



(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)



1-0025681

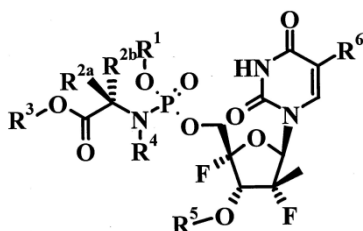
(51)⁷ C07H 19/06; A61K 31/7072; A61P
31/14

(13) B

(21) 1-2014-01919 (22) 17/12/2012
(86) PCT/EP2012/075779 17/12/2012 (87) WO/2013/092481 27/06/2013
(30) 61/577,707 20/12/2011 US
(45) 26/10/2020 391 (43) 25/11/2014 320A
(73) RIBOSCIENCE LLC (US)
3901 Laguna Avenue, Palo Alto, California 94306, USA
(72) Jing Zhang (US); Zhuming Zhang (US).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) HỢP CHẤT NUCLEOSIT ĐƯỢC THỂ 2',4'-DIFLO-2'-METYL ĐỂ LÀM CHẤT
ỨC CHẾ SAO CHÉP ARN CỦA HCV VÀ ĐƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT
NÀY

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



I

Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất nucleosit làm các chất ức chế sao chép ARN replicon của HCV. Cụ thể là, sáng chế liên quan đến việc sử dụng các dẫn xuất purin và pyrimidin nucleosit làm các chất ức chế sao chép ARN của virus viêm gan C (HCV) hệ gen phụ và được phẩm chứa các hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Trên thế giới, virus viêm gan C là nguyên nhân chính của bệnh gan mạn tính. Những bệnh nhân bị nhiễm HCV có nguy cơ phát triển thành bệnh xơ gan và sau đó là ung thư biểu mô tế bào gan và do vậy HCV là dấu hiệu chính cho sự cấy ghép gan. Hiện chỉ có hai liệu pháp được cấp phép để điều trị nhiễm HCV (R. G. Gish, Sem. Liver. Dis., 1999, 19, 35). Các liệu pháp này là đơn trị liệu bằng interferon- α và, gần đây hơn là, liệu pháp kết hợp của chất tương tự nucleosit, ribavirin (Virazol), với interferon- α .

Nhiều thuốc đã được cấp phép để điều trị nhiễm virus là các nucleosit hoặc các chất tương tự nucleosit và hầu hết các thuốc tương tự nucleosit này ức chế sự sao chép virus, sau đó là chuyển hóa thành các triphosphat tương ứng, thông qua sự ức chế của các enzym polymeraza của virus. Sự chuyển hóa thành triphosphat này thường được gây ra bởi các kinaza tế bào và do đó việc đánh giá trực tiếp các nucleosit làm các chất ức chế sự sao chép HCV thông thường chỉ được thực hiện bằng cách sử dụng thử nghiệm dựa trên tế bào. Đối với HCV, mức độ của thử nghiệm sao chép virus dựa trên tế bào thực hoặc mẫu động vật nhiễm khuẩn đang thiếu.

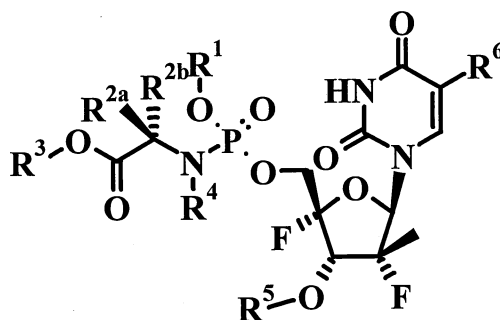
Virus viêm gan C thuộc họ Flaviridae. Nó là virus ARN, hệ gen ARN mã hóa polyprotein lớn mà sau khi xử lý tạo ra cơ chế sao chép cần thiết để đảm bảo cho sự tổng hợp ARN thế hệ tiếp theo. Được tin rằng hầu hết các protein không cấu trúc được mã hóa bởi hệ gen ARN của HCV có liên quan đến sự sao chép ARN. Lohmann et al. [V. Lohmann et al., Science, 1999, 285, 110-113] đã mô tả cấu trúc của dòng tế bào ung thư gan (Huh7) ở người trong đó các phân tử ARN của HCV hệ gen phụ đã được

đưa vào và đã cho thấy sự sao chép với hiệu quả cao. Được tin rằng cơ chế của sự sao chép ARN trong các dòng tế bào này là giống hệt với sự sao chép của hệ gen ARN của HCV có chiều dài đầy đủ trong các tế bào gan bị xâm nhiễm. Các dòng cADN của HCV hệ gen phụ được sử dụng để phân lập các dòng tế bào này đã hình thành cơ sở để phát triển thử nghiệm dựa vào tế bào để nhận diện các chất ức chế chất tương tự nucleosit đối với sự sao chép HCV.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, mục đích của sáng chế là đề xuất các hợp chất có công thức I là hữu ích để điều trị các bệnh do virus viêm gan C (HCV) gây ra và được phẩm chứa các hợp chất này.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

R^1 là H, C_{1-7} haloalkyl, hoặc aryl, trong đó aryl là phenyl hoặc naphtyl, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều C_{1-7} alkyl, C_{2-7} alkenyl, C_{2-7} alkynyl, C_{1-7} alkoxy, halo, C_{1-7} haloalkyl, $-N(R^{1a})_2$, axylamino, $-SO_2N(R^{1a})_2$, $-COR^{1b}$, $-SO_2(R^{1c})$, $-NHSO_2(R^{1c})$, nitro hoặc xyano;

mỗi R^{1a} độc lập là H hoặc C_{1-7} alkyl;

mỗi R^{1b} độc lập là $-OR^{1a}$ hoặc $-N(R^{1a})_2$;

mỗi R^{1c} là C_{1-7} alkyl;

R^{2a} và R^{2b} độc lập là (i) H, C_{1-7} alkyl, $-(CH_2)_rN(R^{1a})_2$, hydroxy C_{1-7} alkyl, $-CH_2SH$, $-(CH_2)S(O)_pMe$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, (1*H*-indol-3-yl)metyl, (1*H*-indol-4-yl)metyl,

$-(CH_2)_mC(=O)R^{1b}$, aryl và aryl C_{1-7} alkyl, trong đó aryl có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều hydroxy, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} alkoxy, halo, nitro hoặc xyno; (ii) R^{2a} là H và R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$; (iii) R^{2a} và R^{2b} cùng nhau tạo thành $(CH_2)_n$; hoặc, (iv) cả R^{2a} và R^{2b} đều là C_{1-7} alkyl;

R^3 là H, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} haloalkyl, phenyl hoặc phenyl C_{1-7} alkyl;

R^4 là H, C_{1-7} alkyl, hoặc R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$;

R^5 là H, $C(=O)R^{1c}$, $C(=O)R^{1b}$, $P(=O)(OR^1)(OR^{1a})$, hoặc

$P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$;

R^6 là H, metyl, hoặc halo;

R^7 là $C(R^{2a}R^{2b})COOR^3$

m bằng 0 đến 3;

n bằng 4 hoặc 5;

p bằng 0 đến 2; và

r bằng 1 đến 6;

hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức I và tá được dụng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các hợp chất có công thức I đã cho thấy là các chất ức chế sự sao chép virus viêm gan C hệ gen phụ trong dòng tế bào ung thư gan. Các hợp chất này có khả năng là có hiệu quả làm thuốc kháng virus để điều trị nhiễm HCV ở người.

Thuật ngữ “alkyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 12 nguyên tử cacbon. Tốt hơn là, thuật ngữ “alkyl” dùng để chỉ gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh có 1 đến 7 nguyên tử cacbon. Được ưu tiên nhất là metyl, etyl, propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, tert. -butyl hoặc pentyl. Alkyl có thể là không được thế hoặc được thế. Các phần tử thế được chọn từ một hoặc nhiều trong số xycloalkyl, nitro, amino, alkyl amino, dialkyl amino, alkyl carbonyl và xycloalkyl carbonyl.

Thuật ngữ “xycloalkyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm xycloalkyl được thể tùy ý có 3 đến 7 nguyên tử cacbon, ví dụ xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl, xyclohexyl hoặc xycloheptyl.

Thuật ngữ “alkoxy” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm alkyl-oxy mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thể tùy ý trong đó phần “alkyl” là như được xác định ở trên, chẳng hạn như metoxy, etoxy, n-propyloxy, i-propyloxy, n-butyloxy, i-butyloxy, tert. -butyloxy, pentyloxy, hexyloxy, heptyloxy mà bao gồm các chất đồng phân của chúng.

Thuật ngữ “alkoxyalkyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm alkoxy như được xác định ở trên mà được liên kết với nhóm alkyl như được xác định ở trên. Các ví dụ là metoxymetyl, metoxyetyl, metoxypropyl, etoxymetyl, etoxyetyl, etoxypropyl, propyloxypropyl, metoxybutyl, etoxybutyl, propyloxybutyl, butyloxybutyl, tert. -butyloxybutyl, metoxypentyl, etoxypentyl, propyloxypentyl mà bao gồm các chất đồng phân của chúng.

Thuật ngữ “alkenyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ gốc hydrocacbon không được thể hoặc được thể có 2 đến 7 nguyên tử cacbon, tốt hơn là có 2 đến 4 nguyên tử cacbon, và có một hoặc hai liên kết đôi dạng olefin, tốt hơn là một liên kết đôi dạng olefin. Các ví dụ là vinyl, 1-propenyl, 2-propenyl (allyl) hoặc 2-butenyl (crotyl).

Thuật ngữ “alkynyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ gốc hydrocacbon không được thể hoặc được thể có 2 đến 7 nguyên tử cacbon, tốt hơn là có 2 đến 4 nguyên tử cacbon, và có một hoặc nếu có thể, có hai liên kết ba, tốt hơn là một liên kết ba. Các ví dụ là etynyl, 1-propynyl, 2-propynyl, 1-butynyl, 2-butynyl hoặc 3-butynyl.

Thuật ngữ “hydroxyalkyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh như được xác định ở trên trong đó 1, 2, 3 hoặc nhiều nguyên tử hydro được thể bằng nhóm hydroxy. Các ví dụ là hydroxymetyl, 1-hydroxyetyl, 2-hydroxyetyl, 1-hydroxypropyl, 2-hydroxypropyl, 3-hydroxypropyl, hydroxyisopropyl, hydroxybutyl và nhóm tương tự.

Thuật ngữ “haloalkyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh như được xác định ở trên trong đó 1, 2, 3 hoặc nhiều nguyên

tử hydro được thế bằng một nguyên tử halogen. Các ví dụ là 1-flometyl, 1-clometyl, 1-bromometyl, 1-iodometyl, triflometyl, triclometyl, tribromometyl, triiodometyl, 1-floetyl, 1-cloetyl, 1-bromoetyl, 1-iodoetyl, 2-floetyl, 2-cloetyl, 2-bromoetyl, 2-iodoetyl, 2,2-dicloetyl, 3-bromopropyl hoặc 2,2,2-trifloetyl và nhóm tương tự.

Thuật ngữ “alkylthio” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm (alkyl)S-mạch thẳng hoặc mạch nhánh trong đó phần “alkyl” là như được xác định ở trên. Ví dụ là metylthio, etylthio, n-propylthio, i-propylthio, n-butylthio, i-butylthio hoặc tert.-butylthio.

Thuật ngữ “aryl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ phenyl và naphtyl được thế tùy ý (ví dụ 1-naphtyl, 2-naphtyl hoặc 3-naphtyl). Các phần tử thế thích hợp cho aryl có thể được chọn từ các phần tử thế được xác định trong phần định nghĩa alkyl nêu trên, tuy nhiên, ngoài ra, halogen, hydroxy và alkyl, haloalkyl, alkenyl, alkynyl và aryloxy được thế tùy ý là các phần tử thế mà có thể được bổ sung vào để lựa chọn.

Thuật ngữ “heteroxyclyl” được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ các hệ dị vòng một vòng, hai vòng hoặc ba vòng, no, không no một phần hoặc thơm được thế tùy ý chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy và lưu huỳnh mà cũng có thể được ngưng tụ với vòng cacbon hoặc dị vòng một vòng, no, không no một phần hoặc thơm được thế tùy ý.

Các ví dụ về các dị vòng thích hợp là oxazolyl, isoxazolyl, furyl, tetrahydrofuryl, 1,3-dioxolanyl, dihydropyranyl, 2-thienyl, 3-thienyl, pyrazinyl, isothiazolyl, dihydrooxazolyl, pyrimidinyl, tetrazolyl, 1-pyrolidinyl, 2-pyrolidinyl, 3-pyrolidinyl, pyrolidinonyl, (N-oxit)-pyridinyl, 1-pyrolyl, 2-pyrolyl, triazolyl ví dụ 1,2,3-triazolyl hoặc 1,2,4-triazolyl, 1-pyrazolyl, 2-pyrazolyl, 4-pyrazolyl, piperidinyl, morpholinyl (ví dụ 4-morpholinyl), thiomorpholinyl (ví dụ 4-thiomorpholinyl), thiazolyl, pyridinyl, dihydrothiazolyl, imidazolidinyl, pyrazolinyl, piperazinyl, 1-imidazolyl, 2-imidazolyl, 4-imidazolyl, thiadiazolyl ví dụ 1,2,3-thiadiazolyl, 4-methylpiperazinyl, 4-hydroxypiperidin-1-yl.

Các phần tử thế thích hợp cho heteroxyclyl có thể được chọn từ các phần tử thế được xác định trong phần định nghĩa alkyl nêu trên, tuy nhiên, ngoài ra, alkyl, alkenyl, alkynyl được thế tùy ý, nhóm oxo (=O) hoặc aminosulphonyl là các phần tử thế mà có thể được bổ sung để lựa chọn.

Thuật ngữ “axyl” (“alkylcarbonyl”) được dùng trong bản mô tả dùng để chỉ nhóm có công thức $C(=O)R$, trong đó R là hydro, gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh, không được thế hoặc được thế có 1 đến 7 nguyên tử cacbon hoặc nhóm phenyl. Các nhóm axyl được ưu tiên nhất là các nhóm trong đó R là hydro, gốc hydrocarbon mạch thẳng hoặc mạch nhánh không được thế có 1 đến 4 nguyên tử cacbon hoặc nhóm phenyl.

Thuật ngữ halogen dùng để chỉ flo, clo, brom hoặc iot, tốt hơn là flo, clo, brom.

Trong hình ảnh thể hiện của các hợp chất được đưa ra trong toàn bộ bản mô tả này, đường vuốt nhọn đậm (—) chỉ phần tử thế mà ở bên trên mặt phẳng của vòng mà thuộc về nguyên tử cacbon không đối xứng và đường nét đứt (.....) chỉ phần tử thế mà ở bên dưới mặt phẳng của vòng mà thuộc về nguyên tử cacbon không đối xứng.

