



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



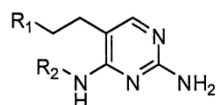
1-0026497

(51)⁷ C07D 239/48; A61K 31/506; A61P (13) B
31/00; C07D 409/06; C07D 401/06;
A61K 31/505; A61P 35/00

-
- (21) 1-2015-00455 (22) 09/08/2013
(86) PCT/EP2013/066673 09/08/2013 (87) WO 2014/023813 13/02/2014
(30) 12180167.4 10/08/2012 EP
(45) 25/11/2020 392 (43) 25/05/2015 326A
(73) Janssen Sciences Ireland UC (IE)
Eastgate Village, Eastgate, Little Island, Co Cork, Ireland
(72) MC GOWAN, David, Craig (US); JONCKERS, Tim, Hugo, Maria (BE);
RABOISSON, Pierre, Jean-Marie, Bernard (FR).
(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)
-

(54) HỢP CHẤT ALKYL PYRIMIDIN CÓ TÁC DỤNG ĐIỀU TRỊ CHỨNG NHIỄM VIRUT VÀ CÁC BỆNH KHÁC VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA NÓ

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



(I)

có tác dụng điều trị chứng nhiễm virut và các bệnh khác. Sáng chế cũng đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập tới hợp chất alkylpyrimidin và dược phẩm chứa nó để sử dụng trong điều trị và/hoặc trị liệu bệnh.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cụ thể, sáng chế đề cập tới hợp chất alkylpyrimidin được dùng để điều trị các chứng nhiễm virus, các rối loạn miễn dịch hoặc các rối loạn viêm, trong đó có liên quan đến quá trình điều biến, hoặc chủ vận các thụ thể giống toll (TLR – toll-like receptor). Các thụ thể giống Toll này chủ yếu là các protein xuyên màng được đặc trưng bởi miền ngoại bào giàu leuxin và phần mở rộng tế bào chứa vùng được bảo tồn. Hệ miễn dịch bẩm sinh có thể nhận biết các kiểu mẫu phân tử gắn liền với mầm bệnh thông qua các TLR được biểu hiện trên bề mặt tế bào của một số loại tế bào miễn dịch nhất định. Việc nhận biết các mầm bệnh lạ kích hoạt quá trình sản xuất các xytokin và điều tiết tăng các phân tử đồng kích thích trên các thực bào. Điều này dẫn đến sự điều biến tập tính của tế bào T.

Phần lớn các loài động vật có vú có từ mười đến mười lăm loại thụ thể giống Toll. Mười ba TLR (được đặt tên đơn giản là TLR1 đến TLR13) đã được nhận diện ở người và chuột nhắt, và các dạng tương đương của nhiều loại trong số chúng đã được phát hiện ở các loài động vật có vú khác. Tuy nhiên, các dạng tương đương của TLR nhất định mà được phát hiện ở người thì không có mặt ở tất cả các động vật có vú. Ví dụ, gen mã hoá cho protein tương tự với TLR10 ở người có mặt ở chuột nhắt, nhưng có vẻ như đã bị phá hủy tại một thời điểm nào đó trong quá khứ bởi retrovirus. Mặt khác, chuột nhắt biểu hiện các TLR 11, 12, và 13, không có loại nào trong số này được biểu hiện ở người. Các loài động vật có vú khác có thể biểu hiện các TLR mà không tìm thấy ở người. Các loài động vật có vú khác người khác có thể có các TLR khác biệt với các động vật có vú, minh chứng là TLR14, mà được phát hiện thấy ở cá xem sao Takifugu. Điều này có thể làm phức tạp quá trình sử dụng các động vật thí nghiệm làm mô hình về tính miễn dịch bẩm sinh ở người.

Để biết chi tiết về các thụ thể giống Toll, xem các bài báo sau đây. Hoffmann,

J.A., Nature, 426, p33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K., và Kaisho, T., Annual Rev. Immunology, 21, p335-376, 2003; Ulevitch, R. J., Nature Reviews: Immunology, 4, p512-520, 2004.

Các hợp chất thể hiện hoạt tính trên các thụ thể giống Toll đã được mô tả trước đó như các dẫn xuất dị vòng trong WO2000006577, dẫn xuất adenin trong WO 98/01448 và WO 99/28321, và pyrimidin trong WO 2009/067081.

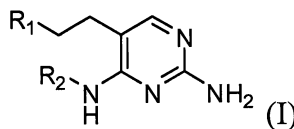
Trong liệu pháp điều trị một số bệnh nhiễm virus nhất định, có thể tiêm interferon (IFN α) đều đặn, như trường hợp virus viêm gan C (HCV), (Fried et. al. Peginterferon- α plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection, N Engl J Med 2002; 347: 975-82). Các chất cảm ứng IFN dạng phân tử nhỏ khả dụng qua đường miệng mang lại các lợi thế tiềm năng là tính sinh miễn dịch giảm và sự tiện lợi trong việc sử dụng. Do đó, các chất cảm ứng IFN mới là lớp dược chất mới có hiệu quả tiềm năng để điều trị các bệnh nhiễm virus. Để biết một ví dụ trong tài liệu về chất cảm ứng IFN dạng phân tử nhỏ có tác dụng kháng virus, xem ấn phẩm De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. Science 1978, 200, 563-565.

