



(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)



1-0025614

(51)⁷ C07D 417/10; A61P 1/06; A61P 11/00; (13) B
A61P 13/02; A61P 13/04; A61P 13/12;
A61P 19/06; A61P 3/10; A61P 35/00;
A61P 37/06; A61P 43/00; A61P 9/00;
A61P 9/10; A61P 9/12; A61K 31/427;
A61P 1/04

(21) 1-2017-00669

(22) 29/07/2015

(86) PCT/JP2015/071512 29/07/2015

(87) WO/2016/017696 04/02/2016

(30) 2014-155031 30/07/2014 JP

(45) 25/09/2020 390

(43) 25/05/2017 350A

(73) TEIJIN PHARMA LIMITED (JP)

2-1, Kasumigaseki 3-chome, Chiyoda-ku, Tokyo 1000013, Japan

(72) KAWANA, Asahi (JP); MIYAZAWA, Yuki (JP).

(74) Văn phòng Luật sư MINERVAS (MINERVAS)

(54) TINH THỂ CỦA HỢP CHẤT AZOL BENZEN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA TINH THỂ NÀY

(57) Sáng chế đề xuất tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic mà hữu dụng làm chất điều trị hoặc chất phòng ngừa bệnh gút, chứng tăng axit uric trong máu và các bệnh tương tự. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa tinh thể này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến tinh thể của hợp chất azol benzen hữu dụng làm chất điều trị hoặc chất phòng ngừa các bệnh liên quan đến xantin oxidaza như bệnh gút, chứng tăng axit uric trong máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, chứng tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, bệnh tiểu đường, bệnh tim mạch như xơ cứng động mạch hoặc suy tim, bệnh thận như bệnh thận do tiểu đường, các bệnh về đường hô hấp như bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính, bệnh viêm ruột hoặc các bệnh tự miễn.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Xantin oxidaza là enzym xúc tác sự chuyển hóa hypoxantin thành xantin và tiếp theo thành axit uric trong sự chuyển hóa axit nucleic.

Chất ức chế xantin oxidaza ức chế sự tổng hợp axit uric để làm giảm nồng độ axit uric trong máu liên quan đến hoạt động của xantin oxidaza. Đó là, chất ức chế xantin oxidaza có tác dụng như chất điều trị tăng axit uric trong máu và nhiều bệnh khác do tăng axit uric trong máu gây ra. Mặt khác, viêm khớp gút và gút u cục được gọi là bệnh gút là điều kiện lâm sàng gây ra do kết quả của sự lắng đọng các tinh thể urat sau khi tăng axit uric trong máu kéo dài. Ngoài ra, tăng axit uric trong máu được coi là yếu tố trọng yếu trong các bệnh về lối sống liên quan đến bệnh béo phì, cao huyết áp, rối loạn lipid máu và bệnh tiểu đường hoặc hội chứng chuyển hóa, và gần đây, qua các cuộc điều tra dịch tễ học đã làm rõ được rằng tăng axit uric trong máu là một yếu tố nguy cơ đối với tổn thương thận, sỏi tiết niệu và các bệnh tim mạch (Ủy ban Duyệt lại Hướng dẫn của Hiệp hội về Bệnh Gút và Chuyển hóa Axit Nucleic Nhật Bản, biên soạn, Hướng dẫn kiểm soát bệnh tăng axit uric trong máu và bệnh gút, tái bản lần 2, Kiểm soát y tế (2010)). Ngoài ra, chất ức chế xantin oxidaza được mong đợi là hữu dụng cho việc điều trị các bệnh liên quan đến các gốc oxy hóa mạnh bằng hoạt động ức chế sự tạo thành các gốc oxy hóa mạnh, ví dụ, để điều trị các bệnh tim mạch nhờ hoạt động cải thiện chức năng mạch máu (Hệ tuần hoàn. 2006; 114: 2508-2516).

Allopurinol và febuxostat được sử dụng trên lâm sàng như chất điều trị tăng

axit uric trong máu, nhưng allopurinol đã được báo cáo là có tác dụng phụ như hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử biểu bì nhiễm độc, rối loạn chức năng gan và rối loạn chức năng thận (Nippon Rinsho, 2003; 61, Suppl 1: 197-201).

Về hợp chất có hoạt động ức chế xantin oxidaza, ví dụ, hợp chất 2-phenylthiazol đã được báo cáo (Tài liệu sáng chế 1 đến 3).

Mặt khác, trong Tài liệu sáng chế 4 và 5, hợp chất axit dithiazol carboxylic có vòng benzen ở trung tâm đã được báo cáo. Hơn nữa, trong Tài liệu sáng chế 6 và 7, hợp chất axit biphenyl thiazol carboxylic đã được báo cáo.

Danh sách tài liệu trích dẫn

Tài liệu sáng chế:

[PTL 1] Công bố quốc tế số 92/09279;

[PTL 2] Sáng chế Nhật Bản đã công bố số 2002-105067;

[PTL 3] Công bố quốc tế số 96/31211;

[PTL 4] Công bố quốc tế số 2011/139886;

[PTL 5] Công bố quốc tế số 2011/101867;

[PTL 6] Công bố quốc tế số 2010/018458;

[PTL 7] Công bố quốc tế số 2010/128163.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất và tinh thể của nó mà hữu dụng làm chất điều trị hoặc chất phòng ngừa các bệnh liên quan đến xantin oxidaza như bệnh gút, chứng tăng axit uric trong máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, bệnh tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, bệnh tiểu đường, bệnh tim mạch như xơ cứng động mạch hoặc suy tim, bệnh thận như bệnh thận do tiểu đường, các bệnh về đường hô hấp như bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính, viêm ruột, bệnh tự miễn.

Giải pháp cho vấn đề

Là kết quả của việc nghiên cứu nghiêm túc các mục đích nêu trên, các nhà sáng

chế đã tìm ra rằng axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic (sau đây, cũng được gọi là hợp chất (I)) có thể được kết tinh và tồn tại ít nhất như một dạng tinh thể.

Do đó, sáng chế đề xuất như sau.

- [1] Tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic;
- [2] Tinh thể theo điểm [1], trong đó tinh thể này có dạng tinh thể A;
- [3] Tinh thể theo điểm [2], trong đó tinh thể này có các đỉnh đặc trưng ở các góc nhiễu xạ $2\theta = 7,2^\circ, 11,3^\circ, 15,9^\circ, 17,9^\circ, 20,8^\circ, 22,3^\circ, 23,1^\circ, 23,8^\circ, 24,3^\circ$ và $28,6^\circ$ trong phổ nhiễu xạ bột tia X của nó;
- [4] Tinh thể theo điểm [2], trong đó phổ nhiễu xạ bột tia X của nó có dạng như được thể hiện ở Fig. 1;
- [5] Tinh thể theo điểm [2], trong đó đỉnh tỏa nhiệt của nó trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai là ở 232°C ;
- [6] Dược phẩm chứa tinh thể theo điểm bất kỳ từ [1] đến [5] và chất mang dược dụng;
- [7] Chất ức chế xantin oxidaza chứa tinh thể theo điểm bất kỳ từ [1] đến [5] làm hoạt chất; và
- [8] Chất điều trị hoặc phòng ngừa một hoặc nhiều loại bệnh được chọn từ nhóm bao gồm gút, tăng axit uric trong máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, tiểu đường, bệnh tim mạch, bệnh thận, các bệnh về đường hô hấp, bệnh viêm ruột và các bệnh tự miễn, chứa tinh thể theo điểm bất kỳ từ [1] đến [5] làm hoạt chất;

Hiệu quả có lợi của sáng chế

Sáng chế đề xuất các tinh thể của hợp chất azol benzen, mà hữu dụng như chất điều trị hoặc chất phòng ngừa các bệnh liên quan đến xantin oxidaza như gút, tăng axit uric trong máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, tiểu đường, bệnh tim mạch như xơ cứng động mạch hoặc suy tim, bệnh thận như bệnh thận do tiểu đường, các bệnh về đường hô hấp như bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính, viêm ruột, bệnh tự miễn. Các tinh thể này có thể được sử dụng như thành phần hoạt

chất được phẩm để sản xuất được chất.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là hình phổ nhiễu xạ bột tia X của dạng tinh thể A.

