



(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)



1-0025563

(51)⁷ C07D 471/04; C07D 495/14; C07D
471/14; A61K 31/44

(13) B

(21) 1-2016-04797

(22) 02/06/2015

(86) PCT/IB2015/054174 02/06/2015

(87) WO 2015/186063 A1 10/12/2015

(30) 14170976.6 03/06/2014 EP

(45) 25/09/2020 390

(43) 27/02/2017 347A

(73) NOVARTIS AG (CH)

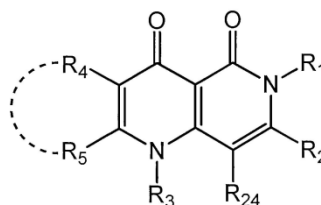
Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland

(72) REINHARDT, Juergen (DE); SCHMIEDEBERG, Niko (DE); SPANKA, Carsten (DE).

(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) HỢP CHẤT NAPHTYRIDINDION, DƯỢC PHẨM VÀ CHẾ PHẨM KẾT HỢP CHỨA HỢP CHẤT NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I'):



(I')

hoặc muối của nó, trong đó các phần tử thế là như được xác định trong bản mô tả; dược phẩm và chế phẩm kết hợp chứa nó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất naphthyridindion, dược phẩm và chế phẩm kết hợp chứa hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nhiều bệnh di truyền ở người là do các đột biến vô nghĩa (xem Keeling et al, WIREs RNA, 2011, 2, 837-852; Linde et al, Trends in Genetics, 2008, 24(11), 552-563; và Roza et al, Pharmacology & Therapeutics, 2012 136(2), 227-266).

Đột biến vô nghĩa là đột biến di truyền dẫn đến sự biến đổi codon có nghĩa thành codon kết thúc sớm (premature termination codon – sau đây gọi là PTC) ở phía trước so với codon kết thúc thông thường.

Các codon kết thúc ở sinh vật nhân điển hình là UAA, UAG hoặc UGA.

Codon kết thúc thông thường kết thúc dịch mã gen và cho phép tổng hợp protein kiểu đại, có chiều dài đầy đủ. PTC ngăn chặn quá trình tổng hợp protein kiểu đại như vậy và dẫn đến các protein bị cắt ngắn, trong nhiều trường hợp là không có hoạt tính. Sự thiếu hụt một phần hoặc toàn bộ protein tạo thành dẫn đến các bệnh lý của bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa này.

Đột biến vô nghĩa có thể là đột biến đúng khung, ví dụ, trao đổi axit nucleic đơn biến một codon đơn thành PTC, hoặc đột biến dịch khung, ví dụ việc chèn/xóa axit nucleic đơn biến codon chịu tác động thành PTC.

Hợp chất có khả năng kìm hãm tác động của đột biến vô nghĩa sau đây được gọi là “chất kìm hãm đột biến vô nghĩa”.

Một cơ chế để kìm hãm tác động của đột biến vô nghĩa là tăng tốc độ của các sự kiện đọc xuyên trong suốt quá trình dịch mã. Hợp chất có cơ chế hoạt động này ở đây gọi là “chất kích hoạt đọc xuyên”. Trong sự kiện đọc xuyên, aminoacyl tARN mang cognat gần được sử dụng để mã hóa lại codon kết thúc thành codon có nghĩa. Trong các điều kiện cơ bản, việc mã hóa lại PTC thành codon có nghĩa xảy ra ở tần suất ít hơn 1% các dự kiện dịch mã, trong khi sự kìm hãm codon kết thúc thông thường xảy

ra ở tần suất <0,1%. Các amino axit được chèn vào bằng cách mã hóa lại sẽ không nhất thiết giống với các amino axit tương ứng của protein kiểu dại; tuy nhiên nhiều sự thay thế amino axit được dung nạp về chức năng. Vì vậy, protein được tạo ra bằng sự kích hoạt đọc xuyên có thể có hoạt tính rất giống với protein kiểu dại. Hậu quả là, bằng cách tăng tốc độ mã hóa lại PTC, protein đủ chức năng có thể được khôi phục để đem lại lợi ích điều trị cho bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa.

Cơ chế khác để kìm hãm tác động của đột biến vô nghĩa là ức chế sự phân rã mRNA qua trung gian mã vô nghĩa (nonsense-mediated mRNA decay - NMD). Hợp chất có cơ chế hoạt động này ở đây được gọi là “chất ức chế NMD”. NMD điều hòa tổng mức của sản phẩm phiên mã mang PTC: nó phát hiện và phá hủy các sản phẩm phiên mã như vậy để ngăn quá trình tổng hợp của các protein bị cắt, các protein này có thể là không có chức năng hoặc có hại do hiệu ứng âm tính trội hoặc thêm chức năng. Sự ức chế NMD làm tăng số lượng các sản phẩm phiên mã sẵn có mà cũng có thể là cơ chế khôi phục protein đủ chức năng để đem lại lợi ích điều trị.

Các hợp chất được mô tả như là chất kìm hãm sự đột biến vô nghĩa là các chất kháng sinh aminoglycosit nhất định, ví dụ trong WO2007113841, và các axit 1,2,4-oxadiazol benzoic nhất định, ví dụ trong công bố đơn quốc tế số WO2004091502 và hợp chất thường được gọi là amlexanox (công bố đơn quốc tế số WO2012016930). Công bố đơn quốc tế số WO2009086303 mô tả các chất để gia tăng tuổi thọ. Công bố đơn quốc tế số WO96/28444 mô tả các hợp chất dihydropyrimidoquinolinon làm các chất ức chế tyrosin kinaza.

Các dẫn xuất pyridopyrimidindion khác được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO199208719, trong Synthetic Communications, 1999, 29(22), 3919-3937, trong Monatshefte fuer Chemie, 1996, 127(8/9), 917-925.

Các chất kìm hãm đột biến vô nghĩa được xem là hữu ích trong điều trị một loạt các bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa. Các ví dụ đáng chú ý về bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa là các bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong enzym của lysosome, ví dụ bệnh khuyết tật mucopolysaccharidosis I (hội chứng Hurler) gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong alpha-L-iduronidaza; bệnh máu khó đông A hoặc bệnh máu khó đông B gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong các yếu tố đông máu 7, 8 hoặc 9; bệnh xơ nang gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong kênh clorua CFTR; bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa

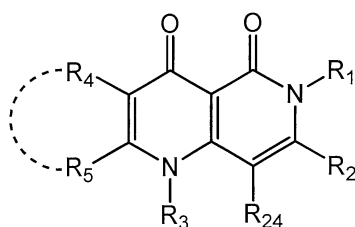
trong protein cấu trúc, ví dụ bệnh teo cơ Duchenne hoặc Becker gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong dystrophin; hoặc bệnh ung thư gây ra bởi đột biến vô nghĩa trong APC hoặc p53.

Tồn tại nhu cầu tạo ra các chất kim hãm đột biến vô nghĩa mới là các ứng viên thuốc tốt. Cụ thể là, các hợp chất được ưu tiên nên là các chất kim hãm đột biến vô nghĩa mạnh trong khi chỉ cho thấy hiệu quả thấp trong các khảo nghiệm được chất đích, ví dụ các khảo nghiệm GPCR hoặc kênh ion. Chúng cần thể hiện khả năng gắn kết với protein huyết tương. Chúng phải được hấp thụ tốt qua đường tiêu hóa, đủ ổn định trong trao đổi chất và có đặc tính dược động học thuận lợi. Chúng phải không độc và biểu hiện ít tác dụng phụ. Ngoài ra, ứng viên thuốc lý tưởng sẽ có khả năng tồn tại ở dạng vật lý ổn định, không hút ẩm và dễ bào chế.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế là các chất kim hãm đột biến vô nghĩa và do đó có tiềm năng hữu ích trong điều trị một loạt bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa, trong đó cụ thể là bệnh được chọn từ bệnh máu khó đông A, bệnh máu khó đông B, bệnh xơ nang, bệnh khuyết tật mucopolysaccharidosis I, bệnh teo cơ Duchenne, bệnh teo cơ Becker, bệnh ung thư do mất APC và bệnh ung thư do mất p53.

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng:



(I')

trong đó:

- a) R₁ là hệ vòng không thơm, no hoặc không no, một vòng có năm đến sáu cạnh, trong đó hệ vòng đã nêu có thể chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, và trong đó hệ vòng đã nêu có thể được thế một lần

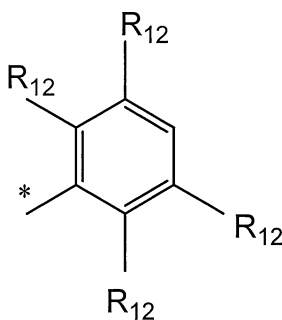
hoặc nhiều lần bằng R_6 , trong đó mỗi R_6 độc lập là halogen, hydroxyl, amino, xyano, nitro, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} halogenalkyl, C_{1-4} alkoxy hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

và

R_2 là C_{2-6} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

b) R_1 là



trong đó vòng phenyl được gắn vào thông qua liên kết được đánh dấu bằng dấu sao;

mỗi R_{12} là hydro;

và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

c) R_1 là vòng được chọn từ pyrrolyl và pyridin-2-yl, vòng này có thể được thế bằng C_{1-3} alkyl; và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

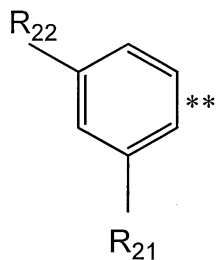
R_3 là hydro hoặc $-CH_2R_{18}$ và R_{18} là hydro;

R_4 và R_5 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_3 alkyl;

hoặc

R_4 và R_5 cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng, vòng này được chọn từ:

- vòng carboxyclic một vòng không thơm có 5 đến 7 cạnh có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_{19} ;
- vòng thiophen, có thể được thế một lần bằng R_{20} ; và



- , vòng này ngưng tụ với phần còn lại của phân tử bằng liên kết được đánh dấu bằng hai dấu sao;

R₁₉ và R₂₀ độc lập được chọn từ halogen và C₁-C₃alkyl;

R₂₁ là hydro,

hoặc

R₃ và R₂₁ hợp lại là -CH₂-CH₂-;

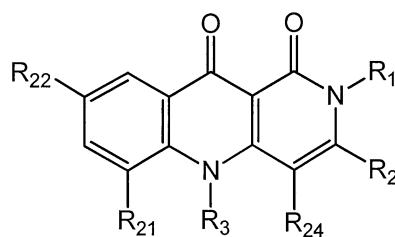
R₂₂ là hydro; và

R₂₄ là hydro hoặc halogen.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất được phẩm và chế phẩm kết hợp chứa hợp chất này.

Mô tả chi tiết sáng chế

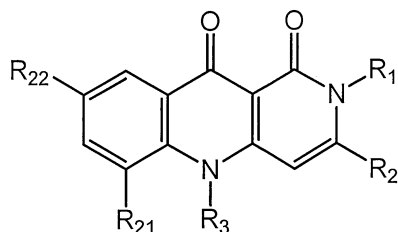
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ia') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng là:



(Ia')

trong đó R₁, R₂, R₃, R₂₁, R₂₂, R₂₄ là như được xác định ở đây liên quan đến hợp chất có công thức (I').

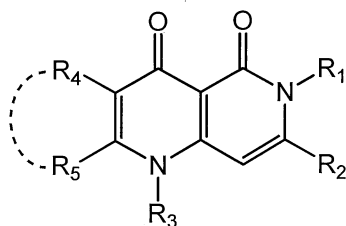
Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ia) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng, hợp chất này là:



(Ia)

trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_{21} và R_{22} là như được xác định ở đây liên quan đến hợp chất có công thức (I).

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng, hợp chất này là:



(Ib)

trong đó R_1 , R_2 , R_3 , R_4 và R_5 là như được xác định ở đây liên quan đến hợp chất có công thức (I).

Trừ khi có quy định khác, thuật ngữ “các hợp chất theo sáng chế” dùng để chỉ các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') và (Ib); các muối của các hợp chất này; hydrat hoặc solvat của các hợp chất này và/hoặc các muối; cũng như tất cả các chất đồng phân lập thể (bao gồm các chất đồng phân không đối quang), các tautome và các hợp chất được đánh dấu đồng vị (bao gồm cả sự thể đơteri); cũng như các gốc vốn đã hình thành (ví dụ các chất đa hình, solvat và/hoặc hydrat).

Trừ khi có chỉ định khác, các từ ngữ được sử dụng trong sáng chế có ý nghĩa sau:

“Alkyl” là nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh và có thể là, ví dụ, metyl, etyl, n- hoặc iso-propyl hoặc n-, iso-, sec- hoặc tert-butyl; C_{2-7} alkyl tốt hơn là C_{2-4} alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, đặc biệt tốt hơn là etyl, n-propyl, iso-propyl và tert-

butyl. C_{1-4} alkyl tốt hơn là C_{1-3} alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, đặc biệt tốt hơn là metyl, etyl, n-propyl và iso-propyl.

Mỗi phần alkyl của “alkoxy”, “halogenalkyl”, “hydroxyalkyl”, “aminoalkyl”, “alkoxyalkyl”, và vân vân sẽ có cùng ý nghĩa như được mô tả trong định nghĩa về “alkyl” ở trên, đặc biệt là liên quan đến tính chất tuyến tính và kích thước ưu tiên, trừ khi kích thước này được cụ thể hóa thêm.

“ C_{3-6} cycloalkyl” là gốc alicyclic no có từ ba đến sáu nguyên tử cacbon. Thuật ngữ này dùng để chỉ các nhóm chẳng hạn như cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl và cyclohexyl.

Phần tử thế được thế “một hoặc nhiều lần” tốt hơn là được thế bằng một đến ba phần tử thế, ví dụ như liên quan tới R_1 đã định nghĩa. Do đó, “một hoặc nhiều lần” bao gồm nhưng không giới hạn ở một, hai hoặc ba phần tử thế.

Halogen nói chung là flo, clo, brom hoặc iot; tốt hơn là flo, clo hoặc brom. Các nhóm halogenalkyl tốt hơn là có chiều dài mạch là 1 đến 4 nguyên tử cacbon và là, ví dụ, flometyl, diflometyl, triflometyl, clometyl, diclometyl, triclometyl, 2,2,2-trifloetyl, 2-floetyl, 2-cloetyl, pentaflloetyl, 1,1-diflo-2,2,2-tricloetyl, 2,2,2-tricloetyl, 1,1,2,2-tetraflloetyl, 2,2,3,3-tetrafllopropyl, 2,2,3,3,3-pentafllopropyl hoặc 2,2,3,4,4,4-hexafllobutyl.

Ví dụ về các hệ dị vòng là: pyrol, pyrolin, pyrrolidin, pyrazol, pyrazolin, pyrazolidin, imidazol, imidazolin, imidazolidin, triazol, triazolin, triazolidin, tetrazol, furan, dihydrofuran, tetrahydrofuran, oxadiazol, dioxolan, thiophen, dihydrothiophen, tetrahydrothiophen, oxazol, oxazolin, oxazolidin, isoxazol, isoxazolin, isoxazolidin, thiazol, thiazolin, thiazolidin, isothiazol, isothiazolin, isothiazolidin, thiadiazol, thiadiazolin, thiadiazolidin, pyridin, piperidin, pyridazin, pyrazin, pyrimidin, piperazin, triazin, pyran, tetrahydropyran, thiopyran, tetrahydrothiopyran, oxazin, thiazin, morpholin.