Interferon α cũng được kết hợp với thuốc khác để điều trị một số loại ung thư nhất định (Eur. J. Cancer 46, 2849-57, và Cancer Res. 1992, 52, 1056). Các chất chủ vận TLR 7/8 cũng được quan tâm làm chất bổ trợ vắc-xin do chúng có khả năng gây ra đáp ứng Th1 rõ rệt (Hum. Vaccine 2010, 6, 322-335, và Hum. Vaccine 2009, 5, 381-394).

Tuy nhiên, vẫn có nhu cầu lớn về các chất điều biến thụ thể giống Toll mới mà có tính chọn lọc ưu tiên, và profin độ an toàn cải thiện so với các hợp chất trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I):



hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng, trong đó:

R₁ là hydro, flo, hydroxyl, amin, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkylamino, C₁₋₆ alkoxy, C₃₋₇

xycloalkyl, C₄₋₇ dị vòng, aryl, dị vòng hai vòng, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, aryloxy, heteroaryloxy, axit carboxylic, carboxylic este, carboxylic amit, mỗi gốc này tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl, amino, C₁₋₆ alkyl, di-(C₁₋₆)alkylamino, (C₁₋₄)alkoxy-(C₁₋₄)alkyl, C₁₋₆ alkylamino, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkoxy, C₃₋₆ xycloalkyl, axit carboxylic, carboxylic este, carboxylic amit, dị vòng, aryl, alkenyl, alkynyl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hoặc nitril,

R₂ là C₁₋₆ alkyl, được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ halogen, hydroxyl, amino, nitril, axit carboxylic, carboxylic este, carboxylic amit, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ alkoxy hoặc C₃₋₆ xycloalkyl, sulfon, sulfoxit, hoặc nitril,

với điều kiện là N-(2-amino-5-phentylpyrimidin-4-yl)-N-pentylamin được loại trừ.

Sáng chế cũng đề cập tới dược phẩm chứa hợp chất này.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo phương án thứ nhất, sáng chế đề cập tới hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là dị vòng và R₂ là C₁₋₆ alkyl được thế bằng, ví dụ, nhóm hydroxyl.

Theo phương án thứ hai, sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) trong đó R₁ là hydro và trong đó R₂ là C₁₋₆ alkyl, mỗi gốc tùy ý được thế bằng một hoặc nhiều phần tử thế độc lập được chọn từ nhóm bao gồm halogen, hydroxyl, amino, nitril, axit carboxylic, carboxylic este, carboxylic amit, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ alkoxy hoặc C₃₋₆ xycloalkyl, sulfon, sulfoxit, hoặc nitril.

Hợp chất có công thức (I) và muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng có hoạt tính làm dược phẩm, cụ thể là làm các chất điều biến của hoạt tính thụ thể giống Toll (nhất là TLR7 và/hoặc TLR8).

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

Hơn nữa, hợp chất có công thức (I) hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng theo sáng chế, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng có thể được dùng làm thuốc.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, hợp chất có công thức (I) hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng, hoặc dược phẩm chứa hợp chất có công thức (I) hoặc muối, solvat hoặc dạng đa hình dược dụng của chúng có thể được dùng để điều trị chứng rối loạn bất kỳ trong đó quá trình điều biến TLR7 và/hoặc TLR8 được bao gồm.

Thuật ngữ “alkyl” dùng để chỉ hydrocacbon béo no mạch thẳng hoặc mạch nhánh chứa số lượng nguyên tử cacbon cụ thể.

Thuật ngữ “halogen” dùng để chỉ flo, clo, brom hoặc iot.

Thuật ngữ “alkenyl” dùng để chỉ alkyl như được xác định ở trên bao gồm ít nhất hai nguyên tử cacbon và ít nhất một liên kết đôi cacbon-cacbon.

Thuật ngữ “alkynyl” dùng để chỉ alkyl như được xác định ở trên bao gồm ít nhất hai nguyên tử cacbon và ít nhất một liên kết ba cacbon-cacbon.

Thuật ngữ “xycloalkyl” dùng để chỉ vòng cacbon chứa số lượng nguyên tử cacbon cụ thể.

Thuật ngữ “alkoxy” chỉ nhóm alkyl (mạch cacbon và hydro) được liên kết đơn với oxy ví dụ như nhóm metoxy hoặc nhóm etoxy.

Thuật ngữ “aryl” nghĩa là cấu trúc vòng thơm tùy ý bao gồm một hoặc hai nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S, cụ thể là từ N và O. Cấu trúc vòng thơm này có thể có 5, 6 hoặc 7 nguyên tử trên vòng. Cụ thể, cấu trúc vòng thơm này có thể có 5 hoặc 6 nguyên tử trên vòng.

Thuật ngữ “aryloxy” dùng để chỉ cấu trúc vòng thơm. Nhóm thơm này được liên kết đơn với oxy, ví dụ phenol.

Thuật ngữ “heteroaryloxy” dùng để chỉ cấu trúc vòng thơm tùy ý bao gồm một hoặc hai nguyên tử khác loại được chọn từ N, O và S. Nhóm thơm này, chứa 5 đến 7 nguyên tử vòng, một trong các nguyên tử này liên kết đơn với oxy, ví dụ hydroxypyridin.

Thuật ngữ “dị vòng hai vòng” dùng để chỉ cấu trúc vòng thơm, như được xác định đối với thuật ngữ “aryl” bao gồm hai vòng thơm được ngưng tụ. Mỗi vòng tùy ý chứa nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm N, O và S, cụ thể là từ N và O.