Các hợp chất có công thức I thể hiện hiện tượng đồng phân lập thể. Các hợp chất này có thể là chất đồng phân bất kỳ của hợp chất có công thức I hoặc các hỗn hợp của các chất đồng phân này. Các hợp chất và các hợp chất trung gian của sáng chế có một hoặc nhiều nguyên tử cacbon không đối xứng có thể thu được ở dạng các hỗn hợp raxemic của các chất đồng phân lập thể mà có thể được phân tách.

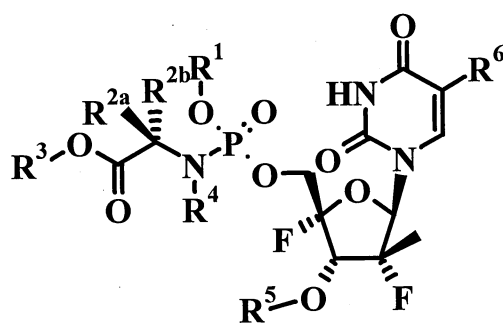
Các hợp chất có công thức I thể hiện hiện tượng hữ biến có nghĩa là các hợp chất của sáng chế có thể tồn tại ở dạng hai hoặc nhiều hợp chất hóa học mà có khả năng chuyển đổi qua lại dễ dàng. Trong nhiều trường hợp, nó chỉ có nghĩa là sự trao đổi nguyên tử hydro giữa hai nguyên tử khác, để một trong hai nguyên tử này tạo thành liên kết cộng hóa trị. Các hợp chất tautome tồn tại ở trạng thái cân bằng động với nhau, chính vì vậy những nỗ lực để điều chế các chất riêng thường tạo ra hỗn hợp mà thể hiện tất cả tính chất lý và hóa học được dự đoán trên cơ sở các cấu trúc của các thành phần.

Loại thông dụng nhất của hiện tượng hữ biến là hiện tượng liên quan đến carbonyl, hoặc keto, các hợp chất và các hợp chất hydroxyl không no, hoặc các enol. Sự thay đổi cấu trúc là sự dịch chuyển của nguyên tử hydro giữa các nguyên tử cacbon và oxy, với sự sắp xếp lại của các liên kết. Ví dụ, trong nhiều aldehyt và keton béo, như axetaldehyt, dạng keto là dạng chiếm ưu thế; trong các phenol, dạng enol là thành phần chính.

Các hợp chất có công thức I mà là các bazơ có thể tạo thành các muối được dùng với các axit vô cơ như các axit hydrohalic (ví dụ axit clohydric và axit bromhydric), axit sulphuric, axit nitric và axit phosphoric, và các axit tương tự, và với các axit hữu cơ (ví dụ với axit axetic, axit tartric, axit suxinic, axit fumaric, axit maleic, axit malic, axit salixylic, axit xitric, axit metansulphonic và axit p-toluen sulphonic, và các axit tương tự). Sự hình thành và phân lập các muối này có thể được thực hiện theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực.

Các chất ức chế HCV

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

R^1 là H, C_{1-7} haloalkyl, hoặc aryl, trong đó aryl là phenyl hoặc naphtyl, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều C_{1-7} alkyl, C_{2-7} alkenyl, C_{2-7} alkynyl, C_{1-7} alkoxy, halo, C_{1-7} haloalkyl, $-N(R^{1a})_2$, axylamino, $-SO_2N(R^{1a})_2$, $-COR^{1b}$, $-SO_2(R^{1c})$, $-NHSO_2(R^{1c})$, nitro hoặc xyano;

mỗi R^{1a} độc lập là H hoặc C_{1-7} alkyl;

mỗi R^{1b} độc lập là $-OR^{1a}$ hoặc $-N(R^{1a})_2$;

mỗi R^{1c} là C_{1-7} alkyl;

R^{2a} và R^{2b} độc lập là (i) H, C_{1-7} alkyl, $-(CH_2)_rN(R^{1a})_2$, hydroxy C_{1-7} alkyl, $-CH_2SH$, $-(CH_2)_pS(O)_pMe$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, (1*H*-indol-3-yl)metyl, (1*H*-indol-4-yl)metyl, $-(CH_2)_mC(=O)R^{1b}$, aryl và aryl C_{1-7} alkyl, trong đó aryl có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều hydroxy, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} alkoxy, halo, nitro hoặc xyano; (ii) R^{2a} là H và R^{2b}

và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$; (iii) R^{2a} và R^{2b} cùng nhau tạo thành $(CH_2)_n$; hoặc, (iv) cả R^{2a} và R^{2b} đều là C_{1-7} alkyl;

R^3 là H, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} haloalkyl, phenyl hoặc phenyl C_{1-7} alkyl;

R^4 là H, C_{1-7} alkyl, hoặc R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$;

R^5 là H, $C(=O)R^{1c}$, $C(=O)R^{1b}$, $P(=O)(OR^1)(OR^{1a})$, hoặc $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$;

R^6 là H, methyl, hoặc halo;

R^7 là $C(R^{2a}R^{2b})COOR^3$

m bằng 0 đến 3;

n bằng 4 hoặc 5;

p bằng 0 đến 2; và

r bằng 1 đến 6;

hoặc muối được dụng của nó.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^4 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^6 là H hoặc Br.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^6 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^6 là Br.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^4 là H và R^6 là H hoặc Br.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^4 là H và R^6 là Br.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphthyl hoặc phenyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphthyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là phenyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là phenyl và R^4 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là phenyl, R^6 là H, và R^4 là

H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphthyl và R^4 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H và R^6 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl và R^3 là isopropyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, và R^3 là isopropyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, và R^3 là isopropyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, và R^3 là isopropyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là metyl, và R^3 là isopropyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là metyl, và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là metyl, R^3 là isopropyl, và R^5 là H.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^5 là $C(=O)R^{1c}$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là metyl, R^3 là isopropyl, và R^5 là $C(=O)R^{1c}$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^{1c} là etyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là methyl, R^3 là isopropyl, và R^5 là $C(=O)CH_2CH_3$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^5 là $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là methyl, R^3 là isopropyl, và R^5 là $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là methyl, R^3 là isopropyl, R^5 là $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$, và R^1 là naphtyl.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^4 là H và R^7 là $CH(CH_3)C(=O)OCH(CH_3)_2$.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I, trong đó R^1 là naphtyl, R^4 là H, R^6 là H, R^{2a} là H, R^{2b} là methyl, R^3 là isopropyl, R^5 là $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$, R^1 là naphtyl, R^4 là H và R^7 là $CH(CH_3)C(=O)OCH(CH_3)_2$.

Sáng chế đề xuất hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

Isopropyl este của axit (S)-2- $\{[(2S,3S,4R,5R)$ -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2- $[[(2S,3S,4R,5R)$ -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2- $[[(2S,3S,4R,5R)$ -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2- $[[(2S,3S,4R,5R)$ -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3- $[((S)$ -1-isopropoxycarbonyl-etylamin)- (naphtalen-2-yloxy)-phosphoryloxy]-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

Isopropyl este của axit (S)-2-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-4-metyl-3-propionyloxy-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-1-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-2-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-2-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-1-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-1-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-{(S)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-{(R)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-1-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[[<i>(2S,3S,4R,5R)</i> -5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]- <i>(naphthalen-2-yloxy)</i> -phosphorylamino]-propionic;

Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;
Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic; và
Isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic.

Sáng chế mô tả hợp chất có công thức I để dùng trong điều trị nhiễm virus viêm gan C (HCV), việc sử dụng này bao gồm cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng trị liệu của hợp chất có công thức I.

Sáng chế mô tả hợp chất để sử dụng như nêu trên, trong đó việc sử dụng này còn bao gồm bước sử dụng chất điều biến hệ miễn dịch hoặc chất kháng virus mà làm ức chế sự sao chép của HCV, hoặc sự kết hợp của chúng.

Sáng chế mô tả hợp chất để sử dụng như nêu trên, trong đó chất điều biến hệ miễn dịch là interferon hoặc interferon được tạo dẫn xuất bằng phương pháp hóa học.

Sáng chế mô tả hợp chất để sử dụng như nêu trên, trong đó chất kháng virus được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza HCV, chất ức chế polymeraza của HCV, chất ức chế helicaza HCV, chất ức chế primaza HCV, chất ức chế dung hợp HCV, và sự kết hợp của chúng.

Sáng chế mô tả hợp chất có công thức I để dùng trong việc ức chế sự sao chép của HCV trong tế bào, việc sử dụng này bao gồm bước sử dụng hợp chất có công thức I.

Sáng chế đề xuất được phẩm chứa hợp chất có công thức I và tá dược được dùng.

Sáng chế mô tả hợp chất có công thức I để dùng trong điều trị HCV.

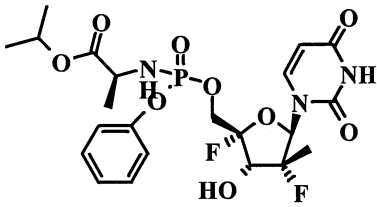
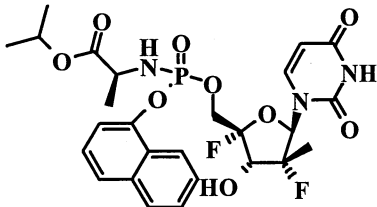
Sáng chế đề xuất hợp chất, được phẩm như được mô tả trong phần mô tả.

Các hợp chất

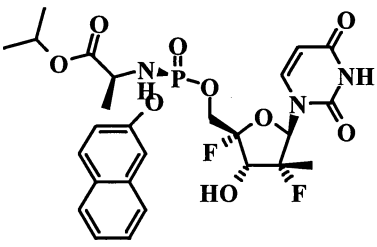
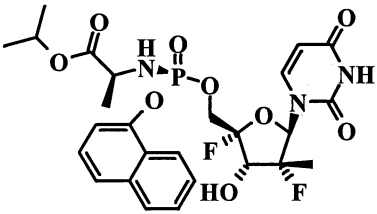
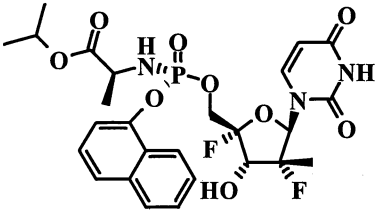
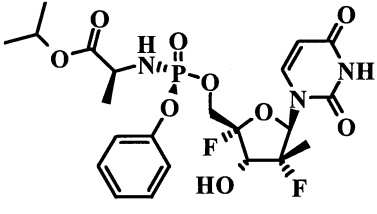
Các ví dụ về các hợp chất đại diện được bao gồm bởi sáng chế và thuộc phạm vi của sáng chế được đưa ra trong Bảng dưới đây. Các ví dụ và các dạng bào chế mà được đưa ra dưới đây để làm cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ hơn và để thực hiện sáng chế. Chúng không được xem là làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế, mà chỉ mang tính minh họa và tính đại diện cho sáng chế.

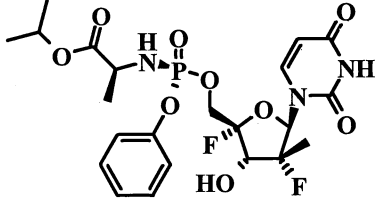
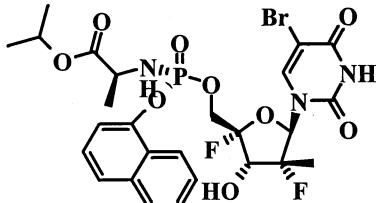
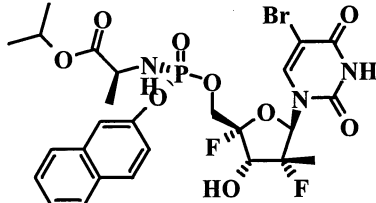
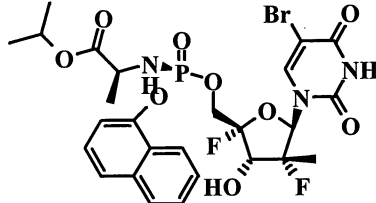
Nhìn chung, danh pháp được sử dụng trong bản mô tả dựa trên AUTONOMTM v.4.0, hệ thống được máy tính hóa bởi Beilstein Institute để tạo ra danh pháp theo hệ thống IUPAC. Nếu có sự khác biệt giữa cấu trúc được mô tả và tên hợp chất được đưa ra cho cấu trúc đó, thì cấu trúc được mô tả được ưu tiên hơn. Ngoài ra, nếu hóa học lập thể của một cấu trúc hoặc một phần của cấu trúc không được chỉ ra, ví dụ, bằng các đường nét đậm hoặc nét đứt, thì cấu trúc hoặc một phần của cấu trúc đó được hiểu là bao gồm tất cả các chất đồng phân lập thể của nó.

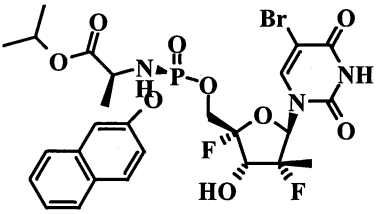
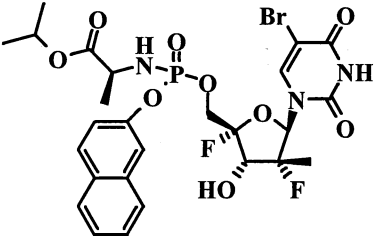
Bảng I mô tả các ví dụ về các hợp chất theo công thức chung I.