Các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) có thể tồn tại ở dạng hoạt quang hoặc ở dạng hỗn hợp các chất đồng phân quang học, ví dụ ở dạng hỗn hợp racemic hoặc hỗn hợp đồng phân không đối quang. Cụ thể là, (các) nguyên tử cacbon không đối xứng có thể có mặt trong các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) và muối của chúng. Trừ khi có đề xuất khác ở đây, tất cả các chất đồng phân quang

học và hỗn hợp của chúng, bao gồm các hỗn hợp raxemic, cũng được bao hàm trong sáng chế.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “các chất đồng phân” dùng để chỉ các hợp chất khác nhau mà có cùng công thức phân tử nhưng khác nhau về sự sắp xếp và cấu hình của các nguyên tử. Ngoài ra, như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chất đồng phân quang học” hoặc “chất đồng phân lập thể” dùng để chỉ cấu hình bất kỳ trong số các cấu hình đồng phân lập thể khác nhau mà có thể tồn tại đối với hợp chất cho trước theo sáng chế và bao gồm cả các chất đồng phân hình học. Cần hiểu là, phân tử thể có thể được gắn ở tâm không đối xứng của nguyên tử carbon. Thuật ngữ “không đối xứng” dùng để chỉ các phân tử có tính chất không chồng khít lên nhau trên phần ảnh gương của chúng, trong khi thuật ngữ “đối xứng” dùng để chỉ các phân tử mà có thể chồng khít lên nhau trên phần ảnh gương của chúng. Do đó, sáng chế bao gồm các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang hoặc raxemat của hợp chất. “Chất đồng phân đối ảnh” là một cặp chất đồng phân lập thể mà các ảnh gương không thể chồng khít lẫn nhau. Hỗn hợp 1:1 của một cặp chất đồng phân đối ảnh là hỗn hợp “raxemic”. Thuật ngữ này được sử dụng để biểu thị hỗn hợp raxemic khi thích hợp. “Các chất đồng phân không đối quang” là các chất đồng phân lập thể mà có ít nhất hai nguyên tử không đối xứng, nhưng không phải là ảnh gương của nhau. Hóa lập thể tuyệt đối được xác định theo hệ thống Cahn- Ingold- Prelog R-S. Khi hợp chất này là chất đồng phân đối ảnh tinh khiết, hóa lập thể tuyệt đối ở mỗi cacbon không đối xứng có thể được xác định bởi cấu hình *R* hoặc *S*. Các hợp chất đã phân giải mà cấu hình tuyệt đối của chúng không được biết rõ có thể được biểu thị là (+) hoặc (-) phụ thuộc vào hướng (quay trái hoặc quay phải) mà chúng làm quay ánh sáng phân cực phẳng ở bước sóng của vạch natri D. Các hợp chất được mô tả ở đây có thể chứa một hoặc nhiều tâm không đối xứng và vì vậy có thể sinh ra các chất đồng phân đối ảnh, chất đồng phân không đối quang, và các dạng đồng phân lập thể khác mà có thể được định nghĩa, về mặt hóa lập thể tuyệt đối, là (*R*)- hoặc (*S*)-. Trừ khi có đề xuất khác ở đây, sáng chế có ý nghĩa bao gồm tất cả các chất đồng phân có khả năng, bao gồm các hỗn hợp raxemic, các dạng tinh khiết quang học và các hỗn hợp trung gian. Các chất đồng phân hoạt quang (*R*)- và (*S*)- có thể được điều chế sử dụng các synthon không đối xứng hoặc các chất phản ứng không đối xứng, hoặc được phân giải sử dụng các kỹ thuật thông thường.

Nếu hợp chất chứa liên kết đôi, phân tử thể có thể có cấu hình E hoặc Z.

Nếu hợp chất chứa xycloalkyl không được thế, phần tử thế xycloalkyl có thể có cấu hình cis hoặc trans.

Nguyên tử không đối xứng bất kỳ (ví dụ cacbon hoặc tương tự) của (các) hợp chất theo sáng chế có thể có mặt trong raxemic hoặc được làm giàu chất đồng phân đối ảnh, ví dụ cấu hình (R), (S) hoặc (R,S). Theo các phương án nhất định, mỗi nguyên tử không đối xứng có ít nhất 50% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, ít nhất 60% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, ít nhất 70% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, ít nhất 80% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, ít nhất 90% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, ít nhất 95% lượng dư chất đồng phân đối ảnh, hoặc ít nhất 99% lượng dư chất đồng phân đối ảnh ở cấu hình (R) hoặc (S). Các phần tử thế ở các nguyên tử chứa các liên kết không no, nếu có, có thể xuất hiện ở dạng cis (Z) hoặc trans (E).

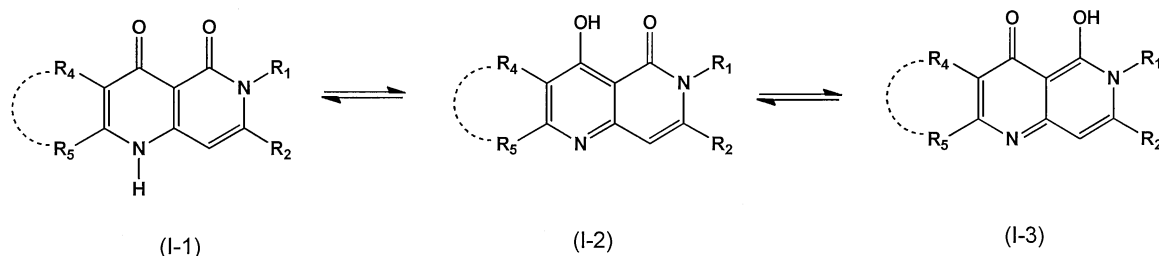
Theo đó, như được sử dụng ở đây, hợp chất theo sáng chế có thể ở dạng một trong số các chất đồng phân, chất đồng phân quay, chất đồng phân atropi, tautome hoặc hỗn hợp có thể có của chúng, ví dụ như chất đồng phân hình học gần như tinh khiết (cis hoặc trans), chất đồng phân không đối quang, chất đồng phân quang học (thể đối quang), raxemat hoặc hỗn hợp của chúng.

Hỗn hợp các chất đồng phân tạo thành bất kỳ có thể được phân tách trên cơ sở sự khác biệt lý hóa của các thành phần cấu thành, thành các chất đồng phân quang học hoặc hình học tinh khiết hoặc gần như tinh khiết, các chất đồng phân không đối quang, raxemat, ví dụ, bằng phương pháp sắc ký và/hoặc kết tinh phân đoạn.

Raxemat của sản phẩm cuối hoặc chất trung gian tạo thành bất kỳ có thể được phân giải thành các thể đối quang quang học bằng các phương pháp đã biết, ví dụ, bằng cách phân tách các muối đồng phân không đối quang của chúng, thu được nhờ axit hoặc bazơ hoạt quang, và giải phóng hợp chất có tính axit hoặc bazơ hoạt quang. Cụ thể là, gốc bazơ do đó có thể được sử dụng để phân giải các hợp chất theo sáng chế thành các thể đối quang quang học của chúng, ví dụ, bằng quá trình kết tinh phân đoạn muối được tạo thành từ axit có tính hoạt quang, ví dụ, axit tartaric, axit dibenzoyl tartaric, axit diacetyl tartaric, axit di-O,O'-p-toluoyl tartaric, axit mandelic, axit malic hoặc axit camphor-10-sulfonic. Các sản phẩm raxemic cũng có thể được phân giải bằng phương pháp sắc ký không đối xứng, ví dụ, phương pháp sắc ký lỏng áp suất cao (High Pressure Liquid Chromatography HPLC) sử dụng chất hấp phụ không đối xứng.

Tùy thuộc vào định nghĩa phần tử thế, các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) có thể xuất hiện ở nhiều dạng tautome khác nhau. Tất cả các dạng tautome của các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) đều được bao hàm bởi sáng chế.

Ví dụ, các hợp chất có công thức (Ib), trong đó R_1 , R_2 , R_4 và R_5 là như được định nghĩa theo công thức (Ib), và R_3 là hydro, có thể tồn tại ở các dạng tautome (I-1), (I-2) hoặc (I-3):



Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “muối” hoặc “các muối” dùng để chỉ muối cộng axit hoặc cộng bazơ của hợp chất theo sáng chế. “Các muối” bao gồm cụ thể là “các muối dược dụng”. Thuật ngữ “các muối dược dụng” dùng để chỉ các muối mà giữ lại hiệu quả hoặc tính chất sinh học của các hợp chất theo sáng chế và chúng thường không được mong đợi về mặt sinh học hoặc mặt khác. Các hợp chất theo sáng chế có khả năng tạo thành các muối axit và/hoặc bazơ nhờ sự có mặt của các nhóm amino và/hoặc carboxyl hoặc các nhóm tương tự của chúng.

Các muối dược dụng theo sáng chế có thể được tổng hợp từ gốc bazơ hoặc axit, bằng các phương pháp hóa học thông thường. Nói chung, các muối như vậy có thể được điều chế bằng cách cho các dạng axit tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng cân bằng hóa học của bazơ thích hợp hoặc bằng cách cho các dạng bazơ tự do của các hợp chất này phản ứng với lượng cân bằng hóa học của axit thích hợp. Các phản ứng như vậy thường được thực hiện trong nước hoặc dung môi hữu cơ, hoặc hỗn hợp của cả hai. Nói chung, sử dụng môi trường không chứa nước như ete, etyl axetat, etanol, isopropanol, hoặc axetonitril là được mong muốn, trong thực tế. Danh sách các muối cộng thích hợp có thể được tìm thấy, ví dụ, trong “Remington's Pharmaceutical Sciences”, 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); và trong

“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use” tác giả Stahl và Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Khi cả hai nhóm bazơ và nhóm axit xuất hiện trong cùng phân tử, các hợp chất theo sáng chế còn có thể tạo thành các muối nội, ví dụ, các phân tử ion lưỡng tính.

Công thức bất kỳ được đưa ra ở đây cũng nhằm thể hiện các dạng không được đánh dấu cũng như các dạng được đánh dấu đồng vị của các hợp chất. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị có cấu trúc được mô tả bằng các công thức được đưa ra trong bản mô tả ngoại trừ một hoặc nhiều nguyên tử được thay thế bằng nguyên tử có khối lượng nguyên tử hoặc số khối được chọn lọc. Ví dụ về các đồng vị mà có thể kết hợp vào các hợp chất theo sáng chế bao gồm các đồng vị hydro, cacbon, nitơ, oxy, phospho, flo, và clo, ví dụ lần lượt là ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I . Sáng chế bao gồm nhiều hợp chất được đánh dấu đồng vị khác nhau như được xác định trong bản mô tả, ví dụ các hợp chất mà có gắn các đồng vị phóng xạ, chẳng hạn như ^3H và ^{14}C , hoặc các chất mà có gắn các đồng vị không phóng xạ, chẳng hạn như ^2H và ^{13}C . Các hợp chất được đánh dấu đồng vị như vậy hữu ích trong các nghiên cứu chuyển hóa (với ^{14}C), nghiên cứu động học phản ứng (với, ví dụ ^2H hoặc ^3H), kỹ thuật phát hiện và xử lý hình ảnh, chẳng hạn như chụp cắt lớp bức xạ positron (Positron Emission Tomography - PET) hoặc chụp cắt lớp bằng bức xạ đơn photon (Single-Photon Emission Computed Tomography - SPECT) bao gồm các khảo nghiệm phân phối dược chất hoặc cơ chất vào các bào quan, hoặc trong xạ trị ở bệnh nhân. Cụ thể là, hợp chất được đánh dấu đồng vị ^{18}F có thể được đặc biệt được mong muốn đối với các nghiên cứu PET hoặc SPECT. Các hợp chất được đánh dấu đồng vị có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) nói chung có thể được điều chế bằng các kỹ thuật thông thường đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hoặc bằng các quy trình tương tự với các quy trình đã mô tả trong phần các ví dụ và quy trình điều chế đi kèm, sử dụng các chất phản ứng đánh dấu đồng vị thích hợp thay cho chất phản ứng không được đánh dấu đã sử dụng trước đó.

Ngoài ra, sự thay thế bằng các đồng vị nặng hơn, đặc biệt là đơteri (tức là, ^2H hay D) có thể tạo ra các lợi ích điều trị nhất định do sự ổn định chuyển hóa tốt hơn, ví dụ tăng chu kỳ bán hủy in vivo hoặc giảm yêu cầu liều lượng hoặc cải thiện chỉ số điều trị. Được hiểu rằng đơteri trong phạm vi bản mô tả này được xem như là phần tử thế của hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib). Nồng độ của đồng vị nặng hơn

này, cụ thể là đoteri, có thể được xác định bằng hệ số độ giàu đồng vị. Thuật ngữ “hệ số độ giàu đồng vị” như được sử dụng ở đây nghĩa là tỷ số giữa độ phong phú của đồng vị này và độ phong phú trong tự nhiên của một đồng vị quy định. Nếu phần tử thể trong hợp chất theo sáng chế được biểu thị là đoteri, hợp chất này có hệ số độ giàu đồng vị đối với mỗi nguyên tử đoteri được chỉ định ít nhất là 3500 (mức độ kết hợp đoteri là 52,5% ở mỗi nguyên tử đoteri được chỉ định), ít nhất 4000 (mức độ kết hợp đoteri là 60%), ít nhất 4500 (mức độ kết hợp đoteri là 67,5%), ít nhất 5000 (mức độ kết hợp đoteri là 75%), ít nhất 5500 (mức độ kết hợp đoteri là 82,5%), ít nhất 6000 (mức độ kết hợp đoteri là 90%), ít nhất 6333,3 (mức độ kết hợp đoteri là 95%), ít nhất 6466,7 (mức độ kết hợp đoteri là 97%), ít nhất 6600 (mức độ kết hợp đoteri là 99%), hoặc ít nhất 6633,3 (mức độ kết hợp đoteri là 99,5%).

Solvat được dụng theo sáng chế bao gồm solvat mà trong đó dung môi của quá trình kết tinh có thể được thể đồng vị, ví dụ D_2O , d_6 -axeton, d_6 -DMSO.

Các hợp chất theo sáng chế chứa các nhóm có khả năng phản ứng như là chất nhường và/hoặc chất nhận liên kết hydro có thể có khả năng tạo thành đồng tinh thể với các dạng đồng tinh thể trước thích hợp. Các đồng tinh thể này có thể được điều chế từ các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) bằng các quy trình tạo đồng tinh thể đã biết. Các quy trình như vậy bao gồm nghiền, gia nhiệt, đồng thăng hoa, đồng nóng chảy, hoặc cho tiếp xúc trong dung dịch các hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib) với các chất tạo đồng tinh thể trong điều kiện kết tinh và phân lập các đồng tinh thể được tạo thành nhờ đó. Các chất tạo đồng tinh thể thích hợp bao gồm các chất đã được mô tả trong WO 2004/078163. Vì vậy, sáng chế còn đề xuất các đồng tinh thể chứa hợp chất có công thức (I'), (Ia'), (Ia) hoặc (Ib).

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng các tiền dược chất của các hợp chất theo sáng chế mà chuyển hóa in vivo thành các hợp chất theo sáng chế. Tiền dược chất là hợp chất có hoạt tính hoặc không có hoạt tính mà được biến đổi hóa học thông qua phản ứng sinh lý in vivo, chẳng hạn như thủy phân, trao đổi chất và tương tự, thành hợp chất theo sáng chế sau đó sử dụng tiền dược chất này cho đối tượng. Sự phù hợp và các kỹ thuật liên quan đến việc bào chế và sử dụng các tiền dược chất được biết rõ bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực. Các tiền dược chất có thể được phân loại theo khái niệm thành hai loại không phải duy nhất, tiền dược chất tiền chất sinh học và

tiền dược chất chất mang. Xem The Practice of Medicinal Chemistry, Ch. 31-32 (Ed. Wermuth, Academic Press, San Diego, Calif., 2001).

Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối của chúng, còn có thể thu được ở dạng hydrat của chúng, hoặc bao gồm các dung môi khác được sử dụng trong quá trình kết tinh chúng. Các hợp chất theo sáng chế vốn có thể hoặc nhờ thiết kế tạo thành các solvat với các dung môi được dụng (bao gồm nước); do đó, được chủ định là sáng chế bao hàm cả các dạng được solvat hóa và không được solvat hóa. Thuật ngữ "solvat" dùng để chỉ phức phân tử của hợp chất theo sáng chế (bao gồm các muối được dụng của chúng) với một hoặc nhiều các phân tử dung môi. Các phân tử dung môi này được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực dược, được biết đến là vô hại với người nhận, ví dụ, nước, etanol, và tương tự. Thuật ngữ "hydrat" dùng để chỉ phức mà trong đó phân tử dung môi là nước. Các hợp chất theo sáng chế, bao gồm các muối, hydrat và solvat của chúng, có thể tự tạo thành chất đa hình hoặc tạo thành chất đa hình một cách có chủ đích.

Các phương án khác nhau của sáng chế được mô tả ở đây. Các đặc điểm được cụ thể hóa trong mỗi phương án sẽ được thừa nhận là có thể được kết hợp với các đặc điểm được cụ thể hóa khác để tạo ra các phương án khác nữa của sáng chế.

Định nghĩa về các phần tử thể áp dụng cho các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') và (Ib) khi thích hợp.

Định nghĩa về các phần tử thể áp dụng cho sản phẩm cuối cùng như cho các chất trung gian tương ứng.

Phương án 1. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng như được mô tả ở trên.

Phương án 2. Hợp chất có công thức (Ia') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án 1 như được mô tả ở trên.

Phương án 3. Hợp chất có công thức (Ia) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án 2 như được mô tả ở trên

Phương án 4. Hợp chất có công thức (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án 1 hoặc 2 như được mô tả ở trên.

Phương án 5. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1 đến 4, trong đó R₁ là pyridin-2-yl.

Phương án 6. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1 đến 5, trong đó R₂ là C₂₋₆alkyl.

Phương án 7. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 6, trong đó R₂ là n-propyl.

Phương án 8. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 6, trong đó R₂ là isopropyl.

Phương án 9. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó R₂ là xyclopropyl.

Phương án 10. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó R₂ là xyclobutyl.

Phương án 11. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 5, trong đó R₂ là xyclopentyl.

Phương án 12. Hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó R₃ là hydro.

Phương án 13. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án 1 đến 11, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng carboxyclic một vòng không thơm có 5 đến 7 cạnh có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R₁₉; R₁₉ được chọn từ halogen hoặc C₁-C₃alkyl.

Phương án 14. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 13, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng xyclopentyl.

Phương án 15. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 13, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng xyclohexyl.

Phương án 16. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 15 trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng xyclohexyl được thế một lần bằng C₁-C₃alkyl.

Phương án 17. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 13, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng xycloheptyl.

Phương án 18. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen.

Phương án 19. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 18, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen được gắn vào phần còn lại của phân tử để tạo ra hợp chất thieno[2,3-b][1,6]naphtyridindion.

Phương án 20. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 18, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen được gắn vào phần còn lại của phân tử để tạo ra hợp chất thieno[3,2-b][1,6]naphtyridindion.

Phương án 21. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án 18, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen được gắn vào phần còn lại của phân tử để tạo ra hợp chất thieno[3,4-b][1,6]naphtyridindion.

Phương án 22. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 18 đến 21, trong đó R₄ và R₅ cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen được thế một lần bằng C₁-C₃alkyl.

Phương án 23. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 18 đến 21, trong đó R_4 và R_5 cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng thiophen không được thế.

Phương án 24. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó R_4 là hydro.

Phương án 25. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án từ 1 đến 11, trong đó R_4 là methyl.

Phương án 26. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án 24 hoặc 25, trong đó R_5 là hydro.

Phương án 27. Hợp chất có công thức (I') hoặc (Ib) ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án bất kỳ trong số các phương án 24 hoặc 25, trong đó R_5 là methyl.

Phương án 28. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng theo phương án 1, hợp chất này được chọn từ:

- 3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 9-isopropyl-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphtyridin-6,7(2H,8H)-dion;
- 7-isopropyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 7-isopropyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 7-isopropyl-2-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 7-isopropyl-2,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 6-isopropyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 6-isopropyl-4-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 6-isopropyl-2-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-2,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-3-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-3,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

3-isopropyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-isopropyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;

3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;

7-xyclobutyl-1,2,3-trimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion;

3-xyclobutyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;

7-xyclobutyl-2,3-dimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion;

3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

7-xyclobutyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

3-xyclobutyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

7-xyclobutyl-2,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-xyclobutyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-xyclobutyl-2-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

6-xyclobutyl-4-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-xyclobutyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-xyclobutyl-2,4-dimetyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-xyclobutyl-2-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

9-xyclobutyl-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphtyridin-6,7(2H,8H)-dion;

3-xyclobutyl-2-xyclopentylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-2-xyclopentyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

2-xyclopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

2-xyclopentyl-3-isopropyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-2-(pyrolidin-1-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyrolidin-1-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

4-clo-3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

4-clo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion; và

4-bromo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion.

Các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) có thể được điều chế bằng các quy trình thông thường, ví dụ như được mô tả trong phần "Ví dụ thực hiện sáng chế", các quy trình này là các khía cạnh khác của sáng chế. Ngoài ra, các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) hoặc các tiền chất của chúng có thể thu được từ các hợp chất được mô tả trong phần "Ví dụ thực hiện sáng chế", ví dụ bằng cách khử, oxy hóa các hợp chất tạo thành và/hoặc quá trình chức hóa khác và/hoặc do sự tách (các) nhóm bảo vệ bất kỳ tùy ý có mặt, và việc thu hồi hợp chất có công thức có thể thu được như vậy có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) hoặc tiền chất được dự kiến. Các phản ứng có thể được tiến hành theo các phương pháp thông thường, ví dụ như được mô tả trong phần "Ví dụ thực hiện sáng chế". Quá trình điều chế các hỗn hợp phản ứng và quá trình tinh chế các hợp chất có thể thu được từ đó có thể được thực hiện theo các quy trình đã biết. Các muối cộng axit có thể được sản xuất từ các bazơ tự do theo cách đã biết, và ngược lại. Các vật liệu ban đầu, ví dụ các vật liệu ban đầu như được mô tả trong phần "Ví dụ thực hiện sáng chế", có thể được biết hoặc được điều chế theo các quy trình thông thường bắt đầu từ các hợp chất đã biết.

Sáng chế cũng dự liệu rằng các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) có thể được tạo thành nhờ quá trình biến đổi sinh học in vivo từ các tiền dược chất.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất theo sáng chế và chất mang được dụng. Dược phẩm này có thể được bào chế cho đường dùng cụ thể chẳng hạn như đường miệng, đường tiêm, và đường trực tràng, v.v. Ngoài ra, dược phẩm theo sáng chế có thể được tạo thành ở dạng rắn bao gồm viên nang, viên nén, viên tròn, hạt, bột hoặc viên đạn, hoặc ở dạng lỏng bao gồm dung dịch, huyền phù hoặc nhũ tương. Dược phẩm có thể phải trải qua các thao tác được thông thường chẳng hạn như khử trùng và/hoặc có thể chứa các chất pha loãng trợ, chất bôi trơn, hoặc chất đệm thông thường, cũng như các chất phụ trợ, chẳng hạn như chất bảo quản, chất ổn định, chất thẩm ướt, chất nhũ hóa và chất đệm v.v.

Thông thường, dược phẩm là viên nén và viên nang gelatin chứa thành phần hoạt tính cùng với:

a) chất pha loãng, ví dụ, lactoza, dextroza, sucroza, manitol, sorbitol, xenluloza và/hoặc glyxin;

b) chất bôi trơn, ví dụ, silic đioxit, đá talc, axit stearic, muối magie hoặc canxi của nó và/hoặc polyetylglycol; đối với viên nén cũng vậy

c) chất kết dính, ví dụ, magie nhôm silicat, hồ tinh bột, gelatin, nhựa tragacan, methylxenluloza, natri carboxymetylxenluloza và/hoặc polyvinylpyrrolidon; nếu được mong muốn

d) chất rã, ví dụ, tinh bột, aga, axit alginic hoặc muối natri của nó, hoặc hỗn hợp sủi bọt; và/hoặc

e) chất hấp thụ, chất tạo màu, hương liệu và chất tạo ngọt.

Viên nén có thể được bao phim hoặc bao tan trong ruột theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này.

Chế phẩm thích hợp để dùng cho đường miệng bao gồm lượng có hiệu quả của hợp chất theo sáng chế ở dạng viên nén, viên ngậm, huyền phù dạng nước hoặc dạng dầu, bột hoặc hạt có thể phân tán, nhũ tương, viên nang cứng hoặc mềm, hoặc xi rô hoặc cốm ngọt. Chế phẩm nhằm mục đích sử dụng theo đường miệng được bào chế theo phương pháp sản xuất dược phẩm bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này và các chế phẩm như vậy có thể chứa một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm chất tạo ngọt, chất tạo hương, chất tạo màu và chất bảo quản để tạo ra các chế phẩm có được

tính dễ chịu và dễ uống. Viên nén chứa thành phần hoạt tính kết hợp với tá dược được dụng không độc thích hợp để bào chế viên nén. Các tá dược này là, ví dụ, chất pha loãng trợ, chẳng hạn như canxi carbonat, natri carbonat, lactoza, canxi phosphat hoặc natri phosphat; chất tạo hạt và chất làm rắn, ví dụ, tinh bột ngô, hoặc axit alginic; chất kết dính, ví dụ, tinh bột, gelatin hoặc cây keo; và chất bôi trơn, ví dụ magie stearat, axit stearic hoặc bột talc. Viên nén không được bao hoặc được bao bằng các kỹ thuật đã biết để trì hoãn quá trình hòa tan và hấp phụ trong đường dạ dày – ruột và nhờ đó tạo ra tác động bền vững trong trường hợp dài hơn. Ví dụ, có thể sử dụng vật liệu trì hoãn thời gian chẳng hạn như glyxeryl monostearat hoặc glyxeryl distearat. Các chế phẩm để sử dụng theo đường miệng có thể có mặt ở dạng viên nang gelatin cứng trong đó thành phần hoạt tính được trộn với chất pha loãng rắn trợ, ví dụ, canxi carbonat, canxi phosphat hoặc cao lanh, hoặc dưới dạng viên nang gelatin mềm trong đó thành phần hoạt tính được trộn với nước hoặc môi trường dầu, ví dụ, dầu lạc, parafin lỏng hoặc dầu ô liu.

Một số chế phẩm có thể tiêm nhất định là dung dịch hoặc huyền phù đẳng trương chứa nước, và thuốc đạn được bào chế một cách thuận lợi từ nhũ tương huyền phù béo. Các chế phẩm nêu trên có thể được khử trùng và/hoặc chứa chất phụ trợ, chẳng hạn như chất bảo quản, chất ổn định, chất thấm ướt, chất nhũ hóa, chất hoạt hóa dung dịch, muối để điều chỉnh áp suất thẩm thấu và/hoặc chất đệm. Ngoài ra, chúng cũng có thể chứa các chất có giá trị trị liệu khác. Chế phẩm đã nêu được bào chế lần lượt theo các phương pháp trộn, tạo hạt hoặc bao thông thường, và chứa khoảng 0,1-75%, hoặc chứa khoảng 1-50%, thành phần hoạt tính.

Các chế phẩm thích hợp để dùng qua da chứa lượng có hiệu quả của hợp chất theo sáng chế cùng với chất mang. Chất mang bao gồm dung môi được dụng có thể hấp thụ để hỗ trợ chuyển qua da của vật chủ. Ví dụ, thiết bị thẩm thấu qua da ở dạng miếng băng chứa thành phần lót, khoang chứa hợp chất cùng với tùy ý chất mang, tùy ý chất kiểm soát tốc độ để vận chuyển hợp chất tới da của vật chủ ở tốc độ được kiểm soát và xác định trước trong thời gian kéo dài, và các phương tiện để đảm bảo sự an toàn của thiết bị với da.

Các chế phẩm thích hợp để dùng tại chỗ, ví dụ, cho da và mắt, bao gồm dung dịch chứa nước, huyền phù, thuốc mỡ, kem, gel hoặc chế phẩm phun, ví dụ, để vận chuyển bằng khí dung hoặc tương tự. Hệ thống vận chuyển tại chỗ như vậy sẽ đặc biệt

thích hợp để dùng cho da, ví dụ, để điều trị bệnh ung thư da, để phòng bệnh, ví dụ, trong kem chống nắng, lotion, thuốc xịt và tương tự. Do đó, chúng đặc biệt thích hợp để sử dụng tại chỗ, bao gồm cả mỹ phẩm, các loại chế phẩm nổi tiếng trong lĩnh vực này. Các chế phẩm như vậy có thể chứa chất hòa tan, chất ổn định, chất tăng cường ưu trương, chất đệm và chất bảo quản.

Như được sử dụng ở đây cách dùng tại chỗ có thể liên quan đến kiểu dùng bằng cách hít hoặc dùng theo đường mũi. Chúng có thể được vận chuyển thuận lợi ở dạng bột khô (hoặc là một mình, dưới dạng hỗn hợp, ví dụ hỗn hợp trộn khô với lactoza, hoặc hạt thành phần được trộn, ví dụ với phospholipit) từ thiết bị hít bột khô hoặc thiết bị phun khí dung từ bình nén, bơm, thiết bị phun, thiết bị xịt hoặc thiết bị xông, sử dụng hoặc không sử dụng chất đẩy thích hợp.

Sáng chế cũng đề xuất dược phẩm khan và các dạng bào chế chứa hợp chất theo sáng chế làm thành phần hoạt tính, vì nước có thể tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình phân hủy các hợp chất nhất định.

Dược phẩm khan và các dạng bào chế theo sáng chế có thể được bào chế sử dụng thành phần khan hoặc thành phần chứa ít hơi nước và điều kiện ít hơi nước hoặc độ ẩm thấp. Dược phẩm khan bất kỳ có thể được bào chế và bảo quản sao cho bản chất khan của nó được duy trì. Theo đó, chế phẩm khan được đóng gói thích hợp sử dụng các vật liệu đã biết để ngăn tiếp xúc với nước sao cho chúng có thể được chứa trong các kit thuốc thích hợp. Ví dụ về bao gói thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, lá kim loại bịt kín, nhựa, bình chứa liều đơn vị (ví dụ, lọ), gói vỉ và gói xé.