Mô tả chi tiết sáng chế

“Xantin oxidaza” được sử dụng theo nghĩa rộng rằng nó là enzym xúc tác phản ứng oxi hóa từ hypoxantin thành xantin và tiếp theo thành axit uric và cả theo nghĩa hẹp rằng nó là xantin oxidoreductaza loại oxidaza mà là một trong các enzym xúc tác phản ứng nêu trên. Trong sáng chế, trừ khi được định nghĩa khác, “xantin oxidaza” được gọi chung là enzym xúc tác phản ứng oxi hóa từ hypoxantin thành xantin và tiếp theo thành axit uric. Trong số các xantin oxidoreductaza gây ra phản ứng này có mặt hai loại oxidoreductaza loại oxidaza và oxidoreductaza loại dehydrogenaza và cả hai loại này đều bao gồm trong xantin oxidaza của sáng chế. Trừ khi được định nghĩa khác, “xantin oxidaza” có nghĩa tương tự như được định nghĩa ở trên trong “hoạt động ức chế xantin oxidaza”, “chất ức chế xantin oxidaza” và các khái niệm tương tự.

Tinh thể của sáng chế được đặc trưng bằng phổ nhiễu xạ bột tia X, và/hoặc phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA) và các dạng tương tự. Phổ nhiễu xạ bột tia X (XRD) của các tinh thể này bộc lộ các dạng đặc trưng, và mỗi tinh thể có giá trị góc nhiễu xạ 2θ riêng. Ngoài ra, từng tinh thể này cũng bộc lộ tính chất nhiệt đặc trưng trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA).

Dạng tinh thể A của sáng chế có các đỉnh đặc trưng ở các góc nhiễu xạ $2\theta = 7,2^\circ, 11,3^\circ, 15,9^\circ, 17,9^\circ, 20,8^\circ, 22,3^\circ, 23,1^\circ, 23,8^\circ, 24,3^\circ$ và $28,6^\circ$ trong phổ nhiễu xạ bột tia X của nó. Ngoài ra, dạng tinh thể A của sáng chế có dạng được thể hiện ở Fig. 1 trong phổ nhiễu xạ bột tia X của nó, và có đỉnh tỏa nhiệt ở 232°C trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA). Dạng tinh thể A là tinh thể khan.

Như được sử dụng trong sáng chế, “đỉnh đặc trưng” có nghĩa là đỉnh quan sát được chủ yếu trong phổ nhiễu xạ bột tia X của từng dạng tinh thể, cũng như đỉnh duy nhất. Các tinh thể của sáng chế được xác định bằng các góc nhiễu xạ cũng bao gồm các đỉnh ngoài các đỉnh quan sát được là các đỉnh đặc trưng như được mô tả ở trên.

Vị trí và cường độ tương đối của góc nhiễu xạ 2θ trong phổ nhiễu xạ bột tia X có thể thay đổi một chút tùy thuộc vào các điều kiện đo, và do đó, mặc dù 2θ có một

chút khác biệt, tính đồng nhất của dạng tinh thể cần được công nhận bằng cách xem xét một cách thích hợp dạng của toàn bộ quang phổ. Các tinh thể trong phạm vi sai số đó cũng được bao gồm trong sáng chế. Sai số trong 2θ có thể là, ví dụ, trong phạm vi $\pm 0,5^\circ$ hoặc $\pm 0,2^\circ$. Nói cách khác, các tinh thể được xác định bằng các góc nhiễu xạ nêu trên cũng bao gồm các tinh thể có các góc nhiễu xạ trong phạm vi sai số $\pm 0,5^\circ$ hoặc $\pm 0,2^\circ$.

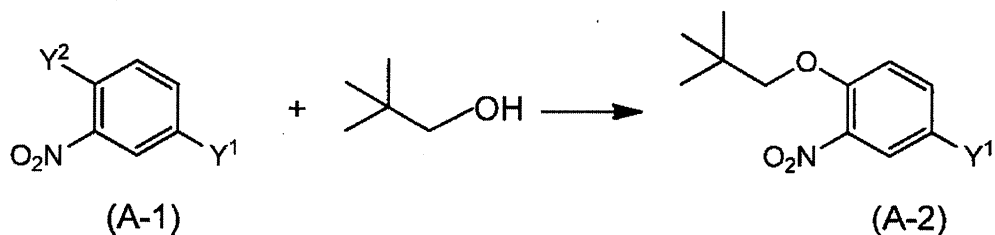
Trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA), “đỉnh tỏa nhiệt” và “đỉnh thu nhiệt” được định nghĩa là nhiệt độ tại điểm khởi đầu của đỉnh và có nghĩa là nhiệt độ bắt đầu tỏa nhiệt và thu nhiệt xác định bằng phép ngoại suy. “Đỉnh tỏa nhiệt” và “đỉnh thu nhiệt” trong TG/DTA có thể thay đổi một chút tùy thuộc vào các điều kiện đo. Ví dụ, sai số được coi như nằm trong phạm vi $\pm 5^\circ\text{C}$ hoặc $\pm 2^\circ\text{C}$. Nói cách khác, các tinh thể được xác định bằng các đỉnh nêu trên cũng bao gồm các tinh thể có các đỉnh nằm trong phạm vi sai số $\pm 5^\circ\text{C}$ hoặc $\pm 2^\circ\text{C}$.

Hơn nữa, đối với cả phổ nhiễu xạ bột tia X và TG/DTA, sự khác biệt giữa các giá trị đo được đối với các tinh thể là vật liệu chuẩn, ví dụ, mỗi tinh thể thu được bằng phương pháp được mô tả trong các ví dụ và các giá trị số được mô tả trong sáng chế có thể được chấp nhận là các sai số đo lường. Đó là, các tinh thể có cùng góc nhiễu xạ và đỉnh tỏa nhiệt và thu nhiệt trong phạm vi sai số được tính toán bằng các phương pháp trên được bao gồm trong tinh thể của sáng chế.

Dạng tinh thể A của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic có thể được tổng hợp, ví dụ, theo phương pháp tổng hợp được mô tả dưới đây.