Thuật ngữ “arylaalkyl” dùng để chỉ cấu trúc vòng thơm như được xác định đối với

thuật ngữ “aryl” tùy ý được thế bằng nhóm alkyl.

Thuật ngữ “heteroarylalkyl” dùng để chỉ cấu trúc vòng thơm như được xác định đối với thuật ngữ “heteroaryl” tùy ý được thế bằng nhóm alkyl.

“Dị vòng” dùng để chỉ các phân tử no hoặc no một phần và bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tetrahydrofuran, dioxan hoặc các ete vòng khác. Các dị vòng chứa nitơ bao gồm, ví dụ azetidin, morpholin, piperidin, piperazin, pyrrolidin, và dạng tương tự. Các dị vòng khác gồm, ví dụ, thiomorpholin, morpholin, và sulfon vòng.

Nhóm “heteroaryl” là nhóm dị vòng mà là thơm trong tự nhiên. Chúng là vòng đơn, vòng đôi, hoặc đa vòng chứa một hoặc nhiều nguyên tử khác loại được chọn từ nhóm bao gồm N, O hoặc S. Nhóm heteroaryl có thể là, ví dụ, imidazolyl, isoxazolyl, furyl, oxazolyl, pyrrolyl, pyridonyl, pyridyl, pyridazinyl, pyrazinyl, thiophen hoặc quinolin.

Các muối dược dụng của hợp chất có công thức (I) gồm muối bazơ và muối cộng axit của chúng. Muối cộng axit thích hợp được tạo ra từ axit mà tạo ra các muối không độc. Các muối bazơ thích hợp được tạo ra từ các bazơ mà tạo ra các muối không độc.

Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể tồn tại ở dạng không solvat và solvat hóa. Thuật ngữ “solvat” được sử dụng ở đây để mô tả phức hợp phân tử bao gồm hợp chất theo sáng chế và một hoặc nhiều phân tử dung môi dược dụng, ví dụ, etanol.

Thuật ngữ “dạng đa hình” dùng để chỉ khả năng mà hợp chất theo sáng chế tồn tại trong nhiều hơn một dạng hoặc cấu trúc tinh thể.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được cấp ở dạng sản phẩm tinh thể hoặc vô định hình. Chúng có thể thu được ví dụ ở dạng bánh rắn, bột, hoặc màng mỏng bằng phương pháp như kết tủa, kết tinh, sấy thăng hoa, sấy phun, hoặc sấy bay hơi. Chúng có thể được cấp một mình hoặc kết hợp với một hoặc nhiều hợp chất khác theo sáng chế hoặc kết hợp với một hoặc nhiều thuốc khác. Thông thường, chúng sẽ được cấp ở dạng chế phẩm kết hợp với một hoặc nhiều tá dược dược dụng. Thuật ngữ “tá dược” được sử dụng ở đây để mô tả nguyên liệu bất kỳ ngoài (các) hợp chất theo sáng chế. Việc lựa chọn tá dược phần lớn phụ thuộc vào các yếu tố như cách sử dụng cụ thể, mức độ ảnh hưởng của tá dược lên độ tan và độ ổn định, và bản chất của dạng liều lượng.

Các hợp chất theo sáng chế hoặc nhóm phụ bất kỳ của chúng có thể được bào chế

thành dạng dược phẩm khác nhau theo mục đích sử dụng. Khi chế phẩm thích hợp có thể kể đến tất cả các chế phẩm thường được sử dụng cho thuốc sử dụng toàn thân. Để bào chế dược phẩm theo sáng chế, lượng hữu hiệu của hợp chất cụ thể, tùy ý ngoài dạng muối là hoạt chất được kết hợp trong hỗn hợp đồng nhất với chất mang dược dụng, mà chất mang có thể mang nhiều loại tùy thuộc vào dạng chế phẩm mong muốn để cấp. Các dược phẩm này mong muốn trong dạng liều lượng đơn nhất thích hợp, ví dụ, để cấp qua đường miệng, trực tràng, hoặc qua da. Ví dụ, khi bào chế các chế phẩm ở dạng liều lượng dùng qua đường miệng, môi trường bất kỳ trong số các môi trường dược phẩm thông thường có thể được sử dụng như, ví dụ, nước, glycol, dầu, rượu và dạng tương tự trong trường hợp chế phẩm lỏng dùng qua đường miệng như hỗn dịch, sirô, cồn ngọt, nhũ tương, và dung dịch; hoặc chất mang rắn như tinh bột, đường, kaolan, chất pha loãng, chất làm trơn, chất kết dính, chất làm rã và dạng tương tự trong trường hợp bột, viên tròn, viên nang, và viên nén. Do tính chất dễ dàng khi sử dụng, viên nén và viên nang chủ yếu là dạng đơn vị liều lượng dùng qua đường miệng, trong đó trường hợp chất mang rắn dược dụng rõ ràng được sử dụng. Cũng được bao gồm là chế phẩm dạng rắn mà có thể được chuyển hóa, nhanh chóng trước khi dùng, thành dạng lỏng. Trong các chế phẩm thích hợp để cấp qua da, chất mang tùy ý bao gồm chất tăng cường thẩm thấu và/hoặc chất thấm ướt thích hợp, tùy ý kết hợp với các chất phụ gia thích hợp có bản chất bất kỳ với các tỷ lệ nhỏ, mà các chất phụ gia không gây ra sự ảnh hưởng có hại đáng kể trên da. Các chất phụ gia này có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc dùng trên da và/hoặc có thể là hữu ích để điều chế chế phẩm mong muốn. Các chế phẩm này có thể được dùng theo cách bất kỳ, ví dụ, cao dán da, thuốc bôi, thuốc mỡ. Các hợp chất theo sáng chế cũng có thể được dùng qua việc ngửi hoặc bơm khí bằng phương pháp và chế phẩm được sử dụng trong lĩnh vực để dùng qua đường này. Do vậy, nói chung hợp chất theo sáng chế có thể được dùng cho phổi dưới dạng dung dịch, hỗn dịch hoặc bột khô.