Sáng chế còn đề xuất dược phẩm và dạng bào chế chứa một hoặc nhiều chất mà làm giảm tốc độ phân hủy hợp chất theo sáng chế dạng thành phần hoạt tính. Các chất này, được đề cập ở đây là “chất ổn định”, bao gồm nhưng không giới hạn ở, chất chống oxy hóa chẳng hạn như axit ascorbic, chất đệm pH, hoặc chất đệm muối, v.v.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chất mang dược dụng” bao gồm bất kỳ và tất cả các dung môi, môi trường phân tán, chất bao, chất hoạt động bề mặt, chất chống oxy hóa, chất bảo quản (ví dụ, chất kháng khuẩn, chất kháng nấm), chất đẳng trương, chất trì hoãn hấp thụ, muối, chất bảo quản, dược chất, chất ổn định dược chất, chất kết dính, tá dược, chất làm rắn, chất bôi trơn, chất tạo ngọt, chất tạo hương, thuốc nhuộm, các vật liệu tương tự như vậy và các tổ hợp của chúng, như sẽ được biết bởi người có

hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này (xem, ví dụ, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289- 1329). Ngoại trừ trường hợp chất mang thông thường bất kỳ không tương thích với thành phần hoạt tính, việc sử dụng nó trong các chế phẩm dược và điều trị là được dự liệu.

Các hợp chất có công thức I hoặc muối dược dụng của chúng thể hiện các đặc tính dược lý có giá trị và do đó, hữu ích để làm dược phẩm.

Ngoài ra, các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) có thể hữu ích để nghiên cứu trên các bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa, ví dụ như dùng làm các hợp chất công cụ.

Cụ thể là, các hợp chất có công thức (I'), (Ia), (Ia') hoặc (Ib) I hoạt động như là chất kìm hãm đột biến vô nghĩa trên các PTC thường gặp, ví dụ trên Y122X trong mARN của protein điều hòa độ dẫn trong bệnh xơ nang (CFTR). Việc này có thể được xác định in vitro, ví dụ, sử dụng dòng tế bào biểu hiện cấu trúc GFP-CFTR-Y122X-Renilla như được mô tả ở đây.

Các hợp chất theo sáng chế do đó có thể hữu ích trong ngăn ngừa, điều trị hoặc trì hoãn tiến triển của bệnh gây ra bởi các đột biến vô nghĩa.

Thuật ngữ “bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa” được biết rõ trong lĩnh vực này. Nó đề cập đến bệnh xuất hiện ở bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa trong gen có liên quan đến bệnh, trong đó đột biến vô nghĩa này gây ra sự thiếu một phần hoặc toàn bộ protein từ đó gây ra bệnh lý của bệnh.

Theo một phương án, bệnh được chọn từ bệnh máu khó đông A, bệnh máu khó đông B, bệnh xơ nang, bệnh khuyết tật mucopolysaccharidosis I, bệnh teo cơ Duchenne, bệnh teo cơ Becker, bệnh ung thư do mất APC và bệnh ung thư do mất p53.

Đối với các dấu hiệu được đề cập ở trên (tình trạng và bệnh), liều phù hợp sẽ thay đổi phụ thuộc vào, ví dụ, hợp chất được sử dụng, vật chủ, chế độ áp dụng và bản chất và mức độ nghiêm trọng của tình trạng đang được điều trị. Tuy nhiên, nói chung, liều hàng ngày để đạt được các kết quả điều trị đạt yêu cầu ở động vật được chỉ ra là từ khoảng 0,01 đến khoảng 100 mg/kg trọng lượng cơ thể, tốt hơn là từ khoảng 0,1 đến khoảng 10 mg/kg trọng lượng cơ thể, ví dụ 1 mg/kg. Ở động vật có vú lớn hơn, ví dụ ở

người, liều hằng ngày được xác định là áp dụng thuận lợi nằm trong khoảng từ 0,1 đến khoảng 1000mg, tốt hơn là từ khoảng 1 đến khoảng 400mg, tốt nhất là từ khoảng 10 đến khoảng 100mg hợp chất theo sáng chế, ví dụ, liều được chia lên tới 4 lần một ngày.

Để sử dụng theo sáng chế, hợp chất theo sáng chế có thể được dùng như là hoạt chất riêng lẻ hoặc kết hợp với các hoạt chất khác, theo cách thông thường bất kỳ, ví dụ theo đường miệng, ví dụ ở dạng viên nén hoặc viên nang, hoặc ngoài đường tiêu hóa, ví dụ ở dạng dung dịch hoặc huyền phù tiêm. Chế phẩm kết hợp chứa hợp chất theo sáng chế và hoạt chất khác sẽ được đề cập đến như là “chế phẩm kết hợp theo sáng chế”.

Hợp chất theo sáng chế, có thể được kết hợp với chất kích hoạt độc xuyên, ví dụ negamycin, RT13, RT14, ataluren hoặc chất kích hoạt độc xuyên aminoglycosit, ví dụ paromomycin, amikacin, G418, NB30, NB54 hoặc NB84.

Hợp chất theo sáng chế, có thể được kết hợp với chất ức chế sự phân rã mRNA qua trung gian mã vô nghĩa, ví dụ NMDI-1.

Negamycin, RT13, RT14, ataluren, chất kích hoạt độc xuyên aminoglycosit và NMDI-1 được mô tả, ví dụ trong Keeling et al, WIREs RNA, 2011, 2, 837-852.

Các hợp chất theo sáng chế có thể hữu ích để ngăn ngừa bệnh gây ra bởi các đột biến vô nghĩa.

Các hợp chất theo sáng chế có thể hữu ích để điều trị bệnh gây ra bởi các đột biến vô nghĩa.

Các hợp chất theo sáng chế có thể hữu ích để trì hoãn tiến triển của bệnh gây ra bởi các đột biến vô nghĩa.

Thuật ngữ “lượng có hiệu quả điều trị” của hợp chất theo sáng chế dùng để chỉ lượng hợp chất theo sáng chế mà sẽ làm phát sinh đáp ứng sinh học hoặc y tế của đối tượng, ví dụ, cải thiện các triệu chứng, giảm bớt các tình trạng, làm chậm hoặc trì hoãn tiến triển của bệnh, hoặc ngăn ngừa bệnh, v.v. Theo một phương án không hạn chế, thuật ngữ “lượng có hiệu quả điều trị” dùng để chỉ lượng của hợp chất theo sáng chế mà, khi áp dụng cho một đối tượng, có hiệu quả để ít nhất là giảm bớt, ức chế, ngăn ngừa và/hoặc cải thiện một phần bệnh gây ra bởi các đột biến vô nghĩa. Theo phương

án không hạn chế khác, thuật ngữ “lượng có hiệu quả điều trị” dùng để chỉ lượng của hợp chất theo sáng chế mà, khi áp dụng cho một tế bào, hoặc mô, hoặc vật liệu sinh học phi tế bào, hoặc môi trường, có hiệu quả để ít nhất là kìm hãm một phần ảnh hưởng của các đột biến vô nghĩa.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “đối tượng” dùng để chỉ động vật. Tốt hơn là, động vật là động vật có vú. Đối tượng còn dùng để chỉ, ví dụ, loài linh trưởng (ví dụ, con người), bò, cừu, dê, ngựa, chó, mèo, thỏ, chuột, chuột nhắt, cá, chim và tương tự. Theo một phương án được ưu tiên, đối tượng là con người.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “sự ức chế” hay “ức chế” dùng để chỉ sự giảm hoặc ngăn chặn tình trạng, triệu chứng, hoặc rối loạn, hoặc bệnh nhất định, hoặc sự giảm đáng kể hoạt động cơ bản của một hoạt động hoặc quá trình sinh học.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “điều trị” hoặc “sự điều trị” bệnh hoặc tình trạng, theo một phương án, dùng để chỉ việc cải thiện bệnh hoặc tình trạng (nghĩa là, làm chậm hoặc hãm lại hoặc làm giảm sự phát triển của bệnh hoặc ít nhất một trong số các triệu chứng của chúng). Theo phương án khác “điều trị” hoặc “sự điều trị” dùng để chỉ việc giảm bớt hoặc cải thiện ít nhất một thông số vật lý bao gồm các thông số mà có thể không nhận thấy rõ ở bệnh nhân. Theo phương án khác nữa, “điều trị” hoặc “sự điều trị” dùng để chỉ việc biến đổi bệnh hoặc tình trạng, hoặc là về mặt thể chất, (ví dụ, sự ổn định của một triệu chứng không thấy rõ), về mặt sinh lý, (ví dụ, sự ổn định của một thông số vật lý), hoặc cả hai. Theo phương án khác nữa, “điều trị” hoặc “sự điều trị” dùng để chỉ việc ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự khởi phát hoặc sự phát triển hoặc tiến triển của bệnh hoặc tình trạng.

Dược phẩm hoặc chế phẩm kết hợp theo sáng chế có thể là liều đơn vị khoảng 1-1000mg (các) thành phần hoạt tính cho đối tượng có trọng lượng khoảng 50-70kg, hoặc khoảng 1-500mg hoặc khoảng 1-250mg hoặc khoảng 1-150mg hoặc khoảng 0,5-100mg, hoặc khoảng 1-50mg các thành phần hoạt tính. Liều có hiệu quả điều trị của hợp chất, dược phẩm, hoặc chế phẩm kết hợp của chúng phụ thuộc vào việc đối tượng là loài gì, trọng lượng cơ thể, tuổi và tình trạng cá thể, rối loạn hoặc bệnh hoặc mức độ nghiêm trọng của rối loạn hoặc bệnh được điều trị. Bác sĩ, thầy thuốc lâm sàng hoặc bác sĩ thú y có hiểu biết thông thường có thể dễ dàng xác định lượng có hiệu quả của

mỗi trong số các thành phần hoạt tính cần thiết để ngăn ngừa, điều trị hoặc ức chế sự tiến triển của rối loạn hoặc bệnh.

Các đặc tính liều được trích dẫn ở trên có thể chứng minh được trong các thử nghiệm in vitro và in vivo sử dụng động vật có vú một cách thuận lợi, ví dụ, chuột nhà, chuột, chó, khỉ hoặc các cơ quan được phân lập, mô và các chế phẩm của chúng. Các hợp chất theo sáng chế có thể được ứng dụng in vitro ở dạng dung dịch, ví dụ, tốt hơn là dung dịch chứa nước, và in vivo hoặc là theo đường ruột, ngoài đường tiêu hóa, thuận lợi là theo đường tĩnh mạch, ví dụ, dưới dạng huyền phù hoặc trong dung dịch chứa nước. Liều in vitro có thể thay đổi trong khoảng nồng độ từ 10^{-3} mol đến 10^{-9} mol. Lượng có hiệu quả điều trị in vivo có thể thay đổi phụ thuộc vào đường dùng, trong khoảng 0,1-500 mg/kg, hoặc trong khoảng 1-100 mg/kg.

Hoạt tính của hợp chất theo sáng chế có thể được đánh giá bằng các phương pháp in vitro & in vivo được mô tả ở đây.

Hợp chất theo sáng chế có thể được áp dụng hoặc là đồng thời với, hoặc trước hoặc sau, ít nhất một chất trị liệu khác. Hợp chất theo sáng chế có thể được áp dụng riêng biệt, theo con đường giống hoặc khác nhau, hoặc cùng nhau trong cùng được phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ sau minh họa nhưng không làm giới hạn sáng chế.

Phần thực nghiệm:

Các chữ viết tắt:

NMP	1-methylpyrrolidin-2-on
HOAt	3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-ol
HATU	2-(3H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pyridin-3-yl)-1,1,3,3-tetrametylisouroni hexaflophosphat(V)
DMF	dimethylformamit
DCM	diclometan
ACN	axetonitril
TFA	axit trifloaxetic

THF	tetrahydrofuran
TBME	t-Butylmetylete
r.t.	nhiệt độ phòng
SFC	sắc ký lỏng siêu tới hạn
RP	pha đảo
HPLC	sắc ký lỏng áp suất cao
DIEA	N,N-Diisopropyletylamin
rac-BINAP	2,2'-bis(diphenylphosphino)-1,1'-binaphtyl raxemat
dba	dibenzylidenaxeton
DMA	dimetylaxetamit

Phương pháp LC-MS:

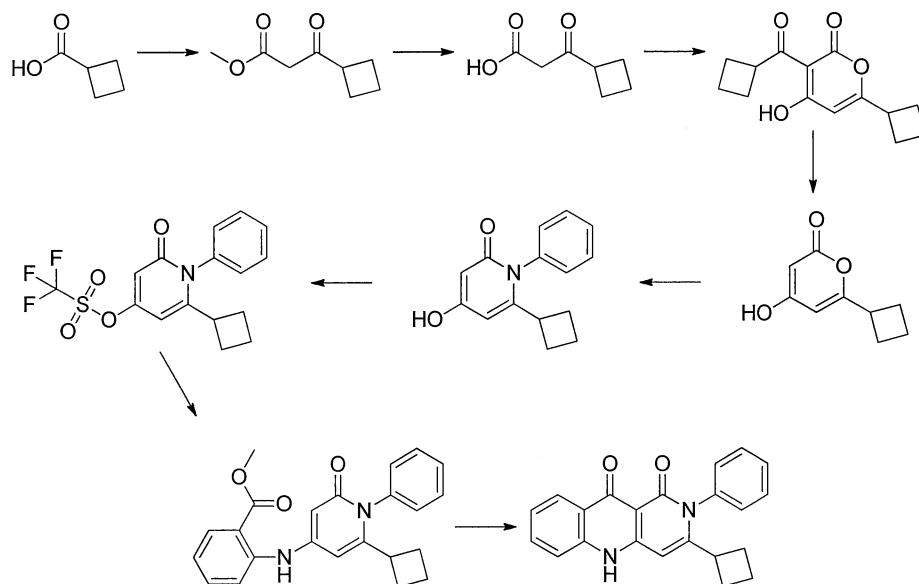
Hệ thống Waters Acquity UPLC-SQD; pha động: A: nước (axit formic 0,05%) B: metanol (axit formic 0,04%); gradien: từ 2% B đến 8% B trong 0,1 phút, từ 8% B đến 98% B trong 0,5 phút, 98% B trong 0,1 phút; tốc độ dòng 1 mL/phút; cột Waters Acquity UPLC BEH C18, 30x2,1 mm, 1,7mM; nhiệt độ lò 60°C.

Thiết bị NMR:

Bruker Avance 400MHz Ultrashield và Avance 600MHz

Các ví dụ:

Ví dụ 1.1: 3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion



a) 3-(xyclobutancacbonyl)-6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on

Trong điều kiện argon, thêm 64,1g cacbonyldiimidazol (396mmol) vào 31,5mL axit xyclobutancarboxylic (330mmol) trong 300mL THF trong vòng 10 phút ở r.t. Sau 25 phút, thêm 226mL DCM, 77g kali 3-metoxy-3-oxopropanoat (494mmol) và 37,7g magie clorua (396 mmol) tiếp đó gia nhiệt đến 56°C trong 2,5 giờ, và khuấy trong 3,5 giờ nữa. Làm nguội huyền phù tạo thành đến r.t., thêm 600mL axit clohydric chứa nước 2N đến khi đạt giá trị pH = 2, thêm 800mL nước nữa và và phân tách dung dịch hai pha tạo thành. Chiết pha chứa nước hai lần bằng 250mL DCM, rửa các pha hữu cơ kết hợp dung dịch natri clorua chứa nước bán đậm đặc, sấy khô trên natri sulfat, lọc rồi làm bay hơi. Hòa tan metyl 3-xyclobutyl-3-oxopropanoat tạo thành (59g, được sử dụng cho bước tiếp theo mà không tinh chế) trong 10mL metanol, thêm 378mL dung dịch natri hydroxit chứa nước 2M và khuấy hỗn hợp này trong một giờ. Thêm 100ml TBME, chiết pha chứa nước hai lần bằng 50mL TBME, lọc các pha chứa nước kết hợp và làm lạnh đến 5°C. Thêm 65,1mL axit clohydric chứa nước đậm đặc vào dung dịch đó đến khi đạt giá trị pH <1. Thêm 167g natri clorua rắn vào và chiết hỗn hợp bốn lần bằng 100mL etyl axetat, rửa pha hữu cơ bằng nước, sấy khô trên natri sulfat, và làm bay hơi để tạo ra axit 3-xyclobutyl-3-oxopropanoic (43g, được sử dụng cho bước tiếp theo mà không tinh chế) dưới dạng dầu màu hơi vàng. Hòa tan dầu này trong 508mL THF và thêm cẩn thận 53,1g cacbonyldiimidazol (328mmol) rồi khuấy trong 6 giờ. Thêm 50mL nước vào dung dịch tạo thành, làm bay hơi THF trong điều kiện áp suất giảm, thêm 200mL DCM và rửa bằng 400mL axit clohydric chứa nước 2M, 200mL

axit clohydric chứa nước 0,5M, 200mL nước. Chiết pha chứa nước bằng 100mL DCM sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, lọc rồi làm bay hơi. Tinh chế dầu màu cam tạo thành bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với DCM/metanol làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 22g 3-(xyclobutancarbonyl)-6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on (89mmol, 53%) dưới dạng dầu kết tinh chậm.