Tổng hợp hợp chất (A-2)

Công thức hóa học 1

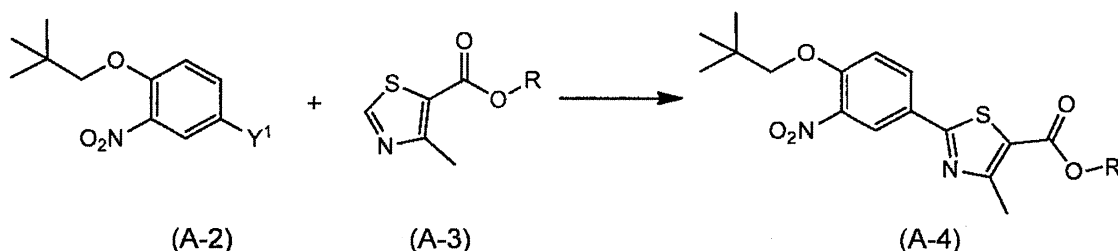


(trong đó Y¹ và Y² biểu thị nhóm rời chuyển.) Ví dụ về nhóm rời chuyển được biểu thị bằng Y¹ và Y² bao gồm nguyên tử halogen, nhóm metansulfonyloxy, nhóm p-

toluensulfonyloxy, nhóm triflometansulfonyloxy và các nhóm tương tự. Phản ứng này là phương pháp để tổng hợp hợp chất (A-2) bằng phản ứng của rượu neopentyl với nhóm rời chuyển Y^2 trong hợp chất (A-1) với sự có mặt của bazơ. Ví dụ về các bazơ được sử dụng bao gồm muối vô cơ như natri hydrua, natri hydroxit, kali hydroxit, liti hydroxit, natri cacbonat, kali cacbonat, xeri cacbonat; alkoxit kim loại như natri etoxit, natri metoxit và kali t-butoxit; và amin hữu cơ như trietylamin, pyridin, 4-aminopyridin, N-etyl-N,N-diisopropylamin (DIPEA) và 1,8-diazabicyclo[5.4.0]-7-undecen (DBU). Phản ứng được thực hiện bằng cách cho phản ứng bazơ với lượng tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với lượng hợp chất (A-1) và rượu neopentyl với lượng tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với lượng hợp chất (A-1) trong dung môi trơ với phản ứng trong phạm vi giữa 0°C và 140°C , theo sau là việc thêm hợp chất (A-1) vào hỗn hợp để cho phép phản ứng tiến hành thông thường từ 0,5 đến 16 giờ. Phản ứng tốt nhất được thực hiện dưới môi trường khí trơ như nitơ. Ở đây, dung môi bao gồm, mặc dù không bị giới hạn một cách cụ thể, ví dụ, hydrocacbon thơm như benzen, toluen và xylen; ete như dietyl ete, tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxan, 1,2-dimethoxy etan và 1,2-dietoxy etan; hydrocacbon halogen hóa như diclometan, 1,2-dicloetan và cloroform; N,N-dimetylformamit (DMF); N-metylpyrrolidon; dimetyl sulfoxit (DMSO); nước; hoặc dung môi hỗn hợp của chúng.

Tổng hợp hợp chất (A-4)

Công thức hóa học 2

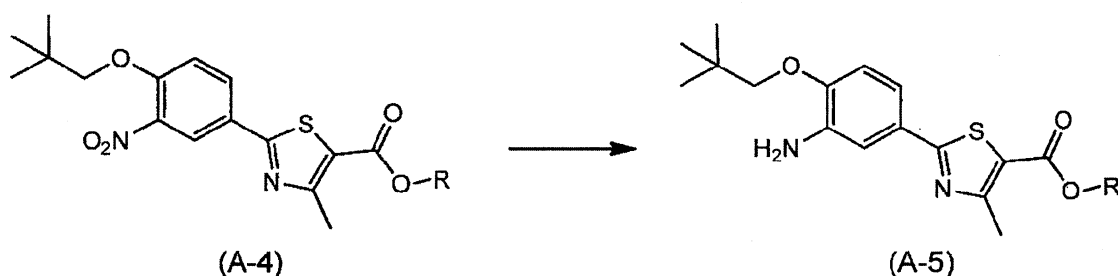


(trong đó R biểu thị nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon). Phương pháp tổng hợp là phương pháp để tổng hợp hợp chất (A-4) bằng cách nối hợp chất (A-2) và (A-3) với nhau. Ví dụ về nhóm rời chuyển được biểu thị bằng Y^1 bao gồm nguyên tử halogen, nhóm metansulfonyloxy, nhóm p-toluensulfonyloxy và nhóm triflometansulfonyloxy. Phản ứng được thực hiện bằng cách cho phản ứng hợp chất (A-2) và (A-3) với lượng một hợp chất tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với hợp chất còn lại trong dung môi trơ với phản ứng với sự có mặt của bazơ và chất xúc tác kim loại chuyển tiếp, cho

thêm phối tử, axit carboxylic và muối đồng hóa trị một hoặc hóa trị hai khi cần thiết, trong phạm vi giữa nhiệt độ phòng và nhiệt độ hồi lưu trong 0,5 giờ đến 2 ngày. Phản ứng tốt nhất được thực hiện dưới môi trường khí trơ như nitơ. Ở đây, dung môi bao gồm, mặc dù không bị giới hạn một cách cụ thể, ví dụ, hydrocacbon thơm như benzen, toluen và xylen; ete như diethyl ete, tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxan, 1,2-dimethoxy etan và 1,2-dietoxy etan; hydrocacbon halogen hóa như diclometan, 1,2-dicloetan và cloroform; rượu như metanol, etanol, 2-propanol và butanol; N,N-dimethylfocmamid (DMF); N-metylpyrrolidon; dimetyl sulfoxit (DMSO); nước; và dung môi hỗn hợp của chúng. Ví dụ về bazơ bao gồm lithi hydrua, natri hydrua, kali hydrua, natri hydroxit, kali hydroxit, natri cacbonat, kali cacbonat, xeri cacbonat, kali florua, xeri florua, trikali photphat, natri axetat và kali axetat; muối kim loại của alkoxit có 1 đến 6 nguyên tử cacbon (muối lithi, muối natri, muối kali và muối magie); muối kim loại của alkyl anion có 1 đến 6 nguyên tử cacbon (muối lithi, muối natri, muối kali và muối magie); muối tetra (alkyl có 1 đến 4 nguyên tử cacbon) amoni (florua, clorua và bromua); diisopropyletylamin; tributylamin; N-metylmorpholin; diazabixycloundecen; diazabixylcooctan; và imidazol. Ví dụ về chất xúc tác kim loại chuyển tiếp bao gồm đồng, paladi, coban, sắt, rodi, ruteni và iridi. Ví dụ về các phối tử bao gồm tri(t-butyl)phosphin, tri(xyclohexyl)phosphin, t-butyldixyclohexylphosphin, di(t-butyl)xyclohexylphosphin và di(t-butyl)metylphosphin. Ví dụ về muối đồng hóa trị một hoặc hóa trị hai bao gồm đồng clorua (I), đồng bromua (I), đồng iodua (I), đồng axetat (I), đồng florua (II), đồng clorua (II), đồng bromua (II), đồng iodua (II), đồng axetat (II), hydrat của chúng và hỗn hợp của chúng. Ví dụ về axit carboxylic bao gồm axit focmic, axit axetic, axit propionic, axit n-butyric, axit isobutyric, axit pentanoic, axit isopentanoic, axit pivalic và axit trifloaxetic.