Đặc biệt thuận lợi để bào chế dược phẩm nêu trên ở dạng liều lượng đơn vị để dễ sử dụng và đồng đều về liều lượng. Dạng liều lượng đơn vị như được sử dụng trong bản mô tả này dùng để chỉ đơn vị rời rạc về mặt vật lý thích hợp làm liều lượng đơn nhất, mỗi đơn vị chứa lượng hoạt chất xác định trước được tính toán để tạo ra tác dụng điều trị mong muốn kết hợp với chất mang dược dụng yêu cầu. Ví dụ về các dạng liều lượng đơn vị như vậy là viên nén (gồm viên nén có rãnh hoặc được bọc), viên nang, viên tròn,

gói bột, bánh xốp, thuốc đạn, dung dịch tiêm được hoặc hỗn dịch và dạng tương tự, và nhiều đơn vị được tách ra của chúng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực điều trị bệnh nhiễm khuẩn sẽ có thể xác định được lượng hữu hiệu từ các kết quả thí nghiệm được nêu dưới đây. Nói chung lượng hữu hiệu mỗi ngày được thiết kế sẽ nằm trong khoảng từ 0,01mg/kg đến 50 mg/kg thể trọng, tốt hơn nữa nếu nằm trong khoảng từ 0,1 mg/kg đến 10 mg/kg thể trọng. Có thể thích hợp để cấp liều lượng yêu cầu trong hai, ba, bốn hoặc nhiều liều dưới liều ở các khoảng thời gian thích hợp trong ngày. Các liều dưới liều này có thể được bào chế thành các dạng liều lượng đơn vị, ví dụ, chứa hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 1000 mg, và cụ thể nằm trong khoảng từ 5 đến 200 mg mỗi dạng liều lượng đơn vị.

Liều lượng và tần số sử dụng chính xác tùy thuộc vào hợp chất cụ thể có công thức (I) được sử dụng, tình trạng bệnh cụ thể được điều trị, độ nghiêm trọng của tình trạng bệnh được điều trị, độ tuổi, trọng lượng và điều kiện cơ thể tổng quát của bệnh nhân cụ thể cũng như đối tượng cấp thuốc khác có thể là xem xét, như đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Hơn nữa, rõ ràng là lượng hữu hiệu có thể được giảm xuống hoặc được tăng lên tùy thuộc vào sự đáp ứng của đối tượng được điều trị và/hoặc tùy thuộc vào sự đánh giá của hợp chất được kê đơn theo sáng chế. Khoảng lượng hữu hiệu đã được đề cập ở trên chỉ nhằm mục đích hướng dẫn, và không được dự định để giới hạn phạm vi hoặc việc dùng hợp chất theo sáng chế đến mức độ bất kỳ.

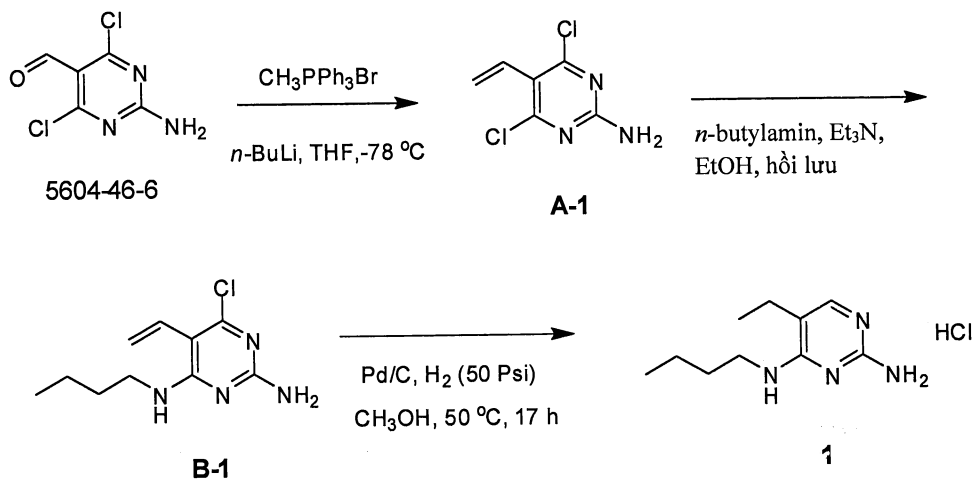
Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

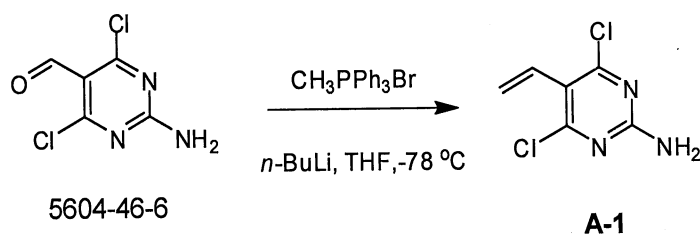
Hợp chất có công thức (I) được điều chế theo sơ đồ 1.