Hợp chất số	Cấu trúc	Tên công thức
I-1		Isopropyl este của axit (S)-2- {[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4- dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3- hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2- ylmethoxy]-phenoxy-phosphorylamino}- propionic
I-2		Isopropyl este của axit (S)-2- [[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4- dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3- hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2- ylmethoxy]-(naphthalen-1-yloxy)- phosphorylamino]-propionic

I-3		Isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-4		Isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-[[[(S)-1-isopropoxycarbonyl-etylamino]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphoryloxy]-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-5		Isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-4-metyl-3-propionyloxy-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-6		Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4- Dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic

I-7		Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-8		Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-9		Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-10		Isopropyl este của axit (S)-2-{(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic

I-11		Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino]-propionic
I-12		Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-13		Isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-14		Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2 <i>H</i> -pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic

I-15		Isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydrofuran-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic
I-16		Isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydrofuran-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic

Tổng hợp

Sơ đồ chung

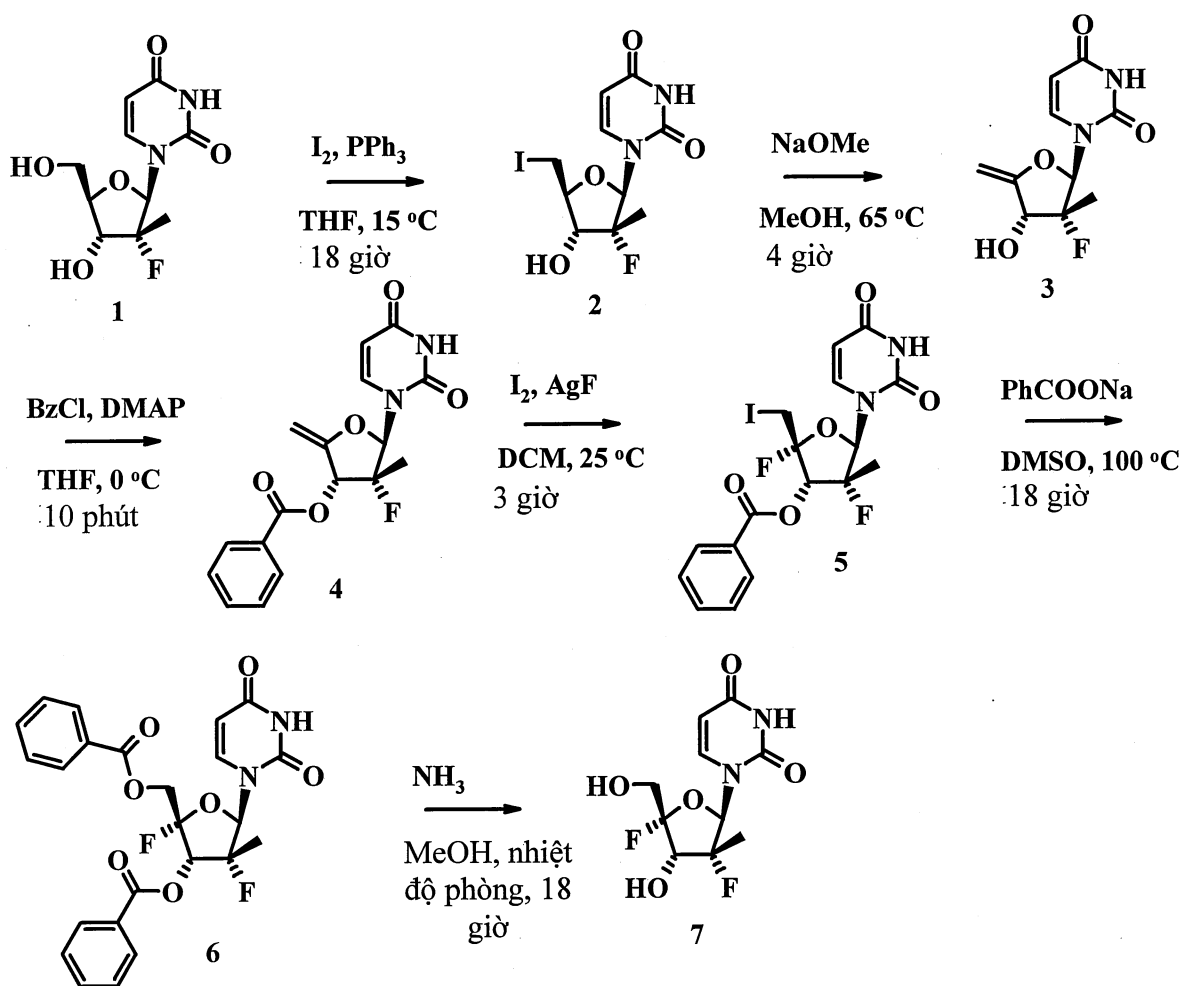
Các phương pháp được bàn luận ở trên được mô tả chi tiết hơn dưới đây:

Nguyên liệu ban đầu 1 có thể được điều chế theo các quy trình được mô tả bởi Sofia, M. J. et al, *J. Med. Chem.* (2010), 53(19), 7202-7218 và Clark, J. L. et al, *J. Med. Chem.* (2005), 48(17), 5504-5508. Tiếp theo bước iot hóa là bước loại bỏ iot trong điều kiện bazơ có thể tạo ra hợp chất trung gian 3, trong đó sự bảo vệ 3'-hydroxy bằng nhóm benzoyl tạo ra hợp chất trung gian 4. Phản ứng đặc hiệu lập thể để chuyển hóa hợp chất trung gian 4 thành hợp chất trung gian 5 là bước chính. Sự biến đổi tương tự để thiết lập flo ở vị trí 4' α đã được mô tả trước đây bởi Ajmera, S. et al, *J. Med. Chem.* (1988), 31(6), 1094-1098 và Moffatt, J.G. et al, *J. Am. Chem. Soc.* (1971), 93(17), 4323-4324. Sự thay thế 5' iodua bằng natri benzoat tạo ra hợp chất trung gian 6. Cuối cùng, sự khử bảo vệ của các nhóm 3', 5' benzoyl trong hợp chất trung gian 6 tạo ra hợp chất trung gian nucleosit 7 (Sơ đồ 1).

Trong các sơ đồ chung dưới đây, R¹ có thể là H, C₁₋₇haloalkyl, hoặc aryl, trong đó aryl có thể là phenyl hoặc naphtyl, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều C₁₋₇alkyl,

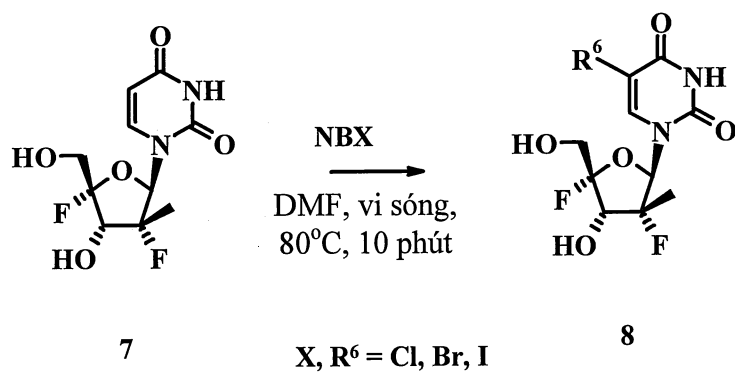
C_{2-7} alkenyl, C_{2-7} alkynyl, C_{1-7} alkoxy, halo, C_{1-7} haloalkyl, $-N(R^{1a})_2$, axylamino, $-SO_2N(R^{1a})_2$, $-COR^{1b}$, $-SO_2(R^{1c})$, $-NHSO_2(R^{1c})$, nitro hoặc xyano, mỗi R^{1a} có thể độc lập là H hoặc C_{1-7} alkyl, mỗi R^{1b} có thể độc lập là $-OR^{1a}$ hoặc $-N(R^{1a})_2$, mỗi R^{1c} có thể là C_{1-7} alkyl, R^{2a} và R^{2b} độc lập là (i) H, C_{1-7} alkyl, $-(CH_2)_rN(R^{1a})_2$, hydroxy C_{1-7} alkyl, $-CH_2SH$, $-(CH_2)_pS(O)_pMe$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, (1*H*-indol-3-yl)metyl, (1*H*-indol-4-yl)metyl, $-(CH_2)_mC(=O)R^{1b}$, aryl và aryl C_{1-7} alkyl, trong đó aryl có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều hydroxy, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} alkoxy, halo, nitro hoặc xyano; (ii) R^{2a} có thể là H và R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$; (iii) R^{2a} và R^{2b} cùng nhau tạo thành $(CH_2)_n$; hoặc, (iv) cả R^{2a} và R^{2b} đều là C_{1-7} alkyl, R^3 có thể là H, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} haloalkyl, phenyl hoặc phenyl C_{1-7} alkyl, R^4 có thể là H, C_{1-7} alkyl, hoặc R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$, R^5 có thể là H, $C(=O)R^{1c}$, $C(=O)R^{1b}$, $P(=O)(OR^1)(OR^{1a})$, hoặc $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$, R^6 có thể là H, metyl, hoặc halo, R^7 có thể là $C(R^{2a}R^{2b})COOR^3$, m có thể bằng từ 0 đến 3, n có thể là 4 hoặc 5, p có thể bằng 0 đến 2, và r có thể là 1 đến 6.

Sơ đồ 1.



Nucleosit 7 cũng có thể được chuyển hóa một cách dễ dàng thành hợp chất trung gian 5'-halogen 8 bằng cách cho phản ứng với NCS, NBS, hoặc NIS trong các điều kiện thích hợp (Sơ đồ 2).

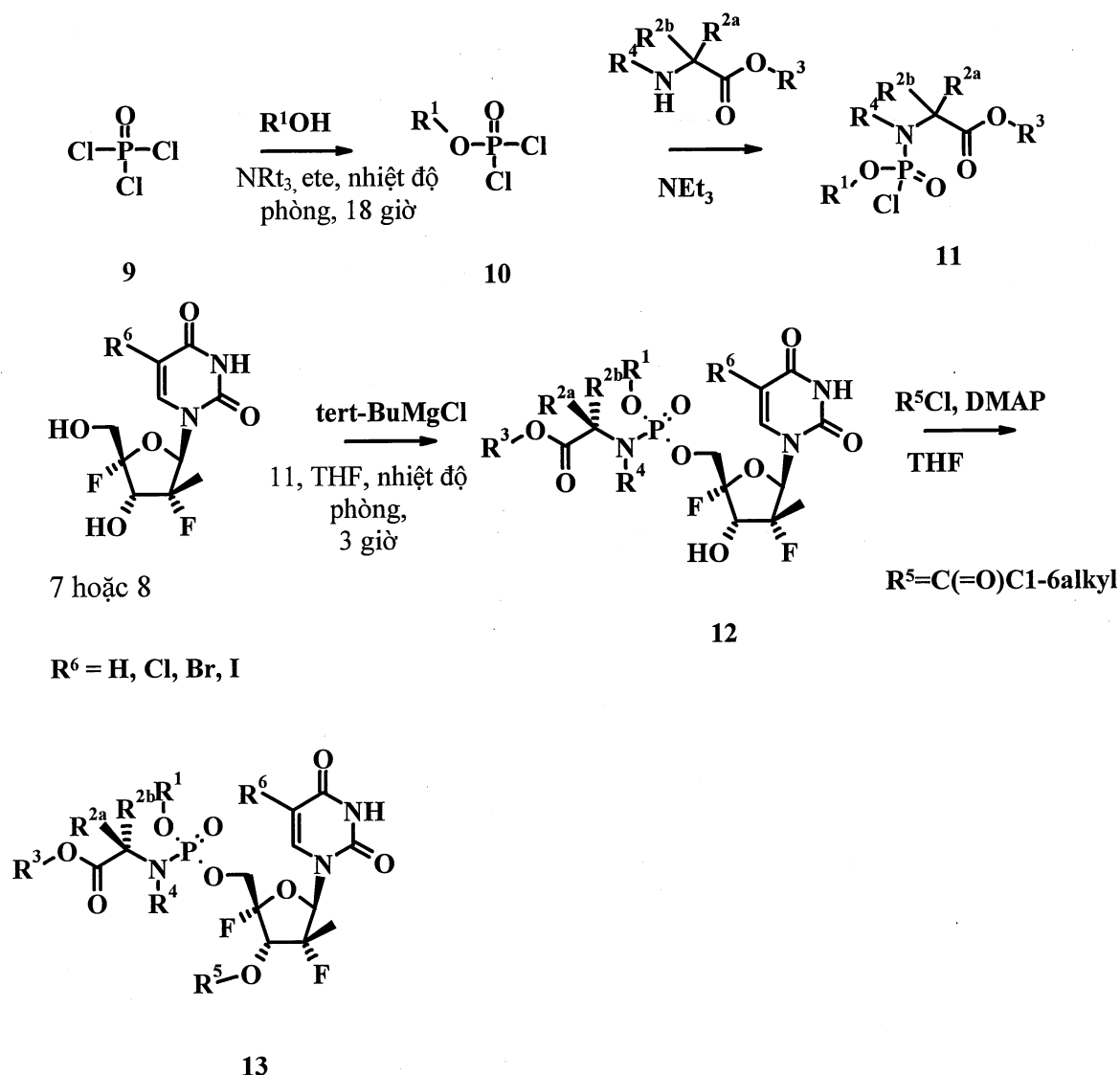
Sơ đồ 2.



Các hợp chất phosphoramidat của sáng chế có thể được điều chế bằng cách ngưng tụ nucleosit 7 hoặc 8 với hợp chất phosphocloridat được thể thích hợp 11 khi có

mặt của bazơ mạnh (Sơ đồ 3). Sự ngưng tụ có thể được thực hiện trên nucleosit không được bảo vệ có công thức 7 hoặc 8. Sản phẩm kết hợp 12 trong công thức I có thể được tạo dẫn xuất tiếp thành hợp chất sản phẩm 13. Cả hai hợp chất 12 hoặc 13 có công thức I thu được ở dạng hỗn hợp của hai chất đồng phân không đối quang ban đầu là trong phản ứng ghép cặp và có thể được tách thành các chất đồng phân đối ảnh không đối xứng tương ứng của chúng bằng cột không đối xứng, HPLC không đối xứng, hoặc sắc ký SFC không đối xứng.

Sơ đồ 3.



Liều lượng và cách dùng:

Như được thể hiện trong Bảng ở trên, các hợp chất có công thức I có khả năng có hiệu quả làm thuốc kháng virus để điều trị nhiễm HCV ở người, hoặc được chuyển hóa thành hợp chất mà thể hiện hoạt tính này.

Theo phương án khác của sáng chế, hợp chất có hoạt tính hoặc dẫn xuất hoặc muối của nó có thể được sử dụng kết hợp với chất kháng virus khác, như chất kháng viêm gan, bao gồm các hợp chất có công thức I. Khi hợp chất có hoạt tính hoặc dẫn xuất hoặc muối của nó được sử dụng kết hợp với chất kháng virus khác, hoạt tính này có thể tăng lên so với hợp chất gốc. Điều này có thể được đánh giá một cách dễ dàng bằng cách điều chế dẫn xuất này và thử nghiệm hoạt tính kháng HCV của nó theo phương pháp được mô tả trong bản mô tả.

Việc dùng hợp chất có hoạt tính có thể là dạng dùng liên tục (nhỏ giọt trong tĩnh mạch) đến dùng qua đường miệng vài lần trong một ngày (ví dụ, Q.I.D) và có thể bao gồm dùng qua đường miệng, dùng tại chỗ, ngoài đường tiêu hóa, trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da, qua chân bì (mà có thể bao gồm tác nhân làm tăng cường khả năng thấm), dùng trong khoang miệng và thuốc đạn, trong số các đường dùng khác.

