



(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)



1-0025392

(51)⁷ C07D 233/64; A61K 31/4164; A61P
3/00

(13) B

-
- (21) 1-2011-03607 (22) 26/05/2010
(86) PCT/US2010/036211 26/05/2010 (87) WO2010/138598 02/12/2010
(30) 61/181,736 28/05/2009 US
(45) 25/09/2020 390 (43) 25/05/2012 290A
(73) EXELIXIS PATENT COMPANY LLC (US)
1851 Harbor Bay Parkway, Alameda, CA 94502, United States of America
(72) BUSCH Brett B. (US); STEVENS William C. Jr. (US); KICK Ellen K. (US);
ZHANG Haiying (CN); BOLLU Venkataiah (IN); MARTIN Richard (CA);
MOHAN Raju (US).
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)
-

(54) HỢP CHẤT CÓ TÁC DỤNG ĐIỀU BIẾN HOẠT TÍNH CỦA THỤ THỂ X Ở GAN
VÀ CHẾ PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có tác dụng điều biến hoạt tính của các thụ thể X ở gan (liver X receptor - LXR), muối dược dụng, chất đồng phân, của hợp chất này. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất có tác dụng điều biến hoạt tính của thụ thể X ở gan (liver X receptor - LXR). Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất để điều biến hoạt tính của thụ thể X ở gan. Cụ thể, các chất đồng phân imidazol và dẫn xuất của chúng được đề cập để điều biến hoạt tính của LXR.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các thụ thể nhân

Các thụ thể nhân là siêu họ của các protein điều hòa mà có liên quan về mặt cấu trúc và chức năng và là các thụ thể của, ví dụ, xteroit, retinoit, vitamin D và hormon tuyến giáp (xem, ví dụ, Evans (1988) *Science* 240:889-895). Các protein này gắn kết với các phân tử tác động cis trong các điểm khởi đầu của các gen đích của chúng và điều biến sự biểu hiện gen để đáp ứng lại các phối tử đối với các thụ thể này.

Các thụ thể nhân có thể được phân loại dựa vào đặc tính gắn kết ADN của chúng (xem, ví dụ, Evans, nêu trên and Glass (1994) *Endocr. Rev.* 15:391-407). Ví dụ, một nhóm các thụ thể nhân bao gồm các thụ thể glucocorticoid, estrogen, androgen, progestin và khoáng-corticoid mà gắn kết dưới dạng các homodime với các phân tử đáp ứng hormon (hormone response elements - HRE) được tổ chức dưới dạng các đơn vị lặp đảo ngược (xem, ví dụ, Glass, nêu trên). Nhóm thụ thể thứ hai bao gồm các thụ thể được hoạt hoá bởi axit retinoic, hormon tuyến giáp, vitamin D₃, các axit béo/yếu tố tăng sinh peroxisom (tức là thụ thể được hoạt hoá bởi yếu tố tăng sinh peroxisom hay PPAR (Peroxisome Proliferator activated receptor) và ecđison, gắn kết với HRE dưới dạng các heterodime bằng thành phần đối ứng chung, thụ thể retinoit X (tức là RXR, còn được gọi là thụ thể axit 9-*cis* retinoic; xem, ví dụ, các ấn phẩm Levin *et al.* (1992) *Nature* 355:359-361 và Heyman *et al.* (1992) *Cell* 68:397-406).

RXR là một thụ thể độc đáo trong số các thụ thể nhân ở chỗ chúng gắn kết với ADN dưới dạng homodime, và là một thành phần đối ứng heterodime cần thiết đối với một số thụ thể nhân bổ sung để gắn kết với ADN (xem, ví dụ, Mangelsdorf *et al.* (1995) *Cell* 83:841-850). Các thụ thể bổ sung này, là phân họ thụ thể nhân nhóm II, bao gồm nhiều trong số các thụ thể này được thiết lập hoặc tham gia dưới dạng các yếu tố điều hòa quan trọng của quá trình biểu hiện gen.

Có ba gen RXR (xem, ví dụ, Mangelsdorf *et al.* (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), mã hoá RXR α , β , và γ , cả ba gen này đều có khả năng heterodimer hóa với thụ thể bất kỳ trong số các thụ thể nhóm II, mặc dù dường như là được ưu tiên đối với các phân nhóm RXR khác biệt bởi các thụ thể của thành phần đối ứng *in vivo* (xem, ví dụ, Chiba *et al.* (1997) *Mol. Cell. Biol.* 17:3013-3020). Ở gan người trưởng thành, RXR α có mặt với lượng nhiều nhất trong số ba RXR (xem, ví dụ, Mangelsdorf *et al.* (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), điều này cho thấy rằng nó có thể có một vai trò đặc biệt trong các chức năng gan tham gia vào quá trình điều hòa bởi các thụ thể nhân nhóm II. Xem thêm ấn phẩm Wan *et al.* (2000) *Mol. Cell. Biol.* 20:4436-4444.

LXR α và LXR β

LXR α được phát hiện với lượng lớn ở gan, và với lượng nhỏ hơn ở thận, ruột, lá lách và mô thượng thận (xem, ví dụ, Willy, *et al.* (1995) *Gene Dev.* 9(9):1033-1045). LXR β rất phổ biến ở động vật có vú và được phát hiện ở gần như tất cả các mô xét nghiệm. Các LXR này được hoạt hoá bởi một số dẫn xuất oxy hóa của cholesterol có trong tự nhiên (xem, ví dụ, Lehmann, *et al.* (1997) *J. Biol. Chem.* 272(6):3137-3140). LXR α được hoạt hoá bởi oxysterol và thúc đẩy quá trình chuyển hóa cholesterol (Peet *et al.* (1998) *Cell* 93:693-704). Vì vậy, LXR dường như đóng vai trò trong việc chuyển hóa cholesterol (xem, ví dụ, Janowski, *et al.* (1996) *Nature* 383:728-731).

Thụ thể nhân LXR đóng một vai trò quan trọng trong việc điều khiển phối hợp sự chuyển hóa của axit mật, cholesterol, và triglycerit để duy trì cân bằng nội mô lipid. LXR và các gen được điều hòa bởi axit mật/oxysterol là mục tiêu tiềm năng để phát triển các thuốc hạ cholesterol huyết và điều trị các bệnh tim mạch và gan. Các hợp chất có hoạt tính hướng vào LXR có thể có tác động mạnh đến cân bằng nội mô lipid, và có thể kiểm soát được bệnh hoặc các rối loạn có liên quan đến LXR một cách hiệu quả hơn. Điều này đạt được bằng cách điều hòa nhiều gen tham gia vào cân bằng nội mô cholesterol bao gồm Cyp7a1, thành viên trong họ cytochrome p450 của các enzym và giai đoạn hạn chế tốc độ trong tổng hợp axit mật, cũng như các phân tử vận chuyển qua màng ABC là ABCA1, ABCG1, ABCG5, và ABCG8. ABCA1 là phân tử quan trọng trong quá trình chuyển hóa của cholesterol và phospholipid thành lipoprotein nghèo lipid như ApoA-I, do vậy góp phần làm tăng mức HDL huyết. Ngoài ra, ABCG5 và ABCG8 dường như còn gây ra sự giảm hấp thu cholesterol ở ruột và tạo điều kiện thuận lợi cho dòng cholesterol thoát ra khỏi các tế bào gan để đi vào mật. Đáng tiếc là, ngoài tác dụng chống xơ vữa của chất chủ vận LXR, các nghiên cứu trong nuôi cấy tế bào và tiến hành thử nghiệm trên động vật đã chứng minh rằng chất chủ vận LXR có tác dụng làm tăng mức triglycerit huyết và gây ra quá trình tạo mỡ ở gan và thúc đẩy quá trình sản xuất tăng của các hạt lipoprotein VLDL. Schultz *et al.*, *Genes & Development* 14:2831-2838 (2000);

Repa et al. Genes & Development 14:28119-2830 (2000). Chiến lược để giảm thiểu các tác dụng không mong muốn của lipid bao gồm việc xác định các hợp chất có tác dụng chọn lọc với LXR β và có cả tác dụng làm chất chủ vận một phần. Các chất chủ vận một phần có thể biểu hiện sự hoạt hóa đặc hiệu mô hoặc ức chế các thụ thể nhân, như đã được chứng minh đối với tamoxifen kháng estrogen, có chức năng như một chất đối kháng của estrogen truyền tín hiệu ở mô ngực, lẫn như một chất chủ vận ở tử cung. Việc xác định đặc điểm ở chuột nhắt không có gen đặc hiệu đồng phân LXR đã cho thấy rằng LXR α là phần tử chủ yếu gây ra hoạt tính LXR ở gan. Tuy nhiên, ở đại thực bào, chỉ một mình LXR β cũng đủ để gây ra tác động của phối tử LXR đến sự biểu hiện gen đích. Do đó, trong khi hạn chế các tác dụng không mong muốn ở gan, các hợp chất có hoạt tính LXR α giới hạn sẽ phải có cả hoạt tính chống xơ vữa.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do vậy, các tác giả sáng chế đã nhận ra rằng cần phải có các hợp chất, chế phẩm và phương pháp điều biến được hoạt tính của các thụ thể nhân LXR theo cách sao cho có thể tách biệt các tác dụng mong muốn đến quá trình chuyển hóa cholesterol và quá trình xơ vữa khỏi tác dụng đến mức triglycerit huyết tăng và sự tăng mức độ tạo mỡ ở gan. Mặc dù các chất chủ vận hoàn toàn của LXR gây ra cả các tác dụng mong muốn lẫn không mong muốn, nhưng sáng chế này đề cập đến các hợp chất có thể tách biệt hai tác dụng này, và do vậy cải thiện chỉ số điều trị giữa tác dụng vận chuyển cholesterol ngược tăng và tác động bất lợi đến triglycerit huyết và cholesterol LDL.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến các hợp chất hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân, chất đồng vị hoặc muối được dụng của chúng, có thể được dùng làm các chất điều biến hoạt tính của các thụ thể X ở gan (LXR).

Sáng chế còn đề cập đến các hợp chất để dùng cho chế phẩm và các phương pháp điều biến hoạt tính của các thụ thể nhân. Cụ thể, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng để điều biến các thụ thể X ở gan, LXR α và LXR β , và cụ thể LXR β .

Theo một khía cạnh, các hợp chất được đề cập là chất chủ vận của LXR. Theo khía cạnh khác, các hợp chất được đề cập là chất đối kháng của LXR. Theo một số khía cạnh, các chất chủ vận có hiệu quả thấp là chất đối kháng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều trị, ức chế, hoặc cải thiện các triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn bị điều biến hoặc bị tác động bởi hoạt tính LXR hoặc có liên quan đến hoạt tính LXR, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng lượng có tác dụng điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều biến quá trình chuyển hóa cholesterol ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho đối tượng này dùng lượng có tác dụng điều biến việc chuyển hóa cholesterol của hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp phòng ngừa hoặc điều trị bệnh xơ vữa động mạch ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho đối tượng này dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng làm giảm mức cholesterol.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều biến hoạt tính LXR ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho thụ thể nhân tiếp xúc với hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều trị, ức chế hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng cao cholesterol huyết ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho đối tượng này dùng lượng có tác dụng điều trị của hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp làm tăng dòng cholesterol thoát ra khỏi các tế bào của đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho đối tượng này dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng làm tăng dòng cholesterol.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp làm tăng mức độ biểu hiện của Casette gắn kết ATP A1 (ABCA1) và Casette gắn kết ATP G1 (ABCG1) ở các tế bào của đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho đối tượng này dùng của hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng làm tăng mức độ biểu hiện ABCA1 và ABCG1.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều trị, ức chế, hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng của bệnh hoặc rối loạn bị tác động bởi các mức cholesterol hoặc axit mật, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng điều trị.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng và ít nhất một chất mang hoặc tá dược được dụng.

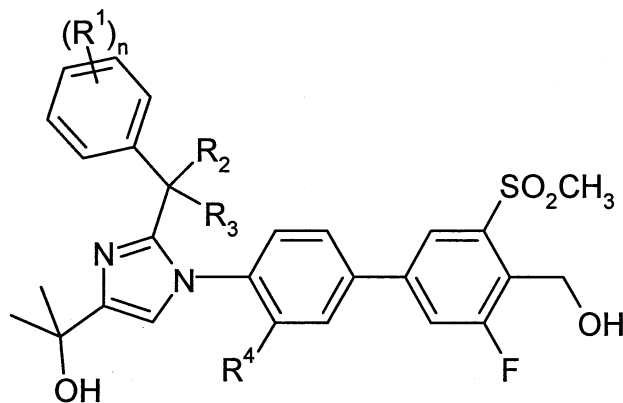
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến quá trình điều hòa quá trình vận chuyển cholesterol ngược và các con đường truyền tín hiệu viêm có liên quan đến nguyên nhân gây bệnh ở người bao gồm bệnh xơ vữa động mạch và các bệnh liên quan như nhồi máu cơ tim và bệnh đột quy do thiếu máu cục bộ ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng điều hòa quá trình vận chuyển cholesterol ngược và các con đường truyền tín hiệu viêm.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả việc điều trị hội chứng chuyển hóa bao gồm nhiều rối loạn chuyển hóa của cơ thể bao gồm bệnh béo phì, bệnh tăng huyết áp, kháng insulin, và bệnh tiểu đường kể cả việc điều trị các bệnh do quá trình chuyển hóa bị tổn thương và khả năng miễn dịch bao gồm bệnh xơ vữa động mạch và bệnh tiểu đường cũng như các rối loạn và các bệnh tự miễn dịch ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng điều trị.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả việc điều trị bệnh xơ vữa động mạch, kháng insulin, bệnh viêm xương khớp, bệnh đột quy, chứng tăng glucoza huyết, bệnh rối loạn lipid, bệnh vẩy nến, bệnh da do tuổi tác và tiếp xúc với tia tử ngoại, bệnh tiểu đường, ung thư, bệnh Alzheimer, bệnh viêm, các rối loạn miễn dịch, các rối loạn lipid, bệnh béo phì, bệnh thoái hoá điểm vàng, các bệnh do chức năng rào cản biểu bì bị rối loạn, các bệnh lý do quá trình biệt hóa bị rối loạn hoặc quá trình tăng sinh quá mức của biểu bì hoặc màng niêm dịch, hoặc các rối loạn tim mạch ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc cho dùng hợp chất theo sáng chế hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng với lượng có tác dụng điều trị.

Mô tả chi tiết sáng chế

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



I

hoặc muối được dụng của chúng, trong đó:

R^1 là clo, flo, metyl hoặc triflometyl;

R^2 là H hoặc metyl;

R^3 là H hoặc metyl;

R^4 là H, clo, flo, hoặc metyl; và

n bằng 1, hoặc 2.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức 1 là hợp chất trong đó R^2 và R^3 là metyl.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất trong đó R^1 là clo hoặc flo. Theo một số phương án như vậy, R^2 và R^3 là metyl.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất trong đó R^4 là flo. Theo một số phương án như vậy, R^1 là clo hoặc flo và R^2 và R^3 là metyl.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất trong đó R^2 và R^3 là H. Theo một số phương án như vậy, R^1 là clo hoặc flo.

Theo một số phương án, hợp chất có công thức I là hợp chất trong đó R^2 là metyl và R^3 là H. Theo một số phương án như vậy, n là 2, R^1 là clo, và R^4 là flo.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức 1 theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên cùng với một hoặc nhiều chất mang, tá dược, hoặc chất pha loãng được dụng.

Trong sáng chế, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị dùng lượng có tác dụng điều trị của (a) hợp chất có công thức I theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên hoặc (b) dược phẩm chứa hợp chất có công thức I theo phương án bất kỳ trong số các phương án nêu trên cùng với một hoặc nhiều chất mang, tá dược, hoặc chất pha loãng được dụng, trong đó bệnh hoặc rối loạn là bệnh xơ vữa động mạch, chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipoprotein huyết, chứng tăng triglycerit huyết, chứng loạn dưỡng lipid, chứng tăng glucoza huyết, bệnh đái tháo đường, bệnh rối loạn lipid, bệnh xơ vữa động mạch, bệnh sỏi mật, mụn trứng cá thông thường, tình trạng viêm nang bã ở da, bệnh tiểu đường, bệnh Parkinson, ung thư, bệnh Alzheimer, bệnh viêm, các rối loạn miễn dịch, các rối loạn lipid, bệnh béo phì, các bệnh do chức năng rào cản biểu bì bị rối loạn, các bệnh lý do quá trình biệt hóa bị rối loạn hoặc sự tăng sinh quá mức của biểu bì hoặc màng niêm dịch, hoặc các rối loạn tim mạch.

Theo một số phương án, bệnh hoặc rối loạn cần điều trị là chứng tăng cholesterol huyết, chứng tăng lipoprotein huyết, chứng tăng triglycerit huyết, chứng loạn dưỡng lipid, chứng tăng glucoza huyết, bệnh xơ vữa động mạch, bệnh đái tháo đường, hoặc rối loạn lipid.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ các hợp chất sau:

Số. Tên hợp chất

1 2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-

- flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 2 2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-3-metyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 3 2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-diclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 4 2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 5 2-(2-(2-(2,6-diclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 6 2-(2-(2-(2-clo-phenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-diflo-4'-hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)-propan-2-ol;
- 7 2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 8 2-{1-(3,3'-diflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-2-[2-(2-flophenyl)propan-2-yl]-1H-imidazol-4-yl}-propan-2-ol;
- 9 2-(2-(2-(2,6-diclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 10 2-(2-(2-(2,6-diclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol;
- 11 2-(2-(2,4-diclobenzyl)-1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 12 2-(1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(triflometyl)benzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 13 2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-clo-4-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 14 2-(2-(2-clo-4-flobenzyl)-1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 15 2-(2-(2,4-diclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 16 2-(1-(3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 17 2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-metylbenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 18 2-(2-(2,6-diclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
- 19 2-[2-(2-clo-5-flo-benzyl)-1-(3'-flo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol;
- 20 2-[2-(2-clo-benzyl)-1-(3,3'-diflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol; hoặc

- 21 2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dùng của nó, được chọn từ các hợp chất sau:

Số.	Tên hợp chất
1	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-3-metyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-clo-phenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-2-[2-(2-flophenyl)propan-2-yl]-1H-imidazol-4-yl}-propan-2-ol; hoặc
9	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dùng của nó, được chọn từ các hợp chất sau:

Số.	Tên hợp chất
11	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(triflometyl)benzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-clo-4-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
14	2-(2-(2-clo-4-flobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;

15	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-metylbenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-clo-5-flo-benzyl)-1-(3'-flo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol; hoặc
20	2-[2-(2-clo-benzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, được chọn từ các hợp chất sau:

Số.	Tên hợp chất
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol; hoặc
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, là 2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, là 2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, là 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, là 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol..

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, là 2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

Các hợp chất khác nhau được mô tả trong bản mô tả này hoặc các muối được dụng của chúng có thể chứa một hoặc nhiều tâm không đối xứng và do vậy có thể tạo ra các chất đồng phân như các chất đồng phân đối ảnh, các chất đồng phân không đối quang, và các chất đồng phân lập thể khác có thể được gọi bằng các thuật ngữ hóa học lập thể tuyệt đối, là (R)- hoặc (S)- hoặc, là (D)- hoặc (L)- đối với các axit amin. Sáng chế dự định bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể riêng lẻ có thể như vậy và hỗn hợp của chúng, kể cả các dạng triệt quang và tinh khiết quang học của chúng. Các hợp chất thường được điều chế dưới dạng chất triệt quang và có thể được sử dụng một cách thuận lợi như, hoặc các chất đồng phân quay quang (+) và (-), (R)- và (S)-, hoặc (D)- và (L)- hoặc các chất đồng phân không đối quang tương ứng có thể được điều chế bằng cách sử dụng các synthon không đối xứng hoặc các chất phản ứng không đối xứng, hoặc chúng có thể được phân giải bằng cách sử dụng kỹ thuật thông thường, như HPLC đảo pha. Khi các hợp chất được mô tả trong bản mô tả này chứa liên kết đôi olefin hoặc các tâm khác có tính không đối xứng hình học, và trừ khi có quy định cụ thể, thì dự định rằng các hợp chất này bao gồm cả chất đồng phân hình học E và Z.

Sáng chế cũng bao gồm các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có cùng số nguyên tử, nhưng khối lượng nguyên tử hoặc số khối khác so với khối lượng nguyên tử hoặc số khối thường có trong tự nhiên. Ví dụ về các đồng vị thích hợp để được bao gồm trong các hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị của hydro, như ^2H hoặc D và ^3H hoặc T, cacbon như ^{11}C , ^{13}C , và ^{14}C , clo, như ^{36}Cl , flo như ^{18}F , iot, như ^{123}I và ^{125}I , nitơ, như ^{13}N và ^{15}N , oxy, như ^{15}O , ^{17}O , và ^{18}O , phospho, như ^{32}P , và lưu huỳnh, như ^{35}S . Một số hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế, ví dụ, các hợp chất kết hợp phóng xạ chất đồng vị, có thể được sử dụng trong các nghiên cứu phân bố thuốc và/hoặc chất nền ở mô. Nhằm mục đích này, các đồng vị phóng xạ triti, ^3H , và cacbon-14, ^{14}C là đặc biệt là hữu ích vì chúng dễ kết hợp và dễ phát hiện. Việc thay thế bằng các đồng vị nặng hơn như đơteri, ^2H hoặc D, có thể tạo ra một số ưu điểm điều trị nhờ độ ổn định chuyển hóa cao hơn, ví dụ, làm tăng chu kỳ bán rã *in vivo* hoặc yêu cầu giảm liều lượng, và do đó có thể được ưu tiên trong một số trường hợp. Việc thay thế bằng các đồng vị phát positron, như ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O , và ^{13}N , có thể là hữu ích trong các nghiên cứu phát xạ PET (Positron Emission Topography) để kiểm tra vị trí của thụ thể trong chất nền.

Nói chung, các hợp chất được đánh dấu đồng vị theo sáng chế có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực hoặc bằng các quy trình tương tự với các quy trình được mô tả trong bản mô tả

này, bằng cách sử dụng chất phản ứng được đánh dấu đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không được đánh dấu khác được sử dụng.

Các định nghĩa

Các thuật ngữ sau được sử dụng trong bản mô tả này có các nghĩa được nêu.

Thuật ngữ "thụ thể nhân" là thụ thể có tác dụng làm hoạt hóa hoặc ức chế quá trình phiên mã của một hoặc nhiều gen trong nhân (nhưng cũng có thể có các tác dụng truyền tín hiệu yếu tố di truyền thứ cấp), thường kết hợp với các yếu tố phiên mã khác. Các thụ thể nhân được hoạt hóa bởi các phối tử có cùng nguồn gốc tự nhiên đối với thụ thể. Các thụ thể nhân thường được tìm thấy trong bào chất hoặc nhân, chứ không phải được gắn kết màng. Thụ thể nhân là thụ thể thuộc siêu họ các protein điều hòa là các thụ thể đối với các phân tử nhỏ nội sinh khác nhau, ví dụ xteroid, retinoit, vitamin D và hormon tuyến giáp. Các protein gắn kết với các nguyên tố hoạt động kiểu cis trong gen khởi đầu của các gen đích của chúng và điều hòa sự biểu hiện gen để đáp lại phối tử đó. Các thụ thể nhân có thể được phân loại dựa trên cơ sở các đặc tính gắn kết ADN của chúng. Ví dụ, glucocorticoit, estrogen, androgen, progestin và các thụ thể khoáng-corticoit gắn kết dưới dạng các homodime với các nguyên tố đáp ứng hormon (HRE) được tổ chức dưới dạng các đơn vị lặp đảo ngược. Ví dụ khác về các thụ thể nhân là các thụ thể, bao gồm các thụ thể được hoạt hóa bởi axit retinoic, hormon tuyến giáp, vitamin D₃, các chất tăng sinh các axit béo/peroxisom và ecdison, gắn kết với các HRE dưới dạng các heterodime với phần đối ứng chung, thụ thể retinoit X (RXR). Trong số các thụ thể vừa nêu này là LXR.