Chế phẩm của ví dụ 1

Sơ đồ 1



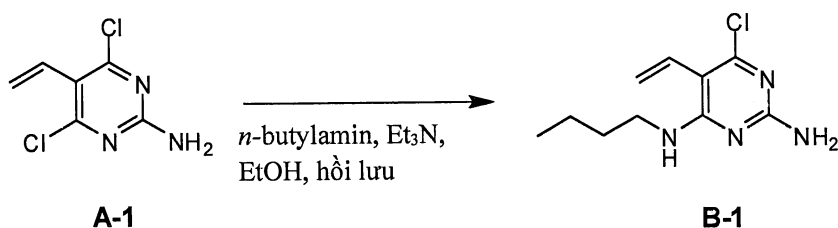
Tổng hợp A-1



CH₃PPh₃Br (27,91 g, 78,1mmol, 1,5 đương lượng) được tạo huyền phù trong THF (70ml) và được khuấy ở nhiệt độ -78°C dưới khí N₂. n-butyllithi (30ml, 75mmol, 1,44 đương lượng, 2,5 M trong hexan) được bổ sung từng giọt trong 20 phút và được khuấy thêm 0,5 giờ nữa, sau đó bổ sung 2-amino-4,6-điclo-5-formylpyrimidin [5604-46-6] (10,0 g, 52mmol, 1,0 đương lượng) thành huyền phù trong THF (180ml). Bể làm lạnh được loại bỏ và hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 2 giờ. Hỗn hợp phản ứng được làm nguội xuống nhiệt độ -78°C sau đó NH₄Cl (bão hòa, trong nước) được bổ sung từ từ. Bể làm lạnh được loại bỏ và hỗn hợp được khuấy trong 1,5 giờ. Lốp hữu cơ được tách ra, được rửa bằng nước, được làm khô (Na₂SO₄), chất rắn được loại bỏ bằng cách lọc, và dung môi của phần dịch lọc được loại bỏ dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silic oxit bằng cách sử dụng gradien từ ete dầu mỏ đến etyl axetat để thu được dầu không màu, A-1 (1,2 g).

¹H NMR (400 MHz, clorofom-d) δ ppm 5,30 (br. s., 2 H), 5,65 (d, 1 H), 5,82 (d, 1 H), 6,58 (q, 1H)

Điều chế B-1

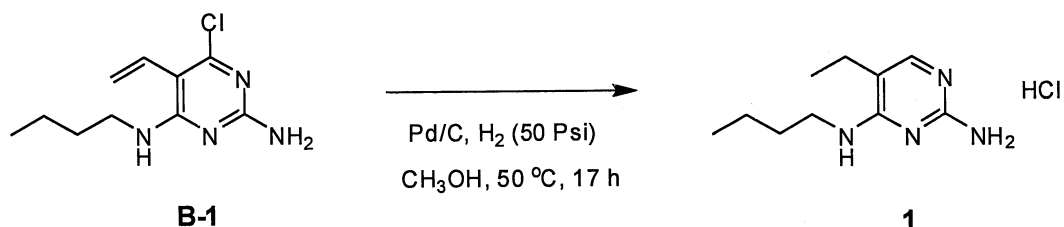


A-1 (1,0 g, 5,26mmol), n-butylamin (0,39 g, 5,26mmol) và Et₃N (0,53 g, 5,26mmol, 1,0 đương lượng) trong etanol (10ml) được hồi lưu trong 12 giờ. Dung môi được loại bỏ dưới áp suất giảm. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký cột silicagel bằng cách sử dụng gradien từ ete dầu mỏ đến etyl axetat. Các phân đoạn tốt nhất được gộp lại và được cô dưới áp suất giảm để tạo ra B-1 (300 mg).

LC-MS m/z = 227 (M+H)

¹H NMR (400 MHz, clorofom-d) δ ppm 0,95 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,38 (dq, J=14,9, 7,4 Hz, 2 H), 1,55 (quin, J=7,4 Hz, 2 H), 3,38 (q, J=7,3 Hz, 2 H), 4,75 (br. s., 2 H), 5,39 (br. s., 1 H), 5,5 (m, 2H), 6,55 (m, 1H)

Chế phẩm của ví dụ 1

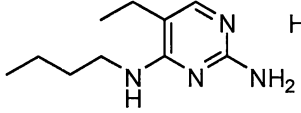
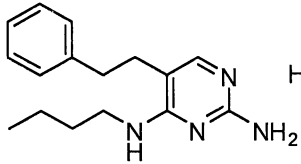
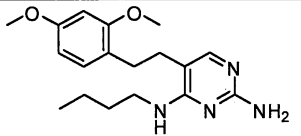
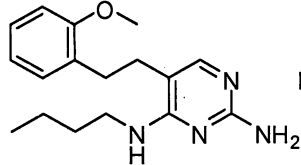