Các dẫn xuất nucleosit được thế F ở vị trí 4' cũng như các muối có thể sử dụng làm thuốc của chúng, có thể được dùng làm thuốc ở dạng của chế phẩm được bất kỳ. Chế phẩm được có thể được dùng qua đường ruột, qua đường miệng, ví dụ ở dạng viên nén, viên nén được bao, viên thuốc bao đường, viên nang gelatin cứng hoặc mềm, dung dịch, nhũ tương, si-rô, hoặc huyền phù, hoặc qua trực tràng, ví dụ ở dạng các thuốc đạn. Chúng cũng có thể được dùng ngoài đường tiêu hóa (kỹ thuật tiêm hoặc truyền trong cơ, trong tĩnh mạch, dưới da hoặc trong xương ức), ví dụ ở dạng dung dịch tiêm, dùng trong mũi, ví dụ ở dạng của thuốc xịt mũi, hoặc thuốc xịt hít, dùng tại chỗ và v.v..

Để bào chế các chế phẩm được, các dẫn xuất nucleosit được thế ở vị trí 4', cũng như các muối có thể sử dụng làm thuốc của chúng, có thể được phối trộn với tá dược trợ, vô cơ hoặc hữu cơ có tác dụng trị liệu, để bào chế các viên nén, viên nén được bao, viên thuốc bao đường, viên nang gelatin cứng hoặc mềm, dung dịch, nhũ tương hoặc huyền phù.

Các hợp chất có công thức I có thể được phối trộn kết hợp với chất mang được dụng. Ví dụ, các hợp chất của sáng chế có thể được dùng qua đường miệng ở dạng muối được dụng. Do các hợp chất của sáng chế hầu hết là tan trong nước, chúng có thể được sử dụng trong tĩnh mạch trong dung dịch muối sinh lý (ví dụ, được tạo đệm đến độ pH nằm trong khoảng từ 7,2 đến 7,5). Các dung dịch đệm thông thường như các

phosphat, các bicacbonat hoặc các xitrat có thể được sử dụng cho mục đích này. Tất nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể biến đổi các chế phẩm nằm trong phạm vi bộc lộ của bản mô tả để tạo ra nhiều chế phẩm cho đường dùng cụ thể mà không làm cho các hợp phần của sáng chế mất ổn định hoặc hủy hoại hoạt tính trị liệu của chúng. Cụ thể là, sự biến đổi các hợp chất của sáng chế làm cho chúng dễ tan hơn trong nước hoặc môi trường dẫn thuốc khác, ví dụ, có thể được thực hiện một cách dễ dàng bằng các biến đổi nhỏ (chế phẩm muối, este hóa, v.v) mà thuộc hiểu biết của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật. Cũng được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực biết rõ, cách để thay đổi đường dùng và chế độ liều của hợp chất cụ thể để kiểm soát được động học của các hợp chất của sáng chế để có hiệu quả có lợi tối đa cho bệnh nhân.

Đối với các chế phẩm dùng ngoài đường tiêu hóa, chất mang thường sẽ bao gồm nước hoặc dung dịch natri clorua chứa nước vô trùng, mặc dù các thành phần khác bao gồm các thành phần mà trợ giúp phân tán có thể được bao gồm. Tất nhiên, khi sử dụng nước vô trùng và được duy trì ở dạng vô trùng, các hợp phần và các chất mang cũng cần phải được vô trùng. Huyền phù thích hợp cho tiêm cũng có thể được điều chế, trong trường hợp này, có thể sử dụng các chất mang lỏng, các tác nhân tạo huyền phù thích hợp và các chất tương tự.

Các tá dược thích hợp để dùng cho các viên nén, viên nén được bao, viên thuốc bao đường, và viên nang gelatin cứng, là, ví dụ, lactoza, tinh bột ngô và các dẫn xuất của nó, bột talc, và axit stearic hoặc các muối của nó.

Nếu được yêu cầu, các viên nén hoặc các viên nang có thể được bao bằng chất tan trong đường ruột hoặc được giải phóng kéo dài bằng các kỹ thuật tiêu chuẩn.

Các tá dược thích hợp để dùng cho viên nang gelatin mềm, là, ví dụ, dầu thực vật, sáp, chất béo, các rượu polyhydric bán rắn và lỏng.

Các tá dược thích hợp để dùng cho các dung dịch tiêm, là, ví dụ, nước, nước muối, rượu, rượu polyhydric, glycerin hoặc dầu thực vật.

Các tá dược thích hợp để dùng cho thuốc đạn, là, ví dụ, dầu tự nhiên và dầu hóa rắn, sáp, chất béo, các rượu polyhydric bán lỏng hoặc lỏng.

Các tá dược thích hợp để dùng cho dung dịch và si-rô để dùng qua đường ruột, là, ví dụ, nước, các rượu polyhydric, sacaroza, đường nghịch chuyển và glucoza.

Các chế phẩm dược theo sáng chế cũng có thể được tạo ra ở dạng các chế phẩm giải phóng kéo dài hoặc các dạng bào chế thích hợp khác.

Các chế phẩm dược cũng có thể chứa các chất bảo quản, các chất hòa tan, các chất làm ổn định, chất tạo ẩm, các chất nhũ hóa, các chất tạo ngọt, các chất tạo màu, các hương liệu, các muối để điều chỉnh áp suất thẩm thấu, các chất đệm, các chất tạo tẩm chắn và các chất chống oxy hóa.

Các chế phẩm dược có thể còn chứa các tác nhân có hoạt tính trị liệu khác đã biết trong lĩnh vực.

Liều lượng có thể thay đổi trong giới hạn giá trị rộng và tất nhiên, sẽ được điều chỉnh theo các yêu cầu riêng trong từng trường hợp cụ thể. Để dùng qua đường miệng, liều hằng ngày nằm trong khoảng từ 0,01 đến 100 mg/kg thể trọng trong một ngày cần phải thích hợp với liều pháp đơn trị liệu và/hoặc trị liệu kết hợp. Liều hằng ngày được ưu tiên là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 500 mg/kg thể trọng, được ưu tiên hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100 mg/kg thể trọng và được ưu tiên nhất là nằm trong khoảng từ 1,0 đến 100 mg/kg thể trọng trong một ngày. Chế phẩm thông thường sẽ chứa hợp chất có hoạt tính với lượng nằm trong khoảng từ 5% đến 95% (khối lượng/khối lượng). Liều hằng ngày có thể được dùng ở dạng một liều hoặc các liều được chia nhỏ, thường từ 1 đến 5 liều một ngày.

Ở các dạng liều thuốc nhất định, dạng tiền dược chất của các hợp chất, đặc biệt là bao gồm các dẫn xuất được axyl hóa (được axetyl hóa hoặc dẫn xuất khác), các este pyridin và các dạng muối khác nhau của các hợp chất của sáng chế được ưu tiên. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận biết được cách biến đổi các hợp chất của sáng chế thành các dạng tiền dược chất để tạo điều kiện thuận lợi cho việc vận chuyển các hợp chất có hoạt tính đến điểm đích trong cơ thể vật chủ hoặc bệnh nhân. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực cũng sẽ tận dụng được lợi ích của các thông số dược động học thích hợp của các dạng tiền dược chất, nếu có thể ứng dụng được, trong việc vận chuyển các hợp chất của sáng chế đến vị trí đích trong cơ thể vật chủ hoặc bệnh nhân để làm tối đa hóa hiệu quả được dự định của hợp chất.

Các chỉ định và điều trị

Các hợp chất theo sáng chế và các dạng đồng phân của chúng và các muối được dụng của nó là hữu ích để điều trị và ngăn ngừa nhiễm HCV.

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I để sử dụng trong việc điều trị nhiễm virus viêm gan C (HCV), việc sử dụng đã nêu bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của hợp chất có công thức I.

Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức I để sử dụng trong việc ức chế sự sao chép của HCV trong tế bào, việc sử dụng đã nêu bao gồm bước sử dụng hợp chất có công thức I.

Liệu pháp kết hợp

Các hợp chất của sáng chế và các dạng đồng phân của chúng và các muối được dụng của nó là hữu ích để điều trị và ngăn ngừa nhiễm HCV khi được sử dụng một mình hoặc khi được sử dụng kết hợp với các hợp chất khác nhắm đích đến các thành phần hoặc chức năng của virus hoặc tế bào liên quan đến chu trình sống của HCV. Các nhóm hợp chất hữu ích trong sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tất cả các nhóm kháng virus HCV.

Đối với những liệu pháp kết hợp, các nhóm cơ học của các tác nhân mà có thể hữu ích khi được kết hợp với các hợp chất của sáng chế bao gồm, ví dụ, các chất ức chế nucleosit và chất ức chế không phải nucleosit của polymeraza của HCV, các chất ức chế proteaza, các chất ức chế helicaza, các chất ức chế NS4B và các chất thuốc mà ức chế về mặt chức năng của vị trí đi vào bên trong ribosom (IRES) và các thuốc khác mà ức chế sự gắn tế bào HCV hoặc đường vào virus, sự dịch mã ARN của HCV, sự phiên mã ARN của HCV, sự sao chép hoặc sự trưởng thành của HCV, sự lắp ghép hoặc giải phóng virus. Các hợp chất cụ thể trong các nhóm này và hữu ích trong sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các chất ức chế proteaza của HCV vòng lớn, dị vòng và mạch thẳng như telaprevir (VX-950), boceprevir (SCH-503034), narlaprevir (SCH-9005 18), ITMN- 191 (R-7227), TMC-435350 (a.k.a. TMC-435), MK- 7009, BI-201335, BI-2061 (ciluprevir), BMS-650032, ACH-1625, ACH-1095 (chất ức chế đồng yếu tố NS4A proteaza HCV), VX-500, VX-8 13, PHX-1766, PHX2054, IDX-136, IDX-3 16, ABT-450 EP-0 13420 (và các chất đồng loại) và VBY-376; các chất

ức chế nucleosit polymeraza của HCV (replicaza) hữu ích trong sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, R7128, PSI-785 1, IDX-184, IDX-102, R1479, UNX-08 189, PSI-6130, PSI-938 và PSI-879 và các chất tương tự nucleosit và nucleotit khác nhau khác và các chất ức chế HCV bao gồm (nhưng không giới hạn ở) các chất ức chế thu được ở dạng các nucleos(t)it được biến đổi 2'-C-metyl, các nucleos(t)it được biến đổi 4'-aza, và các nucleos(t)it được biến đổi 7'-deaza. Các chất ức chế polymeraza của HCV (replicaza) không phải nucleosit hữu ích trong sáng chế, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, HCV-796, HCV-371, VCH-759, VCH-916, VCH- 222, ANA-598, MK-3281, ABT-333, ABT-072, PF-00868554, BI-207127, GS-9190, A- 837093, JKT-109, GL-59728 và GL-60667.

Ngoài ra, các hợp chất của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các chất đối kháng xyclophylin và phylin miễn dịch (ví dụ, nhưng không giới hạn ở, các hợp chất DEBIO, NM-811 cũng như xyclosporin và các dẫn xuất của nó), các chất ức chế kinaza, các chất ức chế của protein sốc nhiệt (ví dụ, HSP90 và HSP70), các tác nhân điều biến miễn dịch khác mà có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các interferon (-alpha, -beta, -omega, -gama, -lambda hoặc tổng hợp) như Intron A, Roferon-A, Canferon-A300, Advaferon, Infergen, Humoferon, Sumiferon MP, Alfaferone, IFN- β , Feron và các tác nhân tương tự; các hợp chất interferon polyetylen glycol được dẫn xuất (được peg hóa), như PEG interferon- α -2a (Pegasys), PEG interferon- α -2b (PEGIntron), IFN- α -con1 được peg hóa và hợp chất tương tự; các chế phẩm tác dụng dài và các dẫn xuất của các hợp chất interferon như interferon được dung hợp albumin, Albuferon, Locteron, và hợp chất tương tự; các interferon với các loại khác nhau của hệ vận chuyển được kiểm soát (ví dụ, ITCA-638, omega-interferon được vận chuyển bằng hệ vận chuyển dưới da DUROS); các hợp chất mà kích thích sự tổng hợp của interferon trong các tế bào, như resiquimod và các hợp chất tương tự; các interleukin; các hợp chất làm tăng cường sự phát triển của phản ứng tế bào T trợ giúp typ 1, như SCV-07 và hợp chất tương tự; các chất chủ vận thụ thể giống như TOLL như CpG-10101 (actilon), isotorabin, ANA773 và các hợp chất tương tự; thymosin α -1; ANA-245 và ANA-246; histamin dihydroclorua; propagermani; tetraclodecaoxit; ampligen; IMP-321; KRN-7000; các kháng thể, như civacir, XTL-6865 và các kháng thể tương tự và các vắc xin phòng và trị bệnh như InnoVac C, HCV E1E2/MF59 và các vắc-xin tương tự. Ngoài ra, việc sử dụng bất kỳ trong số các cách sử dụng được mô tả ở trên

liên quan đến bước sử dụng chất ức chế NS5A, chất chủ vận thụ thể interferon Typ I (ví dụ, IFN- α) và chất chủ vận thụ thể interferon Typ II (ví dụ, IFN- γ) có thể được tăng lên bằng cách sử dụng một lượng hữu hiệu của chất đối kháng TNF- α . Ví dụ, các chất đối kháng TNF- α không giới hạn mà là thích hợp để sử dụng trong các liệu pháp kết hợp này bao gồm ENBREL, REMICADE, và HUMIRA.

Ngoài ra, các hợp chất của sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các chất chống động vật nguyên sinh và các chất kháng virus khác được cho là có hiệu quả trong việc điều trị nhiễm HCV như, nhưng không giới hạn ở, tiền được chất nitazoxanit. Nitazoxanit có thể được dùng làm tác nhân mà kết hợp với các hợp chất được bộc lộ trong sáng chế này cũng như kết hợp với các tác nhân khác hữu ích trong việc điều trị nhiễm HCV như peginterferon α -2a và ribavirin.