Tổng hợp hợp chất (A-5)

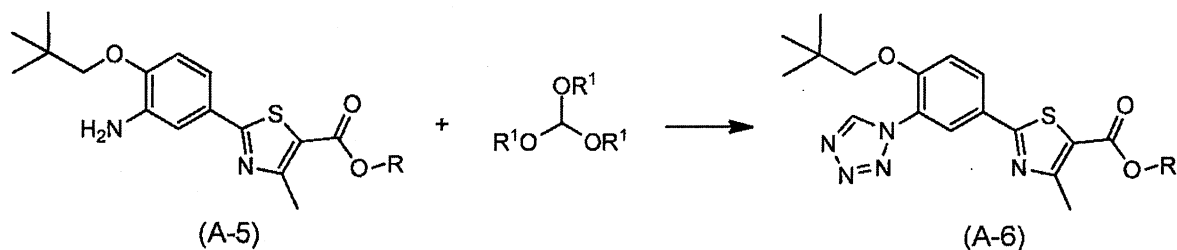
Công thức hóa học 3



(trong đó R biểu thị nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon). Phương pháp tổng hợp là phương pháp để tổng hợp hợp chất (A-5) bằng cách khử nhóm nitro của hợp chất (A-4). Phản ứng được thực hiện bằng cách cho phản ứng hợp chất (A-4) dưới môi trường khí hydro trong dung môi trơ với phản ứng với sự có mặt chất xúc tác kim loại chuyển tiếp trong phạm vi giữa nhiệt độ phòng và nhiệt độ hồi lưu thường từ 0,5 giờ đến 2 ngày. Ở đây, dung môi bao gồm, mặc dù không bị giới hạn một cách cụ thể, ví dụ, hydrocacbon thơm như benzen, toluen và xylen; ete như dietyl ete, tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxan, 1,2-dimetoxy etan và 1,2-dietoxy etan; hydrocacbon halogen hóa như diclometan, 1,2-dicloetan và cloroform; rượu như metanol, etanol, 2-propanol và butanol; N,N-dimetylformamit (DMF); N-metylpyrrolidon; dimetyl sulfoxit (DMSO); etyl axetat; và hỗn hợp dung môi của chúng. Các ví dụ được ưu tiên về chất xúc tác kim loại chuyển tiếp bao gồm paladi-cacbon, paladi hydroxit, bột đen paladi, platin-cacbon, niken Raney và các chất tương tự.

Tổng hợp hợp chất (A-6): alkyl este của axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic

Công thức hóa học 4

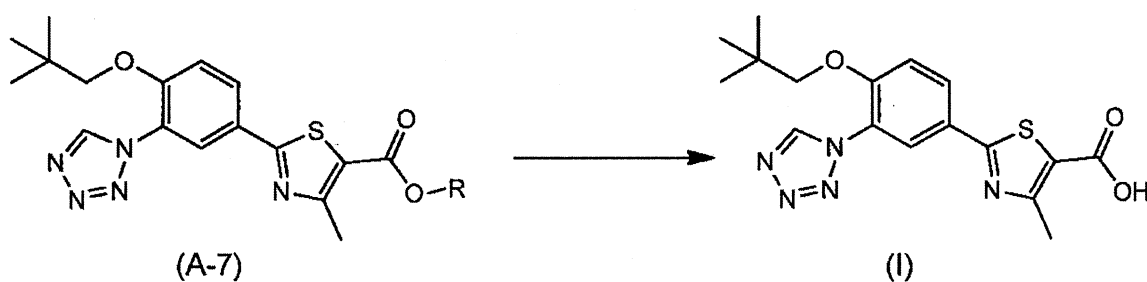


(trong đó R và R¹ độc lập biểu thị nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon). Phương pháp tổng hợp là phương pháp để tổng hợp vòng tetrazol bằng cách cho phản ứng hợp chất (A-5) với octofocmat và hợp chất azit. Phản ứng được thực hiện bằng cách cho phản ứng hợp chất (A-5), octofocmat và hợp chất azit với lượng một hợp chất tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với lượng hợp chất còn lại trong dung môi trơ với phản ứng với sự có mặt của axit trong phạm vi giữa nhiệt độ phòng và nhiệt độ hồi lưu thường trong 0,5 giờ đến 2 ngày. Phản ứng này tốt nhất được thực hiện dưới môi trường khí trơ như nitơ. Ví dụ về octofocmat bao gồm trimetyl octofocmat và trietyl octofocmat. Ngoài ra, ví dụ về hợp chất azit bao gồm natri azit và trimetyl silylazit. Ví dụ về axit để sử dụng bao gồm axit hữu cơ như axit formic và axit axetic, axit vô cơ như axit clohydric và axit sulfuric, và axit Lewis như indi triflat, ytebi triflat, kẽm

triflat và tricloindi. Dung môi để sử dụng cho các phản ứng này bao gồm, mặc dù không bị giới hạn một cách cụ thể, ví dụ, benzen, toluen, diclometan, dicloetan, cloroform, cacbon tetraclorea, dietyl ete, tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxan, 1,2-dimetoxy etan, 1,2-dietoxy etan, N,N-dimetylformamit (DMF), N-metylpyrrolidon, dimetyl sulfoxit (DMSO) và hỗn hợp dung môi của chúng, và axit như axit axetic cũng có thể được sử dụng như dung môi.

Tổng hợp dạng tinh thể A của hợp chất (I): axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic

Công thức hóa học 5



(trong đó, R biểu thị nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon). Dạng tinh thể A của hợp chất (I) có thể được sản xuất bằng phương pháp bao gồm bước làm lơ lửng hợp chất (A-7) trong dung môi và thủy phân huyền phù bằng cách thêm dung dịch nước của bazơ và bước trung hòa sản phẩm phản ứng. Ngoài ra, phương pháp này có thể còn bao gồm bước thêm nước vào sản phẩm đã được trung hòa và bước sau đó là khuấy sản phẩm phản ứng. Dung môi được sử dụng để làm lơ lửng hợp chất (A-7) bao gồm, ví dụ, hydrocacbon thơm như benzen, toluen và xilen; ete như dietyl ete, tetrahydrofuran (THF), 1,4-dioxan, 1,2-dimetoxy etan và 1,2-dietoxy etan; hydrocacbon halogen hóa như diclometan, 1,2-dicloetan và cloroform; rượu như metanol, etanol, 2-propanol và butanol; N,N-dimetylformamit (DMF); N-metylpyrrolidon; dimetyl sulfoxit (DMSO); nước; và dung môi hỗn hợp của chúng. Dung môi tốt nhất là ete, rượu, nước hoặc dung môi hỗn hợp của chúng.

Trong hợp chất (A-7), R tốt nhất là nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon và tốt hơn nữa là nhóm etyl. Ở đây, nhóm alkyl được ưu tiên là nhóm hydrocacbon béo bão hòa mạch thẳng hoặc phân nhánh. Ví dụ cụ thể về nhóm alkyl có 1 đến 6 nguyên tử cacbon bao gồm nhóm metyl, nhóm etyl, nhóm propyl, nhóm isopropyl, nhóm butyl, nhóm isobutyl, nhóm tert-butyl, nhóm pentyl, nhóm isopentyl và nhóm hexyl.