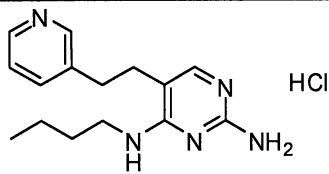
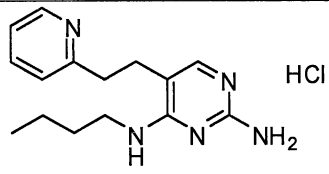
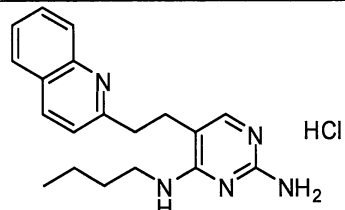
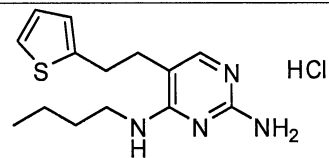
Dung dịch chứa B-1 (200 mg, 0,88mmol, 1,0 đương lượng) trong metanol (5ml) được bổ sung Pd/C 10% (20 mg) và được trộn với khí H₂ (50 Psi) ở nhiệt độ 50°C trong 17 giờ. Sản phẩm thô được tinh chế bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao điều chế (cột C18, dung môi rửa giải: CH₃CN/H₂O từ 10/90 đến 95/5, HCl 0,05%). Phân đoạn mong muốn được gộp lại và được cô dưới áp suất giảm để thu được 1 (74 mg).

LC-MS m/z = 195 (M+H)

¹H NMR (400 MHz, clorofom-d) δ ppm 0,95 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,20 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,38 (dq, J=14,9, 7,4 Hz, 2 H), 1,62 (quin, J=7,4 Hz, 2 H), 1,93 (br. s., 1 H), 2,37 (q, J=7,3 Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (br. s., 1 H), 7,24 (br. s., 1 H), 13,43 (br. s., 1 H)

Bảng 1. Hợp chất có công thức (I). Tất cả các hợp chất được tổng hợp theo phương pháp để điều chế trong ví dụ 1.

#	Cấu trúc	H NMR	Phương pháp LC, nhiệt độ phòng (phút)	Khối lượng được phát hiện (M+H)
1		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, clorofom-d) δ ppm 0,95 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,20 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,38 (dq, $J=14,9, 7,4$ Hz, 2 H), 1,62 (quin, $J=7,4$ Hz, 2 H), 1,93 (br. s., 1 H), 2,37 (q, $J=7,3$ Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (br. s., 2 H), 7,24 (br. s., 1 H), 13,43 (br. s., 1 H)	1, 3,86	195
2		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, clorofom-d) δ ppm 0,95 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,20 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,38 (dq, $J=14,9, 7,4$ Hz, 2 H), 1,62 (quin, $J=7,4$ Hz, 2 H), 1,93 (br. s., 1 H), 2,37 (q, $J=7,3$ Hz, 2 H), 3,40 - 3,63 (m, 2 H), 6,18 (br. s., 2 H), 7,24 (br. s., 1 H), 13,43 (br. s., 1 H)	2, 3,6	271
3		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,92 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,26 - 1,38 (m, 2 H), 1,56 (t, $J=7,3$ Hz, 2 H), 2,53 - 2,57 (m, 2 H), 2,63 - 2,72 (m, 2 H), 3,41 - 3,47 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 3,73 (s, 3 H), 6,46 (dd, $J=8,3, 2,5$ Hz, 1 H), 6,51 (d, $J=2,3$ Hz, 1 H), 7,02 (d, $J=8,3$ Hz, 1 H), 7,24 (br. s., 1 H), 7,61 (br. s., 2 H), 8,15 (t, $J=5,6$ Hz, 1 H), 11,85 (br. s., 1 H)	2, 3,71	331
4		$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,89 (t, $J=7,3$ Hz, 3 H), 1,24 - 1,39 (m, 2 H), 1,54 (quin, $J=7,3$ Hz, 2 H), 2,52 - 2,58 (m, 2 H), 2,69 - 2,78 (m, 2 H), 3,38 - 3,45 (m, 2 H), 3,71 (s, 3 H), 6,86 (t, $J=7,4$ Hz, 1 H), 6,93 (d, $J=7,8$ Hz, 1 H), 7,12 (dd, $J=7,3, 1,5$ Hz, 1 H), 7,15 - 7,22 (m, 1 H), 7,26 (s, 1 H), 7,62 (br. s., 2 H), 8,16 (t, $J=5,5$ Hz, 1 H), 12,01 (br. s., 1 H)	2, 3,71	301