Các hợp chất của sáng chế cũng có thể được sử dụng với các dạng khác của các interferon và các interferon được peg hóa, ribavirin hoặc các chất tương tự của nó (ví dụ, tarabavarin, levoviron), microARN, các hợp chất ARN can thiệp nhỏ (ví dụ, SIRPLEX-140-N và chất tương tự), các chất tương tự nucleotit hoặc nucleosit, các globulin miễn dịch, các chất bảo vệ gan, các tác nhân chống viêm và các chất ức chế NS5A khác. Các chất ức chế các đích khác trong chu trình sống của HCV bao gồm các chất ức chế NS3 helicaza; các chất ức chế đồng yếu tố NS4A; các chất ức chế oligonucleotit đối nghĩa, như ISIS-14803, AVI-4065 và các chất tương tự; ARN cấu trúc kẹp tóc (hairpin) ngắn được mã hóa bởi vector (shRNA); các ribozym đặc hiệu HCV như heptazym, RPI, 13919 và các chất tương tự; các chất ức chế đường vào của virus như HepeX-C, HuMax-HepC và các chất tương tự; các chất ức chế alpha glucosidaza như celgosivir, UT-231B và các chất tương tự; các chất ức chế KPE-02003002 và BIVN 401 và IMPDH. Các hợp chất ức chế HCV minh họa khác bao gồm các hợp chất được bộc lộ trong các công bố sau: các patent Mỹ số 5,807,876; 6,498,178; 6,344,465; và 6,054,472; các công bố đơn sáng chế PCT số WO97/40028; WO98/4038 1; WO00/56331, WO02/04425; WO03/007945; WO03/010141; WO03/000254; WO01/32153; WO00/06529; WO00/18231; WO00/10573; WO00/13708; WO01/85172; WO03/037893; WO03/037894; WO03/037895; WO02/100851; WO02/100846; WO99/01582; WO00/09543; WO02/18369; WO98/17679, WO00/056331; WO98/22496; WO99/07734; WO05/073216, WO05/073195 và WO08/021927.

Ngoài ra, hỗn hợp của, ví dụ, ribavirin và interferon, có thể được sử dụng ở dạng liệu pháp đa kết hợp với ít nhất một trong số các hợp chất của sáng chế. Sáng chế không bị giới hạn ở các nhóm hoặc các hợp chất nêu trên và các dự tính đã biết và các hợp chất và hỗn hợp mới của các tác nhân có hoạt tính sinh học. Được dự định rằng những liệu pháp kết hợp của sáng chế bao gồm bất kỳ hỗn hợp có thể tương hợp về mặt hóa học nào của hợp chất của nhóm sáng chế này với các hợp chất khác của nhóm sáng chế hoặc các hợp chất khác ngoài nhóm sáng chế đó, miễn là việc kết hợp này không làm giảm hoạt tính kháng virus của hợp chất của nhóm sáng chế này hoặc hoạt tính kháng virus của chính được phẩm.

Liệu pháp kết hợp có thể là tuần tự, tức là điều trị bằng một tác nhân trước và sau đó là tác nhân thứ hai (ví dụ, trong đó mỗi lần điều trị bao gồm hợp chất khác nhau của sáng chế hoặc trong đó một lần điều trị bao gồm một hợp chất của sáng chế và lần điều trị khác bao gồm một hoặc nhiều tác nhân có hoạt tính sinh học) hoặc có thể là sự điều trị với cả hai tác nhân đồng thời (cùng nhau). Việc trị liệu tuần tự có thể bao gồm một khoảng thời gian hợp lý sau khi hoàn thành lần trị liệu thứ nhất trước khi bắt đầu lần trị liệu thứ hai. Việc điều trị bằng cả hai tác nhân cùng một lúc có thể là trong cùng một liều dùng hằng ngày hoặc thành các liều riêng. Liệu pháp kết hợp cần phải không bị giới hạn ở hai tác nhân và có thể bao gồm ba hoặc nhiều tác nhân. Các liều lượng cho cả trị liệu kết hợp đồng thời và tuần tự sẽ phụ thuộc vào tốc độ hấp phụ, phân bố, chuyển hóa và bài tiết các thành phần của liệu pháp kết hợp cũng như các yếu tố khác đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rõ. Các giá trị liều lượng cũng sẽ thay đổi theo mức độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh cần được thuyên giảm. Cần hiểu thêm rằng đối với đối tượng cụ thể bất kỳ, các chế độ liều lượng và các lịch trình dùng cụ thể có thể được điều chỉnh theo thời gian, theo nhu cầu của cá nhân và sự đánh giá của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực áp dụng hoặc giám sát việc dùng liệu pháp kết hợp.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức I để sử dụng trong việc điều trị nhiễm virus viêm gan C (HCV), việc sử dụng đã nêu bao gồm việc cho bệnh nhân cần điều trị dùng một lượng hữu hiệu có tác dụng điều trị của hợp chất có công thức I.

Sáng chế đề xuất hợp chất nêu trên để sử dụng, trong đó việc sử dụng đã nêu còn bao gồm bước sử dụng chất điều biến hệ miễn dịch hoặc tác nhân kháng virus làm ức chế sự sao chép của HCV, hoặc sự kết hợp của chúng.

Sáng chế đề xuất hợp chất nêu trên để sử dụng, trong đó chất điều biến hệ miễn dịch là interferon hoặc interferon được dẫn xuất bằng hóa chất.

Sáng chế đề xuất hợp chất nêu trên để sử dụng, trong đó tác nhân kháng virus được chọn từ nhóm bao gồm chất ức chế proteaza của HCV, chất ức chế polymeraza của HCV, chất ức chế helicaza của HCV, chất ức chế primaza của HCV, chất ức chế dung hợp HCV, và sự kết hợp của chúng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các từ viết tắt được sử dụng trong sáng chế này bao gồm: axetyl (Ac), axit axetic (HOAc), azo-*bis*-isobutyrylnitril (AIBN), 1-N-hydroxybenzotriazol (HOBt), môi trường (Atm), sắc ký lỏng cao áp (HPLC), 9-borabixyclo[3.3.1]nonan (9-BBN hoặc BBN), metyl (Me), *tert*-butoxycarbonyl (Boc), axetonitril (MeCN), di-*tert*-butyl pyrocarbonat hoặc anhydrit boc (BOC₂O), 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimit hydroclorua (EDCI), benzoyl (Bz), benzyl (Bn), axit *m*-cloperbenzoic (MCPBA), butyl (Bu), metanol (MeOH), benzyloxycarbonyl (cbz hoặc Z), điểm nóng chảy (mp), carbonyl diimidazol (CDI), MeSO₂- (mesyl hoặc Ms), 1,4-diazabixyclo[2.2.2]octan (DABCO), dietylaminosulfur triflorua (DAST) trong khối phổ (ms), metyl *t*-butyl ete (MTBE), dibenzylidenaxeton (Dbz), N-carboxyanhydrit (NCA), 1,5-diazabixyclo[4.3.0]non-5-en (DBN), N-bromosuxinimit (NBS), 1,8-diazabixyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), N-metylmorpholin (NMM), N-metylpyrrolidon (NMP), 1,2-dicloetan (DCE), pyridin clocromat (PCC), N,N'-dixyclohexylcarbodiimit (DCC), pyridin dicromat (PDC), diclometan (DCM), propyl (Pr), dietyl azodicarboxylat (DEAD), phenyl (Ph), di-*iso*-propylazodicarboxylat, DIAD, pao trên một inơ vuông (psi), di-*iso*-propyletylamin (DIPEA), pyridin (pyr), di-*iso*-butyl nhôm hydrua, DIBAL-H, nhiệt độ phòng, rt hoặc RT, N,N-dimetyl axetamit (DMA), *tert*-butyldimetylsilyl hoặc *t*-BuMe₂Si, (TBDMS), 4-N,N-dimetylaminopyridin (DMAP), trietylamin (Et₃N hoặc TEA), N,N-dimetylformamit (DMF), triflat hoặc CF₃SO₂- (Tf), dimetyl sulfoxit (DMSO), axit trifloaxetic (TFA), 1,1'-*bis*-(diphenylphosphino)etan (dppe), 2,2,6,6-tetrametylheptan-2,6-dion (TMHD), 1,1'-*bis*-(diphenylphosphino)

feroxen (dppf), sắc ký lớp mỏng (TLC), ethyl axetat (EtOAc), tetrahydrofuran (THF), diethyl ete (Et₂O), trimethylsilyl hoặc Me₃Si (TMS), ethyl (Et), monohydrat của axit *p*-toluensulfonic (TsOH hoặc *p*TsOH), lithi hexametyl disilazan (LiHMDS), 4-Me-C₆H₄SO₂- hoặc tosyl (Ts), *iso*-propyl (*i*-Pr), N-uretan-N-carboxyanhydrit (UNCA), etanol (EtOH). Danh pháp thông thường bao gồm các tiền tố: *bình thường* (*n*), *iso* (*i*-), *bậc hai* (*sec*-), *bậc ba* (*tert*-) và *neo* có ý nghĩa theo quy tắc thông thường của chúng khi được sử dụng với gốc alkyl. (J. Rigaudy and D. P. Klesney, *Nomenclature in Organic Chemistry*, IUPAC 1979 Pergamon Press, Oxford.).

Các điều kiện chung

Các hợp chất của sáng chế có thể được tạo ra bằng nhiều phương pháp khác nhau được mô tả trong các phản ứng tổng hợp minh họa được mô tả dưới đây trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế.

Các nguyên liệu và các chất phản ứng ban đầu được sử dụng trong việc điều chế các hợp chất này nhìn chung là sẵn có từ các nhà cung cấp thương mại, như Aldrich Chemical Co., hoặc được điều chế bằng các phương pháp được biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực theo các quy trình được nêu trong các tài liệu tham khảo như cuốn của Fieser và Fieser: *Reagents for organic Synthesis*; Wiley & Sons: New York, 1991, Volumes 1-15; cuốn của Rodd: *Chemistry of Carbon Compounds*, Elsevier Science Publishers, 1989, Volumes 1-5 and Supplementals; và *Organic Reactions*, Wiley & Sons: New York, 1991, Volumes 1-40. Cần được hiểu rằng các sơ đồ phản ứng tổng hợp được thể hiện trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế chỉ mang tính minh họa cho một số phương pháp mà nhờ đó các hợp chất của sáng chế có thể được tổng hợp, và các biến đổi khác nhau đối với các sơ đồ phản ứng tổng hợp này có thể được thực hiện và sẽ được gợi ý cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật khi xem xét phần bộc lộ trong bản mô tả sáng chế này.

Các nguyên liệu ban đầu và các hợp chất trung gian của các sơ đồ phản ứng tổng hợp có thể được phân lập và được tinh chế nếu muốn bằng cách sử dụng các kỹ thuật thông thường, bao gồm nhưng không giới hạn ở, lọc, chưng cất, kết tinh, sắc ký, và các kỹ thuật tương tự. Các nguyên liệu này có thể được đặc trưng hóa bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường, bao gồm các hằng số vật lý và các số liệu phổ.

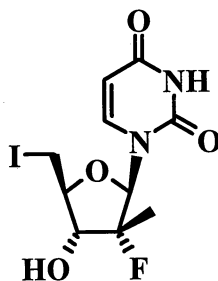
Trừ khi có quy định khác, các phản ứng được mô tả trong bản mô tả thường được thực hiện trong môi trường trơ ở áp suất khí quyển ở nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ -78°C đến 150°C , thông thường là nằm trong khoảng từ 0°C đến 125°C , và thông thường hơn và thuận lợi hơn là ở nhiệt độ phòng (hoặc nhiệt độ môi trường), ví dụ, khoảng 20°C .

Các phần tử thế khác nhau trên các hợp chất của sáng chế có thể có mặt trong các hợp chất ban đầu, được bổ sung vào bất kỳ một trong số các hợp chất trung gian hoặc được bổ sung sau khi hình thành các sản phẩm cuối cùng bằng các phương pháp đã biết của các phản ứng thế hoặc chuyển đổi. Nếu chính các phần tử thế phản ứng, thì chính các phần tử thế này có thể được bảo vệ theo các kỹ thuật đã biết trong lĩnh vực. Nhiều loại nhóm bảo vệ đã được biết đến trong lĩnh vực, và có thể được sử dụng. Các ví dụ về các nhóm có thể này có thể được tìm thấy trong "*Protective Groups in Organic Synthesis*" bởi Green et al., John Wiley and Sons, 1999. Ví dụ, các nhóm nitro có thể được bổ sung bằng cách nitrat hóa và nhóm nitro có thể được chuyển hóa thành nhóm khác, như amino bằng cách khử, và halogen bằng cách diazo hóa nhóm amino và thay thế nhóm diazo bằng halogen. Các nhóm axyl có thể được bổ sung bằng cách axyl hóa Friedel-Crafts. Các nhóm axyl sau đó có thể được biến đổi thành các nhóm alkyl tương ứng bằng các phương pháp khác nhau, bao gồm sự khử Wolff-Kishner và sự khử Clemmenson. Các nhóm amino có thể được alkyl hóa để tạo thành các nhóm mono- và di-alkylamino; và các nhóm mercapto và hydroxy có thể được alkyl hóa để tạo thành các ete tương ứng. Các rượu bậc một có thể được oxy hóa bằng tác nhân oxy hóa được biết trong lĩnh vực để tạo thành các axit carboxylic hoặc các aldehyt, và các rượu bậc hai có thể được oxy hóa tạo thành các keton. Như vậy, các phản ứng thế hoặc biến đổi có thể được sử dụng để tạo ra một loạt các phần tử thế trong toàn bộ phân tử của nguyên liệu ban đầu, các hợp chất trung gian, hoặc sản phẩm cuối cùng, bao gồm các sản phẩm được phân lập.

Các ví dụ điều chế

Ví dụ điều chế 1

Điều chế hợp chất trung gian 1-((2R,3R,4R,5S)-3-fluoro-4-hydroxy-5-(iodomethyl)-3-methyl-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione không đối xứng



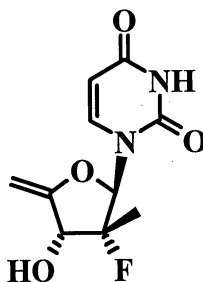
Phân tử lượng: 370,12 $C_{10}H_{12}FIN_2O_4$

Bổ sung hợp chất 1-((2R,3R,4R,5R)-3-fluoro-4-hydroxy-5-hydroxymethyl-3-methyl-tetrahydro-furan-2-yl)-1H-pyrimidin-2,4-dion không đối xứng (6,14 g, 23,6 mmol), PPh_3 (9 g, 34,4 mmol), imidazol (2,4 g, 34,4 mmol) và THF khô (100 mL) vào bình ba cổ (500 mL), hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ $20^\circ C$ trong môi trường nitơ trong 20 phút. Sau đó, bổ sung từng giọt I_2 (6,6 g, 26 mmol) được hòa tan trong THF khô (100 mL) vào hỗn hợp ở $20^\circ C$ trong 30 phút, sau khi bổ sung, toàn bộ hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ $20^\circ C$ trong môi trường nitơ trong 18 giờ. TLC thể hiện rằng SM đã được tiêu thụ, sau đó, bổ sung nước (50 mL) vào hỗn hợp này, hỗn hợp này được chiết bằng EA (150 mL $\times$ 3), lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng Na_2SO_4 , được loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm, tinh chế phân thu được bằng cột sắc ký silicagel (DCM:MeOH = 100:1 đến 50:1) để thu được hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (8,2 g, 94%).