Phản ứng thủy phân từ hợp chất (A-7) thành hợp chất (I) tiến hành bằng cách làm lơ lửng hợp chất (A-7) trong dung môi (ví dụ, với lượng gấp 15 lần lượng hợp chất (A-7)) và sau đó cho phản ứng hợp chất (A-7) với bazơ có lượng tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với lượng hợp chất (A-7). Ví dụ về các bazơ được ưu tiên bao gồm natri hydroxit, kali hydrua và lithi hydrua. Phản ứng thực hiện trong phạm vi giữa 0°C và 100°C nhưng tốt nhất được thực hiện trong phạm vi giữa 20°C và 30°C. Sau phản ứng thủy phân, sản phẩm phản ứng được trung hòa bằng cách cho phản ứng bazơ được sử dụng với axit với lượng tương đương hoặc nhiều hơn một chút so với lượng bazơ. Ví dụ về axit được ưu tiên bao gồm axit clohydric. Phản ứng trung hòa thực hiện trong phạm vi giữa 0°C và 100°C nhưng tốt nhất được thực hiện trong phạm vi giữa 0°C đến 30°C.

Sau đó, nước (ví dụ, với lượng gấp 5 lần lượng hợp chất (A-7)) được cho thêm vào sản phẩm phản ứng đã được trung hòa và hỗn hợp được khuấy trong một giờ, và sau đó chất kết tủa được lọc và được sấy khô để thu được tinh thể. Mặc dù lượng dung môi, lượng nước được cho thêm, điều kiện khuấy và thời gian đến khi tách bằng việc lọc không bị giới hạn một cách cụ thể, do những điều kiện này có thể ảnh hưởng lên sản lượng tinh thể, độ tinh khiết hóa học, đường kính hạt và sự phân bố kích thước hạt, các điều kiện này tốt nhất là được kết hợp và được thiết lập theo mục đích đó. Việc lọc có thể được thực hiện bằng phương pháp thông thường, ví dụ, lọc tự nhiên, lọc áp suất, lọc chân không, hoặc tách ly tâm. Sấy khô có thể được thực hiện bằng phương pháp thông thường, ví dụ, sấy khô tự nhiên, sấy khô chân không, sấy khô dùng nhiệt và sấy khô dùng nhiệt trong chân không. Hợp chất trung gian của phản ứng có thể được tinh chế bằng phương pháp thông thường như tái kết tinh, tái kết tủa và nhiều phương pháp sắc ký, nếu cần, trong quá trình tổng hợp.

Mặc dù tinh thể của sáng chế có thể được xác định bằng phổ nhiễu xạ bột tia X đặc trưng hoặc phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA), khi các dạng tinh thể khác xuất hiện, tỷ lệ kết hợp của chúng không được đề cập đến. Chỉ khi một dạng tinh thể cụ thể thu được, ít nhất sự kết hợp các dạng tinh thể khác nhau có thể được chấp nhận đến một mức độ mà sự kết hợp này không thể bị ảnh hưởng bởi các phương pháp đo trên. Ngoài ra, khi một dạng tinh thể riêng được sử dụng làm thành phần hoạt chất được phẩm cho được chất, điều đó không có nghĩa là tạp chất của các dạng tinh thể khác là không thể chấp nhận được.

Tinh thể của sáng chế có thể được sử dụng làm thành phần hoạt chất được phẩm. Ngoài ra, khi các dạng tinh thể khác xuất hiện, không chỉ một dạng tinh thể mà còn hỗn hợp của hai hoặc nhiều dạng tinh thể có thể được sử dụng. Trong sáng chế, khả năng tái xử lý trong quá trình sản xuất, khả năng tái sản xuất, tính ổn định và tính ổn định trong bảo quản là những ưu điểm từ việc thu được tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic so với hợp chất mà không phải là tinh thể.

Dược phẩm có thể thu được bằng cách sử dụng tinh thể của sáng chế và chất mang được dụng.

Chế phẩm chứa tinh thể của sáng chế được chuẩn bị sử dụng chất phụ gia thường được sử dụng để công thức hóa. Ví dụ về các chất phụ gia để chuẩn bị chất rắn bao gồm tá dược như lactoza, sacaroza, glucoza, tinh bột ngô, tinh bột khoai tây trắng, xenluloza dạng tinh thể, axit silixic khan nhẹ, silicat nhôm tổng hợp, magie nhôm metasilicat và canxi hydro photphat; chất kết dính như xenluloza dạng tinh thể, cacboxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, cacboxymetyl xenluloza natri và polyvinyl pyrrolidon; chất làm phân rã như tinh bột, cacboxymetyl xenluloza natri, cacboxymetyl xenluloza canxi, croscarmelloza natri và tinh bột natri cacboxymetyl; chất bôi trơn như đá talc và axit stearic; chất phủ như hydroxymetylpropylxenluloza, hydroxypropylmethylxenluloza phthalat và etylxenluloza; và chất tạo màu, chất phụ gia để điều chế chất bán rắn bao gồm chất nền như vazolin trắng, và chất phụ gia để điều chế chất lỏng bao gồm dung môi như etanol; chất hòa tan như etanol; chất bảo quản như para-hydroxybenzoat; chất bổ như glucoza; chất đệm như axit citric; chất chống oxi hóa như axit L-ascorbic; chất tạo cằng như EDTA; và chất tạo huyền phù như và chất nhũ tương hóa như polysorbat 80.

Tinh thể của sáng chế có thể được sử dụng với dạng bào chế bất kỳ như chế phẩm dạng rắn, chế phẩm dạng bán rắn và chế phẩm dạng lỏng, và được sử dụng dưới dạng chế phẩm cho bất kỳ hình thức sử dụng nào như chế phẩm dùng đường miệng và chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa (như chế phẩm tiêm, chế phẩm hấp thụ qua da, chế phẩm dùng cho mắt, chế phẩm nhét vào hậu môn, chế phẩm dùng qua đường xông và chế phẩm hít).

Dược phẩm chứa tinh thể của sáng chế làm hoạt chất có thể được sử dụng như

chất ức chế xantin oxidaza hoặc chất điều trị và chất phòng ngừa các bệnh liên quan đến xantin oxidaza như gút, tăng axit uric trong máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, tiểu đường, bệnh tim mạch như xơ cứng động mạch và suy tim, bệnh thận như bệnh thận do tiểu đường, các bệnh về đường hô hấp như bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính, viêm ruột, bệnh tự miễn. Ở đây, thuật ngữ “phòng ngừa” có nghĩa là ngăn ngừa sự ảnh hưởng hoặc sự khởi phát bệnh ở cá nhân không mắc bệnh hoặc chưa tiến triển bệnh và thuật ngữ “điều trị” có nghĩa là trị liệu, ngăn chặn hoặc khắc phục bệnh hoặc triệu chứng ở cá nhân đã bị mắc bệnh hoặc bệnh đã tiến triển bệnh.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương pháp đo

Phổ nhiễu xạ bột tia X của tinh thể của sáng chế được đo theo điều kiện sau đây.

Thiết bị: máy phát hiện D8 với GADDS CS sản xuất bởi Bruker AXS

Nguồn bức xạ: Cu K α , chiều dài bước sóng: 1,541838 (10^{-10} m), 40 kV-40 mA, máy đơn sắc than chì phẳng tới, đường kính ống chuẩn trực 300 μ m, máy dò PSPC hai chiều, quét từ 3 đến 40°

Phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA) của tinh thể của sáng chế được đo theo các điều kiện sau.

Thiết bị: TG8120 sản xuất bởi Rigaku

Tốc độ tăng nhiệt độ: 10°C/phút, môi trường khí: nitơ, nồi mẫu: nhôm, mẫu: alumin, lấy mẫu: 1,0 giây, phạm vi nhiệt độ đo: 25 đến 300°C

Đối với các hợp chất mà phổ $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 hoặc CDCl_3) được đo, dịch chuyển hóa học (δ : ppm) và hằng số nối (J : Hz) được thể hiện.