Thuật ngữ "thụ thể X ở gan" hoặc "LXR" dùng để chỉ thụ thể nhân tham gia vào quá trình sinh tổng hợp cholesterol. Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ LXR dùng để chỉ cả LXR_α lẫn LXR_β, hai dạng protein được tìm thấy ở động vật có vú. Thụ thể X-α ở gan hoặc LXR_α dùng để chỉ thụ thể được mô tả trong các Patent Mỹ số 5,571,696, 5,696,233 và 5,710,004, và trong tài liệu Willy et al. (1995) Gene Dev. 9(9):1033-1045. Thụ thể X-β ở gan hoặc LXR_β dùng để chỉ thụ thể được mô tả trong tài liệu Peet et al. (1998) Curr. Opin. Genet. Dev. 8(5):571-575; Song et al. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 761:38-49; Alberti et al. (2000) Gene 243(1-2):93-103; và các tài liệu được trích dẫn trong các tài liệu này; và trong các Patent Mỹ số 5,571,696, 5,696,233 và 5,710,004.

Thuật ngữ "được dụng" dùng để chỉ các hợp chất, các chất, chế phẩm, và/hoặc các dạng liều lượng, trong phạm vi đánh giá của các chuyên gia y học, thích hợp để tiếp xúc với các mô người và các động vật mà không kèm theo độc tính, sự kích thích, dị ứng đáp ứng quá mức, hoặc các vấn đề hoặc các biến chứng khác tương xứng với tỷ lệ có lợi/rủi ro hợp lý hoặc theo cách khác là đã được Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ phê chuẩn là có thể chấp nhận được để sử dụng ở người hoặc động vật nuôi.

Thuật ngữ "muối được dụng" dùng để chỉ cả các muối cộng axit và bazơ.

Thuật ngữ "muối cộng axit được dùng" dùng để chỉ các muối giữ được hiệu lực sinh học và các đặc tính của các bazơ tự do, các bazơ này là mong muốn về mặt sinh học hoặc các mặt khác, và được tạo ra với các axit vô cơ như axit clohydric, axit bomhydric, axit sulfuric, axit nitric, axit phosphoric và các axit tương tự, và các axit hữu cơ như axit axetic, axit trifloaxetic, axit propionic, axit glycolic, axit pyruvic, axit oxalic, axit maleic, axit malonic, axit succinic, axit fumaric, axit tartric, axit xitric, axit benzoic, axit xinnamic, axit mandelic, axit metansulfonic, axit etansulfonic, axit p-toluensulfonic, axit salixylic, và các axit tương tự.

Thuật ngữ "muối cộng bazơ được dùng" dùng để chỉ các muối giữ được hiệu lực sinh học và các đặc tính của các axit tự do, các axit này là mong muốn về mặt sinh học hoặc các mặt khác. Các muối này được điều chế bằng cách bổ sung bazơ vô cơ hoặc bazơ hữu cơ vào axit tự do. Các muối thu được từ các bazơ vô cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, natri, kali, lithi, amoni, canxi, magie, sắt, kẽm, đồng, mangan, nhôm các muối và tương tự. Các muối vô cơ được ưu tiên là các muối amoni, natri, kali, canxi, và magie. Các muối thu được từ các bazơ hữu cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các muối của các amin bậc một, bậc hai, và bậc ba, amin được thể bao gồm amin được thể, amin vòng có trong tự nhiên và nhựa trao đổi ion bazơ, như isopropylamin, trimetylamin, dietylamín, trietylamin, tripropylamin, etanolamin, 2-đimetylaminooctanol, 2-dietylaminooctanol, đixyclohexylamin, lysin, arginin, histidin, caffein, procain, hyđrabamin, cholin, betain, etylendiámin, glucosamin, metylglucamin, theobrom, purins, piperazin, piperidin, N-etylpipeidin, polyamin nhựa và các chất tương tự. Các bazơ hữu cơ được đặc biệt ưu tiên là isopropylamin, dietylamín, etanolamin, trimetylamin, đixyclohexylamin, cholin và caffein.

Thuật ngữ "lượng có tác dụng điều trị" được dùng để chỉ lượng hợp chất theo sáng chế, khi cho đối tượng dùng đủ để tạo ra tác dụng điều trị, như được xác định dưới đây, đối với bệnh hoặc rối loạn được mô tả trong bản mô tả này. Lượng hợp chất theo sáng chế tạo ra "lượng có tác dụng điều trị" sẽ thay đổi tùy thuộc vào hợp chất, căn bệnh và mức độ nghiêm trọng của bệnh, và độ tuổi của đối tượng cần được điều trị, nhưng có thể thường được xác định bởi chuyên gia trung bình trong lĩnh vực này.

Thuật ngữ "quá trình điều hòa" hoặc "điều hòa" dùng để chỉ việc điều trị, phòng ngừa, ức chế, tăng cường hoặc cảm ứng một chức năng, tình trạng bệnh lý, hoặc rối loạn. Ví dụ, đã cho rằng các hợp chất theo sáng chế có thể điều biến bệnh xơ vữa động mạch bằng cách kích thích việc loại bỏ cholesterol ra khỏi các tổn thương gây xơ vữa động mạch ở người.

Các thuật ngữ "điều trị" hoặc "việc điều trị" như được sử dụng ở đây dùng để chỉ việc điều trị bệnh hoặc rối loạn đã mô tả trong bản mô tả này, ở đối tượng, tốt hơn là người, và bao gồm việc:

- i. ức chế bệnh hoặc rối loạn, tức là ngăn cản sự phát triển của bệnh; hoặc
- ii. làm dịu bệnh hoặc rối loạn, tức là làm thuyên giảm rối loạn.

Thuật ngữ “đối tượng” dùng để chỉ động vật máu nóng như động vật có vú, tốt hơn là người, hoặc trẻ nhỏ, mắc, hoặc có khả năng mắc một hoặc nhiều bệnh và các rối loạn đã mô tả trong bản mô tả này.

Thuật ngữ “bệnh xơ vữa động mạch” dùng để chỉ quá trình nhờ đó các mảng xơ vữa động mạch tạo thành trong lòng mạch bên trong của thành động mạch dẫn đến bệnh tim mạch do vữa xơ động mạch. Bệnh tim mạch do vữa xơ động mạch có thể được nhận biết và hiểu được đối với các bác sĩ làm việc trong các lĩnh vực y học liên quan, và bao gồm nhưng không giới hạn ở, chứng tắc hẹp lại, bệnh tim động mạch vành (còn được gọi là bệnh tim động mạch vành hoặc bệnh tim thiếu máu cục bộ), bệnh mạch máu não bao gồm bệnh đột quỵ do thiếu máu cục bộ, bệnh sa sút trí tuệ do nhiều đốm nhỏ trong não bị hư tổn, và bệnh mạch ngoại vi, bao gồm bệnh khập khễnh cách hồi, và loạn chức năng cương cứng.

Thuật ngữ “rối loạn lipit huyết” dùng để chỉ các mức lipoprotein không bình thường trong huyết tương máu bao gồm cả các mức lipoprotein thấp và/hoặc cao (ví dụ cao các mức Lipoprotein tỷ trọng thấp, (LDL), Lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) và các mức Lipoprotein tỷ trọng cao thấp (HDL).

“EC₅₀” dùng để chỉ liều lượng, nồng độ hoặc lượng hợp chất thử nghiệm cụ thể gây ra đáp ứng phụ thuộc liều lượng ở mức 50% mức biểu hiện tối đa của đáp ứng cụ thể được cảm ứng, kích thích hoặc gây ra bởi hợp chất thử nghiệm cụ thể.

Thuật ngữ “cholesterol” dùng để chỉ rượu xteroit là thành phần chủ yếu các màng tế bào và các bao myelin và, như được sử dụng ở đây, được đưa vào sử dụng chung của nó. Cholesterol cũng dùng làm tiền chất đối với xteroit hormon và các axit mật.

Thuật ngữ “(các)triglyxerit” (“TGs”) được dùng để chỉ ba phân tử axit béo được este hóa thành phân tử glyxerol và dùng để lưu giữ các axit béo được sử dụng bởi các tế bào cơ nhằm tạo ra năng lượng hoặc được hấp thụ và cất giữ trong mô mỡ.

“IC₅₀” dùng để chỉ lượng, nồng độ hoặc liều lượng của hợp chất thử nghiệm cụ thể đạt được mức độ ức chế 50% của đáp ứng tối đa, như quá trình điều biến thụ thể nhân, bao gồm hoạt tính LXR_α hoặc LXR_β, trong thử nghiệm đo đáp ứng như vậy.

“LXR” hoặc “LXR” dùng để chỉ cả LXR_α lẫn LXR_β.

“LXR_α” (LXR alpha) dùng để chỉ tất cả các dạng thụ thể như vậy của các loài động vật có vú bao gồm, ví dụ, các dạng đồng phân ghép khác nhau và các dạng đồng phân có trong tự nhiên. Các dạng LXR(đại diện bao gồm, nhưng không giới hạn ở các dạng thụ thể ở chuột cống (Số truy cập ở ngân hàng gen NM_031627), chuột nhắt (Số truy cập ở ngân hàng gen BC012646), và người (Số truy cập ở ngân hàng gen số U22662).

"LXR_β" (LXR beta) dùng để chỉ tất cả các dạng thụ thể như vậy ở động vật có vú bao gồm, ví dụ, các dạng đồng phân ghép khác nhau và các dạng đồng phân có trong tự nhiên. Các dạng LXR(đại diện bao gồm, nhưng không giới hạn ở các dạng thụ thể chuột cống (Số truy cập ở ngân hàng gen NM_031626), chuột nhắt (Số truy cập ở ngân hàng gen NM_009473), và người (Số truy cập ở ngân hàng gen U07132).

Các thuật ngữ "béo phì" và "bệnh béo phì" dùng để chỉ chỉ số khối lượng cơ thể (BMI) lớn hơn 27,8 kg/m² đối với nam giới và 27,3 kg/m² đối với phụ nữ (BMI = khối lượng (kg)/(chiều cao)²(m²)).

Tính hữu ích của các hợp chất theo sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế có các tính chất dược lý có giá trị ở động vật có vú, và đặc biệt hữu ích làm các chất chủ vận, chất đối kháng, các chất chủ vận đảo ngược, các chất chủ vận một phần và các chất đối kháng LXR hoặc chọn lọc đến LXR_α hoặc LXR_β. Các hợp chất theo sáng chế là hữu ích để điều trị các bệnh hoặc các rối loạn đã mô tả trong bản mô tả này, như các triệu chứng do các biến chứng của vận chuyển cholesterol thay đổi, vận chuyển ngược cholesterol, chuyển hóa axit béo, sự hấp thu cholesterol, sự tái hấp thu cholesterol, cholesterol sự tiết, sự bài tiết cholesterol, hoặc sự chuyển hoá cholesterol.

Các bệnh này bao gồm, ví dụ, bệnh xơ vữa động mạch, các bệnh tim mạch do xơ vữa động mạch (xem, ví dụ, các công bố đơn đơn yêu cầu cấp patent số WO 00/57915 và WO 00/37077), bệnh rối loạn lipid, chứng tăng glucoza huyết, kháng insulin, bệnh tiểu đường, bệnh béo phì, hội chứng X (đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20030073614, công bố đơn đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 01/82917), lắng đọng lipid quá mức ở các mô ngoại vi như da (các u vàng) (xem, ví dụ các Patent Mỹ số 6,184,215 và 6,187,814), bệnh đột quỵ, bệnh khớp căn ngoại vi, bệnh giảm trí nhớ (*Brain Research* (1997), Vol. 752, pp. 189-196), bệnh thần kinh thị giác và võng mạc (tức là bệnh thoái hoá điểm vàng, bệnh viêm võng mạc sắc tố), quá trình hồi phục tổn thương hệ thần kinh trung ương hoặc ngoại vi do chấn thương (*Trends in Neurosciences* (1994), Vol. 17, pp. 525-530), ngăn ngừa quá trình thoái hóa do tuổi tác (*American Journal of Pathology* (1997), Vol. 151, pp. 1371-1377), bệnh Alzheimer (xem, ví dụ công bố đơn đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 00/17334; *Trends in Neurosciences* (1994), Vol. 17, pp. 525-530), ngăn ngừa hiện tượng thoái hóa thần kinh xảy ra ở các bệnh như bệnh thần kinh do tiểu đường (xem, ví dụ công bố đơn đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 01/82917), bệnh xơ cứng rải rác (*Annals of Clinical Biochem.* (1996), Vol. 33, No. 2, pp. 148-150), và các bệnh tự miễn (*J. Lipid Res.* (1998), Vol. 39, pp. 1740-1743).

Ngoài ra, sáng chế còn mô tả các phương pháp làm tăng cường mức độ biểu hiện của các catxet gắn kết ATP (ABCA1), (xem, ví dụ công bố đơn đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 00/78972) nhờ đó làm tăng sự vận chuyển cholesterol ngược ở

các tế bào động vật có vú bằng cách dùng các hợp chất và các dược phẩm theo sáng chế.

Do đó, theo khía cạnh khác, sáng chế cũng bao gồm các phương pháp để loại bỏ cholesterol ra khỏi các lớp lắng đọng ở mô như các mảng vữa xơ động mạch hoặc các u vàng ở đối tượng bị bệnh xơ vữa động mạch hoặc bệnh tim mạch do vữa xơ động mạch có các dấu hiệu lâm sàng của bệnh, trong đó các phương pháp này bao gồm bước cho đối tượng dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế. Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả phương pháp ngăn ngừa hoặc làm giảm nguy cơ mắc bệnh tim mạch do vữa xơ động mạch lần đầu hoặc lần tiếp theo bao gồm bệnh tim do thiếu máu cục bộ, bệnh đột quỵ do thiếu máu cục bộ, bệnh sa sút trí tuệ do nhiều đốm nhỏ trong não bị hư tổn, và bệnh khớp khệnh cách hồi bao gồm việc cung cấp lượng hữu hiệu phòng ngừa của hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế cho người bệnh có nguy cơ như vậy.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng trong các phương pháp làm giảm sự tăng glucoza huyết và kháng insulin, tức là trong các phương pháp điều trị bệnh tiểu đường (Công bố đơn yêu cầu cấp patent quốc tế số WO 01/82917), và trong các phương pháp điều trị, phòng ngừa, hoặc cải thiện các rối loạn liên quan tới, hoặc do các biến chứng của bệnh tiểu đường, tăng glucoza huyết hoặc kháng insulin bao gồm các tình trạng bệnh, các căn bệnh hoặc các rối loạn tạo ra “Hội chứng X” (Xem đơn yêu cầu cấp patent Mỹ số 20030073614) bao gồm việc cho người bệnh cần điều trị như vậy dùng lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế. Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả phương pháp phòng ngừa hoặc làm giảm nguy cơ phát triển chứng tăng glucoza huyết, chứng kháng insulin, bệnh tiểu đường hoặc hội chứng X ở người bệnh, bao gồm việc cho người bệnh có nguy cơ mắc bệnh dùng lượng hữu hiệu phòng ngừa của hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế.

Bệnh đái tháo đường, thường được gọi là bệnh tiểu đường, dùng để chỉ quá trình gây bệnh do nhiều yếu tố gây ra và được đặc trưng bởi các mức glucoza cao trong huyết tương, được gọi là tăng glucoza huyết. Ví dụ, xem LeRoith, D. et al, (eds.), DIABETES MELLITUS (Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1996). Tăng glucoza huyết không kiểm soát liên quan tới tỷ lệ tử vong sớm và gia tăng do nguy cơ cao đối với các bệnh liên quan đến mạch máu lớn và mạch máu nhỏ, bao gồm bệnh thận, bệnh thần kinh, bệnh võng mạc, bệnh cao huyết áp, bệnh mạch máu não và bệnh tim động mạch vành. Do đó, việc kiểm soát tính nội cân bằng glucoza là phương pháp tối quan trọng để điều trị bệnh tiểu đường.

Bệnh tiểu đường có hai loại chính: bệnh tiểu đường typ 1 (trước đây được gọi là bệnh tiểu đường phụ thuộc insulin hoặc IDDM); và bệnh tiểu đường typ 2 (trước đây được gọi là bệnh tiểu đường không phụ thuộc insulin hoặc NIDDM). Bệnh tiểu đường typ 2 là bệnh được đặc trưng bởi kháng insulin kèm theo bởi sự thiếu hụt insulin tương đối, chứ không phải là tuyệt đối. Bệnh tiểu đường typ 2 có thể nằm

trong khoảng từ kháng insulin chủ yếu với sự thiếu hụt insulin tương đối tới sự thiếu hụt insulin chủ yếu với một số kháng insulin. Kháng insulin là khả năng suy giảm của insulin trong việc thực hiện tác dụng sinh học của nó đối với một khoảng rộng nồng độ. Ở các cá nhân kháng insulin, cơ thể tiết lượng insulin cao bất bình thường để bù cho sự thiếu hụt này. Khi lượng insulin không thỏa đáng có mặt để bù cho kháng insulin và việc kiểm soát thỏa đáng glucoza, tình trạng không dung nạp glucoza phát triển. Ở nhiều cá nhân, mức độ tiết insulin còn giảm hơn nữa và mức glucoza trong huyết tương tăng, dẫn đến xuất hiện tình trạng lâm sàng của bệnh tiểu đường. Bệnh tiểu đường typ 2 có thể là do sự kháng mạnh đối với các tác động điều hòa kích thích insulin đến sự chuyển hóa glucoza và lipit ở các mô chính nhạy insulin: cơ, gan và mô mỡ. Sự kháng này đối với đáp ứng insulin dẫn đến sự hoạt hóa insulin không đủ trong việc hấp thụ glucoza, oxy hóa và cất giữ trong cơ và sự ức chế insulin không thỏa đáng trong việc phân giải lipit ở mô mỡ và tạo ra glucoza và tiết ở gan. Ở bệnh tiểu đường typ 2, các mức axit béo tự do thường cao ở đối tượng béo phì và một số đối tượng không béo phì và việc oxy hóa lipit tăng lên.

Sự phát triển sớm bệnh xơ vữa động mạch và tỷ lệ mắc các bệnh tim mạch và mạch ngoại vi tăng là các dấu hiệu đặc trưng của đối tượng mắc bệnh tiểu đường. Sự tăng lipit huyết là yếu tố cấu thành quan trọng đối với các bệnh này. Nói chung, sự tăng lipit huyết là căn bệnh được đặc trưng bởi sự tăng bất thường lipit trong huyết thanh, ví dụ cholesterol và triglyxerit, trong dòng máu và là yếu tố nguy cơ quan trọng trong việc phát triển bệnh xơ vữa động mạch và bệnh tim. Để biết về các rối loạn chuyển hóa lipit, xem, ví dụ Wilson, J. et al., (ed), Disorders of Lipid Metabolism, Chapter 23, Textbook of Endocrinology, 9th Edition, (W. B. Sanders Company, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1998). Sự tăng lipit huyết thường được phân loại là tăng lipit huyết sơ cấp hoặc thứ cấp. Nói chung, tăng lipit huyết sơ cấp là do các khiếm khuyết về di truyền, trong khi nói chung tăng lipit huyết thứ cấp là do các yếu tố khác, như tình trạng bệnh khác nhau, thuốc, và các yếu tố liên quan đến chế độ ăn uống. Theo cách khác, sự tăng lipit huyết có thể do sự kết hợp của cả tăng lipit huyết sơ cấp và thứ cấp. Hàm lượng cholesterol cao thường đi kèm với một số tình trạng bệnh lý, bao gồm bệnh động mạch vành, chứng đau thắt ngực, bệnh động mạch cảnh-động mạch, bệnh đột quỵ, bệnh xơ cứng động mạch não, và bệnh u vàng.

Rối loạn lipit huyết, hoặc các mức lipoprotein không bình thường trong huyết tương máu, thường xảy ra trong số các bệnh nhân đái tháo đường, và đã cho thấy là một trong số các yếu tố chính góp phần làm tăng tỷ lệ mắc phải các bệnh động mạch vành và sự chết ở trong số các bệnh nhân tiểu đường (xem, ví dụ Joslin, E. Ann. Chim. Med. (1927), Vol. 5, pp. 1061-1079). Sau đó, các nghiên cứu dịch tễ học đã khẳng định mối liên quan và đã cho thấy sự tăng vài lần về tỷ lệ chết liên quan đến động mạch vành trong số các bệnh nhân tiểu đường khi so với các đối tượng không bị tiểu đường (xem, ví dụ Garcia, M. J. et al, Diabetes (1974), Vol.23, pp. 105-11

(1974); và Laakso, M. and Lehto, S., *Diabetes Reviews* (1997), Vol.5, No.4, pp.294-315). Một số mức lipoprotein không bình thường trong số các bệnh nhân tiểu đường đã mô tả trong tài liệu Howard B., et al., *Arteriosclerosis* (1978), Vol. 30, pp. 153-162).

Ngoài ra, sáng chế còn mô tả các phương pháp sử dụng hợp chất theo sáng chế để điều trị bệnh béo phì, cũng như các biến chứng của bệnh béo phì. Bệnh béo phì có liên quan đến nhiều căn bệnh bao gồm bệnh tiểu đường và bệnh tăng lipid huyết. Bệnh béo phì còn được biết là yếu tố nguy cơ để phát triển bệnh tiểu đường typ 2 (xem, ví dụ Barrett-Conner, E., *Epidemol. Rev.* (1989), Vol. 11, pp. 172-181; và Knowler, et al., *Am. J Clin. Nutr.* (1991), Vol. 53, pp. 1543-1551).

Đường dùng và chế phẩm

Hợp chất theo sáng chế có thể được cho đối tượng cần điều trị dùng theo đường dùng đã được chấp nhận bất kỳ. Các đường dùng có thể chấp nhận được bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các đường dùng qua miệng, da, nội mạc tử cung, trong cổ, trong xoang, trong khí quản, theo đường ruột, trên màng cứng, đệm, trong ổ bụng, trong động mạch, trong phế quản, trong túi, trong não, trong dịch, trong động mạch vành, trong da, trong ống, trong tá tràng, trong màng cứng, trong biểu bì, trong thực quản, trong dạ dày, trong lợi, trong kết tràng, trong bạch huyết, trong tuỷ, trong màng não, trong cơ, trong buồng trứng, trong màng bụng (IP), trong tuyến tiền liệt, trong phổi, intrasinal, trong cột sống, trong hoạt dịch, trong tinh hoàn, trong vỏ, trong ống, trong khối u, trong tử cung, trong mạch, trong tĩnh mạch, mũi, dạ dày, qua đường miệng, ngoài đường tiêu hóa, dưới da, tuyến vú, trực tràng, hô hấp (hít ngửi), dưới da, dưới lưỡi, dưới niêm mạc, khu trú, qua chân bì, qua niêm mạc, qua khí quản, niệu quản, niệu đạo và âm đạo.

Hợp chất theo sáng chế có thể được cung cấp dưới dạng rắn, bán rắn, lỏng hoặc khí có thể chấp nhận được bất kỳ. Các dạng liều lượng có thể chấp nhận được bất kỳ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, khí dung, viên nang, kem bôi, nhũ tương, các chất khí, gel, hạt, dầu xoa bóp, nước thơm, thuốc mỡ, dạng bột nhào, bột, các dung dịch, thể huyền phù, sirô và viên nén. Các hệ phân phối có thể chấp nhận được bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các vật cấy ghép phân hủy sinh học (ví dụ, poly(DL-lactit), copolyme lactit/glycolit và copolyme lactit/caprolacton), viên nang, chế phẩm thụ rửa, dụng cụ thụ, máy xông, các cơ cấu trong tử cung, máy phun mù, các cao dán, bơm và các thuốc đạn.