LC-MS $(M+H)^+ = 371,0$

Ví dụ điều chế 2

Điều chế hợp chất trung gian 1-((2R,3R,4R)-3-fluoro-4-hydroxy-3-methyl-5-metylen-tetrahydrofuran -2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng



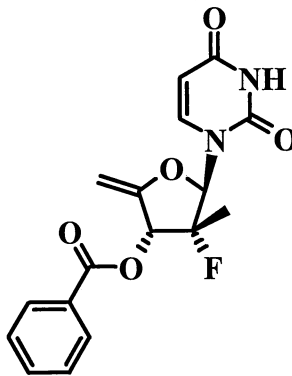
Phân tử lượng: 242,21 $C_{10}H_{11}FN_2O_4$

Hòa tan hợp chất 1-((2R,3R,4R,5S)-3-fluoro-4-hydroxy-5-(iodomethyl)-3-methyl-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (8,2 g, 22 mmol) trong MeOH (100 mL) và bổ sung NaOMe (3,73 g, 69 mmol) vào hợp chất đó trong môi trường nitơ, sau khi bổ sung, hỗn hợp này được gia nhiệt đến 65°C và được khuấy trong môi trường nitơ trong 14 giờ, TLC thể hiện rằng SM đã được tiêu thụ, sau đó, hỗn hợp này được làm nguội xuống nhiệt độ phòng, bổ sung nhựa trao đổi ion IR-120 (H) vào để điều chỉnh độ pH đến 8, lọc và loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm, sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel (DCM: MeOH = 15:1) để thu được hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (3,3 g, 59%).

LC-MS (M+H)⁺ = 243,1

Ví dụ điều chế 3

Điều chế hợp chất trung gian (3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-4-fluoro-4-methyl-2-metylen-tetrahydro-furan-3-yl este của axit benzoic không đối xứng



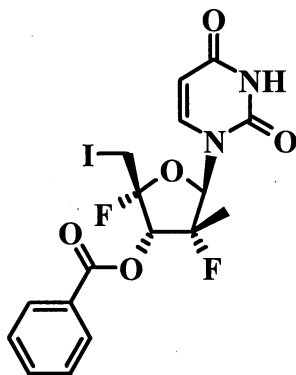
Phân tử lượng: 346,32 C₁₇H₁₅FN₂O₅

Bổ sung từng giọt BzCl (15,9 g, 113,4 mmol) vào hỗn hợp của 1-((2R,3R,4R)-3-fluoro-4-hydroxy-3-methyl-5-metylen-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (18,3 g, 75,6 mmol) và DMAP (27,7 g, 227 mmol) trong THF khan (900 mL) ở nhiệt độ 0°C. Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 0,5 giờ, sau đó bổ sung NaHCO₃ bão hòa để ngừng phản ứng. Hỗn hợp này được chiết bằng EA (300 mL×3). Chất chiết hữu cơ được thu gom được rửa bằng H₂O, nước muối, được làm khô bằng Na₂SO₄, và được cô. Tinh chế phần thu được bằng cột sắc ký silicagel (DCM:MeOH = 160:1 đến 120:1) để thu được hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (17 g, 65%).

LC-MS (M+H)⁺ = 347,1

Ví dụ điều chế 4

Điều chế hợp chất trung gian (2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-2,4-diflo-O-2-(iodometyl)-4-metyl-tetrahydrofuran-3-yl benzoat không đối xứng



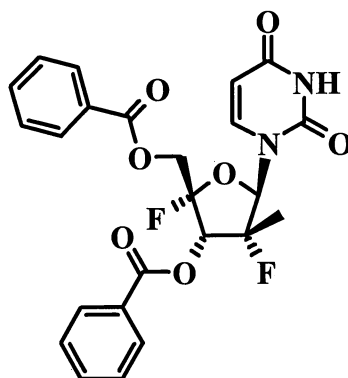
Phân tử lượng: 492,22 C₁₇H₁₅F₂IN₂O₅

Bổ sung từng giọt dung dịch THF (600 mL) của I₂ (24,8 g, 98 mmol) vào hỗn hợp của (3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-4-flo-4-metyl-2-metylen-tetrahydro-furan-3-yl este của axit benzoic không đối xứng (17 g, 49 mmol) và AgF (31 g, 245 mmol) trong THF khan (600 mL) ở nhiệt độ 0°C. Sau khi bổ sung xong, hỗn hợp phản ứng được làm ấm đến nhiệt độ phòng và được khuấy trong 3 giờ. Phân tích TLC chỉ ra rằng nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ hoàn toàn và tạo thành sản phẩm mong muốn. Phản ứng này được dừng bằng dung dịch nước NaS₂O₃ (5%, 300 mL). Hỗn hợp này được chiết bằng EA (350 mL×3). Chất chiết hữu cơ được thu gom được rửa bằng nước muối, được làm khô bằng Na₂SO₄, và được cô. Tinh chế phân thu được bằng cột sắc ký silicagel (DCM:MeOH = 120:1) để thu hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (11 g, 45%).

LC-MS (M+H)⁺ = 493,0

Ví dụ điều chế 5

Điều chế hợp chất trung gian (2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-2,4-diflo-O-2-benzoylmetyl-4-metyl-tetrahydrofuran-3-yl benzoat không đối xứng



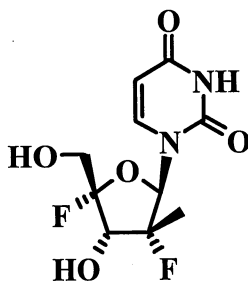
Phân tử lượng: 486,46 $C_{24}H_{20}F_2N_2O_7$

Tạo huyền phù (2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-2,4-diflo-O-2-(iodometyl)-4-metyl-tetrahydrofuran-3-yl benzoat không đối xứng (0,56 g, 1,15 mmol), natri benzoat (0,825 g, 5,73 mmol) và 18-crown-6 (0,03 g, 0,115 mmol) được tạo huyền phù trong DMSO (20 mL), dung dịch này được gia nhiệt đến 100°C và được khuấy trong môi trường nitơ trong 18 giờ, sau đó, được làm mát xuống nhiệt độ phòng, bổ sung nước (30 mL) vào hỗn hợp, hỗn hợp này được chiết bằng EA (30 mL×3), rửa lớp hữu cơ bằng H₂O, nước muối và H₂O, loại bỏ dung môi dưới áp suất giảm, tinh chế phần thu được bằng sắc ký cột silicagel (PE:EA = 1:2) để thu hợp chất ở đề mục ở dạng dầu không màu (0,34 g, 61%).

LC-MS (M+Na)⁺ = 509,1

Ví dụ điều chế 6

Điều chế hợp chất trung gian 1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)-3-metyl-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng



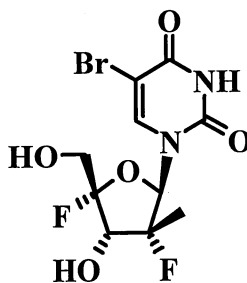
Phân tử lượng: 278,21 $C_{10}H_{12}F_2N_2O_5$

Hòa tan hợp chất (2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)-2,4-diflo-O-2-benzoylmethyl-4-metyl-tetrahydrofuran-3-yl benzoat không đối xứng (0,34 g, 0,7 mmol) trong metanol, và bổ sung dung dịch amoniac trong metanol (7 N, 20 mL). Hỗn hợp phản ứng này được khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Cô hỗn hợp này, và tinh chế phân thu được bằng sắc ký cột silicagel (DCM: MeOH = 20: 1) và HPLC điều chế để thu hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (0,074 g, 38%).

LC-MS $(M+H)^+ = 279,1$; 1H NMR (300MHz, DMSO- d_6) δ 11,575 (s, 1 H), 7,666-7,639 (d, 1 H, $J = 8,1$ Hz), 6,324-6,266 (d, 1 H, $J = 17,4$ Hz), 6,056-6,037 (d, 1 H, $J = 5,7$ Hz), 5,821 (brs, 1 H), 5,713-5,686 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 4,057-4,023 (m, 1H), 3,636 (s, 2 H), 1,313-1,238 (d, 3H, $J = 22,5$ Hz)

Ví dụ điều chế 7

Điều chế hợp chất trung gian 5-bromo-1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-hydroxymetyl-3-metyl-tetrahydro-furan-2-yl)-1H-pyrimidin-2,4-dion không đối xứng



Phân tử lượng: 357,11 $C_{10}H_{11}BrF_2N_2O_5$

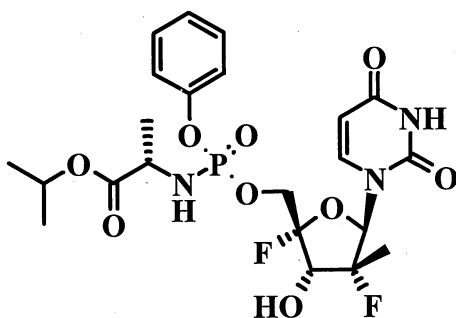
Trong lọ nhỏ vi sóng dung tích 2mL, hòa tan 1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)-3-metyl-tetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (70 mg, 0,252 mmol), và NBS (67,2 mg, 0,377 mmol), trong DMF (0,7 ml). Hỗn hợp này được đun nóng và được gia nhiệt trong bức xạ vi sóng ở nhiệt độ

80°C trong 10 phút. Phân tích LC/MS chỉ ra rằng nguyên liệu ban đầu đã được tiêu thụ hoàn toàn và hình thành sản phẩm mong muốn ở dạng sản phẩm chính duy nhất. Dung môi được bay hơi, và tinh chế phần thu được bằng hộp silicagel 2x4g, rửa giải bằng 0-70% EtOAc trong hexan để thu hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (94 mg, 90%).

MS (M)⁺ = 358; ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ(ppm) 8,41 (s, 1H), 6,40-6,35 (d, 1H), 4,28- 4,18 (m, 1H), 3,80-3,76 (d, 2H), 1,45-1,37(d, 3H)

Ví dụ 1

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-{[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-difluoro-3-hydroxy-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmethoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic



I-1

Phân tử lượng: 547,45 C₂₂H₂₈F₂N₃O₉P

Bước A

Tạo huyền phù (S)-isopropyl 2-aminopropanoat hydroclorua (Oakwood, 500 mg, 2,98 mmol) và phenyl phosphorodichloridat (Aldrich, 662 mg, 2,98 mmol) trong DCM khan (25 mL). Làm lạnh hỗn hợp phản ứng xuống nhiệt độ -78°C. Bổ sung từng giọt triethylamin (604 mg, 830 µl, 5,97 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ, sau đó, gia nhiệt đến nhiệt độ phòng và khuấy qua đêm. Loại bỏ dung môi, rửa phần thu được bằng ete khô. Cô đặc phần dịch lọc để thu (2S)-isopropyl 2-(clo(phenoxy)phosphorylamino)propanoat thô ở dạng dầu màu vàng nhạt (0,8 g, 88%) và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

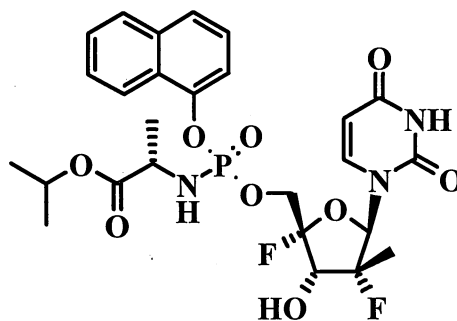
Bước B

Bổ sung từng giọt dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (377 μ l, 377 μ mol) vào dung dịch của 1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)-3-metyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (42 mg, 151 μ mol) được điều chế trong Điều chế 6 trong THF (8,00 ml). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, tiếp theo là bổ sung dung dịch THF (0,5 M) của (2S)-isopropyl 2-(clo(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (755 μ l, 377 μ mol). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, tiếp theo là bổ sung dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (189 μ l, 189 μ mol) và dung dịch THF (0,5 M) của (2S)-isopropyl 2-(clo(phenoxy)phosphorylamino)propanoat (378 μ l, 189 μ mol). Sau đó, khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ. Bổ sung metanol (2 mL) để ngừng phản ứng. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký nhanh (silica gel, 0-15% MeOH trong DCM) và sấy chân không để thu hợp chất ở dạng bột ở dạng chất rắn màu vàng nhạt (18 mg, 22%).

$$\text{LC-MS } (M+H)^+ = 548,1$$

Ví dụ 2

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-yl]metoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic



I-2

Phân tử lượng: 597,51 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_9\text{P}$

Bước A

Tạo huyền phù naphtalen-1-ol (Aldrich, 1,5 g, 10,4 mmol) và phospho (V) oxyclorua (Aldrich, 1,6 g, 0,97 ml, 10,4 mmol) trong ete khan (37,5 mL), và hạ nhiệt độ xuống -78°C . Bổ sung từng giọt triethylamin (1,05 g, 1,45 ml, 10,4 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng này đến nhiệt độ phòng và khuấy qua đêm. Lọc hỗn hợp, và cô phần dịch lọc để thu naphtalen-1-yl phosphorodichloridat thô ở dạng dầu màu vàng nhạt (2 g, 74%) và được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước B

Tạo huyền phù (S)-isopropyl 2-aminopropanoat hydroclorua (Oakwood, 1,28 g, 7,64 mmol) và naphtalen-1-yl phosphorodichloridat (2 g, 7,66 mmol) trong DCM khan (35 mL). Hạ nhiệt hỗn hợp phản ứng xuống -78°C . Bổ sung từng giọt triethylamin (1,55 g, 2,13 mL, 15,3 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ, sau đó, gia nhiệt đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 giờ. Loại bỏ dung môi, và rửa phần thu được bằng etyl ete khô và được lọc. Cô đặc phần dịch lọc để thu (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-1-yloxy)phosphorylamino)propanoat thô ở dạng dầu màu vàng nhạt (2,5 g, 92%) và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Bước C

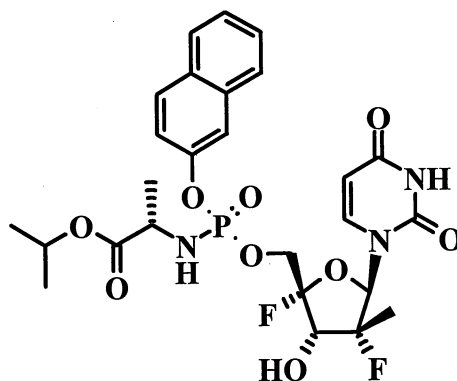
Bổ sung từng giọt dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (1,35 mL, 1,35 mmol) vào dung dịch của 1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)-3-metyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (150 mg, 539 μmol) được điều chế trong Ví dụ điều chế 6 trong THF (24 mL). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, tiếp theo là bổ sung dung dịch THF (0,5 M) vào (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-1-yloxy)phosphorylamino)propanoat (2,7 mL, 1,35 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó, bổ sung thêm dung dịch THF (Aldrich, 1M) *tert*-butylmagie clorua (0,68 mL, 0,68 mmol) và dung dịch THF (0,5M) (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-1-yloxy)phosphorylamino)propanoat (1,35mL, 0,68mmol). Sau đó, khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 3 giờ. Bổ sung metanol (6 mL) để ngừng phản ứng. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng cách sắc ký nhanh (silica gel, 0-15% MeOH trong

DCM) và làm khô trong chân không để thu hợp chất ở dạng bột ở dạng chất rắn màu trắng (0,2 g, 62%).