Thiết bị: JMTC-400/54/SS sản xuất bởi JEOL

Các từ viết tắt biểu thị như sau:

s=mức đơn, d=mức đôi, t=mức ba, q=mức bốn, brs=mũi đơn rộng, m=mức bội

Ví dụ tham khảo 1

Sản xuất etyl 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylat

(1) Hỗn hợp được chuẩn bị bằng cách làm lơ lửng 1,06g rượu neopentyl trong 40,0 mL toluen được làm lạnh xuống 0°C dưới môi trường khí nitơ, và 1,35g t-butoxynatri được cho thêm và hỗn hợp thu được được khuấy ở 0°C trong 30 phút. Sau đó, sau khi thêm 2,20 g 4-bromo-1-fluor-2-nitrobenzen vào hỗn hợp nói trên ở 0°C, dung dịch hỗn hợp phản ứng thu được được làm ấm đến nhiệt độ phòng và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Sau khi thêm nước vào dung dịch hỗn hợp phản ứng, việc chiết được thực hiện sử dụng etyl axetat. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, theo sau là sấy khô và cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 3,12g 4-bromo-1-(2,2-dimethylpropoxy)-2-nitrobenzen.

(2) Huyền phù được chuẩn bị bằng cách thêm 3,04 g kali bicacbonat, 63 mg paladi clorua (II) và 297 mg đồng bromua (I) vào 4,18g 4-bromo-1-(2,2-dimethylpropoxy)-2-nitrobenzen, và làm lơ lửng hỗn hợp trong 45 mL toluen. Sau đó, dung dịch hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách thêm 2,97 g etyl 4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylat, 133 μ L axit isobutyric và 333 μ L di-t-butylxyclohexylphosphin vào huyền phù đã được đun nóng đến 120°C trong 14 giờ dưới môi trường khí nitơ. Dung dịch hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit để loại bỏ các chất không hòa tan, nước được cho thêm vào chất lọc và việc chiết được thực hiện sử dụng etyl axetat. Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối và sau đó được sấy khô và cô đặc dưới áp suất giảm, theo sau là tinh chế bằng phương pháp thông thường để thu được 5,13 g etyl 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-nitrophenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylat.

$^1\text{H-NMR}$ (400Mz, CDCl_3) δ : 1,08(9H, s), 1,39(3H, t, $J = 6,8\text{Hz}$), 2,77(3H, s), 3,79(2H, s), 4,36(2H, q, $J = 6,8\text{Hz}$), 7,12(1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$), 8,10(1H, dd, $J = 2,0, 8,8\text{Hz}$), 8,45(1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$)

(3) Dung dịch hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách làm lơ lửng 5,13 g etyl 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-nitrophenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylat trong 50 mL etanol, và cho thêm 500 mg paladi/cacbon (10 % tính theo khối lượng) vào huyền phù, và hỗn hợp phản ứng được khuấy ở 50°C trong 20 giờ dưới môi trường khí hydro. Dung dịch hỗn hợp phản ứng được lọc và chất lọc được cô đặc dưới áp suất giảm để thu được 4,66 g etyl 2-[3-amino-4-(2,2-dimethylpropoxy)phenyl]-4-methyl-

1,3-thiazol-5-cacboxylat.

(4) Dung dịch hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách làm lơ lửng 2,58 g etyl 2-[3-amino-4-(2,2-dimetylproxy)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-cacboxylat trong 30 mL axit axetic và cho thêm 962 mg natri azit và 2,19 g trietyl octofocmat đã được đun nóng ở 70°C trong 2 giờ dưới môi trường khí nitơ. Sau khi làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ phòng, 20 mL nước được cho thêm, theo sau là tinh chế bằng phương pháp thông thường để thu được 2,78 g etyl 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-cacboxylat.

¹H-NMR(400Mz,CDCI₃) δ:1,00(9H, s), 1,39(3H, t, J = 6,8Hz), 2,78(3H, s), 3,82(2H, s), 4,36(2H, q, J = 6,8Hz), 7,18(1H, d, J = 8,8Hz), 8,08(1H, dd, J = 2,4, 8,8Hz), 8,42(1H, d, J = 2,4Hz), 9,19(1H, s)

Ví dụ 1

Sản xuất dạng tinh thể A của axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic

Dung dịch hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,58 g etyl 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-cacboxylat trong 30,0 L dung dịch hỗn hợp của tetrahydrofuran/metanol=1/1 theo sau là việc thêm 6,50 mL dung dịch ngâm nước natri hydroxit 2 M được khuấy trong phạm vi nhiệt độ giữa 20°C và 30°C trong 3 giờ. Trong khi khuấy trong phạm vi nhiệt độ giữa 20°C và 30°C, 6,50 mL axit clohydric 2 M được thêm từ từ vào dung dịch hỗn hợp phản ứng và tiếp theo là 17,0 mL nước được thêm từ từ vào đó. Dung dịch hỗn hợp phản ứng được khuấy trong phạm vi nhiệt độ giữa 20°C và 30°C trong một giờ và tinh thể được thu được bằng cách lọc. Tinh thể thu được được rửa bằng 7,0 mL dung dịch hỗn hợp của metanol/nước=1/1 và 7,0 mL nước. Tinh thể này được sấy khô chân không ở 50°C để mang lại 2,25 g tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic. XRD của tinh thể thu được được thể hiện trong Fig. 1. Các đỉnh quan sát được ở các góc nhiễu xạ $2\theta = 7,2^\circ$, $11,3^\circ$, $15,9^\circ$, $17,9^\circ$, $20,8^\circ$, $22,3^\circ$, $23,1^\circ$, $23,8^\circ$, $24,3^\circ$ và $28,6^\circ$. Ngoài ra, đỉnh tỏa nhiệt trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai (TG/DTA) quan sát được ở 232°C.

$^1\text{H-NMR}$ (400Mz,DMSO- d_6) δ :0,83(9H, s), 2,66(3H, s), 3,83(2H, s), 7,47(1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$), 8,18(1H, dd, $J = 2,4, 8,8\text{Hz}$), 8,27(1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$), 9,78(1H, s), 13,40(1H, s)

Ví dụ tham khảo 2

Sản xuất axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic

Dung dịch hỗn hợp phản ứng được chuẩn bị bằng cách hòa tan 307 mg etyl 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylat trong 8,0 mL dung dịch hỗn hợp của tetrahydrofuran/metanol=1/1 theo sau là việc thêm 1,0 mL dung dịch ngâm nước natri hydroxit 2 M được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Sau khi thêm 1,0 mL axit clohydric 2 M vào dung dịch hỗn hợp phản ứng, 6,0 mL nước được cho thêm, theo sau là tinh chế bằng phương pháp thông thường để thu được 244 mg axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazole-5-carboxylic.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ :0,83(9H, s), 2,66(3H, s), 3,83(2H, s), 7,47(1H, d, $J = 8,8\text{Hz}$), 8,18(1H, dd, $J = 2,4, 8,8\text{Hz}$), 8,27(1H, d, $J = 2,0\text{Hz}$), 9,78(1H, s), 13,40(1H, s)

Ví dụ tham khảo 3

Đo hoạt động ức chế xantin oxidaza

(1) Chuẩn bị hợp chất thử nghiệm

Sau khi hòa tan axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic trong DMSO (sản xuất bởi Sigma Corporation) sao cho nồng độ là 20 mM, dung dịch được sử dụng bằng cách điều chỉnh nồng độ đến giá trị mong muốn cho mục đích trong quá trình sử dụng.

