



- (12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(51)⁷ C07D 231/56; C07D 261/20; A61K (13) B
31/416; A61K 31/42

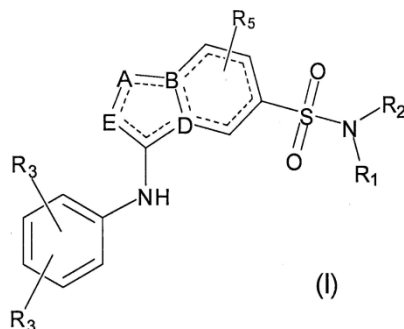


1-0025478

- (21) 1-2015-00630 (22) 28/08/2013
(86) PCT/EP2013/067814 28/08/2013 (87) WO 2014/033167 06/03/2014
(30) 12182078.1 28/08/2012 EP
(45) 25/09/2020 390 (43) 25/09/2015 330A
(73) JANSSEN SCIENCES IRELAND UC (IE)
Eastgate Village, Eastgate, Little Island, Co Cork, Ireland
(72) VANDYCK, Koen (BE); VERSCHUEREN, Wim, Gaston (BE); RABOISSON,
Pierre, Jean-Marie, Bernard (FR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT SULFAMOYL DẠNG HAI VÒNG NGỪNG TỤ VÀ DƯỢC PHẨM
CHỨA HỢP CHẤT NÀY DÙNG ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH VIÊM GAN B

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất sulfamoyl hai vòng ngưng tụ dưới dạng chất ức chế sự
sao chép của virus viêm gan B (HBV) có công thức (I):



bao gồm dạng đồng phân lập thể hóa học và muối, hydrat, solvat của nó, trong đó A-E, R₁, R₂, R₃ và R₅ có nghĩa như được xác định trong bản mô tả sáng chế.

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này, để sử dụng ở dạng riêng rẽ hoặc ở dạng tổ hợp với các chất ức chế HBV khác trong điều trị bệnh HBV.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất sulfamoyl dạng hai vòng ngưng tụ dưới dạng chất ức chế sự sao chép của virus viêm gan B (HBV: hepatitis B virus), và được phẩm chứa hợp chất này, để sử dụng ở dạng riêng rẽ hoặc ở dạng tổ hợp với các chất ức chế HBV khác trong điều trị bệnh HBV.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Virus viêm gan B là một virus ADN sợi kép (dsADN) một phần và có vỏ, thuộc họ Hepadnavirus (*Hepadnaviridae*). Hệ gen của nó chứa 4 khung đọc xếp chồng: gen tiền lõi/lõi; gen polymeraza; các gen L, M và S mã hóa 3 protein vỏ; và gen X.

Khi lây nhiễm, hệ gen ADN sợi kép một phần (ADN vòng được tháo xoắn; rcADN) được chuyển hóa thành ADN vòng đóng cộng hóa trị (cccADN) trong nhân của tế bào chủ và các mRNA virus được phiên mã. Khi được bao vỏ, ARN tiền hệ gen (pgARN), mà cũng mã hóa protein lõi và Pol, đóng vai trò làm khuôn cho quá trình phiên mã ngược, quá trình này tái tạo hệ gen dsADN một phần (rcADN) trong vỏ capsit nhân.

HBV đã gây ra các bệnh dịch ở các khu vực thuộc châu Á và châu Phi, và nó là loài đặc hữu ở Trung Quốc. HBV đã lây nhiễm khoảng 2 tỷ người trên khắp thế giới, trong đó khoảng 350 triệu người đã phát triển sự nhiễm bệnh mạn tính. Virus này gây ra bệnh viêm gan B và sự nhiễm bệnh mạn tính có tương quan với nguy cơ tăng cao sự phát triển bệnh xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan.

Việc lây truyền virus viêm gan B là do tiếp xúc với máu hoặc dịch cơ thể bị nhiễm, trong khi đó ADN virus đã được phát hiện thấy trong nước bọt, nước mắt và nước tiểu của thể mang bệnh mạn tính với hiệu giá ADN cao trong huyết thanh.

Đã có vaccin có hiệu quả và được dung nạp tốt, nhưng các lựa chọn điều trị trực tiếp hiện đang bị giới hạn ở interferon và các chất kháng virus sau: tenofovir, lamivudin, adefovir, entecavir và telbivudin.

Các heteroaryldihydropyrimidin (HAP) đã được xác định là lớp các chất ức chế HBV trong các mô hình nuôi cấy mô và các mô hình động vật (Weber et al., Antiviral Res. 54: 69–78).

Ngoài ra, WO2013/006394, công bố ngày 10 tháng 01 năm 2013, và WO2013/096744, công bố ngày 27 tháng 06 năm 2013 đề cập đến các phân lớp của các sulphonamoyl-arylamit có hoạt tính kháng lại HBV.

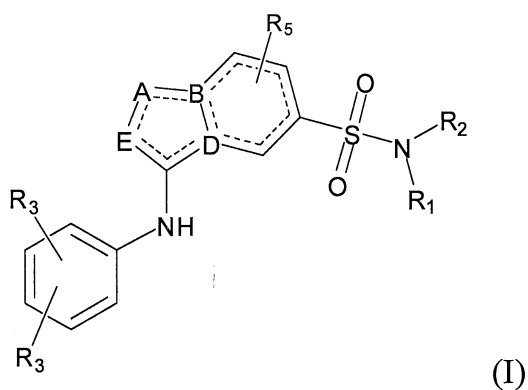
Các vấn đề mà các chất kháng virus HBV trực tiếp có thể phải đối mặt bao gồm độc tính, khả năng gây đột biến, thiếu tính chọn lọc, hiệu quả kém, độ sinh khả dụng kém và khó tổng hợp.

Có nhu cầu về các chất ức chế HBV khác mà có thể khắc phục được ít nhất một trong số các khuyết điểm nêu trên.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chất hợp chất sulfamoyl dạng hai vòng ngưng tụ dưới dạng ức chế sự sao chép của HBV mà có thể khắc phục được ít nhất một trong số các khuyết điểm của các giải pháp đã có trong tình trạng kỹ thuật, dược phẩm chứa hợp chất này, để sử dụng ở dạng riêng rẽ hoặc ở dạng với các chất ức chế HBV khác trong điều trị bệnh HBV.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất các hợp chất có thể được thể hiện bằng công thức (I):



hoặc chất đồng phân lập thể hoặc dạng hỗn hợp của nó, trong đó:

A là N, C hoặc O;

B là C hoặc N;

D là C hoặc N;

E là C hoặc N;

trong đó nếu A và E là N hoặc C, thì chúng được thế tùy ý bằng R₄;

R₁ là hydro hoặc C₁-C₃alkyl;

R₂ là C₁-C₆alkyl, C₁-C₃alkyl-R₆, benzyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, C₁-C₆alkyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H hoặc CF₃;

hoặc R₁ R₂ cùng với nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng no có 5 đến 7 cạnh được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₃alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H và CF₃;

mỗi nhóm R₃ độc lập được chọn từ hydro, halo, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃ hoặc vòng no có 3 đến 5 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O và N;

R₄ là hydro, C₁-C₄alkyl, C₃-C₅cycloalkyl, -(C=O)C₁-C₄-alkyl, -(C=O)-C₁-C₃alkyloxy, hoặc trong trường hợp A hoặc E là C, thì R₄ còn có thể là halogen;

R₅ là hydro hoặc halogen;

R₆ là vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃;

hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó.

Sáng chế còn đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức (I) và chất mang được dụng.

Sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức (I) để sử dụng làm thuốc, ưu tiên là để sử dụng trong việc phòng ngừa hoặc điều trị bệnh nhiễm HBV ở động vật có vú.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) và chất ức chế HBV khác.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Thuật ngữ "C₁₋₃alkyl" hoặc "C₁-C₃alkyl" ở dạng nhóm hoặc một phần của nhóm chỉ gốc hydrocarbyl có công thức C_nH_{2n+1} trong đó n là số nằm trong khoảng từ 1 đến 3. Trong trường hợp C₁₋₃alkyl được liên hợp với gốc khác nữa, thì nó chỉ công thức C_nH_{2n}. Các nhóm C₁-C₃alkyl chứa từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon, ưu tiên hơn là từ 1 đến 2 nguyên tử cacbon. C₁₋₃alkyl bao gồm tất cả các nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 3 nguyên tử cacbon, và do đó bao gồm như, ví dụ, metyl, etyl, *n*-propyl và *i*-propyl.

C₁₋₄alkyl ở dạng nhóm hoặc một phần của nhóm chỉ gốc hydrocacbon no mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 4 nguyên tử cacbon như nhóm được định nghĩa cho C₁₋₃alkyl và butyl và nhóm tương tự.

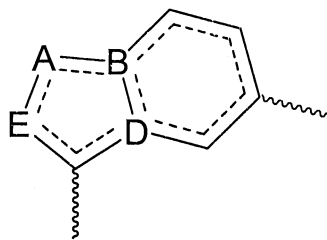
C₁₋₆alkyl ở dạng nhóm hoặc một phần của nhóm chỉ gốc hydrocacbon no mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 6 nguyên tử cacbon như nhóm được định nghĩa cho C₁₋₄alkyl và pentyl, hexyl, 2-metylbutyl và nhóm tương tự.

Thuật ngữ "C₁₋₃alkyloxy" ở dạng nhóm hoặc một phần của nhóm chỉ gốc có công thức --OR_c trong đó R_c là C₁₋₃alkyl. Các ví dụ không nhằm giới hạn sáng chế về C₁₋₃alkyloxy thích hợp bao gồm metyloxy (còn gọi là metoxy), etyloxy (còn gọi là etoxy), propyloxy và isopropyloxy.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ "vòng no có 3 đến 7 cạnh" có nghĩa là hydrocacbon dạng vòng no có 3, 4, 5, 6 hoặc 7 nguyên tử cacbon và dùng để chỉ chung cho xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl và xycloheptyl.

Vòng no như vậy tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, sao cho ít nhất một nguyên tử cacbon được thay thế bằng nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S, cụ thể là từ N và O. Các ví dụ bao gồm oxetan, tetrahydro-2H-pyranyl, piperidinyl, tetrahydrofuranlyl, morpholinyl và pyrrolidinyl.

Trong bản mô tả này,



có nghĩa là nhóm dạng hai vòng ngưng tụ tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, sao cho ít nhất là B, D hoặc E được thay thế bằng nitơ hoặc A bằng N hoặc O ((hetero-)aryl). Nhóm (hetero-) aryl đã nêu chỉ cần có mức độ thơm nhất định. Các ví dụ minh họa về nhóm (hetero-) aryl bao gồm, nhưng không giới hạn ở, benzofuran, indol, isoindol, indazol, imidazopyridin và benzisoxazol. Được ưu tiên là benzisoxazol và indazol.

Cần phải lưu ý rằng các chất đồng phân khác nhau của các dị vòng có thể tồn tại trong các định nghĩa được sử dụng trong bản mô tả này. Ví dụ, pyrolyl có thể là 1H-pyrolyl hoặc 2H-pyrolyl.

Thuật ngữ halo dùng để chỉ chung cho flo, clo, brom hoặc iot.

Cũng cần phải lưu ý rằng các vị trí gốc trên gốc phân tử bất kỳ được sử dụng trong các định nghĩa có thể là ở bất kỳ nơi nào trên gốc đó, miễn là nó ổn định về mặt hóa học. Ví dụ, pyridyl bao gồm 2-pyridyl, 3-pyridyl và 4-pyridyl; pentyl bao gồm 1-pentyl, 2-pentyl và 3-pentyl.

Khi giá trị biến đổi bất kỳ (ví dụ, halogen hoặc C₁₋₄alkyl) xuất hiện nhiều hơn một lần trong cấu tử bất kỳ, thì mỗi định nghĩa đó là độc lập.

Để sử dụng trong điều trị bệnh, muối của hợp chất có công thức (I) là muối trong đó đối ion là được dụng hoặc chấp nhận được về mặt sinh lý. Tuy nhiên, muối có đối ion không được dụng cũng có thể được sử dụng, ví dụ, trong điều chế hoặc tinh chế hợp chất được dụng có công thức (I). Tất cả các muối, cho dù là có được dụng hay không, đều thuộc phạm vi của sáng chế.