#	Cấu trúc	¹ H NMR	Phương pháp LC, nhiệt độ phòng (phút)	Khối lượng được phát hiện (M+H)
5		¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,91 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,22 - 1,39 (m, 2 H), 1,56 (t, J=7,3 Hz, 2 H), 2,72 - 2,83 (m, 2 H), 2,91 - 3,04 (m, 2 H), 3,43 (q, J=6,5 Hz, 2 H), 7,59 (s, 1 H), 7,72 (br. s., 2 H), 8,06 (dd, J=8,0, 5,8 Hz, 1 H), 8,56 - 8,69 (m, 2 H), 8,83 (d, J=5,3 Hz, 1 H), 9,03 (s, 1 H), 12,28 (br. s., 1 H)	1, 3,34	272
6		¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,91 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,32 (sxt, J=7,4 Hz, 2 H), 1,60 (quin, J=7,3 Hz, 2 H), 2,85 - 2,96 (m, 2 H), 3,18 - 3,28 (m, 2 H), 3,45 (q, J=6,8 Hz, 2 H), 7,65 (s, 1 H), 7,75 (br. s., 2 H), 7,95 (t, J=6,4 Hz, 1 H), 8,06 (d, J=8,0 Hz, 1 H), 8,56 (td, J=7,8, 1,4 Hz, 1 H), 8,73 (t, J=5,5 Hz, 1 H), 8,85 (d, J=4,8 Hz, 1 H), 12,28 (br. s., 1 H)	1, 3,33	272
7		¹ H NMR (300 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,90 (t, J=7,3 Hz, 3 H), 1,23 - 1,41 (m, 2 H), 1,57 (quin, J=7,3 Hz, 2 H), 2,98 (t, J=7,5 Hz, 2 H), 3,39 (d, J=7,9 Hz, 2 H), 3,41 - 3,54 (m, 3 H), 7,64 (d, J=4,9 Hz, 1 H), 7,70 (br. s., 1 H), 7,87 (d, J=7,2 Hz, 1 H), 7,96 (br. s., 1 H), 8,07 (br. s., 1 H), 8,26 (d, J=7,7 Hz, 1 H), 8,37 (br. s., 1 H), 8,61 (br. s., 1 H), 8,96 (br. s., 1 H), 12,03 (d, J=4,3 Hz, 1 H)	2, 2,54	322
8		¹ H NMR (400 MHz, DMSO-d ₆) δ ppm 0,85 - 0,93 (m, 3 H), 1,23 - 1,35 (m, 2 H), 1,47 - 1,60 (m, 2 H), 2,63 - 2,72 (m, 2 H), 2,98 (t, J=7,5 Hz, 2 H), 3,46 (br. s., 2 H), 6,88 (d, J=3,3 Hz, 1 H), 6,94 (dd, J=5,1, 3,4 Hz, 1 H), 7,32 (dd, J=5,1, 1,1 Hz, 1 H), 7,43 (d, J=5,3 Hz, 1 H), 7,59 (br. s., 2 H), 8,27 (t, J=5,8 Hz, 1 H), 11,87 (d, J=5,8 Hz, 1 H)	1, 4,52	277

Phương pháp phân tích. Tất cả các hợp chất khác biệt bởi LC-MS bằng cách sử dụng phương pháp sau:

Phương pháp 1. Agilent 1100 LC-MS trong chế độ ion dương được lắp với cột YMC-PACK ODS-AQ, 50 x 2,0 mm, 5 µm được giữ ở nhiệt độ 50°C. Các pha động và gradien sau đây được sử dụng trong tổng thời gian tiến hành 10 phút ở tốc độ 0,8ml/phút, kiểm soát ở 220 nm:

Pha động	A: H ₂ O (0,1%TFA)		
	B: CH ₃ CN (0,05%TFA)		
Gradien	Thời gian (phút)	% A	% B
	0	100	0
	1	100	0
	5	40	60
	7,5	40	60
	8	100	0

Phương pháp 2. Agilent 1100 LC-MS trong chế độ ion dương được lắp với cột YMC-PACK ODS-AQ, 50 x 2,0 mm, 5 µm được giữ ở 50°C. Pha động và gradien sau đây được sử dụng trong tổng thời gian tiến hành 10 phút ở tốc độ 0,8ml/phút, kiểm soát ở 220 nm:

Pha động	A : H ₂ O (0,1% TFA)		
	B: CH ₃ CN (0,05% TFA)		
	Thời gian (phút)	% A	% B
	0	90	10
	0,8	90	10
	4,5	20	80
	7,5	20	80
	8	90	10

Hoạt tính sinh học của hợp chất có công thức (I)

Mô tả thử nghiệm sinh học

Đánh giá hoạt tính TLR 7 và TLR 8

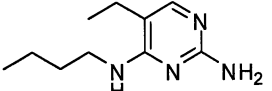
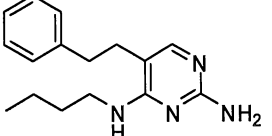
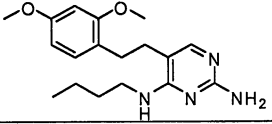
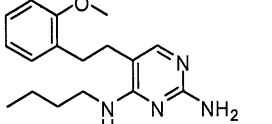
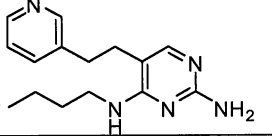
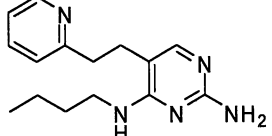
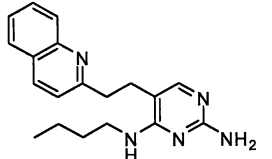
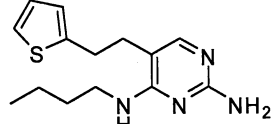
Khả năng hoạt hóa TLR7 (hTLR7) và/hoặc TLR8 (hTLR8) của người của hợp chất được đánh giá trong thử nghiệm chỉ thị tế bào bằng cách sử dụng các tế bào HEK293 được chuyển nhiễm tạm thời với vectơ biểu hiện TLR7 hoặc TLR8 và cấu trúc chỉ thị NFκB-luc. Trong một ví dụ cấu trúc biểu hiện TLR biểu hiện trình tự kiểu đại tương ứng hoặc trình tự đột biến bao gồm đột biến mất đoạn lặp lại giàu leuxin thứ hai của

TLR. Các protein TLR đột biến như vậy trước đó được thể hiện là miễn cảm hơn với sự hoạt hóa chất chủ vận (US 7498409).