(2) Phương pháp đo lường

Đánh giá hoạt động ức chế xantin oxidaza của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic được thực hiện bằng phương pháp được mô tả trong tài liệu tham khảo (Phương pháp phân tích enzym, 1, 521-522, 1974) với thay đổi một phần. Việc đánh giá này được thực hiện bằng cách đo hoạt động của xantin oxidoreductaza loại oxidaza. Cụ thể, dung dịch xantin (sản xuất bởi Sigma Co.) được chuẩn bị với nồng độ 10 mM sử dụng dung dịch natri hydroxit 20 mM và sau đó trộn lẫn với chất đệm photphat 100 mM để điều chỉnh

đến 30 μ M. 75 μ L dung dịch này được thêm vào từng giếng của đĩa loại 96 giếng. Hợp chất thử nghiệm được pha loãng với DMSO 100 lần ở nồng độ cuối được cho thêm vào mỗi giếng với lượng 1,5 μ L. Sau khi trộn đĩa, hệ số hấp thụ ở 290 nm được đo bằng máy đọc đĩa SPECTRA MAX Plus 384 (sản xuất bởi Molecular Devices, LLC). Sau đó, xantin oxidoreductaza loại oxidaza (từ nước sữa, sản xuất bởi Calbiochem Novabiochem Corp.) được chuẩn bị với nồng độ 30,6 mU/mL sử dụng dung dịch đệm photphat 100 mM và được cho thêm vào mỗi giếng với lượng 73,5 μ L. Ngay sau khi trộn lẫn, sự thay đổi hệ số hấp thụ ở 290 nm được đo trong 5 phút. Hoạt động của enzym của dung dịch DMSO không có hợp chất thử được sử dụng là 100% kiểm soát, và tỷ lệ ức chế của hợp chất thử nghiệm được tính toán. Nồng độ ức chế năm mươi phần trăm của hợp chất thử nghiệm đối với hoạt động của xantin oxidoreductaza loại oxidaza được tính toán bằng cách điều chỉnh cho khớp với đường cong phản ứng liều lượng.

Axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic cho thấy hoạt động ức chế xantin oxidaza ở $1,0 \text{ nM} \leq \text{IC}_{50} < 5,0 \text{ nM}$.

Ví dụ tham khảo 4

Hiệu quả giảm axit uric (ở chuột thường)

Hiệu quả giảm axit uric được xác nhận đối với axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic. Hợp chất thử nghiệm được lơ lửng trong dung dịch metylxenluloza 0,5% được cường chế dùng cho chuột đực Sprague-Dawley 8 đến 9 tuần tuổi (Japan Charles River Co.) bằng cách đưa vào dạ dày bằng ống qua miệng sử dụng kim cho ăn. Sau khi máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi sau khi cho dùng hợp chất 2 giờ, huyết tương được tách ra. Nồng độ axit uric trong mẫu máu được đo bằng phương pháp uricaza sử dụng quang phổ kế hấp thụ cũng như bộ xác định axit uric (Wako UA F loại L: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). Tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric được xác định bằng biểu thức sau:

Tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric (%) = $\frac{\text{Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát} - \text{Nồng độ axit uric ở động vật cho dùng hợp chất thử nghiệm}}{\text{Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát}} \times 100$

Axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic cho thấy hiệu quả giảm axit uric là 50% hoặc nhiều hơn ở cả hai liều lượng là 10 mg/kg và 1 mg/kg.

Từ kết quả trên cho thấy axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic có hiệu quả giảm axit uric rõ rệt.

Ví dụ 5

Hiệu quả giảm axit uric kéo dài (ở chuột thường)

Axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic được cho dùng ở chuột đực Sprague-Dawley theo cách tương tự như được mô tả ở Ví dụ tham khảo 4. Sau khi máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi sau khi dùng hợp chất 24 giờ, huyết tương được tách ra. Nồng độ axit uric trong máu được đo bằng phương pháp uricaza sử dụng quang phổ kế hấp thụ và bộ xác định axit uric (Wako UA F loại L: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.). Tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric được xác định bằng biểu thức sau:

Tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric (%) = $\frac{(\text{Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát} - \text{Nồng độ axit uric ở động vật cho dùng hợp chất thử nghiệm}) \times 100}{\text{Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát}}$

Axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic cho thấy hiệu quả giảm axit uric là 50% hoặc nhiều hơn ở liều lượng 10 mg/kg và 40% hoặc nhiều hơn ở liều lượng là 3 mg/kg sau khi dùng 24 giờ.

Từ kết quả trên cho thấy axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic có hiệu quả giảm axit uric kéo dài trong một khoảng thời gian dài.

Ví dụ tham khảo 6

Hiệu quả giảm axit uric (ở chó săn thỏ bị tăng axit uric)

Hiệu quả giảm axit uric của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic ở chó săn thỏ bị tăng axit uric trong máu gây ra bởi axit oxonic được xác nhận. Hợp chất thử nghiệm được làm lơ lửng trong dung dịch methylxenuloza 0,5% được cho dùng ở chó săn thỏ (mang nhãn Kitayama) bằng cách đưa vào dạ dày bằng ống qua miệng. Kali oxonat (50 mg/kg)

được dùng dưới da trước và sau khi dùng hợp chất 4 giờ. Sau khi máu được lấy từ tĩnh mạch đầu sau khi dùng hợp chất 8 giờ, huyết tương được tách ra. Nồng độ axit uric trong mẫu huyết thanh được đo bằng phương pháp LC-MS/MS và tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric được xác định bằng biểu thức sau:

Tỷ lệ hiệu quả giảm axit uric (%) = (Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát - Nồng độ axit uric ở động vật cho dùng hợp chất thử nghiệm) x 100 / Nồng độ axit uric ở động vật kiểm soát.

Axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic cho thấy hiệu quả giảm axit uric là 80% hoặc nhiều hơn ở liều lượng 10 mg/kg sau khi dùng 8 giờ.

Từ kết quả trên cho thấy hợp chất của sáng chế có hiệu quả giảm axit uric rõ rệt ở chó săn thỏ.

Ví dụ tham khảo 7

Hiệu quả ức chế kéo dài đối với xantin oxidaza ở mô và huyết tương.

Đối với “xantin oxidaza” của sáng chế, theo như ví dụ này, hoạt động xúc tác phản ứng oxi hóa mà gây ra chỉ bởi xantin oxidoreductaza loại oxidaza và bằng cả xantin oxidoreductaza loại oxidaza và loại dehydrogenaza được phân biệt. Đối với hoạt động gây ra do chỉ xantin oxidoreductaza loại oxidaza là “hoạt động của XO” và đối với hoạt động gây ra do cả xantin oxidoreductaza loại oxidaza và loại dehydrogenaza là “hoạt động của XOR”. Trong “hoạt động của XO ở mô”, “hoạt động của XO ở huyết tương”, “ức chế hoạt động của XOR ở mô”, “ức chế hoạt động của XOR ở mô” và các khác niệm tương tự, “hoạt động của XO” và “hoạt động của XOR” mang nghĩa tương tự như đã được chỉ ra ở trên. Mô bao gồm mô gan, mô thận, và mô mạch máu. Ngoài ra, phần trăm ức chế hoạt động của XO và phần trăm ức chế hoạt động của XOR ở cùng mẫu được cho là giống nhau, theo như các kết quả dưới đây.