Các dạng muối cộng được dụng hoặc có thể dung nạp về mặt sinh lý mà hợp chất theo sáng chế có thể tạo ra thường có thể được điều chế bằng cách sử dụng các axit thích hợp, như, ví dụ, axit vô cơ như axit hydrohalic, ví dụ, axit clohydric hoặc bromhydric; axit sulfuric; hemisulphuric, nitric; phosphoric và axit tương tự; hoặc axit hữu cơ như, ví dụ, axit axetic, aspartic, dodexylsulphuric, heptanoic, hexanoic, nicotinic, propanoic,

hydroxyaxetic, lactic, pyruvic, oxalic, malonic, suxinic, maleic, fumaric, malic, tarttric, xitric, metansulfonic, etansulfonic, benzensulfonic, *p*-toluensulfonic, xyclamic, salixylic, *p*-aminosalixylic, pamoic và axit tương tự.

Ngược lại, các dạng muối cộng axit này có thể được chuyển hóa bằng cách xử lý bằng bazơ thích hợp thành dạng bazơ tự do.

Thuật ngữ “muối” còn bao gồm hydrat và dạng cộng dung môi mà hợp chất theo sáng chế có thể tạo ra. Các ví dụ về dạng này là, ví dụ, hydrat, alcoholat và dạng tương tự.

Hợp chất theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở dạng hõ biến của nó. Ví dụ, dạng hõ biến của nhóm amit ($-C(=O)-NH-$) là rượu imino ($-C(OH)=N-$). Dạng hõ biến, mặc dù không được thể hiện rõ trong công thức cấu tạo được thể hiện trong bản mô tả này, cũng được dự định là thuộc phạm vi của sáng chế.

Thuật ngữ dạng đồng phân lập thể hóa học của hợp chất theo sáng chế, như được sử dụng ở trên, chỉ tất cả các hợp chất có thể có được tạo thành từ cùng các nguyên tử được liên kết bởi cùng một trình tự liên kết nhưng có cấu trúc ba chiều khác nhau mà không thay thế được cho nhau, mà hợp chất theo sáng chế có thể có. Trừ khi được thể hiện hoặc đề cập theo cách khác, tên hóa học chỉ định của hợp chất bao gồm hỗn hợp của tất cả các dạng đồng phân lập thể hóa học có thể có mà hợp chất này có thể có. Hỗn hợp này có thể gồm tất cả các chất đồng phân không đối quang và/hoặc các chất đồng phân đối quang của cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất này. Tất cả các dạng đồng phân lập thể hóa học của hợp chất theo sáng chế ở dạng tinh khiết hoặc ở dạng hỗn hợp với nhau đều được dự định là thuộc phạm vi của sáng chế.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của hợp chất và hợp chất trung gian được nêu trong bản mô tả này được định nghĩa là các chất đồng phân về cơ bản không chứa các dạng đồng phân đối ảnh hoặc đồng phân không đối quang khác của cùng một cấu trúc phân tử cơ bản của hợp chất hoặc hợp chất trung gian này. Cụ thể là, thuật ngữ 'tinh khiết về mặt đồng phân lập thể' chỉ hợp chất hoặc hợp chất trung gian có lượng dư đồng phân lập thể ít nhất là 80% (tức là tối thiểu là 90% là một chất đồng phân và tối đa là 10% là các chất đồng phân có thể có còn lại) đến lên tới 100% (tức là 100% là một chất đồng phân và không có chất đồng phân khác), cụ thể hơn là, hợp chất hoặc hợp chất trung gian này có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 90% đến lên tới

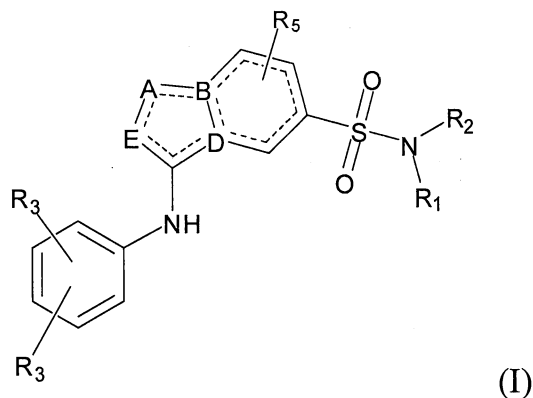
100%, thậm chí cụ thể hơn nữa là có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 94% đến lên tới 100% và cụ thể nhất là có lượng dư đồng phân lập thể nằm trong khoảng từ 97% đến lên tới 100%. Các thuật ngữ 'tinh khiết về mặt đồng phân đối ảnh' và 'tinh khiết về mặt đồng phân không đối quang' cần được hiểu theo cách tương tự, nhưng lần lượt liên quan đến lượng dư đồng phân đối ảnh, lượng dư đồng phân không đối quang của hỗn hợp đang quan tâm.

Các dạng đồng phân lập thể tinh khiết của hợp chất và hợp chất trung gian theo sáng chế có thể thu được bằng cách sử dụng các quy trình đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, các chất đồng phân đối quang có thể được tách ra khỏi nhau bằng cách làm kết tinh có chọn lọc các muối đồng phân không đối quang của chúng bằng axit hoặc bazơ quay quang. Các ví dụ về chúng là axit tartaric, axit dibenzoyltartaric, axit ditoluoyltartaric và axit camphosulfonic. Theo cách khác, các chất đồng phân đối quang có thể được tách bằng các kỹ thuật sắc ký sử dụng pha tĩnh bất đối xứng. Các dạng đồng phân lập thể hóa học tinh khiết này cũng có thể thu được từ các dạng đồng phân lập thể hóa học tinh khiết tương ứng của nguyên liệu ban đầu thích hợp, với điều kiện là phản ứng này xảy ra theo cách lập thể đặc thù. Tốt hơn là, nếu chất đồng phân lập thể đặc thù được mong muốn, thì hợp chất này sẽ được tổng hợp bằng các phương pháp điều chế theo cách lập thể đặc thù. Các phương pháp này sử dụng một cách thuận lợi các nguyên liệu ban đầu tinh khiết về mặt đồng phân đối quang.

Các raxemat đồng phân không đối quang có công thức (I) có thể thu được một cách riêng rẽ bằng các phương pháp thông thường. Các phương pháp tách vật lý thích hợp mà có thể được sử dụng một cách thuận lợi là, ví dụ, kết tinh có chọn lọc và sắc ký, ví dụ, sắc ký cột.

Sáng chế cũng được dự định là bao gồm tất cả các chất đồng vị của các nguyên tử xuất hiện trên hợp chất theo sáng chế. Các chất đồng vị bao gồm các nguyên tử có cùng số thứ tự nguyên tử nhưng có số khối khác nhau. Ví dụ chung và không nhằm làm giới hạn sáng chế là các chất đồng vị của hydro bao gồm triti và đơteri. Các chất đồng vị của cacbon bao gồm C-13 và C-14.

Bất cứ khi nào được sử dụng dưới đây, thuật ngữ “hợp chất có công thức (I)”:



hoặc “hợp chất theo sáng chế” hoặc thuật ngữ tương tự có nghĩa là bao gồm hợp chất có công thức chung (I), (Ia), (Ib), (I-I), (I-II), muối, dạng đồng phân lập thể và hỗn hợp racemic hoặc phân nhóm bất kỳ của nó.

Theo sáng chế, trong công thức (I):

A là N, C hoặc O;

B là C hoặc N;

D là C hoặc N;

E là C hoặc N;

trong đó nếu A và E là N hoặc C, thì chúng được thế tùy ý bằng R₄;

R₁ là hydro hoặc C₁-C₃alkyl;

R₂ là C₁-C₆alkyl, C₁-C₃alkyl-R₆, benzyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, C₁-C₆alkyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H hoặc CF₃;

hoặc R₁ R₂ cùng với nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng no có 5 đến 7 cạnh được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₃alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H và CF₃;

mỗi nhóm R₃ độc lập được chọn từ hydro, halo, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃ hoặc vòng no có 3 đến 5 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O và N;

R₄ là hydro, C₁-C₄alkyl, C₃-C₅xycloalkyl, -(C=O)C₁-C₄-alkyl, -(C=O)-C₁-C₃alkyloxy, hoặc trong trường hợp A hoặc E là C, thì R₄ còn có thể là halogen;

R₅ là hydro hoặc halogen, và

R₆ là vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃.

Theo phương án thứ nhất của sáng chế, R₄ là hydro, C₃-C₅xycloalkyl, -(C=O)C₁-C₄-alkyl, -(C=O)-C₁-C₃alkyloxy, hoặc trong trường hợp A hoặc E là C, thì R₄ còn có thể là halogen.

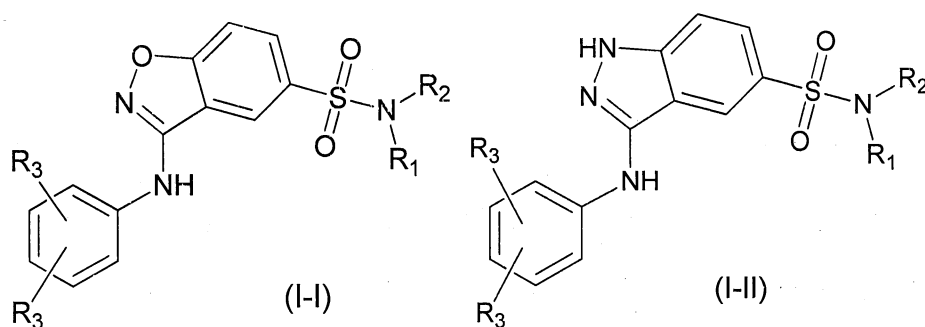
Theo một phương án của sáng chế, R₁ là hydro hoặc metyl. Theo phương án thứ hai của sáng chế, R₂ là C₁-C₃alkyl-R₆ hoặc C₄-C₇ xycloalkyl, được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃, và trong đó R₆ là C₄-C₇ xycloalkyl, được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃.

Theo phương án thứ ba, R₂ là C₄-C₇ xycloalkyl, được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃. Theo phương án khác nữa, R₂ là C₅-xycloalkyl hoặc C₆-xycloalkyl, được thể tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo và C₁-C₄alkyl.

Theo phương án khác, R₃ là flo, C₁-C₃alkyl hoặc xyclopropyl. Tốt hơn là, ít nhất một R₃ là metyl, *i*-propyl hoặc xyclopropyl. Theo phương án khác, một R₃ là metyl, *i*-propyl hoặc xyclopropyl và R₃ còn lại là flo hoặc hydro.

Tốt hơn là, R₄ là hydro.

Theo phương án được ưu tiên, hợp chất này được thể hiện bằng công thức (I-I) hoặc (I-II):



trong đó R₁, R₂, R₃ được xác định như nêu trên.

Các tổ hợp khác theo phương án con hoặc phương án được ưu tiên bất kỳ trong số các phương án con hoặc các phương án được ưu tiên cũng được dự định là thuộc phạm vi của sáng chế.

Được ưu tiên nhất là các hợp chất được thể hiện trong bảng 1.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng có tác dụng điều trị bệnh hoặc phòng bệnh của hợp chất có công thức (I) nêu trong bản mô tả này và chất mang dược dụng. Lượng có tác dụng phòng bệnh trong bản mô tả này là lượng đủ để phòng ngừa bệnh nhiễm HBV ở đối tượng có nguy cơ bị nhiễm. Lượng có tác dụng điều trị bệnh trong bản mô tả này là lượng đủ để làm ổn định bệnh nhiễm HBV, làm giảm bệnh nhiễm HBV hoặc loại bỏ bệnh nhiễm HBV ở đối tượng bị nhiễm. Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả quy trình bào chế được phẩm nêu trong bản mô tả này, bao gồm bước trộn kỹ chất mang dược dụng với lượng có tác dụng điều trị bệnh hoặc phòng bệnh của hợp chất có công thức (I) nêu trong bản mô tả này.