Dạng liều lượng theo sáng chế có thể chỉ chứa hợp chất theo sáng chế hoặc hợp chất theo sáng chế có thể được bào chế cùng với các tá dược, các chất mang dược, thuốc bổ trợ thông thường và/hoặc các tác nhân điều trị hoặc dược tính khác. Các tá dược có thể chấp nhận được bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, (a) chất chống kết dính, như croscarmelloza natri, crospovidon, natri tinh bột glycolat,

xenluloza vi tinh thể, tinh bột và bột talc; (b) chất kết dính, như xenluloza, gelatin, hydroxypropyl xenluloza, lactoza, maltitol, polyetylen glycol, polyvinyl pyrrolidon, sorbitol, tinh bột, đường, sucroza và xylitol; (c) các chất bao, như xenluloza, shellac, zein và các chất tan trong ruột; (d) chất gây rã, như xenluloza, polyvinyl pyrrolidon liên kết ngang, natri carboxymetyl xenluloza, metylxenluloza, xenluloza vi tinh thể, natri tinh bột glycolat và tinh bột; (e) các chất điền đầy, như canxi cacbonat, xenluloza, canxi phosphat đibazơ, glucoza, lactoza, manitol, sorbitol và sucroza; (f) các hương liệu; (g) các chất tạo màu; (h) chất chống kết dính, như canxi stearat, silic đioxit keo, glyxeryl behenat, glyxeryl monostearat, glyxeryl palmitostearat, dầu thực vật được hydro hoá, magie stearat, magie trisilicat, dầu khoáng, polyetylen glycol, silic đioxit, tinh bột, stearat, axit stearic, bột talc, natri stearyl fumarat, natri benzoat và kẽm; (i) chất làm trơn, như canxi stearat, dầu thực vật được hydro hoá, magie stearat, dầu khoáng, polyetylen glycol, natri stearyl fumarat, stearin, axit stearic và bột talc; và (j) chất bảo quản, như clobutanol, axit xitric, xystein, metionin, metyl paraben, phenol, propyl paraben, retinyl panmitat, selen, natri xitrat, axit sorbic, vitamin A, vitamin C và vitamin E. Viên nang có thể chứa các tá dược nêu trên bất kỳ, và có thể ngoài ra chứa chất mang dạng bán rắn hoặc lỏng, như polyetylen glycol hoặc các dầu thực vật. Các chất mang được bao gồm các polyme tan, các vi hạt được tạo ra từ các polyme tự nhiên và tổng hợp không tan hoặc phân hủy sinh học, dạng vi nang hoặc dạng vi cầu, lipoprotein, liposom và mixen.

Dược phẩm có thể dưới dạng lỏng, ví dụ, cồn ngọt, sirô, dung dịch, nhũ tương, huyền phù, hoặc các dạng tương tự khác hoặc có thể được trình bày dưới dạng sản phẩm khô để hoàn nguyên với nước hoặc chất dẫn thuốc thích hợp khác trước khi sử dụng. Các chế phẩm lỏng có thể chứa các chất phụ gia thông thường như (a) chất pha loãng lỏng, như nước, nước muối, dung dịch Ringer, các dầu không bay hơi như monoglyxerit hoặc diglyxerit tổng hợp, hoặc polyetylen glycol, glyxerin, propylen glycol hoặc các dung môi khác; (b) chất hoạt động bề mặt, các chất tạo huyền phù, hoặc các chất nhũ hoá, như các este axit polyoxyetylen sorbitan béo, glyxerit polyglycol hóa bão hoà, monoglyxerit, các este axit béo, copolyme khối của etylen oxit và propylen oxit, polyoxyl stearat, các dầu thầu dầu etoxyl hóa, và các axit hydroxystearic etoxyl hóa; (c) chất đệm, như axetat, xitrat hoặc phosphat; (d) các chất chelat hoá, như axit etylendiamintetraaxetic; (e) các chất kháng khuẩn, như rượu benzylic hoặc metyl paraben; (f) chất chống oxy hóa, như axit ascorbic hoặc natri bisulfit; (g) các chất đắng trưng, natri clorua hoặc dextroza; cũng như các chất làm ngọt và hương liệu, các thuốc nhuộm và chất bảo quản.

Dược phẩm theo sáng chế sẽ chứa lượng có tác dụng điều trị của hợp chất theo sáng chế, dưới dạng chất đồng phân lập thể riêng lẻ hoặc chế phẩm các chất đồng phân lập thể, hoặc muối được dùng của chúng, với phần dược phẩm còn lại bao gồm một hoặc nhiều tá dược được dùng. Nói chung, để dùng qua đường miệng, hợp

chất theo sáng chế, dưới dạng chất đồng phân lập thể riêng lẻ hoặc chế phẩm các chất đồng phân lập thể, hoặc muối được dụng của chúng sẽ chiếm từ 1% đến 99% khối lượng của chế phẩm được dụng, với phần còn lại của chế phẩm là một hoặc nhiều tá được dụng. Thông thường, hợp chất theo sáng chế, dưới dạng chất đồng phân lập thể riêng lẻ hoặc chế phẩm các chất đồng phân lập thể, hoặc muối được dụng của chúng sẽ chiếm từ 5% đến 75% khối lượng của chế phẩm được dụng, với phần còn lại của chế phẩm này chứa một hoặc nhiều tá được dụng. Để dùng ngoài đường tiêu hóa, hợp chất theo sáng chế, dưới dạng chất đồng phân lập thể riêng lẻ hoặc chế phẩm các chất đồng phân lập thể, hoặc muối được dụng của chúng sẽ chiếm từ 0,01% đến 1% khối lượng chế phẩm được dụng. Các phương pháp bào chế các dạng liều lượng theo sáng chế là đã biết, hoặc sẽ dễ dàng biết được đối với các chuyên gia trong lĩnh vực này; vớ dụ, xem ấn phẩm Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

Lượng có tác dụng điều trị của hợp chất theo sáng chế sẽ thay đổi tùy thuộc vào nhiều yếu tố bao gồm hoạt tính, độ ổn định chuyển hóa, tốc độ bài tiết và thời gian tác dụng của hợp chất, độ tuổi, thể trọng, sức khỏe chung, giới tính, chế độ ăn uống và các loại dùng, kiểu và thời gian dùng hợp chất, sự có mặt của thuốc bổ trợ hoặc các thành phần hoạt tính điều trị bổ sung trong hỗn hợp, và mức độ nghiêm trọng của bệnh cần điều trị.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được cho đối tượng là người dùng với các liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1 tới khoảng 10,000 mg mỗi ngày. Người trưởng thành bình thường có thể khối lượng khoảng 70 kilogam có thể được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,15 μg đến khoảng 150 mg cho một kilogam thể trọng mỗi ngày. Thông thường, người trưởng thành bình thường sẽ được dùng từ khoảng 0,1 mg đến khoảng 25 mg, hoặc 0,5 mg đến khoảng 10 mg cho một kilogam thể trọng mỗi ngày. Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng dưới dạng một hoặc nhiều liều đơn vị. Các liều đơn vị có thể được dùng từ 1 đến 4 lần mỗi ngày, hoặc 2 lần mỗi ngày, hoặc 1 lần mỗi ngày. Theo phương pháp khác mô tả liều lượng có hiệu quả, liều đơn vị dùng qua đường miệng là liều cần thiết để đạt được nồng độ trong huyết thanh từ khoảng 0,05 đến 20 $\mu\text{g/ml}$ hoặc từ khoảng 1 đến 20 $\mu\text{g/ml}$ ở đối tượng. Liều lượng tối ưu của hợp chất theo sáng chế đối với đối tượng cụ thể có thể được xác định bởi chuyên gia trung bình trong lĩnh vực này.

Các hợp chất theo sáng chế, hoặc chất đồng phân riêng lẻ hoặc hỗn hợp của các chất đồng phân hoặc muối được dụng của chúng, cũng có thể được dùng đồng thời với, trước khi, hoặc sau khi cung cấp một hoặc nhiều tác nhân điều trị nêu dưới đây. Việc điều trị phối hợp như vậy bao gồm cung cấp được phẩm dạng liều duy nhất chứa hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều hoạt chất bổ sung, cũng như cung cấp hợp chất theo sáng chế và mỗi hoạt chất trong được phẩm dạng liều riêng rẽ của chính nó. Ví dụ, hợp chất theo sáng chế và chất ức chế reductaza HMG-CoA

có thể được cho đối tượng dùng cùng nhau dưới dạng chế phẩm dùng qua đường miệng duy nhất như viên nén hoặc viên nang, hoặc mỗi tác nhân được cho dùng dưới dạng các chế phẩm dùng qua đường miệng riêng biệt. Nếu các được phẩm dạng liều lượng riêng rẽ được sử dụng, thì các hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều hoạt chất bổ sung có thể được dùng gần như cùng một lúc, tức là đồng thời, hoặc vào các thời điểm cách nhau, tức là lần lượt; việc điều trị phối hợp được hiểu là bao gồm tất cả các chế độ điều trị này.

Theo một phương án, hợp chất theo sáng chế được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị sau để điều trị bệnh xơ vữa động mạch: các tác nhân chống tăng lipit huyết, các tác nhân làm tăng HDL trong huyết tương, các tác nhân chống tăng cholesterol huyết, chất ức chế sinh tổng hợp cholesterol (như chất ức chế reductaza HMG CoA, như lovastatin, simvastatin, pravastatin, fluvastatin, atorvastatin và rivastatin), chất ức chế axyl-coenzym A:cholesterol acyltransferaza (ACAT), probucol, raloxifene, axit nicotinic, niacinamid, chất ức chế hấp thu cholesterol, các chất cang hóa axit mật (như nhựa trao đổi anion, hoặc amin bậc bốn (ví dụ cholestyramin hoặc colestipol)), các chất cảm ứng thụ thể lipoprotein tỷ trọng thấp, clofibrat, fenofibrat, benzofibrat, ciprofibrat, gemfibrizol, vitamin B6, vitamin B12, vitamin chống oxy hóa, chất chẹn β , các tác nhân điều trị tiểu đường, chất đối kháng angiotensin II, chất ức chế enzym chuyển hóa angiotensin, chất ức chế kết tụ tiểu cầu, chất đối kháng thụ thể fibrinogen, aspirin hoặc các dẫn xuất axit fibric.

Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị sau để điều trị kết hợp với chất ức chế sinh tổng hợp cholesterol, đặc biệt chất ức chế reductaza HMG-CoA. Thuật ngữ chất ức chế reductaza HMG-CoA được dự định bao gồm tất cả các muối, este, axit tự do và các dạng lacton được dùng của các hợp chất có hoạt tính ức chế reductaza HMG-CoA và, do đó, việc sử dụng các muối, các este, các axit tự do và các dạng lacton như vậy được bao gồm trong phạm vi của sáng chế. Các hợp chất có hoạt tính ức chế reductaza HMG-CoA có thể được xác định một cách dễ dàng bằng cách sử dụng các thử nghiệm đã biết rõ trong lĩnh vực này. Ví dụ, các thử nghiệm thích hợp được mô tả hoặc đã bộc lộ trong patent Mỹ số 4,231,938 và WO 84/02131. Các ví dụ về các chất ức chế reductaza HMG-CoA thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, lovastatin (MEVACOR® ; xem, patent Mỹ số 4,231,938); simvastatin (ZOCOR®; xem, patent Mỹ số 4,444,784); pravastatin natri (PRAVACHOL®; xem, patent Mỹ số 4,346,227); fluvastatin natri (LESCOL®; xem, patent Mỹ số 5,354,772); atorvastatin canxi (LIPITOR®; xem, patent Mỹ số 5,273,995) và Rivastatin (còn được gọi là cerivastatin; xem, patent Mỹ số 5,177,080). Các công thức cấu trúc của các chất ức chế reductaza HMG-CoA này và bổ sung có thể được sử dụng kết hợp với các hợp chất theo sáng chế được mô tả ở trang 87 của tài liệu M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs," Chemistry & Industry, pp. 85-89 (5 February 1996).

Theo các phương án được ưu tiên này, chất ức chế reductaza HMG-CoA được chọn từ lovastatin và simvastatin.

Theo phương án bổ sung, các hợp chất theo sáng chế được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị sau để điều trị kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân chống tiểu đường có hoạt tính bổ sung tùy thuộc vào phương pháp điều trị mong muốn (xem, ví dụ Turner, N. et al. *Prog. Drug Res.* (1998) 51:33-94; Hafner, S. *Diabetes Care* (1998) 21: 160178; and DeFronzo, R. et al. (eds.), *Diabetes Reviews* (1997) Vol. 5 No. 4). Một số nghiên cứu đã nghiên cứu lợi ích của các phương pháp điều trị phối hợp bằng các tác nhân dùng qua đường miệng (xem, ví dụ Mahler, R., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1999)84:1165- 71; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group: UKPDS 28, *Diabetes Care* (1998)21:87-92; Bardin, C.W.(ed.), *CURRENT THERAPY IN ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM*, 6th Edition (Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, Mo. 1997); Chiasson, J. et al., *Ann. Intern. Med.* (1994) 121: 928-935; Coniff, R. et al, *Clin.Tb.er.* (1997) 19: 16-26; Coniff R. et al., *Am. J. Med.* (1995) 98: 443451; and Iwamoto, Y. et al, *Diabet Med.* (1996)13: 365-370; Kwiterovich, P. *Am. J. Cardiol* (1998) 82(12A):3U-17U). Các nghiên cứu này đã chỉ ra rằng bệnh tiểu đường và việc điều biến tăng lipid huyết có thể còn được cải thiện bằng cách bổ sung tác nhân thứ hai vào chế độ điều trị.

Theo phương án tiếp theo, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một hoặc nhiều tác nhân điều trị sau để điều trị bệnh tiểu đường: sulfonylure (như clopropamit, tolbutamit, axetohexamit, tolazamit, glyburit, gliclazit, glynaza, glimepiride, và glipizide), biguanua (như metformin), thiazolidindion (như xiglitazon, pioglitazon, troglitazon, và rosiglitazon), và chất làm nhạy insulin liên quan, như các gen hoạt hóa chọn lọc và không chọn lọc của PPAR α , PPAR β và PPAR γ ; dehydroepiandrosteron (còn được gọi là DHEA hoặc sulphat este liên hợp của nó, DHEA-SO₄); antiglucocorticoit; chất ức chế TNF α ; chất ức chế α -glucosidaza (như acarboza, miglitol, và vogliboza), pramlintit (chất tương tự tổng hợp của amylin hormon người), các chất lợi tiết insulin khác (như repaglinide, gliquidone, và nateglinide), insulin, cũng như các tác nhân điều trị nêu trên để điều trị bệnh xơ vữa động mạch.

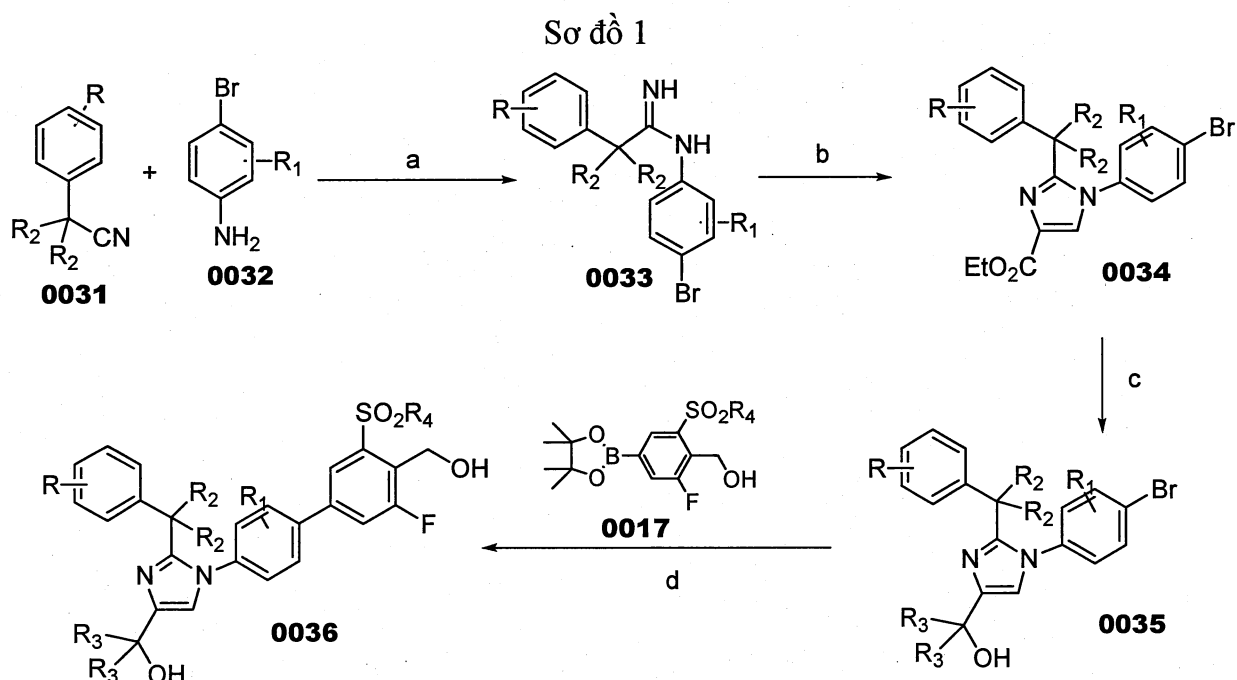
Theo phương án khác, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với với một hoặc nhiều tác nhân sau để điều trị bệnh béo phì hoặc các rối loạn liên quan đến bệnh béo phì. Các tác nhân như vậy, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, phenylpropanolamin, phentermin, diethylpropion, mazindol, fenfluramin, dexfenfluramin, phentiramin, các chất chủ vận adrenoceptor β_3 ; sibutramin, chất ức chế lipaza dạ dày-ruột (như orlistat), và leptin. Các tác nhân khác được sử dụng để điều trị bệnh béo phì hoặc các rối loạn liên quan đến bệnh béo phì bao gồm neuropeptit Y, enterostatin, cholexytokinin, bombesin, amylin, các thụ thể histamin

H₃, các chất điều biến thụ thể dopamin D₂, hormon kích thích tế bào melanin, yếu tố giải phóng corticotrophin, galanin và axit gama amino butyric (GABA).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp tổng hợp

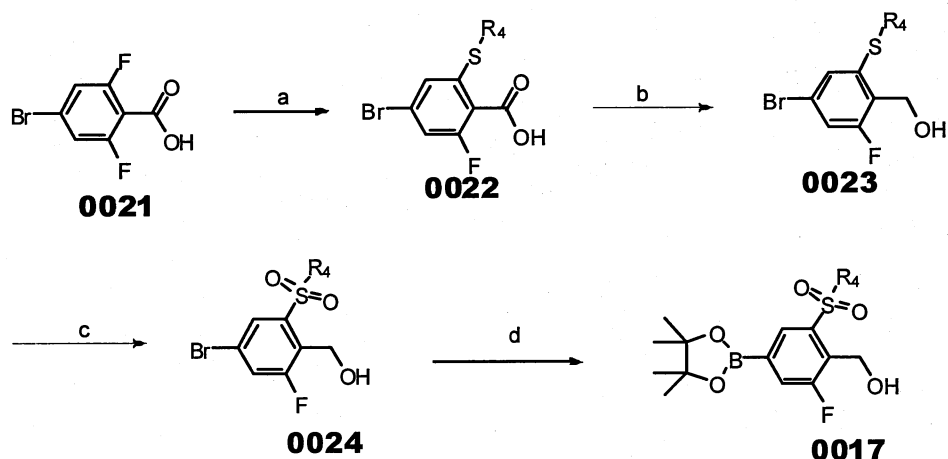
Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế bằng một số phương pháp đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực, bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở các phương pháp được mô tả dưới đây, hoặc bằng các phương pháp cải biến của các phương pháp này bằng cách áp dụng các kỹ thuật chuẩn đã biết đối với các chuyên gia trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các hợp chất này có tên gọi theo chương trình dụng ChemDraw Ultra 9.0 hoặc 10.0 (CambridgeSoft). Các chất phản ứng và nguyên liệu là có bán trên thị trường, hoặc dễ dàng tổng hợp được bằng các kỹ thuật mà chuyên gia trung bình trong lĩnh vực này đã biết. Cần phải hiểu rằng trong phần mô tả dưới đây, các kết hợp của các phần tử thay thế và/hoặc các thay đổi của công thức nêu trên chỉ được phép nếu các đóng góp như vậy làm tạo ra các hợp chất ổn định. Trừ khi có quy định cụ thể, tất cả các hợp chất kèm theo các dữ liệu NMR và/hoặc phổ khối đều điều chế được và NMR và phổ khối đều đo được.



(a) Me_3Al , Toluene, 0°C - 80°C ; (b) i. Ethyl bromopyruvate, NaHCO_3 , THF, 70 - 80°C ; ii. AcOH, toluene hoặc TFA, EtOH, 80°C ; (c) R_3MgBr , THF hoặc THF/ CH_2Cl_2 , 0°C - rt; (d) K_2CO_3 , $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, DME/ H_2O , 80°C .

Nói chung, các hợp chất có công thức (0036) được điều chế bằng cách trước tiên cho anilin có công thức (0032) phản ứng với 2-(phenyl)-2-methylpropanenitril (0031) với sự có mặt của trimethyl nhôm để tạo ra các hợp chất có công thức (0033) sau khi tiến hành các quy trình tách chuẩn (Sơ đồ 1). Ở bước sau đó, việc cho amidin (0033) tiếp xúc với haloeste, như ethyl α -bromopyruvat, trong các điều kiện bazơ ở nhiệt độ cao, tiếp đó là các điều kiện loại nước như axit trifloaxetic trong etanol làm tạo ra 1*H*-imidazol có công thức (0034) sau khi tiến hành các quy trình tách chuẩn. Sau đó, các hợp chất có công thức (0034) được chuyển hóa nhóm chức, như từ este thành carbinol. Trong phản ứng liên hợp qua trung gian paladi, ví dụ, phản ứng Suzuki, các hợp chất có công thức (0035) sau đó được cho phản ứng với (2-fluoro-6-(sulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)methanol (0017) (xem Sơ đồ 2 dưới đây) để tạo ra các hợp chất có công thức (0036) sau khi tiến hành các quy trình tách chuẩn.

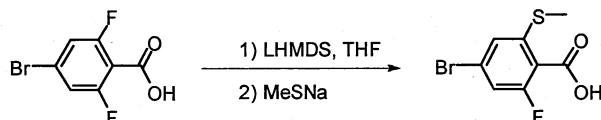
Sơ đồ 2



i. 1,0 M LHMDs trong THF; ii. $R_4\text{SNa}$, hồi lưu; b) $\text{BH}_3\text{-THF}$, 0 °C-hồi lưu; c) mCPBA, CH_2Cl_2 ; d) $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, bis(pinacolato)điboron, KOAc, DMSO, 80 °C.

Sơ đồ 2: bước 2a

Điều chế 4-brom-2-flo-6-(metylthio)axit benzoic



Bình đáy tròn dung tích 500 mL có lắp thiết bị ngưng tụ được bổ sung 4-brom-2,6-đifloaxit benzoic (16,0 g, 67,5mmol) và THF khan (110 mL). Bình phản ứng này được làm lạnh trong bể nước đá trước khi bổ sung từng giọt dung dịch lithi *bis*-(trimetylsilyl)amit 1,0 M (74 mL, 1,1 đương lượng) vào. Huyền phù phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian 20 phút trước khi bổ sung natri thiometoxit (5,21 g, 74,2mmol). Dung dịch phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ hồi lưu trong thời gian 3 giờ. Phản ứng này được xác định là hoàn thành sau khi đập tắt lượng nhỏ hỗn hợp phản ứng bằng dung dịch HCl loãng và tiến hành GCMS: phát hiện thấy $m/z = 265, 267$ các ion gốc. Hỗn hợp phản ứng đã được làm nguội được đập tắt phản ứng bằng H_2O và được pha loãng bằng EtOAc (200 mL). Hỗn hợp phản ứng này được chuyển vào phễu chiết, và dung dịch nước HCl 1,0 N được bổ sung vào để tạo ra dung dịch có độ pH = 2-3. Lớp etyl axetat được tách ra, được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được cô trong chân không để thu được 14,6 g (hiệu suất 81%) hợp chất trung gian là axit 6-flo-4-brom-2-metylsulfanylbenzoic dưới dạng chất rắn màu trắng dạng sập. $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7,18 (s, 1H), 7,12 (dd, $J = 8$ Hz, 1H), 2,49 (s, 3H); GCMS $m/z = 265, 267$ $[\text{M}]^+$.

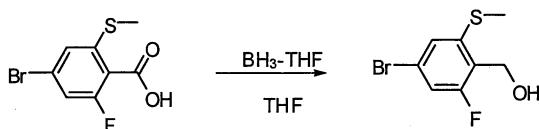
Theo cách khác, hợp chất trung gian axit 6-flo-4-brom-2-metylsulfanylbenzoic được điều chế như sau:

Bình dung tích 20L được nạp dimetyl formamit (14,5 L, 10,0 thể tích), tiếp đó là natri hydroxit (293,7 g, 1,2 đương lượng) và khối phản ứng này được làm lạnh đến

nhệt độ nằm trong khoảng từ -15 đến -10°C. Axit 4-brom-2,6-điflobenzoic (1450 g, 1,0 đương lượng) được bổ sung trong thời gian 10-15 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -15 đến -10°C và được khuấy thêm 10-15 phút. Natri thiometoxit (514,6 g, 1,2 đương lượng) được bổ sung trong thời gian 5-10 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10 đến -5°C. Khi hoàn tất việc bổ sung nhiệt độ của phản ứng được tăng lên đến 25-28°C trong thời gian từ 45 đến 60 phút và được duy trì ở nhiệt độ đó trong thời gian 1,5-2 giờ. Sau đó, nhiệt độ của phản ứng được tăng lên đến 60-65°C trong thời gian 30-60 phút và được duy trì ở 60-65°C trong thời gian 5 giờ đến khi phản ứng hoàn thành. Sau đó, hỗn hợp phản ứng này được làm nguội đến 20-25°C và được dập tắt phản ứng bằng dung dịch HCl 2N lạnh (5-10°C) (5,045 L dung dịch HCl 12N trong 30,3L nước). Sau khi dập tắt phản ứng, etyl axetat (14,5 L, 10 thể tích) được bổ sung vào và hỗn hợp này được khuấy trong thời gian 10-15 phút. Các pha được tách ra và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (7,25 L, 5 thể tích). Hai pha này được tách ra và lớp hữu cơ kết hợp được rửa bằng dung dịch nước muối (725 g NaCl trong 3,625 L nước). Các pha được tách ra và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (5,0 thể tích, 7,25 L). Các pha được tách ra và lớp hữu cơ được làm khô trên natri sulfat (1450 g). Lớp hữu cơ này được lọc để loại bỏ natri sulfat, sau đó được rửa bằng etyl axetat (2,9 L, 2 thể tích). Lớp hữu cơ này được cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 45-50°C/ 30-40 mm Hg đến ~1 tới 1,2 thể tích và ete dầu mỏ (7,25 L, 5 thể tích) được bổ sung ở nhiệt độ 40-45°C trong thời gian 15-20 phút. Dung dịch này được làm nguội đến 20-25°C trong thời gian 20-25 phút. Chất rắn được lọc và được rửa bằng ete dầu mỏ (2,9 L, 2,0 thể tích) và sản phẩm được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 25-28°C, áp suất 0,4 đến 0,7mba để thu được 1410 g (87%, 99,40% diện tích) hợp chất trung gian axit 6-flo-4-brom-2-metylsulfanyl-benzoic.

Bước 2b

Điều chế (4-brom-2-flo-6-(metylthio)phenyl)metanol



Bình đáy tròn dung tích 500 mL đã được thanh lọc bằng N₂ có lắp thiết bị ngưng tụ được bổ sung dung dịch axit 6-flo-4-brom-2-metylsulfanyl-benzoic (14,6g, 55,0mmol) và THF khan (70 mL). Dung dịch phản ứng này được làm lạnh đến 0°C trước khi bổ sung từng giọt vào dung dịch 1,0 M BH₃-THF (83 mL, 1,5 đương lượng) trong THF. Dung dịch phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng, sau đó ở nhiệt độ hồi lưu thêm 2 giờ. Dung dịch phản ứng này được làm lạnh trước khi được dập tắt bằng dung dịch H₂O/THF theo tỷ lệ 1:1. Dung dịch phản ứng này được chuyển vào phễu chiết có EtOAc (100 mL) và dung dịch nước chứa K₂CO₃ được bổ sung vào. Pha etyl axetat được tách ra, được rửa bằng nước muối, được làm khô trên

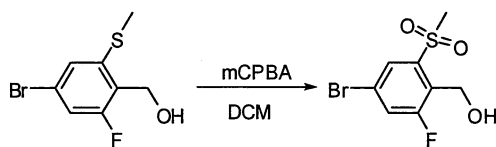
Na_2SO_4 , và được cô trong chân không. Sản phẩm thô được sắc ký qua cột 110g SiO_2 sử dụng gradien dung môi từ 100% Hx đến 55% EtOAc. Sản phẩm đề mục tinh chế thu được dưới dạng chất rắn màu trắng dạng sáp (13,7 g, hiệu suất 99%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,13 (s, 1H), 7,06 (dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,20-2,05 (br s, 1H); GCMS $m/z = 251, 253$ $[\text{M}]^+$.

Theo cách khác, hợp chất trung gian (4-brom-2-flo-6-(metylthio)phenyl)metanol được điều chế như sau:

Bình dung tích 20 L được nạp axit 4-brom-2-flo-6-(metylthio)benzoic (1400 g, 1,0 đương lượng) tiếp đó là THF (14 L, 10 thể tích) trong môi trường nitơ. Dung dịch này được bổ sung phức chất boran-dimetyl sulfua (802,41 g, 1000 mL) ở nhiệt độ 25-28°C trong thời gian 30-45 phút. Nhiệt độ phản ứng được tăng lên đến 60-65°C trong thời gian 30-45 phút và nhiệt độ này được duy trì đến khi HPLC cho biết <1% axit 4-brom-2-flo-6-(metylthio)benzoic (~ 3-4 giờ). Khi hoàn thành phản ứng, hỗn hợp này được làm nguội đến 10-15°C trong thời gian 30-40 phút. Sau đó, phản ứng này được dập tắt bằng metanol (2,1 L, 1,5 thể tích) trong thời gian từ 1 tới 1,5 giờ ở nhiệt độ 10-15°C. Sau đó, khối phản ứng này được cô trong chân không ở nhiệt độ 40-50°C/0,4 đến 0,7 mba đến khi còn 1 tới 1,5 thể tích. Hỗn hợp thu được được hoà tan trong DCM (8,4 L, 6 thể tích). Lớp hữu cơ này được rửa bằng dung dịch amoni clorua (560g NH_4Cl trong 2,8 L nước, 2 thể tích). Các pha được tách ra và lớp hữu cơ được rửa bằng dung dịch NaHCO_3 10% (2,8 L, 2 thể tích), dung dịch nước muối bão hoà (2,1 L, 1,5 thể tích) và nước (4,2 L, 3 thể tích). Lớp hữu cơ này được tách ra và được làm khô trên natri sulfat (700 g). Natri sulfat được loại bỏ bằng cách lọc và được rửa bằng DCM (2,8 L, 2 thể tích). Lớp hữu cơ này được cô trong chân không ở nhiệt độ 40-45 °C/ 0,4 đến 0,7 mba đến khi còn 1 tới 1,2 thể tích để thu được sản phẩm, sản phẩm này được làm khô trong chân không ở nhiệt độ 45-50 °C/ 0,4 đến 0,7 mba. Sản phẩm đề mục thu được với hiệu suất 90% (1200 g) với 90,07% diện tích.

Bước 2c

Điều chế (4-brom-2-flo-6-(metansulfonyl)phenyl)-metanol

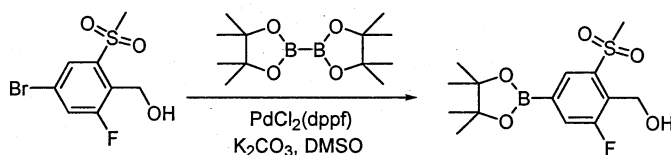


Bình dung tích 500 mL được bổ sung (4-brom-2-flo-6-(metylthio)phenyl)metanol (13,7 g, 54,6mmol) và điclotetan khan (125 mL). Dung dịch này được làm lạnh đến nhiệt độ 0-3°C trong bể nước đá trước khi bổ sung từng phần axit 3-cloperbenzoic (77% max., Aldrich) (18,8 g, 2 đương lượng). Sau đó, dung dịch phản ứng này được làm ấm lên tới nhiệt độ trong phòng, nơi nó được giữ nguyên trong thời gian 18 giờ. Sau đó, hỗn hợp phản ứng này được cô trong chân không để loại bỏ điclotetan và phần cặn được rửa trong phễu chiết bằng etyl axetat

và dung dịch nước NaOH 1M. Lớp etyl axetat được tách ra, được rửa bằng dung dịch nước NaOH 1M, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được cô *trong chân không*. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh (Biotage, cột 65 x 200 mm SiO_2 , gradien rửa giải từ 100% hexan đến 90% etyl axetat). Các phân đoạn thích hợp được kết hợp và được cô *trong chân không* để thu được hợp chất đề mục dưới dạng chất rắn bán tinh thể không màu, hiệu suất: 8,1g (52%). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,98 (dd, $J = 8$ Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 5,45 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 4,88 (dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 2H), 3,42 (s, 3H); ^{19}F NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ -111,8ppm; GCMS m/z = 283, 285 $[\text{M}]^+$.

Bước 2d

Điều chế (2-flo-6-(metylsulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)phenyl)metanol



Bình đáy tròn dung tích 100 mL được sục N_2 khô, được cân (4-brom-2-flo-6-(metansulfonyl)phenyl)-metanol (1,98 g, 6,99mmol), *bis*(pinacolato)điboron (2,13 g 1,2 đương lượng), sản phẩm cộng điclo[1,1'-bis(điphenylphosphino) feroxen]paladi (II) điclometan (560 mg, 10%mol), kali cacbonat (2,06 g, 3 đương lượng), và DMSO (25 mL). Huyền phù thu được được khuấy ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 3 giờ. Lượng nhỏ dung dịch phản ứng được phát hiện không còn chứa bromua ban đầu như được xác định bằng phân tích LCMS. Huyền phù phản ứng lạnh được pha loãng bằng etyl axetat (50 mL) và nước (50 mL) và được lọc qua phễu Buchner được đệm Xelit. Phần dịch lọc thu được được chuyển vào phễu chiết, và pha hữu cơ được tách ra. Pha nước được chiết bằng etyl axetat, và pha etyl axetat kết hợp được rửa bằng nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được cô *trong chân không*. Phần cặn được tinh chế bằng sắc ký nhanh silicagel (Biotage SP-1, cột 40g SiO_2 , gradien rửa giải từ 100% hexan đến 60% etyl axetat) để thu được dầu nhớt trong. Sản phẩm được tách dưới dạng bột trắng vô định hình bằng cách hoà tan trong điclometan và sự tái kết tủa do bổ sung hexan. Hợp chất đề mục được tách dưới dạng bột rắn màu trắng, thu được: 1,9 g (hiệu suất 82%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,28 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,03 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 3,23 (s, 3H) 3,05 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 1,35 (s, 6H); ^{19}F NMR (400 MHz, CDCl_3) δ -116,3ppm.

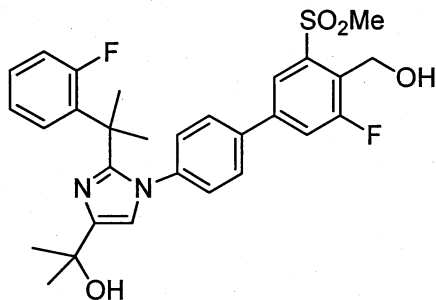
Theo cách khác, hợp chất trung gian (2-flo-6-(metylsulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)phenyl)metanol được điều chế như sau:

Bình phản ứng có bảo ôn dung tích 500 mL được lắp với thanh khuấy từ, que dò nhiệt độ, thiết bị ngưng tụ hồi lưu và cửa nạp nitơ được nạp methyl tetrahydrooran (MeTHF) (75 mL, 5 thể tích, tiếp đó là kali axetat (5,2 g, 52,98mmol, 1 đương

lượng) và (oxyđi-2,1-phenylen)bis(điphenylphosphin) (322 mg; 597,3 μ mol, 0,01125 đương lượng) và bis(pinacolato)điboron (17,51 g, 68,95mmol, 1,3 đương lượng). Bình phản ứng này được hút chân không đến áp suất nhỏ hơn 150 Torr, và sau đó được nạp đầy nitơ. Quy trình loại khí này được lặp lại 3 lần. $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (94,2 mg; 419,6 μ mol, 0,0075 đương lượng) được nạp vào bình phản ứng và bình phản ứng này được hút chân không đến áp suất nhỏ hơn 150 Torr, và sau đó được nạp đầy nitơ và trình tự này được lặp lại 3 lần. Huyền phù đặc thu được được để ở nhiệt độ 20-25°C trong 15 phút. Sau 15 phút này, huyền phù đặc được đun nóng đến nhiệt độ bên trong bằng 80°C. Khi hỗn hợp trong bình phản ứng được đun nóng đến nhiệt độ, trong bình riêng biệt được nạp (4-brom-2-flo-6-(metansulfonyl)phenyl)-metanol (15,03 g, 53,09mmol, 1 đương lượng) tiếp đó là MeTHF (75 ml, 5 thể tích). Dung dịch thu được được loại khí bằng cách sục khí nitơ vào dưới trong thời gian ít nhất 15 phút trước khi sử dụng. Khi hỗn hợp chất xúc tác đạt đến nhiệt độ hồi lưu, dung dịch đã loại khí chứa (4-brom-2-flo-6-(metansulfonyl)phenyl)-metanol trong MeTHF được bổ sung vào phản ứng này làm một lần và được để cho phản ứng diễn ra. Phản ứng thường mất khoảng ~20 giờ để hoàn thành sau khi bổ sung chất nền. Khi hoàn thành (thông thường <0,75 RAP nguyên liệu, hỗn hợp phản ứng được làm nguội đến 20-25°C. Khi ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng MeTHF (75 ml, 5 thể tích) và được rửa bằng dung dịch NaCl 5% khối lượng (7,5 thể tích, 110 ml) trong thời gian ít nhất 15 phút. Các pha được tách ra và dòng MeTHF giàu sản phẩm ở bên trên được lọc qua Xelit để loại bỏ các cặn paladi không tan. Bánh Xelit được rửa bằng MeTHF (75 ml, 5 thể tích). Phản ứng này được xử lý bằng silic oxit đã được tạo chức (30 đương lượng) để loại bỏ paladi và chất màu. Huyền phù đặc được khuấy trong thời gian ít nhất 60 phút và sau đó được lọc để loại bỏ silic oxit. Silic oxit đã qua sử dụng được rửa bằng MeTHF (5 thể tích, 75 ml). Pha hữu cơ kết hợp được rửa bằng nước (5 thể tích, 75 ml). Chất hữu cơ này được chưng cất đến còn 5 thể tích (75 ml) trong chân không (60-70 Torr, nhiệt độ dung dịch bằng 30°C). Khi điểm mốc 75 ml đạt được, việc chưng cất được dừng lại và heptan (75 ml, 5 thể tích) được bổ sung từng giọt vào dung dịch phản ứng này. Sau khi ~35 ml heptan được bổ sung vào, sản phẩm bắt đầu kết tinh khỏi dung dịch. Khi hoàn tất việc bổ sung, sản phẩm được tách ra bằng cách lọc và bánh lọc ướt được rửa bằng dung dịch MeTHF-heptan (1:9) (2 x 75 ml) và được làm khô ở nhiệt độ 50°C. Sản phẩm đề mục thu được dưới dạng chất rắn màu trắng, 13,64 g, (hiệu suất 78%) với 99,58% diện tích.

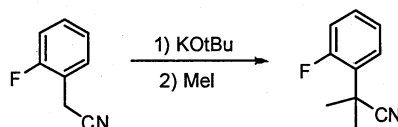
Ví dụ 1

2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol



Ví dụ 1a

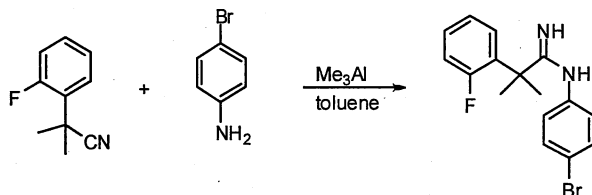
Điều chế 2-(2-flophenyl)-2-metylpropanitril



Bình đáy tròn 3 cổ dung tích 500 mL có trang bị phễu bổ sung được súc khô N_2 , được bổ sung 2-flophenylaxetonitril (11,0 g, 81,4mmol) và THF khan (70 mL). Dung dịch phản ứng này được làm lạnh đến $-10^\circ C$ trước khi bổ sung từng giọt vào dung dịch kali *tert*-butoxit 1,0 (195 mL, 2,4 mol đương lượng) trong THF. Dung dịch phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ $-10^\circ C$ trong thời gian 20 phút trước khi bổ sung iodometan (15,2 mL, 244mmol). Dung dịch phản ứng này được khuấy cho ấm ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Dung dịch phản ứng này được làm nguội bằng cách bổ sung dung dịch nước NH_4Cl và được pha loãng bằng EtOAc (200 mL). Pha hữu cơ được phân bố, được rửa bằng dung dịch nước NH_4Cl , được làm khô trên Na_2SO_4 , được lọc, được cô trong chân không và được sắc ký qua cột 240 g SiO_2 trên Biotage SP-1 bằng cách sử dụng gradien dung môi từ 100% Hx đến 50% EtOAc để thu được 10,1 g (hiệu suất 76%) sản phẩm đề mục. GCMS $m/z = 163 [M]^+$.

Ví dụ 1b

Điều chế N-(4-bromphenyl)-2-(2-flophenyl)-2-metylpropanimidamit

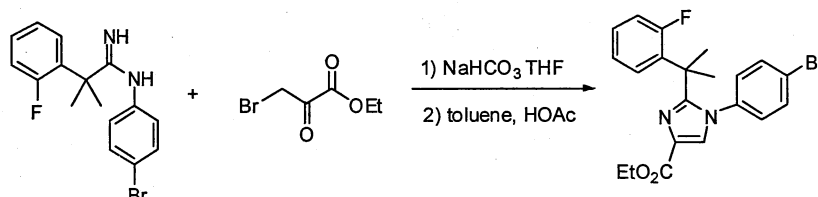


Bình đáy tròn dung tích 250 mL đã được thanh lọc bằng N_2 được làm khô trong lò có trang bị phễu bổ sung được bổ sung 4-bromanilin (7,31 g, 42,5mmol) và toluen khan (40 mL). Dung dịch phản ứng ở nhiệt độ $0^\circ C$ được bổ sung dung dịch Me_3Al 2,0 M (32 mL, 1,5 mol đương lượng). Dung dịch phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ $0^\circ C$ trong thời gian 30 phút, sau đó dung dịch chứa 2-(2-flophenyl)-2-

metylpropanitril (7,62 g, 46,7mmol) trong toluen (25 mL) được bổ sung vào bình phản ứng này. Dung dịch phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 90°C trong thời gian 5 giờ. Dung dịch phản ứng lạnh được làm nguội bằng dung dịch nước natri kali tartrat. Sau khi để yên trong thời gian 20 phút, pha hữu cơ được phân bố và được rửa bằng dung dịch natri kali tartrat. Dung dịch hữu cơ được chiết bằng dung dịch nước HCl 1N (100 mL x 3). Dung dịch nước HCl kết hợp được trung hòa bằng cách bổ sung dung dịch nước NaOH 1N và được chiết bằng điclorometan (200 mL x 2). Dung dịch sản phẩm điclorometan được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc, và được cô *trong chân không* để thu được hợp chất đề mục (5,5 g, hiệu suất 39%). GCMS $m/z = 334, 336 [M]^+$.

Ví dụ 1c

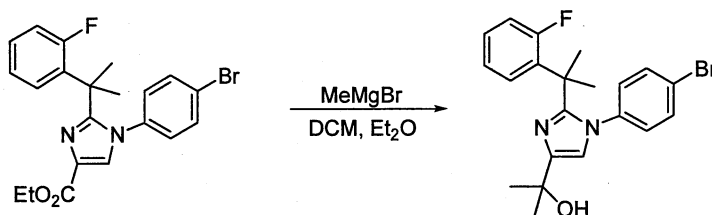
Điều chế ethyl 1-(4-bromphenyl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat



Bình đáy tròn dung tích 250 mL có lắp thiết bị ngưng tụ được bổ sung N-(4-bromphenyl)-2-(2-flophenyl)-2-metylpropanimidamit (5,0 g, 15mmol), THF khan (80 mL), NaHCO₃ (2,52 g, 30mmol), và 90% ethyl brompyruvat (1,90 mL, 15,1mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ trước khi phân tích bằng LCMS. Hỗn hợp phản ứng đã được làm nguội, được lắng gạn, và được cô *trong chân không*. Phần cặn được cho vào toluen (65 mL) và axit axetic (1,8 mL). Dung dịch này được khuấy ở nhiệt độ hồi lưu trong 1 giờ. Dung dịch lạnh này được rửa bằng H₂O (150 mL x 3), được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc, được cô *trong chân không*, và được sắc ký qua cột SiO₂ bằng cách sử dụng gradien từ 100% Hx đến 70% EtOAc để thu được hợp chất đề mục tinh chế (4,3 g, hiệu suất 67%). LCMS (ES) : $m/z = 431,3, 433,3 [M+H]^+$.

Ví dụ 1d

Điều chế 2-(1-(4-bromphenyl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol

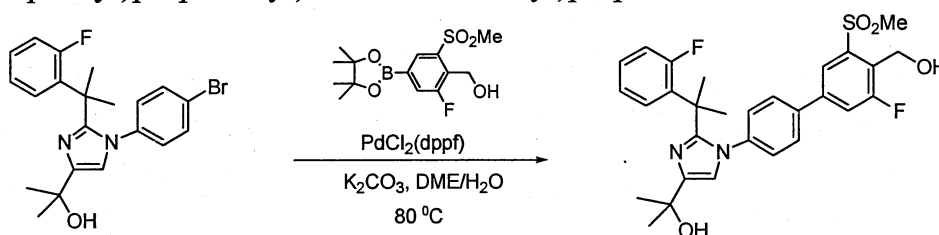


Bình đáy tròn dung tích 250 mL, được sục N₂ khô và có trang bị phễu bổ sung, được bổ sung dung dịch MeMgBr 3,0M (12 mL, 3,7 đương lượng) trong Et₂O. Bình này được làm lạnh đến nhiệt độ 0°C trước khi bổ sung từng giọt vào ethyl 1-(4-

bromphenyl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat (4,22 g, 9,78mmol) trong dung dịch chứa điclotetan khan (80 mL). Dung dịch phản ứng này được khuấy, làm ấm đến nhiệt độ trong phòng trong thời gian 1 giờ. Dung dịch phản ứng này được làm nguội bằng cách bổ sung dung dịch nước NH₄Cl vào. Hỗn hợp này được rót vào phễu chiết và lớp điclotetan được phân bố, được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc, được cô và được sắc ký qua cột 40 g SiO₂ sử dụng gradien từ 100% Hx đến 70% EtOAc để tạo ra hợp chất đề mục (3,19 g, hiệu suất 78%). LCMS (ES): m/z = 417,3, 419,3 [M+H]⁺.