Hiệu quả ức chế hoạt động của XO ở mô, hoạt động của XOR ở mô và hoạt động của XO ở huyết tương được xác nhận đối với axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic. Hợp chất thử nghiệm được làm lơ lửng trong dung dịch methylxenuloza 0,5% được dùng cường chế ở chuột đực Sprague-Dawley 7 đến 9 tuần tuổi (Japan Charles River Co.) bằng cách

đưa vào dạ dày bằng ống qua miệng sử dụng kim cho ăn. Máu được lấy từ tĩnh mạch và mô bụng sau khi dùng hợp chất 24 hoặc 27 giờ. Mẫu huyết tương được chuẩn bị bằng ly tâm.

Hoạt động của XO ở mô, hoạt động của XOR ở mô và hoạt động của XO ở huyết tương được đo bằng thử nghiệm trên cơ sở sắc tố cánh sử dụng phản ứng mà sắc tố cánh bị oxi hóa bằng từng loại xantin oxidoreductaza để sản xuất isoxanthopterin huỳnh quang. Nói tóm lại, mô kết đông được đồng nhất hóa bằng chất đệm kali photphat, pH 7,4, chứa axit etylenđiaminetetraaxetic (EDTA) 1 mM và chất ức chế proteaza để chuẩn bị nồng độ mô như sau (gan: 25 mg/mL, thận: 25 mg/mL, mạch máu: 30 mg/mL). Sau đó dịch đồng nhất được ly tâm ở tốc độ 12.000 rpm trong 15 phút ở 4°C. Khi hoạt động của XO được đo, phần nổi lên của mô và huyết tương lần lượt được nuôi cấy chung với dung dịch sắc tố cánh 50 μ M ở 37°C. Khi hoạt động của XOR được đo, phần nổi lên của dịch đồng nhất của mô được nuôi cấy chung với sắc tố cánh 50 μ M và dung dịch metylen màu xanh 50 μ M ở 37°C. Như sự kiểm soát, xantin oxidoreductaza loại oxidaza (từ nước sữa, sản xuất bởi Calbiochem Novabiochem Corp.) cũng được nuôi cấy với dung dịch sắc tố cánh theo cách tương tự. Hoạt động của XO và hoạt động của XOR của các mẫu được xác định từ cường độ huỳnh quang mà được chuẩn hóa bằng giá trị cường độ của nồng độ kiểm soát và nồng độ protein.

Tỷ lệ ức chế hoạt động của XO và tỷ lệ ức chế hoạt động của XOR được xác định bằng biểu thức sau:

Tỷ lệ ức chế hoạt động của XO hoặc XOR (%) = (hoạt động của XO hoặc XOR ở động vật kiểm soát - hoạt động của XO hoặc XOR ở động vật được cho dùng hợp chất thử nghiệm) x 100 / hoạt động của XO hoặc XOR ở động vật kiểm soát.

Hoạt động của XO ở gan và thận và hoạt động của XO ở huyết tương sau khi dùng hợp chất 27 giờ được thể hiện ở bảng sau.

Bảng 1

Hoạt động ức chế XO ở mô và huyết tương (phân tích sau khi dùng hợp chất khoảng 27 giờ)

% ức chế (với chất mang)

Liều lượng (mg/kg)	1	10
Gan	≥80%	≥80%
Thận	≥60%	≥70%
Huyết tương	≥25%	≥40%

Axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic ức chế 80% hoặc nhiều hơn hoạt động của XO sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 10 mg/kg ở gan.

Hợp chất ức chế 70% hoặc nhiều hơn hoạt động của XO sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 10 mg/kg ở thận.

Hợp chất ức chế 40% hoặc nhiều hơn hoạt động của XO sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 10 mg/kg ở huyết tương.

Hợp chất thử nghiệm ức chế 80% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 1 mg/kg ở gan.

Hợp chất ức chế 60% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 1 mg/kg ở thận.

Hợp chất ức chế 25% hoặc nhiều hơn hoạt động của XO sau khi dùng thuốc 27 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 1 mg/kg ở huyết tương.

Ngoài ra, hoạt động ức chế XOR ở mạch máu sau khi dùng hợp chất 24 giờ được thể hiện ở bảng sau.

Bảng 2

Hoạt động ức chế XOR ở mô (phân tích sau khi dùng hợp chất 24 giờ)

% ức chế (với chất mang)

Liều lượng (mg/kg)	1	10
Gan	≥80%	≥80%
Mạch máu	≥30%	≥50%

Axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic ức chế 80% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 24 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 10 mg/kg ở gan.

Hợp chất ức chế 50% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 24 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 10 mg/kg ở mạch máu.

Hơn nữa, hợp chất ức chế 80% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 24 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 1 mg/kg ở gan.

Hợp chất ức chế 30% hoặc nhiều hơn hoạt động của XOR sau khi dùng thuốc 24 giờ so với động vật kiểm soát với liều lượng 1 mg/kg ở mạch máu.

Từ kết quả trên cho thấy hợp chất của sáng chế có hiệu quả ức chế kéo dài đối với hoạt động của XO hoặc hoạt động của XOR.

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimetylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-metyl-1,3-thiazol-5-carboxylic của sáng chế được sử dụng như dược chất. Hơn nữa, các tinh thể này có thể được sử dụng như thành phần hoạt chất được phẩm để sản xuất dược chất.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Tinh thể của axit 2-[4-(2,2-dimethylpropoxy)-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)phenyl]-4-methyl-1,3-thiazol-5-carboxylic.
2. Tinh thể theo điểm 1, trong đó tinh thể này ở dạng tinh thể A.
3. Tinh thể theo điểm 2, trong đó tinh thể này có các đỉnh đặc trưng ở các góc nhiễu xạ $2\theta = 7,2^\circ, 11,3^\circ, 15,9^\circ, 17,9^\circ, 20,8^\circ, 22,3^\circ, 23,1^\circ, 23,8^\circ, 24,3^\circ$ và $28,6^\circ$ trong phổ nhiễu xạ bột tia X của nó.
4. Tinh thể theo điểm 2, trong đó phổ nhiễu xạ bột tia X của nó có mẫu nhiễu xạ như được thể hiện ở Fig. 1.
5. Tinh thể theo điểm 2, trong đó đỉnh tỏa nhiệt của nó trong phép phân tích nhiệt trọng/phân tích nhiệt vi sai là ở 232°C .
6. Dược phẩm chứa tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 và chất mang dược dụng.
7. Chất ức chế xantin oxidaza chứa tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 làm hoạt chất.
8. Chất điều trị hoặc phòng ngừa một hoặc nhiều bệnh được chọn từ nhóm bao gồm bệnh gút, chứng tăng axit uric máu, hội chứng phân giải khối u, sỏi tiết niệu, chứng tăng huyết áp, rối loạn lipid máu, bệnh tiểu đường, bệnh tim mạch, bệnh thận, bệnh về đường hô hấp, bệnh viêm ruột và các bệnh tự miễn, chứa tinh thể theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5 làm hoạt chất.

Fig. 1