LC-MS (M-H)⁺ = 596,0

Ví dụ 3

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-difluoro-3-hydroxy-4-methyl-tetrahydro-furan-2-ylmethoxy]-(naphthalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic



I-3

Phân tử lượng: 597,51 C₂₆H₃₀F₂N₃O₉P

Bước A

Tạo huyền phù naphthalen-2-ol (Aldrich, 2 g, 13,9 mmol) và phospho (V) oxychlorua (Aldrich, 2,13 g, 1,29 ml, 13,9 mmol) trong ete khan (50 mL), và hạ nhiệt độ xuống -78°C. Bổ sung từng giọt triethylamin (1,4 g, 1,93 ml, 13,9 mmol) và khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ. Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng và khuấy qua đêm. Lọc hỗn hợp, và cô đặc phần dịch lọc để thu naphthalen-2-yl phosphorodichloridat thô ở dạng dầu màu vàng nhạt (2,5 g, 69%) và được sử dụng trong bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm.

Bước B

Tạo huyền phù (S)-isopropyl 2-aminopropanoat hydrochlorua (Oakwood, 500 mg, 2,98 mmol) và naphthalen-2-yl phosphorodichloridat (724 mg, 2,98 mmol) trong DCM khan (25 mL). Hạ nhiệt hỗn hợp phản ứng xuống -78°C. Bổ sung từng giọt triethylamin (604 mg, 830 µl, 5,97 mmol). Khuấy hỗn hợp phản ứng ở nhiệt độ -78°C trong 1 giờ,

sau đó, gia nhiệt đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 5 giờ. Loại bỏ dung môi, và rửa phần thu được bằng etyl ete khô và được lọc. Cô đặc phần dịch lọc để thu (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-2-yloxy) phosphorylamino)propanoat thô ở dạng dầu màu vàng nhạt (0,8 g, 75%) và được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

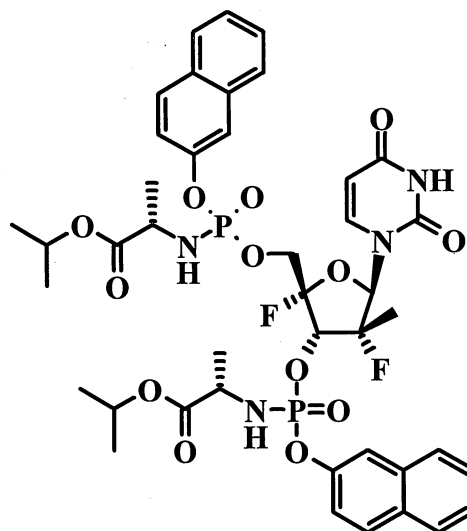
Bước C

Bổ sung từng giọt dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (539 μ l, 539 μ mol) vào dung dịch của 1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-(hydroxymetyl)-3-metyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2,4(1H,3H)-dion không đối xứng (60 mg, 216 μ mol) được điều chế trong ví dụ điều chế 6 trong THF (8 ml). Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 15 phút, tiếp theo, bổ sung dung dịch THF (0,5 M) (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-2-yloxy)phosphorylamino)propanoat (1,08 mL, 539 μ mol). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ, sau đó, bổ sung thêm dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (270 μ l, 270 μ mol) và dung dịch THF (0,5 M) của (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-2-yloxy)phosphorylamino)propanoat (0,54 mL, 270 μ mol). Sau đó, khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 18 giờ. Bổ sung metanol (2 mL) để ngừng phản ứng. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng cách sắc ký nhanh (silica gel, 1- 18% MeOH trong DCM) và làm khô trong chân không để thu hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (75 mg, 58%).

$$\text{LC-MS (M-H)}^+ = 596,1$$

Ví dụ 4

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-[[[(S)-1-isopropoxycarbonyl-etylaminol-(naphtalen-2-yloxy)-phosphoryloxy]-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic



I-4

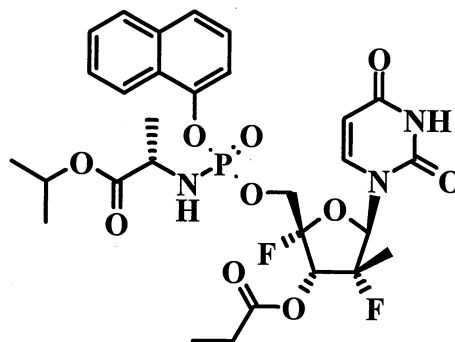
Phân tử lượng: 916,81 $C_{42}H_{48}F_2N_4O_{13}P_2$

Trong phương pháp được mô tả để điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic trong bước C của Ví dụ 3, thu được isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-[[((S)-1-isopropoxycarbonyl-ethylamino)-(naphtalen-2-yloxy)-phosphoryloxy]-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic như là sản phẩm thứ hai: chất rắn màu trắng, 8 mg (4%).

LC-MS $(M+H)^+ = 917,2$

Ví dụ 5

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-4-metyl-3-propionyloxy-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic



I-5

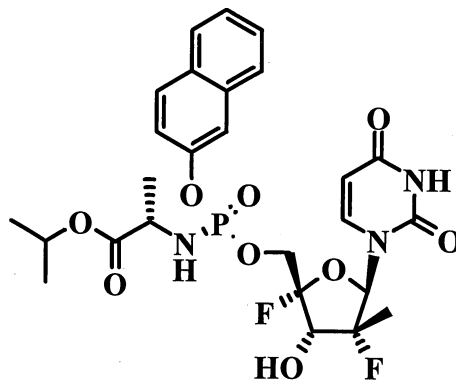
Phân tử lượng: 653,58 C₂₉H₃₄F₂N₃O₉P

Bổ sung propionyl clorua (66,6 mg, 720 μ mol) và DMAP (87,9 mg, 720 μ mol) vào dung dịch của isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 2 (86 mg, 144 μ mol) trong THF (10 mL). Khuấy hỗn hợp phản ứng này ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Pha loãng hỗn hợp này bằng etyl axetat, rửa bằng nước, nước muối. Phân tách lớp hữu cơ, làm khô bằng MgSO₄, và cô đặc. Tinh chế phân thu được bằng sắc ký nhanh (silica gel, 40 g, 0-15% MeOH trong DCM) để thu hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (45 mg, 48%).

LC-MS (M-H)⁺ = 652,1

Ví dụ 6

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-6

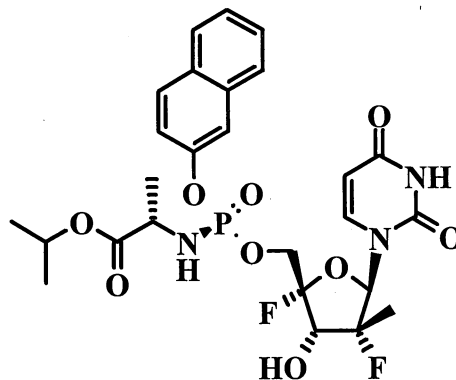
Phân tử lượng: 597,51 $C_{26}H_{30}F_2N_3O_9P$

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 3 (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (27 mg, 54%).

LC-MS $(M-H)^+ = 596,1$

Ví dụ 7

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-7

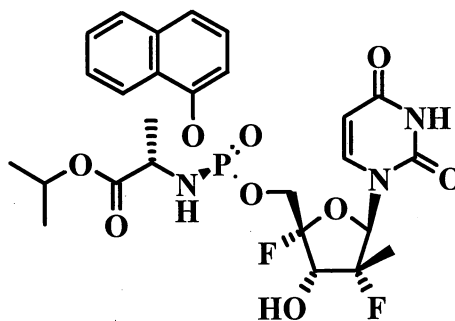
Phân tử lượng: 597,51 C₂₆H₃₀F₂N₃O₉P

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 3 (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (12 mg, 24%).

LC-MS (M-H)⁺ = 596,1

Ví dụ 8

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-8

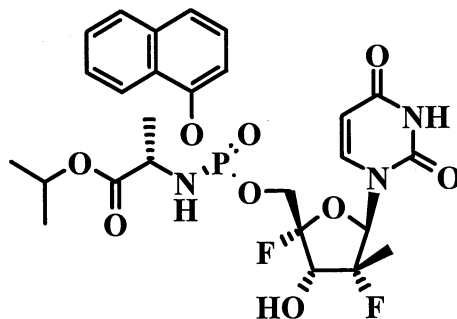
Phân tử lượng: 597,51 C₂₆H₃₀F₂N₃O₉P

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphthalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 2 (100 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphthalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (24 mg, 24%).

LC-MS (M-H)⁺ = 596,1

Ví dụ 9

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphthalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-9

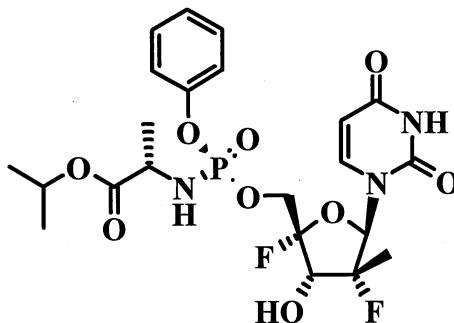
Phân tử lượng: 597,51 C₂₆H₃₀F₂N₃O₉P

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphthalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 2 (100 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphthalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (53 mg, 53%)

LC-MS (M-H)⁺ = 596,1

Ví dụ 10

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic không đối xứng



I-10

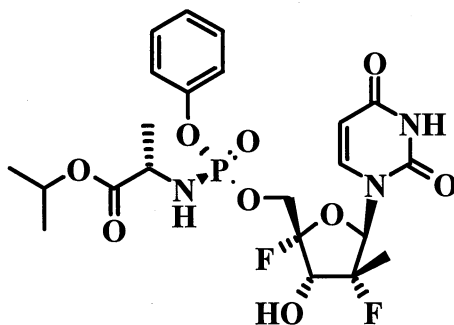
Phân tử lượng: 547,45 $C_{22}H_{28}F_2N_3O_9P$

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic được điều chế trong Ví dụ 1 (0,18 g) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu được isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (60 mg, 33%).

LC-MS $(M+H)^+ = 548,0$

Ví dụ 11

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic không đối xứng



I-11

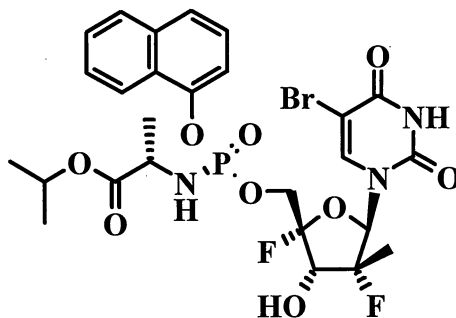
Phân tử lượng: 547,45 $C_{22}H_{28}F_2N_3O_9P$

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-{[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-difluo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic được điều chế trong Ví dụ 1 (0,18 g) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu được isopropyl este của axit (S)-2-{(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-difluo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (28 mg, 16%).

LC-MS $(M+H)^+ = 548,0$

Ví dụ 12

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-difluo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-12

Phân tử lượng: 676,41 $C_{26}H_{39}Br_2N_3O_9P$

Bước A

Bổ sung từng giọt dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (0,35 mL, 0,35 mmol) vào dung dịch của 5-bromo-1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-hydroxymetyl-3-metyl-tetrahydro-furan-2-yl)-1H-pyrimidin-2,4-dion không đối xứng (50 mg, 0,14 mmol) được điều chế trong Ví dụ điều chế 7 trong THF (3 ml) ở nhiệt độ 0°C. Khuấy hỗn hợp này ở nhiệt độ 0°C trong 15 phút, tiếp theo là bổ sung dung dịch THF (0,5 M) của (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-1-yloxy) phosphorylamino) propanoat được điều chế trong Bước B của Ví dụ 2 (0,7 mL, 0,35 mmol). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 2 giờ. Bổ sung metanol (2 mL) để ngừng phản ứng. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng sắc ký nhanh (5-10% MeOH trong DCM) để thu được isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic ở dạng chất rắn màu trắng (50 mg, 52%).

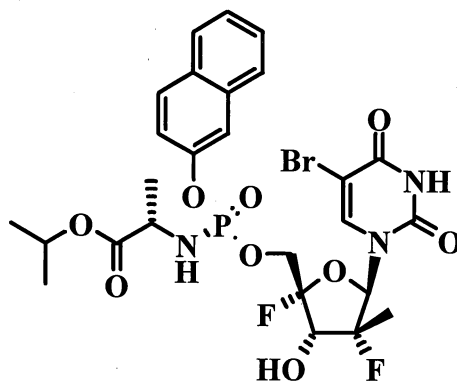
Bước B

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu được isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (11 mg, 22%).

LC-MS (M)⁺ = 676,0

Ví dụ 13

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-13

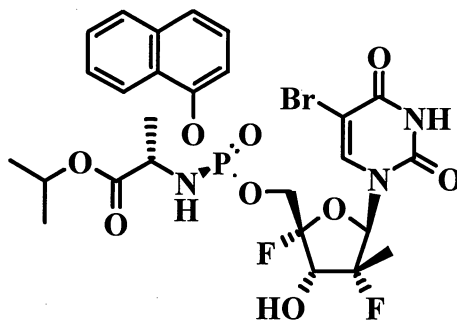
Phân tử lượng: 676,41 $C_{26}H_{39}Br_2N_3O_9P$

Phân tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 16 (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng để thu isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng chất rắn màu trắng (27 mg, 54%).