Ví dụ 1

Điều chế 2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol



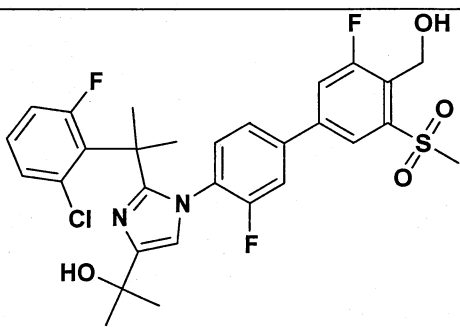
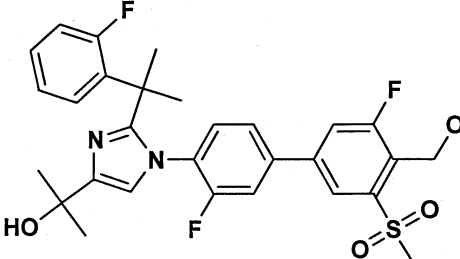
Bình đáy tròn dung tích 50 mL được bổ sung 2-(1-(4-bromphenyl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol (380 mg, 911 mmol), DME (25 mL) và H₂O (6 mL). Dung dịch này được sục N₂ trong 10 phút trước khi bổ sung (2-flo-6-(metylsulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)phenyl)metanol (360 mg, 1,09mmol), kali cacbonat (380 mg, 2,73mmol), và sản phẩm cộng điclo[1,1'-bis (diphenylphosphino)feroxen]paladii (II) điclotetan (74 mg, 91 mmol). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 80°C trong thời gian 2giờ. Dung dịch phản ứng đã được làm lạnh được pha loãng bằng EtOAc (30 mL) và được lọc qua phễu Buchner được đệm Xelit. Phần dịch lọc được rửa bằng dung dịch nước NH₄Cl (150 mL x 2). Pha hữu cơ được làm khô trên Na₂SO₄, được lọc, và được cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng silicagel sắc ký nhanh (Biotage SP-1, cột 25g SiO₂, gradien rửa giải từ 5% EtOAc đến 100% EtOAc) để thu được hợp chất đề mục (100 mg, hiệu suất 20%). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,02 (d, J = 2 Hz, 1H), 7,51 (dd, J_1 = 2 Hz, J_2 = 10 Hz, 1H), 7,29 (d, J = 9 2H), 7,08-7,16 (mult, 1H), 6,85-6,92 (mult, 3H), 6,77-6,84 (mult, 2H), 6,65 (s, 1H), 5,09 (d, J = 6 Hz, 2H), 3,35 (s, 1H), 3,30 (2, 3H), 3,02 (t, J = 6 Hz, 1H), 1,72 (s, 6H), 1,62 (s, 6H); ¹⁹F NMR (400 MHz, CDCl₃) δ -112,1, -113,5ppm; LCMS (ES) m/z = 541,3 [M+H]⁺, 563,2 [M+Na]⁺.

Các ví dụ 2-8

Tất cả các hợp chất sau đều được tạo ra theo cách tương tự với cách đã được mô tả trong Ví dụ 1 bằng cách sử dụng các anilin thích hợp và 2-(phenyl)-2-metylpropanitril. Nếu không có bán trên thị trường, thì các nitril được tạo ra bằng

cách sử dụng kỹ thuật chuẩn mà chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này dễ dàng biết được.

Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
2	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-3-metyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 589.3 [M+H] ⁺
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 627.2 [M+H] ⁺
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 575.3 [M+H] ⁺
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 591.5 [M+H] ⁺
6	2-(2-(2-(2-clo-phenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 575.3 [M+H] ⁺

Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
7	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES) 593.3, 595.3 [M+H] ⁺
8	2-{1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metanesulfonyl-biphenyl-4-yl)-2-[2-(2-flophenyl)propan-2-yl]-1H-imidazol-4-yl}-propan-2-ol		MS (ES): 559.2 [M+H] ⁺

Hợp chất 2 có các đặc tính NMR sau: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,02 (s, 1H), 7,56 – 7,49 (m, 1H), 7,35 (d, *J* = 2,0, 1H), 7,12 – 6,96 (m, 3H), 6,68 (d, *J* = 8,2, 1H), 6,66 – 6,60 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,08 (d, *J* = 5,4, 2H), 3,36 (s, 1H), 3,29 (s, 3H), 2,92 (t, *J* = 7,0, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,97 (d, *J* = 2,4, 3H), 1,72 (d, *J* = 7,4, 3H), 1,59 (s, 6H).

Hợp chất 3 có các đặc tính NMR sau: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,00 (m, 1H), 7,57 (d, *J* = 2,1, 1H), 7,55 – 7,49 (m, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,07 (dd, *J* = 8,3, 2,1, 1H), 7,01 – 6,95 (m, 1H), 6,81 (d, *J* = 8,3, 1H), 6,59 (s, 1H), 5,09 (d, *J* = 5,4, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,26 (m, 1H), 2,89 (t, *J* = 7,0, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,59 (s, 3H).

Hợp chất 4 có các đặc tính NMR sau: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (s, 1H), 7,47 (dd, *J* = 10,0, 1,8, 1H), 7,31 – 7,20 (m, 2H), 7,00 (d, *J* = 8,3, 2H), 6,92 – 6,71 (m, 3H), 6,65 (s, 1H), 5,08 (dd, *J* = 7,0, 1,6, 2H), 3,29 (s, 3H), 3,27 (s, 1H), 2,90 (t, *J* = 7,0, 1H), 1,82 (s, 6H), 1,60 (s, 6H).

Hợp chất 5 có các đặc tính NMR sau: ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,89-7,90 (mult, 1H), 7,82-7,85 (mult, 1H), 7,52 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,16 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 7,07-7,09 (mult, 2H), 6,94-6,98 (mult, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,55 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,93-4,95 (mult, 2H), 4,65 (s, 1H), 3,45 (s, 3H), 1,96 (s, 6H), 1,45 (s, 6H).

Hợp chất 6 có các đặc tính NMR sau: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (s, 1H), 7,46 (dd, *J* = 9,9, 1,8, 1H), 7,23 – 7,18 (m, 1H), 7,12 (dd, *J* = 10,3, 1,9, 1H), 6,97 (ddd, *J* = 23,4, 9,0, 4,0, 2H), 6,88 – 6,79 (m, 2H), 6,61 (s, 1H), 5,08 (d, *J* = 5,4, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,27 – 3,23 (m, 1H), 2,92 (t, *J* = 6,9, 1H), 1,61 (s, 12H).

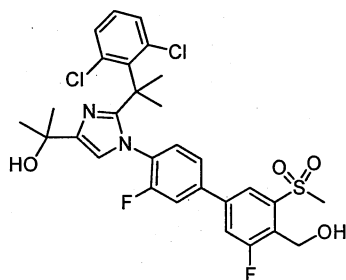
Hợp chất 7 có các đặc tính NMR sau: ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,95-7,90 (m, 2H), 7,62 (dd, 1H, *J* = 11, 1,5 Hz), 7,33 (dd, 1H, *J* = 9,5, 1,5 Hz),

7,13-7,08 (m, 3H), 6,85 (s, 1H), 6,80-6,70 (m, 1H), 5,57 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,95 (d, 2H, $J = 4,3$ Hz), 4,71 (s, 1H), 3,47 (s, 3H), 1,85 (s, 6H), 1,46 (s, 6H).

Hợp chất 8 có các đặc tính NMR sau: $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,96-7,90 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, $J = 11, 1,5$ Hz), 7,34 (dd, 1H, $J = 9,5, 1,5$ Hz), 7,20-7,10 (m, 1H), 7,05-6,94 (m, 2H), 6,90-6,75 (m, 3H), 5,57 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,94 (d, 2H, $J = 4,3$ Hz), 4,70 (s, 1H), 3,47 (s, 3H), 1,68 (s, 6H), 1,47 (s, 6H).

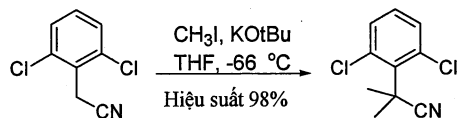
Ví dụ 9

2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol



Ví dụ 9a

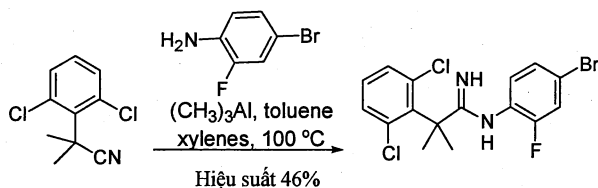
Điều chế 2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropannitril



Dung dịch 1M chứa kali *tert*-butoxit (403 mL, 403mmol) ở nhiệt độ -66°C (axeton/băng khô) được bổ sung từ từ 2-(2,6-điclophenyl)axetonitril (25,0g, 134mmol) trong THF khan (150 mL). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ -66°C trong thời gian 20 phút. Sau đó, iodometan (33,6 mL, 538mmol) được bổ sung từng giọt vào trong thời gian 25 phút ở nhiệt độ -66°C . Ở giai đoạn này, nó tỏa nhiệt và lượng lớn kết tủa màu vàng nhạt được quan sát. Huyền phù được khuấy ở nhiệt độ -60°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp phản ứng này được dập tắt phản ứng bằng 200mL nước đá, và được chiết bằng ete (3 x 150 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp, được rửa bằng 150 mL nước muối, được làm khô trên Na_2SO_4 , và được cô trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay. Sản phẩm thô (30 g, dầu màu vàng) được tinh chế bằng sắc ký cột (ISCO, 330g silic oxit, 20% EtOAc trong hexan) để thu được 2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropannitril (28,2g, 132mmol, hiệu suất 98%) dưới dạng dầu màu vàng nhạt. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,35 (d, 2H, $J = 8,03$ Hz), 7,16 (t, 1H, $J = 8,0$ Hz), 2,09 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 126 MHz) δ 134,6, 133,8, 131,4, 129,0, 124,1, 38,6, 29,2; MS m/e 214,10 ($\text{M}+\text{H}^+$); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10% MeOH/nước với 0,2% H_3PO_4 , Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H_3PO_4 , gradien với 0-100% B trong thời gian 4 phút): 3,16 phút.

Ví dụ 9b

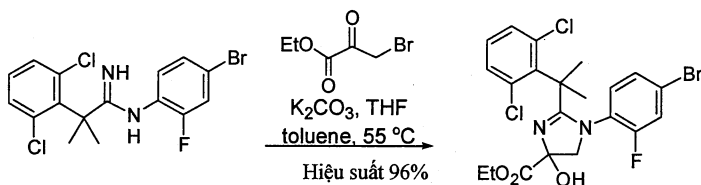
Điều chế N-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropanimidamit



2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropanitril (20 g, 93mmol) và 4-brom-2-floanilin (28,4 g, 149mmol) được hoà tan trong o-xylen khan (200 mL) và được đun nóng đến 100°C trong môi trường N₂. Trimetyl nhôm (2 M) trong toluen (140 mL, 280mmol) được bổ sung từng giọt vào (~0,9 mL mỗi phút) trong thời gian 2,5 giờ trong khi hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 100°C. Sau khi bổ sung, hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 100°C trong thời gian 30 phút, và sau đó được làm lạnh đến -5°C. Hỗn hợp phản ứng này được dập tắt phản ứng một cách rất cẩn thận bằng kali natri tartrat (20 g trong 100 ml nước) (Chú ý: tạo ra khí và nhiệt). Hỗn hợp phản ứng này được lọc qua Xelit 545. Phần dịch lọc được rửa bằng dung dịch HCl 1N (4 X 70 mL). Nước được trung hòa bằng dung dịch NaOH 2N và được chiết bằng EtOAc (4 X 100 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng Na₂SO₄, và được cô trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay để thu được 24 g sản phẩm thô. Sản phẩm thô này được kết tinh lại bằng 72 mL MTBE và 240 mL hexan để tạo ra N-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropanimidamit (17,5 g, 43,3mmol, hiệu suất 46,4%) dưới dạng chất rắn màu trắng (độ tinh khiết: 99%). ¹H-NMR (MeOD, 400 MHz) δ 7,42 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz), 7,30 (m, 2H), 7,16 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz), 6,93 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz), 2,11 (s, 6H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 166,5, 156,1, 153,7, 140,6, 138,5, 135,9, 131,4, 128,6, 128,0, 125,7, 119,5, 112,9, 50,0, 29,2; MS *m/e* 403,09 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, gradien với 0-100% B trong thời gian 4 phút): 2,32 phút.

Ví dụ 9c

Điều chế etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-4-hydroxy-4,5-đihydro-1H-imidazol-4-cacboxylat

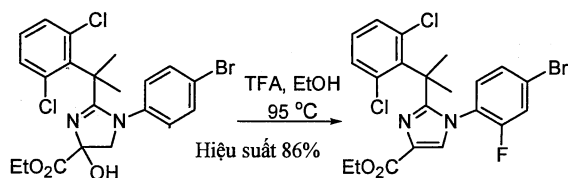


Hỗn hợp chứa N-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2,6-điclophenyl)-2-metylpropanimidamit (48,0 g, 119mmol), K₂CO₃ (41,0 g, 297mmol) trong toluen

(180 mL) và THF (180 mL) ở nhiệt độ 55 °C được bổ sung từ từ dung dịch chứa etyl 3-brom-2-oxopropanoat (23,3 mL, 166mmol) trong 24 mL THF trong thời gian 50 phút. Hỗn hợp phản ứng này được giữ ở 55°C trong thời gian 1,5 giờ. Huyền phù đặc màu trắng được quan sát. Hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh đến 5°C. Dung dịch HCl (0,5N, 450 mL) được bổ sung từng giọt vào (pH điểm cuối = 9~10). Sau khi bổ sung, huyền phù được làm lạnh đến 0°C. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng nước (2 x 50 mL), và sau đó được làm khô trong lò sấy chân không ở nhiệt độ 60°C qua đêm. Etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-4-hydroxy-4,5-dihiđro-1H-imidazol-4-cacboxylat (59 g, 114mmol, hiệu suất 96%) thu được dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,11 (m, 3H), 6,96 (m, 2H), 6,72 (t, 1H, *J* = 8,28 Hz), 4,35 (m, 2H), 4,25 (d, 1H, *J* = 10,5 Hz), 3,80 (d, 1H, *J* = 10,8 Hz), 1,98 (s, 3H), 1,93 (s, 3H), 1,38 (t, 3H, *J* = 7,03 Hz); ¹³C-NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ 173,0, 171,5, 159,8, 157,8, 137,3, 135,7, 132,1, 131,1, 128,1, 127,4, 125,6, 122,2, 120,1, 93,5, 62,5, 45,5, 30,2, 14,0; MS *m/e* 517,05 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, gradien với 0-100% B trong 4 phút): 2,74 phút.

Ví dụ 9d

Điều chế etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat

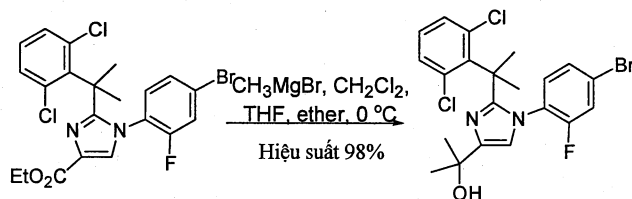


Hỗn hợp chứa etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-4-hydroxy-4,5-dihiđro-1H-imidazol-4-cacboxylat (38 g, 73mmol) trong EtOH (200 mL) được bổ sung TFA (25,0 g, 220mmol). Sau đó, hỗn hợp này được đun nóng đến 95°C. Phân tích HPLC sau 2,5 giờ cho biết còn < 1% hợp chất trung gian rượu. Hỗn hợp này được pha loãng bằng 300 mL CH₂Cl₂ và được làm lạnh đến nhiệt độ khoảng 5°C bằng bể nước đá. Hỗn hợp này được trung hòa bằng dung dịch NaOH 1N (120 mL) và lớp hữu cơ được tách ra. Lớp nước được chiết bằng CH₂Cl₂ (2 x 100 mL). Các lớp hữu cơ kết hợp được cô trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay để tạo ra chất thô. Tái kết tinh trong EtOH (5 mL/1 g), thu được 32 g etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ (hiệu suất 86%). ¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 7,92 (s, 1H), 7,16 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,22 (m, 3H), 7,11(m, 1H), 7,04 (t, 1H, *J* = 12,0 Hz), 4,25 (q, 2H, *J* = 8,0 Hz), 1,94 (s, 6H), 1,27 (t, 3H, *J* = 8,0 Hz); MS *m/e* 502,68 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10%

MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, gradien với 0-100% B trong thời gian 4 phút): 3,87 phút.

Ví dụ 9e

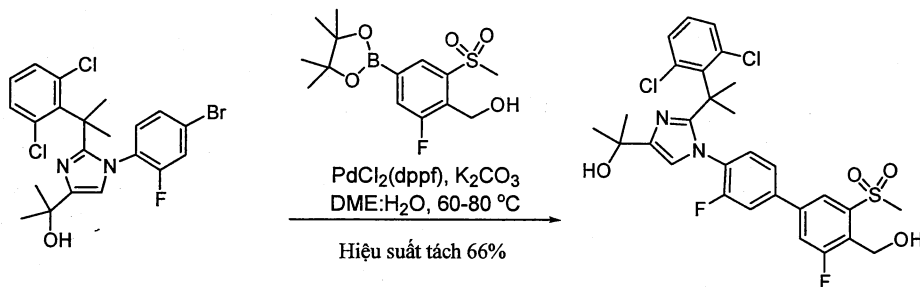
Điều chế 2-(1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol



Hỗn hợp chứa metylmagie bromua (60,0 mL, 180mmol, 3M trong ete) trong 120 mL THF được làm lạnh bằng dung dịch nước đá/muối (-15 đến -17 °C) được bổ sung từ từ dung dịch chứa etyl 1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat (30 g, 60mmol) trong 65 mL CH₂Cl₂ và 87 mL THF trong thời gian 45 phút. Nhiệt độ bên trong được giữ một cách cẩn thận dưới 0°C. 2 X 20 mL CH₂Cl₂ nữa được sử dụng để rửa tiếp cận. Nhiệt độ của hỗn hợp phản ứng được duy trì dưới 0°C trong thời gian 1 giờ cùng với khuấy. Sau đó, hỗn hợp phản ứng này được pha loãng bằng 100 mL CH₂Cl₂, và dung dịch NH₄Cl bão hoà được bổ sung từ từ vào. Hỗn hợp thu được được chiết bằng CH₂Cl₂ (2 X 80 mL). Các chất hữu cơ được kết hợp, được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng Na₂SO₄, và được cô trên thiết bị làm bay hơi kiểu quay để thu được 2-(1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol (28,5 g, 58,6mmol, hiệu suất 98%) dưới dạng chất rắn màu trắng. ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,13 (dd, 1H, *J* = 9,03, 2,01 Hz), 7,09 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,93 (m, 2H), 6,75 (t, 1H, *J* = 8,16 Hz), 6,55 (s, 1H), 3,18 (s, 1H), 2,00 (s, 6H), 1,58 (s, 6H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ 158,1, 156,1, 154,5, 147,8, 139,3, 135,7, 131,3, 130,3, 127,8, 126,9, 122,7, 119,8, 115,1, 68,7, 44,8, 31,1, 29,9; MS *m/e* 485,05 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H₃PO₄, gradien với 0-100% B trong thời gian 4 phút): 2,78 phút.

Ví dụ 9

Điều chế 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol



Bình đáy tròn 3-cổ dung tích 1L trong môi trường nitơ được bổ sung 2-(1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol (12,0 g, 24,7mmol), [2-flo-6-metansulfonyl-4-(4,4,5,5-tetrametyl-[1,3,2]đioxaborolan-2-yl)-phenyl]-metanol (9,78 g, 29,6mmol), K_2CO_3 (10,2 g, 74mmol), DME (120 mL) và nước (12 mL). Hỗn hợp này được đun nóng đến 60°C, và sau đó phức chất 1,1'-bis(điphenylphosphino)feroxen paladi (II) clorua (4,06 g, 4,94mmol) được bổ sung vào trong môi trường nitơ. Hỗn hợp phản ứng này được đun nóng đến 80°C trong thời gian 30 phút. Hỗn hợp sẫm màu thu được được làm lạnh bằng bể nước đá, và được phân bố trong 200 mL CH_2Cl_2 và 200 mL nước. Các lớp hữu cơ được kết hợp và được làm khô bằng Na_2SO_4 . Sau khi cô, sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký nhanh (ISCO, 330g silic oxit, 0% đến 100% EtOAc trong hexan) để thu được 12,79 g sản phẩm thô (hiệu suất 85%) dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt. Việc tái kết tinh được tiến hành bằng cách hoà tan 9,5 g sản phẩm thô trong axeton (80 mL) ở nhiệt độ 65°C. Dung dịch thu được được làm lạnh từ từ đến 25°C trong thời gian 5 giờ, và sau đó được làm lạnh đến 0°C thêm 30 phút. Các tinh thể bắt đầu tạo ra ở nhiệt độ 45°C. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc và được rửa bằng lạnh axeton. Sau khi làm khô trong lò ở nhiệt độ 45 °C trong chân không trong thời gian 14 giờ, 4,9 g sản phẩm tinh khiết thu được. Để thu hồi thêm sản phẩm tinh thể, nước cái được cô đến khoảng 10 mL và được cho đi qua lớp đệm silic oxit. EtOAc (100 mL) được sử dụng để rửa giải hợp chất. Phần dịch lọc được cô trong chân không để tạo ra chất rắn thô. Chất rắn thô này được tái kết tinh trong axeton theo quy trình trên để thu được thêm 2,5 g sản phẩm. Hiệu suất thu hồi kết hợp của hai lần sau khi tái kết tinh là 78%. 1H -NMR ($DMSO-d_6$, 400 MHz) δ 7,94 (m, 2H), 7,63 (dd, 1H, $J = 11,29, 1,51$ Hz), 7,34 (d, 1H, $J = 9,54$ Hz), 7,14 (m, 3H), 7,05 (m, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,58 (t, 2H, $J = 5,27$ Hz), 4,96 (d, 2H, $J = 4,27$ Hz), 4,70(s, 1H), 3,46 (s, 3H), 1,96 (s, 6H), 1,45 (s, 6H); MS m/e 609,16 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6x50 mm, 4 mL/phút, Dung môi A: 10% MeOH/nước với 0,2% H_3PO_4 , Dung môi B: 90% MeOH/nước với 0,2% H_3PO_4 , gradien với 0-100% B trong 4 phút): 2,56 phút.

Theo cách khác, Ví dụ 9 được điều chế như sau:

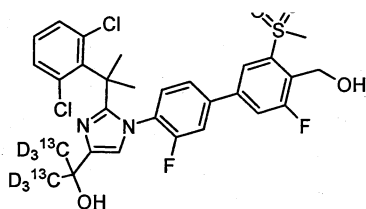
Bình đáy tròn 3-cổ dung tích 1L trong môi trường khí nitơ được bổ sung metyltetrahydrofuran ("MeTHF", 6,9 kg), 2-(1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol (1,994 kg, 4,1 mol) và (2-flo-6-(metylsulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-đioxaborolan-2-yl)phenyl)metanol (1,38 kg, 4,19 mol). Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 23°C trong 15 phút đến khi toàn bộ chất rắn được hoà tan. Khi kết thúc thời gian này, (oxydi-2,1-phenylen)bis(điphenylphosphin) (0,022 kg, 0,041 mol) và $Pd(OAc)_2$ (0,01 kg, 0,045 mol) được bổ sung dưới dạng huyền phù đặc qua đường dưới bề mặt. Khi hoàn tất việc bổ sung, hỗn hợp này được rửa bằng MeTHF bổ sung (1,65 kg). Hỗn hợp thu

được hút chân không đến áp suất nhỏ hơn 80 Torr và được nạp đầy lại bằng nitơ. Quy trình này được lặp lại nhiều hơn hai lần. Sau khi hoàn tất việc loại khí, hỗn hợp phản ứng này được khuấy trong thời gian ít nhất 15 phút và quan sát thấy có màu vàng trong. Trong bình phản ứng riêng biệt, dung dịch chứa kali hydroxit (0,352 kg) trong nước (10,00 kg) được điều chế và được loại khí bằng cách sục khí nitơ vào dung dịch này trong thời gian ít nhất 15 phút trước khi sử dụng. Dung dịch KOH (10,35 kg) được chuyển vào bình phản ứng bằng chân không. Nhiệt độ phản ứng có sự tỏa nhiệt từ 20°C đến 29°C. Khi hoàn tất việc bổ sung, hỗn hợp hai pha thu được được loại khí bằng một loạt tác động áp suất. Hỗn hợp này được làm ấm tới nhiệt độ nằm trong khoảng 45-50°C, ở đó nó được khuấy trong thời gian ít nhất 2 giờ. Sau thời gian này, hỗn hợp phản ứng này được phân tích bằng HPLC, cho biết phản ứng đã hoàn thành. Hỗn hợp phản ứng này được làm nguội đến 23°C và việc khuấy được dừng lại. Hỗn hợp này được tách trong thời gian 30 phút và dòng KOH đã sử dụng có nồng độ giảm được loại bỏ. Chất hữu cơ giàu sản phẩm được cho đi qua cột thioure được tạo chức silicagel (0,782 kg) (Silicycle) ở mức ~0,1 kg mỗi phút để loại bỏ paladi. Pha hữu cơ giàu sản phẩm được rửa bằng dung dịch NaHCO₃ 5% (5 thể tích) và các pha được tách ra. Pha hữu cơ được rửa bằng nước (5 thể tích) và pha hữu cơ và nước được tách ra.