ESI-MS $[M+H]^+$ 249,2

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 16,91$ (s, 1H), 5,94 (s, 1H), 4,36-4,26 (m, 1H), 3,35 (quint, 1H, $J = 8,6$ Hz), 2,39-2,26 (m, 8H), 2,13-2,00 (m, 2H), 1,99-1,81 (m, 2H).

b) 6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on

Thêm 65,7mL axit sulfuric đậm đặc (88mmol) vào 21,9g 3-(xyclobutancarbonyl)-6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on (88mmol) và gia nhiệt hỗn hợp đến 105°C trong 20 phút rồi sau đó làm lạnh đến 0°C . Đổ cẩn thận hỗn hợp lên trên 600g đá, pha loãng với nước đến thể tích 800mL và chiết ba lần bằng 200mL etyl axetat. Rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng dung dịch natri clorua chứa nước, sấy khô trên natri sulfat, lọc, làm bay hơi, và tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với DCM/metanol làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 11,6g 6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on (70mmol, 79%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 167,1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $d_6\text{-DMSO}$): $\delta(\text{ppm}) = 11,61$ (s, 1H), 5,94 (d, 1H, $J = 2,1$ Hz), 5,22 (d, 1H, $J = 2,1$), 3,36 (quint, 1H, $J = 8,6$ Hz), 2,24-2,08 (m, 4H), 2,04-1,90 (m, 1H), 1,87-1,75 (m, 1H).

c) 6-xyclobutyl-4-hydroxy-1-phenylpyridin-2(1H)-on

Thêm 6,33mL anilin vào huyền phù của 11,5g 6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on (69mmol) trong 231mL axit axetic và 462mL nước và gia nhiệt đến 85°C trong 22 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp, thêm hai lần toluen và làm bay hơi, thêm 50mL toluen rồi khuấy ở 50°C . Lọc huyền phù này, rửa chất rắn với toluen và dietylete, và

sấy khô để tạo ra 8,5g 6-xyclobutyl-4-hydroxy-1-phenylpyridin-2(1H)-on (35mmol, 51%) là chất rắn màu trắng.

ESI-MS $[M+H]^+$ 242,2

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 10,59$ (s, 1H), 7,50-7,39 (m, 3H), 7,19-7,12 (m, 2H), 5,86-5,81 (m, 1H), 5,55 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 3,09-2,99 (m, 1H), 1,96-1,84 (m, 2H), 1,67-1,50 (m, 4H).

d) 6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometansulfonat

Trong điều kiện argon, tạo huyền phù 8,4g 6-xyclobutyl-4-hydroxy-1-phenylpyridin-2(1H)-on (35mmol) trong 168mL DCM, làm lạnh đến -25°C , thêm 3,94mL pyridin sau đó thêm dung dịch chứa 7,03mL triflometan-sulfonic anhydrit trong 35mL DCM trong 15 phút. Khuấy huyền phù trong 40 phút, đổ lên 250mL hỗn hợp đá/nước rồi khuấy mạnh. Phân tách pha chứa nước, chiết hai lần bằng 80mL DCM, rửa pha hữu cơ kết hợp bằng nước, sấy khô trên natri sulfat, và làm bay hơi để tạo thành 13g 6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometansulfonat (35mmol, 100%) dưới dạng dầu màu vàng mà kết tinh khi đứng yên.

ESI-MS $[M+H]^+$ 374,1

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 7,58$ -7,44 (m, 3H), 7,34-7,26 (m, 2H), 6,57-6,52 (m, 1H), 6,44-6,38 (m, 1H), 3,16 (quint, 1H, $J = 8,8$ Hz), 2,09-1,95 (m, 2H), 1,71-1,53 (m, 4H).

e) Metyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat

Trong điều kiện argon, thêm 60mg rac-BINAP (0,1mmol) và 44mg $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,05mmol) vào huyền phù gồm 3g 6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometan-sulfonat (8,1mmol), 1,26mL metyl 2-aminobenzoat (9,7mmol), và 3,7g xesi carbonat (11,3mmol) trong 32mL toluen và gia nhiệt đến 85°C trong 16 giờ. Làm nguội huyền phù đến r.t, pha loãng với 60mL DCM, lọc trên hyflo, và làm bay hơi phần dịch lọc. Tinh chế dầu màu cam tạo thành bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với DCM/metanol làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 2,68g metyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat (7,2mmol, 88%) dưới dạng dầu màu cam mà kết tinh khi đứng yên.

ESI-MS $[M+H]^+$ 375,3

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 9,06$ (s, 1H), 7,94 (dd, 1H, $J = 7,9$, 1,6 Hz), 7,66-7,54 (m, 2H), 7,51-7,39 (m, 3H), 7,21-7,15 (m, 3H), 6,09 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz), 5,79 (d, 1H, $J = 2,3$ Hz), 3,87 (s, 3H), 3,11-3,03 (m, 1H), 2,01-1,89 (m, 2H), 1,70-1,52 (m, 4H).

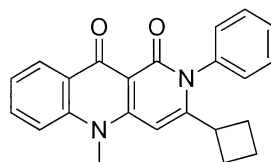
f) 3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

Thêm 38g axit polyphosphoric vào 2,6g metyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat (6,9mmol) và gia nhiệt đến 120°C trong 40 phút. Thêm 43g đá vào hỗn hợp này, pha loãng với 440mL nước và thêm từ từ 152g kali bicarbonat vào đến khi đạt giá trị $\text{pH} = 7-8$. Thêm 100mL TBME và 200mL metanol, sau đó thêm 200mL nước và khuấy kỹ trong 30 phút. Lọc huyền phù, rửa chất rắn với nước và TBME rồi sấy khô để tạo ra 1,7g 3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion (5mmol, 72%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 343,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,60.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 11,79$ (s, 1H), 8,10 (d, 1H, $J = 7,9$), 7,67 (t, 1H, $J = 7,6$), 7,57-7,41 (m, 4H), 7,36-7,20 (m, 3H), 6,22 (s, 1H), 3,20-3,06 (m, 1H), 2,06-1,90 (m, 2H), 1,74-1,56 (m, 4H).

Ví dụ 1.2: 3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion



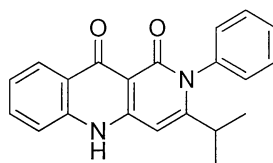
Thêm 4,7g xesi carbonat (14,4mmol) và 0,9mL metyliodua (14,4mmol) vào huyền phù của 1,65g 3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion (4,8mmol) (ví dụ 1.1) trong 50mL DMF và khuấy trong 2,5 giờ ở r.t. Thêm từ từ 100mL nước vào huyền phù tạo thành, làm lạnh đến 10°C , khuấy trong 30 phút, lọc, rửa chất rắn bằng 20mL DMF/nước (1:2, thể tích/thể tích), 100mL nước và sấy khô trong điều kiện chân không ở 60°C để tạo ra 1,4g 3-xyclobutyl-5-metyl-2-

phenylbenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion (4mmol, 84%) dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 357,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,61.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm})$ = 8,21 (dd, 1H, J = 7,8, 1,8 Hz), 7,84 (d, 1H, J = 8,6 Hz), 7,81-7,73 (m, 1H), 7,58-7,46 (m, 3H), 7,38 (t, 1H, J = 7,4 Hz), 7,28-7,23 (m, 2H), 6,43 (s, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,22-3,12 (m, 1H), 2,22-2,10 (m, 2H), 1,73-1,56 (m, 4H).

Ví dụ 1.3: 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion



a) 4-hydroxy-6-isopropyl-1-phenylpyridin-2(1H)-on

Thêm 1,8mL (19,5mmol) anilin vào dung dịch chứa 3g (19,5mmol) 4-hydroxy-6-isopropyl-2H-pyran-2-on (CAS 220809-37-0, sẵn có trên thị trường) trong 120ml nước và 60mL axit axetic và khuấy ở 85°C trong 16,5 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp tạo thành và tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với DCM / metanol làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 1,5g (6,4mmol, 33%) 4-hydroxy-6-isopropyl-1-phenylpyridin-2(1H)-on dưới dạng chất rắn màu trắng.

b) 6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometansulfonat

Thêm 1,87mL (23mmol) pyridin vào huyền phù của 2,9g (12,8mmol) 4-hydroxy-6-isopropyl-1-phenylpyridin-2(1H)-on trong 34mL DCM, làm lạnh hỗn hợp này đến -25°C, thêm từng giọt dung dịch chứa 2,7mL (16mmol) triflometansulfonic anhydrit trong 11,4mL DCM trong hơn 10 phút và khuấy trong 45 phút nữa ở -25°C. Thêm 40mL và 80ml nước, chiết pha hữu cơ với 80ml nước và nước muối, chiết hai lần pha chứa nước bằng 80mL etylaxetat, sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat và làm bay hơi để tạo ra 4,6g (12,4mmol, 97%) 6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometansulfonat dưới dạng chất rắn màu vàng.

c) Metyl 2-((6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat

Thêm 1,8mL (14mmol) metyl 2-aminobenzoat và 4,4mL (25mmol) DIEA vào dung dịch chứa 4,6g (12,7mmol) 6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl triflometan-sulfonat trong 71mL dioxan. Tiếp đó thêm 0,63g (1mmol) rac-BINAP và 0,46g (0,5mmol) $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ và khuấy hỗn hợp ở 90°C trong 21 giờ. Làm nguội hỗn hợp đến r.t., làm bay hơi, pha loãng với 300mL etylaxetat và chiết ba lần bằng nước, sấy khô pha hữu cơ trên natri sulfat và làm bay hơi. Tinh chế dầu màu đen tạo thành bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với heptan/etylaxetat làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 2,2g (6,1mmol, 48%) metyl 2-((6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat dưới dạng dầu màu đỏ.

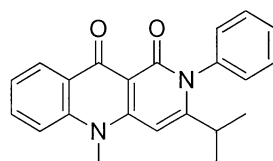
d) 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

Hòa tan 2,2g (6,1mmol) metyl 2-((6-isopropyl-2-oxo-1-phenyl-1,2-dihydropyridin-4-yl)amino)benzoat trong 24mL axit polyphosphoric và gia nhiệt đến 125°C trong 5 giờ. Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến r.t., thủy phân bằng cách thêm từ từ 500ml nước và điều chỉnh đến giá trị $\text{pH} = 8$ bằng cách thêm cẩn thận kali bicarbonat rắn. Chiết huyền phù tạo thành bằng 80mL DCM, chiết pha hữu cơ hai lần bằng 80ml nước và nước muối, chiết pha hữu cơ kết hợp hai lần bằng 80mL DCM. Lọc các pha hữu cơ kết hợp và sấy khô phần chất rắn còn lại trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 1,1g (3,3mmol, 55%) 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 331,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,60.

^1H -NMR (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 11,74$ (s, 1H), 8,10 (dd, $J = 8,1, 1,5$ Hz, 1H), 7,67 (td, $J = 7,7, 7,1, 1,6$ Hz, 1H), 7,60 - 7,43 (m, 4H), 7,35 - 7,26 (m, 3H), 6,24 (s, 1H), 2,41 (sep, $J = 6,8$ Hz, 1H), 1,10 (d, $J = 6,7$ Hz, 6H).

Ví dụ 1.4: 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

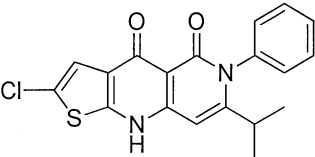
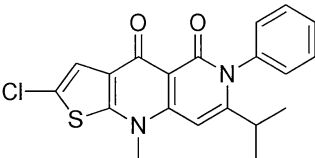
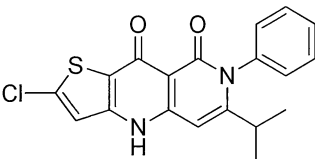


Thêm 1,86g xesi carbonat (5,7mmol) và 0,81g metyl iodua (5,7mmol) vào dung dịch chứa 630mg (1,9mmol) 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion trong 34mL DMF và khuấy trong 1 giờ ở r.t. Tiếp đó thêm 80ml nước và 80mL DCM, chiết pha hữu cơ hai lần bằng nước và nước muối, chiết pha chứa nước kết hợp hai lần bằng DCM, sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat, rồi làm bay hơi. Tạo huyền phù phần cặn tạo thành trong 5mL DCM, lọc, làm bay hơi phần dịch lọc, tạo huyền phù trong 5mL dietyl ete, lọc, và sấy khô các chất rắn kết hợp trong điều kiện áp suất giảm để tạo ra 441mg (1,3mmol, 67%) 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

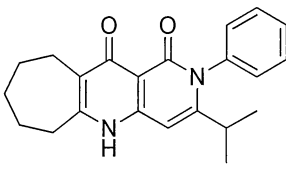
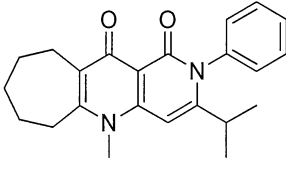
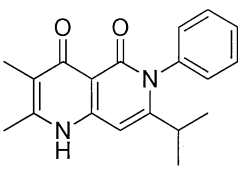
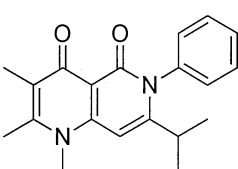
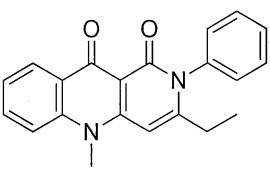
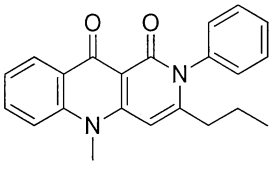
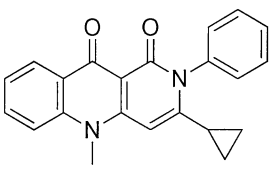
ESI-MS $[M+H]^+$ 345,3; LCMS Rt [min], meth. A: 0,61.