Một cách ngắn gọn, các tế bào HEK293 được cho sinh trưởng trong môi trường nuôi cấy (DMEM bổ sung FCS 10% và Glutamin 2mM). Để chuyển nhiễm các tế bào trong các đĩa loại 10cm, các tế bào được tách ra bằng Trypsin-EDTA, được chuyển nhiễm bằng hỗn hợp chứa plasmit CMV-TLR7 hoặc TLR8 (750 ng), plasmit NF κ B-luc (375 ng) và chất phản ứng chuyển nhiễm và được ủ qua đêm ở nhiệt độ 37°C trong không khí CO₂ 5% đã được làm ẩm. Sau đó, các tế bào đã được chuyển nhiễm được tách bằng Trypsin-EDTA, được rửa bằng PBS và được tái tạo huyền phù trong môi trường đến mật độ 1,67 x 10⁵ tế bào/ml. Sau đó, 30 microlit tế bào được phân phối vào mỗi lỗ trong các đĩa 384 lỗ, trong đó 10 μ L hợp chất trong DMSO 4% đã có từ trước. Sau khi ủ trong 48 giờ ở 37°C, CO₂ 5%, hoạt tính luxiferaza được xác định bằng cách thêm 15 μ l cơ chất Steady Lite Plus (Perkin Elmer) vào mỗi lỗ và đọc dữ liệu trên thiết bị tạo ảnh vi đĩa ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Đường cong đáp ứng liều được tạo ra từ các phép đo được thực hiện lặp lại bốn lần. Trị số nồng độ hữu hiệu thấp nhất (LEC), được định nghĩa là nồng độ mà gây ra tác dụng cao hơn ít nhất là hai lần so với độ lệch chuẩn của thử nghiệm, được xác định cho từng hợp chất.

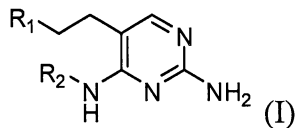
Đồng thời, chuỗi pha loãng tương tự của hợp chất được sử dụng (10 μ L hợp chất trong DMSO 4%) với 30 μ L mỗi lỗ của các tế bào được chuyển nhiễm chỉ với cấu trúc chỉ thị NF κ B-luc (1,67 x 10⁵ các tế bào/ml). Sau khi ủ trong sáu giờ ở nhiệt độ 37°C, CO₂ 5%, hoạt tính luxiferaza được xác định bằng cách thêm 15 μ l cơ chất Steady Lite Plus (Perkin Elmer) vào mỗi lỗ và đọc dữ liệu trên thiết bị tạo ảnh vi đĩa ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Dữ liệu về sàng lọc đối được báo cáo dưới dạng LEC.

Tất cả các hợp chất đã thể hiện CC50 >24 μ M trong thí nghiệm HEK 293 TOX được mô tả trên đây.

#	Cấu trúc	Khối lượng hTLR7 (LEC)	Khối lượng hTLR8 (LEC)
1		2,4	1,3
2		6,7	6,5
3		2,4	12
4		5	13
5		1,2	1,4
6		0,6	1,6
7		0,5	1,2
8		8,1	3,6

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I):



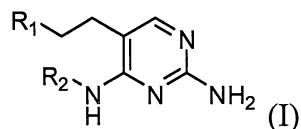
hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R₁ là hydro, flo, hydroxy, amin, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkylamino, C₁₋₆ alkoxy, C₃₋₇ xycloalkyl, C₄₋₇ heteroxyclyl, aryl, heteroxyclyl hai vòng, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, aryloxy, heteroaryloxy, carboxy, carboxy este, hoặc amido, mỗi nhóm này được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phân tử thế độc lập được chọn từ halo, hydroxy, amino, C₁₋₆ alkyl, di-(C₁₋₆)alkylamino, (C₁₋₄)alkoxy-(C₁₋₄)alkyl, C₁₋₆ alkylamino, C₁₋₆ alkyl, C₁₋₆ alkoxy, C₃₋₆ xycloalkyl, carboxy, carboxy este, amido, heteroxyclyl, aryl, alkenyl, alkynyl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, hoặc xyano;

R₂ là C₁₋₆ alkyl, được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phân tử thế được chọn từ halo, hydroxy, amino, xyano, carboxy, carboxy este, amido, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ alkoxy hoặc C₃₋₆ xycloalkyl,

với điều kiện là N-(2-amino-5-phenetylpyrimidin-4-yl)-N-pentylamin bị loại trừ.

2. Hợp chất có công thức (I):



hoặc muối dược dụng của nó, trong đó:

R₁ là heteroxyclyl, và

R₂ là C₁₋₆ alkyl được thế bằng một hoặc nhiều hydroxyl.

3. Hợp chất theo điểm 1, trong đó:

R₁ là hydro, và

R₂ được thế tùy ý bằng một hoặc nhiều phân tử thế độc lập được chọn từ halo, hydroxy, amino, xyano, carboxy, carboxy este, amido, C₁₋₃ alkyl, C₁₋₃ alkoxy, hoặc C₃₋₆ xycloalkyl.

4. Dược phẩm chứa hợp chất theo điểm 1 hoặc muối dược dụng của nó cùng với một hoặc nhiều tá dược, chất pha loãng hoặc chất mang dược dụng.

5. Hợp chất được chọn từ nhóm bao gồm:

