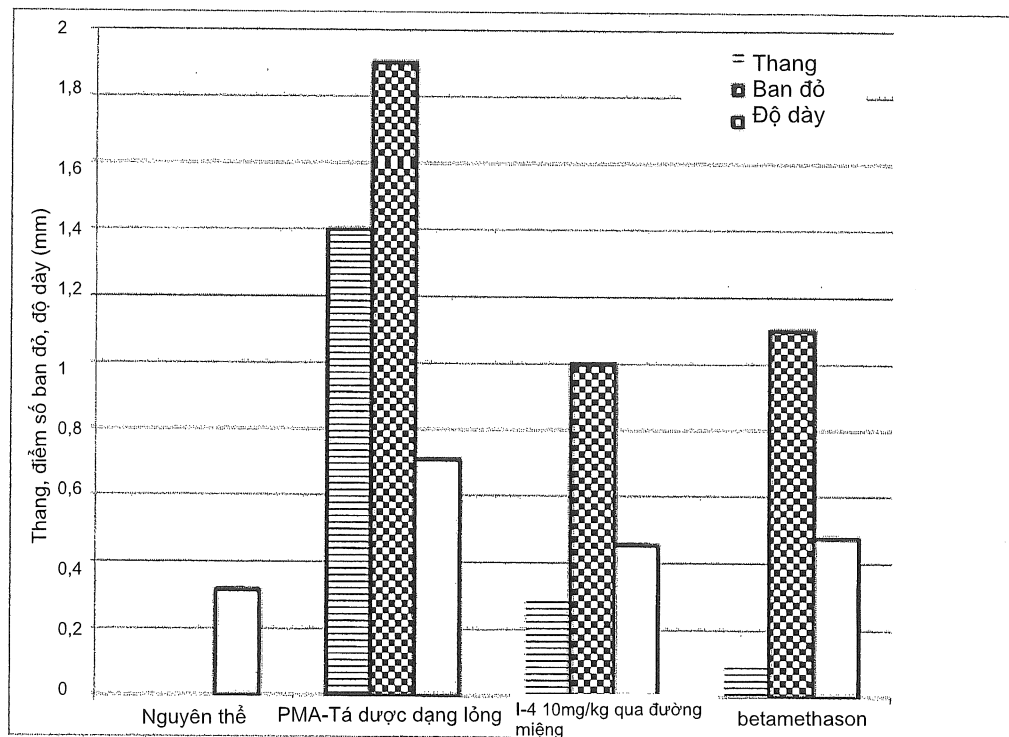


FIG. 6

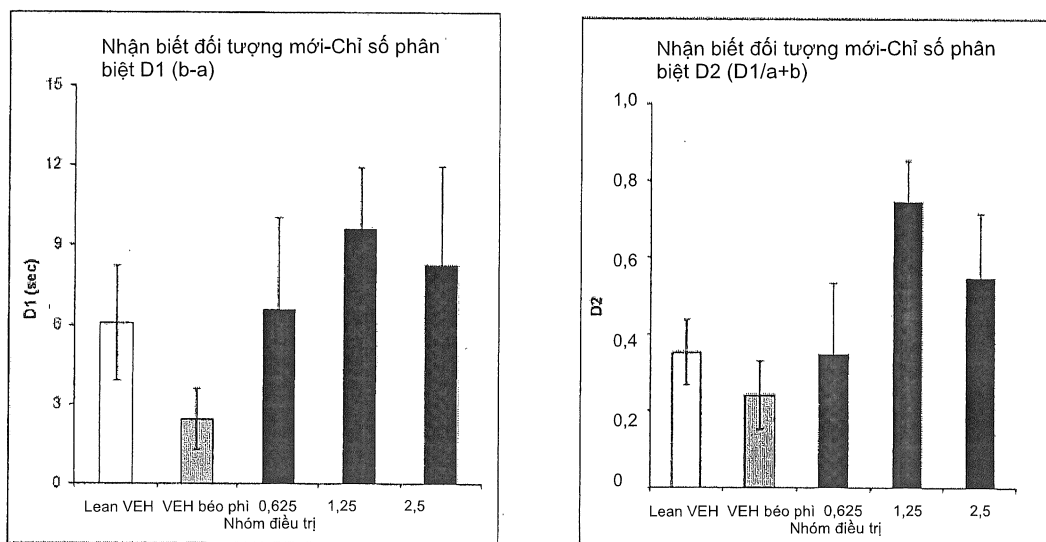


FIG. 7