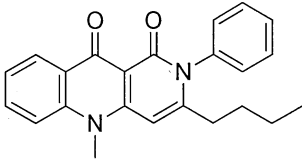
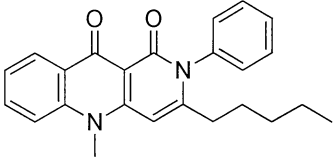
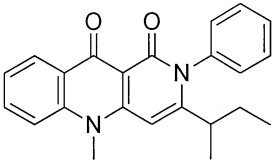
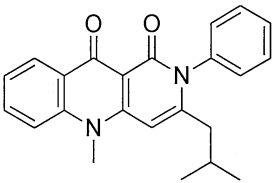
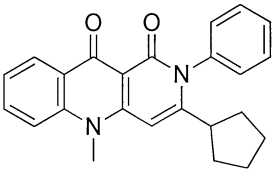
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 8,20$ (dd, $J = 7,9, 1,6$ Hz, 1H), 7,86 – 7,71 (m, 2H), 7,61 – 7,46 (m, 3H), 7,42 – 7,28 (m, 3H), 6,53 (s, 1H), 3,90 (s, 3H), 2,48 – 2,41 (m, 1H), 1,18 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H).

Các ví dụ sau có thể được điều chế theo cách tương tự với các ví dụ 1.1 đến 1.4:

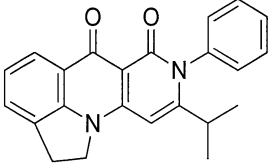
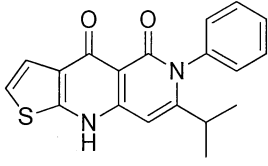
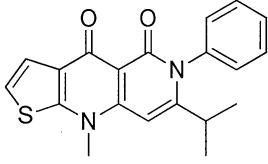
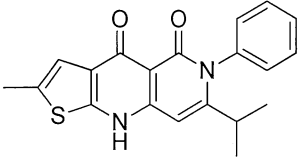
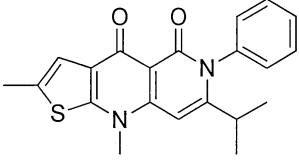
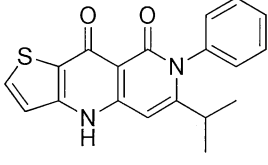
	2-chloro-7-isopropyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion
	2-chloro-7-isopropyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion
	2-chloro-6-isopropyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion

	2-chloro-6-isopropyl-4-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-4-methyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-1-methyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-1,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-3-methyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione
	6-isopropyl-3,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,4-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione

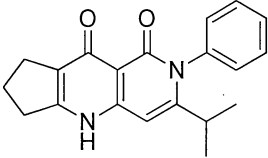
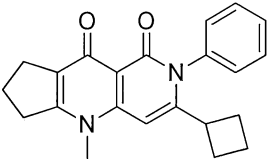
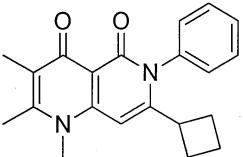
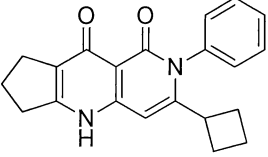
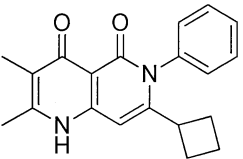
	3-isopropyl-2-phenyl-5,6,7,8,9,10-hexahydro-1H-xyclohepta[b][1,6]naphtyridin-1,11(2H)-dion
	3-isopropyl-5-metyl-2-phenyl-5,6,7,8,9,10-hexahydro-1H-xyclohepta[b][1,6]naphtyridin-1,11(2H)-dion
	7-isopropyl-2,3-dimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion
	7-isopropyl-1,2,3-trimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion
	3-etyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	5-metyl-2-phenyl-3-propylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	3-xyclopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

	3-butyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	5-metyl-3-pentyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	3-(sec-butyl)-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	3-isobutyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
	3-xyclopentyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion
*: các hợp chất có thể được điều chế theo cách tương tự với các ví dụ 1.1 và 2.1.	

Các ví dụ sau có thể được điều chế theo cách tương tự với các ví dụ 1.1 đến 1.4.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
1.11		9-isopropyl-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphthyridin-6,7(2H,8H)-dion	0,59	357,2
1.12		7-isopropyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,67	337,2
1.13		7-isopropyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,56	351,1
1.14		7-isopropyl-2-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,68	351,2
1.15		7-isopropyl-2,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,56	365,1
1.16		6-isopropyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,59	337,1

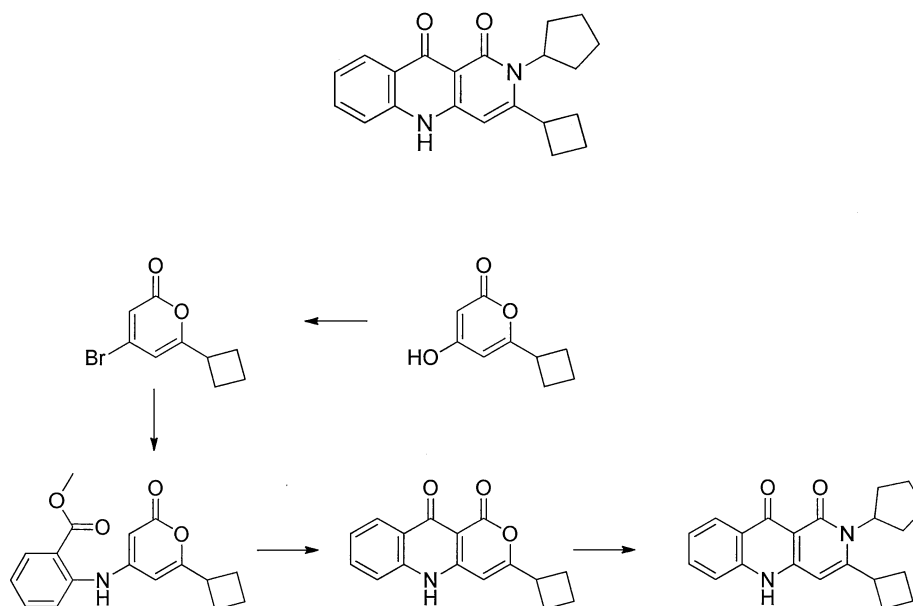
Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
1.17		6-isopropyl-4-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,56	351,1
1.18		6-isopropyl-2-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,62	351,1
1.19		6-isopropyl-2,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,57	365,1
1.20		6-isopropyl-3-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,62	351,1
1.21		6-isopropyl-3,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dion	0,57	365,2
1.22		3-isopropyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,56	335,2

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
1.23		3-isopropyl-2-phenyl- 5,6,7,8-tetrahydro-1H- xyclopenta[b][1,6]naphtyri din-1,9(2H)-dion	0,59	321,2
1.24		3-xyclobutyl-5-metyl-2- phenyl-5,6,7,8-tetrahydro- 1H- xyclopenta[b][1,6]naphtyri din-1,9(2H)-dion	0,50	347,3
1.25		7-xyclobutyl-1,2,3-trimetyl- 6-phenyl-1,6-naphtyridin- 4,5(1H,6H)-dion	0,49	335,3
1.26		3-xyclobutyl-2-phenyl- 5,6,7,8-tetrahydro-1H- xyclopenta[b][1,6]naphtyri din-1,9(2H)-dion	0,60	333,2
1.27		7-xyclobutyl-2,3-dimetyl-6- phenyl-1,6-naphtyridin- 4,5(1H,6H)-dion	0,54	321,3

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
1.28		3-cyclobutyl-5-methyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,53	361,2
1.29		7-cyclobutyl-9-methyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,58	363,1
1.30		3-cyclobutyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,56	347,2
1.31		7-cyclobutyl-2,9-dimethyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,59	377,3
1.32		7-cyclobutyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,68	349,1
1.33		7-cyclobutyl-2-methyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,70	363,1

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
1.34		6-(cyclobutyl)-4-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione	0,58	363,4
1.35		6-(cyclobutyl)-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione	0,61	349,1
1.36		6-(cyclobutyl)-2,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione	0,59	377,2
1.37		6-(cyclobutyl)-2-methyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphthyridin-8,9(4H,7H)-dione	0,62	363,1
1.45		9-(cyclobutyl)-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphthyridin-6,7(2H,8H)-dione	0,63	369,1

Ví dụ 2.1: 3-(cyclobutyl)-2-(cyclopentyl)benzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dione



a) 4-bromo-6-xyclobutyl-2H-pyran-2-on

Thêm 8mL toluen vào 400mg (2,4mmol) 6-xyclobutyl-4-hydroxy-2H-pyran-2-on (được điều chế theo ví dụ 1.1 b), 854mg (2,7mmol) tetrabutylamonibromua, và 752mg (5,3mmol) diphosphorus pentoxit và gia nhiệt hỗn hợp đến 110°C đồng thời khuấy mạnh. Phân tách các pha ở r.t., chiết pha chứa nước hai lần bằng 4mL toluen, rửa các pha hữu cơ kết hợp bằng 15mL dung dịch kali bicarbonat chứa nước 20% (trọng lượng/thể tích) và 15mL nước muối, chiết pha chứa nước bằng 5mL toluen, sấy khô các pha hữu cơ kết hợp trên natri sulfat và làm bay hơi để tạo ra 507mg (2,2mmol, 92%) 4-bromo-6-xyclobutyl-2H-pyran-2-on dưới dạng dầu màu đỏ.

b) Metyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-2H-pyran-4-yl)amino)benzoat

Trong điều kiện argon, tạo huyền phù 494mg (2,2mmol) 4-bromo-6-xyclobutyl-2H-pyran-2-on và 1054mg (3,2mmol) xesi carbonat trong 8mL toluen và sau đó thêm 363 LL (424mg, 2,8mmol) metyl 2-aminobenzoat, 16mg (0,026mmol) rac-BINAP, và 12mg (0,013mmol) Pd₂(dba)₃. Gia nhiệt hỗn hợp đến 110°C trong 23 giờ. Ở r.t., lọc hỗn hợp qua hyflo và làm bay hơi phần dịch lọc rồi tinh chế bằng phương pháp sắc ký lỏng trên silicagel với xyclohexan/TBME làm dung môi rửa giải. Kết hợp các phân đoạn đích và làm bay hơi để tạo ra 458mg (1,5mmol, 71%) metyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-2H-pyran-4-yl)amino)benzoat dưới dạng chất rắn màu vàng.

c) 3-xyclobutyl-1H-pyrano[4,3-b]quinolin-1,10(5H)-dion

Thêm 5g (1,4mmol) axit polyphosphoric vào 0,4g (1,4mmol) methyl 2-((6-xyclobutyl-2-oxo-2H-pyran-4-yl)amino)benzoat và gia nhiệt đến 130°C trong 45 phút. Thủy phân hỗn hợp phản ứng với 20ml nước nhưng không vượt quá r.t., pha loãng với 40ml nước và trung hòa đến giá trị pH = 7-8 bằng cách thêm cẩn thận kali bicarbonat rắn. Lọc chất rắn tạo thành, rửa với nước và sấy khô để tạo ra 360mg (1,4mmol, 98%) 3-xyclobutyl-1H-pyrano[4,3-b]quinolin-1,10(5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

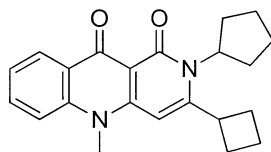
d) 3-xyclobutyl-2-xyclopentylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

Thêm 850 μ L (13,7mmol) xyclopentylamin và 141 μ L (5,5mmol) axit axetic vào 329mg (1,23mmol) 3-xyclobutyl-1H-pyrano[4,3-b]quinolin-1,10(5H)-dion trong 6,2mL trifloetanol và gia nhiệt đến 90°C trong 7 giờ. Làm bay hơi hỗn hợp, trộn phần cặn hai lần với 4mL etylete rồi lọc, rửa hai lần bằng 7,5mL isopropanol / dietylete 3:2 (thể tích/thể tích), bằng 7mL dietylete và rửa kỹ tám lần bằng nước. Sấy khô phần chất rắn còn lại để tạo ra 373mg (1,1mmol, 91%) 3-xyclobutyl-2-xyclopentylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 335,1; LCMS Rt [min], meth. A: 0,66;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): δ (ppm) = 11,58 (s, 1H), 8,09 (dd, J = 8,0, 1,2 Hz, 1H), 7,64 (dt, 1H), 7,41 (dd, J = 8,1 Hz, 1H), 7,27 (dt, J = 7,5 Hz, 1H), 6,08 (s, 1H), 4,43 (p, 1H), 3,71 (p, 1H), 2,41 – 2,26 (m, 2H), 2,26 – 2,07 (m, 4H), 2,07 – 1,89 (m, 3H), 1,89 – 1,63 (m, 3H), 1,63 – 1,41 (m, 2H)

Ví dụ 2.2: 3-xyclobutyl-2-xyclopentyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

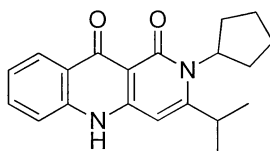


Quy trình điều chế theo ví dụ 1.2 bắt đầu với 129mg (0,38mmol) 3-xyclobutyl-2-xyclopentylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion (ví dụ 2.1) để tạo ra 121mg (0,35, 90%) 3-xyclobutyl-2-xyclopentyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 349,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,70;

¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO): δ(ppm) = 8,20 (dd, J = 7,9, 1,4 Hz, 1H), 7,78 (dd, J = 8,3 Hz, 1H), 7,72 (dt, J = 8,6, 1,6 Hz, 1H), 7,35 (dt, J = 7,3 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,49 (p, J = 8,6 Hz, 1H), 3,76 (p, J = 8,6 Hz, 1H), 2,45 – 2,33 (m, 2H), 2,33 – 2,25 (m, 2H), 2,20 (m, J = 14,8, 7,4 Hz, 2H), 2,11 – 1,90 (m, 3H), 1,90 – 1,66 (m, 3H), 1,66 – 1,48 (m, 2H)

Ví dụ 2.3. 2-xyclopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

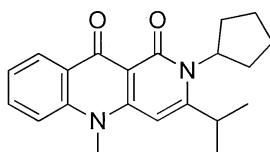


Quy trình điều chế theo ví dụ 2.1 a) đến d) sử dụng 243mg (0,95mmol) 3-isopropyl-1H-pyrano[4,3-b]quinolin-1,10(5H)-dion để tạo ra 220mg (0,68mmol, 72%) 2-xycllopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng.

ESI-MS $[M+H]^+$ 323,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,64.

¹H-NMR (400 MHz, d₆-DMSO): δ(ppm) = 11,55 (s, 1H), 8,09 (dd, J = 7,9 Hz, 1H), 7,64 (dt, J = 7,5 Hz, 1H), 7,41 (dd, J = 8,1 Hz, 1H), 7,26 (dt, J = 7,5 Hz, 1H), 6,13 (s, 1H), 4,74 (p, 1H), 3,24 (hept, J = 6,5 Hz, 1H), 2,29 – 2,13 (m, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,88 – 1,72 (m, 2H), 1,68 – 1,52 (m, 2H), 1,28 (m, J = 6,5 Hz, 6H).