LC-MS (M)⁺ = 676,0

Ví dụ 14

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-14

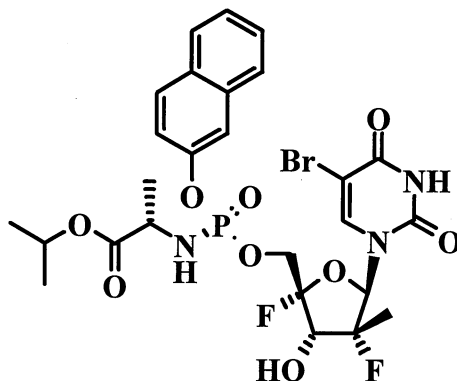
Phân tử lượng: 676,41 $C_{26}H_{39}Br_2N_3O_9P$

Trong quá trình tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng trong bước B của Ví dụ 12, thu được isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng như là sản phẩm thứ hai: chất rắn màu trắng (8 mg, 16%).

$$\text{LC-MS (M)}^+ = 676,0$$

Ví dụ 15

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-15

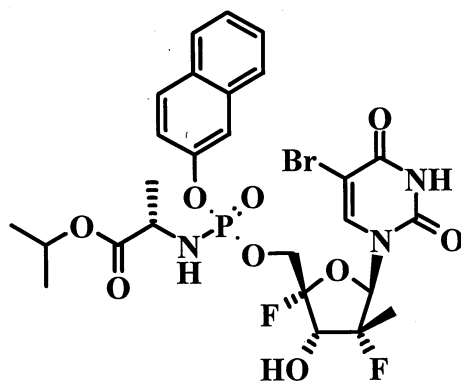
Phân tử lượng: 676,41 C₂₆H₃₉Br₂N₃O₉P

Trong quá trình tách isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic được điều chế trong Ví dụ 16 (50 mg) bằng sắc ký SFC không đối xứng, thu được isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng ở dạng sản phẩm thứ hai: chất rắn màu trắng (16 mg, 32%).

LC-MS (M)⁺ = 675,9

Ví dụ 16

Điều chế isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmethoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic không đối xứng



I-16

Phân tử lượng: 676,41 C₂₆H₃₉Br₂N₃O₉P

Bổ sung từng giọt dung dịch THF (Aldrich, 1 M) của *tert*-butylmagie clorua (0,64 mL, 0,64 mmol) vào dung dịch của 5-bromo-1-((2R,3R,4S,5S)-3,5-diflo-4-hydroxy-5-hydroxymetyl-3-metyl-tetrahydro-furan-2-yl)-1H-pyrimidin-2,4-dion không đối xứng (92 mg, 0,26 mmol) được điều chế trong Điều chế 7 trong THF (3 ml) ở 0°C. Hỗn hợp này được khuấy ở nhiệt độ 0°C trong 15 phút, tiếp theo là bổ sung dung dịch THF (0,5 M) của (2S)-isopropyl 2-(clo(naphtalen-2-yloxy)phosphorylamino)propanoat được điều chế trong Bước B của Ví dụ 3 (1,29 mL, 0,64 mmol). Gia nhiệt hỗn hợp phản ứng đến nhiệt độ phòng và khuấy trong 2 giờ. Bổ sung metanol (2 mL) để ngừng phản ứng. Tinh chế hỗn hợp phản ứng bằng cách ký nhanh (5-10% MeOH trong DCM) để thu được hợp chất ở đề mục ở dạng chất rắn màu trắng (56 mg, 32%).

LC-MS (M)⁺ = 676,0

Các ví dụ sinh học

Thử nghiệm replicon của HCV

Thử nghiệm này xác định khả năng của các hợp chất có công thức I trong việc ức chế sự sao chép ARN của HCV, và từ đó lợi ích tiềm năng của chúng để điều trị các nhiễm HCV. Thử nghiệm này sử dụng gen chỉ thị là sự chỉ báo đơn giản về lượng ARN replicon của HCV nội bào. Gen *Renilla luciferase* được đưa vào trong khung đọc mở đầu tiên của cấu trúc replicon kiểu gen 1b NK5.1 (N. Krieger *et al.*, *J. Virol.* 2001 75(10):4614), ngay sau trình tự của vị trí đi vào bên trong ribosom (IRES), và được nối với gen neomycin phosphotransferaza (NPTII) thông qua peptit tự phân cắt 2A từ virus gây bệnh tay chân và miệng (M.D. Ryan & J. Drew, *EMBO* 1994 13(4):928-933). Sau khi phiên mã in vitro, ARN được chuyển bằng phương pháp xung điện vào trong các tế bào ung thư gan ở người Huh7 và các khuẩn lạc kháng G418 được phân lập và được nhân lên. Dòng tế bào ổn định được chọn 2209-23 chứa ARN hệ gen phụ bản sao của HCV, và hoạt tính của *Renilla luciferase* được biểu hiện bởi replicon phản ánh lượng ARN của nó trong các tế bào này. Thử nghiệm này được thực hiện trong các đĩa nhân đôi, một đĩa màu trắng đục và một đĩa trong suốt, để xác định đồng thời hoạt tính kháng virus và đặc tính gây độc tế bào của hợp chất hóa học nhằm đảm bảo hoạt tính được quan sát thấy không phải là do sự tăng sinh tế bào giảm hoặc do sự chết tế bào.

Các tế bào replicon của HCV (2209-23), mà biểu hiện gen chỉ thị *Renilla luciferase*, được nuôi cấy trong môi trường Dulbecco's MEM (Invitrogen cat no. 10569-010) với huyết thanh bào thai bê 5% (FBS, Invitrogen cat. no. 10082-147) và được trải lên trên đĩa 96 giếng ở mật độ 5000 tế bào trong một giếng, và được ủ qua đêm. Hai mươi tư giờ sau, bổ sung các dung dịch có nồng độ pha loãng khác nhau của hợp chất hóa học trong môi trường sinh trưởng vào các tế bào, các tế bào này sau đó được ủ thêm ở nhiệt độ 37°C trong ba ngày. Ở cuối giai đoạn ủ, các tế bào trong các đĩa màu trắng được thu hoạch và hoạt tính luciferaza được xác định bằng cách sử dụng kit thử nghiệm *R. luciferase* (Promega cat no. E2820). Tất cả các chất phản ứng được mô tả trong đoạn sau đây được bao gồm trong bộ kit của nhà sản xuất, và hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất được kèm theo các chế phẩm của các chất phản ứng. Các tế bào được rửa một lần bằng 100 μ L dung dịch muối đệm phosphat (độ pH 7,0) (PBS) cho mỗi giếng và được ly giải tế bào bằng 20 μ L chất đệm ly giải *R. luciferase Assay* 1x trước khi ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút. Đĩa này sau đó được đặt vào máy đo quang vi đĩa Centro LB 960 (Berthold Technologies), và 100 μ L đệm *R. luciferase*

Assay được bơm vào mỗi giếng và tín hiệu được xác định bằng cách sử dụng chương trình đo 2 giây, trễ 2 giây. IC₅₀, nồng độ của dược chất cần để làm giảm 50% lượng replicon so với giá trị đối chứng của tế bào không được xử lý, có thể được tính từ biểu đồ giữa phần trăm giảm hoạt tính luciferaza và nồng độ dược chất như được mô tả ở trên.

Chất phản ứng WST-1 từ Roche Diagnostic (cat no. 1644807) được sử dụng cho thử nghiệm gây độc tế bào. Bổ sung mười microlit chất phản ứng WST-1 vào mỗi giếng của các đĩa trong suốt mà gồm các giếng mà chỉ chứa môi trường làm các mẫu trồng. Các tế bào sau đó được ủ trong 2 giờ ở nhiệt độ 37°C, và giá trị OD được xác định bằng cách sử dụng thiết bị đọc đĩa vi chuẩn MRX Revelation (Lab System) ở 450 nm (thiết bị lọc tham chiếu ở 650 nm). Một lần nữa CC₅₀, nồng độ của dược chất cần để làm giảm 50% sự tăng sinh tế bào so với giá trị đối chứng của tế bào không được xử lý, có thể được tính từ biểu đồ giữa phần trăm giảm giá trị WST-1 và nồng độ dược chất như được mô tả ở trên.

Các số liệu sinh học đại diện được trình bày dưới đây trong bảng II.

Bảng II

Hợp chất	Replicon của HCV IC ₅₀ (uM)	Độ gây độc tế bào WST-1 CC ₅₀ (uM)
I-1	0,424	>100
I-2	0,1149	>100
I-3	0,15768	>100
I-4	7,19	>100
I-5	0,1515	67,8
I-6	0,05374	>100
I-7	0,20155	>100
I-8	1,02945	>100

I-9	0,06016	>100
I-10	0,17082	>100
I-11	1,30888	95,6
I-12	17,365	34,8
I-13	38,465	>100
I-14	9,641	50,8
I-15	13,175	38,5
I-16	77,61	>100

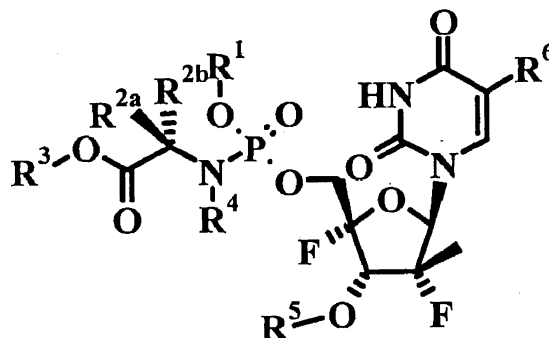
Cần hiểu rằng đề cập đến trong phần mô tả, về việc điều trị được hiểu mở rộng đến việc phòng ngừa cũng như đến việc điều trị các tình trạng bệnh mắc phải, và đến việc điều trị cho các động vật bao gồm việc điều trị cho người cũng như các động vật có vú khác. Hơn nữa, việc điều trị nhiễm virus viêm gan C (HCV), như được sử dụng ở đây, còn bao gồm việc điều trị hoặc phòng ngừa bệnh hoặc tình trạng bệnh liên quan đến hoặc được gây ra bởi nhiễm virus viêm gan C (HCV), hoặc các triệu chứng lâm sàng của chúng.

Các dấu hiệu được mô tả trong phần mô tả ở trên, hoặc các điểm yêu cầu bảo hộ dưới đây, được biểu hiện ở dạng cụ thể của chúng hoặc theo phương thức thực hiện chức năng được bộc lộ này, hoặc phương pháp hoặc quy trình để đạt được kết quả được mô tả, nếu cần, có thể, một cách riêng rẽ, hoặc trong sự kết hợp bất kỳ của các dấu hiệu, được sử dụng để thực hiện sáng chế ở các dạng cải biến của nó.

Sáng chế nêu trên được mô tả chi tiết bằng cách minh họa và ví dụ, với mục đích làm cho rõ ràng và dễ hiểu. Sẽ là hiển nhiên đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực rằng có thể thay đổi và cải biến mà không nằm ngoài phạm vi của sáng chế, như được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo. Do đó, cần hiểu rằng phần mô tả ở trên được dự định là để minh họa và không nhằm làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức I:



I

trong đó:

R^1 là H, C_{1-7} haloalkyl, hoặc aryl, trong đó aryl là phenyl hoặc naphtyl, tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều C_{1-7} alkyl, C_{2-7} alkenyl, C_{2-7} alkynyl, C_{1-7} alkoxy, halo, C_{1-7} haloalkyl, $-N(R^{1a})_2$, axylamino, $-SO_2N(R^{1a})_2$, $-COR^{1b}$, $-SO_2(R^{1c})$, $-NH-SO_2(R^{1c})$, nitro hoặc xyano;

mỗi R^{1a} độc lập là H hoặc C_{1-7} alkyl;

mỗi R^{1b} độc lập là $-OR^{1a}$ hoặc $-N(R^{1a})_2$;

mỗi R^{1c} là C_{1-7} alkyl;

R^{2a} và R^{2b} (i) độc lập là H, C_{1-7} alkyl, $-(CH_2)_rN(R^{1a})_2$, C_{1-7} -hydroxyalkyl, $-CH_2SH$, $-(CH_2)_pS(O)_pMe$, $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, $(1H\text{-indol-3-yl})methyl$, $(1H\text{-indol-4-yl})methyl$, $-(CH_2)_mC(=O)R^{1b}$, aryl và aryl C_{1-7} alkyl, trong đó aryl có thể tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều hydroxy, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} alkoxy, halo, nitro hoặc xyano; (ii) R^{2a} là H và R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$; (iii) R^{2a} và R^{2b} cùng nhau tạo thành $(CH_2)_n$; hoặc, (iv) cả R^{2a} và R^{2b} đều là C_{1-7} alkyl;

R^3 là H, C_{1-7} alkyl, C_{1-7} haloalkyl, phenyl hoặc phenyl C_{1-7} alkyl;

R^4 là H, C_{1-7} alkyl, hoặc R^{2b} và R^4 cùng nhau tạo thành $(CH_2)_3$;

R^5 là H, $C(=O)R^c$, $C(=O)R^{1b}$, $P(=O)(OR^1)(OR^{1a})$, hoặc $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$;

R^6 là H, methyl, hoặc halo;

R^7 là $C(R^{2a}R^{2b})COOR^3$;

m bằng 0 đến 3;

n bằng 4 hoặc 5;

p bằng 0 đến 2; và

r bằng 1 đến 6;

hoặc muối được dụng của nó.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^4 là H.
3. Hợp chất theo điểm 2, trong đó R^6 là H hoặc Br.
4. Hợp chất theo điểm 3, trong đó R^1 là naphtyl hoặc phenyl.
5. Hợp chất theo điểm 4, trong đó R^{2a} là H.
6. Hợp chất theo điểm 5, trong đó R^{2b} là metyl.
7. Hợp chất theo điểm 6, trong đó R^3 là isopropyl.
8. Hợp chất theo điểm 7, trong đó R^5 là H, $C(=O)R^{1c}$ hoặc $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$.
9. Hợp chất theo điểm 7, trong đó R^5 là $C(=O)R^{1c}$ và R^{1c} is etyl.
10. Hợp chất theo điểm 7, trong đó R^5 là $P(=O)(OR^1)(NR^4R^7)$ và R^1 là naphtyl.
11. Hợp chất theo điểm 10, trong đó R^4 là H và R^7 là $CH(CH_3)C(=O)OCH(CH_3)_2$.
12. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

isopropyl este của axit (S)-2-{[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino}-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[[(2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-[[*(S)*]-1-isopropoxycarbonyl-etyl-amino)-(naphtalen-2-yloxy)-phosphoryloxy]-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-4-metyl-3-propionyloxy-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(S)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(R)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(R)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(S)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(S)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(R)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-phenoxy-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[[*(S)*]-[[*(2S,3S,4R,5R)*-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[(S)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-1-yloxy)-phosphorylamino]-propionic;

isopropyl este của axit (S)-2-[(R)-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic; và

isopropyl este của axit (S)-2-[(2S,3S,4R,5R)-5-(5-bromo-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2*H*-pyrimidin-1-yl)-2,4-diflo-3-hydroxy-4-metyl-tetrahydro-furan-2-ylmetoxy]-(naphtalen-2-yloxy)-phosphorylamino]-propionic.

13. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 12 và chất mang không có tác dụng trị liệu.