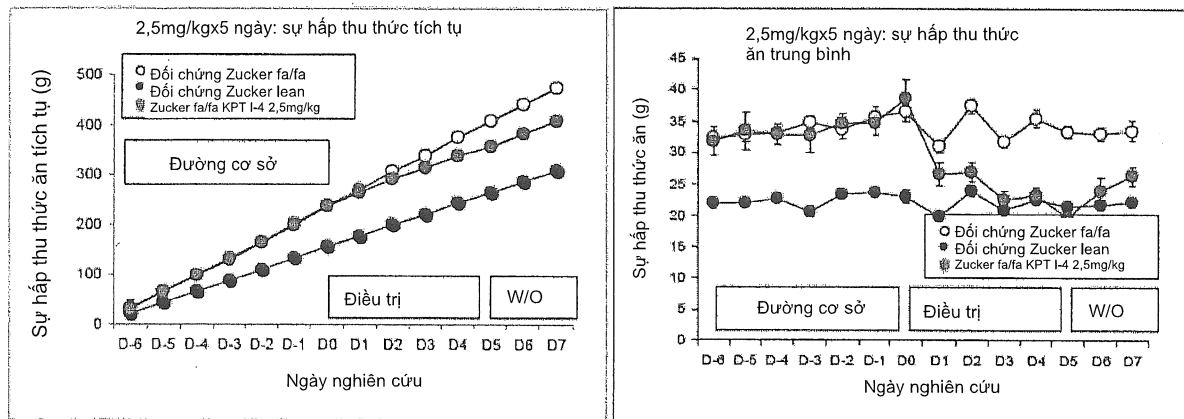


FIG. 8A

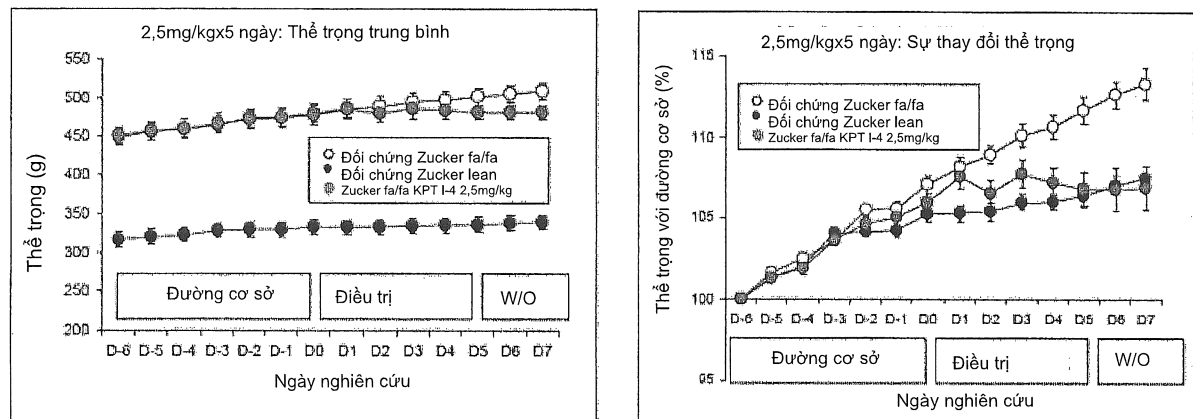


FIG. 8B