Do đó, hợp chất theo sáng chế hoặc phân nhóm bất kỳ của nó có thể được bào chế thành các dạng dược phẩm khác nhau theo mục đích sử dụng. Để làm chế phẩm thích hợp, có thể kể đến tất cả các chế phẩm thường được sử dụng cho các thuốc dùng toàn thân. Để bào chế được phẩm theo sáng chế, lượng có tác dụng của hợp chất cụ thể, tùy ý ở dạng muối cộng, với vai trò là thành phần hoạt tính được kết hợp bằng cách trộn kỹ với chất mang dược dụng, chất mang này có thể có rất nhiều dạng khác nhau tùy thuộc vào dạng chế phẩm được muốn sử dụng. Các dược phẩm này được mong muốn ở dạng liều đơn vị thích hợp, đặc biệt là để sử dụng qua đường miệng, đường trực tràng, qua da, hoặc bằng cách tiêm ngoài đường tiêu hóa. Ví dụ, để bào chế chế phẩm ở dạng liều dùng qua đường miệng, môi trường bất kỳ trong số các môi trường dược dụng thông thường có thể được sử dụng như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và dạng tương tự đối

với các trường hợp chế phẩm lỏng dùng qua đường miệng như hỗn dịch, xi rô, cốm ngọt, nhũ tương và dung dịch; hoặc các chất mang rắn như tinh bột, đường, cao lanh, chất làm trơn, chất gắn kết, chất gây rã và dạng tương tự đối với các trường hợp chế phẩm dạng bột, viên tròn, viên nang và viên nén. Do dễ sử dụng, viên nén và viên nang là các dạng đơn vị liều dùng qua đường miệng thuận lợi nhất, trong trường hợp này, các chất mang rắn được dùng được sử dụng. Đối với các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa, chất mang thường chứa nước vô trùng, ít nhất là phần lớn, mặc dù các thành phần khác, ví dụ, để hỗ trợ cho tính hòa tan, có thể được bao gồm. Các dung dịch tiêm, ví dụ, có thể được bào chế trong đó chất mang chứa dung dịch nước muối, dung dịch glucoza hoặc hỗn hợp gồm dung dịch nước muối và dung dịch glucoza. Các hỗn dịch tiêm cũng có thể được bào chế, trong trường hợp này, các chất mang lỏng, các chất tạo hỗn dịch thích hợp và dạng tương tự có thể được sử dụng. Cũng được bao gồm là các chế phẩm dạng rắn được dự định là được chuyển hóa, trong khoảng thời gian ngắn trước khi sử dụng, thành chế phẩm dạng lỏng. Trong các chế phẩm thích hợp để sử dụng qua da, chất mang tùy ý chứa chất tăng cường tính thấm và/hoặc chất thấm ướt thích hợp, tùy ý được kết hợp với các chất phụ gia thích hợp có bản chất bất kỳ với tỷ lệ nhỏ, các chất phụ gia này không tạo ra tác dụng có hại đáng kể đối với da. Hợp chất theo sáng chế cũng có thể được sử dụng bằng cách xông hít hoặc bơm qua đường miệng ở dạng dung dịch, hỗn dịch hoặc bột khô bằng cách sử dụng hệ thống phân phối bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Đặc biệt thuận lợi nếu bào chế các dược phẩm nêu trên ở dạng liều đơn vị để dễ sử dụng và đồng đều về liều lượng. Dạng liều đơn vị trong bản mô tả này chỉ các đơn vị tách rời về mặt vật lý thích hợp làm các liều đơn nhất, mỗi đơn vị chứa lượng đã định trước của thành phần hoạt tính được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị bệnh mong muốn kết hợp với chất mang được dùng cần thiết. Các ví dụ về dạng liều đơn vị này là viên nén (bao gồm viên nén có chia phần hoặc có lớp bao), viên nang, viên tròn, thuốc đạn, bột đóng gói, viên nhện (wafer), dung dịch hoặc hỗn dịch tiêm và dạng tương tự, và các liều chia nhỏ của chúng.

Hợp chất có công thức (I) có hoạt tính làm chất ức chế chu kỳ sao chép của HBV và có thể được sử dụng trong điều trị và điều trị dự phòng bệnh nhiễm HBV hoặc các bệnh liên quan đến HBV. Bệnh liên quan đến HBV bao gồm bệnh xơ gan tiến triển,

chứng viêm và chứng hoại tử dẫn đến bệnh xơ gan, bệnh gan giai đoạn cuối và ung thư biểu mô tế bào gan.

Do có các tính chất kháng virus, cụ thể là các tính chất kháng HBV, hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó hữu dụng trong việc ức chế chu kỳ sao chép của HBV, cụ thể là trong điều trị động vật máu nóng, cụ thể là người, bị nhiễm HBV, và trong điều trị dự phòng bệnh nhiễm HBV. Ngoài ra, sáng chế còn đề xuất hợp chất có công thức (I) với lượng có tác dụng điều trị bệnh để sử dụng trong điều trị động vật máu nóng, đặc biệt là người, bị nhiễm HBV hoặc có nguy cơ nhiễm HBV.

Do đó, hợp chất có công thức (I) nêu trong bản mô tả này có thể được sử dụng làm thuốc, cụ thể là thuốc dùng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm HBV. Việc sử dụng làm thuốc hoặc điều trị bao gồm việc sử dụng toàn thân lượng có tác dụng chống lại tình trạng bệnh lý có liên quan đến bệnh nhiễm HBV hoặc lượng có tác dụng phòng ngừa bệnh nhiễm HBV cho đối tượng bị nhiễm HBV hoặc cho đối tượng dễ bị nhiễm HBV.

Sáng chế còn đề cập đến hợp chất theo sáng chế để sử dụng trong sản xuất thuốc dùng để điều trị hoặc phòng ngừa bệnh nhiễm HBV.

Nhìn chung, dự tính là lượng hằng ngày có tác dụng kháng virus sẽ nằm trong khoảng từ khoảng 0,01 đến khoảng 50mg/kg, hoặc từ khoảng 0,01 đến khoảng 30mg/kg thể trọng. Có thể là thích hợp nếu sử dụng liều cần thiết ở dạng hai, ba, bốn hoặc nhiều liều chia nhỏ vào các khoảng cách thời gian thích hợp trong ngày. Các liều chia nhỏ này có thể được bào chế ở dạng liều đơn vị, ví dụ, chứa từ khoảng 1 đến khoảng 500mg, hoặc từ khoảng 1 đến khoảng 300mg, hoặc từ khoảng 1 đến khoảng 100mg, hoặc từ khoảng 2 đến khoảng 50mg thành phần hoạt tính trong mỗi dạng liều đơn vị.

Sáng chế còn đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó nêu trong bản mô tả này với các chất kháng HBV khác. Thuật ngữ “tổ hợp” có thể chỉ sản phẩm hoặc bộ kit chứa (a) hợp chất có công thức (I) như nêu trên và (b) ít nhất một hợp chất khác có khả năng điều trị bệnh nhiễm HBV (trong bản mô tả này được gọi là chất kháng HBV), dưới dạng chế phẩm kết hợp để sử dụng đồng thời, riêng biệt hoặc liên tiếp trong điều trị bệnh nhiễm HBV. Theo một phương án, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó với ít nhất một chất kháng HBV. Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công

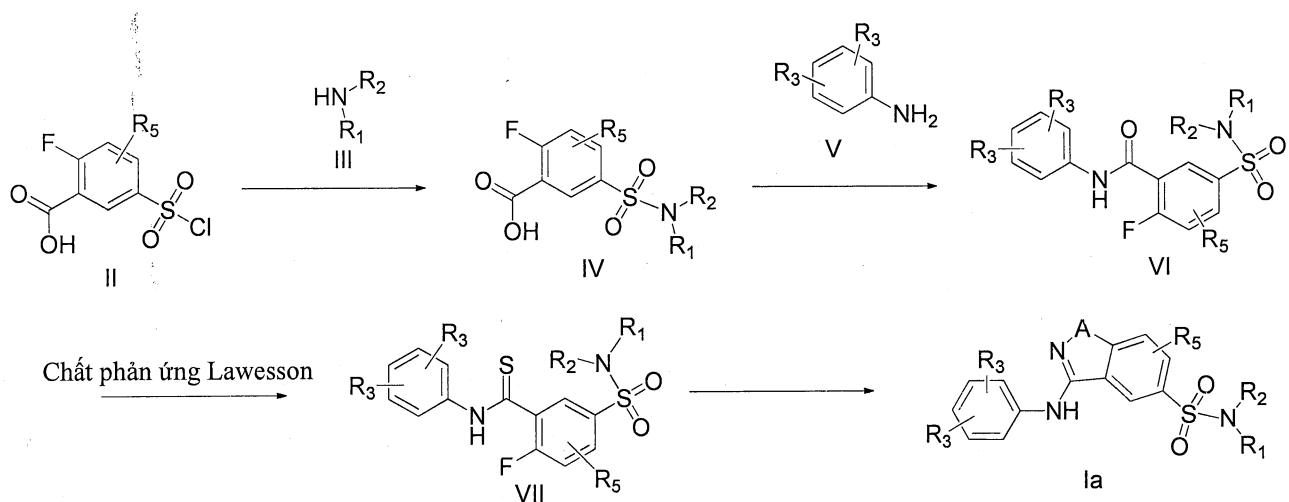
thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó với ít nhất hai chất kháng HBV. Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó với ít nhất ba chất kháng HBV. Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề xuất tổ hợp của hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó với ít nhất bốn chất kháng HBV.

Tổ hợp của chất kháng HBV đã biết trước đó, như interferon- α (IFN- α), interferon- α đã pegyl hóa, 3TC, adefovir hoặc tổ hợp của chúng, và hợp chất có công thức (I) hoặc phân nhóm bất kỳ của nó có thể được sử dụng làm thuốc trong liệu pháp điều trị bệnh kết hợp.

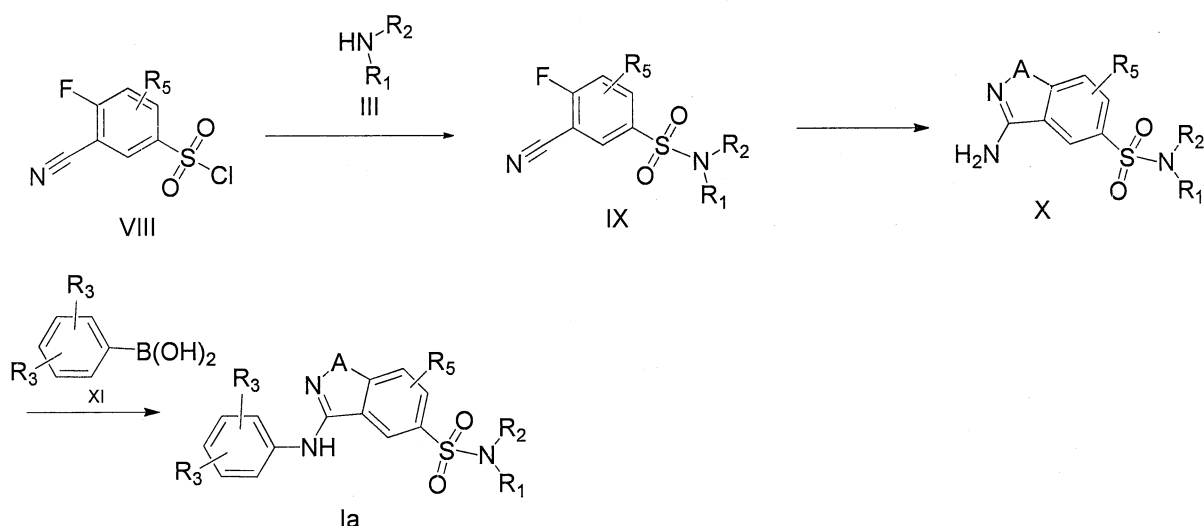
Phương pháp tổng hợp chung

Tổng hợp chung

Hợp chất có công thức chung (Ia) (hợp chất I trong đó E là nitơ và B và D là cacbon, với A là nitơ hoặc oxy, sơ đồ 1) có thể được tổng hợp như được thể hiện trong sơ đồ 1. Dẫn xuất của axit 5-(closulfonyl)-2-flobenzoic II được liên hợp với amin có cấu trúc III, tạo ra sulfonamid IV. Thông qua sự tạo thành amit giữa axit carboxylic IV và anilin V, ví dụ, bằng cách sử dụng HATU trong điều kiện có mặt bazơ hữu cơ như N,N-diisopropyletylamin (DIPEA) trong DMF, thu được hợp chất VI. Thioamid VII có thể thu được thông qua phản ứng của VI với chất thion hóa như chất phản ứng Lawesson (2,4-bis(4-metoxypheyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetan-2,4-disulfua). Cuối cùng, hợp chất VII được cho phản ứng với NH_2OH trong trường hợp A là oxy hoặc NH_2NH_2 trong trường hợp A là nitơ, ở nhiệt độ cao (ví dụ, từ 120° đến 150°C trong DMSO), tạo ra hợp chất Ia.