Ví dụ 2.4: 2-xyclopentyl-3-isopropyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

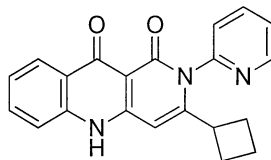


Quy trình điều chế theo ví dụ 2.2 sử dụng 33mg (0,1mmol) 2-xyclopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion để tạo ra 26mg (0,08 mmol, 76%) 2-xyclopentyl-3-isopropyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 337,1; LCMS Rt [min], meth. A: 0,64;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 8,20$ (dd, 1H), 7,77 (dd, $J = 8,1$ Hz, 1H), 7,73 (dt, 1H), 7,35 (dt, 1H), 6,33 (s, 1H), 4,80 (p, $J = 8,5$ Hz, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,30 (hept, 1H), 2,28 – 2,13 (m, 2H), 2,09 – 1,95 (m, 2H), 1,88 – 1,74 (m, 2H), 1,68 – 1,53 (m, 2H), 1,34 (m, $J = 6,7$ Hz, 6H)

Ví dụ 2.5: 3-xyclobutyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

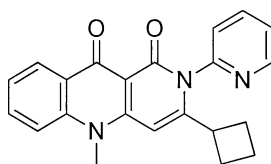


Quy trình điều chế theo ví dụ 2.1 bằng cách cho 219mg (0,82mmol) 3-xyclobutyl-1H-pyrano[4,3-b]quinolin-1,10(5H)-dion và 769mg (8,2mmol) 2-aminopyridin phản ứng với nhau mà không có dung môi ở 170°C trong 17 giờ để tạo ra 209mg (0,61mmol, 75%) 3-xyclobutyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion là chất rắn màu hơi nâu.

ESI-MS $[M+H]^+$ 344,3; LCMS Rt [min], meth. A: 0,57;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 11,82$ (s, 1H), 8,68 – 8,58 (m, 1H), 8,11 (dd, 1H), 8,01 (dt, $J = 7,7, 1,9$ Hz, 1H), 7,69 (dt, 1H), 7,53 (dd, $J = 6,7, 5,0$ Hz, 1H), 7,50 – 7,42 (m, 2H), 7,32 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,22 (s, 1H), 3,22 (p, $J = 9,0$ Hz, 1H), 2,14 – 1,41 (m, 6H)

Ví dụ 2.6: 3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

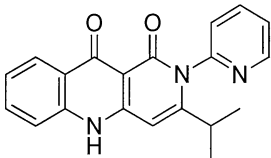
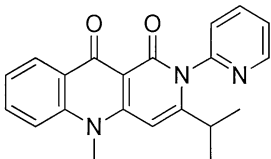
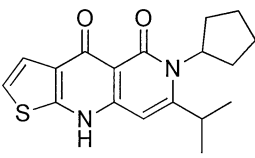
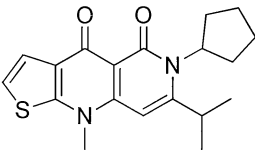


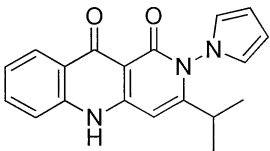
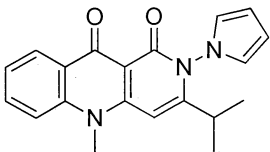
Quy trình điều chế theo ví dụ 2.2 bằng cách cho 100mg (0,29mmol) 3-xyclobutyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion phản ứng để tạo ra 68mg (0,19mmol, 66%) 3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

ESI-MS $[M+H]^+$: 358,1; LCMS Rt [min], meth. A: 0,57;

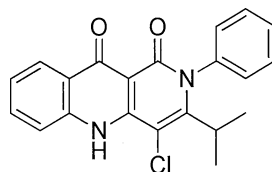
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 8,64$ (dd, 1H), 8,22 (dd, $J = 7,9, 1,4$ Hz, 1H), 8,03 (dt, $J = 7,7, 1,8$ Hz, 1H), 7,85 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,78 (dt, 1H), 7,55 (dd, $J = 7,1, 5,2$ Hz, 1H), 7,47 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,40 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 6,43 (s, 1H), 3,93 (s, 3H), 3,25 (dt, $J = 17,3, 8,4$ Hz, 1H), 2,15 (s, 2H), 1,78 – 1,47 (m, 4H).

Các ví dụ sau có thể được điều chế theo cách tương tự với các ví dụ 2.1 đến 2.6.

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	$[M+H]^+$
2.9		3-isopropyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,56	332,1
2.10		3-isopropyl-5-metyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,56	346,1
2.15		6-cyclopentyl-7-isopropylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,76	329,1
2.16		6-cyclopentyl-7-isopropyl-9-methylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion	0,59	343,1

Ví dụ	Cấu trúc	Tên	LCMS Rt [min], meth. A	[M+H] ⁺
2.17		3-isopropyl-2-(1H-pyrrol-1-yl)benzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,60	320,1
2.18		3-isopropyl-5-metyl-2-(1H-pyrrol-1-yl)benzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion	0,59	334,1

Ví dụ 3.1: 4-clo-3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion



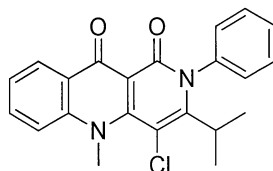
Thêm 20mg (0,15mmol) 1-clopyrolidin-2,5-dion vào huyền phù của 50mg (0,15mmol) 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion (ví dụ 1.3) và 1mg (7,6μmol) nhôm triclơrua trong 1mL pyridin và 0,43mL axit axetic trong từng phần trong hơn 5 phút và khuấy hỗn hợp ở 50°C trong hơn 3 giờ.

Làm nguội hỗn hợp phản ứng đến r.t., pha loãng với 3ml nước và khuấy trong một giờ. Lọc phần chất rắn ra, rửa bằng nước và sấy khô để tạo ra 40mg (0,1mmol, 69%) 4-clo-3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphthyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng bột màu vàng.

ESI-MS [M+H]⁺ 365,0; LCMS Rt [min], meth. A: 0,64;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta(\text{ppm}) = 10,90$ (s, 1H), 8,14 – 8,05 (m, 2H), 7,75 – 7,68 (m, 1H), 7,60 – 7,50 (m, 3H), 7,40 – 7,31 (m, 3H), 2,81 (bs, 1H), 1,30 (d, $J = 7,1$ Hz, 6H).

Ví dụ 3.2: 4-clo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion

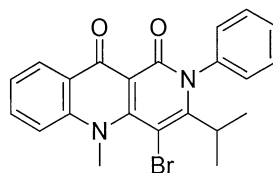


Điều chế hợp chất này bắt đầu từ 100mg (0,29mmol) 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion (ví dụ 1.4) trong điều kiện phản ứng đã mô tả trong ví dụ 3.1 để tạo ra 20mg (53 μmol , 18 %) 4-clo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 379,2; LCMS Rt [min], meth. A: 0,66;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): $\delta(\text{ppm}) = 8,15 - 8,09$ (m, 1H), 7,83 – 7,73 (m, 2H), 7,61 – 7,54 (m, 2H), 7,54 – 7,48 (m, 1H), 7,45 – 7,38 (m, 1H), 7,38 – 7,33 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,18 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 2,81 (bs, 1H), 1,30 (d, $J = 7,2$ Hz, 6H).

Ví dụ 3.3: 4-bromo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion



Điều chế hợp chất này bắt đầu từ 1,0g (2,9mmol) 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion (ví dụ 1.4) trong điều kiện phản ứng được mô tả trong ví dụ 3.1 sử dụng 1,03g (5,8mmol) 1-bromopyrrolidin-2,5-dion, 20mg (0,15mmol) nhôm triclo-rua và mL axit axetic trong 20mL pyridin để tạo ra 1,05g (2,35mmol, 81%) 4-bromo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion dưới dạng chất rắn màu trắng nhạt.

ESI-MS $[M+H]^+$ 423,1; LCMS Rt [min], meth. A: 0,67;

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta(\text{ppm}) = 8,15 - 8,08$ (m, 1H), $7,82 - 7,75$ (m, 2H), $7,61 - 7,48$ (m, 3H), $7,44 - 7,38$ (m, 1H), $7,38 - 7,33$ (m, 2H), $3,93$ (s, 3H), $2,93$ (bs, 1H), $1,30$ (bd, $J = 7,5$ Hz, 6H).

Thử nghiệm sinh học

Thử nghiệm in-vitro: khảo nghiệm CFTR-Y122X

Kiểm tra hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế trong các dòng tế bào Hek293 đẳng gen tái tổ hợp, báo cáo kép (“khảo nghiệm CFTR-Y122X”). Các cấu trúc báo cáo được thiết kế chứa độ dài chuỗi 18 bp tương ứng với đột biến Y122X PTC thường gặp trong các bệnh nhân chứa đột biến CFTR nhóm I (xem Sermet-Gaudelus, BMC Medicine, 2007, 5(5)). Thay vì tyrosin (Y) ở vị trí 122 của protein CFTR, codon kết thúc TGA làm gián đoạn khung đọc mở (Y122X) của mARN tương ứng. Bộ ba codon kết thúc TGA này (sau đó là bazơ pyrimidin cytosin) là được chấp nhận đối với cách đọc xuyên dịch mã qua trung gian aminoglycosit, đóng vai trò là đối chứng dương trong quy trình sàng lọc thông lượng cao. Biến thể codon kết thúc TAA tương ứng và cấu trúc không bị đột biến kiểu đại được sử dụng để xác nhận và sàng lọc ngược. Trình tự CFTR được kẹp giữa gen báo cáo eGFP và chuỗi myc tag ba dung hợp với gen báo cáo Renilla chiều dài đầy đủ. Tất cả các trình tự, bao gồm intron chứa một tiền-eGFP đã được định vị (b-globin intron) được tạo dòng trong khung. Cấu trúc biểu hiện tương ứng được biểu hiện ổn định trong tế bào vật chủ HEK-R4 đẳng gen (Invitrogen Incorp.) và được chọn lọc theo tính kháng blasticidin. Sự tích hợp đẳng gen của cấu trúc này tối thiểu hóa hiệu ứng liều gen và cải thiện khả năng tái lập khảo nghiệm. Các dòng sinh ra từ tế bào đơn được tích hợp ổn định được chọn và được xác định đặc điểm đối với cách đọc xuyên qua trung gian aminoglycosit. Dòng với đặc điểm tăng trưởng tối ưu và đáp ứng mạnh (EC_{50} là 1,5mM) với paromomycin được theo dõi để phát triển khảo nghiệm HTS. Cách đọc xuyên Y122X tích lũy protein dung hợp khu trú nội bào có kích thước xấp xỉ 65,5kDa như đã được kiểm chứng bằng phương pháp phân tích western blot và miễn dịch huỳnh quang sử dụng kháng thể kháng renilla. Đột biến tiền-PTC ở gen báo cáo eGFP đóng vai trò đối chứng trực quan về khả năng ổn định di truyền của các dòng sàng lọc và tối thiểu hóa sự phân hủy protein của một lượng protein dung hợp nhỏ. Trong khảo nghiệm này, nồng độ hợp

chất là 10 μ M. Trong định dạng 1536 giếng được thu nhỏ, 2000 tế bào được phân phối với lượng 4 μ l/giếng và được ủ trong 24h ở 37°C, 5% CO₂. Đặt 40nl các hợp chất lên các tế bào với các giếng đối chứng chứa 1 μ l Paramomycin và nồng độ cuối là 14,4mM. Các hợp chất được ủ trong 24h. Thêm cơ chất Renilla Glo (2,5 μ l) và ly tâm các đĩa rồi xử lý để đo khả năng phát quang bằng cách sử dụng nhiều máy đọc khác nhau. Tính toán hoạt tính sử dụng công thức sau: $A1 (\%) = 100 \cdot (S - NC) / (AC - NC)$ trong đó AC, NC và S tương ứng với các đối chứng có hoạt tính (nạp chất đệm kích thích = 100% kích thích), đối chứng trung tính (nạp chất đệm mà là Iloprost EC10) và các mẫu sàng lọc (S). NC tương ứng với hoạt tính 0% trong khi AC là hoạt tính 100% (paramomycin 14mM). Loại bỏ các thành phần dương tính giả trong sàng lọc xác nhận và sàng lọc hợp lệ sử dụng cùng một định dạng khảo nghiệm sau đó sàng lọc ngược sử dụng mô hình tế bào có cấu trúc kiểu đại tương ứng (không đột biến PTC). Nồng độ các hợp chất được thử nghiệm lên tới 100 μ M.

Bảng 2: Hoạt tính in-vitro trong khảo nghiệm CFTR-Y122X

Bảng 2 trình bày giá trị AC ₅₀ đối với sự kìm hãm đột biến vô nghĩa trong khảo nghiệm CFTR-Y122X.		
Ví dụ	A _{max} [%]	AC ₅₀ [μ M]
1.1	219	0,6
1.2	260	1,0
1.3	281	1,1
1.4	324	3,2
1.11	276	4,0
1.12	248	19,0
1.13	445	8,6
1.14	35	-*
1.15	224	5,5
1.16	344	1,6
1.17	430	9,2

Bảng 2 trình bày giá trị AC_{50} đối với sự kìm hãm đột biến vô nghĩa trong khảo nghiệm CFTR-Y122X.

Ví dụ	A_{max} [%]	AC_{50} [μ M]
1.18	240	3,9
1.19	253	12,8
1.20	183	2,5
1.21	379	5,4
1.22	413	7,2
1.23	414	5,2
1.24	157	18,4
1.25	87	16,8
1.26	229	3,3
1.27	206	3,0
1.28	257	12,8
1.29	286	0,7
1.30	324	0,7
1.31	228	0,6
1.32	247	4,2
1.33	243	19,4
1.34	263	1,0
1.35	126	0,4
1.36	177	4,1
1.37	164	1,4
1.45	252	0,6
2.1	229	0,5

Bảng 2 trình bày giá trị AC_{50} đối với sự kìm hãm đột biến vô nghĩa trong khảo nghiệm CFTR-Y122X.

Ví dụ	A_{max} [%]	AC_{50} [μ M]
2.2	262	2,1
2.3	235	0,4
2.4	274	1,8
2.5	217	2,7
2.6	232	3,3
2.9	198	4,2
2.10	177	10,0
2.15	124	.*
2.16	279	1,2
2.17	237	9,0
2.18	75	17,6
3.1	211	3,2
3.2	220	17,2
3.3	122	18,8
*: không xác định		

Bảng 2 cho thấy rằng các hợp chất có công thức (I') có hoạt tính trong khảo nghiệm chức năng chỉ ra rằng các hợp chất này thúc đẩy đọc xuyên dịch mã.

Các hợp chất có công thức (I') sau đây được thử nghiệm trong khảo nghiệm CFTR-Y122X đã mô tả ở trên ở các khoảng liều ở trên và quan sát thấy sự kìm hãm chỉ đạt đến ít hơn 5% hoạt tính paromomycin tham chiếu:

7-isopropyl-3-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-isopropyl-3,9-dimethyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphthyridin-4,5(6H,9H)-dion.

Theo một phương án của sáng chế, hợp chất theo sáng chế không phải là:

7-isopropyl-3-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion

7-isopropyl-3,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion.