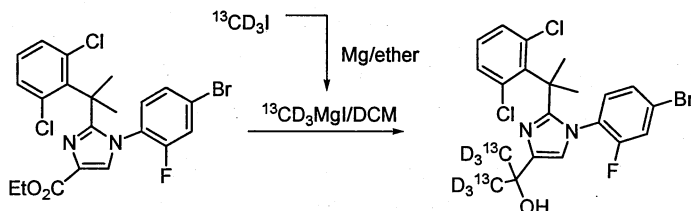
Pha hữu cơ giàu sản phẩm được lọc trong bình phản ứng sạch và sau đó được cô đến ~8 thể tích (~16 L) trong chân không (80 Torr, Tjacket = 60 °C). Khi đạt thể tích này, hỗn hợp phản ứng này được để nguội đến 25°C. Khi ở nhiệt độ này, hỗn hợp phản ứng được tạo mầm kết tinh bằng 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol (0,5%, 0,008 kg). Huyền phù đặc thu được được khuấy ở nhiệt độ 25°C trong thời gian khoảng 18 giờ. Kết thúc thời gian này, hỗn hợp phản ứng được cô đến ~8 L trong chân không (150 Torr, Tjacket = 60°C). Khi đạt thể tích này, hỗn hợp phản ứng này được đun nóng đến 50°C và isopropyl axetat (IPAc, 13,90 kg) được bổ sung vào bình phản ứng trong thời gian 90 phút. Khi hoàn tất việc bổ sung, hỗn hợp phản ứng này được làm nguội đến 25°C trong thời gian 3 giờ. Khi ở nhiệt độ này, hỗn hợp phản ứng được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian khoảng 16 giờ. Kết thúc thời gian này, hỗn hợp phản ứng này được lọc, được tráng, và được rửa bằng IPAc bổ sung (10,4 kg). Bánh lọc được làm khô bằng cách hút trên thiết bị lọc dưới dòng nitơ khô để tạo ra chất rắn màu trắng. Chất rắn màu trắng này được chuyển tới thiết bị sấy và được làm khô ở nhiệt độ 50°C trong chân không hoàn toàn để thu được 2,03 kg sản phẩm (hiệu suất 81%, 99,40 AP, 98% khối lượng).

Ví dụ 10

2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[(¹³CD₃)₂]propan-2-ol



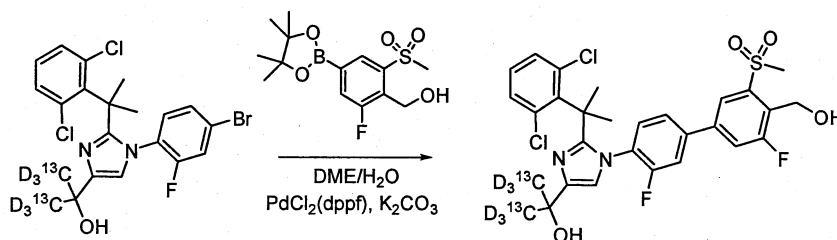
Điều chế 2-(1-(4-brom-2-fluorophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$) $_2$]propan-2-ol.



Magie đã được làm khô trong lò sấy (86 mg, 3,52mmol) và dietyl ete khan (3,20 mL) được chuyển vào bình đáy tròn 14/20 dung tích 25 mL đã được làm khô trong lò sấy trong môi trường argon. [$^{13}\text{CD}_3$]-Iodometan (467 mg, 3,20mmol) được bổ sung vào ở nhiệt độ trong phòng và được khuấy ở nhiệt độ 33°C trong thời gian 1 giờ. Các dấu hiệu trực quan cho biết rằng chất phản ứng Grignard đã tạo thành (huyền phù trong chuyển thành hỗn hợp đục với sự sủi bọt và tỏa nhiệt). Dung dịch này được làm lạnh đến nhiệt độ trong phòng và được chuyển qua ống thông vào dung dịch lạnh (bể nước đá/nước) chứa etyl 1-(4-brom-2-fluorophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-cacboxylat (400 mg, 0,800mmol) trong điclotetan khan (2,60 mL) trong môi trường argon. Bình này, trong đó chất phản ứng Grignard được tạo ra được rửa bằng ete khan (2 x 400 μL) và được chuyển qua ống thông vào bình chứa etyl este. Hỗn hợp phản ứng này được làm ấm từ từ đến nhiệt độ trong phòng và được khuấy trong thời gian 1 giờ. Phân tích HPLC cho biết còn < 0,3% nguyên liệu. Hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C, được pha loãng bằng điclotetan khan (800 μL) và được dập tắt phản ứng bằng bổ sung cẩn thận, chậm dung dịch nước amoni clorua (8 mL). Hai lớp được tách ra, và lớp nước được chiết bằng điclotetan (3 x 4 mL). Các phần chiết hữu cơ kết hợp được cô *trong chân không* để thu được 443,5 mg sản phẩm thô dưới dạng chất rắn màu trắng. Sản phẩm thô đã mô tả ở trên được kết hợp với 244,3 mg (chất rắn màu trắng) thu được từ phản ứng tương tự. Sản phẩm kết hợp được tinh chế bằng silicagel sắc ký nhanh (Isco RediSep cartridge, 12 g) và được rửa giải bằng dung dịch từ 10 đến 20% EtOAc trong hexan. Phân đoạn 30 mL được thu gom. Phân đoạn này được kiểm tra bằng TLC (Silica, 50% EtOAc, 50% hexan, R_f = 0,41) và HPLC. Phân đoạn chứa sản phẩm tinh khiết được kết hợp và được cô *trong chân không* để tạo ra 531,2 mg sản phẩm dưới dạng chất rắn màu trắng (hiệu suất 90%): $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ ppm: 6,47–7,58(m, 7H), 2,01(br s, 6H). HPLC: (YMC ODS-AQ, 3 μm , 150 x 4,6 mm, Pha động A = 0,05% TFA trong H_2O , Pha động B = 0,05% TFA trong ACN, 0 phút 50% B, 9 phút 95% B, 15 phút 95% B, 15,5 phút 50%B. Tốc độ dòng = 1 ml

/phút) $T_r = 9,23$ phút (ở 220 nm, độ tinh khiết hoá học = 98,8%), LCMS (+ ion) $m/z = 487(0\%), 493(59\%), 495(100\%), 497(47\%), 498(8\%)$.

Điều chế 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol



Bình đáy tròn 14/20 dung tích 25 mL trong môi trường argon được bổ sung 2-(1-(4-brom-2-flophenyl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol (0,283 g, 0,572mmol), (2-flo-6-(metylsulfonyl)-4-(4,4,5,5-tetrametyl-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)phenyl)metanol (0,227 g, 0,686mmol), phức chất 1,1'-Bis(điphenylphosphino)-feroxen-paladi(II)điclorua điclometan (0,094 g, 0,114mmol), kali cacbonat (0,237g, 1,716mmol), DME (4,30 ml) và nước (0,215 ml) trước đó đã được sục argon. Hỗn hợp này được đun nóng đến 80°C trong thời gian 1 giờ. Phân tích HPLC và LCMS cho biết rằng nguyên liệu đã được tiêu thụ. Hỗn hợp phản ứng này được làm lạnh bằng bể nước đá-nước, được phân bố giữa điclometan (10 mL) và nước (10 mL). Lớp nước được chiết bằng điclometan (3 x 10 mL). Các phần chiết hữu cơ kết hợp được cô trong chân không để tạo ra 643,6 mg dưới dạng chất bán rắn sẫm màu.

Như trên, phản ứng tương tự để điều chế 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol được hoàn thành để tạo ra 462,3 mg chất rắn sẫm màu. Các sản phẩm thô từ cả hai thử nghiệm được kết hợp và tinh chế bằng sắc ký nhanh silicagel (Isco RediSep cartridge, 80 g) sau khi hoà tan trong điclometan và hấp thụ sơ bộ trên silicagel. Cột nhanh được rửa giải bằng dung dịch 25-50% EtOAc trong hexan. Phân đoạn 30 mL được thu gom. Phân đoạn này được kiểm tra bằng TLC (Silica, 50% EtOAc, 50% hexan, $R_f = 0,09$) và HPLC trước khi kết hợp phân đoạn chứa sản phẩm tinh khiết và cô trong chân không để tạo ra 468,3 mg 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol dưới dạng chất rắn màu vàng.

Chất này được tinh chế thêm bằng cách tái kết tinh trong axeton (4 mL) ở nhiệt độ 65°C, được làm lạnh từ từ đến 25°C trong thời gian 5 giờ (các tinh thể bắt đầu tạo ra ở nhiệt độ 40°C) sau đó được làm lạnh đến 0°C thêm 30 phút. Chất rắn được thu gom bằng cách lọc, được rửa bằng lạnh axeton và được làm khô trong chân không để tạo ra 66,2 mg hợp chất đề mục dưới dạng chất rắn màu trắng nhò.

Nước cái từ bước tái kết tinh thứ nhất này được cô và phần cặn được kết tinh lại từ lượng tối thiểu axeton (1 mL) bằng cách sử dụng phương pháp như nêu trên để thu được lần thu thứ hai 276,4 mg sản phẩm tinh thể dưới dạng chất rắn màu trắng nhờ.

Nước cái từ lần tái kết tinh thứ hai được cô và tinh chế bằng cách HPLC điều chế, $T_r = 15,0$ phút (các điều kiện HPLC điều chế: cột Synergi Hydro-RP, 4 μ , 80Å, 21,2 x 250 mm, Pha động A = H₂O, Pha động B = ACN, 0 phút 30% B, 25 phút 100% B. Tốc độ dòng = 16,0 ml /phút. UV ở 220 nm.)

Sản phẩm tinh chế thu được sau 3 lần kết tinh này được kết hợp để tạo ra 401,1 mg 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl) [(¹³CD₃)₂]propan-2-ol dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (hiệu suất 64%). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 7,86–7,96(m, 2H), 7,62 (dd, J=11,33 Hz, 2,01 Hz, 1H), 7,33(dd, J=8,31 Hz, 1,76 Hz, 1H), 7,09–7,19(m, 3H), 6,99–7,09(m, 1H), 6,81(s, 1H), 5,53–5,62(m, 1H), 4,89–4,99(m, 2H), 4,67(t, J=3,15 Hz, 1H), 3,45 (s, 3H), 2,08 (axeton còn lại, 8%mol), 1,95(s, 6H). ¹³C-NMR (400 MHz, D₆-DMSO) 29,61(t, J=109,88 Hz)

HPLC: (YMC ODS-AQ, 3 μ m, 150 x 4,6 mm, Pha động A = 0,05% TFA trong H₂O, Pha động B = 0,05% TFA trong ACN, 0 phút 50% B, 9 phút 95% B, 15 phút 95% B, 15,5 phút 50% B. Tốc độ dòng = 1 ml /phút) $T_r = 9,66$ phút (ở 220 nm, Độ tinh khiết hoá học = 99,8%). LCMS (+ ion) m/z = 609(0%), 617(100%), 618(31%), 619(74%), 620(22%), 621(16%), 622(4,3%), 623(1,3%).

Các ví dụ 11-20

Các hợp chất sau được tạo ra theo cách tương tự với cách đã được mô tả trong Ví dụ 1, chỉ khác là sử dụng các chất phản ứng phenyl axetonitril khác nhau thay cho nguyên liệu là 2-(phenyl)-2-methylpropanitril:

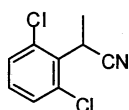
Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
11	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 581,3, 583,3 [M+H] ⁺

Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
12	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(triflometyl)benzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 581,3 [M+H] ⁺
13	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-clo-4-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 581,3, 583,3[M+H] ⁺
14	2-(2-(2-clo-4-flobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 565,3 [M+H] ⁺
15	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 563,2, 565,2 [M+H] ⁺
16	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 531,2 [M+H] ⁺

Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
17	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-metylbenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 509,5 [M+H] ⁺ ; 531,2 [M+Na] ⁺
18	2-(2-(2,6-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol		MS (ES): 586,5 [M+H] ⁺
19	2-[2-(2-clo-5-flo-benzyl)-1-(3'-flo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol		MS (ES): 547,3 [M+H] ⁺
20	2-[2-(2-clo-benzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol		MS (ES): 547,3 [M+H] ⁺

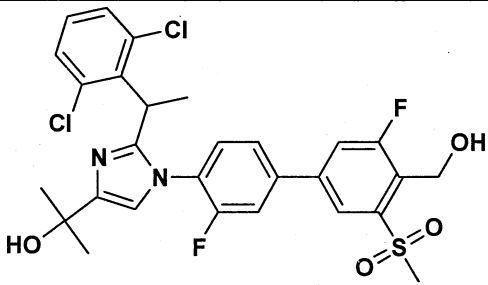
Ví dụ 21

Ví dụ về Hợp chất 21



Bình dung tích 1L chứa 25,0 g (134mmol) 2,6-điclophenylaxetonitril và 250 mL THF khan. Dung dịch thu được được làm lạnh đến -70°C và 134 mL dung dịch kali *tert*-butoxit 1,0 M (1,0 M) trong THF được bổ sung vào, tiếp đó là 8,4 mL iodometan (1,0 đương lượng). Phản ứng được khuấy ở nhiệt độ -70°C trong 1 giờ, sau đó được làm ấm lên tới nhiệt độ trong phòng trong thời gian 3 giờ. Hỗn hợp phản ứng được cô trong chân không để loại bỏ THF, sau đó được rửa trong phễu chiết bằng ethyl axetat và dung dịch HCl 1M. Ethyl axetat được tách ra, được rửa bằng bisulfit, nước muối, được làm khô (Na_2SO_4), và được cô trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng silicagel sắc ký nhanh (Biotage, 300 g SiO_2 , gradien rửa giải từ 100% hexan đến 10% ethyl axetat trong thời gian 1 giờ). Phân đoạn thích hợp được kết hợp và được cô trong chân không để thu được sản phẩm mong muốn dưới dạng dầu không màu, theo GC độ tinh khiết $\sim 99\%$, thu được: 12,2 g (45%). ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,36(d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,22(t, $J = 8$ Hz, 1H), 4,84(q, $J = 7$ Hz, 1H), 1,07(d, $J = 7$ Hz, 3H).

Hợp chất 21 được tạo ra theo cách tương tự với cách đã được mô tả trong Ví dụ 1 bằng cách sử dụng anilin thích hợp và 2-(phenyl)propanitril dưới dạng nguyên liệu.

Số	Tên hợp chất	Cấu trúc	Dữ liệu
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-diflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol		

Hợp chất 11 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, $J = 1,2$, 1H), 7,59 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,47 – 7,37 (m, 2H), 7,24 (dd, $J = 5,3$, 3,2, 2H), 7,13 (dd, $J = 8,3$, 2,1, 1H), 7,05 (d, $J = 8,4$, 1H), 6,89 (s, 1H), 5,10 (d, $J = 4,4$, 2H), 4,09 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 (d, $J = 17,4$, 1H), 2,86 (s, 1H), 1,63 (s, 6H).

Hợp chất 12 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,06 (d, $J = 8,7$, 2H), 7,99 – 7,86 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 8,3$, 1H), 7,58 (m, 3H), 7,40 (t, $J = 7,6$, 1H), 7,21 (d, $J = 7,7$, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,57 (t, $J = 5,3$, 1H), 4,95 (d, $J = 4,7$, 2H), 4,81 (s, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,45 (s, 3H), 1,46 (s, 6H).

Hợp chất 13 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 2,0$, 1H), 7,60 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,49 (dd, $J = 8,2$, 2,1, 1H), 7,22 (d, $J = 8,2$, 1H), 7,12 (dd, $J = 8,6$, 6,1, 1H), 6,96 (dd, $J = 8,5$, 2,6, 1H), 6,89 – 6,78 (m, 2H), 5,10 (s, 2H), 4,05 (s, 2H), 3,31 (s, 3H), 3,00 (s, 1H), 2,77 (s, 1H), 1,63 (2, $J = 5,5$, 6H).

Hợp chất 14 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7,85 (t, $J = 4,5$, 2H), 7,70 (dd, $J = 11,4$, 1,8, 1H), 7,50 (dd, $J = 8,3$, 1,7, 1H), 7,35 (t, $J = 8,2$, 1H), 7,09 (dd, $J = 8,8$, 2,6, 1H), 7,03 – 6,80 (m, 3H), 5,35 (t, $J = 5,3$, 1H), 4,73 (d, $J = 4,1$, 2H), 4,56 (s, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,38 (t, $J = 6,4$, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,21 (s, 6H).

Hợp chất 15 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, $J = 1,2$, 1H), 7,72 – 7,53 (m, 3H), 7,28 (dd, $J = 18,0$, 4,9, 5H), 7,15 (dd, $J = 8,3$, 2,1, 1H), 7,05 (d, $J = 8,4$, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,12 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,28 (s, 1H), 2,93 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

Hợp chất 16 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,09 (s, 1H), 7,60 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,39 (m, 2H), 7,23 (t, $J = 8$, 1H), 7,18 – 7,06 (m, 2H), 7,00 (m, 1H), 6,89 – 6,81 (m, 2H), 5,10 (dd, $J = 7,0$, 1,6, 2H), 4,06 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,92 (t, $J = 7,0$, 1H), 2,70 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

Hợp chất 17 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (s, 1H), 7,64 – 7,55 (m, 3H), 7,25 (m, 2H), 7,16 – 7,00 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 6,81 (d, $J = 7,5$, 1H), 5,08 (dd, $J = 7,1$, 1,7, 2H), 4,02 (s, 2H), 3,28 (s, 3H), 2,90 (t, $J = 7,1$, 1H), 2,76 (s, 1H), 2,16 (d, $J = 8,6$, 3H), 1,64 (s, 6H).

Hợp chất 18 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,12 (s, 1H), 7,70 – 7,59 (m, 3H), 7,45 (d, $J = 8,4$, 2H), 7,24 (d, $J = 8,0$, 2H), 7,16 – 7,07 (m, 1H), 6,85 (s, 1H), 5,10 (d, $J = 5,6$, 2H), 4,31 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,07 (s, 1H), 2,94 (t, $J = 7,0$, 1H), 1,55 (s, 6H).

Hợp chất 19 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, $J = 1,1$, 1H), 7,62 (ddd, $J = 12,0$, 8,4, 1,8, 3H), 7,28–7,26 (m, 3H), 6,97 (s, 1H), 6,93 – 6,76 (m, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (s, 2H), 3,29 (br s, 4H), 2,91 (s, 1H), 1,65 (s, 6H).

Hợp chất 20 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,08 (d, $J = 1,1$, 1H), 7,57 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,38 (ddd, $J = 10,3$, 9,2, 2,0, 2H), 7,23 – 7,17 (m, 2H), 7,18 – 7,01 (m, 3H), 6,89 (d, $J = 0,7$, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (s, 2H), 3,37 (s, 1H), 3,30 (s, 3H), 2,92 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

Hợp chất 21 có các đặc tính NMR sau: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,97 (s, 1H), 7,47 (dd, $J = 9,8$, 1,6, 1H), 7,18 (d, $J = 10,6$, 1H), 7,12 – 7,04 (m, 2H), 6,96 (d, $J = 7,9$, 2H), 6,90 – 6,81 (m, 1H), 6,79 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,94 (q, $J = 7,0$, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,39 (d, $J = 24,5$, 1H), 3,36 (s, 3H), 1,81 (d, $J = 7,1$, 3H), 1,63 (s, 6H).

Các phương pháp sinh lý, dược lý và hóa sinh chuẩn là sẵn có để các hợp chất thử nghiệm để xác định xem chúng có hoạt tính sinh học để điều biến hoạt tính của LXR (LXR_α và LXR_β). Các thử nghiệm này bao gồm, ví dụ, các thử nghiệm hóa sinh như các thử nghiệm gắn kết, thử nghiệm phân cực huỳnh quang, thử nghiệm tuyển các yếu tố đồng hoạt hóa dựa trên kỹ thuật FRET (xem, nói chung, Glickman et al., J. Biomolecular Screening (2002), Vol. 7, No. 1, pp. 3-10), cũng như thử nghiệm

trên cơ sở tế bào bao gồm thử nghiệm đồng chuyển nhiễm, sử dụng các thể khảm LBD-Gal 4 và các thử nghiệm tương tác protein-protein, (xem, Lehmann. et al., J. Biol Chem. (1997), Vol. 272, No. 6, pp. 3137-3140).

Các hợp chất theo sáng chế có các ưu điểm ngoài mong đợi so với các hợp chất đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, như các hợp chất đã bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO 2007/002563. Các hợp chất này đã thể hiện trong các thử nghiệm, như các thử nghiệm được mô tả dưới đây, có đặc tính chủ vận LXR một phần mong muốn với hiệu lực tăng trong máu toàn phần ở người và hiệu quả LXR α thấp. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế cũng có độ ổn định chuyển hóa trong thử nghiệm tiêu thể gan người. Các hợp chất này là hữu ích hơn trong việc điều trị, ức chế hoặc làm thuyên giảm một hoặc nhiều bệnh hoặc rối loạn được bàn luận trong bản mô tả này.

Ví dụ A

Thử nghiệm cận nhấp nháy (SPA)

Thử nghiệm SPA xác định tín hiệu phóng xạ được tạo ra bởi sự gắn kết ^3H -24,25-epoxycholesterol với các heterodime LXR α -RXR α hoặc LXR β -RXR α . Cơ sở của thử nghiệm là sử dụng các hạt SPA chứa chất nhấp nháy, sao cho khi gắn kết với thụ thể mang phôi tử đã được đánh dấu vào sát với hạt, thì năng lượng từ lượng chất đánh dấu kích thích chất nhấp nháy phát sáng. Ánh sáng được đo bằng cách sử dụng thiết bị đọc nhấp nháy vi đĩa tiêu chuẩn. Khả năng của phôi tử gắn kết với thụ thể có thể đo được bằng cách đánh giá mức độ mà các hợp chất có thể cạnh tranh với phôi tử được đánh dấu phóng xạ với ái lực đã biết đối với thụ thể.

Các nguyên liệu cần thiết:

1. Chất đánh dấu: ^3H -24,25-epoxy-cholesterol (NEN Life Science Products/Perkin Elemer))
2. Dịch tan LXR α : Baculovirut biểu hiện cả hai heterodime LXR α /RXR với chất đánh dấu 6-H được tạo ra dưới dạng dịch tan thô
3. Dịch tan LXR β : Baculovirut biểu hiện cả hai heterodime LXR β /RXR với chất đánh dấu 6-HIS được sản xuất dưới dạng dịch tan thô
4. Hạt SPA: Các hạt Ysi đồng SPA His-tag (Amersham)
5. Các đĩa: Đĩa có 384 lỗ bề mặt không gắn kết (Corning)
6. Dung dịch đệm pha loãng dịch tan protein : (20 mM Tris-HCl pH 7,9, 500 mM NaCl, 5 mM Imidazol).
7. Dung dịch đệm 2x SPA: (40 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄ pH7,3, 100 mM NaCl, 0,05% Tween 20, 20% Glyxerol, 4 mM EDTA)
8. Dung dịch đệm 2x SPA w/o EDTA: (40 mM K₂HPO₄/KH₂PO₄ pH7,3, 100mM NaCl, 0,05% Tween 20, 20% Glyxerol)

Các dung dịch gốc

0,5 M K_2HPO_4/KH_2PO_4 pH=7,3

0,5 M EDTA pH=8,0

5 M NaCl

10% Tween-20

Glyxerol

Điều chế dịch tan protein

Các plasmit biểu hiện Baculovirut đối với người RXR α (số nộp lưu NM_002957), LXR α (số nộp lưu U22662), và LXR β (số nộp lưu U07132) được tạo ra bằng cách tách dòng ADN bổ trợ có chiều dài đầy đủ thích hợp vào vector pBacPakhis2 (Clontech, CA) sau khi tiến hành các phương pháp chuẩn. Việc chèn ADN bổ trợ vào polylinker vector pBacPakhis2 đã tạo ra dung hợp khung giữa ADN bổ trợ với chất đánh dấu poly-His đầu tận N có mặt trong pBacPakhis1. Việc tách dòng chính xác được xác nhận bằng cách lập bản đồ giới hạn, và/hoặc xác định trình tự.