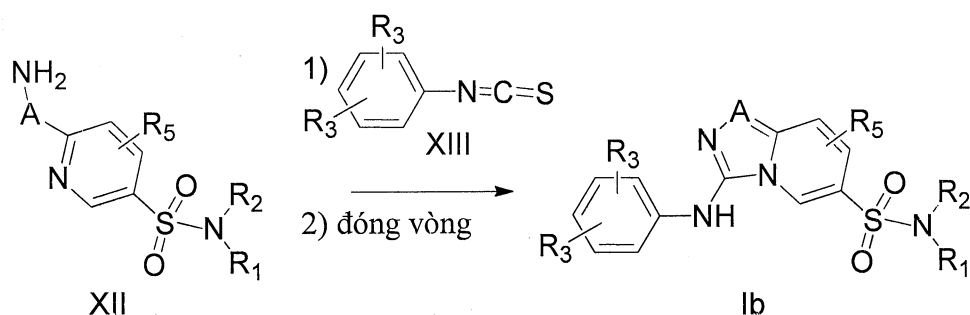


Sơ đồ 1



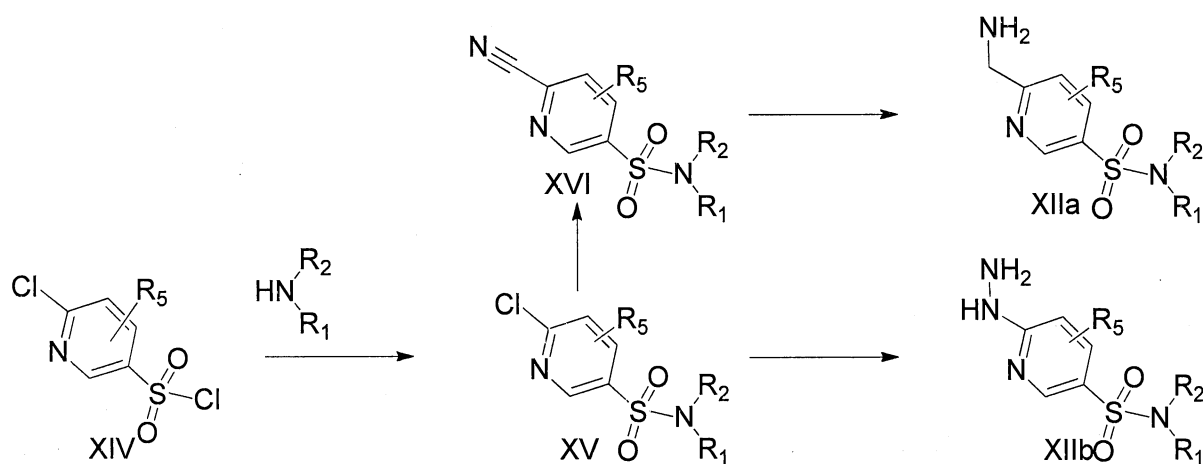
Sơ đồ 2

Theo cách khác, để tổng hợp hợp chất có công thức chung (Ia), con đường như được mô tả trong sơ đồ 2 có thể được sử dụng. Hợp chất VIII có thể được cho phản ứng với amin có công thức (III), tạo ra hợp chất IX, hợp chất này được đóng vòng thành hợp chất có công thức X, ví dụ, bằng cách sử dụng hydrazin trong iPrOH ở 110°C khi A là NH trong hợp chất X. Hợp chất X có thể được chuyển hóa tiếp thành hợp chất có công thức chung (Ia), ví dụ, bằng phản ứng liên hợp được xúc tác bằng đồng với việc sử dụng axit boronic XI.



Sơ đồ 3

Sơ đồ 3 mô tả quy trình tổng hợp chung hợp chất có công thức chung (Ib). Bằng cách cho hợp chất XII phản ứng với thioisoxyanat XIII và đóng vòng hợp chất trung gian được tạo ra thành hợp chất có công thức chung (Ib), ví dụ, dưới tác động của N,N'-dicyclohexylmetandiimin hoặc 2-clo-1-metylpyridini iodua. Hợp chất có công thức chung XIIa và XIIb có thể được điều chế như được thể hiện trong sơ đồ 4 và như được nêu ví dụ trong quy trình tổng hợp hợp chất 17, 18 và 19.



Thí nghiệm:

Điều kiện LCMS:

Phương pháp A: Tổng quát: pha động A: H₂O (TFA 0,1%; B: CH₃CN (TFA 0,05%); thời gian dừng: 2 phút; thời gian gradien (phút): [%A/%B] 0,01 [90/10] đến 0,9 [20/80] đến 1,5 [20/80] đến 1,51 [90/10]; lưu lượng: 1,2mL/phút; nhiệt độ cột: 50°C, Xtimate C18 2,1*30mm, 3μm.

Phương pháp B: Tổng quát: pha động A: H₂O (TFA 0,1%; B: CH₃CN (TFA 0,05%); thời gian dừng: 10 phút; thời gian gradien (phút): [%A/%B] 0,0 [90/10] đến 0,8 [90/10] đến 4,5 [20/80] đến 7,5 [20/80] đến 8,0 [90/10]; lưu lượng: 0,8mL/phút; nhiệt độ cột: 50°C, YMC-PACK ODS-AQ, 50×2,0mm, 5μm.

Phương pháp C: Tổng quát: pha động A: H₂O (TFA 0,1%; B: CH₃CN (TFA 0,05%); thời gian dừng: 10 phút; thời gian gradient (phút): [%A/%B] 0,0 [70/30] đến 0,8 [70/30] đến 4 [10/90] đến 7,5 [10/90] đến 8,0 [70/30]; lưu lượng: 0,8mL/phút; nhiệt độ cột: 50°C YMC-PACK ODS-AQ, 50×2,0mm, 5μm.

Phương pháp D: Tổng quát: pha động A: H₂O (TFA 0,1%; B: CH₃CN (TFA 0,05%); thời gian dừng: 10 phút; thời gian gradien (phút): [%A/%B] 0,0 [100/0] đến 1 [100/0] đến 5 [40/60] đến 7,5 [40/60] đến 8,0 [100/0]; lưu lượng: 0,8mL/phút; nhiệt độ cột: 50°C, YMC-PACK ODS-AQ, 50×2,0mm 5μm.

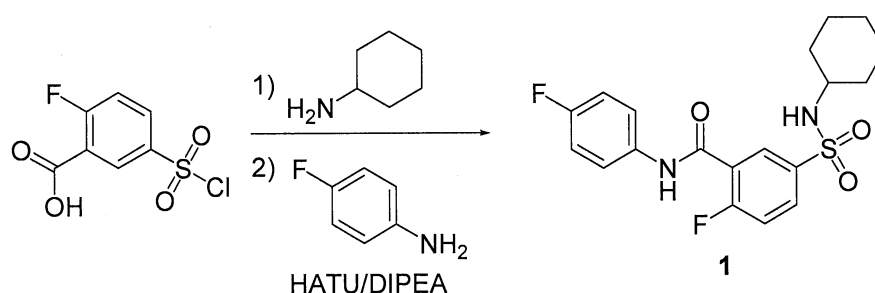
Phương pháp E: Tổng quát: pha động A: H₂O (TFA 0,1%); B: CH₃CN (TFA 0,05%); thời gian dừng: 10 phút; thời gian gradient (phút): [%A/%B] 0,0 [90/10] đến

0,8 [90/10] đến 4,5 [20/80] đến 7,5 [20/80]; 9,5 [90/10]; lưu lượng: 0,8mL/phút; nhiệt độ cột: 50C, Agilent TC-C18, 50×2,1mm, 5µm.

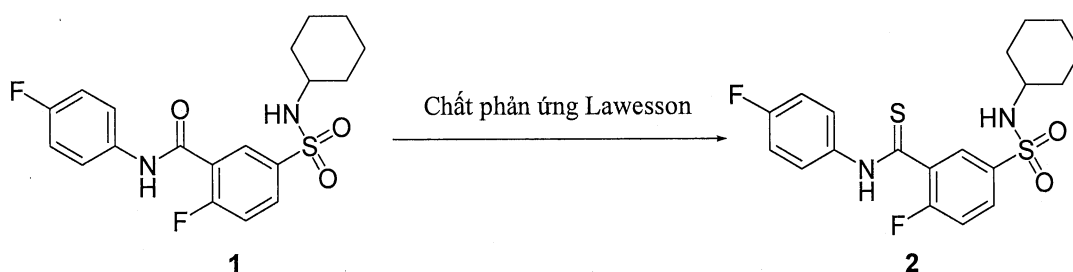
Phương pháp F: Kỹ thuật đo LC được thực hiện bằng cách sử dụng Acquity UPLC (Waters) với bộ phận làm nóng cột (được thiết đặt ở 55°C). UPLC (sắc ký lỏng siêu hiệu năng) pha đảo được tiến hành trên cột Acquity UPLC HSS T3 (1,8µm, 2,1 x 100mm; Waters Acquity) với lưu lượng là 0,8mL/phút. Hai pha động (A: amoni axetat 10mM trong H₂O/axetonitril 95/5; pha động B: axetonitril) được sử dụng để chạy điều kiện gradien từ 100% A và 0% B đến 5% A và 95% B trong 2,1 phút và sau đó là từ 0% A và 100% B trong 0,9 phút đến 5% A và 95% B trong 0,5 phút. Thể tích tiêm là 1µL được sử dụng. Điện thế của nón là 30V đối với chế độ ion hóa dương và 30V đối với chế độ ion hóa âm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

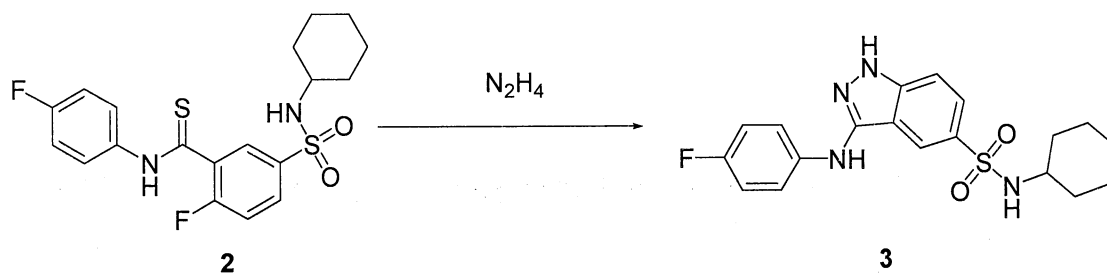
Tổng hợp các hợp chất:



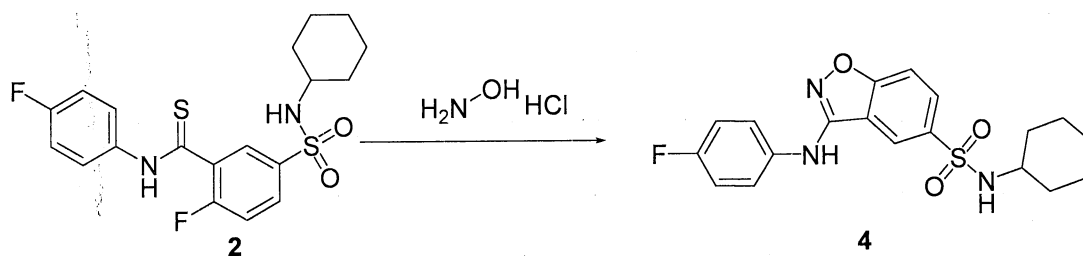
Xyclohexanamin (6,86g, 69,15mmol) được thêm vào axit 5-(closulfonyl)-2-flobenzoic (5,5g, 23,05mmol) trong EtOAc (75mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút và tiếp đó được rửa bằng HCl 1N (50mL). Pha hữu cơ được làm khô trên MgSO₄ và được cô trong chân không, thu được chất rắn màu trắng (6g) chứa axit 5-(N-xyclohexylsulfamoyl)-2-flobenzoic, chất này được sử dụng nguyên dạng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. HATU (2,27g, 5,97mmol) được thêm vào một phần của chất rắn đã thu được nêu trên (1,5g), 4-floanilin (553mg, 4,98mmol) và DIPEA (1,287g, 9,96mmol) trong DMF (30mL) ở nhiệt độ trong phòng. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 15 giờ. EtOAc (300mL) và nước (200mL) được thêm vào và hỗn hợp này được rửa bằng nước muối (2 x 200mL), được làm khô trên MgSO₄, được lọc và được cô, thu được hợp chất 1. Phương pháp A; thời gian lưu: 1,12 phút; m/z: 395,1 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 394,1.



Hỗn hợp của hợp chất 1 (1,5g, 3,8mmol) và 2,4-bis(4-metoxypheyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetan-2,4-disulfua (chất phản ứng Lawesson 923mg, 2,28mmol) trong toluen (40mL) được khuấy ở 110°C trong 15 giờ. Hỗn hợp này được cô trong chân không, thu được chất rắn màu vàng (2,2g). Chất rắn này chứa hợp chất 2, được sử dụng nguyên dạng trong phản ứng tiếp theo.

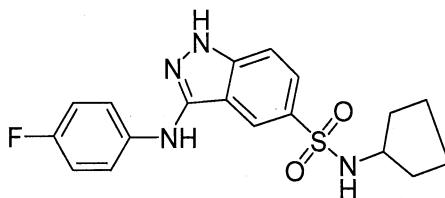


Một phần của chất rắn chứa hợp chất 2 (700mg) đã thu được nêu trên và $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (546mg, 17mmol) trong DMSO (15mL) được khuấy ở 150°C trong 5 giờ. Nước được thêm vào và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc (150mL). Các lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô và được cô trong chân không, thu được phần cặn. Phần cặn thu được được tái kết tinh từ MeOH-nước, thu được hợp chất 3 dưới dạng chất rắn màu vàng nhạt (280mg) sau khi lọc và làm khô trong chân không. Phương pháp B; thời gian lưu: 4,52 phút; m/z : 389,2 ($\text{M}+\text{H}^+$); khối lượng chính xác: 388,1; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12,41 (1 H, s), 9,26 (1 H, s), 8,60 (1 H, d, $J=1,0$ Hz), 7,66 - 7,82 (3 H, m), 7,41 - 7,62 (2 H, m), 7,02 - 7,21 (2 H, m), 2,78 - 3,04 (1 H, m), 1,46 - 1,69 (4 H, m), 1,32 - 1,46 (1 H, m), 0,89 - 1,30 (5 H, m).



Một phần của chất rắn chứa hợp chất 2 (1g) đã thu được nêu trên, Na_2CO_3 (2,58g, 24,3mmol) và $\text{NH}_2\text{OH}.\text{HCl}$ (1,69g, 24,3mmol) trong DMSO (20mL) và nước (4mL) được khuấy ở 120°C trong 5 giờ. Nước được thêm vào và hỗn hợp này được chiết bằng EtOAc (150mL), lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô và được cô trong chân không, thu được phần cặn. Phần cặn này được tinh chế bằng kỹ thuật HPLC điều chế (Phenomenex Synergi max-RP 150x30mm; pha động A: nước tinh khiết (TFA 0,075%, thể tích/thể tích); pha động B: axetonitril; lưu lượng: 30mL/phút; gradien: 53-83% trong 8 phút, thu được hợp chất 4 dưới dạng chất rắn màu trắng (120mg). Phương pháp C; thời gian lưu: 3,79 phút; m/z: 390,3 ($\text{M}+\text{H}^+$); khối lượng chính xác: 389,1; ^1H NMR (400MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,90 (1 H, s), 8,75 (1 H, d, $J=1,5$ Hz), 8,04 (1 H, dd, $J=9,0, 1,5$ Hz), 7,83 (1 H, d, $J=9,0$ Hz), 7,75 (1 H, d, $J=7,5$ Hz), 7,67 - 7,73 (2 H, m), 7,16 - 7,30 (2 H, m), 2,90 - 3,02 (1 H, m), 1,48 - 1,65 (4 H, m), 1,37 - 1,49 (1 H, m), 0,95 - 1,21 (5 H, m).

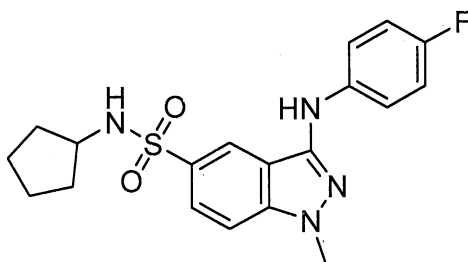
Hợp chất 5



Xyclopentanamin (17,85g, 210mmol) và NaOH (16,8g, 420mmol) được hòa tan trong THF (300mL) và H_2O (300mL). Axit 5-(closulfonyl)-2-flobenzoic (50g, 210mmol) được thêm vào ở 0°C . Hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 12 giờ. Hỗn hợp này được rửa bằng etyl axetat (3 x 50mL). Lớp nước được tách và được điều chỉnh đến độ pH=3 bằng HCl 1N. Chất kết tủa tạo thành được lọc và được làm khô trong chân không, thu được axit 5-(N-xyclopentylsulfonyl)-2-flobenzoic (40g). Axit 5-(N-xyclopentylsulfonyl)-2-flobenzoic (40g, 139,4mmol), 4-floanilin (19,3g, 167,2mmol) và trietylamin (28,2g, 278,8mmol) được hòa tan trong DMF (400mL). HATU (63g, 167,2mmol) được thêm vào ở 0°C và sau đó hỗn hợp này được khuấy ở 20°C trong 6 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột silicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ:etyl axetat=5:1), thu được 5-(N-xyclopentylsulfonyl)-2-flo-N-(4-flophenyl)benzamid (38g). 5-(N-xyclopentylsulfonyl)-2-flo-N-(4-flophenyl)benzamid (38g, 100mmol) và chất phản ứng Lawesson (40,4g, 100mmol) được hòa tan trong toluen (1000mL). Hỗn hợp này

được khuấy ở 120°C trong 16 giờ. Các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được và N₂H₄-H₂O (80mL) được hòa tan trong 1,4-dioxan (500mL). Hỗn hợp này được khuấy trong 12 giờ ở 160°C. Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (cột: Phenomenex Synergi Diamonsil 150*20mm*5um; phương pháp: 25 đến 55% B trong A, A: H₂O+TFA 0,1%, B: CH₃CN; lưu lượng (mL/phút): 40). Các phân đoạn tinh khiết được thu lại và được bazơ hóa đến độ pH=7 bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa. Các chất hữu cơ dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (3 x 20mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối và được làm khô trên Na₂SO₄. Dung môi được loại bỏ trong chân không, phần cặn thu được được tạo huyền phù trong nước (5mL) và lớp nước được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 5 (15g). Phương pháp B; thời gian lưu: 4,14 phút; m/z: 375,2 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 374,1; ¹H NMR (600MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,26 - 1,33 (m, 2 H), 1,33 - 1,40 (m, 2 H), 1,49 - 1,56 (m, 2 H), 1,56 - 1,61 (m, 2 H), 3,40 (quin, *J*=6,6 Hz, 1 H), 7,14 (t, *J*=8,1 Hz, 2 H), 7,47 (br. s., 1 H), 7,55 (d, *J*=8,8 Hz, 1 H), 7,73 (dd, *J*=8,8, 1,8 Hz, 1 H), 7,76 (dd, *J*=9,1, 4,8 Hz, 2 H), 8,64 (d, *J*=1,6 Hz, 1 H), 9,28 (s, 1 H), 12,37 (br. s., 1 H).

Hợp chất 6

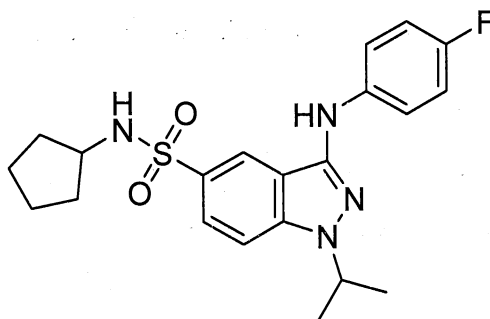


Hợp chất 5 (400mg, 1mmol) được hòa tan trong DMF (50mL). CH₃I (0,71g, 5mmol) và K₂CO₃ (0,69g, 5mmol) được thêm vào hỗn hợp này. Hỗn hợp này được khuấy ở 110°C trong 12 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (cột: Phenomenex Synergi Diamonsil 150*20mm*5um; phương pháp: 25% đến 55% B trong A, A: H₂O+TFA 0,1%, B: CH₃CN; lưu lượng (mL/phút): 40). Các phân đoạn tinh khiết được thu lại và được bazơ hóa đến độ pH=7 bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong chân không và lớp nước được chiết bằng etyl axetat (3 x 20mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối và được làm khô trên Na₂SO₄. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lớp mỏng (chất rửa

giải: ete dầu mỏ:ethyl axetat=1:1). Sản phẩm thu được được tạo huyền phù trong nước (5mL) và CH₃CN (2mL) và hỗn hợp này được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 6 (53mg).

Phương pháp D; thời gian lưu: 5,87 phút; m/z: 389,2 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 388,1; ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 9,32 (1 H, s), 8,58 (1 H, s), 7,67 - 7,81 (3 H, m), 7,58 - 7,67 (1 H, m), 7,46 (1 H, d, *J*=6,5 Hz), 7,12 (2 H, t, *J*=8,8 Hz), 3,93 (3 H, s), 3,33 - 3,40 (1 H, m), 1,42 - 1,66 (4 H, m), 1,16 - 1,42 (4 H, m). ¹H NMR (400MHz, clorofom-*d*) δ ppm 8,26 (1 H, d, *J*=1,0 Hz), 7,80 (1 H, dd, *J*=8,9, 1,6 Hz), 7,46 - 7,55 (2 H, m), 7,34 (1 H, d, *J*=8,8 Hz), 7,03 (2 H, t, *J*=8,7 Hz), 6,48 (1 H, s), 4,46 (1 H, d, *J*=7,0 Hz), 3,98 (3 H, s), 3,52 - 3,66 (1 H, m), 1,69 - 1,83 (2 H, m), 1,57 - 1,66 (2 H, m), 1,45 - 1,54 (2 H, m), 1,26 - 1,45 (2 H, m).

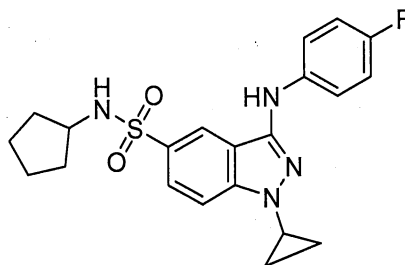
Hợp chất 7



Hợp chất 5 (600mg, 1,6mmol) được hòa tan trong DMF (50mL). 2-bromopropan (0,98g, 8mmol) và K₂CO₃ (0,45g, 5mmol) được thêm vào hỗn hợp này ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở 0°C trong 1 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (cột: Phenomenex Synergi Diamonsil 150*20mm*5um; phương pháp: 25% đến 55% B trong A, A: H₂O+TFA 0,1%, B: CH₃CN; lưu lượng (mL/phút): 40). Các phân đoạn tinh khiết được thu lại và được bazơ hóa đến độ pH=7 bằng dung dịch nước NaHCO₃ bão hòa. Các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không và lớp nước được chiết bằng ethyl axetat (3 x 20mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối và được làm khô trên Na₂SO₄. Dung môi được loại bỏ trong chân không, phần cặn thu được được tạo huyền phù trong nước (5mL) và CH₃CN (2mL) và hỗn hợp này được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 7 (420mg). Phương pháp E; thời gian lưu: 4,90 phút; m/z: 417,1 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 416,2.

^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,27 - 1,41 (m, 4 H), 1,48 (d, $J=6,6$ Hz, 6 H), 1,51 - 1,63 (m, 4 H), 3,38 (quin, $J=6,6$ Hz, 1 H), 4,91 (spt, $J=6,5$ Hz, 1 H), 7,15 (t, $J=8,9$ Hz, 2 H), 7,48 (br. s., 1 H), 7,71 (d, $J=9,0$ Hz, 1 H), 7,74 (dd, $J=9,0$, 1,6 Hz, 1 H), 7,76 (dd, $J=9,0$, 4,8 Hz, 2 H), 8,61 (dd, $J=1,5$, 0,7 Hz, 1 H), 9,34 (s, 1 H).

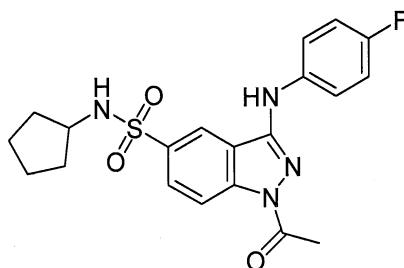
Hợp chất 8



Hợp chất 5 (600mg, 1,6mmol) được hòa tan trong 1,4-dioxan (50mL), axit xyclopropylboronic (690mg, 8mmol), $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ (181mg, 8mmol), Cs_2CO_3 (0,45g, 5mmol) và DMAP (200mg, 1,634mmol) được thêm vào. Hỗn hợp này được khuấy ở 50°C qua đêm. Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao (cột: Phenomenex Synergi Diamonsil $150 \times 20\text{mm} \times 5\mu\text{m}$; phương pháp: từ 25% đến 55% B trong A, A: $\text{H}_2\text{O} + \text{TFA}$ 0,1%, B: CH_3CN ; lưu lượng (mL/phút): 40). Các phân đoạn tinh khiết được thu lại và được bazơ hóa đến độ pH=7 bằng dung dịch nước NaHCO_3 bão hòa. Các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không. Lớp nước được chiết bằng etyl axetat (3 x 20mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được rửa bằng nước muối và được làm khô trên Na_2SO_4 . Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tạo huyền phù trong nước (5mL) và CH_3CN (2mL). Hỗn hợp này được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 8 (380mg).

Phương pháp E; thời gian lưu: 4,74 phút; m/z : 415,1 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$; khối lượng chính xác: 414,2. ^1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,11 - 1,15 (m, 4 H), 1,21 - 1,41 (m, 4 H), 1,45 - 1,66 (m, 4 H), 3,39 (sxt, $J=6,7$ Hz, 1 H), 3,61 - 3,68 (m, 1 H), 7,15 (t, $J=8,9$ Hz, 2 H), 7,51 (d, $J=6,9$ Hz, 1 H), 7,69 (dd, $J=8,9$, 0,5 Hz, 1 H), 7,75 (dd, $J=9,0$, 4,8 Hz, 1 H), 7,79 (dd, $J=8,9$, 1,7 Hz, 2 H), 8,62 (dd, $J=1,8$, 0,6 Hz, 1 H), 9,34 (s, 1 H).

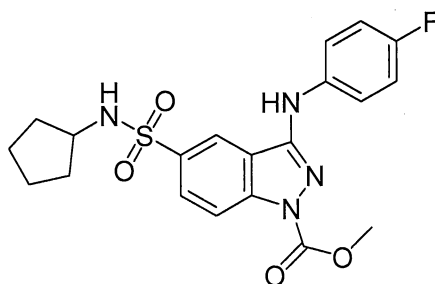
Hợp chất 9



Hợp chất 5 (1,5g, 4mmol) được hòa tan trong Ac_2O (50mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 110°C trong 12 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không, phần cặn thu được được rửa bằng H_2O (5mL) và diclometan (5mL) và được làm khô trong chân không tạo ra hợp chất 9 (1,35g). Phương pháp B; thời gian lưu: 4,70 phút; m/z : 417,2 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; khối lượng chính xác: 416,1.

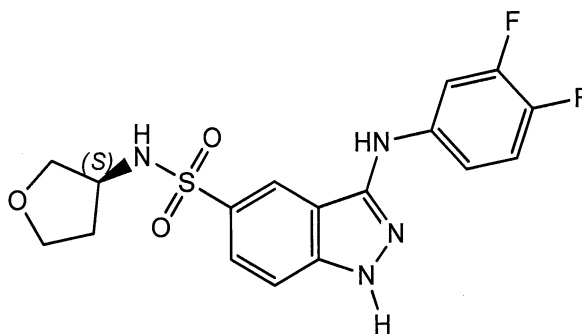
^1H NMR (600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,81 (1 H, s), 8,80 (1 H, dd, $J=1,8, 0,5$ Hz), 8,43 (1 H, dd, $J=8,8, 0,5$ Hz), 8,03 (1 H, dd, $J=8,8, 1,8$ Hz), 7,79 - 7,87 (2 H, m), 7,71 (1 H, d, $J=7,0$ Hz), 7,18 (2 H, t, $J=9,0$ Hz), 3,45 (1 H, sxt, $J=7,0$ Hz), 2,66 (3 H, s), 1,55 - 1,63 (2 H, m), 1,45 - 1,56 (2 H, m), 1,32 - 1,39 (2 H, m), 1,24-1,32 (2 H, m).

Hợp chất 10



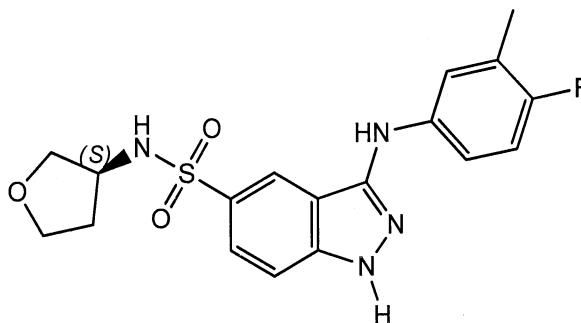
Hợp chất 5 (1,5g, 4mmol) được hòa tan trong DMF (20mL). NaH (0,48g, 20mmol) được thêm vào hỗn hợp này ở 0°C . Metyl carbonocloridat (1,89g, 20mmol) được thêm vào theo từng giọt ở 0°C . Hỗn hợp này được khuấy ở 25°C trong 12 giờ. H_2O (5mL) được thêm vào theo từng giọt ở 0°C . Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn được rửa bằng H_2O (5mL), diclometan (10mL) và N, N-dimetylformamit (5mL) và được làm khô trong chân không, thu được hợp chất 10 (1,33g). Phương pháp B; thời gian lưu: 4,54 phút; m/z : 433,1 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; khối lượng chính xác: 432,1. ^1H NMR (600MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 9,97 (1 H, s), 8,92 (1 H, dd, $J=1,8, 0,6$ Hz), 8,28 (1 H, d, $J=8,8$ Hz), 8,07 (1 H, dd, $J=8,8, 1,8$ Hz), 7,88 - 7,95 (2 H, m), 7,79 (1 H, d, $J=7,0$ Hz), 7,18 - 7,28 (2 H, m), 4,05 (3 H, s), 3,45 - 3,55 (1 H, m), 1,58 - 1,66 (2 H, m), 1,49 - 1,58 (2 H, m), 1,23 - 1,42 (4 H, m).

Hợp chất 11



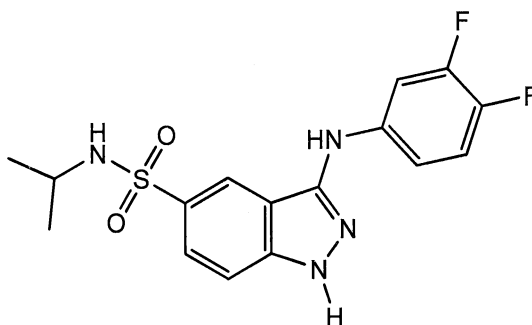
Điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 5 bằng cách sử dụng (3*S*)-tetrahydrofuran-3-amin hydroclorua thay cho xyclopentylamin và 3,4-difloanilin thay cho 4-floanilin. Phương pháp D; thời gian lưu: 5,5 phút; m/z : 395,2 ($M+H$)⁺; khối lượng chính xác: 394,1.

Hợp chất 12



Điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 11 bằng cách sử dụng 4-flo-3-metyl-anilin thay cho 3,4-difloanilin. Phương pháp B; thời gian lưu: 4,15 phút; m/z : 391,2 ($M+H$)⁺; khối lượng chính xác: 390,1.

Hợp chất 13



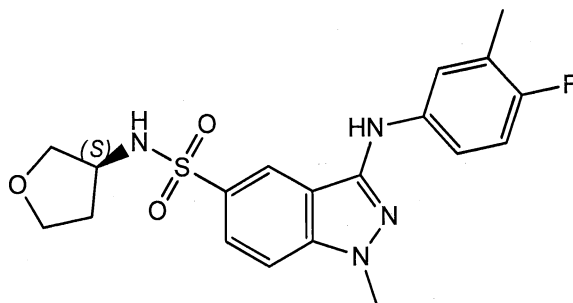
N,N-diisopropyletylamin (3,53g, 27,3mmol) được thêm vào dung dịch chứa 3-xyano-4-flobenzensulfonyl clorua (3g, 13,7mmol) và isopropylamin (1,211g, 20,49mmol) trong CH₂Cl₂ (30mL). Hỗn hợp thu được được khuấy ở 18°C trong 2 giờ.

Hỗn hợp phản ứng này được rửa bằng HCl 1N (25mL) và dung dịch nước bão hòa NaHCO_3 (25mL), được làm khô trên Na_2SO_4 và được cô trong chân không, thu được sản phẩm thô 3-xyano-4-flo-N-isopropyl-benzensulfonamit (3,4g). Hydrazin (0,77g, 23,9mmol) được thêm vào dung dịch chứa sản phẩm thô 3-xyano-4-flo-N-isopropyl-benzensulfonamit (2,9g) trong 2-propanol (30mL). Hỗn hợp thu được được đun hồi lưu ở 110° trong 1 giờ. Hỗn hợp này được cô dưới áp suất giảm, thu được sản phẩm thô 3-amino-N-isopropyl-1H-indazol-5-sulfonamit (4,1g).

Dung dịch chứa đồng(II) axetat (714mg, 3,93mmol) trong CH_2Cl_2 (15mL) được khuấy trong 5 phút. Sản phẩm thô 3-amino-N-isopropyl-1H-indazol-5-sulfonamit (1g), axit 3,4-diflophenylboronic (620,9mg, 3,9mmol) và N,N-diisopropyletylamin (508mg, 3,9mmol) được thêm vào. Hỗn hợp thu được được khuấy và được đun hồi lưu ở 50°C trong môi trường O_2 qua đêm. Lớp hữu cơ được tách và lớp nước được chiết bằng diclometan (20mL). Các lớp hữu cơ gộp lại được làm khô trên Na_2SO_4 và được cô dưới áp suất giảm, thu được hợp chất thô 13.

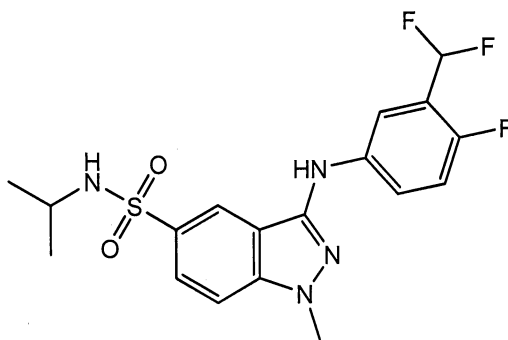
Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng điều chế hiệu năng cao trên pha đảo (chất rửa giải: CH_3CN trong H_2O ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,05%) từ 38% đến 68%, thể tích/thể tích). Các phân đoạn tinh khiết chứa hợp chất 13 được thu lại và các chất hữu cơ được loại bỏ trong chân không. Lớp nước được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 13 (114mg). Phương pháp B; thời gian lưu: 4,23 phút; m/z: 367 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; khối lượng chính xác: 366,1.

Hợp chất 14



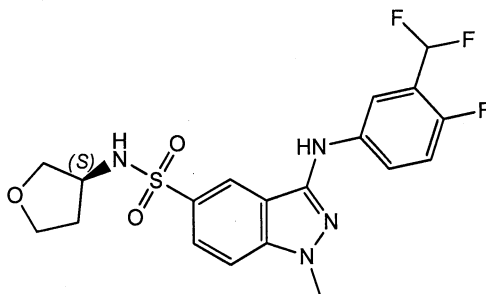
Điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 12 bằng cách sử dụng metylhydrazin thay cho hydrazin hydrat. Phương pháp D; thời gian lưu: 5,88 phút; m/z: 405,3 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; khối lượng chính xác: 404,1.

Hợp chất 15



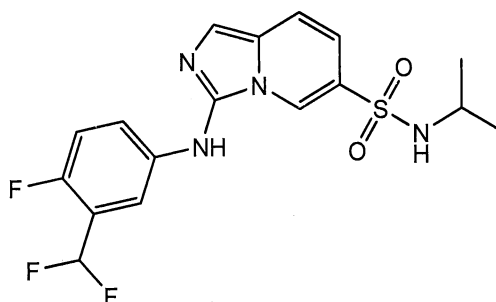
Điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 5 bằng cách sử dụng isopropylamin thay cho xyclopentylamin, 3-(diflometyl)-4-flo-anilin thay cho 4-floanilin và metylhydrazin thay cho hydrazin hydrat. Phương pháp B; thời gian lưu: 4,71 phút; m/z : 413,3 ($M+H$)⁺; khối lượng chính xác: 412,1. ¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,93 (d, $J=6,5$ Hz, 6 H) 3,08 - 3,28 (m, 1 H) 3,97 (s, 3 H) 7,23 (t, $J=54,2$ Hz, 1 H) 7,28 - 7,42 (m, 1 H) 7,46 (br. s, 1 H) 7,63 - 7,72 (m, 1 H) 7,72 - 7,84 (m, 1 H) 7,91 - 8,04 (m, 2 H) 8,62 (s, 1 H) 9,59 (s, 1 H).

Hợp chất 16



Điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 15 bằng cách sử dụng (3*S*)-tetrahydrofuran-3-amin hydroclorua thay cho isopropylamin. Phương pháp D; thời gian lưu: 5,84 phút; m/z : 441,2 ($M+H$)⁺; khối lượng chính xác: 440,1.

Hợp chất 17



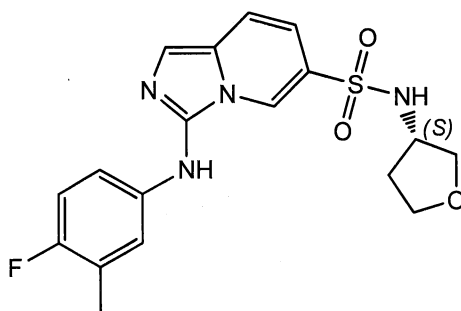
3-(diflometyl)-4-flo-anilin (1000mg, 6,2mmol), 1,1'-thiocarbonyldi-2(1h)-pyridon (1,72g, 7,4mmol) và CH_2Cl_2 được thêm tuần tự vào lọ loại 20mL ở 25°C. Hỗn hợp này được làm nóng bằng bức xạ vi sóng ở 70°C trong 1 giờ.

Hỗn hợp này được làm dừng bằng nước, được chiết bằng diclometan (20mL).

Lớp hữu cơ được tách và được cô trong chân không. Phần cặn thu được (1,8g) chứa 2-(diflometyl)-1-flo-4-isothioxyanato-benzen, được sử dụng mà không cần tinh chế. 6-clo-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (4g, 17,0mmol), kẽm xyanua (4,0g, 34mmol), paladi(II) axetat (381mg, 1,7mmol), 1,1'-bis(diphenylphosphino)feroxen (942mg, 1,7mmol) và N,N-dimetylaxetamit (50mL) được thêm tuần tự ở 25°C vào bình loại 250mL. Hỗn hợp này được làm ấm đến 60°C và được khuấy trong 2 giờ trong môi trường khí nitơ. Hỗn hợp này được làm dừng bằng nước, được chiết bằng diclometan (50mL). Lớp hữu cơ được tách và được cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột silicagel (ete dầu mỏ và etyl axetat (3:1), thu được 6-xyano-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (3,4g). 6-xyano-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (2g) và niken (xương, được thúc đẩy bằng molybden, 280mg) được hòa tan trong metanol (2mL). Hỗn hợp này được khuấy trong nồi hấp (được khử khí bằng khí hydro ba lần). Hỗn hợp này được khuấy ở 50°C trong 12 giờ trong môi trường khí hydro (50psi (0,34MPa)). Hỗn hợp này được lọc ra và các chất dễ bay hơi được loại bỏ trong chân không. Sản phẩm thô 6-(aminometyl)-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (1,5g) được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế. Sản phẩm thô 6-(aminometyl)-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (1,5g) và 2-(diflometyl)-1-flo-4-isothioxyanato-benzen (1,3g) được hòa tan trong toluen (20mL). Hỗn hợp này được khuấy ở 120°C trong 12 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không. Phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột silicagel (chất rửa giải: ete dầu mỏ:etyl axetat=3:1), thu được 1-[3-(diflometyl)-4-flo-phenyl]-3-[[5-(isopropylsulfamoyl)-2-pyridyl]metyl]thioure (0,9g). 1-[3-(diflometyl)-4-flo-phenyl]-3-[[5-(isopropylsulfamoyl)-2-pyridyl]metyl]thioure (0,9g) và DCC (0,9g, 4,2mmol) được hòa tan trong toluen. Hỗn hợp này được khuấy ở 120°C trong 12 giờ. Dung môi được loại bỏ trong chân không và phần cặn thu được được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao trên pha đảo (pha động: CH_3CN trong nước (TFA 0,1%) từ 0 đến 30%). Các phân đoạn tinh khiết được thu lại và được trung hòa bằng NaHCO_3 rắn. Dung môi hữu cơ được loại bỏ trong chân không. Chất kết tủa tạo thành được lọc, được rửa bằng H_2O (5mL) và được làm khô trong chân không.

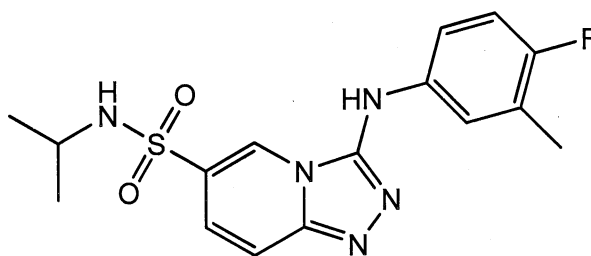
cao. Phần cặn được tạo huyền phù trong nước (5mL) và lớp nước được làm đông khô đến khi khô, thu được hợp chất 17 (290mg). Phương pháp B; thời gian lưu: 3,87 phút; m/z: 399,3 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 398,1. ¹H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,99 (d, J=6,3 Hz, 6 H) 3,20-3,33 (m, 1 H) 6,72 (d, J=9,5 Hz, 1 H) 7,20 (t, J=53,5 Hz, 1 H) 7,23 - 7,37 (m, 2 H) 7,56 (d, J=9,5 Hz, 1 H) 7,66-7,85 (m, 2 H) 7,93 (d, J=3,3 Hz, 1 H) 8,75 (s, 1 H) 9,56 (br. s., 1 H).

Hợp chất 18



2-clopyridin-5-sulfonyl clorua (10g, 47,1mmol) và (S)-3-aminotetrahydrofuran tosylat (3,3g, 38mmol) được thêm tuần tự ở 0°C vào CH₂Cl₂ (200mL), trietylamin được thêm vào từ từ. Hỗn hợp này được làm ấm đến 25°C và được khuấy trong 2 giờ. Hỗn hợp này được làm dừng bằng nước, được chiết bằng diclometan (100mL). Lớp hữu cơ được tách và được cô trong chân không. Sản phẩm thô được tinh chế bằng kỹ thuật sắc ký cột được rửa giải bằng ete dầu mỏ và etyl axetat (3:1), thu được 6-clo-N-[(3S)-tetrahydrofuran-3-yl]pyridin-3-sulfonamid. Hợp chất 18 được điều chế theo cách tương tự như được mô tả cho hợp chất 17, bằng cách sử dụng 6-clo-N-[(3S)-tetrahydrofuran-3-yl]pyridin-3-sulfonamid thay cho 6-clo-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamid và 4-flo-3-metylphenyl isothioxyanat thay cho 2-(diflometyl)-1-flo-4-isothioxyanato-benzen. Phương pháp B; thời gian lưu: 3,35 phút; m/z: 391,3 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 390,1.

Hợp chất 19



6-clo-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (1,03g, 4,38mmol) và hydrazin (1,54g, 48,2mmol) trong EtOH (5mL) được làm nóng ở 85°C trong suốt 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội trong bể nước đá trong 1 giờ. Các tinh thể màu trắng tạo thành được lọc ra, được rửa bằng etanol lạnh (5mL) và được làm khô trong chân không ở 50°C trong suốt 2 giờ, thu được 6-hydrazino-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (694mg). Dung dịch chứa 4-flo-3-metylphenyl isothioxyanat (477mg, 2,86mmol) trong THF (10mL) được thêm theo từng phần trong 3 phút vào dung dịch chứa 6-hydrazino-N-isopropyl-pyridin-3-sulfonamit (679mg, 2,86mmol) trong THF và được khuấy 90 phút. Hỗn hợp phản ứng được cô và chất bột màu trắng thu được được làm kết tinh từ axetonitril/nước. Các tinh thể màu trắng (844mg) được lọc ra và được làm khô trong chân không ở 50°C. NEt₃ (0,62mL, 4,45mmol) được thêm vào dung dịch chứa một phần của các tinh thể màu trắng (738mg) trong THF (50mL), sau đó là 2-clo-1-metylpyridini iodua (569mg, 2,23mmol) và được khuấy. Hỗn hợp phản ứng được để yên qua đêm và tiếp đó được cô trong chân không. Phần cặn thu được được khuấy trong CH₂Cl₂/HCl 1M 100 mL/100 mL. Chất kết tủa màu vàng được lọc ra, được hòa tan trong lượng metanol tối thiểu và được nạp lên trên ống Waters Porapak CX 5g (được rửa giải hai lần bằng metanol và sản phẩm được rửa giải bằng 2 lần thể tích NH₃ 7M/CH₃OH). Sau khi cô phân đoạn sản phẩm trong chân không, phần cặn thu được được đưa sang bước sắc ký cột silicagel (2 đến 10% CH₃OH trong diclometan), thu được hợp chất 19 (75mg). Phương pháp F; thời gian lưu: 1,59 phút; m/z: 364,1 (M+H)⁺; khối lượng chính xác: 363,1. ¹ H NMR (400MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,01 (d, J=6,6 Hz, 6 H), 2,26 (d, J=1,5 Hz, 3 H), 3,25-3,40 (1H, tín hiệu proton dưới đỉnh cực đại H₂O theo 2D-cosy), 7,12 (t, J=9,1 Hz, 1 H), 7,36 (dd, J=9,7, 1,5 Hz, 1 H), 7,52 - 7,59 (m, 1 H), 7,65 (dd, J=6,8, 2,6 Hz, 1 H), 7,76 (dd, J=9,7, 0,9 Hz, 1 H), 8,04 (br. s, 1 H), 9,07 (d, J=1,1 Hz, 1 H), 9,65 (br. s, 1 H).

Các ví dụ sinh học – Hoạt tính kháng HBV của hợp chất có công thức (I)

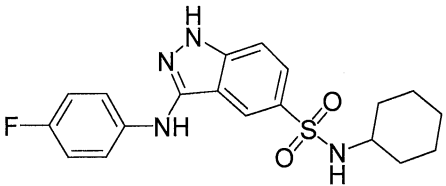
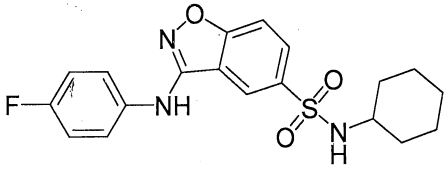
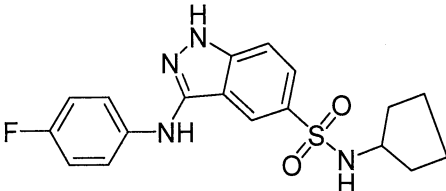
Hoạt tính kháng HBV được đo bằng cách sử dụng dòng tế bào được chuyển nhiễm ổn định, HepG2.2.15. Dòng tế bào này được mô tả là tiết ra lượng hạt virion HBV tương đối cao ổn định, mà đã được chứng minh là gây ra sự lây nhiễm và bệnh cấp tính và mạn tính ở hắc tinh tinh. Đối với thử nghiệm kháng virus này, các tế bào được xử lý hai lần trong ba ngày bằng hợp chất được pha loãng theo dãy trong các đĩa loại 96 giếng với hai lần lặp lại. Sau 6 ngày xử lý, hoạt tính kháng virus được xác định bằng cách định lượng

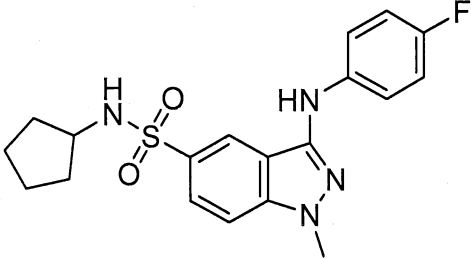
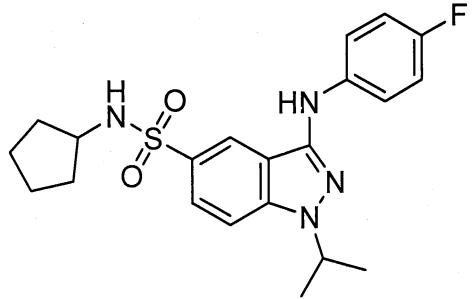
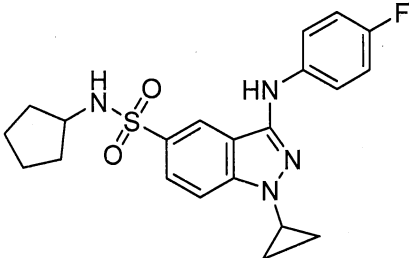
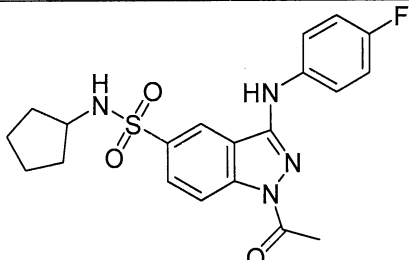
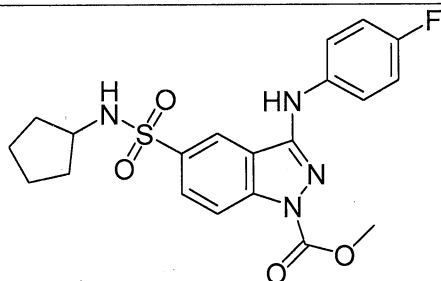
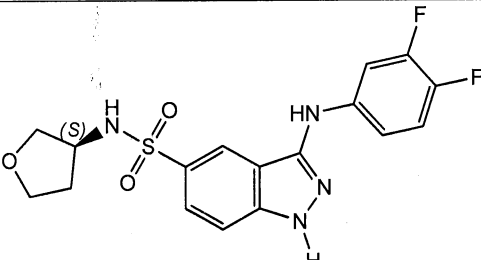
ADN của HBV được tinh chế từ các virion được tiết ra bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR thời gian thực và mẫu dò và bộ môi đặc hiệu HBV.

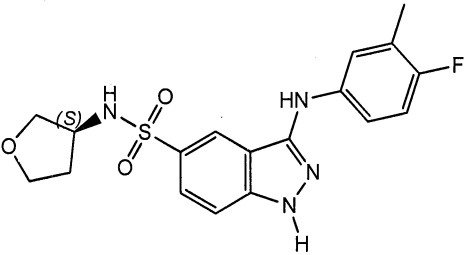
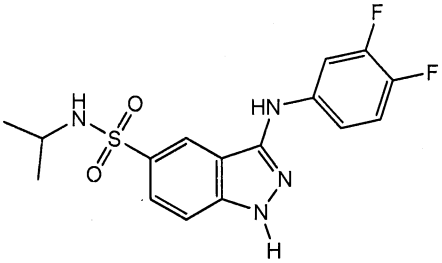
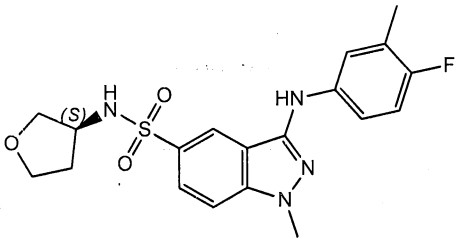
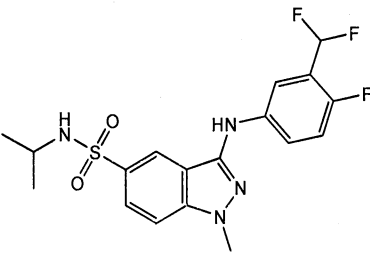
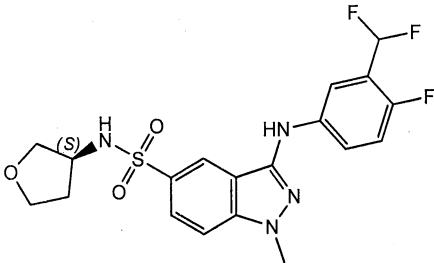
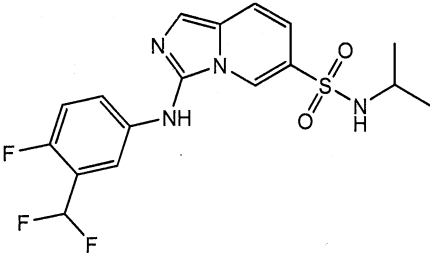
Hoạt tính kháng HBV cũng được đo bằng cách sử dụng dòng tế bào HepG2.117, là dòng tế bào sản xuất HBV theo cách cảm ứng, ổn định, mà sao chép HBV trong điều kiện không có mặt doxixyclin (hệ tắt Tet). Đối với thử nghiệm kháng virus này, sự sao chép HBV được gây cảm ứng, sau đó là xử lý bằng hợp chất được pha loãng theo dãy trong các đĩa loại 96 giếng với hai lần lặp lại. Sau 3 ngày xử lý, hoạt tính kháng virus được xác định bằng cách định lượng ADN của HBV nội bào bằng cách sử dụng kỹ thuật PCR thời gian thực và mẫu dò và bộ môi đặc hiệu HBV.

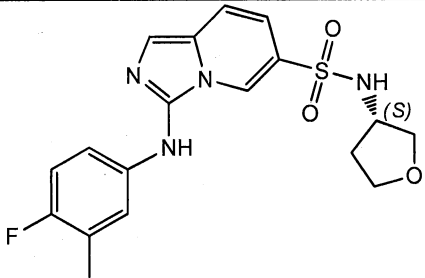
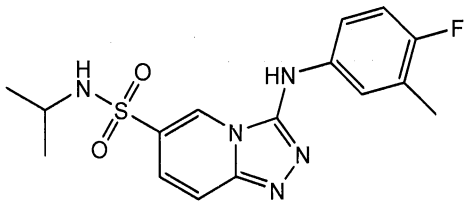
Khả năng gây độc tế bào của các hợp chất cũng được thử nghiệm bằng cách sử dụng tế bào HepG2, được ủ trong 4 ngày trong điều kiện có mặt các hợp chất. Khả năng sống sót của tế bào được đánh giá bằng cách sử dụng thử nghiệm Resazurin. Kết quả được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1

Cấu trúc	Hợp chất	HBV - HepG2.15; EC50 (μ M)	HepG2 117 EC50 (μ M)	HepG2 4 ngày CC50 (μ M)
	3	1,0	4,6	>25
	4	0,74	1,2	>25
	5	1,0	1,8	>25

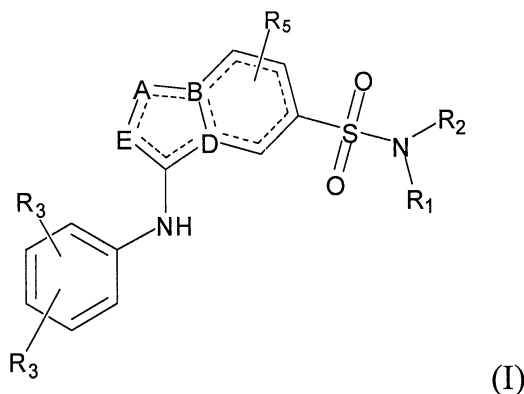
Cấu trúc	Hợp chất	HBV - HepG2.15; EC50 (μ M)	HepG2 117 EC50 (μ M)	HepG2 4 ngày CC50 (μ M)
	6	0,49	0,82	>25
	7	>50	>25	>25
	8	0,21	0,62	>25
	9	>50	18,4	>25
	10	46,5	>25	>25
	11	3,3	12,4	>25

Cấu trúc	Hợp chất	HBV - HepG2.15; EC50 (μ M)	HepG2 117 EC50 (μ M)	HepG2 4 ngày CC50 (μ M)
	12	5,2	>25	>25
	13	8,9	>25	>25
	14	1,1	8,5	>25
	15	0,44	2,8	>25
	16	1,3	4,5	>25
	17	0,56	14,2	>25

Cấu trúc	Hợp chất	HBV - HepG2.15; EC50 (μ M)	HepG2 117 EC50 (μ M)	HepG2 4 ngày CC50 (μ M)
	18	1,7	>25	>25
	19	1,2	3,4	>25

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



hoặc chất đồng phân lập thể hoặc dạng hỗn biến của nó, trong đó:

A là N, C hoặc O;

B là C hoặc N;

D là C hoặc N;

E là C hoặc N;

trong đó nếu A và E là N hoặc C, thì chúng được thế tùy ý bằng R₄;

R₁ là hydro hoặc C₁-C₃alkyl;

R₂ là C₁-C₆alkyl, C₁-C₃alkyl-R₆, benzyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, C₁-C₆alkyl hoặc vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C₁-C₃alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H hoặc CF₃;

hoặc R₁ R₂ cùng với nitơ mà chúng gắn vào tạo thành vòng no có 5 đến 7 cạnh được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halogen, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₃alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H và CF₃;

mỗi nhóm R₃ độc lập được chọn từ hydro, halo, C₁-C₄alkyloxy, C₁-C₄alkyl, OH, CN, CFH₂, CF₂H, CF₃ hoặc vòng no có 3 đến 5 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O và N;

R₄ là hydro, C₁-C₄alkyl, C₃-C₅cycloalkyl, -(C=O)C₁-C₄-alkyl, -(C=O)-C₁-C₃alkyloxy, hoặc trong trường hợp A hoặc E là C, thì R₄ còn có thể là halogen;

R_5 là hydro hoặc halogen;

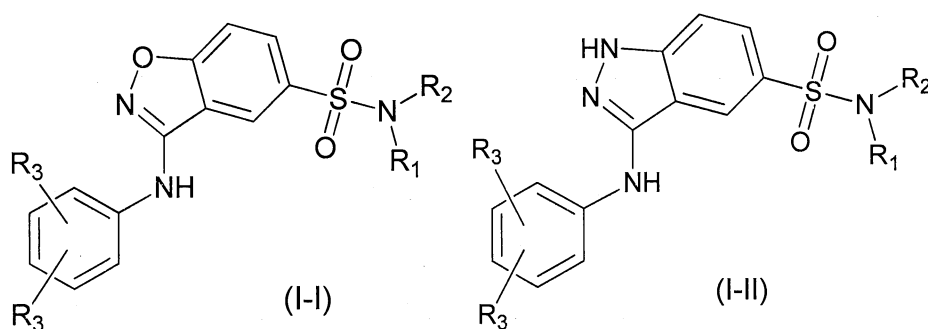
R_6 là vòng no có 3 đến 7 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O, S và N, vòng no có 3 đến 7 cạnh này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C_1 - C_3 alkyloxy, C_1 - C_4 alkyl, OH, CN, CFH_2 , CF_2H , CF_3 ;

hoặc muối được dụng hoặc solvat của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R_2 là C_1 - C_3 alkyl- R_6 hoặc C_4 - C_7 xycloalkyl, được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C_1 - C_3 alkyloxy, C_1 - C_4 alkyl, OH, CN, CFH_2 , CF_2H , CF_3 , và trong đó R_6 là C_4 - C_7 xycloalkyl, được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo, C_1 - C_3 alkyloxy, C_1 - C_4 alkyl, OH, CN, CFH_2 , CF_2H , CF_3 .

3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó ít nhất một R_3 độc lập được chọn từ hydro, halogen, C_1 - C_4 alkyl hoặc vòng no có 3 đến 5 cạnh tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại, mỗi nguyên tử khác loại này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm O và N.

4. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó hợp chất này có công thức (I-I) hoặc (I-II):



trong đó R_1 , R_2 và R_3 được xác định như trong điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên.

5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_2 là C_5 -xycloalkyl hoặc C_6 -xycloalkyl, được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều nhóm thế, mỗi nhóm thế này độc lập được chọn từ nhóm bao gồm hydro, halo và C_1 - C_4 alkyl.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó ít nhất một R_3 độc lập được chọn từ flo, C_1 - C_3 alkyl hoặc xyclopropyl.

7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_1 là hydro hoặc metyl.
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó R_4 là hydro.
9. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 và chất mang dược dụng.
10. Sản phẩm chứa (a) hợp chất có công thức (I) theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8 và (b) chất ức chế virus viêm gan B (HBV) khác được chọn từ nhóm bao gồm interferon- α (IFN- α), interferon- α đã pegyl hóa, 3TC, adefovir và tổ hợp của chúng, dưới dạng chế phẩm kết hợp để sử dụng đồng thời, riêng biệt hoặc liên tiếp trong điều trị bệnh nhiễm HBV.