Thử nghiệm in-vitro: nuôi cấy tế bào nguyên sợi có nguồn gốc từ bệnh nhân mắc bệnh Hurler

Hoạt tính của các hợp chất theo sáng chế được kiểm tra ở các tế bào nguyên sợi có nguồn gốc từ bệnh nhân. Các tế bào kiểu gen có nguồn gốc từ Coriell Institute (# GM00798) và chứa biến đổi đồng hợp tử từ TGG thành TAG đúng khung ở nucleotit 1293 của exon 9 mà tạo thành trong quá trình đột biến W402X. Đột biến W402X là một trong số các hội chứng Hurler phổ biến nhất gây mất đột biến chức năng. Khoảng 60-70 % bệnh nhân có tế bào kiểu gen chứa đột biến Q70X và/hoặc W402X và được phân loại là các bệnh nhân MPSI nghiêm trọng. Codon ba kết thúc TAG là được chấp nhận đối với cách đọc xuyên dịch mã qua trung gian, nó đóng vai trò đối chứng hoạt tính đối với thử nghiệm hợp chất. Cách đọc xuyên W402X khôi phục hoạt tính của alpha-L-Iduronidaza mà dẫn đến việc loại bỏ Glycosaminoglycan được tích lũy trong lysosom. Sự biểu hiện iduronidaza không bị phát hiện bằng Taqman PCR© cũng không bị phát hiện bằng hoạt tính enzym hay phương pháp ELISA mà không kích thích hợp chất. Các hợp chất được thử nghiệm ở chế độ đáp ứng nồng độ. Vì vậy 5000 tế bào ở bệnh nhân/40ul/giếng trong đĩa 384 giếng được sử dụng. Sự pha loãng hợp chất được bắt nguồn từ dung dịch gốc chứa hợp chất nồng độ 10mM được điều chế sạch. Nồng độ cao nhất là 20uM và được pha loãng tiếp 1: 3,16 (8 dung dịch pha loãng điểm, n=4). Nồng độ DMSO cuối là dưới 0,5% và được thử nghiệm mà không ảnh hưởng đến khả năng sống, tăng trưởng và đọc xuyên của tế bào. Các tế bào được ủ trong 8 ngày với một môi trường tế bào và sự trao đổi hợp chất ở ngày thứ 3. Sau đó loại bỏ môi trường tế bào và ly giải các tế bào (Natriformat 0,4M, NaN₃ 0,1%, NaCl 0,9%, Triton 0,2%, pH = 3,5). Đo hoạt tính của alpha-L-iduronidaza được phục hồi trong hợp chất dung giải tế bào bằng cơ chất iduronit 4-MU huỳnh quang (5ul 4 Metylumbelliferyl alpha-L-iduronit 0,4mM /giếng) sau 48h ủ. Sử dụng paromomycin

làm đối chứng tham chiếu (14mM= đối chứng 100%). Các kết quả được trình bày trong bảng 3 dưới đây và cho thấy rằng các hợp chất có thể được sử dụng trong điều trị hội chứng Hurler.

Bảng 3

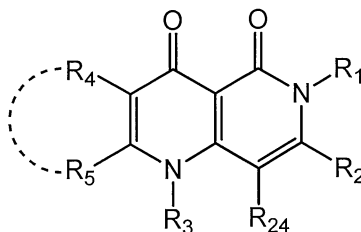
Ví dụ	$A_{\max}$ [%]	AC_{50} [μ M]
1.1	243	1,2
1.2	333	2,1
1.3	265	2,7
1.4	242	4,4
1.11	269	4,5
1.12	87	20
1.13	201	9,9
1.14	108	14
1.15	181	2,0
1.16	160	3,7
1.17	173	11
1.18	34	2,1
1.19	86	16
1.20	269	5,8
1.21	53	11
1.22	169	12
1.23	164	11
1.24	2	-
1.25	13	-
1.26	476	16

Ví dụ	A _{max} [%]	AC ₅₀ [μM]
1.27	406	15
1.28	46	-
1.29	280	2,1
1.30	553	7,4
1.31	397	3,0
1.32	416	15
1.33	310	9,2
1.34	268	4,7
1.35	n.d.	n.d.
1.36	270	11
1.37	273	5,5
1.45	275	1,1
2.1	398	1,4
2.2	445	13
2.3	389	1,2
2.4	357	5,0
2.5	n.d.	n.d.
2.6	237	6,9
2.9	251	6,5
2.10	141	11
2.15	151	11
2.16	445	3,2
2.17	48	12
2.18	0	-

Ví dụ	$A_{\max}$ [%]	AC_{50} [μ M]
3.1	195	13
3.2	14	-
3.3	8	-
n.d.: không xác định.		

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được định:



(I')

trong đó:

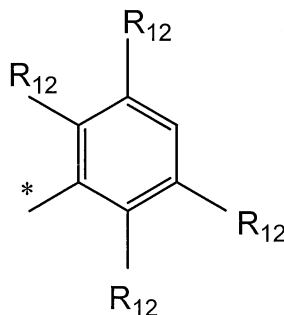
- a) R_1 là hệ vòng không thơm, no hoặc không no, một vòng có năm đến sáu cạnh, trong đó hệ vòng đã nêu có thể chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, và trong đó hệ vòng đã nêu có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_6 , trong đó mỗi R_6 độc lập là halogen, hydroxyl, amino, xyano, nitro, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} halogenalkyl, C_{1-4} alkoxy hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

và

R_2 là C_{2-6} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

- b) R_1 là:



trong đó vòng phenyl được gắn vào thông qua liên kết được đánh dấu bằng dấu sao;

mỗi R_{12} là hydro;

và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

c) R_1 là vòng được chọn từ pyrrolyl và pyridin-2-yl, vòng này có thể được thế bằng C_{1-3} alkyl; và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

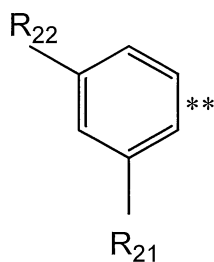
R_3 là hydro hoặc $-CH_2R_{18}$ và R_{18} là hydro;

R_4 và R_5 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_3 alkyl;

hoặc

R_4 và R_5 cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng, vòng này được chọn từ:

- vòng carboxyclic một vòng không thơm có 5 đến 7 cạnh, vòng này có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_{19} ;
- vòng thiophen, vòng này có thể được thế một lần bằng R_{20} ; và



- , vòng này ngưng tụ với phần còn lại của phân tử bằng liên kết được đánh dấu bằng hai dấu sao;

R_{19} và R_{20} độc lập được chọn từ halogen và C_1-C_3 alkyl;

R_{21} là hydro,

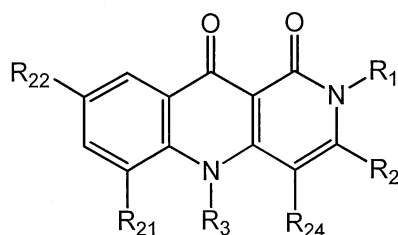
hoặc

R_3 và R_{21} hợp lại là $-CH_2-CH_2-$;

R_{22} là hydro; và

R_{24} là hydro hoặc halogen.

2. Hợp chất có công thức (Ia') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo điểm 1, trong đó hợp chất này là:



(Ia').

3. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó:

R₁ là phenyl; và

R₂ là C₂₋₇alkyl.

4. Hợp chất theo điểm 1, trong đó hợp chất này ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng, hợp chất này được chọn từ:

3-xyclobutyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

9-isopropyl-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphtyridin-6,7(2H,8H)-dion;

7-isopropyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-isopropyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-isopropyl-2-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;

7-isopropyl-2,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-

dion;

6-isopropyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-4-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-2-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

6-isopropyl-2,4-dimetyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-

dion;

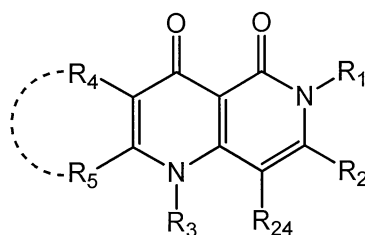
6-isopropyl-3-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;

- 6-isopropyl-3,4-dimethyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 3-isopropyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 3-isopropyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;
- 3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;
- 7-xyclobutyl-1,2,3-trimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion;
- 3-xyclobutyl-2-phenyl-5,6,7,8-tetrahydro-1H-xyclopenta[b][1,6]naphtyridin-1,9(2H)-dion;
- 7-xyclobutyl-2,3-dimetyl-6-phenyl-1,6-naphtyridin-4,5(1H,6H)-dion;
- 3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 7-xyclobutyl-9-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 3-xyclobutyl-2-phenyl-6,7,8,9-tetrahydrobenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 7-xyclobutyl-2,9-dimetyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 7-xyclobutyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 7-xyclobutyl-2-metyl-6-phenylthieno[2,3-b][1,6]naphtyridin-4,5(6H,9H)-dion;
- 6-xyclobutyl-4-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 6-xyclobutyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 6-xyclobutyl-2,4-dimetyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 6-xyclobutyl-2-metyl-7-phenylthieno[3,2-b][1,6]naphtyridin-8,9(4H,7H)-dion;
- 9-xyclobutyl-8-phenyl-1H-indolo[1,7-ab][1,6]naphtyridin-6,7(2H,8H)-dion;
- 3-xyclobutyl-2-xyclopentylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 3-xyclobutyl-2-xyclopentyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 2-xyclopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
- 2-xyclopentyl-3-isopropyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;

- 3-xyclobutyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
 3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyridin-2-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-
 dion;
 3-xyclobutyl-2-(pyrolidin-1-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
 3-xyclobutyl-5-metyl-2-(pyrolidin-1-yl)benzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-
 dion;
 4-clo-3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion;
 4-clo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-
 dion; và
 4-bromo-3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-
 dion.
5. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 3-xyclobutyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
6. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 3-isopropyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
7. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 3-isopropyl-5-metyl-2-phenylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
8. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 3-xyclobutyl-2-xyclopentyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
9. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 2-xyclopentyl-3-isopropylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
10. Hợp chất theo điểm 4, trong đó hợp chất này là 2-xyclopentyl-3-isopropyl-5-metylbenzo[b][1,6]naphtyridin-1,10(2H,5H)-dion, ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng.
11. Dược phẩm chứa lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dụng và một hoặc nhiều chất mang được dụng.

12. Chế phẩm kết hợp chứa lượng có hiệu quả điều trị của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 10 ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng và một hoặc nhiều chất có hoạt tính điều trị; trong đó chất có hoạt tính điều trị này là chất kích hoạt đọc xuyên được chọn từ negamycin, chất kích hoạt đọc xuyên 13 (Readthrough Activator 13-RT13), chất kích hoạt đọc xuyên 14 (Readthrough Activator 14-RT14), ataluren; chất kích hoạt đọc xuyên aminoglycosit được chọn từ paromomycin, amikacin, G418, NB30, NB54 hoặc NB84; hoặc chất ức chế sự phân rã mRNA qua trung gian mã vô nghĩa, là chất ức chế sự phân rã mRNA qua trung gian mã vô nghĩa 1 (Nonsense-Mediated mRNA Decay Inhibitor 1- NMDI-1).

13. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng:



(I')

trong đó:

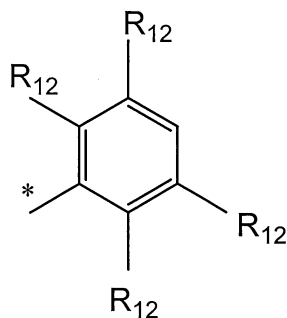
- a) R_1 là hệ vòng không thơm, no hoặc không no, một vòng có năm đến sáu cạnh, trong đó hệ vòng đã nêu có thể chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, và trong đó hệ vòng đã nêu có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_6 , trong đó mỗi R_6 độc lập là halogen, hydroxyl, amino, xyano, nitro, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} halogenalkyl, C_{1-4} alkoxy hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

và

R_2 là C_{2-6} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

- b) R_1 là:



trong đó vòng phenyl được gắn vào thông qua liên kết được đánh dấu bằng dấu sao;

mỗi R_{12} là hydro;

và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

c) R_1 là vòng được chọn từ pyrrolyl và pyridin-2-yl, vòng này có thể được thế bằng C_{1-3} alkyl; và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

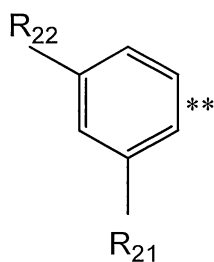
R_3 là hydro hoặc $-CH_2R_{18}$ và R_{18} là hydro;

R_4 và R_5 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_3 alkyl;

hoặc

R_4 và R_5 cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng, vòng này được chọn từ:

- vòng carboxyclic một vòng không thơm có 5 đến 7 cạnh, vòng này có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_{19} ;
- vòng thiophen, vòng này có thể được thế một lần bằng R_{20} ; và



- , vòng này ngưng tụ với phần còn lại của phân tử bằng liên kết được đánh dấu bằng hai dấu sao;

R_{19} và R_{20} độc lập được chọn từ halogen và C_1-C_3 alkyl;

R_{21} là hydro,

hoặc

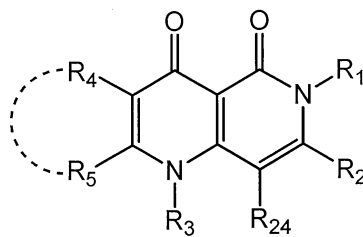
R_3 và R_{21} hợp lại là $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$;

R_{22} là hydro; và

R_{24} là hydro hoặc halogen;

trong đó hợp chất này sử dụng để làm thuốc.

14. Hợp chất có công thức (I') ở dạng tự do hoặc ở dạng muối được dùng:



(I')

trong đó:

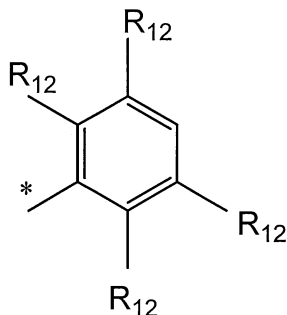
- a) R_1 là hệ vòng không thơm, no hoặc không no, một vòng có năm đến sáu cạnh, trong đó hệ vòng đã nêu có thể chứa từ 1 đến 4 nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh, và trong đó hệ vòng đã nêu có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_6 , trong đó mỗi R_6 độc lập là halogen, hydroxyl, amino, xiano, nitro, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} halogenalkyl, C_{1-4} alkoxy hoặc C_{3-6} xycloalkyl;

và

R_2 là C_{2-6} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

- b) R_1 là



trong đó vòng phenyl được gắn vào thông qua liên kết được đánh dấu bằng dấu sao;

mỗi R_{12} là hydro;

và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

hoặc

c) R_1 là vòng được chọn từ pyrolyl và pyridin-2-yl, vòng này có thể được thế bằng C_{1-3} alkyl; và

R_2 là C_{2-7} alkyl, xyclopropyl, xyclobutyl hoặc xyclopentyl;

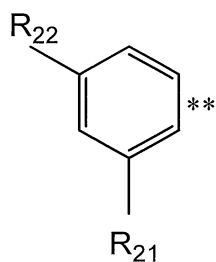
R_3 là hydro hoặc $-CH_2R_{18}$ và R_{18} là hydro;

R_4 và R_5 độc lập được chọn từ hydro và C_1-C_3 alkyl;

hoặc

R_4 và R_5 cùng với liên kết mà chúng gắn vào tạo thành vòng, vòng này được chọn từ:

- vòng carboxyclic một vòng không thơm có 5 đến 7 cạnh, vòng này có thể được thế một lần hoặc nhiều lần bằng R_{19} ;
- vòng thiophen, vòng này có thể được thế một lần bằng R_{20} ; và



- , vòng này ngưng tụ với phần còn lại của phân tử bằng liên kết được đánh dấu bằng hai dấu sao;

R_{19} và R_{20} độc lập được chọn từ halogen và C_1-C_3 alkyl;

R₂₁ là hydro,

hoặc

R₃ và R₂₁ hợp lại là –CH₂-CH₂-;

R₂₂ là hydro; và

R₂₄ là hydro hoặc halogen;

trong đó hợp chất này để sử dụng trong điều trị bệnh gây ra bởi đột biến vô nghĩa;

trong đó bệnh được chọn từ bệnh máu khó đông A, bệnh máu khó đông B, bệnh xơ nang, bệnh khuyết tật mucopolysaccharidosis I, bệnh teo cơ Duchenne, bệnh teo cơ Becker, bệnh ung thư do mất APC và bệnh ung thư do mất p53.