Dịch tan tế bào được chuẩn bị bằng cách gây nhiễm các tế bào côn trùng Sf9 khỏe mạnh với mật độ khoảng $1,25 \times 10^6$ /ml ở nhiệt độ 27°C, với tổng thể tích bằng 500 mL cho mỗi bình nuôi xoay cỡ 1L, được nuôi cấy trong các điều kiện tiêu chuẩn. Để điều chế dịch tan LXR α , các tế bào côn trùng được đồng chuyển nhiễm với catxet biểu hiện LXR α ở M.O.I. bằng 2,0 và với catxet biểu hiện RXR ở M.O.I. bằng khoảng 1,0. Để điều chế dịch tan LXR β , các tế bào côn trùng được đồng chuyển nhiễm với catxet biểu hiện LXR β ở M.O.I. bằng khoảng 2,0 và với catxet biểu hiện RXR ở M.O.I. bằng khoảng 1,0. Trong cả hai trường hợp, các tế bào được ủ trong thời gian 48 giờ ở nhiệt độ 27°C với việc lắc không đổi trước khi thu hoạch.

Sau khi ủ, các tế bào được thu hoạch bằng cách ly tâm và tạo viên. Các viên tế bào được tái tạo huyền phù trong hai thể tích dung dịch đệm chiết mới được điều chế được làm lạnh bằng nước đá (20mM Tris pH=8,0, 10mM Imidazol, 400mM NaCl, chứa một viên nén chất ức chế proteaza không chứa EDTA (Roche Catalog No: 1836170) cho mỗi 10 ml dung dịch đệm chiết).

Các tế bào được làm đồng nhất từ từ trên nước đá bằng cách sử dụng thiết bị đồng nhất hóa Dounce để đạt được mức độ phân giải tế bào 80-90%. Dịch đồng nhất được ly tâm trong rôto đã được làm lạnh sơ bộ (Ti50 hoặc Ti70, hoặc tương đương) ở tốc độ 45,000 vòng/phút trong thời gian 30 phút ở nhiệt độ 4°C. Các phần nhỏ dịch nổi trên bề mặt được làm đông lạnh trên băng khô và được bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ -80°C đến khi kiểm soát được số lượng và chất lượng. Các phần nhỏ dịch tan được thử nghiệm trong thử nghiệm SPA để đảm bảo tính nhất quán giữa các mẻ từ mẻ, và bằng cách phân tích SDS-PAGE sau khi tinh chế bằng cách sử dụng nhựa Ni-NTA (Qiagen) và được điều chỉnh đối với nồng độ protein và mức độ biểu hiện trước khi sử dụng trong các thử nghiệm sàng lọc.

Điều chế các chất phản ứng sàng lọc

Dung dịch [^3H] 24,25 Epoxycholesterol (EC): Đối với đĩa đơn có 384 lỗ (hoặc 400 lỗ), 21 μL [^3H] EC (hoạt tính đặc hiệu 76,5 Ci/mmol, nồng độ 3,2 mCi/mL) được bổ sung vào 4,4 mL chất đệm 2x SPA để tạo ra nồng độ cuối bằng 200 nM. Đối với mỗi đĩa có 384 lỗ bổ sung, 19,1 μL [^3H] EC nữa được bổ sung vào 4,0 mL chất đệm 2x SPA bổ sung. Nồng độ cuối của [^3H] EC trong lỗ là 50 nM.

Dịch tan LXR $_{\alpha}$ (được điều chế như trên) được pha loãng bằng dung dịch đệm pha loãng dịch tan protein. 1400 μL dịch tan LXR $_{\alpha}$ đã được pha loãng được điều chế cho mỗi đĩa có 384 lỗ, (hoặc 200 lỗ) và 1120 μL dịch tan LXR $_{\alpha}$ đã được pha loãng được điều chế đối với mỗi đĩa có 384 lỗ bổ sung.

Dịch tan LXR $_{\beta}$ (được điều chế như trên) được pha loãng bằng dung dịch đệm pha loãng dịch tan protein. 1400 μL dịch tan LXR $_{\beta}$ được pha loãng được điều chế per đĩa có 384 lỗ, (hoặc 200 lỗ) và 1120 μL dịch tan LXR $_{\beta}$ pha loãng được điều chế đối với mỗi đĩa có 384 lỗ bổ sung.

Dung dịch chứa hạt SPA : Đối với đĩa có 384 lỗ (hoặc 400 lỗ), 3,75 mL chất đệm 2x SPA w/o EDTA, 2,25 mL H $_2\text{O}$, và 1,5 mL hạt Ysi His-tag SPA (tạo xoáy lỗ trước khi tiến hành) được trộn cùng với nhau. Đối với mỗi đĩa có 384 lỗ bổ sung đĩa, thêm 3,5 mL chất đệm 2x SPA w/o EDTA, 2,1 mL H $_2\text{O}$, và 1,4 mL hạt Ysi His-tag SPA được trộn cùng với nhau.

Quy trình:

Các dung dịch pha loãng thích hợp của mỗi hợp chất được chuẩn bị và được bổ sung từng giọt vào các lỗ thích hợp của đĩa có 384 lỗ với 3,5 ml mỗi lỗ bằng pipet.

9,1 μL [^3H] EC được bổ sung vào mỗi lỗ trên hàng 2-23 của đĩa nhiều lỗ.

5 μL dịch tan LXR $_{\alpha}$ loãng được bổ sung vào mỗi lỗ trên hàng 2-23 trên các dãy lẻ của đĩa nhiều lỗ.

5 μL dịch tan LXR $_{\beta}$ loãng được bổ sung vào mỗi lỗ trên hàng 2-23 trên các dãy chẵn của đĩa nhiều lỗ.

17,5 μL dung dịch hạt SPA được bổ sung vào mỗi lỗ trên hàng 2-23 của đĩa nhiều lỗ.

Đĩa này được phủ bằng nắp đậy trong suốt và được đặt trong máy ủ ở nhiệt độ môi trường trong thời gian khoảng 30 phút.

Sau khi ủ, các đĩa được phân tích bằng cách sử dụng đầu đọc đĩa quang (MicroBeta, Wallac) bằng cách sử dụng chương trình n ABASE 3H_384DPM. Chế độ cài đặt đối với n ABASE 3H_384DPM là như sau:

Phương pháp đếm: DPM;

Loại mẫu : SPA;

Kiểu ParaLux: nền thấp;

Thời gian đếm: 30 giây.

Các thử nghiệm đối với LXR $_{\alpha}$ và LXR $_{\beta}$ được tiến hành theo cách giống hệt. Giá trị Ki xác định được là giá trị trung bình của ít nhất hai thử nghiệm đáp ứng liều lượng độc lập. Ái lực gắn kết của mỗi hợp chất có thể được xác định bằng phân tích hồi quy phi tuyến tính bằng cách sử dụng công thức cạnh tranh một vị trí để xác định IC $_{50}$, trong đó:

$$Y = \text{Giá trị đáy} + (\text{Giá trị đỉnh} - \text{Giá trị đáy}) / (1 + 10^{X - \log \text{IC}_{50}}).$$

The Ki được tính toán bằng cách sử dụng phương trình Cheng và Prusoff, trong đó:

$$K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{Nồng độ của Phối tử}] / K_d \text{ của Phối tử}).$$

Đối với thử nghiệm này, thông thường nồng độ của phối tử = 50 nM và Kd của EC đối với thụ thể là 200 nM như được xác định bằng mức liên kết bão hòa.

Các hợp chất theo sáng chế được chứng minh là có khả năng gắn kết với LXR $_{\alpha}$ và/hoặc LXR $_{\beta}$ khi được thử nghiệm trong thử nghiệm này.

Ví dụ B

Thử nghiệm đồng chuyển nhiễm

Để đánh giá khả năng của các hợp chất hoạt hóa hoặc ức chế hoạt tính phiên mã của LXR trong thử nghiệm trên cơ sở tế bào, thử nghiệm đồng chuyển nhiễm được sử dụng. Đã thấy rằng LXR có chức năng như heterodime với RXR. Đối với thử nghiệm đồng chuyển nhiễm, các plasmit biểu hiện đối với LXR $_{\alpha}$ và LXR $_{\beta}$ được đưa vào một cách riêng rẽ qua sự chuyển nhiễm tạm thời trong các tế bào động vật cùng với plasmit thông tin luxiferaza chứa một bản sao của trình tự AND được gắn kết bởi heterodime LXR-RXR (*LXRE*; Willy, P. *et. al.* 1995). LXR heterodime hóa bằng RXR nội sinh. Việc xử lý các tế bào chuyển nhiễm bằng chất chủ vận LXR làm tăng hoạt tính phiên mã của LXR, được đo bằng mức tăng hoạt tính luxiferaza. Tương tự, hoạt tính đối kháng LXR có thể đo được bằng cách xác định khả năng của hợp chất để ức chế cạnh tranh hoạt tính của chất chủ vận LXR.

Các nguyên liệu cần thiết

Các tế bào thận khí xanh châu Phi CV-1

Các plasmit biểu hiện đồng chuyển nhiễm, bao gồm LXR $_{\alpha}$ có chiều dài đầy đủ (pCMX-h LXR $_{\alpha}$ hoặc LXR $_{\beta}$ (pCMX-hLXR $_{\beta}$), plasmit thông tin (LXREx1-Tk-Luxiferaza), và plasmit đối chứng (vector biểu hiện pCMX-Galactosidase) (Willey *et al.* Genes & Development 9 1033-1045 (1995)).

Chất phản ứng chuyển nhiễm như FuGENE6 (Roche).

1x dung dịch đệm phân giải tế bào:

22,4 mM Trixin pH=8,0

0,56 mM EGTA pH=8,0

5,6 mM MgSO $_4$

0,6% Triton X-100

5,6% glyxerol
 10x dung dịch chất nền luxiferaza :
 10 mM HEPES pH=6,5
 2,75 mM D-Luciferin
 0,75 mM Coenzyme-A
 3,7 mM ATP
 96 mM DTT

Điều chế các chất phản ứng sàng lọc

Các tế bào CV-1 đã được điều chế 24 giờ trước khi thử nghiệm bằng cách để chúng vào trong bình cầu T-175 hoặc các đĩa 500 cm² để đạt được mức độ nhập dòng 70-80% vào ngày chuyển nhiễm. Số các tế bào được chuyển nhiễm được xác định bằng số đĩa cần được sàng lọc. Mỗi lỗ của đĩa có 384 lỗ cần đến ~8000 tế bào. Chất phản ứng chuyển nhiễm ADN được điều chế bằng cách trộn các ADN plasmit cần thiết với chất phản ứng chuyển nhiễm lipit cation FuGENE6 (Roche) theo các hướng dẫn sử dụng đối với các chất phản ứng này. Lượng ADN tối ưu được xác định theo kinh nghiệm cho mỗi dòng tế bào và cỡ bình cần được chuyển nhiễm. Đối với mỗi bình cầu T175 cm², tổng số 20 mg ADN, 60 ml Fugen 6 và 1 ml Optimem được trộn và được bổ sung vào. Sau đó, các tế bào được ủ ít nhất 5 giờ ở nhiệt độ 37°C để tạo ra các tế bào sàng lọc.

Chất phản ứng thử nghiệm luxiferaza được chuẩn bị bằng cách trộn hợp chất trước khi sử dụng:

1 phần 10x dung dịch chất nền Luxiferaza
 9 phần 1X dung dịch đệm phân giải tế bào.

Quy trình

Các đĩa thử nghiệm được chuẩn bị bằng cách phân tán 5 µL hợp chất cho mỗi lỗ của đĩa có 384 lỗ để đạt được nồng độ cuối của hợp chất bằng 10 µM và không quá 0,5% DMSO. Môi trường được lấy ra khỏi các tế bào sàng lọc, các tế bào được trypsin hóa, các tế bào thu hoạch bằng cách ly tâm, đếm, và cho vào đĩa với mật độ khoảng 8000 tế bào cho mỗi lỗ trong đĩa thử nghiệm có 384 lỗ được điều chế trên đây với thể tích khoảng 45 µL. Các đĩa thử nghiệm chứa cả hai hợp chất và các tế bào sàng lọc (50 µL trong tổng thể tích) được ủ trong thời gian 20 giờ ở nhiệt độ 37°C.

Sau khi ủ với các hợp chất, môi trường được lấy ra khỏi các tế bào và chất phản ứng thử nghiệm luxiferaza (30 µL/lỗ) được bổ sung vào. Sau ~2 phút ở nhiệt độ môi trường này, đĩa thử nghiệm được đọc trên quang kế phát quang (Thiết bị đọc PE Biosystems Northstar có các kim phun lắp kèm, hoặc loại tương đương).

Thử nghiệm đồng chuyển nhiễm LXR/LXRE có thể được sử dụng để thiết lập các giá trị EC₅₀/IC₅₀ đối với hiệu lực và phần trăm hoạt tính hoặc ức chế hiệu quả.

Hiệu quả được xác định là hoạt tính của hợp chất so với mẫu đối chứng cao ((*N*-(3-((4-flophenyl)-(naphtalen-2-sulfonyl)amino)propyl)-2,2-đimetylpropionamit)) hoặc mẫu đối chứng thấp (DMSO/chất dẫn thuốc). Các đường cong đáp ứng liều lượng được tạo ra từ đường cong 10 điểm với các nồng độ khác nhau với các nồng độ tính theo LOG1/2. Mỗi điểm biểu diễn trị số trung bình của 4 lỗ của dữ liệu lấy từ đĩa có 384 lỗ.

Dữ liệu từ thử nghiệm này đáp ứng với phương trình dưới đây, từ đó có thể tính được giá trị EC₅₀:

$$Y = \text{Giá trị đáy} + (\text{Giá trị đỉnh} - \text{Giá trị đáy}) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - X) * \text{HillSlope})}).$$

Do đó, giá trị EC₅₀/IC₅₀ được xác định là nồng độ mà ở đó chất chủ vận hoặc chất đối kháng gây ra đáp ứng ở khoảng giữa giá trị đỉnh (tối đa) và giá trị đáy (đường nền). Các giá trị EC₅₀/IC₅₀ được thể hiện là các giá trị trung bình của ít nhất 2 và thông thường là 3 thử nghiệm độc lập. Việc xác định hiệu quả tương đối hoặc % mức đối chứng đối với chất chủ vận là bằng cách so sánh với đáp ứng tối đa đạt được bởi ((*N*-(3-((4-flophenyl)-(naphtalen-2-sulfonyl)-amino)propyl)-2,2-đimetylpropionamit) mà được đo riêng biệt trong mỗi thử nghiệm đáp ứng liều lượng.

Đối với thử nghiệm đối kháng, chất chủ vận LXR có thể được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa có 384 lỗ để gây ra đáp ứng. Do đó, % ức chế đối với mỗi chất đối kháng là trị số đo về sự ức chế hoạt tính của chất chủ vận. Trong ví dụ này, 100% ức chế sẽ biểu thị rằng hoạt tính của nồng độ đặc hiệu của chất chủ vận LXR được giảm đến các mức đường nền, đã được xác định là hoạt tính của thử nghiệm với sự có mặt của một mình hợp chất DMSO.

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm trong thử nghiệm LXR α được mô tả trên đây và được thể hiện là có hiệu quả nhỏ hơn hoặc bằng 25% của hợp chất đối chứng.

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm trong thử nghiệm LXR β được mô tả trên đây và được thể hiện là có hiệu quả lớn hơn hoặc bằng 30% của hợp chất đối chứng.

Ví dụ C

Thử nghiệm máu toàn phần ở người

Máu toàn phần ở người được thu gom trong ống chứa EDTA và các phần nhỏ 0,5 mL ngay lập tức được trộn trong khối có 96 lỗ với dung dịch hợp chất thử nghiệm có nồng độ đã được pha loãng theo dãy thích hợp trong 0,5% DMSO. Các hợp chất được ủ với máu ở nhiệt độ 37°C trong khi lắc không thay đổi trong thời gian 4 giờ. Sau khi ủ, các tế bào này được phân giải trong dung dịch phân giải tinh chế axit nucleic ABI (Applied Biosystems catalog # 4305895) và được làm đông lạnh ở nhiệt độ -80°C. Sau khi phân giải tế bào, tổng ARN được tinh chế bằng cách sử dụng ABI 6100 ARN prep station theo quy trình do nhà sản xuất cung cấp. ADN hỗ trợ được tổng hợp, và ARN thông tin được định lượng bằng cách sử dụng

SYBR_Green Quantitative PCR (Q-PCR) trên hệ thống phát hiện trình tự ABI Prism 7900HT và các chất phản ứng từ Quanta Bioscience Inc (Quanta Bioscience catalog # 95047 và 95055).

Bảng 2.1: Các đoạn mồi được sử dụng để định lượng ARN thông tin bằng RT-PCR		
Gen	Đoạn mồi xuôi	Đoạn mồi ngược
ABCA1	GGTGATGTTTCTGACCAATGTGA	TGTCCTCATACCAAGTTGAGAGAC
ABCG1	GACTGCGTGTCTGCAAAATC	GATGGGGGCATGATGACAATG
L-30	GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG	CCAATTTTCGCTTTGCCTTGTC
B2M	GGCTATCCAGCGTACTCCAAA	CGGCAGGCATACTCATCTTTTT

Giá trị của mồi ARN thông tin được xác định bằng phương pháp $\Delta\Delta CT$ (Michael W. Pfaffl. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 2001, Vol. 29, No. 9 e45) và được chuẩn hóa đến giá trị của hai ARN thông tin đối chứng, tức là protein ribosom L-30 (L-30) và beta-2-microglobulin (B2M). Mức độ cảm ứng của ABCA1 và ABCG1 bằng hợp chất thử nghiệm được lập đồ thị theo phần trăm hợp chất so sánh, axit 2-(4-(5-(5-xyano-1-(2,4-điflobenzyl)-6-oxo-4-(triflometyl)-1,6-đihydropyridin-2-yl)thiophen-2-yl)-3-metylphenyl)axetic, và hiệu lực (EC_{50}) và hoạt tính (% MAX) được tính toán bằng cách làm khớp với đường cong đáp ứng hình sigmoid theo log nồng độ hợp chất chuyển hóa bằng cách sử dụng phần mềm XLFit theo phương trình $y = A + ((B-A)/(1+((C/x)^D)))$. Chất chủ vận LXRA và LXRB toàn phần là axit 2-(4-(5-(5-xyano-1-(2,4-điflobenzyl)-6-oxo-4-(triflometyl)-1,6-đihydropyridin-2-yl)thiophen-2-yl)-3-metylphenyl)axetic, (EC_{50} 1-2 mM) được dùng làm hợp chất so sánh và hoạt tính tối đa của nó được xác định là 100%.

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm trong thử nghiệm nêu trên và được thể hiện là có hiệu lực nói chung nhỏ hơn 1,000 nM, tốt hơn là nhỏ hơn 100 nM, tốt hơn nữa là nhỏ hơn 20 nM.

Ví dụ D

Độ ổn định chuyển hóa năng suất cao (HT) ở các vi thể người

Thử nghiệm độ ổn định chuyển hóa nhằm đánh giá độ ổn định chuyển hóa qua trung gian CYP *in vitro* bằng cách sử dụng các vi thể gan người sau 10 phút ủ.

Hợp chất thử nghiệm nhận được dưới dạng dung dịch gốc 3,5 mM trong 100 phần trăm DMSO. Hợp chất này được pha loãng để tạo ra dung dịch axetonitril 50 μ M (ACN) chứa 1,4% DMSO, sau đó dung dịch này được sử dụng dưới dạng 100x dung dịch gốc để ủ với các vi thể gan người. Mỗi hợp chất được thử nghiệm hai lần. Hợp chất, NADPH và các dung dịch vi thể gan được kết hợp để việc ủ trong ba bước:

1) 152 μ l huyền phù vi thể gan, nồng độ protein 1,1 mg/ml trong 100 mM NaP_i , độ pH=7,4, 5 mM chất đệm MgCl_2 , được làm ấm sơ bộ ở nhiệt độ 37°C.

2) 1,7 μ l hợp chất 50 μ M (98,6% ACN, 1,4% DMSO) được bổ sung vào ống này và được ủ sơ bộ ở nhiệt độ 37°C trong 5 phút.

3) Phản ứng được khơi mào bằng cách bổ sung 17 μ l dung dịch NADPH 10 mM đã được làm ấm sơ bộ trong 100 mM NaP_i , độ pH=7,4.

Các thành phần phản ứng được trộn kỹ, và 75 μ l ngay lập tức được chuyển vào 150 μ l dung dịch làm dừng/ngừng phản ứng (thời điểm 0, T_0). Các hỗn hợp phản ứng được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 10 phút và sau đó lượng nhỏ 75 μ l bổ sung được chuyển vào 150 μ l dung dịch làm dừng phản ứng. Axetonitril chứa 100 μ M DMN (chuẩn UV để tiêm chất đối chứng chất lượng), được dùng làm dung dịch làm dừng phản ứng để kết thúc các phản ứng chuyển hóa.

Các hỗn hợp phản ứng đã được làm dừng phản ứng được ly tâm ở tốc độ 1500 vòng/phút (~500 X g) trong máy ly tâm Allegra X-12, rôto SX4750 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) trong thời gian 15 phút để tạo viên các vi thể đã được làm biến chất. Thể tích 90 μ l phần chiết dịch nổi trên bề mặt, chứa hỗn hợp của hợp chất gốc và các chất chuyển hóa của nó, sau đó được chuyển tới đĩa riêng có 96 lỗ để phân tích UV-LC/MS-MS nhằm xác định phần trăm hợp chất gốc còn lại trong hỗn hợp.

Phân tích mẫu UV-LC/MS-MS - Phân tích sơ bộ tính nguyên vẹn cấu trúc

Việc phân tích sơ bộ tính nguyên vẹn cấu trúc ổn định chuyển hóa được sử dụng để đánh giá độ tinh khiết của các hợp chất được thử nghiệm. Các hợp chất nhận được trong đĩa có 96 lỗ là 57 μ l dung dịch DMSO 3,5 mM. Các dung dịch gốc chứa hợp chất DMSO 3,5 mM được pha loãng 18 lần bằng dung dịch chứa thể tích tương đương axetonitril, isopropanol, và MilliQ- H_2O . Các dung dịch thu được (200 μ M) được phân tích về tính nguyên vẹn cấu trúc bằng LC-UV/MS trên quang phổ kế khối lượng bẫy ion Thermo LCQ Deca XP Plus, bằng cách sử dụng cột Waters XBridge C18, 5 μ m, 2 x 50 mm với cột bảo vệ Waters Sentry 2.1 mm, và các điều kiện LC đã được mô tả trong bảng dưới đây, với việc tiêm 5 μ l và tốc độ dòng bằng 1 mL/phút. Dữ liệu thu được phản ánh độ tinh khiết bằng độ hấp phụ UV ở 220 nm. Chỉ các kết quả của các hợp chất có độ tinh khiết lớn hơn 50% mới được ghi nhận.

Độ ổn định chuyển hóa - Tính nguyên vẹn cấu trúc Gradient HPLC *		
Thời gian gradient (phút)	A%	B%
0,00	100	0

Độ ổn định chuyển hóa - Tính nguyên vẹn cấu trúc Gradient HPLC *		
4,00	0	100
5,00	0	100
5,10	100	0
6,00	100	0

*Pha động để phân tích sơ bộ tính nguyên vẹn cấu trúc: (A) 98% nước, 2% axetonitril với 10 mM amoni axetat; (B) 10% nước, 90% axetonitril với 10 mM amoni axetat

Phân tích mẫu - Mẫu được ủ

Việc tối ưu hoá các điều kiện MS/MS được tiến hành trên quang phổ kế khối lượng ba tứ cực Thermo TSQ Quantum được lắp với nguồn phun điện đã được đun nóng (H-ESI) bằng cách truyền tự động để có được sự chuyển tiếp SRM và các giá trị năng lượng va chạm tương ứng của chúng. Các dung dịch hợp chất nồng độ bằng 20 µM trong hỗn hợp metanol:nước theo tỷ lệ 1:1 được truyền ở tốc độ dòng 90 µL/phút, sau đó được kết hợp với pha động ở tốc độ dòng 50 µL/phút trước khi được đưa vào nguồn. Tất cả các hợp chất đều được tối ưu hóa trước tiên bằng cách sử dụng pha động A và B (50% A và 50% B), và nếu cần, sử dụng pha động C và D (cũng với hỗn hợp 50:50). Các thông số tối ưu hoá bao gồm độ phân cực, sự chuyển tiếp SRM và năng lượng va chạm, được lưu giữ trong dữ liệu Microsoft Access.

Các điều kiện đo phổ khối thu được từ sự truyền tự động được sử dụng để phân tích các mẫu ủ từ thử nghiệm độ ổn định chuyển hóa. Thể tích tiêm là 5 µl và tốc độ dòng là 0,8 mL/phút. Gradient được sử dụng được thể hiện trong bảng dưới đây. Tất cả các mẫu được phun với gradient bằng cách sử dụng pha động A và B trước tiên. Nếu cần (ví dụ, vì lý do sắc ký), các mẫu được phun lại với gradient giống hệt, nhưng sử dụng pha động C và D. Tất cả các thông số phân tích LC-MS/MS đều được lưu trên các file dữ liệu chưa xử lý.

Độ ổn định chuyển hóa - Mẫu Phân tích Gradient*		
Thời gian gradient (phút)	A% (hoặc C%)	B% (hoặc D%)
0,00	95	5
0,20	95	5
0,30	0	100

Độ ổn định chuyển hóa - Mẫu Phân tích Gradient*		
1,05	0	100
1,10	95	5
1,50	95	5

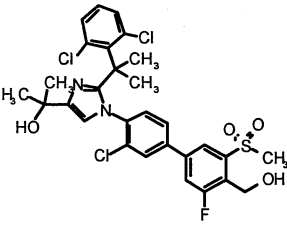
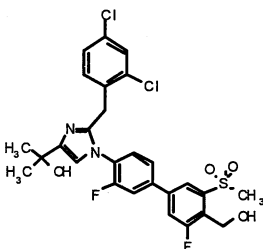
*Pha động đối với việc phân tích mẫu phản ứng: (A) 98% nước, 2% axetonitril với 0,1% axit formic ; (B) 2% nước, 98% axetonitril với 0,1% axit formic ; (C) 0,1% amoni hydroxit trong nước; (D) 0,1% amoni hydroxit trong axetonitril

Việc tích hợp pic được tiến hành với phần mềm Xcalibur™. Phân tích toán còn lại được tiến hành bằng cách so sánh diện tích pic LC-MS/MS từ các mẫu T_{10phút} với diện tích pic từ các mẫu T_{0phút} đối với mỗi hợp chất.

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm bằng thử nghiệm nêu trên và có lượng hợp chất gốc còn lại lớn hơn 80% ở thời điểm 10 phút.

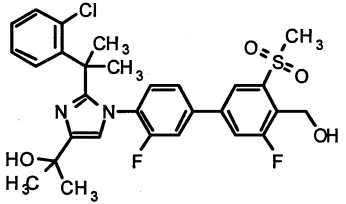
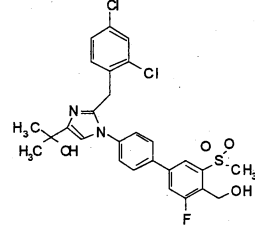
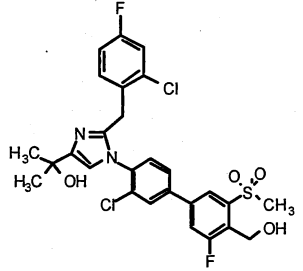
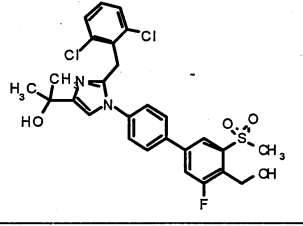
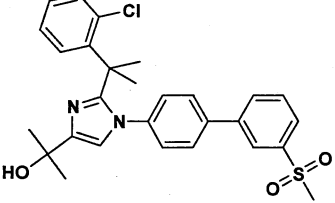
Bảng dưới đây 1 thể hiện các kết quả của thử nghiệm đồng chuyển nhiễm LXR/LXRE xác định mức EC₅₀ LXR α và hiệu quả, thử nghiệm máu toàn phần người (hWBA) xác định khả năng của các hợp chất gắn kết với LXR và cảm ứng sự biểu hiện gen ABCA1 so với hợp chất so sánh, và thử nghiệm độ ổn định chuyển hóa vi thể. Các giá trị EC₅₀ được nêu trong các khoảng, trong đó A là ≤ 100 nM, B nằm trong khoảng từ 101 nM đến $< 1,000$ nM và C là $> 1,000$ nM.

Bảng 1

Cấu trúc	#	LXR α EC ₅₀ (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC ₅₀ (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% vi thể người còn lại
	3	A	6	A	16	>80%
	11	C	---	A	16	>80%

Cấu trúc	#	LXR α EC50 (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% vi thể người còn lại
	21	A	18	A	17	>80%
	2	A	10	A	18	>80%
	17	B	13	A	20	>80%
	8	A	10	A	23	>80%
	14	A	15	A	24	>80%
	1	B	13	A	28	>80%
	9	A	20	A	28	>80%

Cấu trúc	#	LXR α EC50 (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% vi thể người còn lại
	12	A	13	A	32	>80%
	7	A	15	A	33	>80%
	4	A	12	A	34	>80%
	20	B	15	A	35	>80%
	19	C	---	A	35	>80%
	16	A	19	A	41	>80%
	5	A	25	A	43	>80%

Cấu trúc	#	LXR α EC50 (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% vi thể người còn lại
	6	A	25	A	35	>80%
	15	A	8	A	47	>80%
	13	A	18	A	50	>80%
	18	A	17	A	51	>80%
	Hợp chất số 19, Bảng 1, WO 2007/00256 3	B	38	C	55	>80%

Dữ liệu đại diện trên đây minh họa đặc tính chủ vận LXR một phần mong muốn bất ngờ, đã làm tăng lên hiệu lực trong máu toàn phần người, hiệu quả LXR α thấp và độ ổn định chuyển hóa trong thử nghiệm tiêu thể gan người của các hợp chất theo sáng chế so với các hợp chất trước đó đã được bộc lộ trong lĩnh vực kỹ thuật này, như các hợp chất được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO 2007/002563.

Ví dụ E

Hiệu lực in vivo và cảm ứng ABCG1 tối đa ở khỉ *Cynomolgus*

Các hợp chất theo sáng chế được thử nghiệm về khả năng của chúng cảm ứng ARN thông tin của gen đích LXR ABCG1 trong các tế bào máu khi cho khỉ *Cynomolgus* dùng qua đường miệng.

Các hợp chất thử nghiệm được bào chế trong dung dịch carboxymetyl xenluloza 0,5% (CMC, Sigma) và 2% Tween 80 (Sigma) bằng cách nghiền thành bột. Mỗi nhóm xử lý gồm ba con khỉ đực, mỗi con có cân nặng 3,0-6,0 kg vào lúc bắt đầu nghiên cứu. Các hợp chất thử nghiệm được bào chế mới vào mỗi buổi sáng trong chất dẫn thuốc, và các con khỉ đã bị nhịn đói tối hôm trước được cho dùng hợp chất trong thời gian từ 7 đến 7:30 sáng bằng cách đưa vào dạ dày qua ống thông. Để xác định ARN thông tin tế bào máu đường nền, 1 ml máu tĩnh mạch được thu gom trong ống phủ EDTA khô và 1 thể tích dung dịch nước muối đệm phosphat Dulbecco mà không có canxi hoặc magie và 2 thể tích dung dịch phân giải tinh chế axit nucleic (Applied Biosystems, Inc.) được bổ sung vào. Các mẫu được làm đông lạnh ở nhiệt độ -80°C trước khi phân lập và phân tích ARN. Các hợp chất thử nghiệm được cho dùng sau khi thu gom mẫu đường nền. Sau khi dùng 5 giờ, máu tĩnh mạch được thu gom và được xử lý như ở trên để xác định ARN. 0,5 ml máu bổ sung cũng được thu gom và được phân tích để xác định nồng độ hợp chất trong huyết tương.

Phân lập ARN. Các mẫu đông lạnh được làm tan giá ở nhiệt độ trong phòng, và sau đó được đặt trên nước đá. ARN tổng được tách trên ABI 6100 bằng cách sử dụng quy trình đã được nạp trước theo các chỉ dẫn của nhà sản xuất (ABI Manual #4332809 Rev. B).

Tổng hợp ADN bổ trợ và các phản ứng Q-PCR. Kit tổng hợp qScript ADN bổ trợ từ Quanta Biosciences, Inc. được sử dụng để tạo ra ADN bổ trợ sợi thứ nhất từ mỗi mẫu ARN tổng. 20 µl chất phản ứng được tiến hành trong đĩa Eppendorf AG twin-tec PCR có 96 lỗ trên MJ Research, Inc. model PTC-200 DNA Engine. Khoảng 500 ng ARN tổng được sử dụng đối với mỗi phản ứng. Các phản ứng là như sau: 4 µl hỗn hợp phản ứng 5X q-Script cộng với 3-5 µl nước không chứa nucleaza cộng với 1 µl enzym phiên mã ngược q-Script cộng với 10-12 µl ARN đưa vào. Sau khi trộn, hỗn hợp phản ứng được ly tâm ở tốc độ 3750 vòng/phút trong thời gian 2 phút ở nhiệt độ trong phòng và được thực hiện quy trình “q-Script” (25°C trong 5 phút, tiếp đó là 42°C trong thời gian 30 phút, và sau đó 85°C trong 5 phút) trong máy luân nhiệt MJ Research. Mỗi hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng 30 µl nước không chứa nucleaza và được sử dụng ngay đối với SYBR-green Q-PCR hoặc được lưu giữ ở nhiệt độ -20°C. Các phản ứng SYBR-green Q-PCR được tiến hành như sau. Các hỗn hợp phản ứng đối với gen đích LXR, ABCG1, và gen chuẩn hóa chất chuẩn nội protein ribosom L30 được điều chế bằng cách sử dụng các bộ đoạn môi xuôi/ngược hợp lệ [ABCG1 (X-Mmul-ABCG1-F1 and X-Mmul-ABCG1-R1);

protein ribosom L30 (SYBR-hL30-F1 and SYBR-hL30-R1)]. Thông tin về các bộ đoạn mỗi này có được từ “Primer Bank” Web Site “(<http://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/index.html>) for L30 (Primer Bank # 4506631a1), và từ Exelixis, Inc. (South San Francisco, California, USA) for ABCG1 (Mmul_ABCG1.TaqMan F1/R1).

Các trình tự đoạn mỗi

Mmul_ABCG1.TaqMan.F1	5'-ACGCAGACAGCACTGGTGAA-3'
Mmul_ABCG1.TaqMan.R1	5'-CTTCCCTCCACCTGGAACCT-3'
hL30-F1	5'-GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG-3'
hL30-R2	5'-CCAATTTCGCTTTGCCTTGTC-3'

Các phản ứng SYBR-green được tập hợp như sau. Cho mỗi phản ứng, 10 μ l 2X PowerSYBR[®] Green Supermix (Applied Biosystems Catalog # 4367659) cộng với 2 μ l 10 μ M hỗn hợp đoạn mỗi xuôi/ngược đặc hiệu gen (nồng độ cuối của mỗi đoạn mỗi là 500 nM) cộng với 4 μ l nước được trộn cùng với 4 μ l hỗn hợp phản ứng RT đã được pha loãng. Các hỗn hợp phản ứng này được ly tâm ở tốc độ 3750 vòng/phút trong thời gian 2 phút ở nhiệt độ trong phòng và chạy trên hệ thống Applied Biosystems model 7900HT SDS-Taqman.

Tính toán lượng tương đối ARN thông tin, và hiệu lực hợp chất in vivo và hoạt tính tối đa. Lượng tương đối của ARN thông tin ABCG1 được tính toán bằng cách sử dụng phương pháp Ct so sánh dẫn xuất thứ hai ($2^{-\Delta\Delta C_t}$). Việc định lượng thu được sau khi chuẩn hóa với ARN thông tin protein ribosom L30. Mỗi mẫu được thử nghiệm hai lần và trị số Ct trung bình được sử dụng để tính toán.

Tính toán hiệu lực in vivo của các hợp chất ở khỉ Cynomolgus. Nồng độ của hợp chất thử nghiệm trong huyết tương từ mỗi con khỉ sau khi dùng liều 5 giờ được dựng đồ thị đối với cảm ứng đối với đường nền của ARN thông tin ABCG1 ở các tế bào máu của mỗi con vật sau khi dùng liều 5 giờ đối với tất cả các nhóm dùng. Dữ liệu của tất cả các nhóm dùng đều được thể hiện trên cùng một đồ thị đối với mỗi hợp chất. Hiệu lực in vivo (EC_{50}) và cảm ứng tối đa của ARN thông tin ABCG1 đối với mỗi hợp chất được xác định bằng cách làm khớp với đường cong phi tuyến tính bằng cách sử dụng phương trình liều lượng hình sixma (phần mềm Graphpad Prism 4.03).

Định lượng các nồng độ hợp chất trong huyết tương bằng LC/MS/MS. Phần dưới đây mô tả chi tiết sắc ký lỏng với các phương pháp phân tích sinh học trên cơ sở phổ khối bộ đôi (LC/MS/MS) được sử dụng để định lượng các hợp chất thử nghiệm trong huyết tương khỉ Xynomolgus.

Phân tích LC/MS/MS đối với hợp chất thử nghiệm được tiến hành dựa vào đường cong chuẩn trong khoảng từ 1 tới 5000 nM. Các đường cong chuẩn được làm khớp với hồi quy tuyến tính được gia trọng đối ứng bình phương (weighted by reciprocal squared) ($1/x^2$). Các chuẩn được phân tích một lần. Mẫu đối chứng chất lượng được chuẩn bị trong chất nền sinh học trống ở 3 nồng độ nằm trên khoảng

đường cong chuẩn và được phân tích dưới dạng các bản sao trong mỗi bộ phân tích. Các nồng độ được xác định lớn hơn 75% QC là trong khoảng 20% giá trị danh nghĩa của chúng.

Việc chuẩn bị mẫu được tiến hành trên thiết bị điều khiển lỏng tự động loại Janus 8-tip và Janus Mini 96-tip. Các phần nhỏ (50 μ L) chất nền sinh học (huyết tương) từ các nghiên cứu in vivo và các mẫu chuẩn/QC được xử lý bằng dung dịch amoni cacbonat 1M trong nước có pH=9,2 chưa được điều chỉnh (50 μ L) chứa 200 nM hai chất chuẩn nội (IS), tiếp đó là 300 μ L metyl t-butyl ete (MTBE) và được phân bố bằng cách chiết lỏng-lỏng (LLE) bằng cách sử dụng 40 lần lặp lại đầu phóng điền đầy (fill-expel tip) trong thời gian khoảng 3 phút. Sau đó, nước và các lớp hữu cơ được ly tâm trong thời gian 2 phút ở tốc độ 3900 vòng/phút. Dung môi chiết lớp hữu cơ ở bên trên MTBE (250 μ L) được lấy ra cho vào đĩa có 96 lỗ sạch khác và được đặt trong thiết bị làm bay hơi nitơ trong 15 phút ở nhiệt độ 40°C tới khô. Các phần nhỏ (100 μ L) được sử dụng để hoàn nguyên các phần chiết khô với pha động bao gồm hỗn hợp axetonitril/nước 1:1. Trước tiên, lượng nhỏ 10 μ L được phun lên cột chiết sắc ký lỏng tính năng dòng Turbo cao (HTLC), sau đó được rửa giải trên cột sắc ký lỏng tính năng cao thứ hai (HPLC) để phân tích trên cơ sở LC/MS/MS.

Hệ LC được sử dụng đối với tất cả phân tích là hệ HPLC Aria TX-2 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) bao gồm 8 bơm Shimadzu LC10AD với 2 bộ điều khiển hệ thống SCL-10AVP (Columbia, MD, USA) và các thiết bị lấy mẫu tự động hai cần CTC Analytics HTS PAL (Switzerland) được lắp với tháp làm nguội để duy trì mẫu ở nhiệt độ 10°C trong khi phân tích. Cột chiết trực tuyến HPLC là polyme được trộn Xyclon-P (0,5 x 50 mm, hạt cỡ 50 μ M, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) được giữ ở nhiệt độ trong phòng. Cột phân tích HPLC C18 được sử dụng là XBridge C18 (2,1 mm x 50 mm, 5 μ M hạt, Waters Corporation, Milford, MA, USA) được giữ ở nhiệt độ trong phòng. Pha động, chứa 0,1% axit formic trong nước (A) và 0,1% axit formic trong axetonitril (B), được cung cấp ở tốc độ dòng bằng 1,5 mL/phút cho cột chiết trực tuyến HTLC và ở tốc độ 0,5 mL/phút cho cột phân tích HPLC C18. Các tốc độ dòng này thay đổi trong bước chuyển tiếp trong khoảng từ 0,5 đến 1,0 phút. Thời gian lưu đối với các hợp chất thử nghiệm và chất chuẩn nội được ghi lại. Tổng thời gian phân tích là 5,0 phút. Gradient được tóm tắt trong bảng dưới đây.

Gradient pha động đối với Cột phân tích HPLC C18 XBridge

Thời gian (phút)	% A	% B	Tốc độ dòng (mL/phút)	Đường cong
0 (Ban đầu)	95	5	0,5	đồng dòng
0,50	95	5	0,3	đồng dòng

Gradient pha động đối với Cột phân tích HPLC C18 XBridge

Thời gian (phút)	% A	% B	Tốc độ dòng (mL/phút)	Đường cong
1,00	95	5	0,3	đồng dòng
1,10	95	5	0,5	đồng dòng
2,00	5	95	0,5	tuyến tính
2,50	5	95	0,5	đồng dòng
2,60	95	5	0,5	bước

Gradient pha động đối với cột Xyclon-P chiết trực tuyến HTLC

Thời gian (phút)	% A	% B	Tốc độ dòng (mL/phút)	Đường cong
0 (Ban đầu)	100	0	1,5	đồng dòng
0,50	100	0	0,2	đồng dòng
1,00	100	0	0,2	đồng dòng
1,10	0	100	1,5	bước
2,00	0	100	1,5	đồng dòng
2,10	50	50	1,5	bước
2,50	50	50	1,5	đồng dòng
2,60	100	0	1,5	bước

Quang phổ kế khối lượng được sử dụng đối với tất cả các phân tích là quang phổ kế khối lượng bộ đôi Finnigan Quantum Ultra (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) được lắp với giao diện phun điện được đun nóng vận hành ở cả chế độ ion hoá dương và âm. Nito siêu tinh khiết (UHP) được dùng làm khí bảo vệ và khí phụ ở tốc độ dòng bằng 55psi để bảo vệ và 25 đơn vị để phụ trợ. Nhiệt độ khử solvat hóa là 350°C và nhiệt độ nguồn là 350°C. Việc phát hiện mỗi chất phân tích đạt được qua việc theo dõi phản ứng được chọn (SRM). Kiểu ion hoá dương được sử dụng để định lượng hợp chất thử nghiệm và chất chuẩn nội. Argon UHP ở áp suất bằng $1,5 \times 10^{-3}$ được duy trì trong các tế bào va đập của tứ cực 2. Các quá trình chuyển tiếp được kiểm tra đối với hợp chất theo sáng chế và chất chuẩn nội của nó được ghi lại.

Hiệu lực in vivo của các hợp chất thử nghiệm ở khỉ Cynomologus, và cảm ứng ABCG1 tối đa thu được từ đồ thị của nồng độ hợp chất trong huyết tương sau khi dùng liều 5 giờ đối với mức độ cảm ứng ARN thông tin sau khi dùng liều 5 giờ được thể hiện trong Bảng 2 dưới đây.

Bảng 2

Hợp chất	EC ₅₀ ± S.E. (nM)	Mức độ cảm ứng ABCG1 tối đa (đối với đường nền ± S.E.)
Hợp chất số 19, Bảng 1, WO 2007/002563	630 ± 168	12,4 ± 1,8
Ví dụ 4 theo sáng chế	141 ± 53	5,9 ± 0,8
Ví dụ 9 theo sáng chế	11 ± 6	8,9 ± 0,9

Các ví dụ 4 và 9 theo sáng chế có độ hiệu nghiệm cao hơn gấp khoảng từ 4 đến 6 lần so với hợp chất đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này sau khi dùng ở các con khỉ Cynomologus. Tương tự, các ví dụ 4 và 9 cảm ứng ARN thông tin ABCG1 ở máu tối đa khoảng từ 6 đến 9 lần so với khoảng 12 lần đối với hợp chất đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhờ đó chứng minh hoạt tính LXR một phần trong máu khỉ Cynomologus.

Cần hiểu rằng các ví dụ và các phương án được mô tả trong bản mô tả này chỉ nhằm mục đích minh họa và các cải biến khác hoặc các thay đổi của nó sẽ là gợi ý đối với chuyên gia trong lĩnh vực kỹ thuật này và được kết hợp theo tinh thần và nội dung của đơn này và phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo. Tất cả các công bố, các patent, và đơn yêu cầu cấp patent được nêu ở đây được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn cho tất cả các mục đích.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó được chọn từ:

Số	Tên hợp chất
1	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-3-metyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-clo-phenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-2-[2-(2-flophenyl)propan-2-yl]-1H-imidazol-4-yl}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol;
11	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(triflometyl)benzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-clo-4-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
14	2-(2-(2-clo-4-flobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
15	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;

Số	Tên hợp chất
17	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-metylbenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-clo-5-flo-benzyl)-1-(3'-flo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol;
20	2-[2-(2-clo-benzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol; hoặc
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

2. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dùng của nó, theo điểm 1 được chọn từ:

Số	Tên hợp chất
1	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-3-metyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-clo-phenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-clo-6-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-2-[2-(2-flophenyl)propan-2-yl]-1H-imidazol-4-yl}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; hoặc
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

3. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, theo điểm 1 được chọn từ:

Số	Tên hợp chất
11	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(triflometyl)benzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-clo-4-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
14	2-(2-(2-clo-4-flobenzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
15	2-(2-(2,4-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-flobenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-metylbenzyl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-điclobenzyl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-clo-5-flo-benzyl)-1-(3'-flo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol; hoặc
20	2-[2-(2-clo-benzyl)-1-(3,3'-điflo-4'-hydroxymetyl-5'-metansulfonyl-biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl]-propan-2-ol.

4. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó, theo điểm 1 được chọn từ:

Số	Tên hợp chất
3	2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; hoặc
21	2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.

5. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, là 2-(1-(3-clo-3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.
6. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, là 2-(2-(2-(2-clo-3-flophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.
7. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, là 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3'-flo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.
8. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, là 2-(2-(2-(2,6-điclophenyl)propan-2-yl)-1-(3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl)-1H-imidazol-4-yl)propan-2-ol.
9. Hợp chất, chất đồng vị, hoặc muối được dụng của nó theo điểm 1, là 2-{2-[1-(2,6-điclophenyl)etyl]-1-[3,3'-điflo-4'-(hydroxymetyl)-5'-(metylsulfonyl)biphenyl-4-yl]-1H-imidazol-4-yl}propan-2-ol.
10. Chế phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9 và một hoặc nhiều chất mang được dụng.